

MICRONIZAÇÃO DO AGENTE ATIVO FARMACÊUTICO GLIBENCLAMIDA POR PROCESSO DE PRECIPITAÇÃO COM ANTISOLVENTE LÍQUIDO

C. S. D. COSTA¹ e G. L. V. COELHO¹

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: coelho@ufrj.br

RESUMO – A glibenclamida é um potente agente hipoglicemiante oral que tem sido muito utilizado no tratamento do diabetes *mellitus* não insulino-dependente, porém possui baixa solubilidade aquosa e, conseqüentemente, baixa biodisponibilidade, podendo constituir uma barreira no desenvolvimento de formas farmacêuticas. Visto que partículas menores possuem maior taxa de dissolução, utilizou-se o arranjo ortogonal OA₁₆(4)⁵ com o intuito de otimizar o processo de precipitação com antissolvente líquido e assim produzir partículas de tamanho reduzido, tendo em vista que tal planejamento permite avaliar o efeito de todas as variáveis que podem influenciar o tamanho das partículas. Nas condições ótimas (A4, B2, C3, D3 e E3), sendo a concentração da solução a variável de maior influência, foi possível obter o tamanho médio das partículas (TMP) de 3,205µm.

1. INTRODUÇÃO

A glibenclamida (GLIB, de fórmula molecular C₂₃H₂₈ClN₃O₅S e peso molar 494 g/mol) é um potente agente hipoglicemiante oral que tem sido muito utilizado no tratamento do diabetes *mellitus* não-insulino-dependente, e sua principal ação é estimular a liberação endógena de insulina pelas células beta do pâncreas (ALBU *et al.*, 2007; LI *et al.*, 2013; SHAH *et al.*, 2013).

Para que o medicamento seja absorvido pelo organismo, são necessárias duas etapas: a dissolução seguida pela permeação da mesma na membrana gastrointestinal (SETHIA e SQUILLANTE, 2003; YUKSEL *et al.*, 2000). Diante disso, a solubilidade é um dos principais obstáculos relacionados ao uso da GLIB, já que ela está contida na classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico, ou seja, a droga possui baixa solubilidade e alta permeabilidade (NETO, 2012; PUIGJANER e PROHENS, 2007; REHDER *et al.*, 2012; SHAH *et al.*, 2013; WEI *et al.*, 2008).

Em drogas de alta permeabilidade, a biodisponibilidade oral é limitada pela taxa de dissolução (MATTEUCCI *et al.*, 2006) e, por este motivo, diversas técnicas tem sido utilizadas com o intuito de melhorar a solubilidade e, conseqüentemente, a biodisponibilidade oral da substância, como a redução do tamanho das partículas (YU *et al.*, 2011), o uso de surfactantes, formação de dispersões sólidas, transformação de formas cristalinas para o estado amorfo, sendo que a primeira tem se destacado como a opção mais efetiva (ZHANG *et al.*, 2009).

1.1. Precipitação com Antissolvente Líquido (PAL)

A micronização por precipitação com antissolvente líquido é uma técnica promissora para a redução do tamanho das partículas quando a substância em questão é moderadamente solúvel em um solvente em particular, sendo que o processo é rápido, de baixo custo e de fácil industrialização. (ZHANG *et al.*, 2009; ZHAO *et al.*, 2013).

Na PAL, diversas variáveis externas, como concentração da solução, intensidade de agitação, razão de volume antissolvente/solvente e tempo de precipitação podem afetar as propriedades dos cristais formados (ZHAO *et al.*, 2013). Além disso, aditivos externos podem ser utilizados para inibir a aglomeração e evitar que grandes cristais sejam formados (KIM *et al.*, 2014).

Neste trabalho, as micropartículas de GLIB foram produzidas por precipitação com antissolvente líquido, tendo como objetivos melhorar a taxa de dissolução e a biodisponibilidade oral da mesma, avaliar os fatores que afetam o tamanho médio das partículas (TMP) e otimizar o processo, sendo que para tal foi utilizando o arranjo ortogonal OA₁₆(4)⁵. Foram feitas análises de distribuição do tamanho das partículas e testes para verificar a solubilidade da GLIB em alguns solventes orgânicos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais

Glibenclamida (CAS 10238-21-8) foi doada pela Fundação para o Remédio Popular (FURP – Guarulhos, SP, Brasil). Etanol (VETEC, 99,8%) foi usado como solvente orgânico para a GLIB, TWEEN® 80 (CAS 9005-65-6) foi adquirido da Sigma-Aldrich e utilizado como aditivo externo, sendo a água destilada utilizada como antissolvente. Metanol (VETEC, 99,8%), Acetona (VETEC, 99,8%) e Isopropanol (VETEC, 99,5%) foram utilizados, juntamente com o etanol, para verificar a solubilidade da GLIB.

2.2 Determinação da solubilidade

A solubilidade da GLIB (mg.ml⁻¹) foi testada nos solventes orgânicos etanol, metanol, acetona e isopropanol. Para tal, cerca de 10 mg da droga foram cuidadosamente pesados e colocados em um béquer, no qual uma alíquota de 1 ml do solvente foi adicionada com o auxílio de uma pipeta até a completa dissolução da droga. Todo o procedimento foi feito sob agitação magnética e repetido no mínimo 3 vezes.

2.3 Micronização da glibenclamida

A GLIB micronizada foi preparada através do processo de precipitação com antissolvente líquido, sendo que o diagrama do processo experimental pode ser observado na Figura 1.

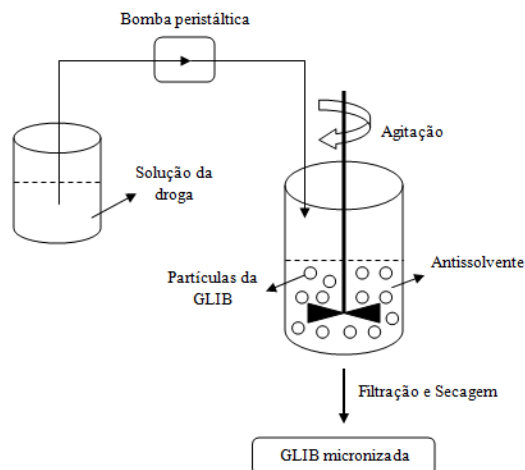


Figura1 – Diagrama do processo experimental.

A GLIB foi dissolvida no solvente orgânico e a solução de concentração previamente definida foi filtrada através de uma membrana Millipore® de 0,22 μm para retirar possíveis impurezas. Utilizando uma bomba peristáltica com um fluxo de 15 $\text{ml} \cdot \text{min}^{-1}$, a solução foi injetada no antissolvente contendo uma quantidade do aditivo externo sob agitação e a precipitação das partículas ocorreu imediatamente. Depois de certo tempo, a suspensão esbranquiçada foi centrifugada a 5000 rpm por cinco minutos, as partículas foram filtradas e secas na Mufla (EDG 3P-S 1800) à 70°C por 2 horas e estocadas para uso. Todos os experimentos foram realizados a temperatura ambiente.

2.4 Otimização do processo

O arranjo ortogonal $\text{OA}_{16}(4)^5$ foi utilizado para otimizar as condições de operação do processo, sendo que permite avaliar o efeito de até cinco fatores com quatro níveis na variável resposta (TMP). Os fatores avaliados foram concentração da solução (A), razão de volume antissolvente/solvente (B), intensidade de agitação (C), tempo de precipitação (D) e concentração de TWEEN® 80 (E), estando estes dispostos na Tabela 1, juntamente com os respectivos níveis. Os níveis de cada fator foram baseados nos resultados de experimentos preliminares, sendo que A variou de 0,5-2,0 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$, B de 3-8, C de 300-1550 rpm, D de 3-12 min e E de 0-0,3 (%v/v). Os 16 experimentos foram gerados pelo Statistica® 10 (USA).

Tabela 1 – Fatores e níveis do $OA_{16}(4)^5$

Nível/fator	A [mg.ml ⁻¹]	B	C [rpm]	D [min]	E [%v/v]
1	0,5	3	300	3	0
2	1,0	4	660	5	0,1
2	1,5	6	990	10	0,2
4	2,0	8	1550	12	0,3

Após definida a condição ótima do processo, as micropartículas foram preparadas e analisadas.

2.5 Caracterização

Tamanho médio e distribuição do tamanho das partículas: o TMP e a distribuição do tamanho das partículas foi determinado usando o Mastersizer 2000 (Malvern), sendo utilizada uma bomba com velocidade de 3300 rpm e ultrassom.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Determinação da solubilidade

A micronização por precipitação com antissolvente é utilizada quando uma substância é moderadamente solúvel em um determinado solvente. Sendo assim, a escolha deste é de grande importância para o sucesso do processo. A solubilidade da GLIB em etanol, metanol, acetona e isopropanol é 2,01, 2,20, 5,02 e 0,998 mg.ml⁻¹, respectivamente. O isopropanol apresenta a menor solubilidade e, devido a isso, não foi escolhido. A toxicidade dos solventes deve ser baixa o suficiente para não prejudicar a saúde. Portanto, os solventes orgânicos são distribuídos em três classes (1, 2 e 3) de acordo com o seu nível de toxicidade, sendo da classe 3 os menos tóxicos. Logo, por estar contido na classe 2, o metanol também foi descartado. Etanol e acetona são solventes da classe 3, mas o primeiro foi escolhido por ser um composto de baixo ponto de ebulição, baixo custo e de fácil obtenção.

3.2 Otimização

Todos os fatores foram examinados usando o arranjo ortogonal $OA_{16}(4)^5$ e o TMP das partículas estão listados na Tabela 2.

Tabela 2 – Combinações do $OA_{16}(4)^5$ e o TMP resultante.

Exp.	A [mg.ml ⁻¹]	B	C [rpm]	D [min]	E (% v/v)	TMP [μ m] \pm DP
1	0,5	3	300	3	0	92,117 \pm 1,9723
2	0,5	4	660	5	0,1	13,376 \pm 0,1469
3	0,5	6	990	10	0,2	11,877 \pm 0,1717
4	0,5	8	1550	12	0,3	15,784 \pm 0,2300
5	1,0	3	660	10	0,3	11,443 \pm 0,1896
6	1,0	4	300	12	0,2	12,354 \pm 0,3058
7	1,0	6	1550	3	0,1	6,212 \pm 0,2660
8	1,0	8	990	5	0	6,320 \pm 0,0995
9	1,5	3	990	12	0,1	8,251 \pm 0,0278
10	1,5	4	1550	10	0	5,722 \pm 0,2423
11	1,5	6	300	5	0,3	13,963 \pm 0,4102
12	1,5	8	660	3	0,2	6,600 \pm 0,3328
13	2,0	3	1550	5	0,2	5,642 \pm 0,1211
14	2,0	4	990	3	0,3	5,715 \pm 0,0380
15	2,0	6	660	12	0	7,373 \pm 0,3958
16	2,0	8	300	10	0,1	10,090 \pm 0,0831
M ₁	33,249	29,364	32,131	27,661	27,883	
M ₂	9,082	9,292	9,698	9,825	9,482	
M ₃	8,634	9,817	8,001	9,744	9,079	
M ₄	7,205	9,699	8,340	10,941	11,726	
D	26,044	20,072	24,130	17,917	18,804	
Nível ótimo	A3	B2	C3	D3	E3	

 $M_1 = \Sigma(\text{tamanho médio das partículas em } A_1) / 4.$
 $D = M_{i_{\text{máx}}} - M_{i_{\text{mín}}}$

A Tabela 2 indica que o maior TMP foi 92,117 μm e o menor foi 5,642 μm , sendo estes obtidos nos experimentos 1 e 13, respectivamente. De acordo com o valor D, fica claro que a influência dos fatores, em ordem decrescente, é: $A > B > C > E > D$. Então, o menor TMP é obtido em A4, B2, C3, D3 e E3. Diante disso, foi feito um experimento confirmatório no qual o TMP obtido foi 3,205 μm . Nota-se que houve uma redução no TMP, sendo que esta pode ser melhor entendida quando se analisa a distribuição do tamanho das partículas: TMP 5,642 μm [$d(0,1) = 1,926$; $d(0,5) = 4,696$; $d(0,9) = 10,791$] e TMP 3,205 μm [$d(0,1) = 1,417$; $d(0,5) = 2,838$; $d(0,9) = 5,395$]. Observa-se que no experimento final 90% das partículas estão abaixo de 5,395 μm , fazendo com o TMP seja menor (Figura 2).

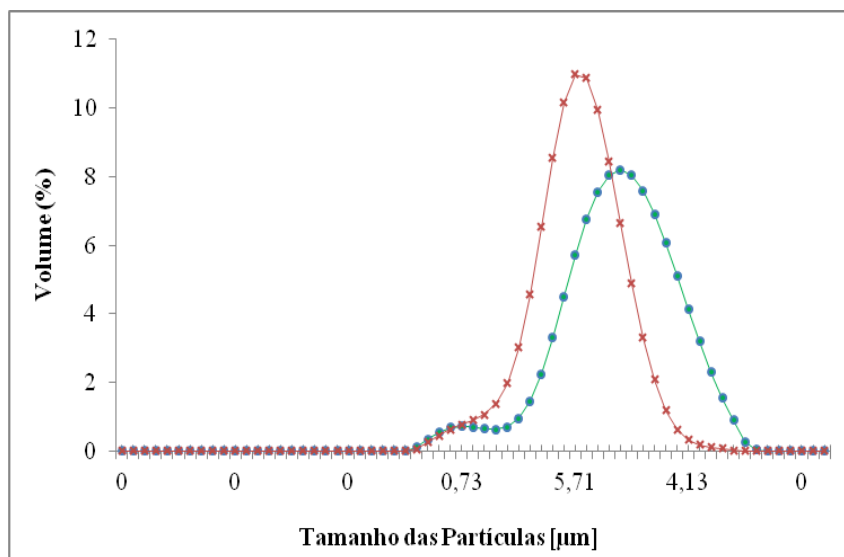


Figura 2 – Distribuição do tamanho das partículas: (•) GLIB obtida no experimento 13; (*) GLIB obtida no experimento final.

Tendo em vista que os parâmetros experimentais podem afetar diretamente o TMP, a otimização do processo é um ponto crítico para o desenvolvimento da PAL.

4. CONCLUSÕES

A precipitação com antissolvente líquido foi utilizada para produzir micropartículas de glibenclamida, a fim de se melhorar sua solubilidade, taxa de dissolução e, consequentemente, a biodisponibilidade oral. O etanol foi utilizado como solvente, a água como antissolvente, concentração da solução [$\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$], razão de volume antissolvente/solvente, intensidade de agitação [rpm], tempo de precipitação [min] e concentração de aditivo [%v/v] foram as variáveis avaliadas e TMP [μm] a variável dependente, sendo a concentração da solução o fator de maior influência no TMP e o ponto ótimo obtido em A3, B2, C3, D3 e E3. Neste, foram obtidas partículas com uma distribuição de tamanhos mais estreita e um TMP de 3,205 μm . Entretanto, características como morfologia, estrutura química, cristalinidade, estabilidade térmica e solvente residual devem ser realizadas para garantir que o insumo farmacêutico seja seguro para consumo.

6. REFERÊNCIAS

ALBU, F.; GEORGITA, C.; DAVID, V.; MEDVEDOVICI, A. Determination of glibenclamida in human plasma by liquid chromatography and atmospheric pressure chemical ionization/MS-MS detection. *J. of Chromat. B*, 846, p. 222-229, 2007.

LI, N.; DENG, Y.; WANG, D.; QIAO, Y.; LI, F. Determination of glibenclamide and puerarin in rat plasma by UPLC-MS/MS: Application to their pharmacokinetic interaction study. *Talanta*, 104, p. 109-115, 2013

SHAH, S. R.; PARIKH, R. H.; CHAVDA, J. R.; SHETH, N. R. Application of Plackett-Burman screening design for preparing glibenclamide nanoparticles for dissolution enhancement. *Powder Tec.*, 235, p. 405-411, 2013.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid Dispersions: Revival with Greater Possibilities and Applications in Oral Drug Delivery. *Crit. Ver.™ in Therap. Drug Carrier Syst.*, 20, p. 215-247, 2003.

YUKSEL, N.; KANIK, A. E.; BAYKARA, T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA-based, model-dependent and-independent methods. *Intern. J. of Pharm.*, 209, p. 57-67, 2000

NETO, S. A. de L. *Preparação e caracterização analítica de dispersões sólidas cristalinas de glibenclamida, obtidas através de secagem por aspersão*. 2012. 102 p. Tese (Doutor em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2012.

PUIGJANER, C.; PROHENS, R. Polimorfismo en la industria farmacêutica. *El Farmac.*, n. 373, p. 58-68, 2007.

REHDER, S.; SAKMANN, A; RADES, T.; LEOPOLD, C. S. Thermal degradation of amorphous glibenclamide. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.*, 80, p. 203-208, 2012.

WEI, H.; DALTON, C.; MASO, M. D.; KANFER, I.; LÖNBERG, R. Physicochemical characterization of five glyburide powders: A BCS based approach to predict oral absorption. *Eur. J. of Pharm. and Biopharm.*, 69, p. 1046-1056, 2008.

MATTEUCCI, M. E.; HOTZE, M. A.; JOHNSTON, K. P.; WILLIAMS III, R. O. Drug Nanoparticles by Antisolvent Precipitation: Mixing Energy versus Surfactant Stabilization. *Langmuir*, v. 22, p. 8951-8959, 2006.

YU, L.; LI, C.; LE, Y.; CHEN, J.; ZOU, H. Stabilized amorphous glibenclamide nanoparticles by high-gravity technique. *Mat. Chem. and Phys.*, 130, p. 361-366, 2011.

ZHANG, H.; WANG, J.; ZHANG, Z.; LE, Y.; SHEN, Z.; CHEN, J. Micronization of atorvastatin calcium by antisolvent precipitation process. *Int. J. of Pharm.*, 374, p. 106-113, 2009.

ZHAO, X.; SONG, K.; WANG, S.; ZU, Y.; LI, N.; YU, X. Micronization of the Pharmaceutically Active Agent Genipin by an Antisolvent Precipitation Process. *Chem. Eng. Tech.*, v. 36, n. 1, p. 33-42, 2013.

KIM, S.; KIM, H.; YEO, S. Crystallization of silibinin from organic solutions using supercritical and aqueous antisolvents. *J. of Super. F.*, 85, p. 102-109, 2014.