



OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE UM COAMORFO DO HIPOGLICEMIANTE ORAL GLIMEPIRIDA

OBTAINING AND CHARACTERIZING A NEW SOLID DISPERSION OF GLIMEPIRIDE WITH TROMETHAMINE

Yasmim S. Braga¹, Antonio D. S. G. Lima¹, Luís H. S. Queiroz¹, Mateus R. Lage^{1,2} e
Paulo Roberto S. Ribeiro¹

1. Núcleo de Ciências Farmacêuticas e Química Analítica Aplicada (NUPFARQ), Programa de Pós-graduação em Ciência dos Materiais (PPGCM), Centro de Ciências de Imperatriz (CCIM), Universidade Federal do Maranhão (UFMA), Imperatriz, MA, Brasil, CEP: 65.900-410.

2. Coordenação do Curso de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, 65800-000 Balsas, MA, Brasil.

ys.braga@discente.ufma.br

RESUMO

A glimepirida (GLP) é um hipoglicemiante oral amplamente utilizado no tratamento do diabetes mellitus tipo II. Ela pertence à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB), apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade membranar. A trometamina (TRIS) é uma substância que possui uma ampla utilização na área da farmácia, por apresentar aplicações importantes no estudo da restauração do pH dos fluidos corporais ao normal. As dispersões sólidas de fármacos (DSFs) são atrativas por melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade de fármacos poucos solúveis, sem necessidade de mudar a interação farmacológica do mesmo ou a estrutura molecular. Este estudo objetivou a obtenção e a caracterização de uma nova DSF de GLP a partir da interação com o TRIS, por meio da evaporação do solvente (ES). Sendo assim, a DSF de GLP-TRIS foi obtida por ES, utilizando a dimetilformamida (DMF) como solvente na razão molar de 1:1. Posteriormente, os materiais obtidos foram caracterizados por difração de raios X pelo método do pó (DRXP); termogravimetria, termogravimetria derivativa e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os resultados por DRXP mostraram a ausência de picos de difração, resultando na formação de material amorfo (coamorfo). A curva de TG/DTG-DTA deste material apresentou boa estabilidade térmica em torno de 158,4 °C. A curva de DSC não apresentou evento de fusão, confirmando sua natureza amorfa. Assim, essa DSF é atrativa para o aumento da hidrossolubilidade da GLP, contribuindo assim, para o aumento da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica deste fármaco.

Palavras-chave: Glimepirida, Trometamina, Dispersões Sólidas de Fármacos, Coamorfos e Solubilidade.

ABSTRACT

Glimepiride (GLP) is an oral hypoglycemic agent widely used in the treatment of type II diabetes mellitus. It belongs to Class II of the Biopharmaceutical Classification System (SCB), presenting low solubility and high membrane permeability. Tromethamine (TRIS) is a substance that is widely used in the pharmaceutical field, as it has important applications in the study of restoring the pH of body fluids to normal. Solid drug dispersions (DSFs) are attractive because they improve the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs, without the need to change their pharmacological interaction or molecular structure. This study aimed to obtain and characterize a new GLP DSF based on the interaction with TRIS, through solvent evaporation (ES). Therefore, the DSF of GLP-TRIS was obtained by ES, using dimethylformamide (DMF) as a solvent in a molar ratio of 1:1. Subsequently, the materials obtained were characterized by X-ray diffraction using the powder method (XRD); thermogravimetry, derivative thermogravimetry and simultaneous differential thermal analysis (TG/DTG-DTA) and differential scanning calorimetry (DSC). The XRD results showed the absence of diffraction peaks, resulting in the formation of amorphous material (coamorphous). The TG/DTG-DTA curve of this material showed good thermal stability around 158.4 °C. The DSC curve showed no melting event, confirming its amorphous nature. Thus, this DSF is attractive for increasing the water solubility of GLP, thus contributing to increasing the bioavailability and therapeutic efficacy of this drug.

Keywords: *Glimepiride, Tromethamine, Solid Drug Dispersion, Coamorphous, Solubility.*

INTRODUÇÃO

As dispersões sólidas de fármacos (DSFs) são materiais compósitos que visam melhorar a eficácia terapêutica de fármacos melhorando a solubilidade, taxa de dissolução e, conseqüentemente, a biodisponibilidade de fármacos poucos solúveis, sem necessidade de mudar a interação farmacológica do mesmo ou a estrutura molecular. Sendo assim, a obtenção de DSFs fármaco:coformador/fármaco:fármaco tem sido uma estratégia cada vez mais utilizada [1].

Os materiais amorfos geralmente apresentam instabilidade termodinâmica, gerando uma preocupação em relação a sua tendência em recrystalizar durante o armazenamento, limitando assim, sua aplicação farmacêutica; apesar disso, apresentam maior solubilidade e taxa de dissolução em água [2]. Visando contornar o desafio da instabilidade termodinâmica dos materiais amorfos, surgem as DSFs do tipo co-amorfas como alternativa, apresentando maior hidrossolubilidade em comparação aos materiais cristalinos [3].

O Fármaco glimepirida (GLP) é usado no tratamento da diabetes mellitus (DM) tipo 2, como agente hipoglicemiante [4]. Pertence à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), com baixa solubilidade e alta permeabilidade membranar, apresentando-se como um pó branco ou quase branco, sendo praticamente insolúvel em água e solúvel em dimetilformamida [5].

A trometamina (TRIS) é quimicamente conhecida como tris (hidroximetil) aminometano [6]. É uma substância que possui uma ampla utilização na área da farmácia, por apresentar aplicações importantes no estudo da restauração do pH dos fluidos corporais ao normal e das alterações do equilíbrio ácido-base [7]. Sendo assim, neste trabalho foi possível realizar a obtenção e caracterização de uma nova dispersão sólida GLP-TRIS (1:1) por difração de raios X pelo método do pó (DRXP); termogravimetria, termogravimetria derivativa e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) contribuindo para o aumento da hidrossolubilidade desse fármaco e favorecendo o aumento da biodisponibilidade e da eficácia terapêutica a partir da evaporação do solvente (ES).

MATERIAIS E MÉTODOS

Reagentes e Solvente

Neste tópico são apresentados os reagentes e solventes utilizados nesta pesquisa que estão descritos na Tabela 1, onde mostra os principais dados fornecidos pelos fabricantes.

Tabela 1: Compostos utilizados na pesquisa e informações do fornecedor.

Composto (abreviatura)	Fabricante	MM (g.mol ⁻¹)	T _f (°C)	Pureza (%)
Glimepirida (GLP)	<i>Sigma-Aldrich</i>	490,62	207,0	99,15
Trometamina (TRIS)	<i>Novaderma*</i>	121,14	168,0-172,0	99,0
Solvente (abreviatura)	Fabricante	MM (g.mol ⁻¹)	T _e (°C)	Pureza (%)
Dimetilformamida (DMF)	<i>Synth</i>	73,09	153,0	99,8

*Farmácia de manipulação

Procedimentos Experimentais

Caracterização dos compostos de partida recristalizados (GLP_{REC} e TRIS_{REC})

Os compostos de partida recristalizados (GLP_{REC} e TRIS_{REC}) foram caracterizados por difração de raios X pelo método do pó (DRXP); por termogravimetria, termogravimetria derivativa e análise térmica diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA) e por calorimetria exploratória diferencial (DSC). Com isso, os difratogramas das amostras foram obtidos em um equipamento da marca PANalytical, modelo Empyrean, utilizando geometria de reflexão Bragg-Brentano (θ - θ) e radiação Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), operando a uma tensão de 40 kV e corrente de 30 mA. As medidas foram realizadas utilizando um detector PIXcel3D, com passo de 0,02°, tempo por passo de 2 segundos e varredura angular (2 θ) de 5° a 45°. Em seguida, os difratogramas dos compostos de partida foram submetidos ao método estatístico de Refinamento de Rietveld. O refinamento foi realizado utilizando o programa GSAS com interface EXPGUI.

As curvas de TG/DTG-DTA das amostras foram obtidas em um analisador térmico da marca Shimadzu Instruments, modelo DTG-60 com balança do tipo *Top plan* de guia diferencial paralela. Os ciclos únicos de aquecimento foram realizados de acordo com a estabilidade térmica de cada composto, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. O suporte para a amostra utilizado foi de alfa-alumina e a massa de amostra usada foi em mg.

As curvas DSC das amostras foram obtidas em um analisador térmico da marca Shimadzu Instruments DSC-60. Para tanto, ciclos únicos de aquecimentos foram realizados na faixa de temperatura de acordo com a estabilidade térmica de cada composto, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio e com vazão de 50 mL min⁻¹. A taxa de aquecimento de equilíbrio programada foi de 10 °C min⁻¹. Utilizou-se um cadinho de alumínio com aproximadamente 2,00 mg da amostra, como suporte para as amostras e como referência, usou-se um cadinho similar, porém vazio.

Obtenção e caracterização do coamorfo de GLP-TRIS (1:1) e GLP-TRIS (1:1)_{MF}

Para a obtenção do coamorfo de GLP-TRIS na razão molar de 1:1, foram pesadas as massas de GLP (80,88 mg) e TRIS (20,00 mg) em uma balança analítica, marca Shimadzu, modelo AUW220D. Em seguida, estas massas foram dissolvidas em 30,00 mL de

dimetilformamida (DMF) em um béquer de 250,00 mL. Posteriormente, a solução foi colocada na incubadora shaker, marca SPLABOR, modelo SP222, a $50,0 \pm 1,0$ °C, sob agitação de 150 rpm durante 4 horas. A seguir, o material obtido foi seco em uma estufa para esterilização e secagem com circulação forçada de ar, marca SPLABOR, modelo SP 102, a $50,0 \pm 1,0$ °C durante 2 horas. Posteriormente, o material foi devidamente armazenado em frasco tipo *ependorf* e colocado em dessecador. Para a obtenção da mistura física de GLP-TRIS (1:1)_{MF}, foram pesadas as massas de GLP (40,43 mg) e TRIS (9,99 mg) em uma balança analítica, marca Shimadzu, modelo AUW220D. Em seguida, os materiais obtidos foram caracterizados por DRXP, TG/DTG-DTA e DSC, utilizando os mesmos parâmetros de análise utilizados nas análises dos compostos de partida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização por Difração de Raios X pelo Método do Pó (DRXP)

A Fig. 1(a) apresenta os padrões de Difração de Raios X para GLP_{REC}, GLP-TRIS (1:1), GLP-TRIS (1:1)_{MF} e TRIS_{REC}. A Fig. 1 (b) e (c) apresenta os refinamentos pelo método de Rietveld para a GLP_{REC} e TRIS_{REC}, respectivamente. Para (b) GLP_{REC} observou-se que o refinamento pelo método de Rietveld apresentou mistura de fase, resultados satisfatórios para os fatores de convergência ($R_{wp} = 15,73\%$, $R_p = 12,10\%$ e $S = 3,07$). Portanto, GLP_{REC} permite afirmar que o fármaco apresenta uma mistura de fase entre a Forma I e a Forma II; se dispõe na Forma I com parâmetros de rede: $a = 15,279$ Å, $b = 9,812$ Å e $c = 18,178$ Å e $V = 2527$ Å³, grupo espacial $P2_1/n$ e sistema monoclinico [8] e na Forma II com parâmetros de rede: $a = 12,570$ (3) Å, $b = 9,110$ (4) Å e $c = 43,970$ (9) Å e $V = 5107,225$ Å³ e grupo espacial $Pbca$ [9]. Para a (c) TRIS_{REC}, observou-se que o refinamento apresentou resultados satisfatórios para os fatores de convergência ($R_{wp} = 11,50\%$, $R_p = 9,01\%$ e $S = 1,15$). Portanto, é possível afirmar que a TRIS se encontra em sua fase polimórfica nomeada como Forma α , a forma termodinamicamente mais estável, com parâmetros de rede: $a = 8,807$ Å, $b = 8,872$ Å e $c = 7,709$ Å e $V = 602$ Å³, sistema ortorrômbico e grupo espacial $Pna2$ [10].

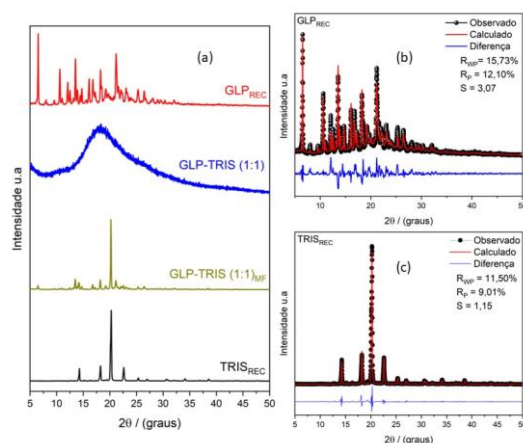


Fig. 1 – (a) Difrátogramas da GLP_{REC}, GLP-TRIS (1:1), GLP-TRIS (1:1)_{MF} e TRIS_{REC}. Refinamentos de estruturas obtidos pelo método de Rietveld para a GLP_{REC} (b) e TRIS_{REC} (c).

Na Fig. 1 (a) é apresentado os resultados obtidos por DRXP que comprovam a interação intermolecular do GLP com a TRIS, resultando na formação de um novo material com natureza amorfa (coamorfo) na proporção molar de 1:1. O padrão de difração deste coamorfo que está representada, é típico de material amorfo devido à ausência de picos de difração e a presença de halos. A partir da comparação destes padrões de difração com a do coamorfo, fica

evidente a diferença entre os padrões de DRXP dos compostos de partida e o apresentado pelo coamorfo GLP-TRIS (1:1) o que evidencia a obtenção de um novo material. O difratograma da GLP-TRIS (1:1)_{MF} evidenciou que os compostos de partida não interagem com imediata mistura dos materiais, e sim, ao serem submetidos ao processo de ES em meio de DMF.

Caracterização por Termogravimetria, Termogravimetria Derivativa e Análise Térmica Diferencial simultâneas (TG/DTG-DTA)

A Fig. 3 mostra as curvas TG/DTG-DTA dos compostos de partida recristalizados (a) GLP_{REC}, (b) TRIS_{REC}, do coamorfo de (c) GLP-TRIS (1:1) e (d) GLP-TRIS (1:1)_{MF}. As curvas TG/DTG para os compostos de partida recristalizados mostra apenas um evento, referente a perda de massa por decomposição.

As curvas DTA da (a) GLP_{REC} mostram três eventos endotérmicos, o primeiro que corresponde ao evento de fusão, com a temperatura de início (T_{onset}) 203,6 °C [11]. O segundo evento está relacionado a decomposição do material com temperatura de início (T_{onset}) 485,5 °C. E o terceiro evento que está relacionado a decomposição simultânea do material com temperatura de início (T_{onset}) 519,9 °C.

As curvas DTA da (b) TRIS_{REC} mostram três eventos térmicos, o primeiro que corresponde ao evento de transição de fase sólido-sólido (α -Ortorrômico para γ -Cúbico de corpo centrado), possuindo a temperatura de início (T_{onset}) 134,4 °C. O segundo evento endotérmico corresponde ao evento de fusão, com a temperatura de início (T_{onset}) 169,1 °C [10]. E o terceiro evento que está relacionado a decomposição do material com temperatura de início (T_{onset}) 232,1 °C.

As curvas TG/DTG-DTA do coamorfo (c) GLP-TRIS (1:1) mostram três eventos térmicos relacionados aos três estágios de perda de massa do coamorfo (massa inicial de 3,720 mg). O primeiro evento compreende a faixa de 158,4 °C (T_{onset}), cuja perda de massa equivale a 0,110 mg (2,9% da massa inicial). A segunda etapa de decomposição foi observada em 209,9 °C (T_{onset}) com perda de massa de 0,198 mg (5,3% da massa inicial). A terceira etapa de decomposição do material resultou na perda de massa de 0,463 mg (12,4% da massa inicial) e ela teve início em 314,2 °C (T_{onset}). Assim, o resíduo foi de 79,4% da massa inicial, indicando a ocorrência de degradação total da DS até 650 °C. Desse modo, a partir destas análises verificou-se que o coamorfo apresenta boa estabilidade térmica com início de decomposição em 158,4 °C.

As curvas TG/DTG-DTA da (c) GLP-TRIS (1:1)_{MF} mostram três eventos térmicos relacionados ao estágios de perda de massa (massa inicial de 3,099 mg). O primeiro evento corresponde ao evento de transição de fase sólido-sólido da TRIS (α -Ortorrômico para γ -Cúbico de corpo centrado), possuindo a temperatura de início (T_{onset}) 135,8 °C, sem perda de massa [10]. O segundo evento observado corresponde a 8,1% de perda de massa (0,252 mg da massa inicial) relacionado à decomposição do material, possuindo temperatura de início (T_{onset}) em 164,9 °C. O terceiro evento observado corresponde a 21,6% de perda de massa (0,670 mg da massa inicial) relacionado à decomposição do material, possuindo temperatura de início (T_{onset}) em 266,9°C. Assim, o resíduo foi de 70,3% da massa inicial, indicando a ocorrência de degradação total do composto até 650 °C.

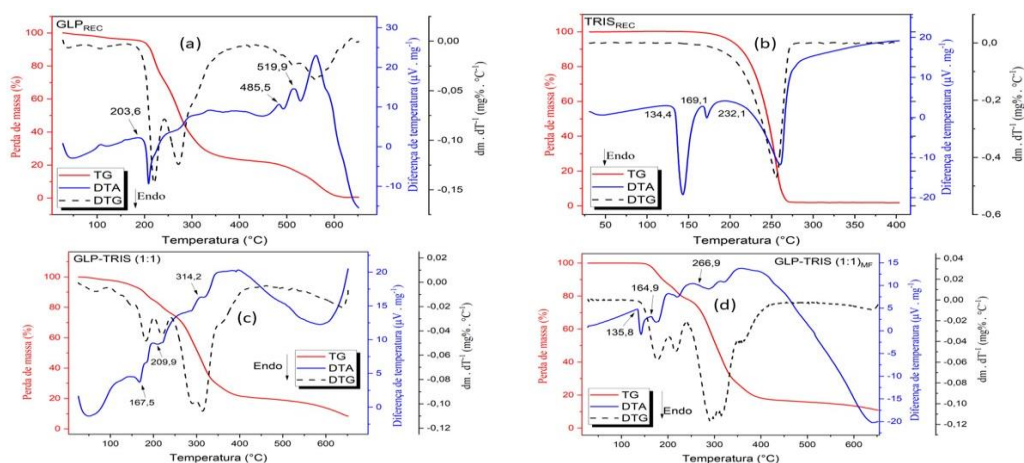


Fig. 3 - curvas de TG/DTG-DTA da (a) GLP_{REC}, (b) TRIS_{REC}, (c) GLP-TRIS (1:1) e (d) GLP-TRIS (1:1)_{MF}.

Caracterização por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na Fig. 4 mostra as curvas DSC dos compostos de partida recristalizados (GLP_{REC} e TRIS_{REC}) e do coamorfo de GLP-TRIS. A curva DSC do GLP_{REC} apresentou um evento endotérmico em 204,3°C (T_{onset}) que corresponde à sua fusão [11]. A curva DSC da TRIS_{REC} apresentou dois eventos endotérmicos, o primeiro em 133,9 °C (T_{onset}) referente a transição de fase sólido – sólido ($\alpha \rightarrow \gamma$). O segundo evento é referente a fusão da TRIS em °C (T_{onset}) [10].

A curva de DSC do coamorfo de GLP-TRIS (1:1) confirma a natureza amorfa deste material, conforme mostrado nos resultados de DRXP, pois nesta curva não foi observado evento de fusão. Assim, estas curvas de DSC apresenta perfil típico de material amorfo, evidenciando a ocorrência de interação intermolecular entre os compostos de partida e a formação de DS do tipo coamorfo. Para a proporção molar de 1:1 ainda não foi possível identificar o evento de transição vítrea (T_g), a dificuldade de detecção deste evento nos coamorfos está relacionada a possibilidade de relaxamento entálpico e perda de solvente na mesma região de temperatura onde ocorre a T_g de interesse [12]. Além disso, as dispersões solidas amorfas não só proporcionam maior estabilidade aos fármacos amorfos, mas também aumentam a solubilidade, contribuindo para aumentar a biodisponibilidade dos fármacos o organismo [13]. A curva de DSC da mistura física de GLP-TRIS (1:1)_{MF} apresentou dois eventos térmicos, sendo o primeiro referente a transição de fase sólido – sólido ($\alpha \rightarrow \gamma$) da TRIS_{REC} [10], enquanto o segundo é atribuído a decomposição do material.

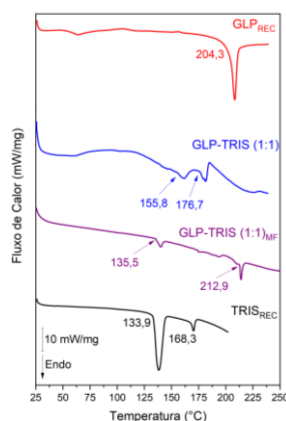


Fig. 4 - curvas de DSC da GLP_{REC}, GLP-TRIS (1:1), GLP-TRIS (1:1)_{MF} e TRIS_{REC}.

CONCLUSÕES

Portanto, neste trabalho foi possível obter dispersões sólidas do tipo coamorfo da GLP utilizando a TRIS como coformador. Os resultados das análises por DRXP para os coamorfos mostraram a ausência de picos de difração, confirmando a interação intermolecular da GLP com a TRIS nas razões molares investigadas. As curvas TG/DTG-DTA destes materiais apresentaram boa estabilidade térmica em torno de 158,4 °C. As curvas de DSC desses coamorfos não apresentaram eventos de fusão, confirmando a natureza amorfa destes materiais e a interação entre os compostos de partida. Na razão estequiométrica ideal de (1:1) ainda não foi possível identificar a T_g . Diante disso, esses novos coamorfos obtidos contribuirão para o aumento da hidrossolubilidade do fármaco GLP, bem como favorecerá o aumento da biodisponibilidade e da sua eficácia terapêutica, corroborando para a redução dos efeitos colaterais durante o tratamento da *diabetes mellitus*.

AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa e ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro para execução deste trabalho.

REFERÊNCIAS

- [1] MCNAMARA, D. P. et al. Use of a glutaric acid cocrystal to improve oral bioavailability of a low solubility API. **Pharmaceutical research**, v. 23, p. 1888-1897, 2006.
- [2] KARAGIANNI, A.; KACHRIMANIS, K.; NIKOLAKAKIS, I. Co-amorphous solid dispersions for solubility and absorption improvement of drugs: Composition, preparation, characterization and formulations for oral delivery. **Pharmaceutics**, v. 10, n. 3, p. 98, 2018.
- [3] PAJULA, K. et al. Phase separation in coamorphous systems: in silico prediction and the experimental challenge of detection. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, n. 7, p. 2271-2279, 2014.
- [4] BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Políticas de Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. **Plano de reorganização da atenção à hipertensão arterial e ao diabetes mellitus: hipertensão arterial e diabetes mellitus**. Departamento de ações programáticas estratégicas, Brasília: Ministério da Saúde, 2001.
- [5] PHARMACOPOEIA, E. **EUROPEAN PHARMACOPOEIA**. 10 ed. Strasbourg: Council of Europe, 2019.
- [6] BATES, R. G.; ROBINSON, R. A. Tris (hydroxymethyl) aminomethane. Useful secondary pH standard. **Analytical Chemistry**, v. 45, n. 2, p. 420-420, 1973.
- [7] SHAN, N.; ZAWOROTKO, M. J. The role of cocrystals in pharmaceutical science. **Drug discovery today**, v. 13, n. 9-10, p. 440-446, 2008.
- [8] IWATA, M. et al. Glimepiride. **Acta Crystallographica Section C: Crystal Structure Communications**, v. 53, n. 3, p. 329-331, 1997.
- [9] ENDO, T. et al. Polymorphism of glimepiride: crystallographic study, thermal transitions behavior and dissolution study. **STP pharma sciences**, v. 13, n. 4, p. 281-286, 2003.
- [10] EILERMAN, D.; RUDMAN, R. Polymorphism of crystalline poly (hydroxymethyl) compounds. III. The structures of crystalline and plastic tris (hydroxymethyl) aminomethane. **The Journal of Chemical Physics**, v. 72, n. 10, p. 5656-5666, 1980.
- [11] BONFILIO, Rudy et al. A discriminating dissolution method for glimepiride polymorphs. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 2, p. 794-804, 2012.
- [12] NEWMAN, Ann (Ed.). **Pharmaceutical amorphous solid dispersions**. John Wiley & Sons, 2015.
- [13] DENGALÉ, S. J. et al. Recent advances in co-amorphous drug formulations. **Advanced drug delivery reviews**, v. 100, p. 116-125, 2016.