

Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição

Ana Cristina Ribeiro Rama, Francisco Veiga, Isabel Vitória Figueiredo, Adriano Sousa, Margarida Caramona

Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

A indometacina, antiinflamatório não-esteróide, é praticamente insolúvel em água. A hidroxipropil- β -ciclodextrina confere aos fármacos nela incluídos melhores características de solubilidade. A formação de complexos com indometacina protege da hidrólise, aumentando a solubilidade. O objetivo desse trabalho foi estudar a influência da complexação por liofilização e por spray-dried, na dissolução e coeficiente de partição. Os resultados dos estudos de dissolução dos complexos de inclusão obtidos por liofilização quando comparados com os obtidos por spray-dryer, apresentam quer maior velocidade de dissolução quer melhor eficiência de dissolução. Os resultados da análise do coeficiente de partição, com ambos os métodos de complexação, confirmam a teoria de que são várias as forças intervenientes neste processo e não é só a fração livre de fármaco que condiciona o transporte para a fase orgânica, reforçando a importância do pH do meio. No estudo com o tampão fosfato pH 7,0, as variações no grau de transporte pela adição de ciclodextrina são muito pequenas, não ocorrendo alteração significativa dos valores de Log P, verificando-se alterações mais significativas quando se utiliza o tampão fosfato pH 5,5. A complexação aumentou a capacidade de solubilização e dissolução da indometacina, a qual tem caráter lipófilo, sem alterar as características que lhe permitem ter boa capacidade de difusão através de membranas biológicas.*

Unitermos

- Indometacina
- Hidroxipropil- β -ciclodextrina
- Dissolução
- Coeficiente de partição

*Correspondência:

F. Veiga
Faculdade de Farmácia
Universidade de Coimbra
Rua do Norte, 3000
Coimbra - Portugal
E-mail fveiga@ci.uc.pt

INTRODUÇÃO

A indometacina (IM) (Ácido [1-(4-clorobenzoil)-5-metoxi-2-metil-3-indolil]acético) é um antiinflamatório não-esteróide, praticamente insolúvel em água e com capacidade de induzir toxicidade gástrica.

O sistema de classificação biofarmacêutico (Figura 1) fundamenta-se na absorção de fármaco através da

membrana intestinal, a uma velocidade que é proporcional à sua concentração na superfície da membrana, sendo a dissolução “in vivo” um fator crítico neste processo (Amidon *et al.*, 1995; Barreto *et al.*, 2002).

Este sistema é uma ferramenta científica para classificação de fármacos, baseada na sua solubilidade em água e permeabilidade intestinal, caracterizando os fármacos em quatro categorias:

- I. Elevada solubilidade e elevada permeabilidade;
- II. Reduzida solubilidade e elevada permeabilidade;
- III. Elevada solubilidade e reduzida permeabilidade;
- IV. Reduzida solubilidade e reduzida permeabilidade.

A correlação dos dados não é muito clara para fármacos do grupo I e IV, devendo ser efetuada a determinação experimental da absorção “in vivo”. Para fármacos do grupo III, a permeabilidade é o fator limitante de absorção, não sendo, neste caso, os dados “in vitro” de grande utilidade. Para os fármacos do grupo II, a solubilidade é o fator limitante da absorção e os dados e estudos “in vitro” podem ser bastante úteis.

Problemas de biodisponibilidade com determinados fármacos podem ser reflexo de que a absorção ocorre durante um período de tempo limitado após a ingestão, o que implica, igualmente, que o processo de dissolução no trato gastrointestinal (TGI) seja limitado pelo tempo, devendo assim, ser estudado o tempo crítico para se atingir percentagem ótima de fármaco dissolvido no local de absorção (Amidon *et al.*, 1995; Barreto *et al.*, 2002; Dressman *et al.*, 1998; Panchagnula, Thomas, 2000; Shargel, Yu, 2002).

Estudos de dissolução

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 dos estudos de dissolução.

Os modelos que permitem prever a absorção dos fármacos a partir dos estudos de dissolução estão limitados pela complexidade de fenômenos que ocorrem no TGI, tais como a situação de jejum ou pós-prandial, a fase do ciclo de motilidade, o esvaziamento gástrico, o conteúdo do lúmen intestinal, o mecanismo responsável pela

absorção do fármaco e permeabilidade e alterações físico-químicas da molécula ao longo do TGI (Barreto *et al.*, 2002; Dressman *et al.*, 1998).

Assim, para que os ensaios de dissolução permitam prever o comportamento “in vivo”, têm que ser utilizados meios de dissolução que se assemelhem às condições fisiológicas, devendo ser considerados fatores como condições *sink*, a presença de tensoativos e a influência dos padrões de motilidade na dissolução (Ford, Rajabi-Siahboomi, 2002). A velocidade de dissolução é também influenciada pelo tamanho da partícula, forma do cristal, 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 (Amidon *et al.*, 1995; Dressman *et al.*, 1998).

O tempo de duração dos testes de dissolução é um outro fator a ponderar. Sua escolha deve levar em consideração não só os locais onde o fármaco vai ser absorvido, mas também, de acordo com a hora do dia em que este é administrado. Assim, para que ocorra absorção de um fármaco no intestino delgado por um período de 1-2 horas, a dissolução deve estar completa, sob condições gástricas, em 15 a 30 minutos e/ou sob condições semelhantes às do intestino delgado, dentro de uma hora. Nestas circunstâncias, é razoável a utilização de critérios de 85% de fármaco dissolvido após 15 minutos no meio simulando o pH gástrico; após uma combinação de 15 minutos simulando o pH gástrico mais 15 minutos simulando o pH do intestino delgado; ou após 30 minutos num meio representativo das condições do intestino delgado (Dressman *et al.*, 1998; Kingsford *et al.*, 1984).

Os dados de dissolução podem ser apresentados e tratados utilizando vários métodos de análise: *perfis de dissolução, tempos de dissolução, fração de fármaco dissolvido num*

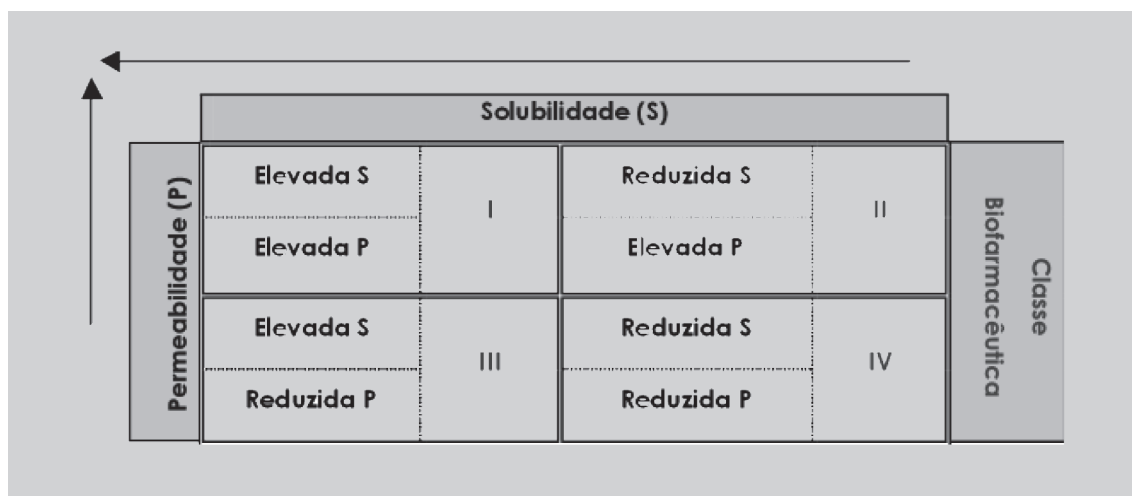


FIGURA 1 - Sistema de classificação biofarmacêutica (Adaptado de Barreto *et al.*, 2002).

intervalo de tempo e eficiência de dissolução (Chowdary, Sureshbabu, 1994; Ford, Rajabi-Sialiboom, 2002)

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 TGI e que a quantidade que atinge a circulação sanguínea é calculada pela área sob a curva da concentração plasmática (Chowdary, Suresh Babu, 1994; Conti *et al.*, 1995; Veiga, 1996).

A indometacina (IM), classificada no grupo II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico, é fracamente solúvel em água e nos fluidos aquosos e a sua absorção é limitada pela sua velocidade de dissolução e solubilidade, sendo um dos objetivos da sua complexação com ciclodextrinas (CDs) conseguir melhorar estas características, contribuindo, assim, para aumento da absorção *in vivo*.

Coeficiente de Partição

As propriedades farmacocinéticas e farmacodinâmicas são influenciadas pela lipofilia das substâncias biologicamente ativas.

As características estruturais de um fármaco, o seu balanço hidrófilo-lipófilo e a sua capacidade de ionização refletem-se na propriedade de difusão passiva da molécula através de um sistema multicompartimental, caracterizado pela variação descontínua de pH. Estas características devem ser compatíveis com a natureza da membrana lipídica que o fármaco tem que atravessar, constituindo-se, conseqüentemente, em fator limitante para que este atinja o local de ação em quantidade suficiente para exercer efeito terapêutico. Condicionam, deste modo, a absorção e os fenômenos subseqüentes de distribuição, metabolização e excreção (La Rotonda *et al.*, 1988).

O caráter lipófilo e a constante de ionização são, deste modo, características físico-químicas interligadas, das quais depende a velocidade e a extensão de absorção, e que são condicionadas por vários fatores fisiológicos, entre os quais o pH do meio.

A relação entre estes dois parâmetros e o pH é conhecida pela hipótese da “partição segundo o pH” (Buri, 1981). Esta hipótese fundamenta-se em vários pressupostos:

- A maior parte das moléculas de fármacos é de natureza ácida ou base fraca;
- Atravessam as barreiras lipídicas por difusão passiva;

- Para se difundir no meio lipídico, a substância deve apresentar algum caráter lipófilo que lhe permita a solubilidade nesse meio;
- Somente a fração não ionizada é lipossolúvel;
- É essencialmente sob a forma não-ionizada que o fármaco atravessará a barreira da membrana;
- O grau de ionização depende do pH, sendo, conseqüentemente, diferente para diversos valores de pH.

A lipofilia é determinada experimentalmente através da razão da distribuição do fármaco entre um solvente não miscível com a água e uma fase aquosa, conhecido por coeficiente de partição (CP). É uma característica física que permite determinar o balanço entre as propriedades lipófilas e hidrófilas, representando a razão entre a parte não-ionizada da molécula, que se dissolve na fase oleosa saturada o *n*-octanol, e a ionizada, solúvel na fase aquosa, que pode ser água ou tampão.

A fase oleosa que apresenta situação mais próxima do que ocorre *in vivo* é o *n*-octanol, devido à sua estrutura química, com cadeias lipofílicas, grupos hidrofílicos, capacidade para captar moléculas de água e parâmetros de solubilidade similares aos das membranas naturais. É recomendado para a fase aquosa a utilização de um tampão com pH semelhante ao meio fisiológico que se pretende estudar (Buri, 1981; Leo *et al.*, 1971; Lien, Ren, 2002; Panchagnula, Thomas, 2000).

Os estudos de polaridade de compostos de complexos de inclusão com CDs, dissolvidos na fase aquosa, baseiam-se em modelos de distribuição entre as duas fases, como representado na Figura 2, e têm como pressupostos que as CDs e os complexos de inclusão não se deslocam da fase aquosa para a fase oleosa, devido ao seu caráter hidrófilo (Frijlink *et al.*, 1989; Nakajima *et al.*, 1984; Uekama *et al.*, 1983; Veiga, 1996).

As experiências efetuadas por alguns autores mostram que a adição de CD a um sistema bifásico de solventes com fármacos lipófilos resulta num processo diferente daquele que existe na ausência de CD. No interior da fase aquosa a concentração de fármaco livre será baixa devido à complexação com a CD. Perto da interface, contudo, a concentração de fármaco livre será relativamente alta, devido ao deslocamento do fármaco do complexo, pelo solvente orgânico. O transporte de massa do fármaco a partir da fase aquosa para a fase oleosa será principalmente determinado pela concentração total de fármaco livre e complexado na fase aquosa e não somente pela fração livre. À medida que o solvente orgânico entra na fase aquosa, a capacidade das CDs para aumentar a dissolução do fármaco diminui, devido à competição entre o solvente e o fármaco para complexar com a molécula de CD. O coeficiente de partição apresentará conseqüentemente ligeiras alterações

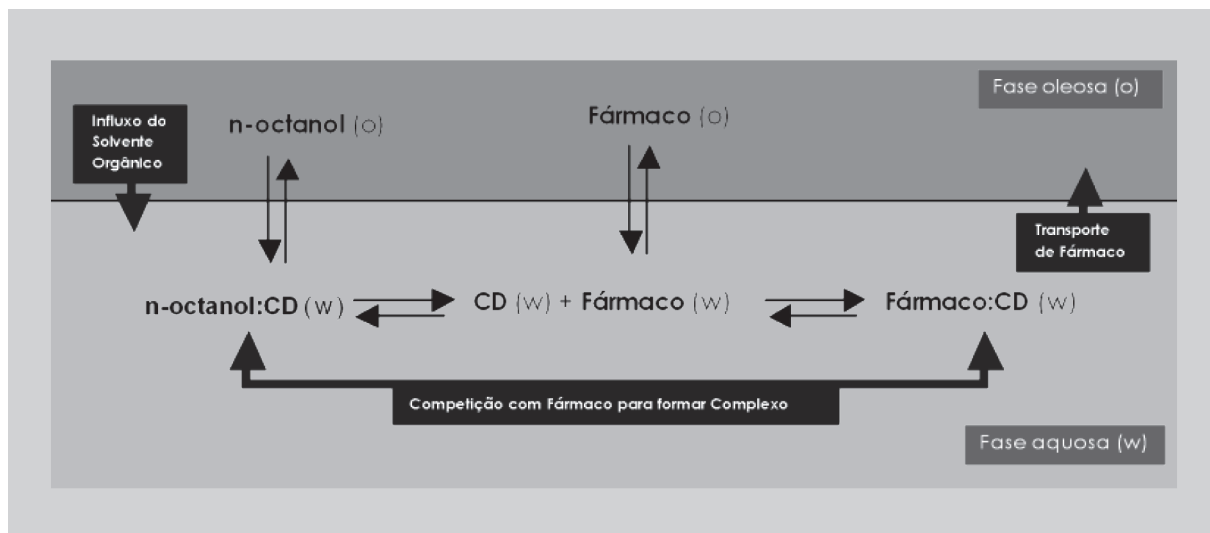


FIGURA 2 - Modelo de distribuição das várias entidades em solução na fase aquosa e oleosa e processos envolvidos no transporte de fármaco para a fase oleosa. (Adaptado de Frijlink *et al.*, 1989; Veiga, 1996).

com a adição das CDs (Frijlink *et al.*, 1989; Nakajima *et al.*, 1984; Uekama *et al.*, 1983; Veiga, 1996).

O estudo efetuado do coeficiente de partição das várias formas de IM, tem como objetivo avaliar a influência da complexação na lipofilia e, deste modo, da capacidade de distribuição em sistemas bifásicos.

MATERIAL E MÉTODOS

A indometacina (IM) utilizada sob a forma ácida (IMfa) foi cedida pela Merck Sharp & Dohme. A hidroxipropil- β -ciclodextrina foi adquirida junto a Jassen Biotech (Beerse, Bélgica), com massa molecular 1300 e grau de substituição molar médio de 0,39. Todos os reagentes usados eram de grau analítico (Merck) e as soluções aquosas foram preparadas com água purificada por osmose reversa (Elgastat, UHQ II).

Secagem em *Spray-dryer*

Quantidades estequiométricas de indometacina e de hidroxipropil- β -ciclodextrina, correspondentes a 2 g de fármaco, dissolveram-se em 1000 mL da mistura 1:1 de etanol e de água destilada. Uma vez obtida a solução anterior foi mantida em agitação enérgica durante 24 horas. Posteriormente, procedeu-se à eliminação dos solventes, pulverizando a solução num *spray-dryer* (Labplant SD05), sob as seguintes condições: velocidade de fluxo da solução: 500 mL/hora; temperatura de entrada: 165 °C; temperatura de saída: 85 °C; pressão de ar de pulverização: 1,5 bar e velocidade de fluxo de ar: 60 m³/hora.

Estudos de dissolução

O estudo foi efetuado de acordo com o método de pá agitadora (Farmacopeia Portuguesa V), à temperatura de 37 ± 0,5 °C, em 1000 mL de tampão fosfato pH 7,2, com velocidade de agitação de 75 rpm, em condições *sink*. As amostras (fração retida entre os tamizes com a rede de 90 mm e 160 mm) contendo 60 mg de IM, ou o seu equivalente na mistura física e nos complexos de inclusão, foram adicionadas ao meio de dissolução, sob a forma de pó disperso.

A cinética de dissolução da IM foi determinada num sistema de fluxo contínuo fechado constituído pelo aparelho de dissolução (Hanson Research) conectado a um espectrofotômetro (Shimadzu, UV 160) através de uma bomba peristáltica (Gilson, Miniplus).

A absorvância foi monitorada contínua e automaticamente a 319 nm durante 420 min. Registrou-se a percentagem de fármaco liberado aos 5, 30 e 60 minutos e calculou-se a eficiência de dissolução nestes tempos. A área sob a curva das diferentes amostras foi calculada através do método dos trapézios (Chowdary, Suresh Babu, 1994; Veiga, 1996).

Foi efetuada a determinação da equação da reta da curva de calibração, para o cálculo de concentração a pH 7,2. O método foi validado para o parâmetro de linearidade. Foram efetuados seis testes de dissolução e calculada a média aritmética ± desvio padrão.

A monitorização contínua foi utilizada para traçar os perfis de dissolução até aos noventa minutos, com a percentagem de fármaco liberada em função do tempo. Foi registrado o tempo necessário para atingir os 50% ($t_{50\%}$) e

os 90% ($t_{90\%}$) da quantidade de IM dissolvida (Chowdary, Suresh Babu, 1994).

Coefficiente de partição

O coeficiente de partição foi determinado utilizando como fase aquosa, tampão fosfato pH 7,0 e 5,5 e como fase oleosa, *n*-octanol. As amostras dos produtos em análise foram dissolvidas na fase aquosa e determinadas as respectivas concentrações iniciais por espectrofotometria no UV a 319 nm.

As fases foram misturadas por agitação com barra magnética (700 rpm) durante 2 horas à temperatura ambiente, após o que foram submetidas a centrifugação (3000 rpm/10 min), de acordo com o procedimento ilustrado na Figura 3.

A concentração final da IM em todas as amostras foi determinada na fase aquosa por leitura da absorvância medida por espectrofotometria no UV a 319 nm. A concentração do fármaco na fase oleosa foi calculada pela diferença entre a concentração inicial e a final na fase aquosa.

Foi efetuada a determinação da equação da reta da curva de calibração, para o cálculo de concentração com os diferentes valores de pH. O método foi validado para o parâmetro de linearidade. As análises foram efetuadas em triplicatas e a média aritmética \pm desvio padrão foram calculados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos de dissolução

A análise dos resultados foi efetuada tendo em vista que:

- Quando um complexo se encontra em solução, o equilíbrio simultâneo de dissolução e dissociação determina a quantidade de fármaco dissolvido, quer na forma complexada, quer na livre, dependendo o grau de dissociação do complexo da sua constante de estabilidade (a K_s do complexo determinada experimentalmente em tampão fosfato pH 7,0 foi de $1074,8 \text{ M}^{-1}$) e das condições de concentração da solução;

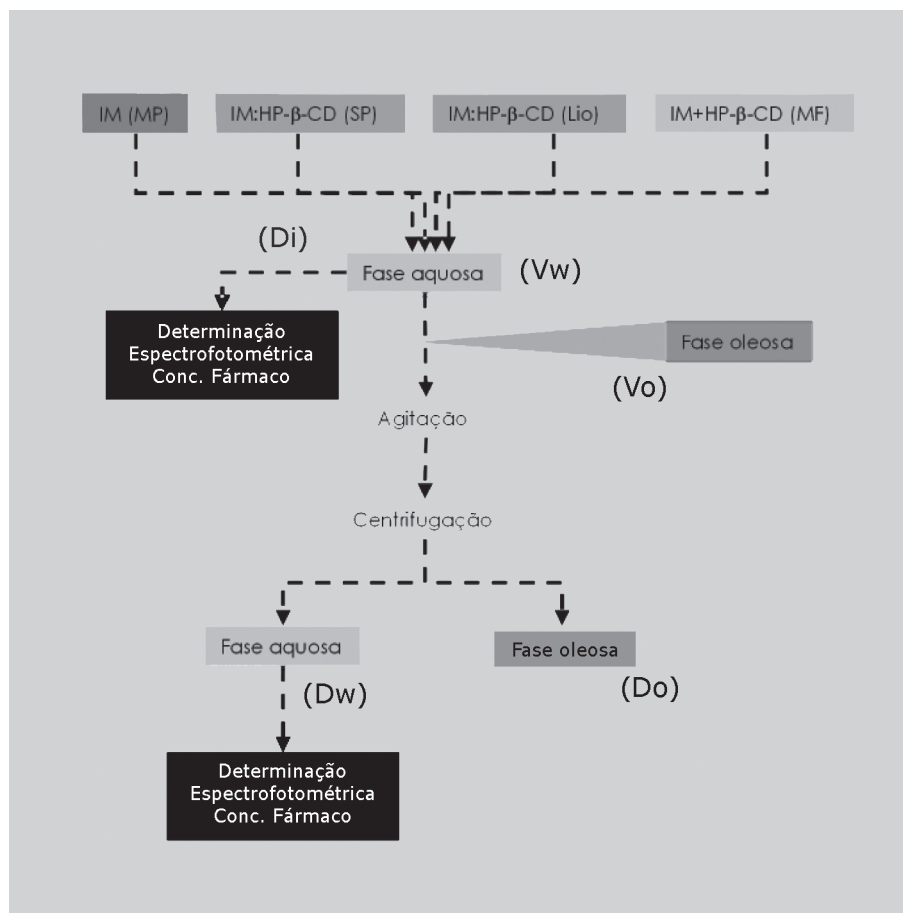


FIGURA 3 - Desenho do estudo do coeficiente de partição. MP - matéria-prima; SP - spray-dried; Lio - liofilização; MF - mistura física; Di - Concentração inicial de fármaco na fase aquosa; Dw - Concentração final de fármaco na fase aquosa; Do - Concentração final de fármaco na fase oleosa; Vw - Volume da fase aquosa; Vo - Volume da fase oleosa.

- Existem ainda outros fatores que podem influenciar o grau de dissolução, como o método de complexação, a solubilidade da ciclodextrina e a proporção de fármaco/ciclodextrina no complexo e as características físicas do pó.

A Tabela I e a Figura 4 apresentam os parâmetros de dissolução estudados, tempo necessário para dissolver 50 e 90% de IM, percentagem de IM dissolvida e eficiência de dissolução aos 5, aos 30 e aos 60 minutos.

Na Figura 4 encontram-se representados os perfis de dissolução das várias espécies em análise, obtidos até aos 90 minutos em 1000 mL de solução de tampão fosfato pH

7,2, à temperatura de $37 \pm 0,5$ °C, com velocidade de agitação de 75 rpm, em condições “sink”.

A análise global dos dados obtidos permite afirmar que a indometacina CLio apresentou maior velocidade e extensão de dissolução quando comparadas às outras amostras (Figura 4).

Observou-se aumento da velocidade de dissolução expressa nos valores de semi-vida de dissolução ($t_{50\%}$), de 12,5 vezes para o complexo preparado por liofilização, 1,9 vezes para o complexo preparado por *spray-dryer* e 2,8 vezes para a mistura física, em relação à IM matéria-prima.

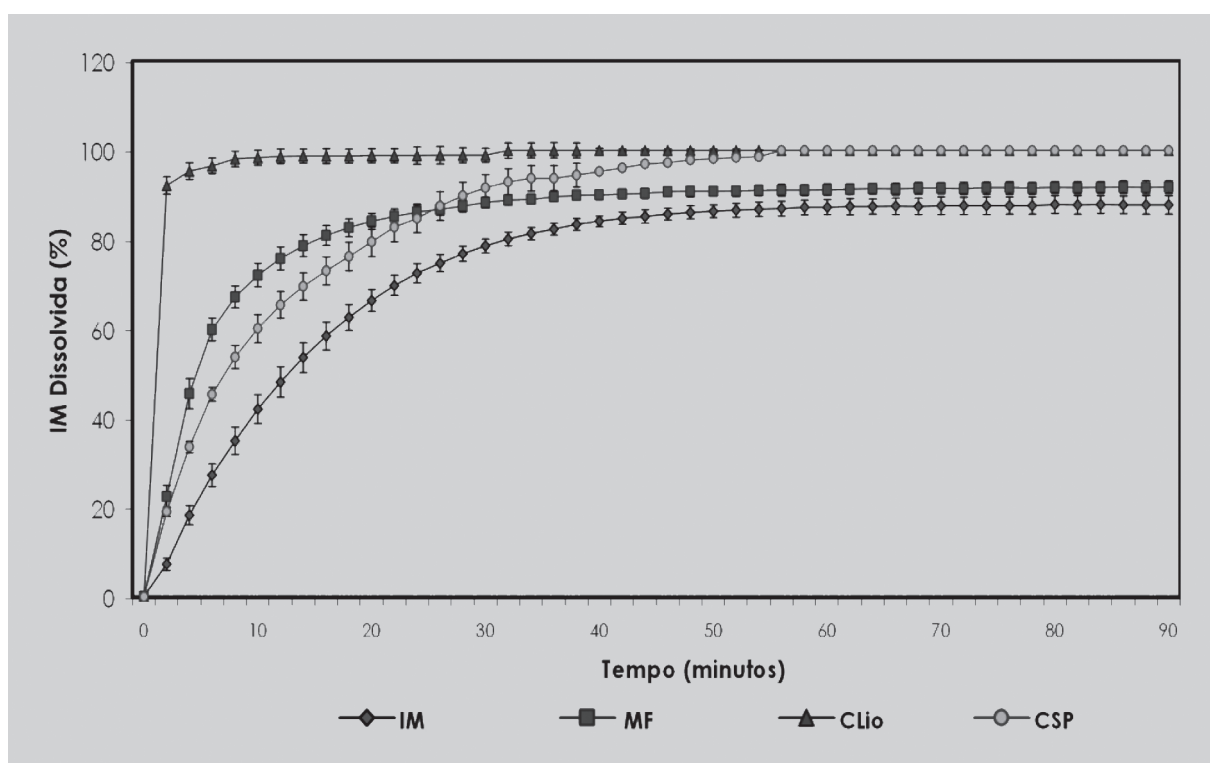


FIGURA 4 - Perfis de dissolução da: IM - IM matéria-prima, da MF - mistura física e dos complexos de inclusão obtidos por método de *spray-drying* - CSP e por liofilização - CLio. Cada ponto representa a média dos 6 ensaios efetuados \pm desvio padrão.

TABELA I - Parâmetros de dissolução estudados

Amostra	$t_{50\%}$	$t_{90\%}$	% IM Dissolvida \pm DP			Eficiência de Dissolução		
	min	min	D5	D30	D60	5 min	30 min	60 min
IM	12,5	> 300	18,3 \pm 2,1	81,4 \pm 1,3	87,3 \pm 1,6	8,30	53,67	67,42
CSP	7,0	32	33,6 \pm 1,2	93,2 \pm 2,6	100,0 \pm 0,1	18,97	67,08	80,02
CLio	1,0	1,8	92,6 \pm 1,8	98,9 \pm 1,2	100,0 \pm 0,1	69,24	89,96	95,41
MF	4,5	40	45,5 \pm 3,3	89,0 \pm 1,0	91,2 \pm 1,2	22,96	72,74	80,41

Valores dos parâmetros de dissolução. $t_{50\%}$, $t_{90\%}$ expresso em minutos; D5, D30, D60 = percentagem de IM dissolvida aos 5, 30 e 60 minutos \pm desvio padrão; ED5, ED30 e ED60 = eficiência de dissolução aos minutos 5, 30 e 60. IM - IM matéria-prima; MF - IM mistura física; CSP - complexo de inclusão obtidos por método de *spray-drying*; CLio - complexo de inclusão obtidos por método de liofilização

TABELA II - Coeficiente de partição aparente (P^*) determinado em tampão fosfato pH 7,0 e pH 5,5 (fase aquosa)

Tampão Fosfato	Razão de Volumes (O/A)	Amostras	P^*	log P^*
pH 7,0	1/50 (2 mL/100 mL)	IM	24,35 \pm 1,46	1,39
		CSP	23,89 \pm 2,77	1,38
		CLio	24,63 \pm 1,90	1,39
		MF	28,29 \pm 0,89	1,45
pH 5,5	1/600 (0,5 mL/300 mL)	IM	526,05 \pm 1,45	2,72
		CSP	623,08 \pm 2,58	2,79
		CLio	421,59 \pm 1,17	2,62
		MF	557,97 \pm 2,36	2,75

Valores médios de $P^* \pm$ desvio-padrão e log P

As duas técnicas de preparação exibam 100% de IM dissolvida aos 60 minutos, é a técnica de liofilização que apresenta uma maior eficiência de dissolução neste tempo (95,41), a qual, por sua vez, é 1,42 vezes superior à da IM matéria-prima. Nem a IM matéria-prima, nem a mistura física, atingem os 100% de dissolução durante todo o tempo do ensaio (420 min).

Observou-se o aumento de alguns parâmetros de dissolução na mistura física em relação à IM matéria-prima e ao complexo obtido por *spray-dryer*. A meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$) é superior em relação à IM/MP. A percentagem de IM dissolvida aos 5 minutos e a eficiência de dissolução aos 5 e 30 minutos são ligeiramente superiores em relação à IM/MP e ao CSP.

Nos perfis de dissolução ficou patente o aumento da percentagem de IM dissolvida, submetida a qualquer dos processos de complexação com a HP- β -CD, quando comparada com a IM matéria-prima. Destaca-se o perfil da IM complexada por processo de liofilização, pela rapidez com que é atingida percentagem de 90% de IM dissolvida e o perfil da IM complexada por processo de *spray-dryer*, por serem os únicos a atingir 100% de dissolução.

Os resultados de superior dissolução obtidos para o complexo preparado por processo de liofilização, podem ser atribuídos:

- Ao aumento da solubilidade conferida pelos processos de complexação, evidenciado nos dados de solubilidade máxima obtidos experimentalmente;
- Ao estado amorfo altamente energético dos produtos liofilizados, o que também ficou demonstrado nos estudos de cristalografia e calorimetria diferencial de varredura, efectuados em trabalhos anteriores (Ribeiro-Rama, 2003) que evidenciam maior cristalinidade para o complexo submetido ao *spray-dryer*, quando se comparam os difratogramas de raios-X das amostras;
- Às propriedades tensoativas das CDs, que reduzem a tensão interfacial entre o fármaco e o meio de dissolução, levando a uma velocidade de dissolução superior (Yazan e Sumnu, 1994).

A velocidade de dissolução da IM complexada pelo método de *spray-drying*, apesar de ser superior à da IM matéria-prima, é inferior à do complexo preparado por liofilização.

Este fato poderá ser atribuído ao método de preparação do complexo, uma vez que as partículas obtidas são de menores dimensões, o que favorece a tendência para formar agregados, bem como maior porosidade e fraca capacidade de flutuação. Os estudos de microscopia electrónica de varredura de Lin e Kao (1989) evidenciam a formação do mesmo tipo de agregados da IM quando submetida a processo de *spray-drying*.

Em síntese, pode afirmar-se que a extensão do efeito de aumento de dissolução é dependente do método de preparação dos complexos. O aumento significativo da velocidade e extensão de dissolução dos complexos pode ser atribuído ao aumento da solubilidade do fármaco induzido pela complexação, à diminuição da tensão superficial da IM devido às propriedades molhantes da ciclodextrina ou à marcada redução da cristalinidade dos compostos.

Coeficiente de partição

Os resultados foram analisados tendo por base o pressuposto de que as CDs e os complexos de inclusão não se deslocam da fase aquosa, devido ao seu caráter hidrófilo, anteriormente referido na introdução (Frijlink *et al.*, 1989; Nakajima *et al.*, 1984; Uekama *et al.*, 1983) e segundo o modelo de distribuição das várias entidades em solução, representado na Figura 2.

Na Figura 5 está patente a influência do pH, visível nos diferentes resultados obtidos no cálculo da concentração molar da IM na fase aquosa, efectuados a partir da medição da absorvância a 319 nm. Confirma-se deste modo a importância deste parâmetro na absorção, distribuição e metabolização de um fármaco em sistemas compartimentais caracterizados pela variação descontínua de pH (Buri, 1981; La Rotonda *et al.*, 1988).

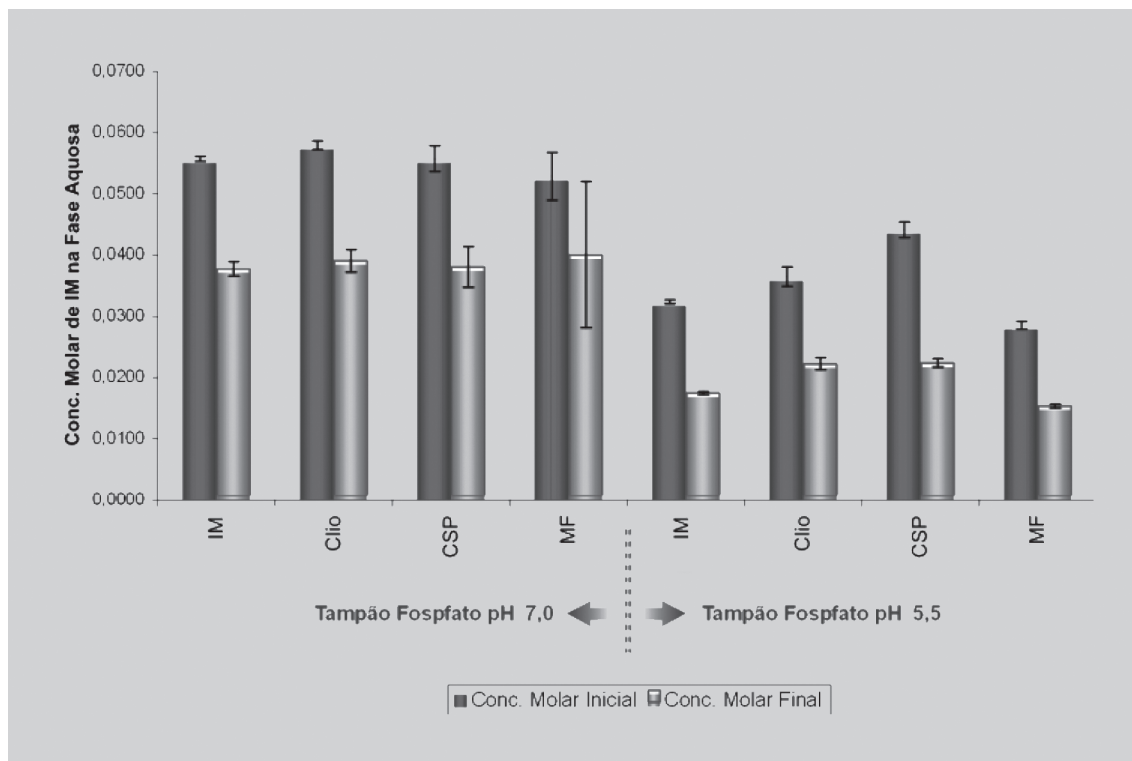


FIGURA 5 - Variação da concentração molar de IM das várias amostras, antes e depois da mistura do sistema binário fase aquosa/fase oleosa. Valor médio de 3 ensaios \pm desvio-padrão.

Na Tabela II são apresentados os valores de coeficiente de partição aparente (P^*) e $\log P^*$, nas condições do ensaio efetuado, isto é, quando utilizado como fase aquosa o tampão fosfato pH 7,0 e pH 5,5 e o *n*-octanol como fase oleosa e com razões de volumes óleo/água (O/A) adequadas.

No estudo efetuado com o tampão fosfato pH 7,0, observa-se que as variações no grau de transporte pela adição de CD são muito pequenas, verificando-se alterações mais significativas quando se utiliza o tampão fosfato pH 5,5.

Levando-se em consideração os dados experimentais obtidos para a constante de estabilidade do complexo a pH 7,0 ($K_s=1074,8 \text{ M}^{-1}$) e em água purificada ($K_s=110,5 \text{ M}^{-1}$) e de solubilidade máxima em água purificada do CLio ($7,59 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}$) e do CSP ($2,78 \times 10^{-3} \text{ mg/mL}$), algumas considerações podem ser efetuadas:

- Uma K_s mais baixa implica mais facilidade de deslocamento de fármaco do complexo, pelo *n*-octanol, havendo mais fármaco livre no meio aquoso;
- Os processos de complexação podem alterar as características de cristalinidade (polimorfismo e passagem ao estado amorfo) das moléculas não complexadas, que se encontram livres, de acordo com o modelo de equilíbrio que se estabelece. Estas alterações vão, por sua vez, influenciar a capacidade de solubilização, aumentando-a.

Assim, a conjugação destes dois fatores, constante

de estabilidade do complexo a diferentes valores de pH e solubilidade do fármaco, no contexto do modelo de distribuição das várias entidades em solução (Figura 2), condiciona o coeficiente de partição do fármaco.

No meio com pH 5,5 para o CSP, verifica-se menor constante de estabilidade e menor solubilidade. A conjugação desses dois fatores faz com que haja mais fármaco livre resultante da competição com o *n*-octanol, mas devido a menor solubilidade há maior transferência de massa para a fase oleosa.

No caso do CLio, apesar da constante de estabilidade ser a mesma, a solubilidade do fármaco é superior, podendo ocorrer retenção deste na fase aquosa.

No meio com pH 7,0 será a constante de estabilidade o principal fator a condicionar o coeficiente de partição, dado que a quantidade de fármaco livre para transferência será menor, não sendo tão significativa a diferença em relação ao processo que se estabelece na ausência da ciclodextrina.

Os resultados obtidos vêm confirmar a teoria anteriormente descrita de que são várias as forças intervenientes neste processo e não é só a fração livre de fármaco que condiciona o transporte para a fase orgânica, reforçando por outro lado a importância do pH do meio (Frijlink *et al.*, 1989; Nakajima *et al.*, 1984; Uekama *et al.*, 1983; Veiga, 1996).

Este modelo de distribuição das várias entidades em solução explica o fenômeno observado, dado que a fração livre de fármaco perto da interface é condicionada pela capacidade do solvente orgânico para deslocar o fármaco do complexo, conquanto esteja também dependente de outros fatores, tais como:

- Relação entre o fármaco e a CD;
- Constante de estabilidade do complexo F:CD, a qual se reflete na capacidade de deslocamento do fármaco;
- Concentração de complexo F:CD na fase aquosa - concentração elevada de complexo faz com que o solvente orgânico não seja capaz de deslocar o fármaco;
- Constante de estabilidade do complexo formado com o solvente orgânico, a qual se reflete igualmente na capacidade de deslocação do fármaco;
- Solubilidade do solvente orgânico na fase aquosa, condicionando o influxo deste para a fase aquosa.

A conjugação destes fatores e o equilíbrio que se estabelece à medida que vão variando as forças em competição, determina a quantidade e velocidade de transporte do fármaco para a fase oleosa.

Contudo, se analisarmos os valores de $\log P^*$ em qualquer dos dois meios, verifica-se que a complexação não exerce influência significativa, mantendo-se num limite de valores (1 a 3) que pode ser considerado como ótimo para absorção passiva (Barreto *et al.*, 2002; Panchagnula, Thomas, 2000).

Se considerarmos que existe “in vivo” uma situação de competição entre os ácidos biliares e o fármaco no nível intestinal, semelhante àquela anteriormente descrita no modelo de distribuição das várias entidades em solução, poder-se-á pensar, nas condições do estudo efetuado, que a capacidade de difusão através de membranas biológicas “in vivo” da IM não é influenciada pela complexação com ciclodextrina. Soma-se, ainda, a vantagem do aumento dos parâmetros de solubilidade e dissolução, que são fatores que limitam a absorção oral deste fármaco em meio com pH entre 6 e 8, como é o que se observa no TGI de recém-nascidos (Besunder, 1988; Yoshioka, *et al.*, 1983).

CONCLUSÕES

A partir dos resultados deste estudo, pode-se concluir que os complexos de inclusão de indometacina melhoraram as características de dissolução desta, os quais constituem fatores que limitam a sua absorção por via oral a pH entre 6 e 8.

A complexação não influenciou as características de polaridade da indometacina que lhes permitem ter uma boa capacidade de difusão membranar, tal como descrito também por outros autores (Frijlink *et al.*, 1989; Veiga, 1996). Esta propriedade ficou evidente no estudo do coeficiente de par-

tição, cujos resultados permitem concluir que não ocorreu alteração significativa dos valores de $\log P^*$, em relação à forma não complexada, tendo-se mantido dentro da margem aceitável (1 a 3) para que ocorra a absorção (Barreto *et al.*, 2002; Panchagnula, Thomas, 2000).

ABSTRACT

Inclusion compounds of indomethacin with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Dissolution profile and partition coefficient evaluation

Indomethacin, a non steroidal anti-inflammatory, is practically water insoluble. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin grants better solubility characteristics to included drugs. Indomethacin's complexation protects from hydrolysis, enhancing solubility and dissolution. The aim is to study the influence of complexation methods, freeze and spray-dryer, on indomethacin dissolution and partition coefficient. Dissolution results show that freeze-dried inclusion complex has a better time needed to dissolve 50% and 90% - 1 and 1.8 minutes then other products. The same happens with percentage of indomethacin dissolved at 5, 30 and 60 minutes - $92.6 \pm 1.8\%$; $98.9 \pm 1.2\%$ e $100.01 \pm 0.1\%$ and also with dissolution efficiency and dissolution profile. Partition coefficient results with the complexes obtained by both methods corroborate the theory that there are several intervenient strengths on this process and not only drug's free fraction that regulates transport to organic phase, reinforcing the environmental pH significance. With phosphate buffer pH 7.0, variations on transport grade by cyclodextrin addition are very small, showing no significant changes on $\log P^$. With phosphate buffer pH 5.5, although not significant, variations are slightly higher. We can conclude that complexation enhances dissolution capacities of lipophylic drugs without changing the characteristics that give them a good ability for membrane diffusion.*

UNITERMS: *Indomethacin. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin. Dissolution. Partition coefficient.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMIDON, G.L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.*, New York, v.12, n.3, p.413-420, 1995.
- BARRETO, M.; BICA, A.; FARINHA, A. Sistemas de classificação biofarmacêutica. *Bol. LEF*, Lisboa, v.32, p.2-10, 2002.

- BESUNDER, J.B.; REED, M. D.; BLUMER, J. L. Principles of drug biodisposition, in the neonate. A critical evaluation of the pharmacokinetic-pharmacodynamic interface (part I). *Clin. Pharmacokinet.*, Auckland, v.14, p.189-216, 1988.
- BURI, P. Préformulation: pKa et coefficient de partage. *Labo-Pharma - Problèmes et Techniques.*, Paris, v.307, p.181-186, 1981.
- CHOWDARY, K.P.R.; SURESH BABU, K.V.V. Dissolution, bioavailability and ulcerogenic studies on solid dispersions of indomethacin in water soluble cellulose polymers. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.20, n.5, p.799-813, 1994.
- CONTI, B.; GENTA, I.; GIUNCHEDI, P.; MODENA, T. Testing of "in vitro" dissolution behaviour of microparticulate drug delivery systems. *Drug Dev. Ind. Pharm.*, New York, v.21, n.10, p.1223-1233, 1995.
- 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.
- FORD, J.L.; RAJABI-SIAHBOOMI, A.R. Dissolution and dissolution testing. In: SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2nd ed. v.1, New York; Basel: Marcel Dekker, Inc., p.717-728, 2002.
- FRIJLINK, H.W.; SCHOONEN, A.J.M.; LERK, C.F. The effects of cyclodextrins on drug absorption I: in vitro observations. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.49, p.91-102, 1989.
- KINGSFORD, M.; EGGERS, N.J.; SOTEROS, G.; MALING, T.J.B.; SHIRKEY, R.J. An in-vivo - in-vitro correlation for the bioavailability of frusemide tablets. *J. Pharm. Pharmacol.*, London, v.36, p.536-538, 1984.
- LA ROTONDA, M.I.; CAPPELLO, B.; GRIMALDI, M.; SILIPO, C.; VITTORIA, A. Analisi correlativa fra bilancio idrofilo-lipofilo, coefficiente di diffusione e concentrazione idrogenionica in una serie di farmaci antiinfiammatori non steroidei. *Farmaco.*, Pavia, v.43, n.5, p.439-455, 1988.
- LEO, A.; HANSCH, C.; ELKINS, D. Partition coefficients and their uses. *Chem. Rev.*, Washington, v.71, n.6, p.525-616, 1971.
- LIEN, E.J.; REN, S. Partition Coefficients. In SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2nd ed. v.2, New York; Basel: Marcel Dekker, Inc., 2002. p.2012-2019.
- LIN, S.Y.; KAO, Y.H. Solid particles of drug-beta-CD inclusion complexes directly prepared by a spray-drying technique. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.56, p.249-259, 1989.
- NAKAJIMA, T.; SUNAGAWA, M.; HIROHASHI, T. Studies of cyclodextrin inclusion complexes. II. Application of the partition coefficient method. *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.32, n.2, p.401-408, 1984.
- PANCHAGNULA, R.; THOMAS, N.S. Biopharmaceutics and pharmacokinetics in drug research. *Int. J. Pharm.*, Amsterdam, v.201, p.131-150, 2000.
- RIBEIRO-RAMA, A. C. *Diminuição de toxicidade gástrica da indometacina por complexação com hidroxipropil-β-ciclodextrina*. Coimbra, 2003. [Dissertação de mestrado. Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra].
- SHARGEL, L.; YU A.B.C. Biopharmaceutics. In SWARBRICK, J.; BOYLAN, J.C. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. 2nd ed. vol. 1. New York; Basel: Marcel Dekker, Inc., 2002. p.156-176.
- UEKAMA, K.; UEMURA, Y.; IRIE, T.; OTAGIRI, M. Analysis of interfacial transfer and absorption behaviour of drugs following dissolution from β-cyclodextrin complexes. *Chem. Pharm. Bull.*, Tokyo, v.31, n.10, p.3637-3643, 1983.
- VEIGA, F. *Complexos de inclusão com ciclodextrinas hidrófilas. Caracterização físico-química e biofarmacêutica*. Coimbra, 1996. [Tese de doutoramento, Faculdade de Farmácia, Universidade de Coimbra].
- YAZAN, Y.; SUMNU, M. Improvement in the dissolution properties of theophylline with β-cyclodextrin. *S.T.P. Pharma Sci.*, Paris, v.4, n.2, p.128-132, 1994.
- YOSHIOKA, H.; ISEKI, K.; FUJITA, K. Development and differences of intestinal flora in the neonatal period in breast-fed and bottle-fed infants. *Pediatrics*, Evaston, v.72, n.3, p.317-321, 1983.

Recebido para publicação em 03 de junho de 2004.
Aceito para publicação em 28 de dezembro de 2005.