



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACEUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACEUTICAS  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE  
COMPLEXOS DE INCLUSÃO DO ANTIPSICÓTICO  
OLANZAPINA**

**Márcia Rocha de Freitas**

RECIFE  
2012

**Márcia Rocha de Freitas**

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE  
COMPLEXOS DE INCLUSÃO DO ANTIPSICÓTICO  
OLANZAPINA**

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

**Orientadora:** Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Miracy Muniz de Albuquerque

**Co-orientador:** Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

RECIFE  
2012

#

Catálogo na fonte  
Bibliotecária Giseani Bezerra, CRB4-1738

|       |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| F862d | <p>Freitas, Márcia Rocha de.</p> <p>Desenvolvimento e caracterização de complexos de inclusão do antipsicótico olanzapina / Márcia Rocha de Freitas. – Recife: O autor, 2012.</p> <p>98 folhas : il. ; 30 cm.</p> <p>Orientador: Miracy Muniz de Albuquerque.</p> <p>Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2012.</p> <p>Inclui bibliografia e anexos.</p> <p>1. Esquizofrenia. 2. Antipsicóticos. 3. Química Farmacêutica. I. Albuquerque, Miracy Muniz de (Orientador). II. Título.</p> <p>615.3 CDD (23.ed.)</p> <p>UFPE (CCS2012-177)</p> |
|-------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO  
PRÓ-REITORIA PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS



**Recife, 13 de julho de 2012.**

Defesa de Dissertação de Mestrado de **Márcia Rocha de Freitas** defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 13 de julho de 2012 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

**PRESIDENTE E PRIMEIRA EXAMINADORA INTERNA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Miracy Muniz de Albuquerque**  
(Depto. de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

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

**SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Beate Saegesser Santos**  
(Depto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco-UFPE ).

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

**PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Danilo César Galindo Bedor**  
(Núcleo de Desenvolvimento Farmacêutico e Cosméticos da Universidade Federal de Pernambuco- UFPE).

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

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO**

**REITOR**

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

**VICE-REITOR**

Prof. Dr. Sílvio Romero de Barros Marques

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

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

**DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

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

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Vânia Pinheiro Ramos

**CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACEUTICAS**

Prof. Dr. Dalci José Brondani

**VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACEUTICAS**

Prof. Dr. Antonio Rodolfo de Faria

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

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Nereide Stela Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
CIÊNCIAS FARMACEUTICAS**

Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup>. Ana Cristina Lima Leite

Dedico este trabalho aos meus sobrinhos e afilhados Isabella Freitas e o pequeno Freitas  
Brandão, por renovarem minha alegria, esperança e amor.

## AGRADECIMENTOS

Diante de um trabalho que contou com a colaboração de tantas pessoas, agradecer torna-se tão importante quanto à própria dissertação.

Agradeço ao meu co-orientador **Prof. Lamartine**, por ter me apoiado desde o início do trabalho, viabilizando minha vinda pra Recife e o início da minha vida científica, pelos conhecimentos compartilhados e caminhos expandidos.

Agradeço à minha orientadora **profª Miracy** por ter me aceito como sua aluna e, em especial, por todo carinho e atenção prestados no momento que mais precisei.

Agradeço aos meus pais, **Mário** e **Maria José** e familiares pelo apoio incondicional, compreensão e amor. Hoje vejo que todo esse tempo que passamos separados, por mais difíceis que por vezes possam ter sido, só foram possíveis porque existiam vocês no pilar da minha edificação, alicerçando minha estrutura.

Aos meus irmãos **Mario Júnior**, **Márcio** (*in memorian*) e **Maira** por serem forte estímulo a minha caminhada, por fazerem parte da minha história e por encherem meu coração e vida de amor. **Júnior**, sempre admirarei sua força, por mais que você não a perceba, mas ela sempre está lá para te impulsionar à conquista dos seus sonhos. **Márcio**, agradeço a todos os longos domingos que passou comigo, mesmo que em pensamento, me fazendo acreditar que valia a pena continuar e que a distancia física nunca será capaz de separar laços de amor. Querida Pakarrosa (**Maira**) como é difícil agradecer a você, tantas ligações com lágrimas, sorrisos e muito amor que serviram de remédio para que minha alma pudesse se fortalecer em meio a saudade por vivermos separadas.

Aos colegas da UFPE por se mostrarem sempre solícitos, sempre prontos a ajudar nos experimentos ou conhecimentos teóricos, em especial, **Júlia**, **Lariza**, **Larrisa** e **Salvana**. Estendo este agradecimento aos colegas do **LTM** por serem solícitos e acolhedores e ao **prof. Pedro Rolim** por possibilitar essa parceria.

À quem devo meus maiores agradecimentos: **Larissa Rolim**, que pessoa admirável! Obrigada pela sua incansável dedicação, por me acolher em todos os momentos deste trabalho, por me motivar quando eu me via sem saída e por sempre ter em seu rosto um sorriso com a célebre frase “calma Márrrrrrrcia, vai ficar um príncipe”. Sou muito grata por tê-la conhecido e por saber o quão generoso é o seu coração.

Agradeço as amigas **Vanessa** e **Maryanne** por todo apoio prestado, por me felicitarem com a alegria da sua amizade e por terem formado comigo uma linda família.

Agradeço ainda à minha grande amiga **Stefany Guimarães**, por se fazer sempre presente na minha vida, por todo apoio a distancia e pelo amor que nos une.

Encerro agradecendo Aquele que colocou em minha vida todas as pessoas que citei: **Deus**, meu maior mestre e o mais forte pilar da minha vida.

## RESUMO

O presente trabalho trata da obtenção e caracterização de complexos de inclusão com o fármaco olanzapine (OLP), antipsicótico usado para tratamento da esquizofrenia. Dentre as diversas psicoses existentes, a esquizofrenia recebe significativa atenção dos pesquisadores, visto que, sua fisiopatologia ainda não está bem definida e os tratamentos existentes não satisfazem completamente aos anseios terapêuticos. Assim, realizou-se caracterização do fármaco para que suas características físico químicas pudessem ser elucidadas, sendo este estudo de pré-formulação essencial ao desenvolvimento tecnológico de um medicamento. Esta caracterização se baseou em estudos de solubilidade, análises térmicas, difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, infravermelho e ensaios de dissolução. Assim, pode ser evidenciado o caráter cristalino da molécula e sua insolubilidade em água, comprometendo então a dissolução do antipsicótico nesse solvente, bem como avaliou-se a termoestabilidade por meio de cinética de degradação. A partir disto, realizou-se o estudo de solubilidade de fases com diferentes ciclodextrinas (CD's) objetivando-se escolher a de maior viabilidade tecnológica para obtenção de complexos de inclusão entre a CD e o antipsicótico. Dentre as CD's testadas,  $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD, observou-se que a M $\beta$ CD apresenta características farmacêuticamente mais viáveis, sendo, portanto, utilizada para complexação com OLP. A obtenção foi realizada através da técnica de rotaevaporação, e o produto rotaevaporado posteriormente caracterizado por calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria, difração de raios X, microscopia eletrônica de varredura, infravermelho e ensaios de dissolução. Tais análises foram realizadas com o fármaco isolado, ciclodextrina isolada, mistura física (MF) com OLP e CD e produto rotaevaporado (ROE). O ROE obtido demonstrou diferenças morfológicas, térmicas, estruturais e perfis espectroscópicos distintos das moléculas livres de OLP e CDs e da MF, evidenciando formação de complexos de inclusão com melhoria da solubilidade da OLP. Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a obtenção dos complexos OLP-M $\beta$ CD é um recurso farmacêutico eficaz para se ter melhor dissolução do fármaco, gerando assim vantagens frente à veiculação tradicional. Abre-se, portanto, perspectivas para estudos de avaliação de atividade biológica e toxicidade, a fim de gerar uma possível nova alternativa, mais segura, estável e eficaz, no tratamento da esquizofrenia, incluindo a possibilidade de desenvolvimento de formas farmacêuticas líquidas.

Palavras-chave: Olanzapina. Esquizofrenia. Complexo de inclusão. Ciclodextrina. Estudos de pré-formulação.

## ABSTRACT

The following research talks about the acquisition and characterization of inclusion complexes with the olanzapine medicine (OLP), antipsychotic that is used in the schizophrenia treatment. Amongst the variety of existents psychosis, schizophrenia receives significant attention from researchers considering that its physiopathology is still not well defined and its existing medications do not fully satisfy therapeutic expectations. Considering this, it was made an essential pre-formulated query about the technological development of a medication in a way that the medicine's physiochemical characteristics could be clarified. This characterization was based in solubility studies, thermic analysis, X-Ray diffractions, electronic microscopy scanning, infrared and experimental dissolution. Therefore, it can be proved the crystalline character of the molecule and its insolubility in water which then compromises the antipsychotic dissolution in this solvent as well as it was assessed the thermo stability by the kinetics degradation. After that, it was realized an study about the solubility phase of the different types of cyclodextrin (CD) with the purpose of choosing the largest technological viability to obtain inclusion complexes between the CD and the antipsychotic. Amongst the tested CDs ( $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD) it was observed that M $\beta$ CD presents more viable pharmaceutical characteristics, therefore it is utilized as an OLP complex. The obtainment was through the Rota evaporation technique and the rota evaporated product was later characterized by differential explanatory calorimetry, thermogravimetry, X-Ray diffractions, electronic microscopy scanning, infrared, and experimental dissolution. Such analysis were realized with the isolated medicine, cyclodextrin isolated, physical mix of OLP and CD and the rota evaporated product (ROE). The obtained ROE demonstrated the differences between the morphological, thermic, structural and other profiles, those are different from the free OLP and CD molecules and from the MF's as well. This will prove the formation of inclusion complex with solubility improvement. Facing the obtained results, it can be concluded that the OLP-M $\beta$ CD is the efficient medical type that will be the best medicine dissolution generating advantage ahead of the traditional transmitting. It opens, therefore, studies perspectives of biological activity and toxicity evaluation with the purpose of generating a possible new, safer, stable and efficient alternative in the treatment of schizophrenia, including the possibility of developing a new pharmaceutical liquid forms.

Key-words: Olanzapine, Schizophrenia, Inclusion complex, Cyclodextrin, Pre-formulation studies.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|       |                                                                          |
|-------|--------------------------------------------------------------------------|
| CD    | Ciclodextrina/ Cyclodextrin                                              |
| CD's  | Ciclodextrinas/ Cyclodextrins                                            |
| CI    | Complexo de Inclusão                                                     |
| CI's  | Complexos de Inclusão                                                    |
| DNA   | Ácido Desoxirribonucleico                                                |
| DRX   | Difração de raio X                                                       |
| DSC   | Calorimetria Exploratória Diferencial/ Differential Scanning Calorimeter |
| Fig.  | Figura                                                                   |
| IC    | Inclusion Complexes                                                      |
| IR    | Infrared spectroscopy                                                    |
| IV    | espectroscopia de infravermelho                                          |
| HPβCD | Hidroxi-propil- β-ciclodextrina                                          |
| LTM   | Laboratório de Tecnologia de Medicamentos                                |
| MEV   | Microscopia Eletrônica de Varredura                                      |
| MF    | Mistura Física                                                           |
| MβCD  | Metil-β-ciclodextrina                                                    |
| NCQMC | Core of Medicines and Corelated Quality Control                          |
| OLP   | Olanzapina/ olanzapine                                                   |
| PM    | Physical Mixture                                                         |
| ROE   | Evaporator Product                                                       |
| SEM   | Scanning Electron Microscopy                                             |
| TG    | Termogravimetria/ Thermogravimetry                                       |
| UFPE  | Universidade Federal de Pernambuco                                       |
| UV    | Ultravioleta                                                             |
| XRD   | X-Ray Diffraction                                                        |
| βCD   | β-ciclodextrina                                                          |

## SÍMBOLOS

|                      |                                              |
|----------------------|----------------------------------------------|
| %                    | Percentual                                   |
| ±                    | Mais ou menos                                |
| $\Delta H$           | Variação de entalpia                         |
| ®                    | Marca registrada                             |
| °C                   | Grau Celsius                                 |
| °C.min <sup>-1</sup> | Grau Celsius por minuto                      |
| cm <sup>-1</sup>     | Por centímetro                               |
| ED30                 | dissolution efficiency in time of 30 minutes |
| H                    | Horas                                        |
| Kg                   | Kilograma                                    |
| Kv                   | Kilo volts                                   |
| L.mol <sup>-1</sup>  | Litro por quantidade de matéria              |
| mA                   | Mili Âmpere                                  |
| Mg                   | Miligrama                                    |
| mg.mL <sup>-1</sup>  | Miligrama por mililitro                      |
| mL                   | Mililitro                                    |
| Min                  | Minuto                                       |
| mL.min <sup>-1</sup> | Mililitro por minuto                         |
| mM                   | Micro molar                                  |
| mmol.L <sup>-1</sup> | Milimol por litro                            |
| mol:mol              | Quantidade de matéria: quantidade de matéria |
| Nm                   | Nanômetro                                    |
| pH                   | Potencial hidrogenionico                     |
| pKa                  | Constante de dissociação ácida               |
| Rpm                  | Rotações por minuto                          |
| S                    | Segundos                                     |
| A                    | Alfa                                         |
| B                    | Beta                                         |
| Γ                    | Gama                                         |
| μg.mL <sup>-1</sup>  | Micrograma por mililitro                     |
| °                    | Graus                                        |
| θ                    | Teta                                         |

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO I

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 Estrutura molecular da OLP.....                                                                                                                                                                                                                                                                               | 34 |
| Figura 2 (a) Estrutura geral das ciclodextrinas (CD's). Os derivados $\alpha$ , $\beta$ e $\gamma$ -CD são definidos por n=1, 2 e 3, respectivamente. (b) Representação esquemática da estrutura tridimensional das CD's, mostrando as características estruturais definidas pelo arranjo das unidades de glicose..... | 37 |

### CAPÍTULO II

|                                                                                                                                                                                              |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 Formação da olanzapina a partir de modificações estruturais da clozapina.                                                                                                           | 45 |
| Figura 2 Espectro de Absorção na região vibracional do Infravermelho da OLP ....                                                                                                             | 52 |
| Figura 3 Curva de DSC da OLP.....                                                                                                                                                            | 53 |
| Figura 4 Curva de TG da OLP.....                                                                                                                                                             | 54 |
| Figura 5 Curvas de TG da OLP obtidas em cinco razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40 °C/min) sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não isotérmico.....                        | 55 |
| Figura 6 Plotagem das curvas TG para cálculo de Energia de ativação, ordem da reação e fator de frequência, a partir de diferentes razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40°C/ min)..... | 55 |
| Figura 7 Linearização do gráfico de Ozawa a partir de curvas de TG da OLP em diferentes razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40°C/ min).....                                            | 56 |
| Figura 8 Curvas isotérmicas da OLP em diferentes temperaturas (190°C, 200°C, 210°C, 220°C e 230°C).....                                                                                      | 57 |
| Figura 9 Gráfico de Arrhenius, $\ln t \times 1/T$ , para decomposição térmica das amostras de OLP.....                                                                                       | 57 |
| Figura 10 Fotografias da microscopia eletrônica de varredura da OLP.....                                                                                                                     | 58 |
| Figura 11 Padrão de difração de raios X da OLP.....                                                                                                                                          | 59 |
| Figura 12 Curva de Calibração da OLP em metanol.....                                                                                                                                         | 60 |
| Figura 13 Perfis de dissolução da OLP.....                                                                                                                                                   | 61 |

### CAPÍTULO III

|                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Figura 1 (A) Diagrama de solubilidade de fases da OLP em função da concentração de ciclodextrina em água ( $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD). (B) Perfil de dissolução da OLP, MF e ROE..... | 72 |
| Figura 2 (A) Curvas de DSC da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE. (B) Curvas de TG da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE.....                                                                                      | 74 |
| Figura 3 Fotografias da Microscopia Eletrônica de Varredura da (A) OLP, (B) M $\beta$ CD, (C) MF e (D) ROE.....                                                                                      | 76 |
| Figura 4 Espectro de Infravermelho da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE.....                                                                                                                               | 78 |
| Figura 5 Padrão de difração de raios X OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE .....                                                                                                                             | 80 |

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO II

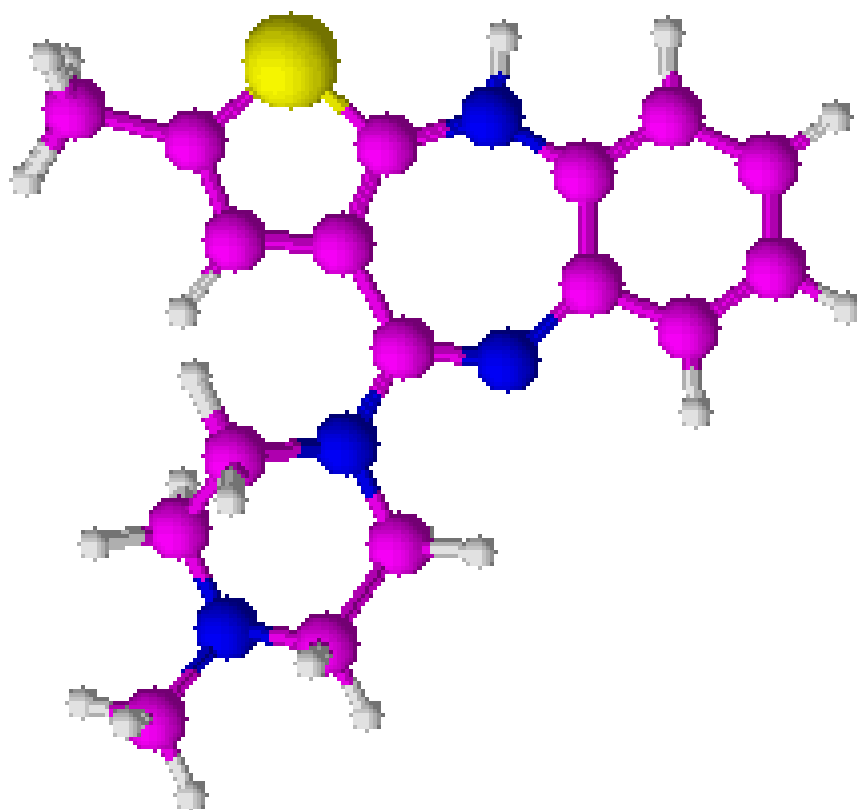
|                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 Correlação entre número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) de absorção no infravermelho e estrutura química. | 51 |
| Tabela 2 Solubilidade das substâncias.....                                                                      | 60 |

### CAPÍTULO III

|                                                                                                 |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabela 1 Dados do estágio de decomposição térmica principal da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE..... | 75 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

## SUMÁRIO

|                                                                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1 INTRODUÇÃO.....</b>                                                                                                                              | <b>16</b> |
| <b>2 JUSTIFICATIVA.....</b>                                                                                                                           | <b>19</b> |
| <b>3 OBJETIVOS.....</b>                                                                                                                               | <b>21</b> |
| 3.1 Objetivo geral.....                                                                                                                               | 22        |
| 3.2 Objetivos específicos.....                                                                                                                        | 22        |
| <b>4 CAPÍTULO 1.....</b>                                                                                                                              | <b>23</b> |
| Artigo 1 - Esquizofrenia: da fisiopatologia ao tratamento farmacológico com<br>olanzapina e suas limitações.....                                      | 24        |
| <b>5 CAPÍTULO 2.....</b>                                                                                                                              | <b>45</b> |
| Caracterização físico-química do fármaco antipsicótico olanzapina.....                                                                                | 46        |
| <b>6 CAPÍTULO 3.....</b>                                                                                                                              | <b>66</b> |
| Artigo 2 Complexo de inclusão de metil- $\beta$ -ciclodextrina e olanzapina como<br>potencial sistema de liberação de drogas para esquizofrenia ..... | 67        |
| <b>7 CONCLUSÕES.....</b>                                                                                                                              | <b>86</b> |
| <b>8 PERSPECTIVAS.....</b>                                                                                                                            | <b>88</b> |
| <b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>                                                                                                                | <b>90</b> |
| <b>ANEXOS.....</b>                                                                                                                                    | <b>93</b> |



## ***1 INTRODUÇÃO***

---

## 1. INTRODUÇÃO

O surgimento da psicofarmacoterapia nos anos 50 do século passado representou verdadeira revolução na assistência àqueles que padecem de transtornos mentais. Muitos pacientes psicóticos, que antes se viam condenados a passar o resto de seus dias na mendicância ou em asilos, foram reintegrados às suas famílias (TEIXEIRA & ROCHA, 2006).

Dentre as diversas psicoses existentes, a esquizofrenia recebe significativa atenção dos pesquisadores, visto que, sua fisiopatologia ainda não está bem definida e as medicações existentes não satisfazem completamente aos anseios terapêuticos (FREITAS et al., 2012).

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico devastador que acomete aproximadamente 1% da população ao longo da vida. Os indivíduos geralmente são acometidos no auge do seu potencial produtivo e o curso da doença é crônico e debilitante. A psicose se caracteriza pelo surgimento de sintomas positivos, como delírios e alucinações, e negativos, como embotamento afetivo, retraimento emocional e pensamento estereotipado (BREISSANA & PILOWSKY, 2003).

A terapia desta mazela limitava-se inicialmente ao uso de fármacos de primeira geração ou típicos, como haloperidol, contudo, seus efeitos colaterais extrapiramidais e ineficiência em pacientes refratários ao tratamento impulsionaram a busca por novos fármacos. Os antipsicóticos de segunda geração ou atípicos, como olanzapina e risperidona, passaram então a ser uma alternativa mais segura e eficaz (ELKIS, 2001).

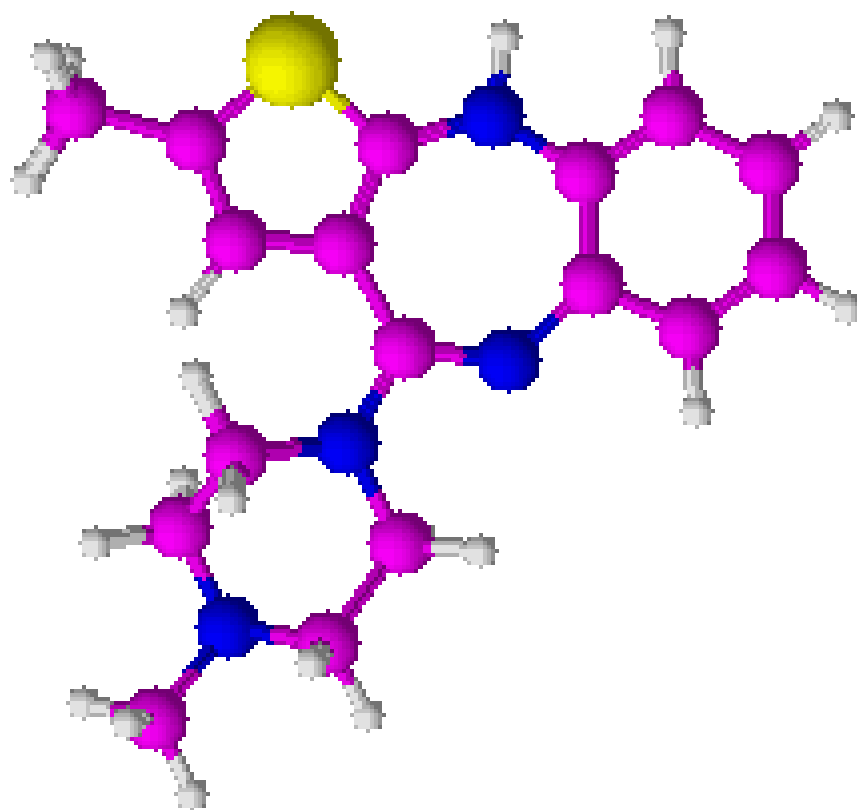
A olanzapina (OLP) é um agente psicotrópico pertencente à classe das tienobenzodiazepinas, obtida a partir de modificações na estrutura química da clozapina, trazendo como vantagem a ausência de efeitos hematológicos. Ela mostra alta afinidade *in vitro* por receptores de serotonina, dopamina, muscarina e histamina. Desde sua introdução em 1997, tem sido aprovada em 84 países para tratamento da esquizofrenia e distúrbios relacionados (RAJENDRAPRASAD & BASAVAIAH, 2009)

Devido a sua forma cristalina com caráter lipofílico, a OLP é um fármaco muito pouco solúvel em água afetando sua dissolução e conseqüentemente absorção. O desenvolvimento de uma forma farmacêutica que produza biodisponibilidade uniforme do fármaco para a realização de ensaios toxicológicos mais consistentes, que comprovem a eficácia e segurança da OLP em terapias antipsicóticas consiste em um desafio para o desenvolvimento tecnológico (LACHMAN & SCHAWARTZ, 1990).

Atualmente, 35-40% de todas as novas entidades químicas possuem pouca solubilidade em água e subseqüentes problemas para alcançar níveis sanguíneos terapeuticamente relevantes (KARAVAS et al., 2007; SALTÃO & VEIGA, 2001). Portanto, há uma necessidade de encontrar soluções que viabilizem a obtenção de formas farmacêuticas contendo estes fármacos. A complexação dos mesmos com ciclodextrinas (CD's) pode ser aplicada nestes casos.

As CD's são produtos cíclicos compostos de unidades de D-(+)-glicopirranose unidas por ligações  $\alpha$ -1,4. Estes compostos possuem em sua estrutura grupos hidroxila primários e secundários orientados para o exterior. Assim, possuem exterior hidrofílico, responsável pela interação com moléculas de água, e uma cavidade interna hidrofóbica, responsável pela complexação com fármacos compatíveis (FRACETO et al., 2007). Esse aspecto molecular tem possibilitado a utilização de CD's em diferentes áreas da ciência e tecnologia, sendo um dos principais domínios de aplicação à indústria farmacêutica, em função da possibilidade de obtenção de novos medicamentos com propriedades físicas e químicas diferentes do princípio ativo isolado, como incremento da solubilidade destes. (LACHMAN & SCHAWARTZ, 1990; BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004).

As alterações das propriedades físico-químicas dos fármacos após complexação servem como parâmetro para realização de testes que confirmem a formação do complexo de inclusão (CI), visto que as preparações resultantes da mistura de fármaco e ciclodextrina, não necessariamente, leva à formação de um CI com solubilidade incrementada. Recorre-se, portanto, a técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG), Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia de Infravermelho (IV), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), teste de dissolução, entre outras.



## ***2 JUSTIFICATIVA***

---

## 2. JUSTIFICATIVA

A introdução dos medicamentos antipsicóticos de segunda geração no tratamento da esquizofrenia provocou um debate sobre os custos dos tratamentos farmacológicos. Em alguns aspectos, os novos antipsicóticos apresentam uma resposta clínica superior em comparação aos de primeira geração, além de se mostrarem eficazes em pacientes com esquizofrenia refratária.

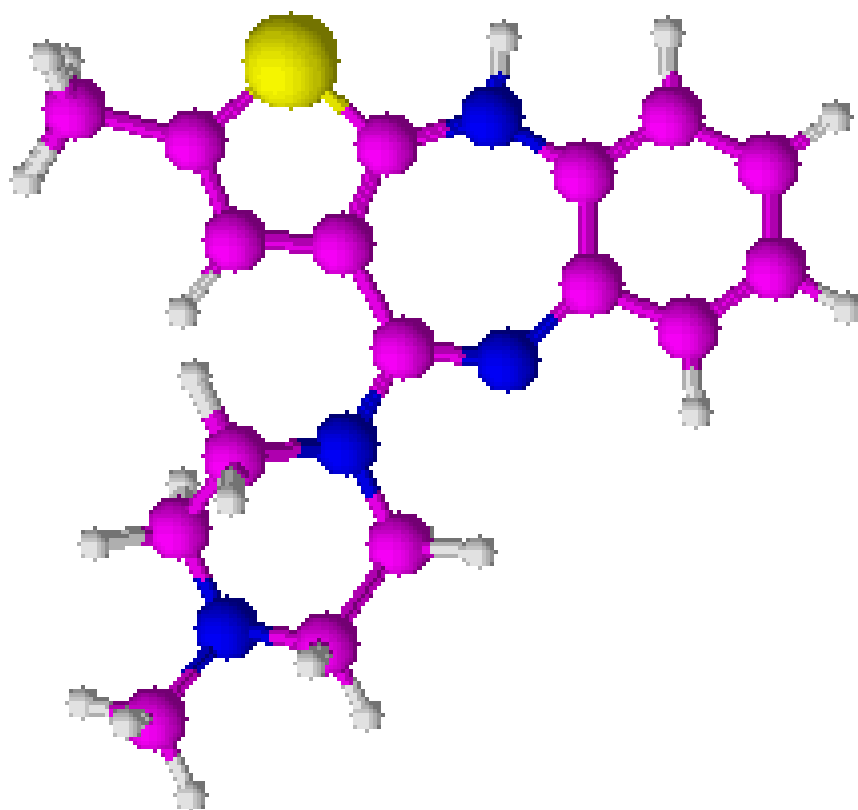
O uso de olanzapina no Brasil tem ganhado maior destaque a partir de sua inclusão, em 1999, na Lista de Medicamentos Excepcionais do Ministério da Saúde. Em 2004 a olanzapina foi o terceiro medicamento mais solicitado à este órgão público.

Contudo, os altos custos e o fato de ser um fármaco muito pouco solúvel, faz com que a olanzapina possua entraves à terapêutica da esquizofrenia. Assim, faz-se necessário o desenvolvimento farmacotécnico de uma formulação farmacêutica que possibilite melhor dissolução, absorção e, conseqüentemente, biodisponibilidade do fármaco.

A melhoria da solubilidade pode levar ao desenvolvimento de formulações com menores doses, já que uma eficiência de dissolução maior levaria a um maior percentual de fármaco absorvido. Com isso, obter-se-iam formulações com custos reduzidos, possibilitando maior acesso aos medicamentos; menores investimentos em medicamentos adicionais para tratar efeitos colaterais; maior adesão ao tratamento, visto que os efeitos adversos estariam reduzidos; e maiores investimentos na melhoria dos serviços de atenção à saúde mental.

Uma alternativa plausível para incrementar a solubilidade da olanzapina é sua complexação com ciclodextrinas, moléculas capazes de alterar propriedades físico-químicas do fármaco, favorecendo assim sua dissolução e biodisponibilidade.

O desenvolvimento e produção industrial de uma forma farmacêutica a base de olanzapina, para utilização em terapias antipsicóticas, requer, portanto, a obtenção e caracterização de complexos de inclusão eficazes e com alto rendimento, justificando assim, pesquisas nesta área.



### ***3 OBJETIVOS***

---

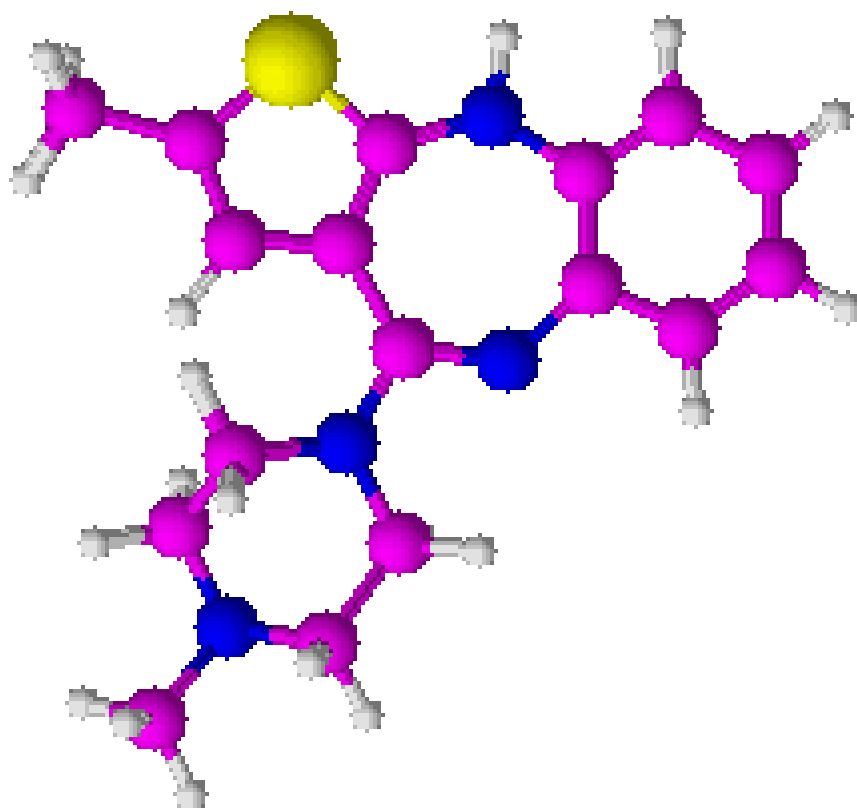
### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Desenvolvimento e caracterização de complexos de inclusão com olanzapina e metil  $\beta$ -ciclodextrina utilizando a rotaevaporação como método de obtenção.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Realizar caracterização físico-química do fármaco olanzapina;
- Definir a estequiometria do complexo de inclusão fármaco: ciclodextrina, além da eficiência de complexação, de acordo com dados do diagrama de solubilidade;
- Obter sistemas binários sólidos formados a partir de ciclodextrina de maior viabilidade tecnológica dentre  $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD, e olanzapina;
- Realizar caracterização físico-química entre mistura física e sistema rotaevaporado, visando demonstrar a complexação e a diferença na eficiência de dissolução da OLP.



## ***4 CAPÍTULO I***

---

**Artigo 1 - Esquizofrenia: da fisiopatologia ao tratamento farmacológico com olanzapina e suas limitações.**

*Artigo a ser submetido*

## **ESQUIZOFRENIA: DA FISIOPATOLOGIA AO TRATAMENTO FARMACOLÓGICO COM OLANZAPINA E SUAS LIMITAÇÕES.**

**Márcia Rocha de Freitas<sup>1</sup>, Larissa Araújo Rolim<sup>2</sup>, Lariza Darlene dos Santos Alves<sup>2</sup>, Pedro José Rolim-Neto<sup>2</sup>, José Lamartine Soares Sobrinho<sup>2</sup>, Miracy Muniz Albuquerque<sup>1</sup>**

*<sup>1</sup>Núcleo de controle químico de medicamentos e correlatos – NCQMC,*

*Universidade Federal de Pernambuco,*

*<sup>2</sup>Laboratório de Tecnologia de Medicamentos – LTM, Universidade Federal de Pernambuco.*

### **RESUMO**

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico complexo, de caráter crônico, podendo gerar sérios prejuízos na vida dos pacientes e familiares. Apesar dos progressos no tratamento da esquizofrenia, as medicações são bastante limitadas na sua eficácia clínica. Somado a isto, sua fisiopatologia ainda está para ser esclarecida. Assim, um número considerável de pesquisas sobre os processos neurofisiológicos envolvidos na doença tem sido realizadas para que tratamentos mais eficazes sejam desenvolvidos. Os objetivos deste artigo de revisão foram abordar a esquizofrenia desde a sua fisiopatologia, tratamento farmacológico até as limitações encontradas para uso seguro, eficaz e racional do fármaco de escolha. Para a realização deste estudo foi efetuado um levantamento bibliográfico de informações que demonstrem a situação da esquizofrenia, do seu tratamento farmacológico, do uso da olanzapina e das tecnologias farmacêuticas aplicáveis para otimizar a produção deste antipsicótico. Verificou-se que a hipótese de hiperfunção dopaminérgica é a mais profundamente estudada e continua sendo o modelo neuroquímico mais aceito para explicar a doença. As opções terapêuticas de tratamento de pacientes esquizofrênicos foram ampliadas com a introdução dos antipsicóticos de segunda geração, como clozapina, olanzapina (OLP) e risperidona. Contudo, os altos custos e o fato de ser um fármaco muito pouco solúvel, faz com que a olanzapina possua entraves à terapêutica da esquizofrenia. Várias técnicas têm sido usadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Estas incluem a formação de formas amorfas sólidas, nanopartículas, dispersão sólida (DS), formação de sal e formação de complexos solúveis em água, além de sistemas multicomponentes. Diante do número significativo de pacientes acometidos pela psicose esquizofrenia e do aumento do número de casos a cada ano, verifica-se ser esta doença de relevante importância à saúde pública, tanto no que diz

respeito ao conhecimento fisiopatológico da doença quanto à terapêutica utilizada. Sendo a OLP o fármaco de escolha, ressalta-se a importância em driblar seus entraves físico-químicos para que se possa obter uma forma farmacêutica com solubilidade e biodisponibilidade otimizada.

Palavras – chave: Esquizofrenia. Olanzapina. Tratamento. Complexos de inclusão.

## **INTRODUÇÃO**

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico que acomete aproximadamente 1% da população ao longo da vida. A manifestação da doença se dá, em geral, no auge do seu potencial produtivo e o curso da doença é debilitante. Apesar dos progressos no tratamento da esquizofrenia, como a introdução de antipsicóticos atípicos, os medicamentos continuam sendo bastante limitados na sua eficácia clínica. Somado a isto, sua fisiopatologia ainda está para ser esclarecida. Assim, um número considerável de pesquisas sobre os processos neurofisiológicos envolvidos na doença tem sido realizadas para que tratamentos mais eficazes sejam desenvolvidos (BRESSANA & PILOWSKY, 2003).

Estudos revelam que pacientes esquizofrênicos apresentam uma taxa de mortalidade duas vezes maior que a da população em geral devido à maior prevalência e à gravidade das condições clínicas, e a expectativa de vida é 20% menor se comparada à média das pessoas não portadoras da doença. Embora a maior mortalidade seja relacionada à frequência de suicídio, observa-se que, geralmente, os pacientes esquizofrênicos morrem em virtude de causas comuns, tais como: doença respiratória, infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (NEWMAN & BLAND, 1991).

Adicionalmente, os pacientes com esquizofrenia, em sua maioria, consomem altas taxas de bebidas alcoólicas, são dependentes de nicotina (50% a 90%), têm o apetite aumentado, ingerem altas quantidades de carboidratos e não praticam atividade física. Provavelmente isto se deva aos próprios sintomas negativos da doença, pelo efeito sedativo dos medicamentos, além da permanência nos leitos dos hospitais. Tais hábitos também devem ser ressaltados no entendimento da taxa de mortalidade aumentada dos pacientes em questão (LEITÃO-AZEVEDO et al., 2007).

A fisiopatologia da esquizofrenia permanece pouco compreendida. Segundo Pantelis e Lambert (2003 apud FAVALLI et al., 2011, p.1) enquanto o tratamento antipsicótico pode ser muito eficaz, quase 40% dos pacientes alcançam

apenas uma resposta parcial e 10% nenhuma resposta. Melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos é, portanto, necessária para conceber tratamentos direcionados e melhorar os resultados terapêuticos para esses pacientes.

O sistema dopaminérgico é o mais profundamente estudado. A hipótese de hiperfunção dopaminérgica continua sendo o modelo neuroquímico mais aceito para explicar a doença. As duas principais fontes de evidência sustentando esta hipótese são: indução de quadros psicóticos por anfetamina (agente que induz liberação de dopamina); o efeito terapêutico dos fármacos antipsicóticos se dá através do bloqueio de receptores dopaminérgicos tipo D2 (KAPUR & SEEMAN, 2001). Um dos achados mais importantes em esquizofrenia é a hiper-responsividade do sistema dopaminérgico durante a fase de exacerbação da doença (LARUELLE et al., 1999).

Assim, escolher o antipsicótico adequado é um dos mais desafiantes problemas quando se trata do tratamento da esquizofrenia. Os pacientes podem não responder ao tratamento antipsicótico, apesar de ser, aparentemente, a terapia ideal. Sintomas positivos e negativos persistentes ainda são encontrados em pacientes iniciais e em pacientes com recaída, apesar do cumprimento comprovado da terapêutica. Uma dose inadequada e baixos níveis plasmáticos, fatores psicossociais e abuso de álcool ou de drogas têm sido sugeridos como razões para isso. Outros fatores que também influenciam a escolha do medicamento incluem efeitos colaterais angustiantes (sedação, hipersalivação ou boca seca, acatisia, disfunção sexual), com efeitos colaterais negativos em consequência das medicações (ganho de peso, hipotensão ortostática, diabetes, hiperprolactinemia) e os efeitos adversos que causam risco de morte (agranulocitose, síndrome neuroléptica maligna). Além disso, a preferência do paciente, frequentemente independente da eficácia e objetivas preocupações de segurança é uma variável cada vez mais importante neste contexto (EDLINGER et al., 2009).

As opções terapêuticas de tratamento de pacientes com esquizofrenia foram ampliadas com a introdução dos antipsicóticos de segunda geração, como clozapina, olanzapina (OLP) e risperidona. Esses fármacos são recomendadas como medicamentos de primeira escolha, especialmente para o tratamento de pacientes em primeiro episódio da doença. Estes medicamentos possuem eficácia semelhante no tratamento de sintomas psicóticos, com a exceção da clozapina que é recomendada apenas para o tratamento da esquizofrenia refratária, embora possa haver diferenças clinicamente significativas em pacientes individuais. O médico é confrontado com o

problema de qual antipsicótico deve escolher para tratar o paciente da melhor forma possível não só quando se inicia o tratamento, mas também quando é confrontado com a necessidade de mudar o medicamento devido a uma das razões acima descritas. A base de dados para este processo é fraca e as diretrizes são mais frequentemente baseadas no consenso de especialistas do que em ensaios clínicos. A escolha do fármaco antipsicótico deve ser feita em conjunto pelo indivíduo e médico responsável pelo tratamento, com base nos benefícios e efeitos colaterais informados (EDLINGER et al., 2009).

Em 1999, o uso de OLP no Brasil ganhou maior destaque a partir de sua inclusão na Lista de Medicamentos Excepcionais do Ministério da Saúde. Em 2004 a OLP foi o terceiro medicamento mais solicitado a este órgão público. Contudo, os altos custos e o fato de a ser um fármaco muito pouco solúvel, faz com que a olanzapina possua entraves à terapêutica da esquizofrenia (FROTA, 2003; BRESSANA & PILOWSKY, 2003).

A OLP é um agente psicotrópico pertencente à classe das tienobenzodiazepinas, obtida a partir de modificações na estrutura química da clozapina, trazendo como vantagem a ausência de efeitos hematológicos. Ela mostra alta afinidade *in vitro* por receptores de serotonina, dopamina, histamina e muscarínicos. Desde sua introdução em 1997, tem sido aprovada em 84 países para tratamento da esquizofrenia e distúrbios relacionados (RAJENDRAPRASAD & BASAVAIAH, 2009).

Devido a sua forma cristalina e caráter lipofílico, a OLP apresenta-se como fármaco pouco solúvel em água afetando sua dissolução e, conseqüentemente, absorção. O desenvolvimento de uma forma farmacêutica que produza biodisponibilidade uniforme do fármaco para a realização de ensaios toxicológicos mais consistentes, que comprovem a eficácia e segurança da OLP em terapias antipsicóticas consiste em um desafio para o desenvolvimento tecnológico (FREITAS et al., 2012).

A solubilidade de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral, justificando-se assim, a importância e necessidade do conhecimento da solubilidade de fármacos (RAMA et al., 2006).

Como forma de superar as limitações impostas pela solubilidade em água da OLP, alternativas tecnológicas se fazem necessárias, como a formação de complexos de inclusão com moléculas de ciclodextrinas. A partir da formação de complexos é

possível alterar propriedades físico-químicas da molécula culminando assim numa solubilização otimizada do fármaco e, conseqüentemente, biodisponibilidade incrementada (FREITAS et al., 2012).

Os objetivos deste artigo de revisão foram abordar a esquizofrenia desde a sua fisiopatologia, tratamento farmacológico até as limitações encontradas para uso seguro, eficaz e racional do fármaco de escolha.

## **METODOLOGIA**

Para a realização deste estudo foi efetuado um levantamento bibliográfico que consiste em análise e descrição bibliográfica de livros, monografias, dissertações e teses, artigos e cartilhas de informações que demonstrem a situação da esquizofrenia, do tratamento farmacológico desta psicose, do uso da olanzapina e das tecnologias farmacêuticas aplicáveis para otimizar a produção deste antipsicótico.

Foram selecionados artigos publicados em diversas línguas sobre o referente assunto em intervalos de publicação diferentes entre 1986 a 2012.

## **FISIOPATOLOGIA DA ESQUIZOFRENIA**

A esquizofrenia é a doença paradigmática da psiquiatria. É uma síndrome clínica complexa, de caráter crônico, podendo gerar sérios prejuízos na vida dos pacientes e dos familiares. O impacto da doença provoca perdas funcionais, relacionadas a habilidades de trabalho, afetivas e de relacionamento social (MENEZES, 2006; WAGNER & KING, 2005).

A ideia de uma alteração biológica como agente causador da esquizofrenia é antiga. Devido a isto, tal doença foi classificada dentro do grupo das demências endógenas. Embora fossem desconhecidas suas causas reais, o conceito de endogenicidade foi fundamental visto que centrou na própria constituição do indivíduo a origem da doença. Inicialmente cogitou-se a idéia de processo neurodegenerativo. Contudo, Alzheimer, através de estudos neuropatológicos, não observou gliose reativa, típica destes processos, nos pacientes esquizofrênicos (BOGERTS, 1999).

A partir do advento da ressonância magnética, alguns estudos com medidas repetidas deste exame em pacientes esquizofrênicos revelaram que algumas alterações cerebrais, como a dilatação de ventrículos, podem progredir ao longo do tempo, fazendo ressurgir assim, a hipótese de ocorrência de processos neurodegenerativos durante o curso da doença (HO et al., 2003).

Diante das dificuldades metodológicas inerentes aos estudos neuropatológicos, dos achados inconsistentes e do advento dos antipsicóticos na década de 1950, as pesquisas passaram então a focar os neurotransmissores como elementos centrais na gênese da esquizofrenia (ARARIPE-NETO; BRESSAN; BUSSATO-FILHO, 2007).

Durante décadas, a hipótese predominante acerca da fisiopatologia da esquizofrenia estava centrada sobre as disfunções do sistema dopaminérgico. No entanto, evidência recente sugere que agora o sistema dopaminérgico pode ser "normal" em sua configuração, mas é regulado anormalmente por processos modulatórios (GRACE, 2012).

Estudos convergentes em animais e em humanos têm agora focado o hipocampo como um componente central na geração da psicose e possivelmente outros sintomas da esquizofrenia. Assim, tem sido demonstrado que a atividade no hipocampo ventral regulam a responsividade do neurônio à dopamina, controlando um número de neurônios de dopamina que podem ser periodicamente ativados por estímulos. Deste modo, esta estrutura determina o ganho do sinal de dopamina em resposta a estímulos. No entanto, na esquizofrenia, o hipocampo parece ser hiper ativo, possivelmente devido a atenuação da função de interneurônios inibidores. Como resultado, o sistema de dopamina é conduzido para um estado muito sensível. Medicamentos atuais têm focado no bloqueio dos receptores da dopamina hiperestimulados, no entanto, isto parece ser agora antecedente ao processo patológico. As abordagens terapêuticas que se concentram em normalizar a função do hipocampo pode revelar-se vias de tratamento mais eficazes para o paciente a esquizofrenia (GRACE, 2012).

ARARIPE-NETO, BRESSAN e BUSSATO FILHO (2007) cogitaram a possibilidade que diversos neurotransmissores possam estar envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia. No entanto, a demonstração de estudos epidemiológicos de fatores de risco genéticos e ambientais, somada aos achados de estudos neuropatológicos e de neuroimagem, favorece um modelo interativo em que inúmeros eventos concorrem para uma alteração não restrita apenas a sistemas neurotransmissores isolados, mas também a todo um desenvolvimento cerebral alterado.

A proliferação neuronal e das células da glia, a migração celular, a diferenciação morfológica e bioquímica e a formação de sinapses dependem de complexas interações intracelulares com o ambiente celular, as quais determinam cada fase do processo de desenvolvimento cerebral. Esses eventos são definidos pela carga genética individual, mas podem ser modulados por fatores ambientais. Uma variação genética ou um fator

ambiental podem levar a uma cadeia de eventos, em que ocorrendo numa fase sensível, por sua vez, podem determinar um desenvolvimento cerebral alterado, eliciando uma estrutura mais vulnerável ao surgimento e perpetuação da psicose e/ou de outros sintomas que a compõem (WEINBERGER; BERMAN; ZEC, 1986; LEWIS & LEVITT, 2002).

Existem ainda, fortes indícios de que a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo estejam intrinsecamente envolvidos na fisiopatologia da esquizofrenia. Alguns estudos relatam problemas com a defesa antioxidante e aumento da peroxidação lipídica em pacientes esquizofrênicos virgens de tratamento e naqueles tratados cronicamente com neurolépticos típicos. Tal teoria é sustentada no conhecimento da maior vulnerabilidade do Sistema Nervoso Central frente ao estresse oxidativo visto que possui alta taxa de consumo de oxigênio, elevados níveis de lipídios poli-insaturados capazes de sofrer peroxidação lipídica e auto-oxidação de alguns neurotransmissores que pode levar à formação de espécies reativas do oxigênio (AGUIAR et al., 2010).

Em meio a tantos questionamentos sobre a fisiopatologia dessa desordem devastadora, a hipótese dopaminérgica conduziu, por alguns anos, a linha primária de investigação, com base nos fortes dados farmacológicos que indicam que as drogas que aumentam a transmissão dopaminérgica irá exacerbar a psicose em pacientes com esquizofrenia, enquanto que todas as drogas atualmente utilizados para o tratamento da esquizofrenia agem sobre o receptor D2 de dopamina (KAPUR & REMINGTON, 2001).

No entanto, há pouca evidência para uma substancial deficiência no próprio sistema dopaminérgico no cérebro do paciente com esquizofrenia. Isto levou à um modelo no qual o sistema dopaminérgico em si provavelmente seja normal, entretanto está sendo conduzido de uma forma anormal por regiões do cérebro em que se encontra déficit primário. Mas, que sistema no cérebro esquizofrenico está dirigindo esta hiper responsividade no sistema dopaminérgico? Um sistema em particular, que tem atraído substancial atenção é o sistema glutamatérgico. Assim, as drogas que alteraram a função do glutamato, particularmente aqueles que atuam sobre receptores NMDA, exibem potentes efeitos psicotomiméticos que muitas vezes são indistinguíveis da esquizofrenia (JAVITT & ZUKIN, 1991).

Há várias regiões que surgiram como locais potenciais para desregulação no cérebro do paciente esquizofrenico. Uma região que chegou à fama precoce é o córtex pré frontal. Esta região é conhecida por estar envolvida em função de

execução, e é bem estabelecida que esta função está prejudicada em pacientes com esquizofrenia. De fato, estudos de imagem mostram que os indivíduos normais ativam o córtex em tarefas de memória de trabalho, enquanto pacientes com esquizofrenia não conseguem realizar esta ativação quando eles não conseguem completar a tarefa com precisão. Esses dados foram interpretados como uma deficiência na atividade cortical pré frontal. No entanto, estudos mais recentes sugerem que o córtex pré-frontal pode ser hiper ativo na esquizofrenia, tal que não pode ser mais ativado durante uma tarefa, e isto pode levar a um desempenho de tarefas ineficaz (GRACE, 2012).

Apesar dos diversos estudos realizados, tal transtorno psiquiátrico ainda não possui fisiopatologia totalmente esclarecida. Ainda que uma disfunção dopaminérgica esteja bem estabelecida, há uma série de evidências sugerindo uma disfunção do sistema glutamatérgico na doença. Acredita-se ainda, que existem as interações entre os sistemas dopaminérgico e glutamatérgico que possam explicar a gênese da doença. Desta forma, os estados hiperdopaminérgicos encontrados na esquizofrenia podem estar associados a uma alteração glutamatérgica (BRESSANA & PILOWSKY, 2003).

A falta de elucidação clara acerca da fisiopatologia da doença abre espaço para que a comunidade científica possa estudar quais as reais causas dessa psicose, permitindo assim desenvolvimento e otimização de medicamentos focados nos receptores químicos relacionados com as causas da doença. A partir disto pode-se chegar a uma terapêutica mais racional, segura e eficaz para os pacientes que sofrem dessa psicose.

## **TRATAMENTO FARMACOLÓGICO DA ESQUIZOFRENIA**

Inicialmente a terapia da esquizofrenia era baseada apenas no uso de neurolépticos típicos ou de primeira geração, como haloperidol. Atualmente, tem-se um arsenal terapêutico mais abrangente e eficaz. O surgimento de antipsicóticos atípicos ou de segunda geração como OLP, quetiapina e risperidona trouxe como vantagem a ausência de efeitos colaterais extrapiramidais, já que possuem pouca afinidade pelos receptores dopaminérgicos D2, e uma melhor eficácia no tratamento da esquizofrenia refratária (ELKIS, 2001).

Muitos fatores influenciam a escolha de antipsicóticos em pacientes esquizofrenicos, mas a evidência de condução desta escolha é limitada. Edlinger et al. (2009) demonstrou que a preferência por um medicamento sobre o outro depende principalmente do seu perfil de efeitos secundários bem como da

severidade dos sintomas. Isso pode refletir o fato que os antipsicóticos de nova geração têm mais diferenças no seu perfil de segurança / tolerabilidade que em eficácia característica. Embora esse conhecimento ajude a orientar médicos na escolha da droga, a tradução do ensaio clínico em necessidades individuais do doente continua a ser um desafio assustador. No futuro teste de DNA preditivo pode tornar-se mais confiável, especialmente os efeitos colaterais dos medicamentos antipsicóticos, como ganho de peso. Isso vai ajudar a orientar o médico na escolha dos medicamentos para pacientes individuais (EDLINGER et al., 2009; MÜLLER & KENNEDY, 2006).

Outro possível fator que deve desempenhar um papel na escolha psiquiátrica de antipsicóticos é a decisão compartilhada: médico e paciente compartilham informações e responsabilidades pelas decisões médicas. Intervenções a partir destas decisões compartilhadas tem conduzido a uma tendência de menos hospitalizações e tem um efeito positivo a curto prazo em parâmetros como envolvimento com drogas, atitudes, conhecimentos e decisões no tratamento (EDLINGER et al., 2009).

Apesar do progresso da ciência e da introdução da terapia com medicamentos antipsicóticos para a esquizofrenia, os resultados clínicos ainda não são satisfatórios. Existe uma elevada percentagem de pacientes que são refratários ao tratamento, e a evolução da doença é desfavorável em muitos dos indivíduos afetados (MÜLLER, 2008). Já está bem estabelecido que 70% dos pacientes com esquizofrenia respondem a neurolépticos convencionais, sendo os 30% restantes considerados refratários. Considerando-se a prevalência da esquizofrenia em torno de 1% da população de risco (15-45 anos), presume-se que haja pelo menos um milhão de pacientes com esquizofrenia no Brasil, e destes, cerca de 300 mil são refratários (ELKIS, 2001).

A falta de adesão ao tratamento ocorre em 50% dos casos de esquizofrenia e está diretamente associada a desfechos graves como o aumento do risco de suicídio, do uso de drogas ilícitas, internações, recaídas etc. (SHIRAKAWA et al., 2008).

### **OLANZAPINA: FÁRMACO DE ESCOLHA**

Nos últimos anos pode-se observar várias melhorias no tratamento de transtornos psiquiátricos. Em particular, muitos fármacos novos foram disponibilizados para o tratamento da esquizofrenia. As novas drogas causam menos efeitos extrapiramidais secundários do que as drogas anteriores, sendo a OLP o antipsicótico atípico mais recentemente disponível para o tratamento desta psicose (KRISHNAIAH et al., 2010).

A olanzapina 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno (2,3-b)(1,5) benzodiazepina (Figura 1) é um psicotrópico amplamente utilizado. Foi obtida pela primeira vez em 1982, na Inglaterra, por um grupo de pesquisadores da indústria farmacêutica Eli Lilly and Company® a partir de modificações estruturais da clozapina. Por apresentar-se como alternativa hematologicamente mais segura em relação ao tratamento com clozapina, a OLP passou a despertar o interesse das indústrias farmacêuticas, sendo posteriormente comercializada em 1996 em mais de 84 países. Nos Estados Unidos a OLP é o agente antipsicótico atípico mais comumente utilizado. (RÊGO; MOURA; MOITA, 2010; REGULSKA & KARPINSKA, 2012).

No Brasil, somente em 1999, a OLP foi incluída na lista de medicamentos excepcionais do Ministério da Saúde e, desde então, se tornou um dos fármacos mais utilizados no tratamento dos sintomas positivos, como delírios e alucinações, e negativos da esquizofrenia, como embotamento afetivo, retraimento emocional e pensamento estereotipado (FROTA, 2003; BRESSANA & PILOWSKY, 2003).

Sob o aspecto farmacológico, a OLP é um antagonista dos receptores de dopamina D1 e D2. Além disso, tem propriedades anticolinérgicas e atividade antagonista em receptores noradrenérgicos (RAO et al., 2011). Observa-se assim, que a OLP liga-se a mais de uma dúzia de receptores de serotonina, dopamina, noradrenalina, histamina e muscarínicos. Este tipo de perfil normalmente seria inaceitável, contudo a OLP tem sido altamente eficaz no tratamento de distúrbios psicóticos (REGULSKA & KARPINSKA, 2012).

A OLP está entre a maioria dos medicamentos antipsicóticos comumente prescritos, não só para adultos, mas também para os jovens. O tratamento com OLP está associado a diversos riscos de saúde, incluindo complicações cardiovasculares, risco aumentado de morte súbita cardíaca, complicações diabéticas que variam de "intolerância à glicose leve para cetoacidose diabética" e estado de mal epiléptico fatal. Não é surpreendente, portanto, que a OLP é comumente presente em casos pós-morte (SAAR et al., 2012).

No entanto, a OLP ainda trás efeitos não desejáveis aos pacientes. Uma meta-análise conduzida por Allison et al. (1999) avaliou a alteração de peso secundária à administração de antipsicóticos após 10 semanas, onde a OLP mostrou um ganho de peso de 3,51 kg nos pacientes tratados. Este aumento da adiposidade visceral leva à diminuição da sensibilidade à insulina, sendo o principal mecanismo pelo qual o excesso de peso leva às disfunções do metabolismo glicídico. Outros efeitos adversos

metabólicos, como dislipidemias, também ocorrem com o antipsicótico citado (TEIXEIRA & ROCHA, 2006).

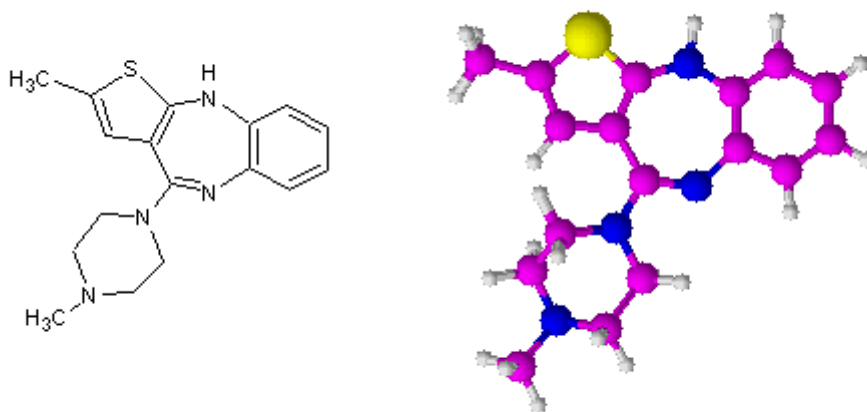


Figura 1 Estrutura molecular da OLP.

### LIMITAÇÃO À UTILIZAÇÃO DA OLANZAPINA: SOLUBILIDADE

Solubilidade é um parâmetro físico-químico que representa a concentração da solução de um fármaco em equilíbrio com o soluto. É o fator que mais afeta a velocidade de dissolução (MARCOLONGO, 2003).

A OLP é classificada como fármaco muito pouco solúvel em água em virtude de apresentar solubilidade de  $0,227 \text{ mg.mL}^{-1}$  a  $25^{\circ}\text{C}$ . Este fato está relacionado às características cristalinas apresentadas pelo fármaco a partir de análise térmica com Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Nesta análise pode-se evidenciar ainda um pico endotérmico intenso e bem definido a  $197,9^{\circ}\text{C}$ , que corresponde à temperatura de fusão do fármaco (FREITAS et al., 2012).

Segundo estudos conduzidos por Rêgo, Moura e Moita (2010), a OLP apresentou boa solubilidade em metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol e álcool butílico terciário. O mesmo estudo demonstrou evidência de fotodecomposição desse fármaco. Isto mostra que uma solução de OLP apresenta sensibilidade à luz, porém, quando protegida da mesma, pode ser estocada em temperaturas médias que variam de  $4,0 \pm 3,0^{\circ}\text{C}$  (temperatura da geladeira) a  $25,0 \pm 5,0^{\circ}\text{C}$  (temperatura ambiente).

A maioria das novas entidades químicas em desenvolvimento nos dias atuais é pretendida a serem usadas como formas farmacêuticas sólidas que originam uma concentração *in vivo* no plasma eficaz e reprodutível após administração oral. De fato,

muitos fármacos que são substâncias pouco solúveis em água, não são bem absorvidos após administração oral, o que pode diminuir a eficácia inerente da droga. O incremento da biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água constitui um dos aspectos mais desafiantes no desenvolvimento de fármacos. Embora a formação de sal, solubilização e redução do tamanho de partícula sejam usados geralmente para aumentar a taxa de dissolução e absorção oral e biodisponibilidade de algumas drogas, há algumas limitações práticas destas técnicas (LIMA et al., 2011).

O sucesso no desenvolvimento de novos fármacos requer não apenas estudos da otimização da rota sintética ou de suas interações ligante-receptor, é necessário também que o fármaco atinja seu alvo. Para que a absorção do fármaco ocorra é necessário que as suas moléculas estejam em solução no local de absorção. A dissolução da forma farmacêutica sólida nos fluidos gastrointestinais é um pré-requisito para que ocorra a absorção seguida da distribuição do fármaco para a circulação sistêmica. A OLP, assim como 35-40% de todos os novos compostos, possui solubilidade em água limitada e certamente apresentará subsequentes problemas para alcançar níveis sanguíneos terapeuticamente relevantes (GUEDES, 2008).

A velocidade de dissolução é também influenciada pelo tamanho da partícula, polimorfismo, molhabilidade, adsorção aos excipientes, formação de complexos de reduzida solubilidade, formação de dispersões sólidas, processo de produção, tempo de desintegração e natureza do revestimento (DRESSMAN et al., 1998).

Várias técnicas têm sido usadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Estas incluem a formação com formas amorfas sólidas, nanopartículas, dispersão sólida, formação de sal e formação de complexos solúveis em água, além de sistemas multicomponentes solúveis em água. Por estas técnicas tenta-se aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir a otimização de seu potencial (LIMA et al., 2011).

Dentre as técnicas mais utilizadas para incrementar a solubilidade de fármacos tem-se a formação de dispersões sólidas. Nestes sistemas, polímeros hidrofílicos têm sido comumente usados como carreadores de fármacos. Polivinilpirrolidona e polietilenoglicol têm sido vastamente empregados pelo seu baixo custo e alta solubilidade aquosa (LIMA et al., 2011).

Outra técnica comumente utilizada é a formação de complexos de inclusão a partir da interação do fármaco hidrofóbico com o interior das moléculas de ciclodextrina. Estas moléculas possuem exterior hidrofílico que favorece interação com

água permitindo assim que a solubilidade do fármaco seja incrementada (FREITAS et al., 2012).

A eficiência de complexação das ciclodextrinas (CD's) pode ser aumentada por adição ao meio de complexação uma reduzida quantidade de polímero hidrossolúvel, seguida de aquecimento em autoclave, resultando na formação de um sistema multicomponente fármaco – ciclodextrina – polímero hidrossolúvel também designado por co-complexo (fármaco – CD – polímero). Este sistema apresenta um notável aumento de solubilidade comparativamente ao correspondente complexo binário (SOARES – SOBRINHO et al., 2010).

O aumento da solubilidade, da taxa de dissolução e da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis é um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento moderno de medicamentos. Portanto, há uma urgente necessidade de se encontrar soluções para a formulação desses medicamentos com fármacos pouco solúveis. Estas novas técnicas de formulação devem ser, preferencialmente, aplicadas para qualquer fármaco pouco solúvel, independente de sua estrutura química e dimensão molecular espacial (GUEDES, 2008).

## **COMPLEXO DE INCLUSÃO X OLANZAPINA**

O uso de CD's em aplicações farmacêuticas envolvendo solubilização tem expandido exponencialmente a cada década. Isto se deve ao fato das CD's possuírem propriedades complexantes capazes de promoverem o aumento da solubilidade, dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis. Derivados estruturais das CD's naturais com maior capacidade de inclusão tem despertado o interesse farmacêutico, estando presentes na composição dos medicamentos hoje comercializados na Europa, Japão e Estados Unidos. As vantagens de aplicação das CD's justificam seu uso atual nas diferentes formas farmacêuticas (GUEDES, 2008).

CD's são oligossacarídeos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações glicosídicas  $\alpha$  (1-4) (Figura 2a), obtidas a partir da degradação enzimática do amido. As CD's mais conhecidas são as naturais  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -ciclodextrina, constituídas respectivamente por 6, 7 e 8 unidades de glicose, que adotam a conformação de cadeira. Do ponto de vista estrutural, as CD's apresentam-se na forma de “cones truncados” com o lado mais largo formado pelas hidroxilas secundárias em C-2 e C-3 e a face mais estreita constituída pelas hidroxilas primárias ligadas em C-6 (Figura 2b). A dimensão da cavidade é determinada pelo número de unidades de glicose

constituintes da CD. Os átomos de oxigênio envolvidos nas ligações glicosídicas (em C-1 e C-4) e os átomos de hidrogênio ligados em C-3 e C-5 determinam o caráter hidrofóbico do interior da cavidade das CD's (Figura 2b) (BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004; SOARES-SOBRINHO et al., 2012).

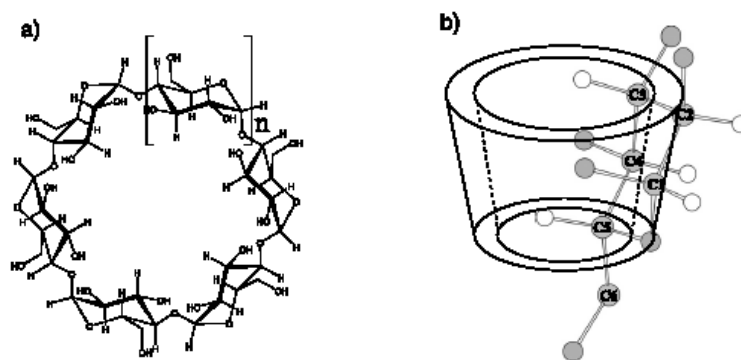


Figura 2 (a) Estrutura geral das ciclodextrinas (CD's). Os derivados  $\alpha$ ,  $\beta$  e  $\gamma$ -CD são definidos por  $n=1$ , 2 e 3, respectivamente. (b) Representação esquemática da estrutura tridimensional das CD's, mostrando as características estruturais definidas pelo arranjo das unidades de glicose (BRITTO; NASCIMENTO JÚNIOR; SANTOS, 2004).

A formação de complexos de inclusão (CI's) com CD's é atribuído normalmente a valores negativos de variação de entalpia ( $\Delta H$ ), confirmando assim a existência de forte interação hidrofóbica (GRILLO et al., 2008). Tal formação está condicionada a diversos fatores limitantes, como forma, tamanho e polaridade das moléculas hóspedes. É necessário ter condições ideais para se obter a efetiva encapsulação molecular. Isso significa dizer que, nem toda molécula com limitações de solubilidade seja complexada. Entretanto, artifícios mais recentes de complexação envolvendo sistemas ternários ou quaternários, conhecidos como multicomponentes, tem obtido sucesso na eficiência da complexação onde a aplicação dos sistemas binários (fármaco-CD) não era efetiva ou vantajosa (GUEDES, 2008).

Interações são formadas e quebradas durante a formação dos complexos, e em solução aquosa, esses complexos são rapidamente dissociados. A taxa de formação e dissociação dos complexos é muito próxima, sendo sua meia-vida de apenas alguns milésimos de segundo, o que significa que os complexos fármaco-CD estão continuamente sendo formados e dissociados (PRESMICH, 2009).

Em solução, há um equilíbrio entre as moléculas complexadas. Sabe-se que a formação de CI's com CD's pode exercer alguns efeitos sobre a molécula complexada,

como melhorar a solubilidade, acelerar ou retardar a absorção e estabilizar o fármaco em solução (LIU, 2000; LYRA et al., 2012). Todos esses efeitos são dependentes da estabilidade e da solubilidade do complexo formado. A alteração da solubilidade pode ser representada por um aumento até certo limite ou até mesmo uma diminuição da solubilidade inicial. Existe uma correlação direta entre a estabilidade do complexo e o melhoramento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água. Estas mudanças são importantes na aplicabilidade deste composto, podendo causar melhoras na biodistribuição do mesmo, e servindo ainda, como parâmetros para se detectar o fenômeno da complexação (GRILLO et al., 2008).

O método de complexação, a solubilidade da CD e a proporção de fármaco/ CD no complexo são fatores que podem influenciar o grau de dissolução do fármaco. O incremento na velocidade de dissolução obtido pelas CD's está associado à sua capacidade de reduzir a tensão interfacial entre o fármaco e o meio de dissolução, devido às suas propriedades molhantes. O aumento da solubilidade resultante da complexação também pode ser explicado pela redução da cristalinidade dos compostos, visto que compostos com características amorfas são mais facilmente solúveis que compostos mais cristalinos (RAMA et al., 2006; SOARES SOBRINHO et al., 2011).

Os métodos mais comuns utilizados na preparação de CI's no estado sólido são a malaxagem, a liofilização, a rotaevaporação, a co-precipitação, a secagem por pulverização, o aquecimento em recipiente fechado, a aplicação de fluidos supercríticos, entre outros. Em todos os referidos métodos, a água desempenha um papel fundamental na formação do complexo, pois para além de ser a força impulsionadora da interação hidrofóbica entre a molécula hóspede com a cavidade da CD, é também o meio de dissolução de todos os componentes que figuram no meio de complexação. Além disso, a presença de água torna-se necessária para manter a integridade dos complexos formados, estando muitas vezes envolvida na formação de pontes de hidrogênio entre os grupos hidroxila de moléculas de CD's adjacentes que originam uma rede que, por sua vez, promove a inclusão das moléculas de fármaco no complexo (HEDGES, 1998).

Não existe um único método de preparação de CI's eleito como sendo ideal. O melhor processo terá de ser desenvolvido e investigado para cada sistema de complexação em estudo. Outros aspectos importantes que podem condicionar a escolha dos métodos de complexação são o rendimento do produto obtido, assim como a facilidade de transposição de escala laboratorial para industrial (THOMPSON, 1997).

A preparação de CI's fármaco-CD envolve a formação de pós microcristalinos ou amorfos. Porém não existe nenhuma segurança de que o produto formado seja um verdadeiro complexo de inclusão, pois a formação dos complexos em solução não garante a sua obtenção e isolamento no estado sólido. De fato, o produto sólido resultante pode ser apenas uma dispersão fina do fármaco no seio da CD sob a forma hidratada. Por essa razão, a caracterização físico-química dos produtos resultantes no estado sólido torna-se indispensável. Esta avaliação é de extrema importância uma vez que se destina a avaliar a eficiência de complexação dos diferentes métodos de preparação utilizados na obtenção de complexos de inclusão no estado sólido (RIBEIRO, 2005).

São muitas as metodologias que podem ser utilizadas para a investigação dos CI's no estado sólido, apresentando todas elas características próprias que permitem não só detectar a formação do complexo de inclusão, como também conhecer a sua estrutura química e interações que se estabelecem entre os diferentes componentes que o constituem. Assim, diversas metodologias estão disponíveis, nomeadamente Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG), Difração de Raio X (DRX), espectroscopia de infravermelho (IV), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), entre outras (LYRA et al., 2010; RIBEIRO, 2005).

## **CONCLUSÃO**

Diante do número significativo de pacientes acometidos pela psicose esquizofrenia e aumento do número de casos a cada ano, verifica-se ser esta doença de relevante importância à saúde pública, tanto no que diz respeito ao conhecimento fisiopatológico da doença quanto à terapêutica utilizada. Sendo a OLP o fármaco de escolha, ressalta-se a importância em superar seus entraves físico-químicos para que se possa obter uma forma farmacêutica com solubilidade e biodisponibilidade otimizada. Dentre as formas de aumentar a solubilidade deste fármaco insolúvel em água cita-se a complexação com ciclodextrinas. Estas moléculas complexantes são capazes de promover alterações estruturais que culminam no aumento da solubilidade, dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis.

## REFERENCIAS

AGUIAR, C.C.T.; ALVES, C.D.; RODRIGUES, F.A.R.; BARROS, F.W.A.; SOUSA, F.C.F.; VASCONCELOS, S.M.M.; MACEDO, D.S. Esquizofrenia: uma doença inflamatória? **J. Bras. de Psiq.**, v.59, n.1, p. 52-57, 2010.

ALLISON D.B.; MENTORE J.L.; HEO M.; CHANDLER L.P.; CAPPELLERI J.C.; INFANTE M.C.; WEIDEN P.J. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. **Am J. Psychiatry**, v.156, n.11, p.1686-96, 1999.

ARARIPE-NETO, A.G.A.; BRESSAN, R.F.; BUSSATO-FILHO, G.; Fisiopatologia da esquizofrenia: aspectos atuais. **Rev. Psiq. Clín.**, v.34, n. 2, p. 198-203, 2007.

BOGERTS, B. The neuropathology of schizophrenia diseases: historical aspects and present knowledge. **Eur. Arch Psychiatry Clin. Neurosci.**, v. 249, n.4, p. 2-13, 1999.

BRESSANA, R.A.; PILOWSKY L.S. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.25, n.3, p. 177-83, 2003.

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

DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution testing as a prognostic tool for oral drug absorption: immediate release dosage forms. **Pharm. Res.**, New York, v.15, n.1, p.11-22, 1998.

EDLINGER, M.; HOFER, A.; RETTENBACHER, M.A.; BAUMGARTNER, S.; WIDSCHWENDTER, C.G.; KEMMLER, G.; NECO, N.A.; FLEISCHHACKER, W.W. Factors influencing the choice of new generation antipsychotic medication in the treatment of patients with schizophrenia. **Schizophrenia Research**, v.113, p.246-251, 2009.

ELKIS, H. Clozapina, esquizofrenia refratária e evidências. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.23, n.2, p. 59-60, 2001.

FAVALLI, G.; LI, J.; ABREU, P.B.; WONG, A.H.C.; DASKALAKIS, Z.J. The role of BDNF in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **J. of Psych. Research**, v.46, p.1-11, 2011.

FREITAS, M.R.; ROLIM, L.A.; SOARES, M.F.R.; ROLIM NETO, P.J.; ALBUQUERQUE, M.M.; SOARES SOBRINHO, J.L. Inclusion complex of methyl-beta-cyclodextrin and olanzapine as potential drug delivery system for schizophrenia. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.1095-1100, 2012.

FROTA L. H. **Cinquenta Anos de Medicamentos Antipsicóticos em Psiquiatria**, 1. ed CD-Rom, Dilem Informática: Rio de Janeiro, 2003.

GRACE, A.A. Dopamine system dysregulation by the hippocampus: Implications for the pathophysiology and treatment of schizophrenia. **Neuropharmacology**, v. 62, p.1342-1348, 2012.

GRILLO, R.; MELO, N.F.S.; FRACETO, L.F.; BRITO, C.L.; TROSSINI, G.H.G.; MENEZES, C.M.S.; FERREIRA, E.I.; MORAES, C.M. Caracterização físico-química de complexo de inclusão entre hidroximetilnitrofurazona e hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. **Quím. Nova**, v.31, n.2, p. 290-295, 2008.

GUEDES, F.L. **Obtenção dos Sistemas de Dispersão Sólida e Complexos de Inclusão para Solubilização de Benzilideno-Imidazolina-2,4-Diona e Benzilideno-Tiazolidina-2,4-Diona**. Recife, 2008. 115p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco.

HEDGES, A.R. Industrial applications of cyclodextrins. **Chem. Rev.**, v.98, p. 2035-2044, 1998.

HO, B.C.; ANDREASEN, N.C.; NOPOULOS, P.; ARNDT, S.; MAGNOTTA, V.; FLAUM, M. Progressive structural brain abnormalities and their relationship to clinical outcome: a longitudinal magnetic resonance imaging study early in schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**, v. 60, p. 585-594, 2003.

JAVITT, D.C., ZUKIN, S.R. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. **Am. J. Psychiatry**, v.148, p.1301-1308, 1991.

KAPUR, S.; SEEMAN, P. Does fast dissociation from the dopamine d(2) receptor explain the action of atypical antipsychotics? A new hypothesis. **Am J Psychiatry**, v.158, p. 360-9, 2001.

KAPUR, S., REMINGTON, G. Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. **Biol. Psych.**, v.50, p.873-883, 2001.

KRISHNAIAH, C.; MURTHY, M.V.; KUMAR, R.; MUKKANTI, K. Development of a stabilityindicating UPLC method for determining olanzapina and its associated degradation products present in active pharmaceutical ingredients and pharmaceutical dosage forms. **J. Pharm. and Biomed. Anal.**, v.54, p.667–673, 2010.

LARUELLE M.; ABI-DARGHAM A.; GIL R.; KEGELES L.; INNIS R. Increased dopamine transmission in schizophrenia: relationship to illness phases. **Biol. Psych.**, v.46, p. 56-72, 1999.

LEITÃO-AZEVEDO, C.L.; GUIMARÃES, L.R.; LOBATO, M.I.; ABREU, P.B. Ganho de peso e alterações metabólicas em esquizofrenia. **Rev. Psiq. Clín.**, v. 34, n.2, p. 184-188, 2007.

LEWIS, D.A.; LEVITT, P. Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. **Annu. Rev. Neurosci.**, v.25, p. 409-432, 2002.

LIMA, A.A.; SOARES SOBRINHO, J.L.; SILVA, J.L.; CORRÊA JR, R.A.; LYRA, M.A., SANTOS,F.L.; OLIVEIRA, B.G.; HERNANDES, M.Z.; ROLIM, L.A.; ROLIM NETO, P.J. The use of solid dispersion systems in hydrophilic carriers to increase benzimidazole solubility. **J. Pharm. Sci.**, v.100, n.6, p.2443-2451, 2011.

LIU, R.; *Water Insoluble Drug Formulation*, Interpharm/CRC Press: New York, 2000.

LYRA, M. A. M.; ALVES, L. D. S.; FONTES, D. A. F.; SOARES SOBRINHO, J. L.; ROLIM NETO, P. J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 31, p. 117-124, 2010.

LYRA, M.A.M.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; FIGUEIREDO, REGINA C.B.Q.; SANDES, J.M. ; LIMA, A.A.N.; TENÓRIO, R.P. ; FONTES, D. A. F. ; SANTOS, F. L.A.; ROLIM, L.A.; ROLIM NETO, P.J. Study of Benznidazole cyclodextrin inclusion complexes, cytotoxicity and trypanocidal activity. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 73, p. 397-404, 2012.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. São Paulo, 2003. 117p. Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

MENEZES R.S. Psicoses esquizofrênicas. In: Souza CAC, Cardoso RG, editores. **Psiquiatria forense: 80 anos de prática institucional**. Porto Alegre: Sulina, 2006. p. 213-26.

MÜLLER, D.J., KENNEDY, J.L. Genetics of antipsychotic treatment emergent weight gain in schizophrenia. **Pharmacogenomics**, v.7, n.6, p.863–887, 2006.

MÜLLER N. Inflammation and the glutamate system in schizophrenia: implications for therapeutic targets and drug development. **Expert Opin. Ther. Targets.**, v.12, n.12, p. 1497-507, 2008.

NEWMAN, S.C.; BLAND R.C. Mortality in a cohort of patients with schizophrenia: a record linkage study. **Can. J. Psychiatry**, v. 36, n.4, p. 239-245, 1991.

PRESMICH, G. M. **Incremento da solubilidade/Dissolução da  $\beta$ -lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexos de inclusão**. Recife, 2009. 167p. Tese de doutorado – Universidade Federal de Pernambuco.

RAJENDRAPRASAD, N.; BASAVIAIAH, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. **Braz. J. of Pharmac. Scien.**, v.45, n.3, jul./set. 2009.

RAMA, A.C.R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I.V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- $\beta$  ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Rev. Bras. de Ciên. Farmac.** v.42, n.1, jan./mar. 2006.

RAO, P.S.; RAY, U.K.; HIRIYANNA, S.G.; RAO, S.V.; SHARMA, H.K.; HANDA, V.K.; MUKKANTI, K. Identification of oxidative degradation impurities of Olanzapine drug substance as well as drug product. **J. Pharm. and Biomed. Anal.**, v.56, p.413–418, 2011.

RÊGO, J.F., MOURA, J.I.M., MOITA, G.C. Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. **Quím. Nova**, v. 33, n.00, p. 1-7, 2010.

REGULSKA, E.; KARPINSKA, J. Photocatalytic degradation of olanzapine in aqueous and river waters suspension of titanium dioxide. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 117– 118, p.96– 104, 2012.

RIBEIRO, L.S.S. **Sistemas Multicomponentes com ciclodextrinas como estratégia para otimizar a biodisponibilidade oral de fármacos**. Coimbra, 2005. 287 p. Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra.

SAAR, E.; GEROSTAMOULOS, D.; DRUMMER, O.H.; BEYER, J. Identification of 2-hydroxymethyl-olanzapine as a novel degradation product of olanzapina. **Forensic Sci. International**, (in press), 2012.

SOARES-SOBRINHO, J.L. ; SANTOS, F.L.A. ; LYRA, M. A.M. ; LARIZA, D.S.A.; ROLIM, L.A. ; LIMA, A.A.N.; NUNES, L.C.C. ; SOARES, M.F.R. ; ROLIM-NETO, P.J. ; TORRES-LABANDEIRA, J.J. Benznidazole drug delivery by binary and multicomponent inclusion complexes using cyclodextrins and polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 323-330, 2012.

SOARES SOBRINHO, J. L. ; SOARES, M.F.R.; ALVES, L.D.S.; LABANDEIRA, J. J. T.; ROLIM NETO, P. J. . Improving the solubility of the antichagasic drug benznidazole through formation of inclusion complex. **Química Nova** (Impresso), v.34, p. 1534-1538, 2011.

SOARES SOBRINHO, J.L.; SOARES, M.F.R.; ROLIM NETO, P.J.; TORRES-LABANDEIRA, J.J. Physicochemical study of solid-state benznidazole–cyclodextrin complexes. **J. Therm. Anal. and Calorim.**, v.106, n.2, p.319-325, 2010.

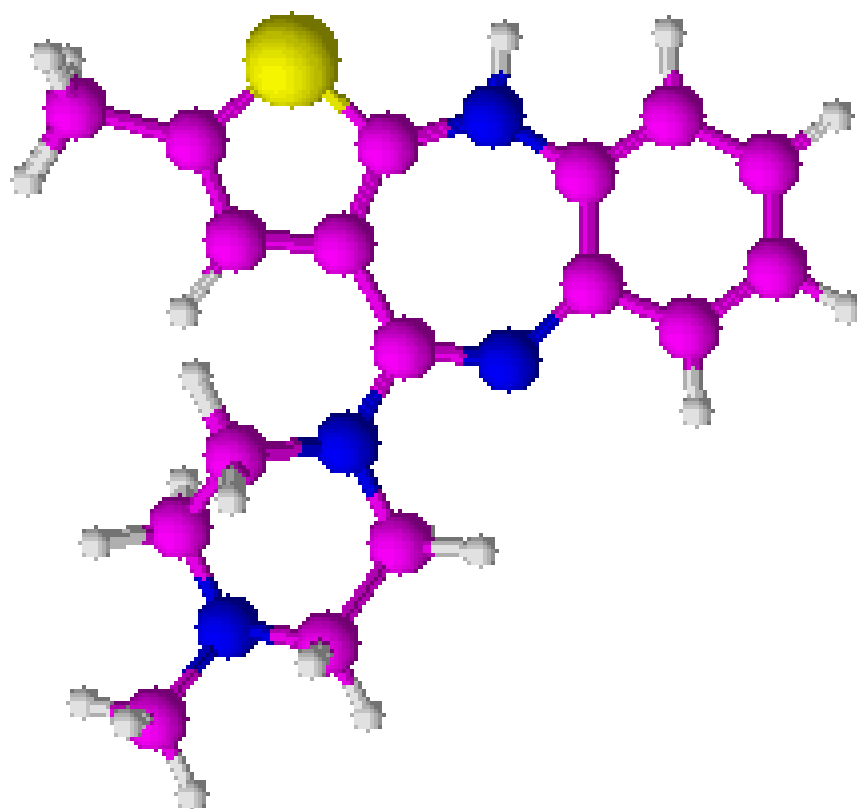
SHIRAKAWA, I., ATTUX, C., LACAZ, F.S., MALTA, S.M. Esquizofrenia: adesão ao Tratamento. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.30, n.4, p. 409-10, 2008.

TEIXEIRA, P. J. R.; ROCHA, F. L. Efeitos adversos metabólicos de antipsicóticos e estabilizadores de humor. **Rev. Psiqu. RS**, v.28, n.2, p. 186-196, maio/ago. 2006.

THOMPSON, D.O. Cyclodextrins – Enabling excipients: Their present and future use in pharmaceuticals. **Crit. Rev. Therap. Drug Carr. Syst.**, v.14, p. 1-104, 1997.

WAGNER L.C.; KING M. Existential needs of people with psychotic disorders in Porto Alegre, Brazil. **British J. of Psyc.**, v. 186, p.141-5, 2005.

WEINBERGER, D.R.; BERMAN, K.F.; ZEC, R.F. Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional cerebral blood flow evidence. **Arch. Gen. Psychiatry**, v. 4. p. 114-124, 1986.



## ***5 CAPÍTULO II***

---

**Caracterização físico-química do fármaco antipsicótico olanzapina**

## CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO FÁRMACO ANTIPSICÓTICO OLANZAPINA

### 1. INTRODUÇÃO

O conceito *Quality by Design* (QbD) na área farmacêutica é uma abordagem sistemática, científica e pró-ativa para o desenvolvimento farmacêutico, que começa com os objetivos pré-definidos que enfatiza os produtos, a compreensão dos processos e o controle do processo. A primeira fase do estudo é a coleta de dados das propriedades físico-químicas do fármaco, avaliando a possível formação de sal e os excipientes adequados, antes do início da formulação. Esta etapa é conhecida como pré-formulação (GOPINATH; NAIDU, 2011; YU, 2008 apud CHAVES, 2012).

Ao se tratar de fármacos muito pouco solúveis, a etapa de pré-formulação, torna-se ainda de maior relevância devido aos ensaios usualmente utilizados no controle de qualidade das matérias-primas, podendo não ser discriminativo, ocasionando desvios de qualidade antes (qualificação de fornecedores), durante (processo produtivo) e após (estabilidade de acompanhamento) a produção das formas farmacêuticas (SOARES-SOBRINHO et al., 2010).

A caracterização físico-química de um fármaco tem duas finalidades: a identificação e a avaliação da pureza do material a ser analisado. Estas informações quando não presentes em compêndios oficiais, permitem criar a sua carta de identidade, possibilitando sua padronização e avaliação de sua pureza, essenciais para o desenvolvimento de estudos de pré-formulação. Diversas ferramentas analíticas são utilizadas para caracterizar um fármaco, entre as quais, podemos citar difração de raio X, técnica espectroscópica vibracional no infravermelho, análises térmicas – calorimetria exploratória diferencial (DSC), análise térmica diferencial (DTA) e termogravimetria (TG) -, microscopia eletrônica de varredura, avaliação do perfil de dissolução, dentre outras (FREITAS NETO, 2012).

Os métodos termoanalíticos têm sido amplamente utilizados na área farmacêutica para avaliação da interação entre componentes de uma formulação, caracterização térmica, determinação da pureza e quantificação de fármacos e excipientes. Vários estudos descrevem a aplicação da TG, DTA e DSC, na identificação, determinação da estabilidade e decomposição térmica de inúmeros insumos farmacêuticos ativos, a partir de medições de perda de massa e mudança de

entalpia (OLIVEIRA, et al., 2010; SOARES-SOBRINHO et al., 2010; SOVIZI, 2010; TIȦA, et al., 2010).

Utilizada para o tratamento da esquizofrenia, a OLP, 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno (2,3-b)(1,5) benzodiazepina, mais importante antipsicótico atípico da nova geração, pertence à classe das tienobenzodiazepinas. Este fármaco foi obtido a partir de modificações na estrutura química da clozapina (figura 1), trazendo como vantagem a ausência de efeitos hematológicos (RAJENDRAPRASAD & BASAVAIAH, 2009).

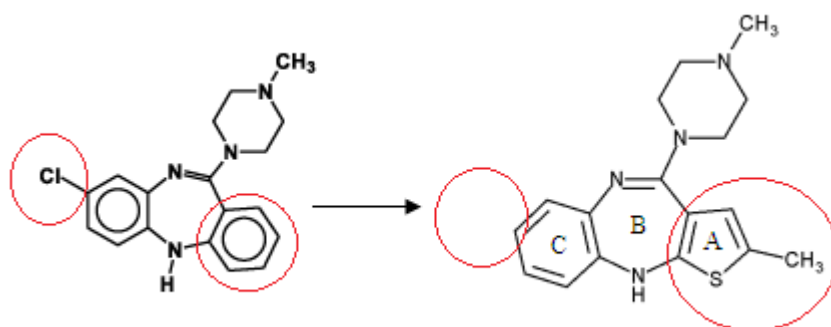


Figura 1 Formação da olanzapina a partir de modificações estruturais da clozapina.

Devido a sua importância farmacológica e crescente uso no tratamento da esquizofrenia, é de extrema relevância o estudo de suas características físico-químicas visando desenvolvimento de formas farmacêuticas seguras e eficazes. Esta caracterização se torna ainda mais importante quando se leva em consideração sua muito pouca solubilidade em água, podendo ser fator limitante à absorção da olanzapina (FREITAS et al., 2012).

O presente estudo visa realizar caracterização físico-química da olanzapina, servindo como base para o delineamento de formas farmacêuticas com este antipsicótico.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Analito e reagentes

A olanzapina foi adquirida da Gamma Comércio, Importação & Exportação LTDA (lote interno nº750) oriunda da Índia (lote 9OL003). As soluções foram preparadas utilizando água destilada. Todos os outros materiais utilizados foram de grau analítico ou grau HPLC, conforme aplicação.

## 2.2. Equipamentos

Foram utilizados nos experimentos balança analítica Eletrônica Balance FA2104N Bioprecisa<sup>®</sup>; mesa agitadora oscilante microprocessada Q225 M -Quimis<sup>®</sup>; espectrofotômetro Shimadzu<sup>®</sup> modelo UV/visível-1603; ultra-som 1.500 Barnson<sup>®</sup>; dissolutor VK 7010 Varian<sup>®</sup>; calorímetro de varredura Shimadzu<sup>®</sup> DSC-60H; termogravimetria DTG-60H Shimadzu<sup>®</sup>; espectômetro FT-IR da PerkinElmer<sup>®</sup>, modelo Spectrum 400; rotaevaporador MA-120 Marconi<sup>®</sup>; microscópio eletrônico de varredura Jeol<sup>®</sup> JSM – 5900; e equipamento de difração de raios-X de pó, Rigaku<sup>®</sup>, modelo Ultima.

## 2.3. Espectroscopia de Infravermelho

A aquisição dos espectros foi realizada diretamente na amostra sólida de OLP. Realizou-se uma média de 10 varreduras no intervalo de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$  com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

## 2.4. Análises Térmicas

### 2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

Amostra de OLP de peso aproximadamente 3 mg foi colocada em porta amostra de alumina. O comportamento térmico da amostra foi avaliado por aquecimento entre 30 °C e 600 °C na razão de 10 °C.min<sup>-1</sup>, sob atmosfera de nitrogênio de fluxo 50 mL/min. Realizou-se a calibração do DSC via ponto de fusão do padrão índio ( $156,6 \pm 0,3$  °C) e zinco ( $419,6 \pm 0,3$  °C), sendo o fluxo de calor e entalpia calibrados via ponto de fusão do índio ( $28,59 \pm 0,3$  J/g), sob as mesmas condições da amostra.

### 2.4.2. Termogravimetria

Amostra de OLP de peso aproximadamente 5 mg foram colocadas em porta amostra de platina. O comportamento térmico da amostra foi avaliado por aquecimento entre 30 °C e 600 °C na razão de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio de fluxo 50 mL/min. Realizou-se a calibração do TG via ponto de fusão do padrão índio ( $156,6 \pm 0,3$  °C) e zinco ( $419,6 \pm 0,3$  °C), sendo o fluxo de calor e entalpia calibrados via ponto de fusão do índio ( $28,59 \pm 0,3$  J/g, sob as mesmas condições da amostra. Para calibração do TG, também foi tomado como parâmetro os três processos degradativos do padrão de oxalato de cálcio, sendo o primeiro verificado entre 179,26 e 255,53 °C, o segundo

entre 504,67 e 531,75 °C e o terceiro entre 760,06 e 818,30 °C sob as mesmas condições da amostra. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS<sup>®</sup> (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu<sup>®</sup>.

#### **2.4.3. Estudo cinético de decomposição**

A investigação da cinética de degradação não – isotérmica da OLP foi obtida a partir dos dados de TG pela aplicação do método de Ozawa, utilizando o *software* apropriado instalado no equipamento TA60 Shimadzu<sup>®</sup>. Foram utilizadas razões de aquecimento de 2,5, 5,0, 10, 20 e 40°C.min<sup>-1</sup>, faixa de temperatura entre 30°C – 600°C, em porta amostra de alumina com 5±0,5 mg de amostra e atmosfera dinâmica de nitrogênio em (50 mL.min<sup>-1</sup>). Para o estudo cinético isotérmico, as curvas TG foram obtidas a partir do aquecimento das amostras até as temperaturas de 190°C, 200°C, 210°C, 220°C e 230°C, e mantidas em condições isotérmicas em atmosfera de N<sub>2</sub> (50 mL.min<sup>-1</sup>) durante o tempo necessário para uma perda de massa de 5±0,5% em porta amostra de alumina com 5±0,5 mg de amostra.

#### **2.5. Microscopia Eletrônica de Varredura**

A microscopia eletrônica de varredura foi realizada no laboratório de microscopia eletrônica do Departamento de Física da UFPE. Para a observação da morfologia da superfície da amostras foram fixadas pequenas quantidades da mesma numa fita dupla face de carbono, sob vácuo, com posterior metalização de uma fina película de ouro (15 nm), de modo a torná-la eletricamente condutora.

#### **2.6. Difração de Raios X**

Esta análise foi realizada no Instituto de Tecnologia de Pernambuco (ITEP). A análise de DRX foi realizada em um equipamento de difração de raios-X de pó, Rigaku<sup>®</sup>, modelo Ultima, operando com corrente de 20 mA, sob tensão de 40 kV e utilizando radiação K-alfa do cobre. A amostra foi colocada em lâminas de vidro escavadas e analisada sem tratamento prévio. A difração de raios X foi realizada percorrendo a região entre  $2\theta = 2^\circ$  e  $2\theta = 60^\circ$ .

## **2.7. Solubilidade da olanzapina**

A solubilidade aquosa da olanzapina foi determinada tomando quantidades em excesso deste produto para tubos de ensaio de 10 mL de capacidade, aos quais se adicionou 5 mL de água destilada. A suspensão obtida foi submetida à agitação em banho-maria à 25 °C durante 72 h. Posteriormente, realizou-se a filtração da solução em papel de filtro. Após adequada diluição da solução com água destilada, a determinação da concentração foi realizada a 228 nm por espectroscopia na região do ultravioleta, segundo a técnica de doseamento descrita a seguir.

## **2.8. Método Analítico de quantificação**

A partir da solução de olanzapina em álcool metílico, realizou-se diluição adequada da amostra em água para a leitura espectrofotométrica. Procedeu-se varredura no espectrofotômetro na faixa de 200 a 400 nm para escolher o comprimento de onda adequado para análise da OLP.

Para a quantificação da olanzapina foi preparada uma curva de calibração por espectrofotômetro, a partir da adaptação de método desenvolvido por RÊGO, MOURA & MOITA em 2010. Esta curva foi obtida a partir das concentrações de 0,5, 1, 2, 3, 4, 5 e 6  $\mu\text{g.mL}^{-1}$  de OLP em água.

Em seguida, realizou-se leituras no espectrofotômetro UV a 228 nm.

## **2.9. Teste de Dissolução**

A amostra em estudo foi colocada em cápsula incolor com peso de 10 mg de OLP. A análise foi realizada em triplicata. Os ensaios de dissolução foram realizados a temperatura de 37 °C ( $\pm 0,5$  °C), utilizando 900 mL de meio de dissolução (água), aparato pá e uma velocidade de agitação de 75 rpm. A quantificação da droga foi efetuada por espectroscopia UV a 228 nm, em intervalos de 15, 25, 30 e 60 minutos. A concentração de OLP foi posteriormente determinada contra a curva de calibração obtida inicialmente. O perfil de dissolução foi avaliado utilizando-se eficiência de dissolução no tempo de 30 minutos.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A caracterização físico-química do fármaco pode ser realizada através de diversas técnicas analíticas, que em geral, são especificadas na monografia de cada fármaco disponível em farmacopéia. Apesar disso, podem-se adotar outras técnicas de

caracterização, além das frequentemente adotadas para a obtenção de um arquivo mais completo sobre o fármaco. Dentre elas pode-se citar a análise térmica; determinações de tamanho e forma das partículas; técnicas espectrométricas como ultravioleta e infravermelho com transformada de Fourier; difração de raios-X; avaliação da dissolução, dentre outros (CHAVES, 2012).

### 3.1. Espectroscopia de Infravermelho

A espectroscopia de infravermelho constitui hoje uma das principais ferramentas analíticas para identificação e elucidação estruturais de substâncias orgânicas. Na área farmacêutica, suas principais aplicações encontram-se no controle de qualidade de princípio ativo e excipientes, caracterização de fármacos, identificação de polimorfismos, entre outras. Além disso, constitui uma técnica valiosa para a identificação de grupos funcionais das estruturas analisadas (FREITAS NETO, 2012).

É do conhecimento científico a existência de diferentes formas polimórficas para a OLP, sendo relatado duas diferentes formas por AYALA et al. (2006), polimorfos 1 e 2; e duas formas polimórficas por TIWARI, CHAWLA & BANSAL (2007), polimorfos I e II. Entretanto, observa-se que não há uma denominação comum entre as diferentes formas polimórficas estudadas, o que compromete o desenvolvimento científico acerca do assunto. A monografia do fármaco relatada na USP n°34 cita a existência de dois compostos relacionados, A e B, diferenciáveis pelo tempo de retenção e fator de resposta relativo apresentado em cromatogramas por cromatografia líquida de alta eficiência. Não há, entretanto, uma diferenciação clara, com riqueza de características físico-químicas que permita uma rápida e simples identificação das diferentes formas encontradas e correlação com o(s) polimorfo(s) responsável (is) pelas atividades terapêuticas.

Observa-se no espectro da OLP (Figura 2) uma banda correspondente ao grupo amina do anel que contem dois nitrogênios ( $3100-3400\text{ cm}^{-1}$ ) (BARBOSA & SANSIVIERO, 2005) (tabela 1). AYALA et al. (2006), ao realizar caracterização de formas polimórficas no estado sólido, evidenciaram bandas características na faixa relatada neste trabalho ( $3100-3400\text{ cm}^{-1}$ ) referente as formas polimórficas 1 e 2, sendo, portanto, uma banda comum ao composto estudado no presente trabalho. Assim tais bandas não permite diferenciação do composto estudado com os polimorfos evidenciados por AYALA et al. (2006).

Evidencia-se também bandas características de C=C ( $1450-1600\text{ cm}^{-1}$ ) (LOPES & FASCIO, 2004) (tabela 1), ligações estas presentes no anel “C” da OLP, e de ligação de hidrogênio entre o N-H do anel que contem dois nitrogênios. Tais bandas foram relatadas por AYALA et al. (2006) para as duas formas polimórficas estudadas, não permitindo assim diferenciação entre as mesmas e correlação de uma das formas polimórficas estudadas com a forma apresentada neste trabalho. Há ainda bandas características de N=C ( $570-705\text{ cm}^{-1}$ ) (HIRIYANNA et al., 2008) (tabela 1) do anel que contem dois nitrogênios no infravermelho.

No espectro da OLP, em torno de  $750\text{ cm}^{-1}$ , observa-se banda característica de C-H em compostos benzênicos 1,2 dissustituídos ( $735-770\text{ cm}^{-1}$ ) (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007) (tabela 1).

A presença de bandas entre  $2760-2820\text{ cm}^{-1}$  são características de N cíclico ligado a  $\text{CH}_3$  do anel piperazina (RESHETOV *et al.*, 1990) (tabela 1).

Tabela 1 Correlação entre número de onda ( $\text{cm}^{-1}$ ) de absorção no infravermelho e estrutura química.

| Número de onda (faixa) ( $\text{cm}^{-1}$ ) | Estrutura Química                                 |
|---------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| $3100-3400\text{ cm}^{-1}$                  | N-H cíclico                                       |
| $1450-1600\text{ cm}^{-1}$                  | C=C                                               |
| $570-705\text{ cm}^{-1}$                    | N=C                                               |
| $735-770\text{ cm}^{-1}$                    | C-H em compostos benzênicos 1,2<br>dissustituídos |
| $2760-2820\text{ cm}^{-1}$                  | N cíclico ligado a $\text{CH}_3$                  |

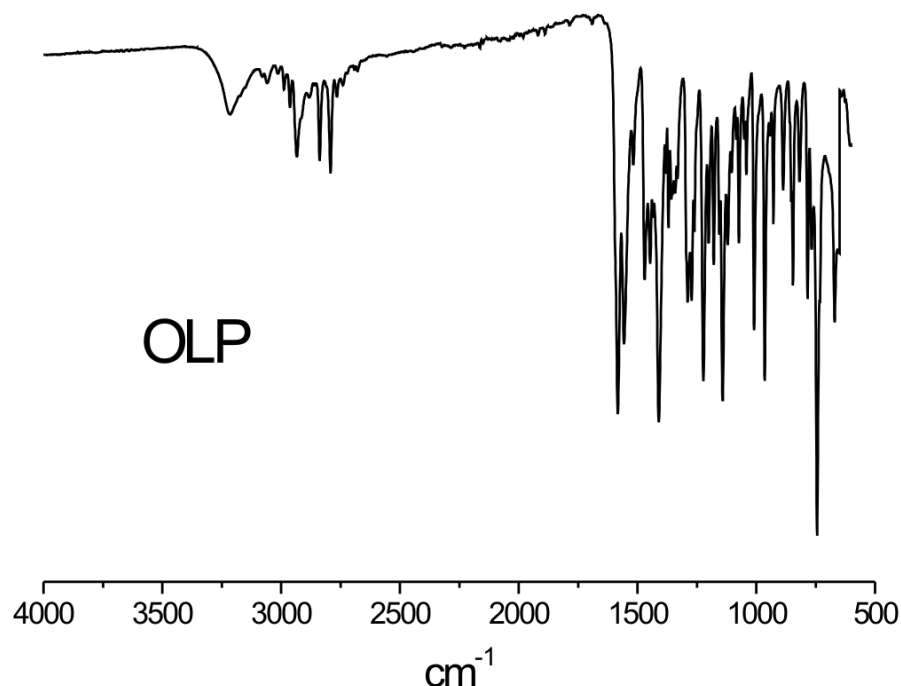


Figura 2 Espectro de Absorção na região vibracional do Infravermelho da OLP.

### 3.2. Análises térmicas

#### 3.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

O DSC é utilizado como um método de rotina para investigações qualitativas preliminares e rápidas, por avaliação do comportamento térmico das substâncias, além de ser uma ferramenta acessória à identificação dos fármacos. (GIORDANO; NOVAK; MOYANO, 2001).

O comportamento térmico da OLP observado por DSC é característico de um composto anidro e cristalino, sendo visível um pico endotérmico intenso e bem definido a 197,92 °C (Figura 3), que corresponde à temperatura de fusão do fármaco (HASSAN; SULEIMAN; NAJIB, 1990).

Acima de 250°C é possível evidenciar processos de degradação exotérmico da olanzapina. A curva de TG (Figura 4) comprova tal verificação a partir da elucidação de um processo degradativo após 250°C.

A pureza da OLP foi calculada através da aplicação da equação de Van't Hoff na linearização do evento de fusão, através do desvio da linearidade do mesmo, o qual

ocorre pela presença de impurezas. Conhecendo-se o desvio da linearidade, pode-se inferir sobre o fator de correção na linearização da reta. Assim, a pureza deste antipsicótico mostrou-se em torno de 98,08%, estando coerente com as especificações para o fármaco declaradas na monografia do mesmo (USP n°34).

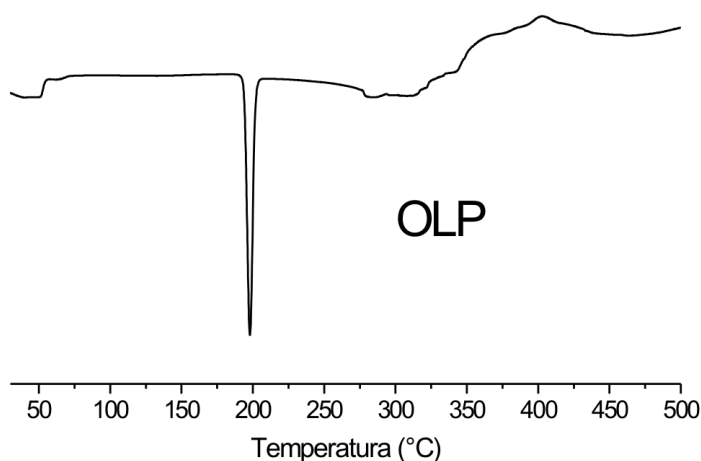


Figura 3 Curva de DSC da OLP na razão de 10°C.min<sup>-1</sup>.

### 3.2.2. Termogravimetria

Analisando a curva de TG da OLP observa-se que na temperatura correspondente à fusão da OLP (197,92 °C) apresentada nos resultados de DSC, não há variação de massa na amostra, confirmando, portanto, que tal pico refere-se à um processo físico (Figura 4).

Nas curvas de TG da OLP foi verificada uma etapa de perda de massa, correspondente a processo de degradação. A temperatura inicial de degradação foi de 263°C e a temperatura final de 353°C.

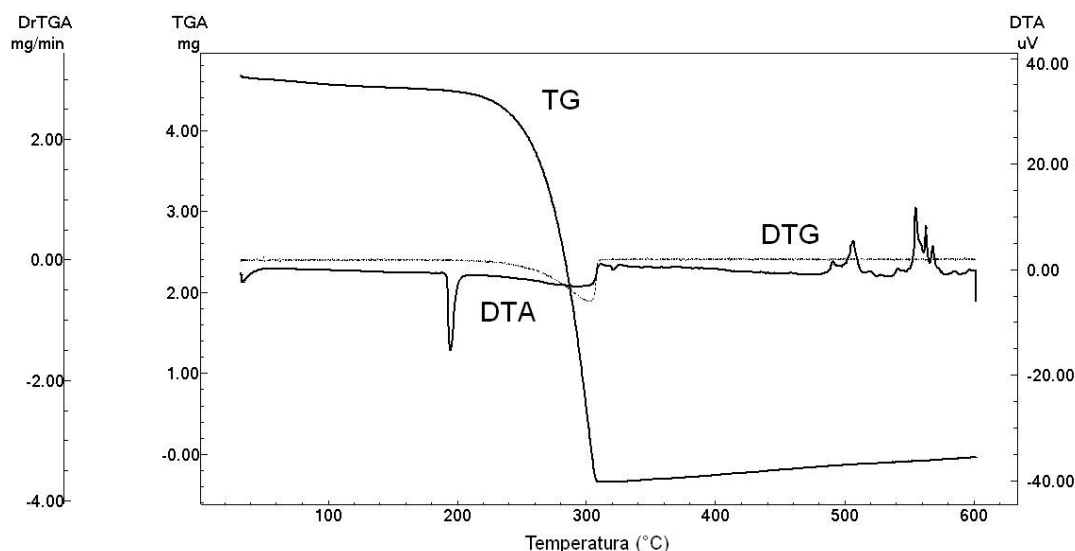


Figura 4 Curva de TG da OLP.

### 3.2.3. Estudo cinético de decomposição

O método não-isotérmico estabelecido por Osawa é um método para determinar os parâmetros de Arrhenius em condições dinâmicas de razão de aquecimento. A Energia de Ativação ( $E_a$ ) pode ser determinada a partir de um gráfico do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura,  $1/T$ , desde que  $f(\alpha)$  (fração decomposta de um sólido em função da temperatura) seja previamente conhecida (ARAÚJO, et al., 2005; FELIX, et al., 2009; SALVIO-NETO, MATOS, 2011; TIȚA, et al., 2010).

Os parâmetros cinéticos, Energia de ativação ( $E_a$ ), fator de frequência ( $A$ ) e a ordem da reação ( $n$ ) podem fornecer informações sobre o mecanismo e a razão de decomposição da reação e condições de armazenamento (SOVIZI, 2010; TIȚA, et al., 2010).

Os dados cinéticos não isotérmicos foram determinados pela plotagem da perda de massa *versus* temperatura de cinco curvas TG em diferentes razões de aquecimento (Figura 5). Foi utilizado o método de Ozawa, o mesmo é baseado nos cálculos da integral a partir da equação de Arrhenius para obtenção dos parâmetros cinéticos no início da etapa de decomposição térmica em torno de 210-310°C do OLP, conforme evidenciado na figura 6:  $E_a$  (energia de ativação) 101,21 KJ/mol,  $A$  (fator de frequência)  $2,839 \times 10^8 \text{ min}^{-1}$  e ordem de reação de 0,2.

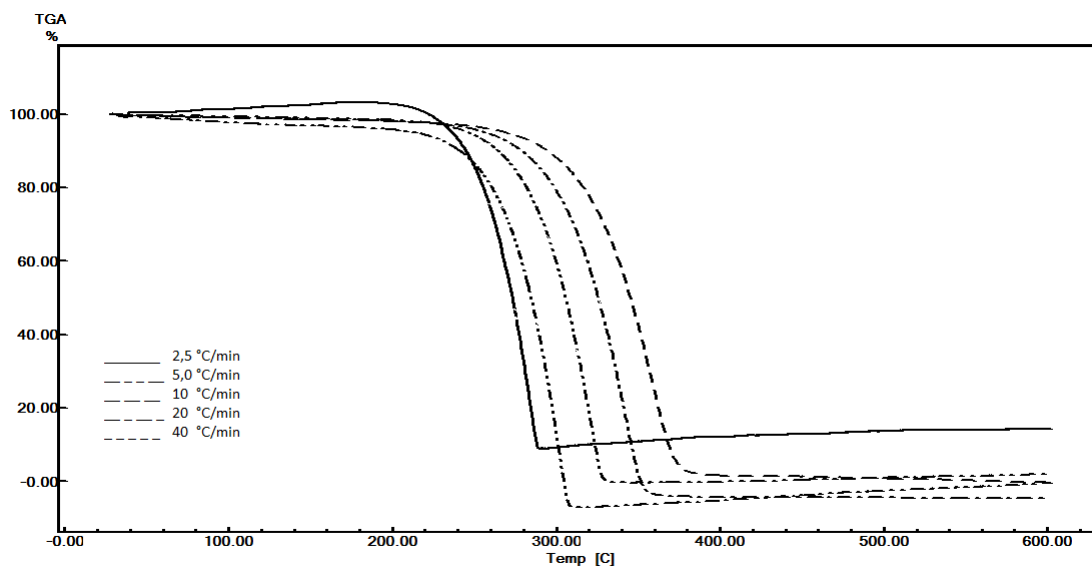


Figura 5 Curvas de TG da OLP obtidas em cinco razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40 °C/min) sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não isotérmico.

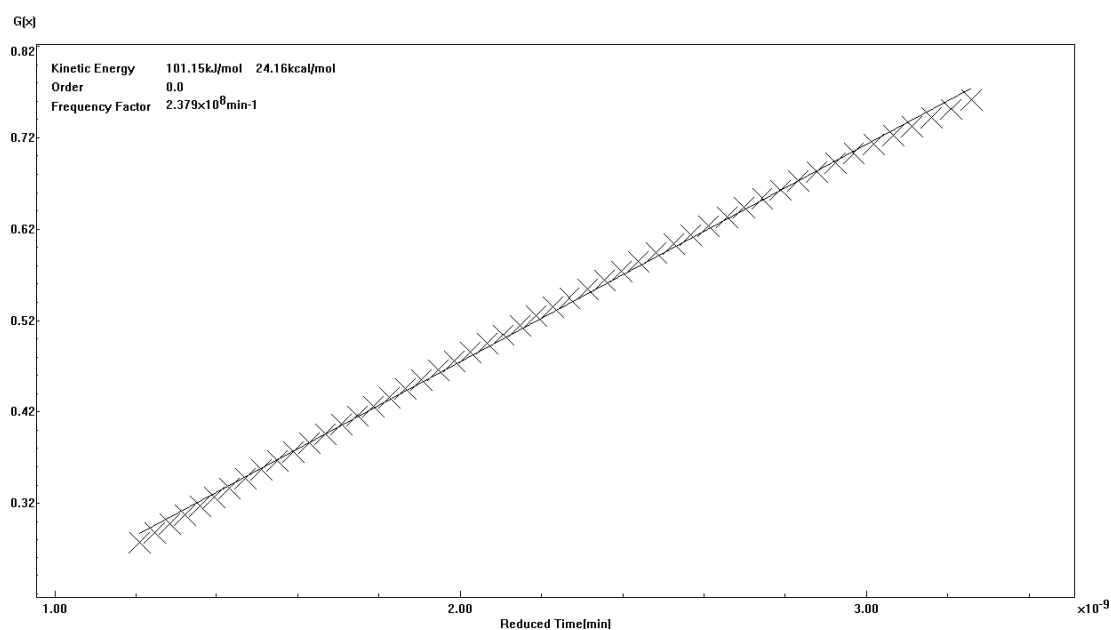


Figura 6 Plotagem das curvas TG para cálculo de Energia de ativação, ordem da reação e fator de frequência, a partir de diferentes razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40 °C/min).

A linearização do gráfico de Ozawa apresenta uma boa correlação linear entre as cinco razões de aquecimento (Figura 7)

(FELIX et al., 2009). As cinco curvas TG, evidenciadas na figura 4, indicam que a perda de massa entre 210°C a 310°C, ocorreu em uma única etapa, uma vez que uma única reação contribui para a perda de massa, ou seja, há apenas uma reação significativa ocorrendo e não é afetado por processos concorrentes (HOWELL & RAY, 2006). Os experimentos evidenciam ainda que as curvas de TG são deslocadas para maiores temperaturas, quando as razões de aquecimento aumentam (BERTOL et al., 2010; CIDES et al.; 2006).

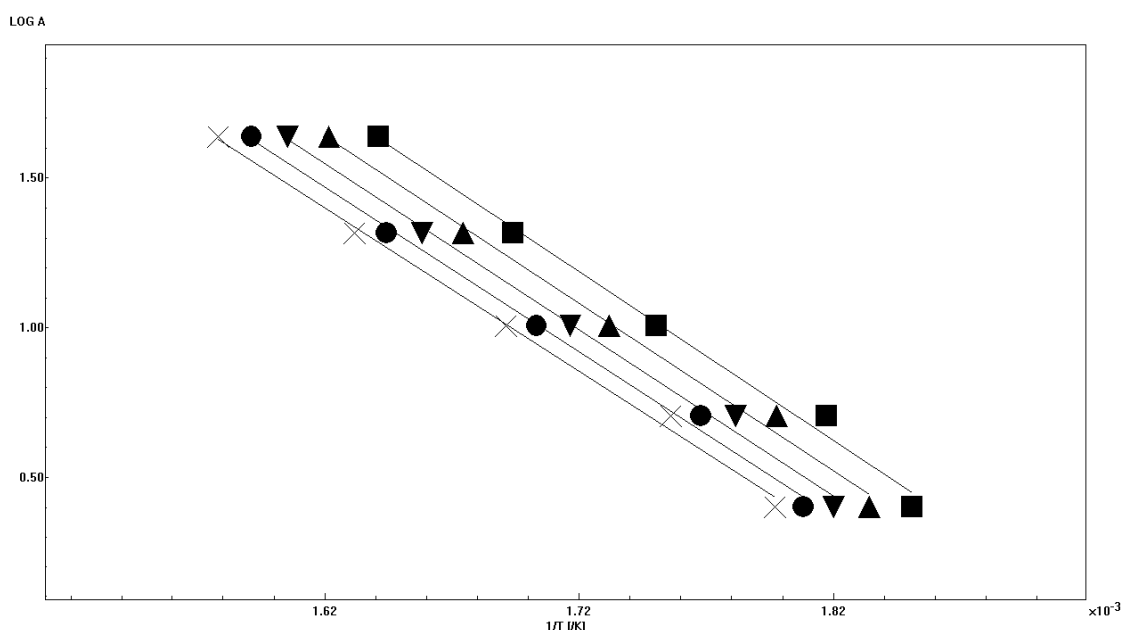


Figura 7 Linearização do gráfico de Ozawa a partir de curvas de TG da OLP em diferentes razões de aquecimento (2,5, 5,0, 10, 20 e 40°C/ min)

As isotermas apresentadas na Figura 8 mostram que quanto maior a temperatura, menor é o tempo necessário à perda de 5% da massa do fármaco, conforme resolução nº01 de 2005 (BRASIL, 2005). A partir dessas isotermas foi possível obter o gráfico de  $\ln t$  versus o inverso da temperatura  $1/T$  ( $K^{-1}$ ) também chamado gráfico de Arrhenius, onde a equação da reta ( $y=ax+b$ ) foi obtida por regressão linear para mensurar a linearidade e coeficiente de correlação ( $r$ ). A partir do coeficiente angular da reta obtida (Figura 9), encontrou-se uma energia de ativação de 95,51 KJ/mol. Alguns estudos mostram o cálculo da energia de ativação como ideal pelo método de Ozawa, outros apontam o método de Arrhenius como o modelo ideal, assim a energia de ativação foi calculada pelos diferentes métodos mostrando que não há significativas diferenças entre

os dois valores (COSTA, 2012; CHAVES, 2012; ARAUJO, et al., 2005; CIDES, et al., 2006; SALVIO-NETO, MATOS, 2011; SANTOS, et al., 2004).

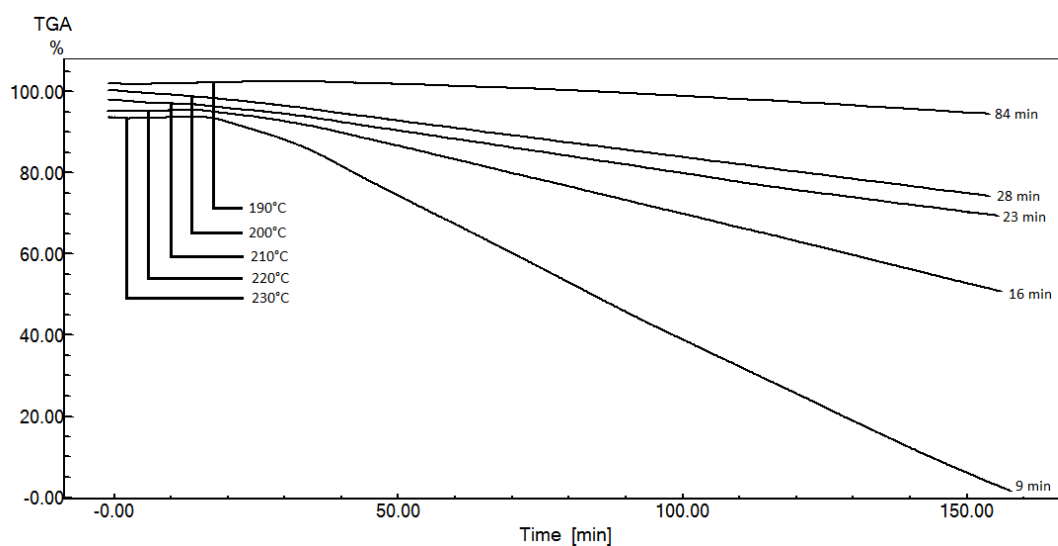


Figura 8 Curvas isotérmicas da OLP em diferentes temperaturas (190°C, 200°C, 210°C, 220°C e 230°C)

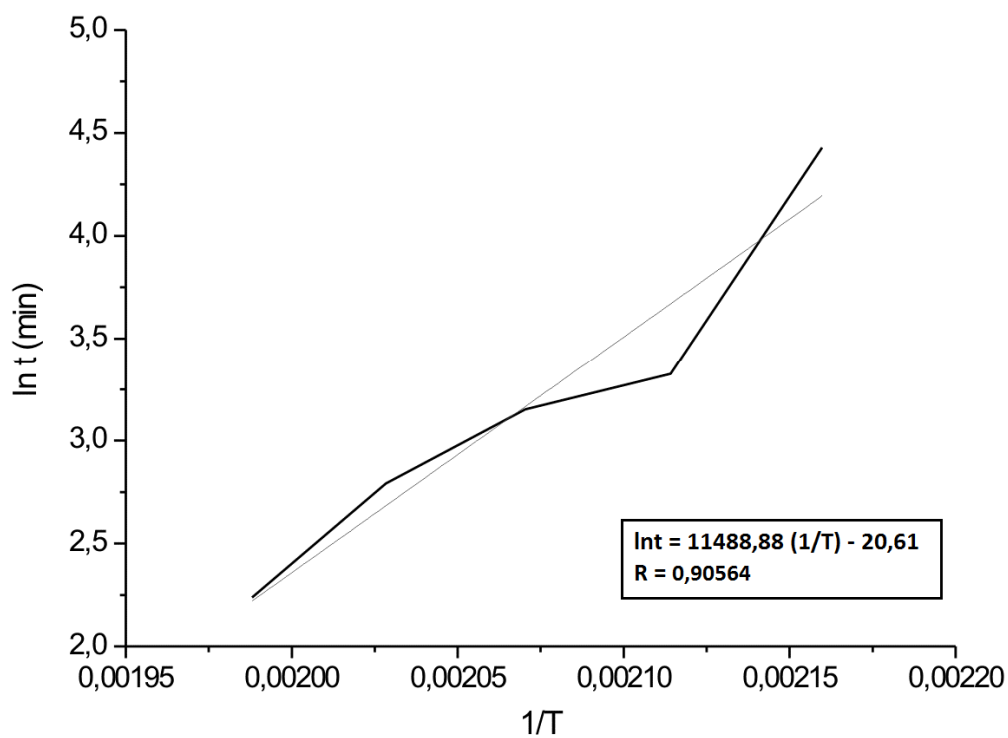


Figura 9 Gráfico de Arrhenius,  $\ln t \times 1/T$ , para decomposição térmica das amostras de OLP.

### 3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura

A observação das fotomicrografias mostradas na figura 10 revelou a presença de formas com morfologia variada e tamanhos que variam em torno de 0,5 a 4  $\mu\text{m}$ , corroborando com os dados de DSC que podem caracterizar o fármaco como substância cristalina. Aparentemente, a OLP não apresenta estrutura definida e nem uniforme.

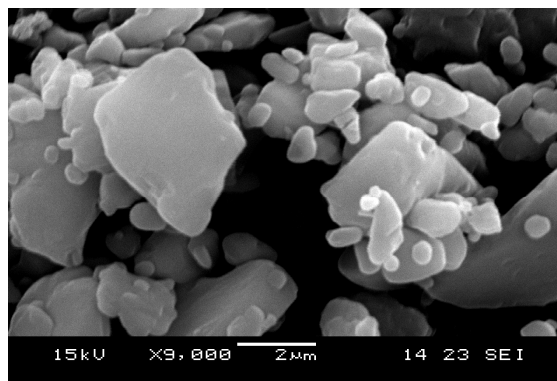


Figura 10 Fotografias da microscopia eletrônica de varredura da OLP.

### 3.4. Difração de Raios X

O perfil difractométrico da OLP revela a presença de 2 picos de maior intensidade entre  $2\theta = 7,5$  a  $10^\circ$  e  $17,5$  a  $20^\circ$  (Figura 11), além de diversos picos secundários, evidenciando o comportamento cristalino da OLP, já evidenciado pelas técnicas de DSC e MEV.

TIWARI, CHAWLA & BANSAL (2007) apresentaram estudo evidenciando duas diferentes formas polimórficas da OLP, onde a forma polimórfica I apresenta dois picos bem definidos entre  $2\theta = 7,5$  a  $10^\circ$  e  $17,5$  a  $20^\circ$ , em conformidade com o observado para a OLP utilizada neste trabalho. Contudo, a presença de picos de menor intensidade entre  $2\theta = 22,5$  a  $25^\circ$  da OLP utilizada neste estudo (Figura 11) não foi apresentada na forma polimórfica I, sugerindo assim que o fármaco em estudo refere-se a outra forma polimórfica. A forma polimórfica II apresentada por TIWARI, CHAWLA & BANSAL (2007) apresenta picos bem definidos entre  $2\theta = 7,5$  a  $10^\circ$  e  $20$  a  $22,5^\circ$ , não corroborando, portanto, com os resultados encontrados neste estudo. Estudos mais detalhados se fazem necessário para confirmação da forma polimórfica em questão.

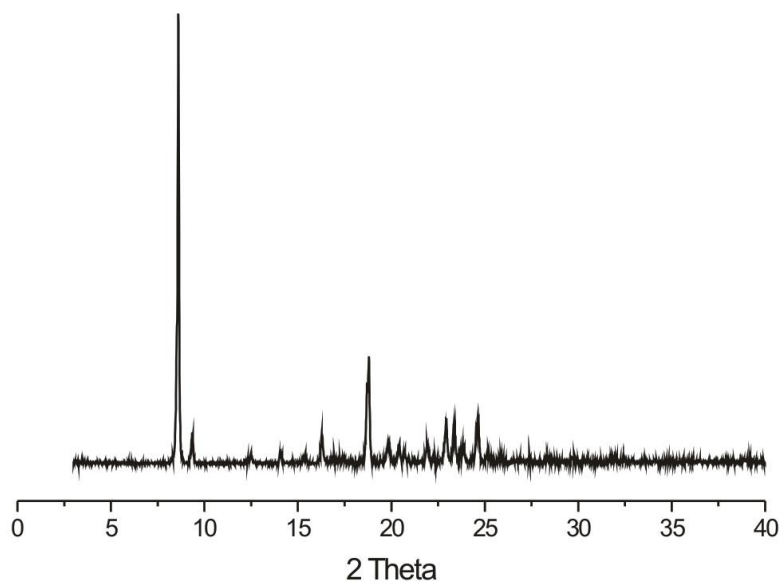


Figura 11 Padrão de difração de raios X da OLP.

### 3.5. Solubilidade da olanzapina

A solubilidade de OLP em água a 25 °C encontrada foi de 0,227 mg.mL<sup>-1</sup>, indicando, portanto, que para dissolver 1 g de OLP são necessários 4.405,28 mL de água. Assim, de acordo com a tabela de solubilidade das substâncias (tabela 1), tal fármaco é classificado como muito pouco solúvel em água.

Tabela 1 Solubilidade das substâncias

| Termos descritos       | Quantidade aproximada de solvente, em mL, para um grama da substância |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Muito solúvel          | Menos de 1                                                            |
| Facilmente solúvel     | De 1 a 10                                                             |
| Solúvel                | De 10 a 30                                                            |
| Ligeiramente solúvel   | De 30 a 100                                                           |
| Pouco solúvel          | De 100 a 1000                                                         |
| Muito pouco solúvel    | De 1000 a 10000                                                       |
| Praticamente insolúvel | Mais de 10000                                                         |

*Fonte:* Farmacopéia Brasileira 5ªed, 2010.

### 3.6. Método Analítico de quantificação

O espectro de absorção de UV da OLP apresentou banda bem definida no comprimento de onda de 228 nm, valor semelhante ao encontrado por RÊGO, MOURA e MOITA (2010).

A análise de regressão linear revelou um coeficiente de correlação muito próximo da unidade,  $r = 0,99988$ , demonstrando que há excelente correlação linear entre as variáveis X e Y (Figura 12). Resultando, portanto, em uma equação de reta  $y = a.x + b$ , onde o coeficiente angular a é igual a 0,0774 e o coeficiente linear b é igual a - 0,0082.

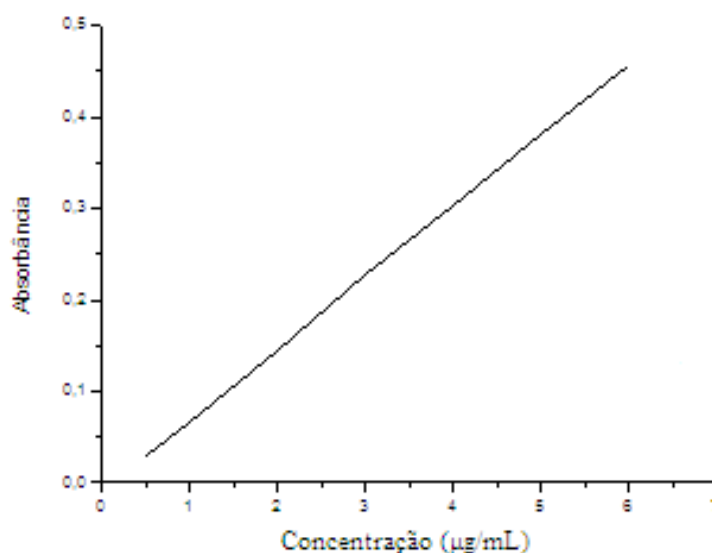


Figura 12 Curva de Calibração da OLP em metanol.

### 3.7. Teste de Dissolução Aparente

Apesar dos estudos de solubilidade de fases serem de grande importância sob o ponto de vista teórico, em termos práticos o método de solubilidade mais informativo é o ensaio de dissolução (SOARES-SOBRINHO et.al., 2010). Conforme se observa na Figura 13, a OLP apresenta baixos percentuais de dissolução, apresentando eficiência de dissolução em 30 minutos de 6,11.

O parâmetro de eficiência de dissolução (ED) permite caracterizar o processo de dissolução como um todo, dado que é definido pela área sob a curva de dissolução até um certo tempo  $t$ , expressa como percentagem da área do retângulo descrito por 100% de dissolução no mesmo tempo  $t$ . Este parâmetro tem ainda a vantagem de poder ser relacionado com os dados *in vivo*, uma vez que se aproxima mais da situação clínica, se considerarmos que o grau de absorção é proporcional à concentração de fármaco em solução e ao tempo de permanência no local do trato gastrointestinal e que a quantidade que atinge a circulação sanguínea é calculada pela área sob a curva da concentração plasmática (RAMA et al., 2006).

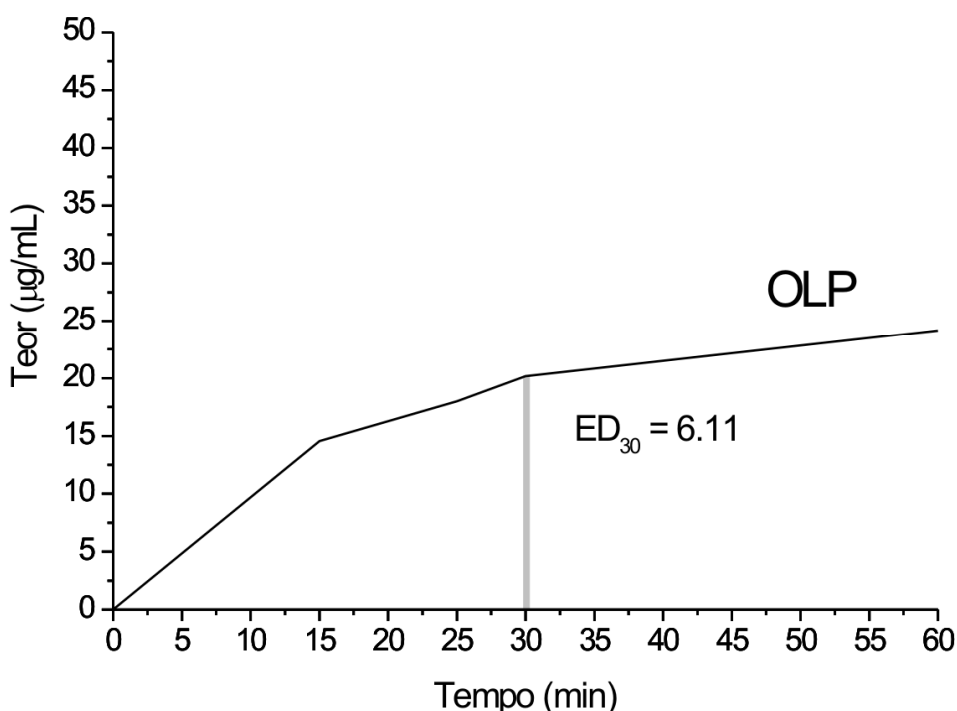


Figura 13 Perfis de dissolução da OLP.

#### 4. Conclusão

Com base nos resultados encontrados, pode-se evidenciar que a OLP apresenta características cristalinas que podem influenciar no fato do fármaco apresentar muito pouca solubilidade em água, 0,227 mg/mL, e baixa eficiência de dissolução, ED = 6,11, além de apresentar ordem de cinética de degradação complexa, 0,2. Tais dados auxiliam no desenvolvimento de formas farmacêuticas com este antipsicótico, tendo como ponto de partida a necessidade de incrementar sua solubilidade em água em virtude das suas características morfológicas e garantir estabilidade do medicamento durante sua produção e prazo de validade.

## 5. Referencias Bibliográficas

ARAÚJO, A.A.S.; CIDES, L.C.S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J.R.; BRUNS, R.E. *Effects of experimental conditions on the estimation of kinetic parameters of the thermal decomposition of AZT using factorial design*. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 79, p. 697-701, 2005.

AYALA, A.P.; SIESLER, H.W.; BOESE, R.; HOFMANN G.G., POLLA, G.I., VEGA, D.R. Solid state characterization of olanzapina polymorphs using vibrational spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v.326, p.69-79, 2006.

BARBOSA, C.M.L.; SANSIVIERO, M.T.C. Decomposição térmica de complexos de Zn e Cd com isomaleonitriladitiolato (imnt). **Quím. Nova**, v.28, n.5, p. 761-765, 2005.

BERTOL, C.D.; CRUZ, A.P.; STULZEH, K.R.; MURAKAMI, F.S.; SILVA, M.A.S. Thermal decomposition kinetics and compatibility studies of primaquine under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 102, n.1, p.187-192, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução – RE nº 01, de 29 de julho de 2005. Autoriza, ad referendum, a publicação do Guia para realização de estudos de estabilidade. Brasília: Diário Oficial da União, 2005.

CHAVES, L.L. **Estudo de Estabilidade Forçada do Fármaco Citrato de Dietilcarbamazina Utilizado no Combate à Filariose Linfática**. Recife, 2012. 180p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco.

CIDES, L.C.S.; ARAÚJO, A.A.S.; SANTOS FILHO, M.; MATOS, J.R.; Thermal behavior, compatibility study and decomposition kinetic of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.84, n.2, p. 441-445, 2006.

COSTA, S.P.M. **Estudo de pré-formulação de um novo agente esquistossomida 3-(4-cloro-benzil)-5-(4-nitro-benzilideno)-imidazolidina-2,4-diona (LPSF/FZ4)**. Recife, 2012. 92p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco.

Farmacopeia Brasileira, 5<sup>a</sup> ed., Atheneu: Rio de Janeiro, 2010.

FELIX, F.S.; SILVA, L.C.C.; ANGNES, L.; MATOS, J.R. Thermal behavior study and decomposition kinetics of salbutamol under isothermal and non-isothermal conditions. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.95, n.3, p. 877-880, 2009.

FREITAS, M.R.; ROLIM, L.A.; SOARES, M.F.R.; ROLIM NETO, P.J.; ALBUQUERQUE, M.M.; SOARES SOBRINHO, J.L. Inclusion complex of methyl-beta-cyclodextrin and olanzapine as potential drug delivery system for schizophrenia. *Carbohydrate Polymers*, v.89, p.1095-1100, 2012.

FREITAS NETO, J.L. **Desenvolvimento de cápsula oral a base de  $\beta$ -lapachona complexada com ciclodextrina para terapia antineoplásica**. Recife, 2012. 118p. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Pernambuco.

GIORDANO, F.; NOVAK, C.; MOYANO, J.R. Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. *Termoch. Acta*, v.380, p. 125-151, 2001.

HASSAN, M.A.; SULEIMAN, M.S.; NAJIB, N.M. Improvement of the in vitro characteristics of famotidine by inclusion in  $\beta$ -cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, v.58, p. 19-24, 1990.

HIRIYANNA, S.G.; BASAVAIAH, K.; GOUD, P.S.K.; DHAYANITHI, V.; RAJU, K.; PATI, H.N. Identification and Characterization of Olanzapine Degradation Products under Oxidatives Stress Conditions. **Acta Chromat.**, v. 20, n.1, p. 81-93, 2008.

HOWELL, B.A.; RAY, J.A. Comparison of isothermal and dynamic methods for the determination of activation energy by thermogravimetry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v.83, n.1, p.63-66, 2006.

LOPES, W.A.; FASCIO, M. Esquema para interpretação de espectros de substâncias orgânicas na região do infravermelho. **Quím. Nova**, v.27, n.4, p. 670-673, 2004.

OLIVEIRA, P.R.; STULZER, H.K.; BERNARDI, L.S.; BORGMANN, S.H.M.; CARDOSO, S.G.; SILVA, M.A.S. Sibutramine hydrochloride monohydrate Thermal behavior, decomposition kinetics and compatibility studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.100, p. 277-282, 2010.

RAJENDRAPRASAD, N.; BASAVAIAH, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. **Braz. J. of Pharmac. Scien.**, v.45, n.3, jul./set. 2009.

RAMA, A.C.R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I.V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- $\beta$  ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Rev. Bras. de Ciên. Farmac.** v.42, n.1, jan./mar. 2006.

RÊGO, J.F., MOURA, J.I.M., MOITA, G.C. Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. **Quím. Nova**, v. 33, n.00, p. 1-7, 2010.

RESHETOV, P.V; FEDOTOVA, O.V.; KRIVEN'KO A.P.; KHARCHENKO, V.G. Hydroamination of pyrylium salts. **Chemistry of Heterocyclic Compounds**. v.26, n.5, p. 513-516, 1990.

SALVIO-NETO, H.; MATOS, J. R. Compatibility and decomposition kinetics studies of prednicarbate alone and associated with glyceryl stearate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 103, p. 393-399, 2011.

SANTOS, A.G.; CONCEIÇÃO, M.M.; TRINDADE, M.F.; ARAÚJO, A.S.; FERNANDES, V.J.; SOUZA, A.G. *Kinetic study of dpivaloylmethane by Osawa method*. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 75, p. 591-597, 2004.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X., KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Tradução de Ricardo Bicca de Alencastro. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007. Título original: Spectrometric identification of organic compounds.

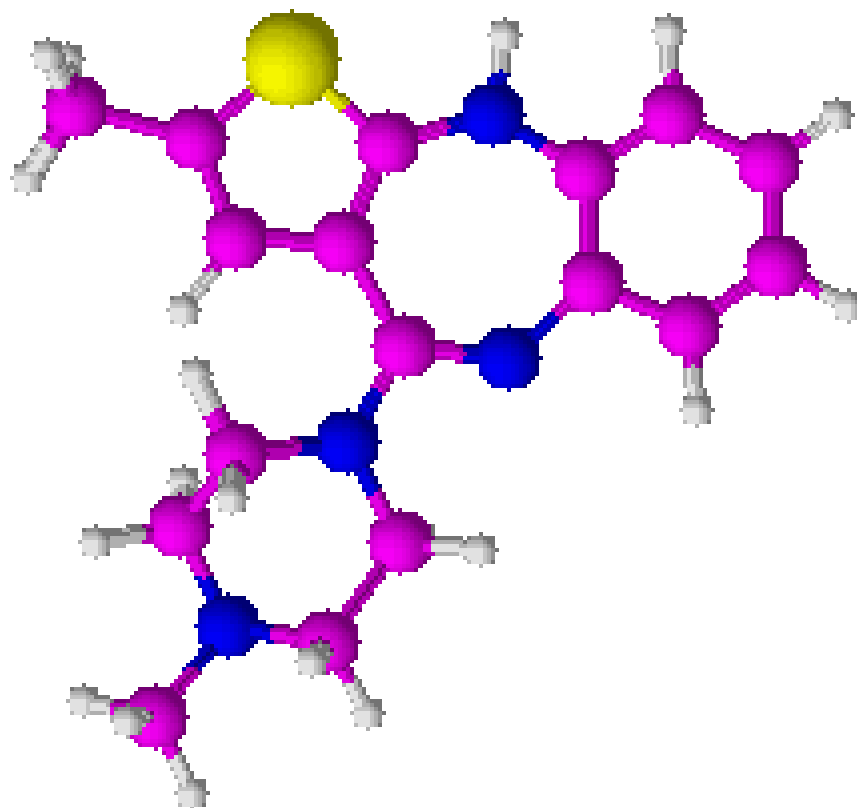
SOARES SOBRINHO, J.L.; SOARES, M.F.R.; ROLIM NETO, P.J.; TORRES-LABANDEIRA, J.J. Physicochemical study of solid-state benznidazole–cyclodextrin complexes. **J. Therm. Anal. and Calorim.**, v.106, n.2, p.319-325, 2010.

SOVIZI, M.R. Thermal behavior of drugs. Investigation on decomposition kinetic of naproxen and celecoxib. **J. Therm. Calorim.**, v.102, n.1, p. 285-289, 2010.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; RUSU, G.; TIȚA, D. Thermal stability of ibuprofen. Kinetic study under non-isothermal conditions. **Rev. Roum. Chim.** v. 55, n. 9, p. 553-558, 2010.

TIWARI, M.; CHAWLA, G.; BANSAL, A.K. Quantification of olanzapine polymorphs using powder X-ray diffraction technique. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, p. 865-872, 2007.

The United States Pharmacopeia 34 ed.



## ***6 CAPÍTULO III***

---

**Artigo 2 – Complexo de inclusão de metil- $\beta$ -ciclodextrina e olanzapina como potencial sistema de liberação de drogas para esquizofrenia**

*Artigo publicado na Carbohydrate Polymers (2012), v.89, p.1095-1100.*

## COMPLEXO DE INCLUSÃO DE METIL-B-CICLODEXTRINA E OLANZAPINA COMO POTENCIAL SISTEMA DE LIBERAÇÃO DE DROGAS PARA ESQUIZOFRENIA

### Resumo

Olanzapina (OLP), a mais importante droga antipsicótica dos medicamentos de nova geração, uma droga de alto custo, apresenta muito pouca solubilidade em água afetando assim, sua dissolução e absorção. Sua complexação com ciclodextrinas (CD's) modificadas visa obtenção de sistemas de vetorização com aumento de solubilidade e, consequentemente aumento de biodisponibilidade. A partir da seleção da ciclodextrina (CD), dentre  $\beta$ CD, metil  $\beta$ -CD (M $\beta$ CD) e hidroxipropil  $\beta$ -CD (HP $\beta$ CD), foi obtido o diagrama de solubilidades de fases sugerindo estequiometria de complexação de 1:1 (mol:mol) e constantes de complexação  $966,9 \text{ L.mol}^{-1}$ ,  $149,4 \text{ L.mol}^{-1}$  e  $91,1 \text{ L.mol}^{-1}$  respectivamente. A M $\beta$ CD foi selecionada para obtenção do complexo de inclusão (CI), mistura física (MF) e produto rotaevaporado (ROE). As análises mostraram diferenças na estrutura, morfologia e performance da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE, revelando a ocorrência de interações entre o fármaco e a ciclodextrina. O ROE apresentou um aumento na eficiência de dissolução e estabilidade. Os resultados sugerem que houve formação de CI, sendo este um recurso tecnológico eficaz e vantajoso para a liberação de drogas.

**Palavras-chave:** Olanapina. Solubilidade. Estabilidade. Liberação de drogas. Ciclodextrina. Taxa de dissolução.

### 1. Introdução

A olanzapina (OLP), 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno(2,3-b)(1,5) benzodiazepina, é um agente psicotrópico pertencente à classe das tienobenzodiazepinas obtido a partir de modificações estruturais da clozapina. A olanzapina é a mais importante droga antipsicótica dos medicamentos de nova geração. Esta tem como vantagem em relação à terapêutica anterior a redução dos efeitos colaterais extrapiramidais e uma alternativa para tratar pacientes refratários a outras medicações (Rajendraprasad & Basavaiah, 2009).

A OLP apresenta altos custos e muito pouca solubilidade em água, sendo o parâmetro hidrofóbico um obstáculo ao tratamento da esquizofrenia. Assim, é necessário o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica que permita melhor dissolução e absorção e, consequentemente, biodisponibilidade do fármaco mais uniforme (Wawrzycka-Gorczyca, Borowski, Osypiuk-Tomasik, Mazur, & Koziol, 2007).

A melhoria da solubilidade de um ativo pode levar ao desenvolvimento de formulações com menores doses, já que uma eficiência de dissolução maior levaria a

um maior percentual de fármaco absorvido. Com isso, obter-se-iam formulações com custos reduzidos, possibilitando maior acesso aos medicamentos; menores investimentos em medicamentos adicionais para tratar efeitos colaterais; maior adesão ao tratamento visto que os efeitos adversos estariam reduzidos; e maiores investimentos na melhoria dos serviços de atenção à saúde mental (Soares-Sobrinho, Soares, Rolim-Neto & Labandeira, 2011).

Uma alternativa plausível para incrementar a solubilidade de um fármaco é sua complexação com ciclodextrinas (CDs), moléculas capazes de alterar propriedades físico-químicas do fármaco, favorecendo assim sua dissolução e biodisponibilidade (Serafini et al., 2012). Estes compostos possuem exterior hidrofílico, responsável pela interação com moléculas de água, e uma cavidade interna hidrofóbica, responsável pela complexação com fármacos compatíveis (Lyra et al., 2012). Esse aspecto molecular tem possibilitado a utilização de CD's em diferentes áreas da ciência e tecnologia, sendo um dos principais domínios de aplicação à indústria farmacêutica, em função da possibilidade de obtenção de novos fármacos com propriedades físicas e químicas diferentes do princípio ativo isolado, como incremento da solubilidade (Soares-Sobrinho, Soares, Rolim-Neto & Labandeira, 2011).

. As alterações das propriedades físico-químicas dos fármacos após complexação servem como parâmetro para realização de testes que confirmem a formação do complexo de inclusão (CI), visto que as preparações resultantes da mistura de fármaco e ciclodextrina, não necessariamente, leva à formação de um CI com solubilidade incrementada. Recorre-se, portanto, a técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG), Difração de Raios X (DRX), Espectroscopia de Infravermelho (IV), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), entre outras (Lyra et al., 2012; Serafini et al., 2012; Soares-Sobrinho, Soares, Rolim-Neto & Labandeira, 2011).

O presente trabalho objetiva o desenvolvimento e caracterização de sistemas de liberação de drogas mais estáveis e eficientes por obtenção de complexos de inclusão com fármaco-CD.

## **2. Materiais e métodos**

## 2.1 Materiais

A olanzapina foi adquirida da Gamma Comércio, Importação & Exportação LTDA (lote interno nº750) oriunda da Índia (lote 9OL003). As ciclodextrinas testadas,  $\beta$ -ciclodextrina ( $\beta$ -CD) (peso molecular 1135 g/mol), metil- $\beta$ -ciclodextrina (M $\beta$ CD) (peso molecular 1191 g/mol) e hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina (HP $\beta$ CD) (peso molecular 1390 g/mol) foram doadas por Roquette® (Barcelona – Espanha). As soluções foram preparadas utilizando água ultrapura (MILLI Q) e filtradas através de filtro Millipore® 0,22 $\mu$ m (Millipore Corp, Billerica, MA). Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

## 2.2. Experimentos

### 2.2.1. Diagrama de Solubilidade de Fases

Os estudos do diagrama de solubilidade de fases foram efetuados segundo o método de Higuchi e Connors (1965). Excesso de olanzapina (aproximadamente 30 mg) foi adicionado a soluções aquosas contendo concentrações crescentes de CDs, sendo 0, 1, 2, 2,5, 3, 4, 5 mmol.L<sup>-1</sup> para  $\beta$ CD e 0, 5, 10, 15, 20, 25 e 50 mmol.L<sup>-1</sup> para M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD (Lima, Soares-Sobrinho, Correa & Rolim-Neto, 2008). As suspensões formadas foram postas em banho de ultrassom por 15 minutos e submetidas a agitação em banho de água termicamente controlado a 25 °C por 7 dias, conforme estudos prévios que demonstraram ser o tempo suficiente para se alcançar o equilíbrio. As amostras foram filtradas e apropriadamente diluídas. A concentração de OLP foi determinada por espectrofotometria em 228 nm (Rêgo, Moura & Moita, 2010). Os experimentos foram realizados em triplicata.

A constante de estabilidade ( $K_{1:1}$ ) foi calculada para a porção linear do diagrama assumindo uma estequiometria de 1:1 (OLP:CD) utilizando a equação 1, onde  $S_0$  é a solubilidade em água de OLP na ausência de CD.

$$K_{1:1} = \text{Slope}/S_0 (1 - \text{Slope}) \quad \text{equação 1}$$

### 2.2.2 Preparação dos complexos no estado sólido

#### 2.2.2.1. Preparação da mistura física

As misturas físicas (MFs) de OLP e M $\beta$ CD, razão molar 1:1 (OLP-CD) usando concentração de OLP de 5 mmol.L<sup>-1</sup> foram preparadas para realização do estudo

comparativo entre estas e o produto rotaevaporado (ROE). O método de diluição geométrica foi utilizado de forma a garantir a homogeneidade do produto, manipulado em almofariz de porcelana com auxílio de um pistilo, acondicionado em frascos ampolas protegidos da luz (Kim et al., 2006).

#### **2.2.2.2 Produto rotaevaporado**

Para preparação do produto rotaevaporado, amostras de OLP e M $\beta$ CD foram dissolvidas em concentrações equimolares em metanol. A solução obtida foi submetida à sonicação em banho de ultrassons durante 15 minutos. Após um período de equilíbrio de 72 h à temperatura ambiente, a solução foi evaporada sob vácuo a 50 °C em rotaevaporador (Büchi Rotaevaporador R-200). O produto rotaevaporado obtido foi acondicionado em frascos ampolas protegidos da luz.

#### **2.2.3 Caracterização do Complexo de Inclusão**

A obtenção de verdadeiros complexos de inclusão apenas pode ser confirmada por caracterização rigorosa dos mesmos através de várias técnicas de análise físico-química. Esta avaliação é de extrema importância uma vez que se destina a avaliar a eficiência de complexação dos diferentes métodos de preparação utilizados na obtenção de complexos de inclusão no estado sólido e dos diferentes tipos de CD's empregados (Zeng, Ren, Zhou, Yu & Chen, 2011). No presente trabalho os sistemas binários foram avaliados por várias metodologias de caracterização, nomeadamente por IV, DSC, TG, MEV e teste de dissolução.

##### **2.2.3.1 Espectroscopia de absorção vibracional no Infravermelho**

A obtenção dos espectros foi realizada diretamente nas amostras sólidas de OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE. Realizou-se uma média de 10 varreduras no intervalo de 650 a 4000 cm<sup>-1</sup> com resolução de 4 cm<sup>-1</sup> em Espectrotômetro Shimadzu® modelo UV/visível-1603.

##### **2.2.3.2 Calorimetria Exploratória Diferencial**

Amostras de OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE de peso aproximadamente 3 mg foram colocadas em porta amostras de alumina e aquecidas entre 30°C e 250°C na razão de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio de fluxo 50 mL/min em Calorímetro de Varredura Shimadzu® DSC-60H.

#### **2.2.3.3. Microscopia Eletrônica de Varredura**

Superfícies morfológicas das amostras foram examinadas usando Jeol<sup>®</sup> JSM – 5900. Partículas foram fixadas numa fita dupla face de carbono, sob vácuo, com posterior metalização de uma fina película de ouro.

#### **2.2.3.4. Termogravimetria**

Amostras de OLP, MβCD, MF e ROE de peso aproximadamente 8 mg foram colocadas em porta amostras de alumina e aquecidas entre 30 °C e 600 °C na razão de 10 °C/min, sob atmosfera de nitrogênio de fluxo 50 mL/min no equipamento de termogravimetria DTG-60H Shimadzu<sup>®</sup>. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS<sup>®</sup> (Thermal Analysis) versão 2.20 da Shimadzu<sup>®</sup>.

#### **2.2.3.5. Difração de raios X**

O padrão de difração de raios X foi coletado usando radiação de cobre (40 kV, 20 mA), em difratometro (Rigaku<sup>®</sup>) modelo Ultima, com geometria Bragg-Bretano, e percorrendo a região entre  $2<2\theta<60^\circ$  com um tamanho de fase de  $0,02^\circ$  tempo de contagem de 2s por fase.

#### **2.2.3.6. Teste de dissolução**

As amostras em estudo (OLP, MF e CI) foram colocadas em cápsulas com peso equivalente a 10 mg de OLP de cada. Os ensaios de dissolução foram realizados a temperatura de 37 °C ( $\pm 0,5$  °C), utilizando 900 mL de meio de dissolução (água) e uma velocidade de agitação de 75 rpm no Dissolutor VK 7010 Varian<sup>®</sup> (Soares-Sobrinho et al., in press). A quantificação da droga foi efetuada por espectrofotometria UV a 228 nm, em intervalos de 15, 25, 30 e 60 minutos. A concentração de OLP foi determinada contra a curva de calibração obtida inicialmente e os perfis de dissolução foram avaliados utilizando-se eficiência de dissolução no tempo de 30 minutos (ED<sub>30</sub>).

### **3. Resultados e discussão**

#### **3.1 Diagrama de Solubilidade de Fases**

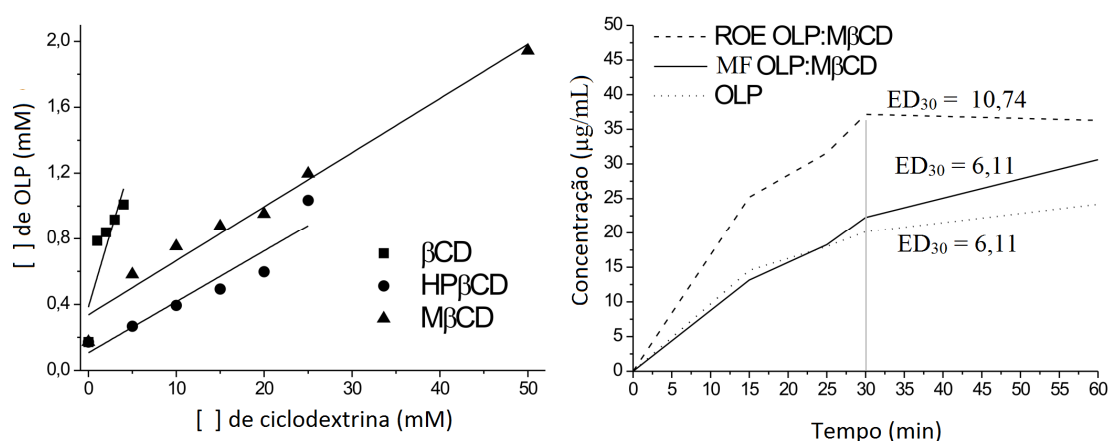
De acordo com os resultados do ensaio de solubilidade de fases foi possível verificar que o tipo de CD utilizado influencia sobremaneira na solubilidade da OLP (Chadha, Arora, Gupta & Jain, 2011). Em todos os casos, a solubilidade da OLP

aumentou linearmente em função das concentrações de CD estudadas e, portanto, exibem diagrama de solubilidade de fases do tipo  $A_L$  (Higuchi & Connors, 1965) para os sistemas binários de complexação OLP- $\beta$ CD e OLP-M $\beta$ CD (Fig. 1A).

O valor de declive de cada um dos diagramas apresentou-se inferior à unidade, indicando formação de complexos de primeira ordem relativamente e sugerindo estequiometria 1:1 mol:mol OLP-CD, o que permitiu a determinação dos valores das respectivas constantes de estabilidade, conforme evidenciado na figura 1 (Zeng et al., 2011).

Tendo em consideração a CD utilizada para a formação dos complexos binários, a constante de complexação aumentou na seguinte ordem: HP $\beta$ CD < M $\beta$ CD <  $\beta$ CD. A maior estabilidade dos complexos OLP- $\beta$ CD em comparação aos complexos OLP-M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD poderá ser devida à obstrução criada pelos substituintes metil e propil, respectivamente, na entrada da cavidade da ciclodextrina que impedem, por razões estequiométricas, a inclusão da OLP (Zeng et al., 2011).

Diante dos resultados obtidos nos diagramas de solubilidade de fases, selecionou-se a M $\beta$ CD para obtenção e caracterização de CI no estado sólido devido apresentar boa capacidade de solubilização da OLP. A  $\beta$ CD não foi escolhida, apesar de apresentar maior valor de constante de complexação, pois sua solubilidade limitada em água inviabilizaria sua utilização para formulações farmacêuticas. Portanto, infere-se que a M $\beta$ CD, apresenta maior propensão à ser utilizada em formas farmacêuticas sólida de uso oral, já que possui maior hidrossolubilidade, menor toxicidade em comparação a  $\beta$ CD e alta eficiência de complexação (Yang et al., 2011).



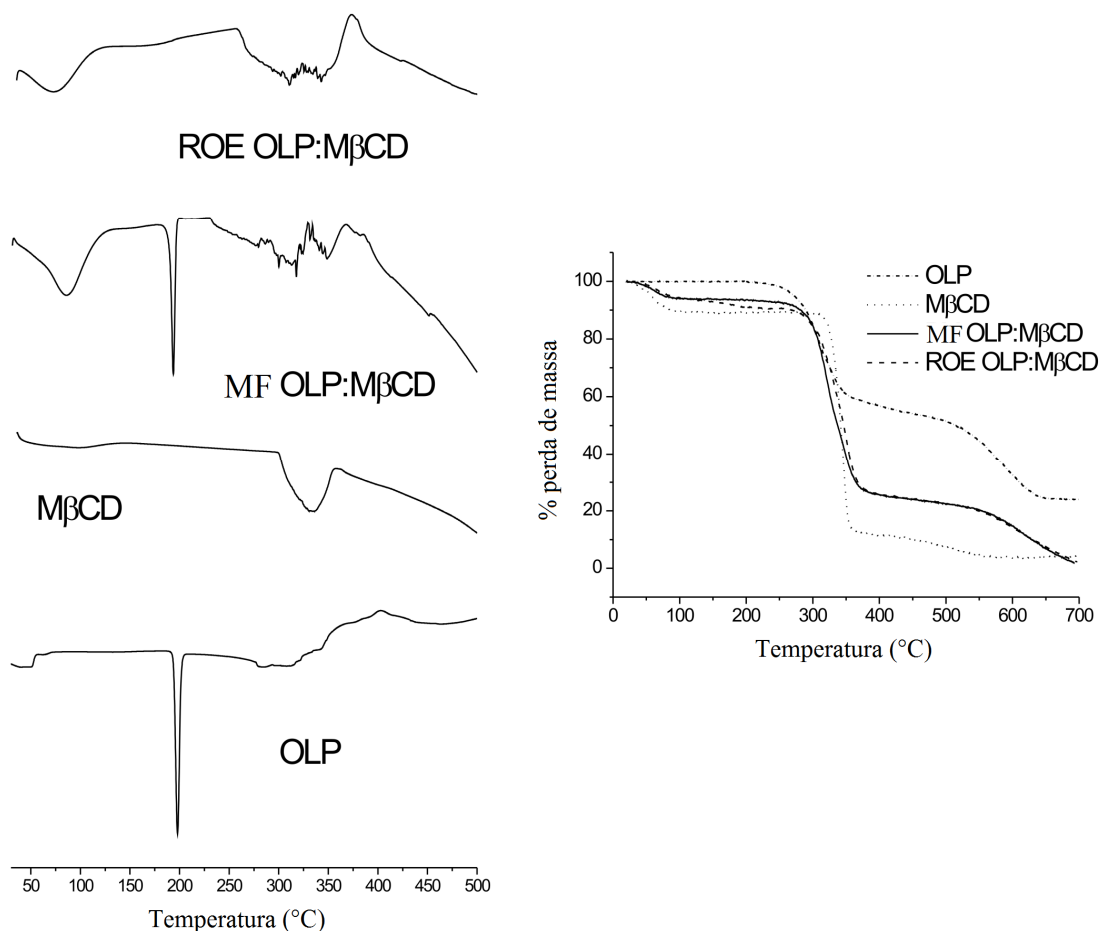
**Fig. 1** (A) Diagrama de solubilidade de fases da OLP em função da concentração de ciclodextrina em água ( $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD). (B) Perfil de dissolução da OLP, MF e ROE.

## 3.2 Caracterização do Complexo de Inclusão sólido

### 3.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

O comportamento térmico da OLP observado por DSC é característico de um composto anidro e cristalino, sendo visível um pico endotérmico intenso e bem definido a 197,92 °C, que corresponde à temperatura de fusão do fármaco. A curva de DSC da MβCD apresenta um efeito endotérmico mais alargado em torno de 293 °C que se deve à perda de água de cristalização da CD (Fig. 2A) (Marreto et al., 2008).

As misturas físicas apresentam deslocamento para temperatura mais baixa e redução do pico endotérmico correspondente à fusão do fármaco. Observa-se que o pico fusão da OLP se dá a 197,92°C, enquanto que, na MF este pico é evidenciado em 193,68°C. Este deslocamento do pico para temperatura menor pode ser explicado pela interação química entre CD e OLP durante o processo de aquecimento inerente ao ensaio de DSC. Já redução no tamanho do pico de fusão da MF é justificada pela menor necessidade de energia para ocorrência deste fenômeno físico, já que a quantidade de OLP presente é menor (Serafini, et al., 2012). A curva de DSC do ROE indica o desaparecimento completo do pico endotérmico correspondente à transição sólido-líquido da droga. Conforme evidenciado por Chadha et al. (2011), o desaparecimento do pico endotérmico de fusão dos fármacos pode ser atribuído à inclusão na cavidade da CD, sugerindo, portanto, formação de complexo de inclusão.



**Fig. 2** (A) Curvas de DSC da OLP, MβCD, MF e ROE. (B) Curvas de TG da OLP, MβCD, MF e ROE.

### 3.2.2 Termogravimetria

Os dados obtidos na técnica termogravimétrica reafirmam os dados obtidos na análise por DSC. Analisando a curva de TG da OLP observa-se que na temperatura correspondente à fusão deste fármaco, 197,92 °C, não houve variação de massa na amostra, confirmando, portanto, que tal pico refere-se à um processo físico.

Nas curvas de TG da OLP foi verificado duas etapas de perda de massa, correspondentes a processos de degradação (Fig. 2B). Na análise da curva de TG do ROE observa-se apenas um pico de degradação química da OLP, indicando, portanto, que a interação fármaco - CD protegeu o antipsicótico de degradações, caracterizando assim formação de complexo de inclusão (Marreto et al., 2008). Nota-se que na curva de TG da mistura física também se verificou a ocorrência de um pico de degradação da

OLP, contudo esta degradação se dá de forma mais acentuada, revelando uma perda de 66,68%, quando comparado à perda sofrida no ROE (63,79%) (tabela 1), indicando assim, que a complexação se dá de forma mais eficiente no ROE. A proteção da degradação da OLP apresentada pela MF pode estar associada à interação induzida pelo aquecimento da amostra gerado durante a análise de TG.

A partir da análise das temperaturas iniciais e finais de degradação mostradas na tabela 1, observa-se que a complexação confere estabilidade à OLP, visto que a temperatura inicial de degradação é alterada de 263 °C para 306 °C com a formação do complexo. Isto é mais uma evidencia de complexação, já que o CI além de conferir maior solubilidade também confere maior estabilidade à molécula em novos sistemas de liberação. Na mistura física também é evidenciado um retardamento da temperatura inicial de degradação, contudo, de forma menos eficiente quanto comparado ao ROE. Tal alteração pode estar associada a uma discreta ocorrência de interação entre fármaco e ciclodextrina propiciada pelo processo de aquecimento inerente ao ensaio de decomposição.

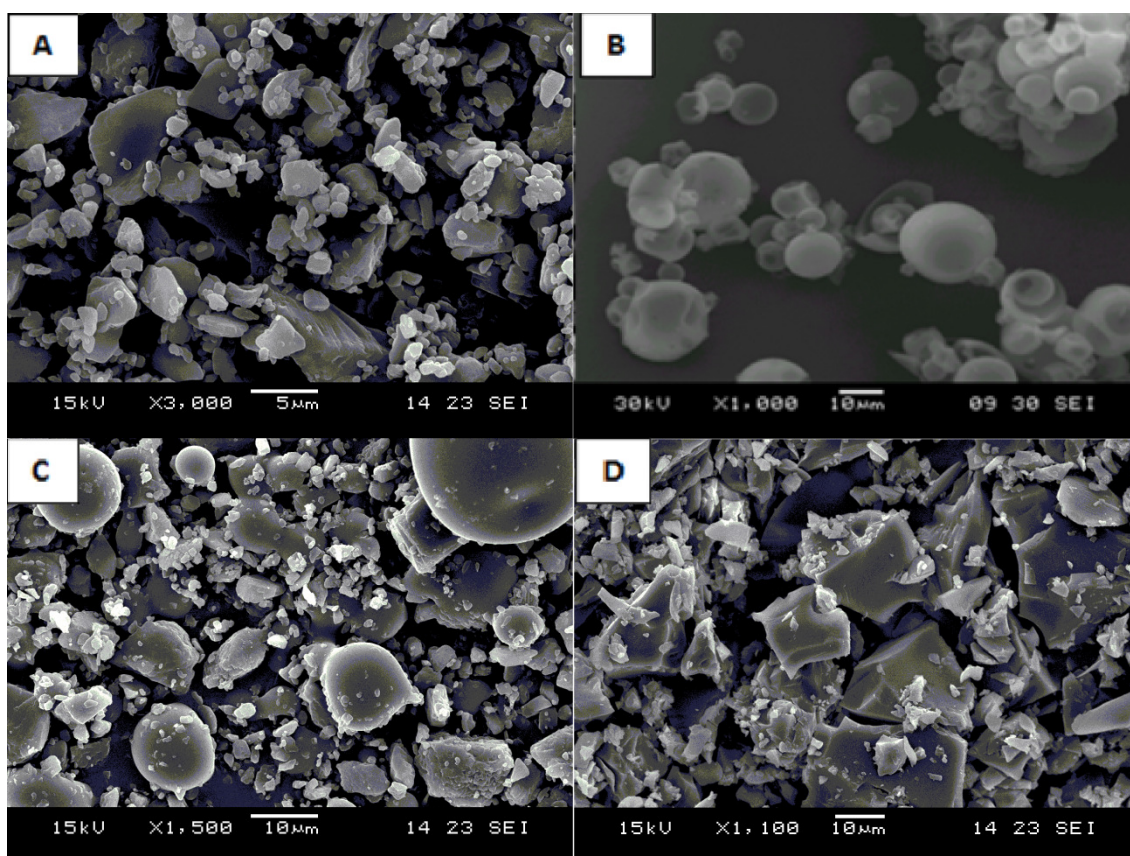
Outra evidencia de complexação sugerida pela curva de TG, conforme observado na tabela 1, é a porcentagem de perda de massa evidenciada nos sistemas binários. A mistura física apresenta uma perda mais elevada (66,68%) quando comparada ao ROE (63,79%). Uma perda de massa mais elevada indica menor estabilidade do sistema (Soares et al., 2011).

**Tabela 1** Dados do estágio de decomposição térmica principal da OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE.

| Substancia   | Temperatura inicial<br>da degradação | Temperatura final<br>da degradação | % de massa perdida |
|--------------|--------------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| OLP          | 263 °C                               | 353 °C                             | 39,54              |
| M $\beta$ CD | 308 °C                               | 355 °C                             | 75,88              |
| MF           | 284 °C                               | 388 °C                             | 66,68              |
| ROE          | 306 °C                               | 388 °C                             | 63,79              |

### 3.2.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

A observação das fotomicrografias, mostradas na Fig. 3, revelou a presença de cristais com forma irregular da OLP (Fig. 3A) e formas esféricas bem características da M $\beta$ CD (Fig. 3B). Por sua vez, a observação microscópica da MF evidenciou a presença de cada um dos constituintes com manutenção da sua morfologia original, com cristais de OLP aderidos à superfície da M $\beta$ CD (Fig. 3C), não revelando, aparentemente, interações entre fármaco e CD. Contudo, a fotomicrografia do produto rotaevaporado (Fig. 3D) mostra mudança no aspecto morfológico das partículas, com perda da forma esférica típica da M $\beta$ CD e da forma evidenciada anteriormente para a OLP (Fig. 3A e B). Mudanças morfológicas podem ser empregadas como evidência para verificar interações entre as moléculas (Ding, He, Huang & Lu, 2010). Apesar dos estudos de MEV serem inadequados para confirmar a formação de CI, as alterações na forma de partículas, no seu aspecto e tamanho são uma forte indicação para formação do mesmo (Fernandes, Vieira & Veiga, 2002).

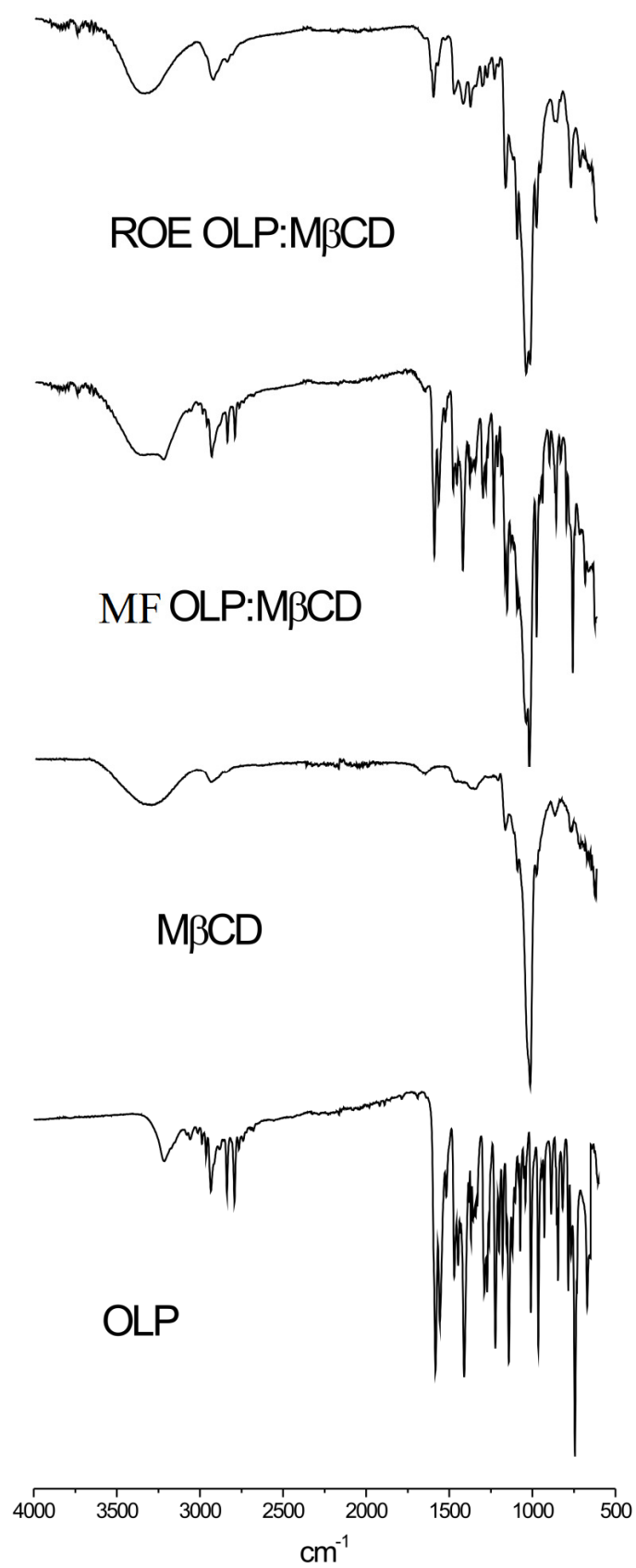


**Fig. 3** Fotografias da Microscopia Eletrônica de Varredura da (A) OLP, (B) M $\beta$ CD, (C) MF e (D) ROE

Assim, os dados de microscopia eletrônica somam-se aos resultados anteriores, sugerindo formação de complexo de inclusão a partir do processamento de OLP e CD por rotaevaporação.

### 3.3.4 Espectroscopia de Infravermelho

Analizando a fig. 4 observa-se que, no espectro da OLP há uma banda correspondente ao grupo amina do anel que contem dois átomos de nitrogênios ( $3100\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ ). No espectro da M $\beta$ CD há uma banda bem característica de OH livre ( $3450\text{-}3700\text{ cm}^{-1}$ ). Os resultados obtidos de espectroscopia no infravermelho mostram alterações na região entre  $3000\text{ e }3700\text{ cm}^{-1}$  nos espectros da MF e ROE. Analisando o espectro da MF observa-se que há uma sobreposição parcial dos dois picos citados anteriormente, sugerindo assim que não houve interação química nestes grupos. Já no espectro do ROE verifica-se um deslocamento desta banda, podendo ser associado a uma banda de OH encobrindo NH ou vice-versa. Como a banda apareceu deslocada para direita, quando comparada à banda encontrada no espectro da OLP, evidencia-se que está ocorrendo sobreposição da banda de OH sobre NH, visto que os valores encontrados são mais característicos de OH. Isto sugere a entrada da CD na molécula no lado do anel aromático, sendo verificada ocorrência de interação tipo ligação de hidrogênio entre as hidroxilas livre da ciclodextrina e o grupo amina do anel que contem dois nitrogênios.



**Fig. 4** Espectro de Infravermelho da OLP, MβCD, MF e ROE.

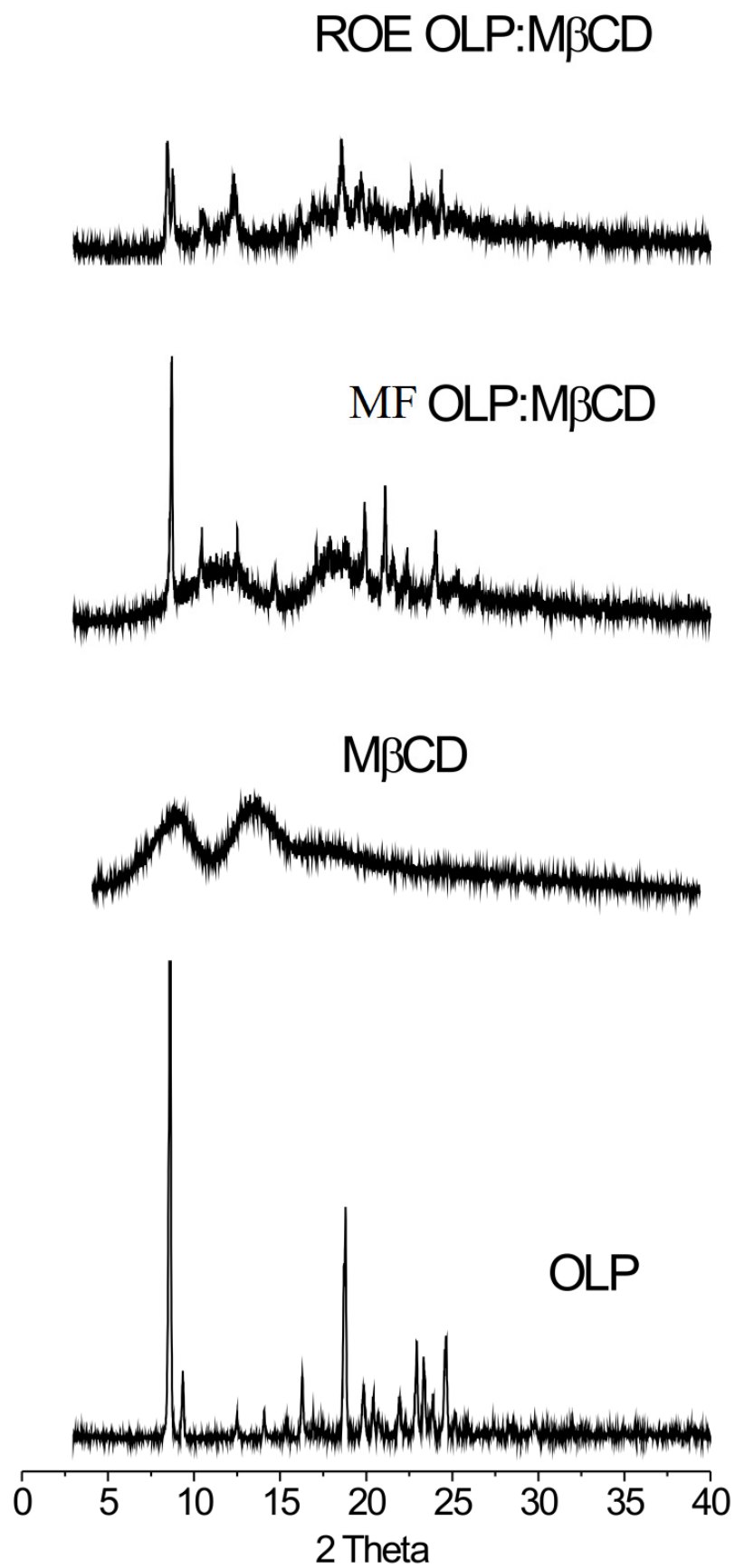
Redução e alargamento das bandas características de C=C ( $1450\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ ) corroboram com a hipótese da complexação ocorrer com o anel aromático no interior da cavidade hidrofóbica. Outro fator que fortalece tal hipótese é a possibilidade de ocorrência de ligação de hidrogênio entre o N-H do anel que contem dois nitrogênios e as hidroxilas da CD, fato respaldado pela redução das bandas características de N=C ( $570\text{-}705\text{ cm}^{-1}$ ) do anel que contem dois nitrogênios no infravermelho do ROE (Fig. 4).

No espectro da OLP, em torno de  $750\text{ cm}^{-1}$ , observa-se banda característica de C-H em compostos benzênicos 1,2 dissustituídos ( $735\text{-}770\text{ cm}^{-1}$ ). Tal banda apresenta-se reduzida no IV do ROE, indicando assim, possível complexação do anel aromático no interior da CD.

Alterações das bandas características de N cíclico ligado a  $\text{CH}_3$  ( $2760\text{-}2820\text{ cm}^{-1}$ ) são encontradas no espectro do ROE. Assim o N- $\text{CH}_3$  do anel piperazina pode estar envolvido nas interações hidrofóbicas na cavidade da ciclodextrina, supondo assim uma complexação por entrada da CD no anel piperazina.

### 3.3.6 Difração de raios X

O perfil difractométrico da OLP revela a presença de 2 picos de maior intensidade entre  $2\theta = 7,5$  a  $10^\circ$  e  $17,5$  a  $20^\circ$  (Fig. 5), além de diversos picos secundários, evidenciando o comportamento cristalino da OLP. A M $\beta$ CD não apresenta picos característicos de compostos cristalinos e, portanto, o perfil difractométrico da MF é resultado da superposição do padrão de difração dos componentes individuais OLP e M $\beta$ CD, indicando que o fármaco manteve sua cristalinidade inicial. Contudo, no padrão de difração do ROE não é mais possível distinção dos picos característicos da OLP, sugerindo, portanto, formação de complexo de inclusão amorfo (Chadha et al., 2011).



**Fig. 5** Padrão de difração de raios X OLP, M $\beta$ CD, MF e ROE

### 3.2.6 Teste de dissolução

Apesar dos estudos de solubilidade de fases serem de grande importância sob o ponto de vista teórico, em termos práticos o método de solubilidade mais informativo é o ensaio de dissolução. Conforme se observa na Fig. 1B, a dissolução da OLP é favorecida no ROE quando comparada à OLP isolada e MF. Esse resultado favorável do ROE está associado à diminuição de cristalinidade e aumento da molhabilidade dos fármacos induzidas pela complexação (Bootsma et al., 1989).

O maior valor de  $ED_{30}$  observado para o complexo ROE em comparação com a OLP e MF reflete as diferenças de cristalinidade destes produtos tal como foi verificado pelos estudos de MEV (Zeng et al., 2011). Este aumento pode ser atribuído às seguintes razões: propriedades tensoativas da CD, em reduzir a tensão interfacial entre o fármaco e o meio de dissolução, promovendo um aumento na velocidade de dissolução do fármaco; aumento de solubilidade conferido pelos processos de complexação, evidenciado experimentalmente pela determinação da solubilidade do fármaco nos complexos; formação de compostos em estado amorfo altamente energético, ou de reduzida cristalinidade, como previamente mostrado pelos estudos de MEV, cuja solubilidade é favorecida (Mura, Faucci & Bettinetti, 2001).

Sendo este fármaco uma base fraca ( $pK_a = 7,5 \pm 0,5$ ), sua dissolução é favorecida em meio ácido. Como o meio de dissolução empregado foi a água ( $pH = 7$ ), observa-se que sua dissolução foi prejudicada contribuindo assim, para os baixos valores de  $ED_{30}$  encontrados, independente da substância analisada (OLP, MF e ROE). O doseamento do ROE mostra conteúdo de OLP de 94%. Esta redução pode estar associada à perda ou degradação do fármaco gerada pelo procedimento de preparação do sistema binário ou pela própria foto-sensibilidade da molécula. Assim, observa-se que o valor de  $ED_{30}$  apresenta-se subestimado, visto que, se 94% de OLP gerou uma eficiência de dissolução de 10,74, então 100% geraria uma eficiência maior, evidenciando, portanto, mais acentuado incremento de dissolução promovido pela formação de complexo de inclusão.

## 4. Conclusão

Um fator de suma importância para a obtenção de complexos de inclusão com características de dissolução favoráveis a uma boa biodisponibilidade é a natureza da CD utilizada. Assim, a possibilidade de formação dos complexos de inclusão binários entre a OLP,  $\beta$ CD, M $\beta$ CD e HP $\beta$ CD, foi confirmada através do ensaio de solubilidade

de fases que demonstrou um perfil linear com constantes de equilíbrio satisfatórias para as três CD's avaliadas. A aplicação de diferentes metodologias analíticas permitiu caracterizar físico-quimicamente os sistemas binários, MF e ROE, obtidos no estado sólido. O ROE obtido demonstrou diferenças morfológicas, térmicas, estruturais e perfis espectroscópicos distintos das moléculas livres de OLP e CD e da MF resultante da simples combinação destas substâncias. Assim, com base na caracterização físico-química efetuada, confirmou-se a formação de complexos de inclusão no estado sólido entre OLP e M $\beta$ CD. Os dados de complexação podem ser utilizados para fins comparativos entre OLP livre e OLP complexada, visando assim obtenção de formulações viáveis, seguras, eficazes e mais solúveis, característica esta essencial a uma boa biodisponibilidade do fármaco, constituindo assim um novo sistema de liberação de drogas para o tratamento da esquizofrenia.

## REFERENCIAS

Bootsma, H. P. R., Frijlink, H. W., Eissens, A., Proost, J. H., Doorne, H. V., & Lerk, C. F. (1989).  $\alpha$ -Cyclodextrin as an excipient in solid oral dosage forms: In vitro and in vivo evaluation of spray-dried diazepam- $\alpha$ -cyclodextrin products. *International Journal of Pharmaceutics*, 51, 213–223.

Chadha, R., Arora, P., Gupta, S., & Jain, D. S. (2011). Complexation of nevirapine with  $\alpha$ -cyclodextrins in the presence and absence of Tween 80: Characterization, thermodynamic parameters, and permeability flux. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 105, 1049–1059.

Ding, L., He, J., Huang, L., & Lu, R. (2010). Studies on a novel modified cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Molecular Structure*, 979(1–3), 122–127.

Fernandes, C. M., Viera, M. T., & Veiga, F. J. (2002). Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nicardipine-cyclodextrins inclusion compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 79–88.

Higuchi, T., & Connors, K. A. (1965). Phase solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, 4, 117–212.

Kim, E., Chun, M. K., Jang, J. S., Lee, I. H., Lee, K. R., & Choi, H. K. (2006). Preparation of a solid dispersion of felodipine using a solvent wetting method. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64, 200–205.

Lima, A. A. N., Soares-Sobrinho, J. L., Correa, R. A. C., Junior, & Rolim-Neto, P. J. (2008). Alternative technologies to improve solubility of poorly water soluble drugs. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27, 789–797.

Lyra, M. A. M., Soares-Sobrinho, J. L., Figueiredo, R. C. B. Q., Sandes, J. M., Lima, A. A. N., Tenorio, R. P., et al. (2012). Study of benznidazole–cyclodextrin inclusion complexes, cytotoxicity and trypanocidal activity. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*, <http://dx.doi.org/10.1007/s10847-011-0077-5>.

Marreto, R. N., Almeida, E. E. C. V., Alves, P. B., Niculau, E. S., Nunes, R. S., Matos, C. R. S., et al. (2008). Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. *Thermochimica Acta*, 475, 53–58.

Mura, P., Faucci, M. T., & Bettinetti, G. P. (2001). The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 187–194.

Rajendraprasad, N., & Basavaiah, K. (2009). Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 539–550.

Rêgo, J. F., Moura, J. I. M., & Moita, G. C. (2010). Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. *Química Nova*, 33, 1–7.

Serafini, M. R., Menezes, P. P., Costa, L. P., Lima, C. M., Quintans, L. J., Junior, Cardoso, J. C., et al. (2012). Interaction of p-cymene with  $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, <http://dx.doi.org/10.1007/s10973-011-1736-x>.

Soares, M. F. R., Soares-Sobrinho, J. L., Silva, K. E. R., Alves, L. D. S., Lopes, P. Q., Correia, L. P., et al. (2011). Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 104, 307–313.

Soares-Sobrinho J. L., Santos F. L. A., Lyra M. A. M., Alves L. D. S., Rolim L. A., Nunes L. C. C., et al. The delivery of Benznidazole drug by inclusion complexes in binary (drug:cyclodextrin) and multicomponent (drug:cyclodextrin:polymer) systems. *Carbohydrates Polymers*, in press.

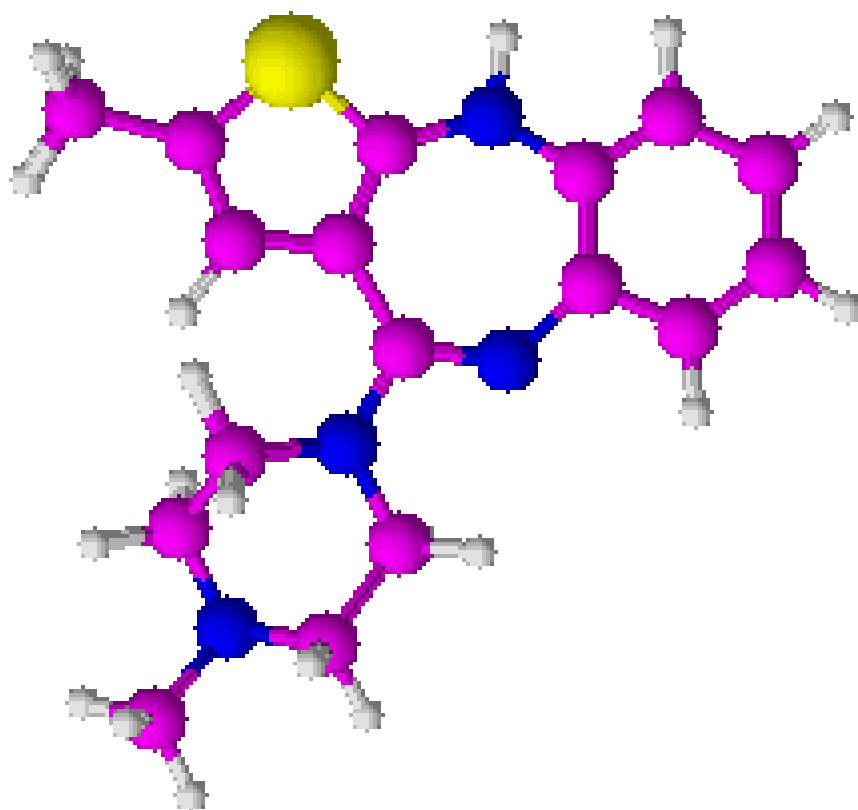
Soares-Sobrinho, J. L., Soares, M. F. R., Labandeira, J. J. T., Alves, L. D. S., & Rolim-Neto, P. J. (2011). Improving the solubility of the antichagasic drug benznidazole through formation of inclusion complexes with cyclodextrins. *Quimica Nova*, 34, 1534–1538.

Soares-Sobrinho, J. L., Soares, M. F. R., Rolim-Neto, P. J., & Labandeira, J. J. T. (2011). Physicochemical study of solid-state benznidazole–cyclodextrin complexes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 106, 319–325.

Wawrzycka-Gorczyca, I., Borowski, P., Osypiuk-Tomasik, J., Mazur, L., & Koziol, A. E. (2007). Crystal structure of olanzapine and its solvates. Part 3. Two and threecomponent solvates with water, ethanol, butan-2-ol and dichloromethane. *Journal of Molecular Structure*, 830(1–3), 188–197.

Yang, L., Chen, W., Ma, S., Gao, Y., Huang, R., Yan, S., et al. (2011). Host–guest system of taxifolin and native cyclodextrin or its derivative: Preparation, characterization, inclusion mode, and solubilization. *Carbohydrate Polymers*, 85(3), 629–637.

Zeng, J., Ren, Y., Zhou, C., Yu, S., & Chen, W. (2011). Preparation and physicochemical characteristics of the complex of edaravone with hydroxypropyl-cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 83(3), 1101–1105.



## ***7 CONCLUSÕES***

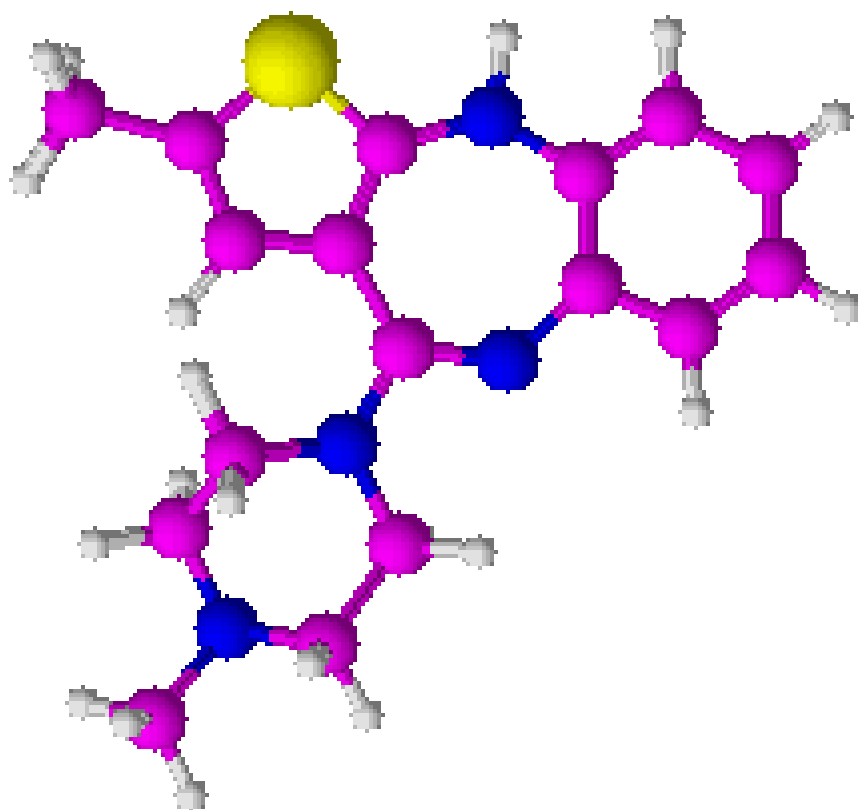
---

## CONCLUSÕES

Diante dos resultados encontrados na caracterização físico-química da olanzapina, pode-se observar que este fármaco apresenta características cristalinas e muito pouca solubilidade em água, comprometendo assim a dissolução do antipsicótico nesse solvente. Em virtude disto, verifica-se a necessidade de utilizar técnicas que promovam incremento da solubilidade da OLP, como a formação de complexos de inclusão.

A formação do complexo de inclusão se deu com estequiometria 1:1 mol:mol OLP-CD, e eficiência de complexação em ordem  $HP\beta CD < M\beta CD < \beta CD$ . A partir disto, dos dados de toxicidade e de solubilidade da CD pode-se evidenciar a  $M\beta CD$  como tecnologicamente mais viável para obtenção do CI. A aplicação articulada de diferentes métodos analíticas permitiu caracterizar físico-quimicamente os sistemas binários (MF e ROE) obtidos no estado sólido. O ROE obtido demonstrou diferenças morfológicas, térmicas, estruturais e perfis espectroscópicos distintos das moléculas livres de OLP e CDs e das MF resultante da simples combinação destas substâncias. Assim, com base na caracterização físico-química efetuada, confirmou-se a formação de complexos de inclusão no estado sólido entre OLP e  $M\beta CD$ .

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a obtenção dos complexos OLP- $M\beta CD$  é um recurso farmacêutico eficaz para se ter melhor dissolução do fármaco, gerando assim vantagens frente à veiculação tradicional. Abre-se, portanto, perspectivas para estudos de avaliação de atividade biológica e toxicidade, a fim de gerar uma possível nova alternativa, mais segura e eficaz, no tratamento da esquizofrenia.

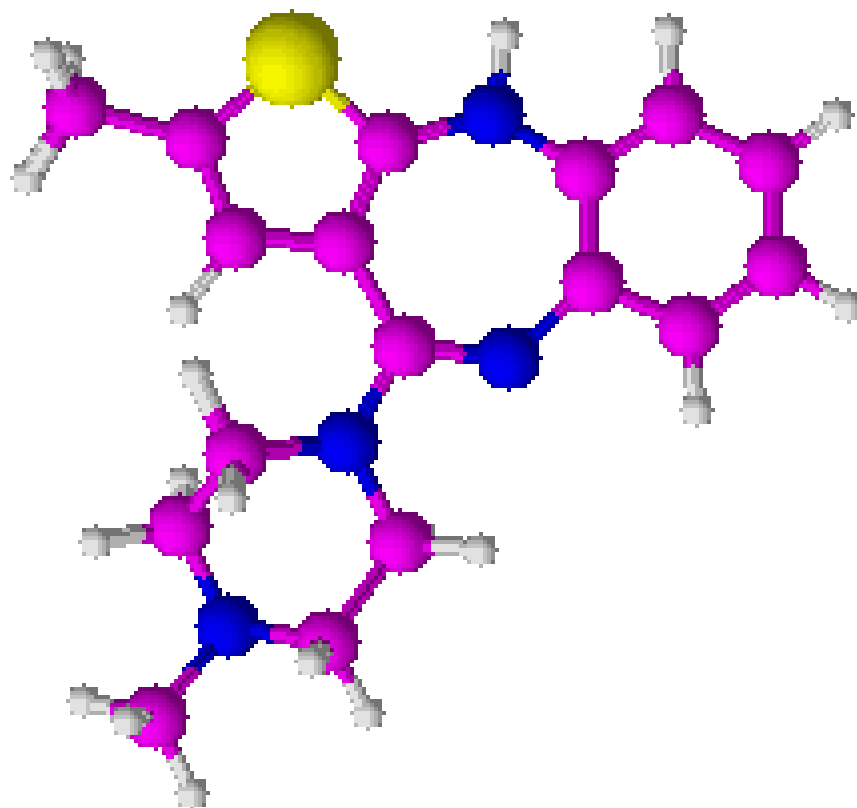


## ***8 PERSPECTIVAS***

---

## **PERPECTIVAS**

- Realização de Modelagem Molecular para estudar a formação do CI;
- Realização de Ressonância Magnética Nuclear;
- Caracterização físico-química dos polimorfos da OLP;
- Estudo de estabilidade do fármaco complexado;
- Desenvolvimento da forma farmacêutica;
- Estudo de estabilidade da forma farmacêutica;
- Pedido de Patente (em andamento).



## *REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

---

BRESSANA, R.A.; PILOWSKY L.S. Hipótese glutamatérgica da esquizofrenia. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.25, n.3, p. 177-83, 2003.

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

ELKIS, H. Clozapina, esquizofrenia refratária e evidências. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v.23, n.2, p. 59-60, 2001.

FRACETO, L.F.; GONÇALVES, M.M.; MORAES, C.M.; ARAÚJO, D.R.; ZANELLA, L.; PAULA, E.; PERTINHEZ, T.A. Caracterização do complexo de inclusão ropivacaína:  $\beta$ -ciclodextrina. **Quim. Nova**, v.30, n.5, p. 1203-1207, 2007.

FREITAS, M.R.; ROLIM, L.A.; SOARES, M.F.R.; ROLIM NETO, P.J.; ALBUQUERQUE, M.M.; SOARES SOBRINHO, J.L. Inclusion complex of methyl-beta-cyclodextrin and olanzapine as potential drug delivery system for schizophrenia. **Carbohydrate Polymers**, v.89, p.1095-1100, 2012.

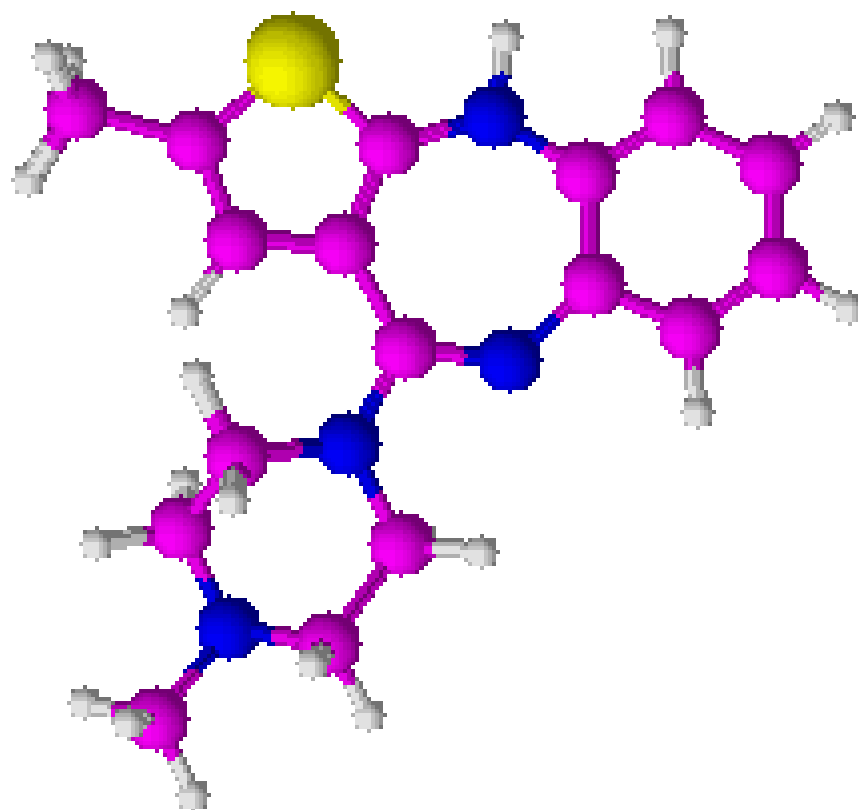
KARAVAS, E.; GEORGARAKIS, E.; SIGALAS, M.P.; AVGOUSTAKIS, K.; BIKIARIS, D. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. **Europ. J. of Pharmacs. and Biopharmacs.**, v. 66, n. 3, p. 334-347, 2007.

LACHMAN, H.A.; SCHAWARTZ, J.B. **Pharmaceutical dosage forms: tablets**. New York: Marcel Dekker, 1990.

RAJENDRAPRASAD, N.; BASAVAIHAH, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. **Braz. J. of Pharmac. Scien.**, v.45, n.3, jul./set. 2009.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Rev. Bras. de Ciên. Farmac.**, v.37, n.1, p. 1-17, 2001.

TEIXEIRA, P. J. R.; ROCHA, F. L. Efeitos adversos metabólicos de antipsicóticos e estabilizadores de humor. **Rev. Psiq. RS**, v.28, n.2, p. 186-196, maio/ago. 2006.



*ANEXOS*

---

- Publicação de artigo científico na revista Carbohydrate Polymers, qualis A1.

Carbohydrate Polymers 89 (2012) 1095–1100



Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

## Carbohydrate Polymers

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/carbpol](http://www.elsevier.com/locate/carbpol)Inclusion complex of methyl- $\beta$ -cyclodextrin and olanzapine as potential drug delivery system for schizophreniaMárcia Rocha de Freitas<sup>a</sup>, Larissa Araújo Rolim<sup>b</sup>, Monica Felts de La Roca Soares<sup>a</sup>, Pedro José Rolim-Neto<sup>b</sup>, Miracy Muniz de Albuquerque<sup>a</sup>, José Lamartine Soares-Sobrinho<sup>a,\*</sup><sup>a</sup> Core of Medicines and Correlated Quality Control - NCCMC, Department of Pharmaceutical Sciences - Federal University of Pernambuco, Arthur de Sá, s/n. 50740-521 Recife, PE, Brazil<sup>b</sup> Laboratory of Medicines Technology - LTM, Department of Pharmaceutical Sciences - Federal University of Pernambuco, Arthur de Sá, s/n. 50740-521 Recife, PE, Brazil

## ARTICLE INFO

## Article history:

Received 24 February 2012

Received in revised form 21 March 2012

Accepted 23 March 2012

Available online 1 April 2012

## Keywords:

Olanzapine

Solubility

Stability

Drug delivery

Cyclodextrin

Dissolution rate

## ABSTRACT

Olanzapine (OLP), the most important atypical antipsychotic drug of the new generation, a high cost drug, has low aqueous solubility, affecting its dissolution and absorption. Its complexation with modified cyclodextrins (CDs) is designed to achieve novel vectorization systems with higher solubility, consequently higher bioavailability. From the CD selection, among  $\beta$ -CD, methyl- $\beta$ -CD (M $\beta$ CD) and hydroxypropyl- $\beta$ -CD, it was obtained a phase solubility diagram suggesting a 1:1 (mol:mol) OLP-CD stoichiometry and complexation constants of 966.9, 149.4 and 91.1 L/mol, respectively. The M $\beta$ CD was selected for the inclusion complexes (IC) attainment, a physical mixture (PM) and a rotatory evaporator product (ROE). The analysis showed differences in the structure, morphology and performance of OLP, M $\beta$ CD, PM and ROE, revealing the occurrence of interactions between drug and CD. The ROE presented the higher dissolution efficiency and stability. The results suggest that the IC was formation, being a technological resource efficient and profitable for drug delivery.

© 2012 Elsevier Ltd. All rights reserved.

## 1. Introduction

Olanzapine (OLP) drug, 2-methyl-4-(4-methyl-1-piperazinyl)-10H-thieno(2,3-b)(1,5) benzodiazepine, is a psychotropic agent belonging to the thienobenzodiazepines class, obtained from the modification of clozapine chemical structure. The OLP is the most important atypical antipsychotic drug of the new generation. It has the reduction of extrapyramidal side effects as advantage over the previous therapy, besides being an alternative to treat patients with refractory to other medications (Rajendraprasad & Basavaiah, 2009).

The OLP drug has high costs and low water solubility, being the hydrophobic parameter an obstacle to the schizophrenia treatment. Thus, it is necessary to develop a pharmaceutical formulation which allows better dissolution and absorption and, consequently, more uniform drug bioavailability (Wawrzycka-Gorczyca, Borowski, Osypuk-Tomasik, Mazur, & Kozioł, 2007).

The drug improved solubility may lead to the development of pharmaceuticals formulations with lower doses, because the higher dissolution efficiency leads to a higher percentage of absorbed drug. With this, they would obtain formulations with reduced

costs, allowing greater access to medication, lower investments in additional medication to treat side effects, better adherence to treatment because the side effects would be reduced, and greater investments in improving mental health care services (Soares-Sobrinho, Soares, Rolim-Neto, & Labandeira, 2011).

A plausible alternative to increase drug solubility is its complexation with cyclodextrins (CDs), molecules capable of changing the drug physicochemical properties, thus favoring its dissolution and bioavailability (Serafini et al., 2012). These compounds have hydrophilic exterior, responsible for interaction with water molecules and hydrophobic internal cavity which is responsible for compatible drugs complexation (Lyra et al., 2012). This molecular aspect has allowed the use of CDs in different areas of science and technology, being the pharmaceutical industry one of the main application areas, because of the possibility of obtaining new drugs with physical and chemical properties different from the isolated active ingredient, such as increased solubility (Soares-Sobrinho, Soares, Labandeira, Alves, & Rolim-Neto, 2011).

Changes in the drug physicochemical properties after its complexation serve as parameter for the test to confirm the inclusion complexes (IC) formation, since the products obtained by mixing the drug and cyclodextrin are not necessarily leads to the formation of a IC with increased solubility. Resorted to, therefore, the techniques of differential scanning calorimeter (DSC), thermogravimetry (TG), X-ray diffraction (XRD), infrared spectroscopy (IR),

\* Corresponding author. Tel.: +55 81 32721383; fax: +55 81 32721383.  
E-mail address: [joselamartine@hotmail.com](mailto:joselamartine@hotmail.com) (J.L. Soares-Sobrinho).

scanning electron microscopy (SEM) (Lyra et al., 2012; Serafini et al., 2012; Soares-Sobrinho, Soares, Labandeira, et al., 2011; Soares-Sobrinho, Soares, Rolim-Neto, et al., 2011).

The present work aimed the development and characterization of a more stable and effective drug delivery system by obtaining a inclusion complex of drug-CD.

## 2. Materials and methods

### 2.1. Materials

OLP was purchased from Gamma Trade, Import & Export LTD (internal batch No. 750) originated from India (batch 90L003). The cyclodextrins tested,  $\beta$ -cyclodextrin ( $\beta$ -CD) (MW 1135 g/mol), methyl- $\beta$ -cyclodextrin (M $\beta$ CD) (MW 1191 g/mol) and hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin (HP $\beta$ CD) (MW 1390 g/mol) were supplied by Roquette® (Barcelona, Spain). The solutions were prepared using ultrapure water (MILLI Q) and filtered through a 0.22  $\mu$ m Millipore® (Millipore Corp, Billerica, MA). Other reagents and chemicals were of analytical reagent grade.

### 2.2. Experimental

#### 2.2.1. Phase solubility diagram

Phase solubility studies were performed according to the method reported by Higuchi and Connors (1965). Excess quantities of OLP (~30 mg) were added to aqueous solutions containing increasing concentrations of CDs, being 0, 1, 2, 2.5, 3, 4 and 5 mmol/L for  $\beta$ -CD and 0, 5, 10, 15, 20, 25 and 50 mmol/L for M $\beta$ CD and HP $\beta$ CD (Lima, Soares-Sobrinho, Correa, & Rolim-Neto, 2008). Suspensions were placed in an ultrasound bath for 15 min and shaken in an oscillating water bath thermostatically controlled at 25 °C for 7 days, which previous studies have shown to be sufficient time to ensure equilibrium. Samples were filtered and appropriately diluted. The OLP concentration was determined using a spectrophotometer in 228 nm (Rêgo, Moura, & Moita, 2010). Experiments were performed in triplicate. The drug-CD association constants ( $K_1$ :1) were calculated using the linear portion of the phase solubility diagrams, assuming 1:1 stoichiometry, according to Eq. (1), where  $S_0$  is OLP water solubility in the absence of CD.

$$K = \frac{\text{slope}}{S_0 \cdot (1 - \text{slope})} \quad (1)$$

#### 2.2.2. Preparation of solid-state complexes

**2.2.2.1. Preparation of physical mixture.** The physical mixtures (PMs) of the OLP and M $\beta$ CD, molar ratio 1:1 (OLP-CD) using a OLP concentration of 5 mmol/L, were prepared to perform the comparative study between them and the rotatory evaporator product (ROE). The geometric dilution method was used to ensure the homogeneity of the product handled in porcelain mortar with the aid of a pestil, packaged in vials protected from light (Kim et al., 2006).

**2.2.2.2. Rotatory evaporator product.** For ROE preparation, amounts of OLP and M $\beta$ CD were dissolved in equimolar concentrations in methanol. The obtained solution was subjected to sonication in ultrasonic bath for 15 min. After an equilibration period of 72 h at room temperature, the solution was evaporated under vacuum at 50 °C in a rotary evaporator (Büchi Rotavapor R-200). The obtained product was placed in vials protected from light.

#### 2.2.3. Characterization of the solid-state complexes

The real obtaining of IC can only be confirmed by accurate characterization of them through various techniques of physical-chemical analysis. This assessment is very important

since it is designed to evaluate the complexation efficiency of the different preparation methods used and different types of CD employees (Zeng, Ren, Zhou, Yu, & Chen, 2011). In this study the binary systems were evaluated by several methods of characterization, including IR, DSC, TG, SEM and dissolution tests.

**2.2.3.1. Infrared spectroscopy.** The spectra acquisition was performed directly on solid samples of OLP, M $\beta$ CD, PM and ROE. It was carried out an average of 10 sweeps in the range 650–4000  $\text{cm}^{-1}$  with resolution of 4  $\text{cm}^{-1}$  in Shimadzu® Spectrophotometer Model UV/VIS-1603.

**2.2.3.2. Differential scanning calorimetry.** Samples of OLP, M $\beta$ CD, PM and ROE; with approximately 3 mg of weight were placed in aluminum pans and heated from 30 to 250 °C at a rate of 10 °C  $\text{min}^{-1}$  under a nitrogen flow of 50  $\text{mL min}^{-1}$  in a Shimadzu® Scanning Calorimeter DSC-60H.

**2.2.3.3. Scanning electron microscopy.** Surface morphologies of samples were examined using a Jeol® JSM-5900. Particles were fixed on a brass stub using double-sided tape and vacuum-coated gold.

**2.2.3.4. Thermogravimetry.** Samples of OLP, M $\beta$ CD, PM and ROE; weighting about 8 mg were placed in alumina pan and heated from 30 to 600 °C at a rate of 10 °C  $\text{min}^{-1}$  under a nitrogen flow of 50  $\text{mL min}^{-1}$  in a Shimadzu® Thermogravimetry DTG-60H. The thermoanalytical data were analyzed using software-TA 60WS® (Therma Analysis) version 2.20 from Shimadzu®.

**2.2.3.5. X-ray diffraction.** The X-ray powder diffraction patterns were collected using copper radiation (40 kV, 20 mA), on a Ultima diffractometer (Rigaku®) with Bragg-Brentano geometry, in the  $2\theta$  range of 20–60° with a step size of 0.02° and counting time of 2 s per step.

**2.2.3.6. Dissolution test.** The samples to be analyzed (OLP, PM and ROE) were placed in capsules with a weight equivalent to 10 mg of OLP each. The dissolution tests were carried out at a temperature of 37 °C ( $\pm 0.5$  °C), 900 mL of water as dissolution medium and an agitation speed of 75 rpm on a Varian® 7010 VK dissolutor (Soares-Sobrinho et al., in press). The drug assay was conducted by UV/VIS Spectrophotometry at 228 nm at intervals of 15, 25, 30 and 60 min. The drug concentration was determined against the initial calibration curve and the dissolution profiles were evaluated using dissolution efficiency in time of 30 min ( $ED_{30}$ ).

## 3. Results and discussion

### 3.1. Phase solubility diagrams

According to the phase solubility diagram results it was observed that the type of CD used influences greatly the OLP solubility (Chadha, Arora, Gupta, & Jain, 2011). In all cases, the solubility of OLP increased linearly as a function of CD concentration over the concentration range under study, therefore, exhibit solubility diagram phase type  $A_L$  (Higuchi & Connors, 1965) to the binary systems complexing OLP- $\beta$ CD, OLP-M $\beta$ CD (Fig. 1A).

The slope value of each diagrams presented below unity, indicating complexation of first order and suggesting a 1:1 mol:mol OLP-CD stoichiometry, allowing the determination of the stability constants respective values, as evidenced in Fig. 1 (Zeng et al., 2011).

Given the CD used for the binary complexes formation, the complexation constant increased in the following order:

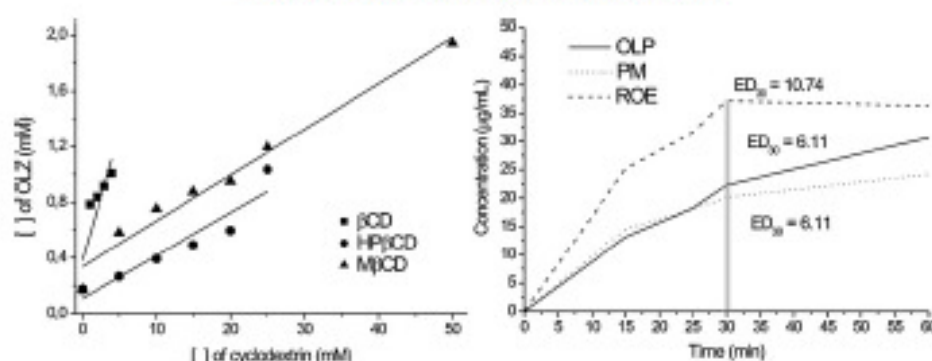


Fig. 1. (A) Phase solubility diagram of OLP in water depending on the CD concentration (βCD, MβCD and HPβCD). (B) Dissolution profiles of OLP, PM and ROE.

HPβCD < MβCD < βCD. The increased stability of the OLP-βCD complex in comparison with OLP-MβCD and OLP-HPβCD may be due to obstruction established by methyl and propyl substituents, respectively, near the cavity of the cyclodextrin which prevent, in stoichiometric ratios, the OLP inclusion (Zeng et al., 2011).

Considering the results, the MβCD has selected for the IC attainment because of its good solubilize capacity. The βCD was not chosen, despite its higher complexation constant value, because its limited solubility in water would hamper their use in pharmaceutical formulations. Therefore, it is inferred that the MβCD, has a higher propensity to be used in solid dosage forms for oral use, as it has greater water solubility, lower toxicity compared to βCD and high efficiency of complexation (Yang et al., 2011).

### 3.2. Characterization of solid state complexes

#### 3.2.1. Differential scanning calorimetry

The OLP thermal behavior observed by DSC is characteristic of an anhydrous and crystalline compound, being visible an intense and well defined endothermic peak 197.92 °C, corresponding to the drug melting temperature. The MβCD DSC curve presents an wider endothermic effect around 293 °C, which is due to the CD crystallization water loss (Fig. 2A) (Marreto et al., 2008).

The thermal analysis of the PM noticed displacement at lower temperatures and endothermic peak enlargement corresponding to the fusion of the drug. It is observed that the OLP fusion peak is at 197.92 °C, while the PM peak is seen at 193.68 °C. This displacement to lower temperature may be explained by the chemical interaction between CD and OLP during the heating process inherent of DSC test. Since the PM melting peak size reduction can be justified by the lower energy requirement for the occurrence of this physical phenomenon, since the OLP amount is lower (Serafini et al., 2012). The ROE DSC curve indicates a complete disappearance of the endothermic peak corresponding to the drug solid-liquid transition. As evidenced by Chadha et al. (2011), the disappearance of the drug melting endothermic peak may be attributed to the inclusion in the CD cavity, suggesting the formation of IC.

#### 3.2.2. Thermogravimetry

The data obtained in the thermogravimetric analysis reaffirm the data obtained from DSC analysis. Analyzing the OLP TG curve can be observed that on the temperature corresponding to the drug melting, 197.92 °C, no sample weight variation was observed, confirming that this peak refers to a physical process.

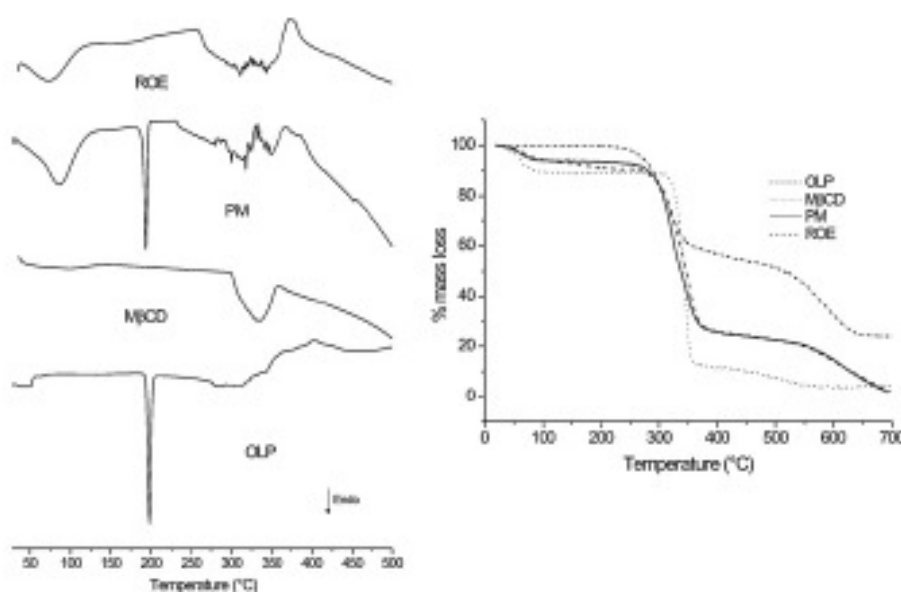


Fig. 2. (A) DSC curves of OLP, MβCD, PM and ROE. (B) TG curves of OLP, MβCD, PM and ROE.

**Table 1**

Data from the main thermal decomposition stage of OLP, MβCD, PM and ROE.

| Sample | Degradation initial temperature (°C) | Degradation final temperature (°C) | Mass loss (%) |
|--------|--------------------------------------|------------------------------------|---------------|
| OLP    | 263                                  | 353                                | 39.54         |
| MβCD   | 308                                  | 355                                | 75.88         |
| PM     | 284                                  | 388                                | 66.68         |
| ROE    | 306                                  | 388                                | 63.79         |

Two weight loss steps were observed in OLP TG curves, corresponding to degradation processes (Fig. 2B). In the ROE TG curve analysis only one peak of OLP chemical degradation was observed, indicating that the interaction between OLP–CD protected the antipsychotic drug of degradations, characterizing the IC formation (Marreto et al., 2008). Can be noted that in the PM TG curve was also verified the occurrence of one OLP degradation peak, however, this degradation is more pronounced, showing a mass loss of 66.68%, compared to the ROE mass loss of 63.79% (Table 1), indicating that the complexation is more efficiently in ROE. The protection of the OLP degradation presented by the PM may be associated with interaction induced by the sample heating during TG analysis.

Analyzing the initial and final degradation temperatures of the ROE, presented in Table 1, it is noted that the complexation confers stability to OLP, since with the complex formation the initial degradation temperature was displaced from 263 to 306 °C. This is a further evidence of complexing, as well as the IC also gives higher solubility give better stability to the molecule in the new drug delivery systems. In the physical mixture is also shown a physical delay of the initial degradation temperature, however, less effective as compared to ROE. This change can be associated with a slight interaction occurrence between drug and cyclodextrin provided by the heating process, inherent to decomposition test.

Another complexation evidence suggested by TG curve, presented in Table 1, is the percentage of mass loss evidenced in the binary systems. The PM showed a higher mass loss (66.68%) in

comparison to ROE (63.79%). A higher weight loss indicates less stability (Soares et al., 2011).

### 3.2.3. Scanning electron microscopy

The photomicrographs observation, presented in Fig. 3, revealed the presence of irregular shape crystals of OLP (Fig. 3A) and spherical forms characteristics of MβCD (Fig. 3B). In turn, the PM microscopic observation revealed the presence of each constituents, maintaining their original morphology, with the OLP crystals adhered to the MβCD surface (Fig. 3C), not revealing, apparently, interactions between drug and CD. However, the ROE photomicrograph (Fig. 3D) shows a change in particles morphological appearance, with loss of the MβCD spherical shape and loss of the OLP typical shown (Fig. 3A and B). Morphological changes can be used as evidence to verify interactions between molecules (Ding, He, Huang, & Lu, 2010). Although SEM studies are inadequate to confirm the IC formation, the particle form changes in appearance and size, is a strong indication for the IC formation (Fernandes, Viera, & Veiga, 2002).

Thus, the data obtained from SEM are added to previous results, suggesting the inclusion complex formation from the processing of the OLP and CD by rotary evaporation.

### 3.2.4. Infrared spectroscopy

Analyzing Fig. 4, shows that the OLP spectrum presents a band corresponding to the amino group of the ring containing two nitrogen atoms ( $3100\text{--}3400\text{ cm}^{-1}$ ). The MβCD spectrum presents a band characteristic of the free OH ( $3450\text{--}3700\text{ cm}^{-1}$ ). The infrared spectroscopy results reveal changes in the region between  $3000$  and  $3700\text{ cm}^{-1}$  in the PM and ROE spectra. Analyzing the PM spectrum is observed that there is a partial overlap of the two peaks mentioned previously, thus suggesting that there was no chemical interaction between these groups. In the ROE spectrum there is a displacement of this band that can be associated with a OH band covering the NH or vice versa. As the band appeared shifted

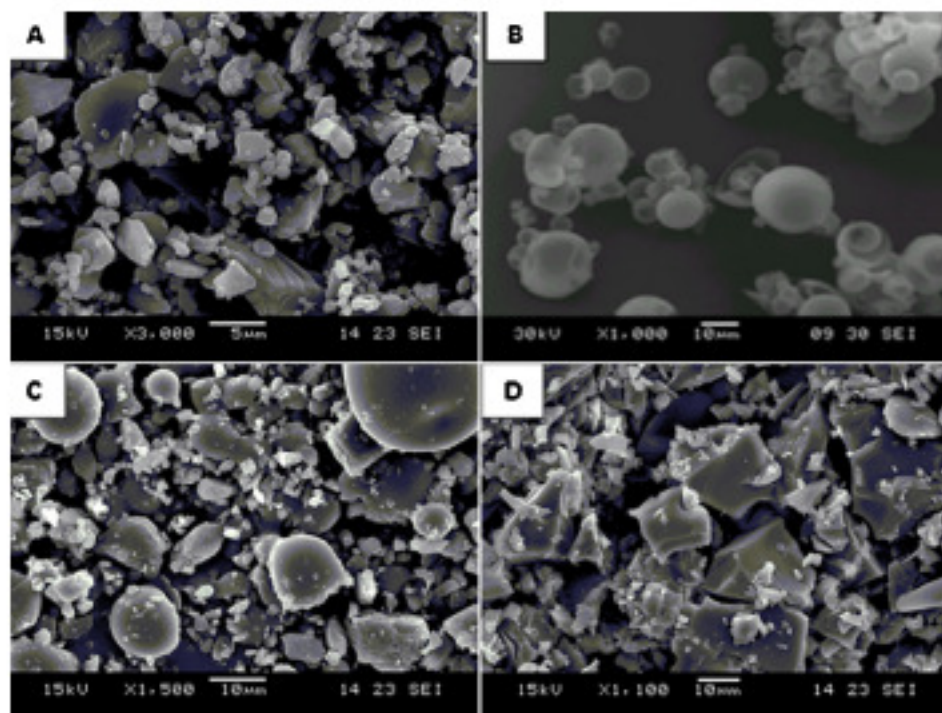


Fig. 3. Photographs of scanning electron microscopy of (A) OLP, (B) MβCD, (C) PM and (D) ROE.

to the right side, when compared to the band found in the OLP spectrum, it is evident that the band overlap is the OH occurring on NH, since the values are more characteristic of OH. This suggests the CD input on the molecule on the aromatic ring side, being verified the occurrence of interactions type hydrogen bonding between the free hydroxyls of the CD ring and amino group containing two nitrogen atoms.

The reduction and extension of the C=C characteristic bands of ( $1450\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$ ) confirm the hypothesis of the complexation occurs between the aromatic ring within the hydrophobic cavity. Another factor that enhances this hypothesis is the possibility of a hydrogen bond formation between N–H of ring containing two nitrogen atoms and the CD hydroxyl, fact supported by the reduction of N–C bands ( $570\text{--}705\text{ cm}^{-1}$ ) of the ring containing two nitrogen atoms in the ROE infrared (Fig. 4).

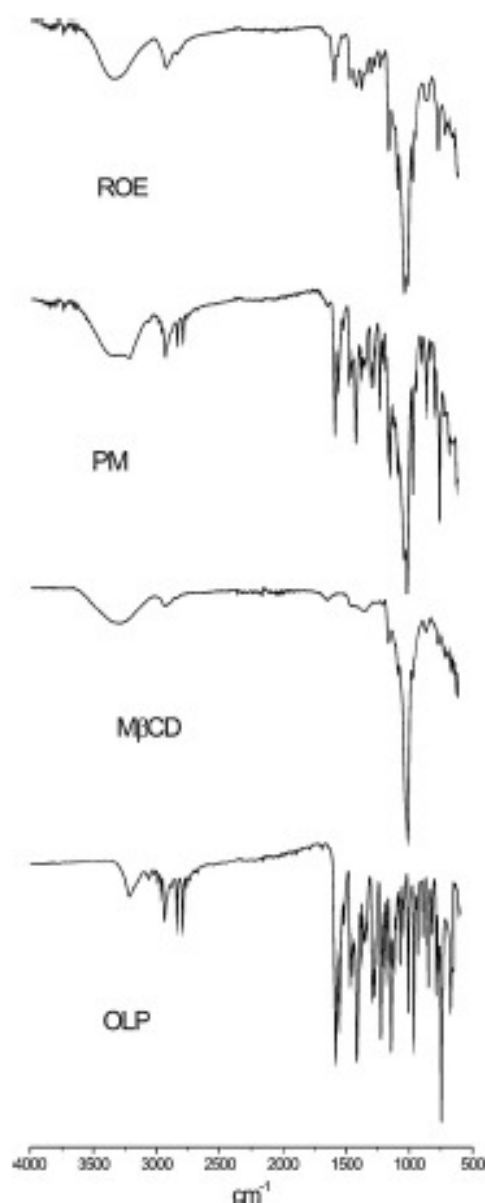


Fig. 4. Infrared spectrum of OLP, MβCD, PM and ROE.

In the OLP spectrum, around  $750\text{ cm}^{-1}$ , can be observe a characteristic C–H band of benzene compounds 1,2 substituted ( $735\text{--}770\text{ cm}^{-1}$ ). This band is reduced on the IR spectrum of ROE, indicating possible complexation of the aromatic ring within the CD. Changes of the N cyclic bands connected to CH<sub>3</sub> ( $2760\text{--}2820\text{ cm}^{-1}$ ) are found in the ROE spectrum. Thus the N–CH<sub>3</sub> of the piperazine ring may be involved in hydrophobic interactions in the cyclodextrin cavity, assuming the complexation by the input of CD in the piperazine ring.

### 3.2.5. X-ray diffraction

The OLP diffractometric profile reveals the presence of two peaks of higher intensity between  $2\theta = 7.5\text{--}10^\circ$  and  $17.5\text{--}20^\circ$  (Fig. 5), beyond several secondary peaks, indicating the OLP crystalline behavior. The MβCD does not present the peaks characteristic to crystalline compounds, and therefore, the PM diffractometric profile is the result of the OLP and MβCD individual diffraction pattern overlapping, indicating that the drug maintained their initial crystallinity. However, in the ROE diffraction pattern is no longer possible to distinguish the OLP characteristic peaks, thus suggesting the formation of amorphous inclusion complex (Chadha et al., 2011).

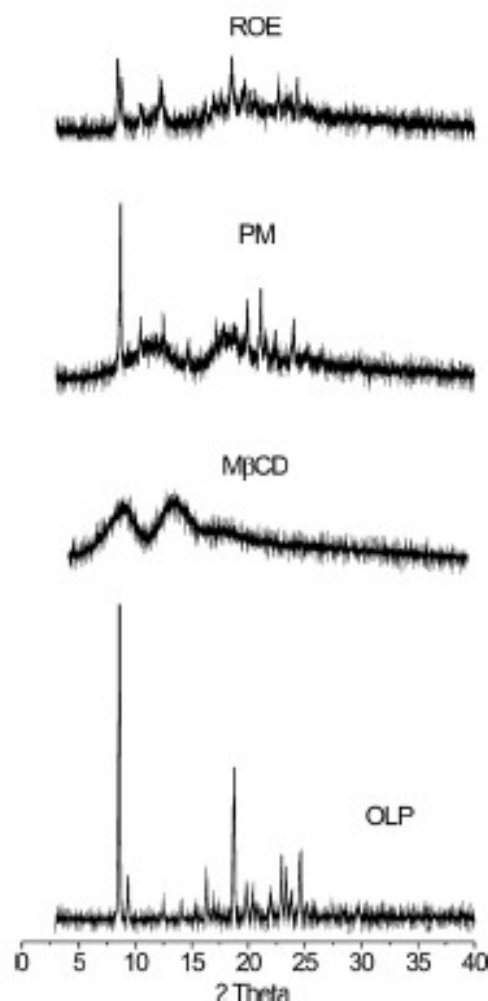


Fig. 5. X-ray diffraction pattern of OLP, MβCD, PM and ROE.

### 3.2.6. Dissolution test

Although the phase solubility studies are of great importance from the theory point of view, in practice the most informative solubility method is the dissolution test. As shown in Fig. 1B, the OLP dissolution is favored in ROE compared to the OLP isolated and PM. This result, favorable to ROE, is associated with the decreased crystallinity and increased wettability induced by the drug complexation (Bootsma et al., 1989).

The highest ROE ED<sub>50</sub> value observed, compared to OLP and PM, reflects the products crystallinity differences as observed on the SEM studies (Zeng et al., 2011). This increase can be attributed to the following reasons: properties surfactants of CD, which reduce the interfacial tension between the drug and the dissolution medium, causing an increase in the drug dissolution rate; increased solubility conferred by the complexation process, demonstrated experimentally by determining the drug solubility in the complex; formation of amorphous or low crystallinity compounds, as previously shown by SEM studies, whose solubility is favored (Mura, Fauci, & Bettinetti, 2001).

Being this drug being a weak base ( $pK_a = 7.5 \pm 0.5$ ), its dissolution is favored under acidic conditions. As the dissolution medium used was water (pH=7), it is observed that the dissolution has been hampered, thus contributing to the low ED<sub>50</sub> values found, independent of the analyte (OLP, PM and ROE). The ROE assay shows a OLP content of 94%. This reduction may be associated with drug loss or drug degradation generated by the binary system preparation procedure or by the drug photo-sensitivity. Thus, it is observed that the ED<sub>50</sub> value is presented underestimated, since 94% of OLP is generated dissolution efficiency of 10.74, then 100% of OLP would generate a higher efficiency, showing therefore more marked increase in dissolution promoted by the formation of IC.

## 4. Conclusion

A factor of great importance for obtaining IC with dissolution characteristics favorable of a good bioavailability is the nature of the CD used. Thus, the possibility of the formation of IC between the OLP,  $\beta$ CD, M $\beta$ CD and HP $\beta$ CD, was confirmed by the phase solubility test showed a linear profile with satisfactory equilibrium constants for the three CDs evaluated. The application of different analytical methods allowed the physicochemical characterization of the binary systems, PM and ROE, obtained in the solid state. The ROE obtained showed differences in morphology, thermal, structural and spectroscopic profiles when compared to the OLP and CDs free molecules, and the PM product showed a simple combination of these substances. Thus, based on the physico-chemical characterization undertaken, it was confirmed the IC formation between OLP and M $\beta$ CD. The complexing data can be used for comparison the OLP drug free and OLP complexed, aiming the attainment of formulations viable, safe, effective and more soluble and stable, this characteristic is essential for a good bioavailability of the drug, thus constitutes a new system for drug delivery to treat schizophrenia.

## References

- Bootsma, H. P. R., Frijlink, H. W., Eissens, A., Proost, J. H., Doorne, H. V., & Lerk, C. F. (1989).  $\beta$ -Cyclodextrin as an excipient in solid oral dosage forms: In vitro and in vivo evaluation of spray-dried diazepam- $\beta$ -cyclodextrin products. *International Journal of Pharmaceutics*, 57, 213–223.
- Chadha, R., Arora, P., Gupta, S., & Jain, D. S. (2011). Complexation of nevirapine with  $\beta$ -cyclodextrins in the presence and absence of Tween 80: Characterization, thermodynamic parameters, and permeability flux. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 105, 1049–1059.
- Ding, L., He, J., Huang, L., & Lu, R. (2010). Studies on a novel modified  $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. *Journal of Molecular Structure*, 979(1–3), 122–127.
- Fernandes, C. M., Viera, M. T., & Veiga, F. J. (2002). Physicochemical characterization and in vitro dissolution behavior of nifedipine-cyclodextrin inclusion compounds. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15, 79–88.
- Higuchi, T., & Connors, K. A. (1965). Phase solubility techniques. *Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation*, 4, 117–212.
- Kim, E., Chun, M. K., Jang, J. S., Lee, I. H., Lee, K. R., & Choi, H. K. (2006). Preparation of a solid dispersion of felodipine using a solvent wetting method. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 64, 200–205.
- Lima, A. A. N., Soares-Sobrinho, J. L., Correa, R. A. C., Junior, & Rolim-Neto, P. J. (2008). Alternative technologies to improve solubility of poorly water soluble drugs. *Latin American Journal of Pharmacy*, 27, 789–797.
- Lyra, M. A. M., Soares-Sobrinho, J. L., Figueiredo, R. C. B. Q., Sandes, J. M., Lima, A. A. N., Tenorio, R. P., et al. (2012). Study of benzimidazole-cyclodextrin inclusion complexes, cytotoxicity and trypanocidal activity. *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10847-011-0077-5>
- Marreto, R. N., Almeida, E. E. C. V., Alves, P. B., Niculau, E. S., Nunes, R. S., Matos, C. R. S., et al. (2008). Thermal analysis and gas chromatography coupled mass spectrometry analyses of hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex containing *Lippia gracilis* essential oil. *Thermochimica Acta*, 475, 53–58.
- Mura, P., Fauci, M. T., & Bettinetti, G. P. (2001). The influence of polyvinylpyrrolidone on naproxen complexation with hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13, 187–194.
- Rajendraprasad, N., & Basaviah, K. (2009). Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 45(3), 539–550.
- Rêgo, J. F., Moura, J. I. M., & Moita, G. C. (2010). Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. *Química Nova*, 33, 1–7.
- Seralfi, M. R., Menezes, P. P., Costa, L. P., Lima, C. M., Quintans, L. J., Junior, Cardoso, J. C., et al. (2012). Interaction of p-cymene with  $\beta$ -cyclodextrin. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. <http://dx.doi.org/10.1007/s10873-011-1736-x>
- Soares, M. F. R., Soares-Sobrinho, J. L., Silva, K. E. R., Alves, L. D. S., Lopes, P. Q., Correia, L. P., et al. (2011). Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 104, 307–313.
- Soares-Sobrinho, J. L., Santos, F. L. A., Lyra, M. A. M., Alves, L. D. S., Rolim, L. A., Nunes, L. C. C., et al. The delivery of Benzimidazole drug by inclusion complexes in binary (drug-cyclodextrin) and multicomponent (drug-cyclodextrin-polymer) systems. *Carbohydrate Polymers*, in press.
- Soares-Sobrinho, J. L., Soares, M. F. R., Labandeira, J. J. T., Alves, L. D. S., & Rolim-Neto, P. J. (2011). Improving the solubility of the antichagasic drug benzimidazole through formation of inclusion complexes with cyclodextrins. *Química Nova*, 34, 1534–1538.
- Soares-Sobrinho, J. L., Soares, M. F. R., Rolim-Neto, P. J., & Labandeira, J. J. T. (2011). Physicochemical study of solid-state benzimidazole-cyclodextrin complexes. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 106, 319–325.
- Wawrzycka-Gorczyca, I., Borowski, P., Osypuk-Tomasik, J., Mazur, L., & Kozioł, A. E. (2007). Crystal structure of olanzapine and its solvates. Part 3. Two and three-component solvates with water, ethanol, butan-2-ol and dichloromethane. *Journal of Molecular Structure*, 830(1–3), 188–197.
- Yang, L., Chen, W., Ma, S., Gao, Y., Huang, R., Yan, S., et al. (2011). Host-guest system of taxifolin and native cyclodextrin or its derivative: Preparation, characterization, inclusion mode, and solubilization. *Carbohydrate Polymers*, 85(3), 629–637.
- Zeng, J., Ren, Y., Zhou, C., Yu, S., & Chen, W. (2011). Preparation and physicochemical characteristics of the complex of edaravone with hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. *Carbohydrate Polymers*, 83(3), 1101–1105.

- Envio de trabalho para IX Congresso Brasileiro de Farmácia/ V Copefarma/ 6ª Jornada Brasileira de Citologia Clínica/ VI Encontro Pernambucano de Assistência Farmacêutica. Título: Incremento da solubilização de olanzapina a partir de sua complexação com M $\beta$ -ciclodextrina.

IX CONGRESSO BRASILEIRO DE FARMÁCIA  
V COPEFARMA  
6ª JORNADA BRASILEIRA DE CITOLOGIA CLÍNICA  
VI ENCONTRO PERNAMBUCANO DE ASSISTÊNCIA FARMACÊUTICA – 05 a 08 de outubro de 2011, Olinda-PE

### Incremento da solubilização de olanzapina a partir de sua complexação com M $\beta$ -ciclodextrina

Márcia R. Freitas<sup>1</sup>(PG); Larissa A. Rolim<sup>1</sup>(PG); Pedro J. Rolim-Neto<sup>1</sup>(PQ); Miracy M. Albuquerque<sup>1</sup>(PQ); José L. Soares-Sobrinho<sup>1</sup> (PQ)

\*E-mail: joselamartine@hotmail.com.br

<sup>1</sup>Programa de Pós Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade federal do Pernambuco - UFPE

**Palavras Chave:** olanzapina, solubilidade, complexo de inclusão, estudo de pré-formulação, vetorização de fármacos.

#### Introdução

A olanzapina (OLP), quimicamente conhecida como 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno(2,3-b) (1,5) benzodiazepina, é um psicotrópico pertencente à classe das tienobenzodiazepinas, utilizada no tratamento da esquizofrenia. A OLP apresenta baixa solubilidade em água, devido a sua forma cristalina com caráter lipofílico, afetando assim, sua dissolução e absorção. Objetivou-se, portanto, incrementar a solubilização da OLP a partir de sua complexação com metil- $\beta$ -ciclodextrina (M $\beta$ CD).

#### Metodologia

Os complexos de inclusão (CI's) foram obtidos por rotaevaporação com concentração molar de 1:1, em comparação a mistura física (MF), de mesma concentração molar, dos compostos. Os ensaios de dissolução foram realizados a temperatura de 37 °C ( $\pm 0,5$  °C), utilizando 900 mL de meio de dissolução (água) e uma velocidade de agitação de 75 rpm. A quantificação da droga foi efetuada por espectroscopia UV a 228 nm, em intervalos de 15, 25, 30 e 60 minutos, sendo avaliado o perfil de dissolução através da eficiência de dissolução (ED) no tempo de 30 minutos.

#### Resultados e Discussão

A dissolução da OLP é favorecida no produto rotaevaporado (ROE) quando comparada à OLP isolada e MF. O parâmetro de ED permite caracterizar o processo de dissolução como um todo, tendo ainda a vantagem de poder ser relacionado com os dados in vivo, uma vez que se aproxima mais da situação clínica. A ED para OLP, MF e ROE foram 5,94%, 6,11% e 10,74% respectivamente. Isto indica que houve um acréscimo de 80,8% na ED do fármaco complexado com M $\beta$ CD, fato este associado à diminuição de

cristalinidade e aumento da molhabilidade dos fármacos induzidas pela complexação. Este aumento pode ser atribuído ainda às propriedades tensoativas das CD's, promovendo um aumento na velocidade de dissolução da OLP, bem como à formação de compostos em estado amorfo altamente energético, ou de reduzida cristalinidade.

#### Conclusões

Com base nos resultados obtidos observa-se que a complexação de OLP com M $\beta$ CD gera um incremento da solubilização deste fármaco. Tal conclusão viabiliza o desenvolvimento farmacotécnico de uma formulação farmacêutica com custos reduzidos, devido ao uso de menores doses, e que possibilite melhor dissolução, absorção e, conseqüentemente, biodisponibilidade do fármaco, trazendo vantagens frente à veiculação tradicional.

BOOTSMA, H.P.R.; FRULINK, H.W.; BISSINS, A.; PROOST, J.H.; VAN DOORN, H.; LERK, C.P.  $\beta$ -Cyclodextrin as an excipient in solid oral dosage forms: in vitro and in vivo evaluation of spray-dried diazepam- $\beta$ -cyclodextrin products. *Int. J. of Pharm.*, v.51, n.3, p. 213-223, maio 1989.

MOYANO, J.R.; ARIAS, M.I.; GENES, J.M.; PEREZ, J.I.; RABASCO, A.M. Dissolution behavior of oxazepam in the presence of cyclodextrins: evaluation of oxazepam dimeth binary system. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, v.23, p. 379-385, 1997.

RAMA, A.C.R.; VIEGA, F.; FLOUREDO, IV.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxi-propil- $\beta$ -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. *Rev. Bras. de Cien. Farmac.*, v.42, n.1, jan/mar. 2006.

RIBEIRO, L.S.S. *Sistemas Multifarmacos com ciclodextrinas como estratégia para otimizar a biodisponibilidade oral de fármacos*. Coimbra, 2005. 287 p. Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra.