HAL
open science

Incremento da solubilidade e da cinética de dissolução do fármaco Efavirenz através da obtenção de misturas binárias amorfas com matrizes poliméricas

Zênia Maria Maciel Lavra

To cite this version:

Zênia Maria Maciel Lavra. Incremento da solubilidade e da cinética de dissolução do fármaco Efavirenz através da obtenção de misturas binárias amorfas com matrizes poliméricas. Chemical and Process Engineering. Ecole des Mines d'Albi-Carmaux; Universidade federal de Pernambuco (Récife, Brésil), 2016. Portuguese. NNT : 2016EMAC0011 . tel-01504825

HAL Id: tel-01504825

https://theses.hal.science/tel-01504825v1

Submitted on 10 Apr 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université Fédérale
Toulouse Midi-Pyrénées

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

École Nationale Supérieure des Mines d'Albi-Carmaux

Cotutelle internationale avec Universidade Federal de Pernambuco - UFPE

Présentée et soutenue par :
Zênia Maria MACIEL LAVRA
le lundi 12 septembre 2016

Titre :

Amélioration de la solubilité et de la cinétique de dissolution de l'Efavirenz par des mélanges binaires amorphes Efavirenz-polymère.

Incremento da Solubilidade e da cinética de dissolução do fármaco Efavirenz através da obtenção de misturas binárias amorfas com matrizes poliméricas.

École doctorale et discipline ou spécialité :
ED MEGEP : Génie des procédés et de l'Environnement

Unité de recherche :
Centre RAPSODEE, CNRS - UMR 5302, École de Mines d'Albi-Carmaux

Directeur/trice(s) de Thèse :
Maria Inès RÈ

Jury :

João Fernandes DE ABREU PINTO, Professeur, Rapporteur, Université de Lisbonne, Lisbonne, PT
Lívio César NUNES, Professeur, Rapporteur, UFPI, Piauí, BR
Pedro José ROLIM NETO, Professeur, Examinateur, UFPE, Recife, BR
Maria Inès RÈ, Directeur de Recherche, Directeur de Thèse, Mines Albi, Albi, FR
Davi PEREIRA DE SANTANA, Professeur, Directeur/Président, UFPE, Recife, BR

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

ZÊNIA MARIA MACIEL LAVRA

INCREMENTO DA SOLUBILIDADE E DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DO FÁRMACO EFAVIRENZ ATRAVÉS DA OBTENÇÃO DE MISTURAS BINÁRIAS AMORFAS COM MATRIZES POLIMÉRICAS

TESE DE DOUTORADO EM COTUTELA

RECIFE
2016

ZÊNIA MARIA MACIEL LAVRA

INCREMENTO DA SOLUBILIDADE E DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DO FÁRMACO EFAVIRENZ ATRAVÉS DA OBTENÇÃO DE MISTURAS BINÁRIAS AMORFAS COM MATRIZES POLIMÉRICAS

Tese de Doutorado em Cotutela entre a *Université de Toulouse* e a Universidade Federal de Pernambuco apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e à *L'École Doctorale Mécanique, Energétique, Génie Civil, Procédés (ED MEGeP) de l'Université Fédérale Toulouse*, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas e Doutor em *Génie des procédés et de l'Environnement*.

Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos e *Génie des procédés.*

Orientador no Brasil: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

Orientador(a) na França: Prof. Dra. Maria Inés Ré

RECIFE
2016

ZÊNIA MARIA MACIEL LAVRA

INCREMENTO DA SOLUBILIDADE E DA CINÉTICA DE DISSOLUÇÃO DO FÁRMACO EFAVIRENZ ATRAVÉS DA OBTENÇÃO DE MISTURAS BINÁRIAS AMORFAS COM MATRIZES POLIMÉRICAS

Tese de Doutorado em Cotutela entre a *Université de Toulouse* e a Universidade Federal de Pernambuco apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas e à *L'École Doctorale Mécanique, Energétique, Génie Civil, Procédés (ED MEGeP) de l'Université Fédérale Toulouse*, em cumprimento às exigências para obtenção do grau de Doutor em Ciências Farmacêuticas e Doutor em *Génie des procédés et de l'Environnement*.

Aprovada em: 12/09/2016.

BANCA EXAMINADORA

_____

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana (Orientador no Brasil e Presidente da banca)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof(a). Dr(a). Maria Inés Ré (Orientadora na França)
Centre Rapsodee - Université de Toulouse

_____

Prof. Dr. Pedro Rolim Neto (Avaliador Interno)
Universidade Federal de Pernambuco

_____

Prof. Dr. João F. Pinto (Avaliador Externo e *Rappoteur)*
Universidade de Lisboa

_____

Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes (Avaliador Externo e *Rapporteur*)
Universidade Federal do Piauí

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR
Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITORA
Prof. Dra. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIASDA SAÚDE
Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
Profa. Dra. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Prof. Dra. Elba Lúcia Cavalcanti de Amorim

COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Prof. Dr. Almir Gonçalves Wanderley

VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida e coragem de sempre seguir adiante e nunca desistir dos meus objetivos.

À minha família, em especial meus pais, Marcilo e Zelma, meu irmão Marcilo e minha tia Nelma pelo carinho, apoio, incentivo e crença no meu sucesso.

A Orlando, pelo apoio e incentivo em todos momentos.

Aos orientadores Dra. Maria Inês Ré e Dr. Davi Pereira de Santana pela confiança, compreensão e sabedoria na orientação deste trabalho, contribuindo para o crescimento profissional e pessoal.

A todos os professores da Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela competência, pelo nível da qualidade do curso e por todo conhecimento propiciado. Aos técnicos administrativos da PPGCF, pelo suporte e auxílio na concretização desta cotutela.

A todos os pesquisadores, técnico e professores da École de Mines d'Albi, pela acolhida, disponibilidade e colaboração durante o desenvolvimento deste projeto no Centro Rapsodee, Albi – França.

Ao Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, onde aprendi a essência e satisfação de ser Farmacêutica.

Aos amigos do LAFEPE, onde foram dados meus primeiros passos como profissional da indústria farmacêutica.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite e contribuírem grandemente na avaliação deste trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq pelo suporte financeiro, no Brasil e na França.

À Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda pela doação do IFA.

A todos os que fazem a Coordenação de Base Química e Biotecnológica do Ministério da Saúde pela acolhida e apoio nos momentos finais da conclusão deste trabalho.

A todos meus amigos, no Brasil e na França, pelos momentos de descontração, pela força e incentivo.

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para realização deste trabalho e concretização deste Doutorado. Serei sempre grata a todos!!!

Cada pessoa deve trabalhar para o seu aperfeiçoamento e, ao mesmo tempo, participar da responsabilidade coletiva por toda a humanidade.

Marie Curie

RESUMO

A baixa solubilidade aquosa tornou-se uma propriedade de inúmeros candidatos a novos fármacos causando grande preocupação. Apesar de poder ser uma estrutura química potencialmente ideal que permite a interação com o seu sítio de ação, estas substâncias deixam de ser eficazes *in vivo*: após administração, elas podem não dissolver-se suficientemente nos fluidos aquosos do organismo e, portanto, não podem ser transportadas para o seu local de ação para alcançar concentrações terapeuticamente eficazes. Foram propostas várias estratégias interessantes para ultrapassar este obstáculo fundamental. Dispersões sólidas têm sido estudadas há mais de 40 anos, levando a publicação de numerosos artigos de pesquisa interessantes. No entanto, hoje em dia, apenas alguns produtos chegaram ao mercado principalmente devido a problemas com a estabilidade físico-química. A ideia é a de transformar a matéria-prima cristalina para um estado físico de maior energia, a fim de aumentar a força motriz para a dissolução do fármaco. Ao mesmo tempo, o sistema deve ser estável durante o armazenamento por longos períodos. Dessa forma, a recristalização ou outras alterações do sistema, que resultam em cinéticas alteradas de liberação do fármaco, deve ser evitada. Diferentes técnicas de fabrico podem ser utilizadas para preparar tais sistemas poliméricos, incluindo os processos de extrusão-fusão e secagem por pulverização. O principal objetivo deste trabalho foi melhorar a solubilidade aquosa do Efavirenz (EFV) através da formação de dispersões sólidas utilizando a técnica de *spray-drying*. Neste estudo EFV foi incorporado nas matrizes poliméricas hidrofílicas Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS para aumentar a sua solubilidade aquosa. Misturas binárias EFV-Soluplus®, EFV-PVPVA64 e EFV-HPMCAS foram produzidas e caracterizadas utilizando MEV, DRX, DSC, RAMAN, espectroscopia no IR e DVS. A caracterização físico-química foi completada por estudos, solubilidade, dissolução *in vitro* e estabilidade em diferentes condições de estresse (temperatura, umidade relativa). Os resultados obtidos evidenciaram a formação de dispersões sólidas amorfas para todos os sistemas fármaco-polímero estudados. Os diferentes perfis cinéticos observados a partir das várias dispersões sólidas geradas neste trabalho mostraram a influência do tipo do polímero, da proporção fármaco-polímero na mistura binária e do meio de dissolução *in vitro* na funcionalidade das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* neste estudo (solubilidade e cinética de dissolução).

Palavras chave: Efavirenz. Dissolução. Solubilidade. Partículas.

ABSTRACT

Poor aqueous solubility has become a property of numerous new drug candidates causing major concern. Despite a potentially ideal chemical structure allowing for interaction with the target, these substances fail to be effective in vivo: upon administration, they cannot dissolve sufficiently in the aqueous fluids of the body and, thus, cannot be transported to their site of action to reach therapeutically effective concentrations. Various interesting strategies have been proposed to overcome this crucial hurdle. Solid dispersions have been studied for more than 40 years and lead to numerous interesting research articles. However, today, only a few products have reached the market principally due to problems with the physico-chemical stability. The idea is to transform the crystalline raw material into a physical state having a greater energy in order to increase the driving force for drug dissolution. At the same time, the system should be stable during long term storage, thus, re-crystallization or other system changes, resulting in altered drug release rates, must be avoided. Different manufacturing techniques can be used to prepare such polymeric systems, including hot-melt extrusion and spray-drying. The main objective of this work has been to improve Efavirenz (EFV) solubility by forming solid dispersions using the spray-drying technique. In this study EFV has been incorporated into hydrophilic polymeric matrices Soluplus®, PVPVA64 and HPMCAS to increase its aqueous solubility. Binary mixtures EFV-Soluplus®, EFV-PVPVA64 and EFV-HPMCAS) were produced and characterized using SEM, X-ray diffraction, DSC, RAMAN, Infrared spectroscopy and water vapor sorption. This physicochemical characterization was completed by solubility and in vitro dissolution studies at different stress conditions (temperature, RH). The results obtained confirmed the formation of amorphous solid dispersions for all studied drug-polymer combinations. The different kinetic profiles obtained from the various solid dispersions generated in this work showed the influence of the type and polymer and drug-polymer binary mixture composition and in vitro dissolution medium on the functionality of spray-dried solid dispersions produced in this work (solubility and dissolution kinetics).

Keywords: Efavirenz. Dissolution. Solubility. Particles.

RÉSUMÉ

L'amélioration de la solubilité des principes actifs peu solubles est devenue l'un des principaux challenges de l'industrie pharmaceutique. Bien que présentant une structure chimique potentiellement idéale pour interagir avec la cible, elles échouent dans l'efficacité in vivo: après administration, elles ne peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux biologiques et par conséquent ne peuvent être transportées sur leur site d'action pour atteindre la concentration efficace, amenant à un échec thérapeutique. De nombreuses stratégies très intéressantes ont été proposées pour surmonter ce sérieux obstacle. Les dispersions solides sont étudiées depuis plus de 40 ans et ont conduit à de très nombreuses publications mais jusqu'à aujourd'hui peu de produits ont été commercialisés principalement pour des raisons de stabilité physico-chimique. Celles-ci ont pour but de présenter le principe actif sous sa forme amorphe: cette dernière présentant un état d'énergie plus élevé et par conséquent une solubilisation facilitée. Dans le même temps, le système doit rester stable durant le stockage, ainsi la recristallisation ou tout autre changement entraînant une modification du profil de libération doivent être évités. Différentes techniques de production peuvent être utilisées pour préparer ce genre de systèmes polymériques que l'extrusion en phase chauffante ou l'atomisation-séchage. Le objectif de ce travail a été d'améliorer la solubilité de l'efavirenz par formation de dispersions solides utilisant l'atomisation-séchage. Dans cette étude, l'efavirenz a été incorporé dans des matrices polymériques des Soluplus, HPMCAS et PVPVA64 pour augmenter sa solubilité. Les systèmes obtenus ont été caractérisés par microscopie électronique à balayage, diffraction laser, analyse calorimétrique différentielle modulée, diffraction des rayons X, microscopie RAMAN et infrarouge. Les techniques d'analyse ont permis d'observer que les structures formées étaient présents dans la forme amorphe. L'étude du profil de libération *in vitro* en milieu aqueux avec tensioactif et milieu biorrelevante en condition « sink »a montré que tous les nouveaux systèmes ont présentés un profil de libération de l'éfavirenz beaucoup plus élevé en comparaison avec la molécule active pure.

Mots-clés: Efavirenz. Dissolution. Solubilité. Particules.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Esquema representativo da via oral e do TGI indicando os possíveis efeitos do sistema na absorção de fármacos até a ação farmacológica..... 37

Figura 2 - Gráfico representativo de perfil farmacocinético indicando os parâmetros farmacocinéticos ASC, $C_{máx}$ e $T_{máx}$..... 38

Figura 3 – Parâmetros limitantes da absorção de uma substância ativa a partir de formas farmacêuticas de uso oral..... 39

Figura 4 - Etapas do processo de liberação do fármaco da forma farmacêutica sólida..... 41

Figura 5 - Representação do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SBC)..... 43

Figura 6 - Principais técnicas para melhorar a solubilidade ou a cinética de dissolução..... 44

Figura 7 - Gráfico representativo dos diversos estados de uma substância pura em função da temperatura (Tg indica a região de transição vítrea e Tm a temperatura de fusão)..... 45

Figura 8 - Gráfico representativo do perfil da solubilidade aquosa de um fármaco na forma amorfa em comparação à forma cristalina..... 46

Figura 9 - Diferentes configurações de dispersões sólidas consituidas de um IFA e uma matriz (geralmente um polímero) em diferentes estados sólidos (amorfo ou cristalino)..... 47

Figura 10 - Esquema indicativo da miscibilidade baseado no valor de $\Delta\delta_T$..... 52

Figura 11 - Gráfico representativo do perfil da solubilidade aquosa de um fármaco na forma cristalina, amorfa e associado a moléculas poliméricas que aumentam a extensão e o tempo da supersaturação..... 55

Figura 12 - Variação de entalpia em função da temperatura para substância pura e formulada como dispersão sólida..... 56

Figura 13 - Esquema representativo de um sistema de dispersão sólida formado a partir da associação de um fármaco cristalino e uma estrutura polimérica por

processos diversos como fusão dos constituintes, mistura e resfriamento ou solubilização dos constituintes num solvente comum e evaporação do solvente..... 58
Figura 14 - Representação esquemática de um processo de fusão-extrusão para produção de dispersões sólidas (extrusora de rosca dupla)..... 60
Figura 15 - Representação esquemática do funcionamento de um *spray-dryer*..... 61
Figura 16 - Parâmetros do processo e da formulação que influênciam nas características da partícula..... 62
Figura 17 - Representação esquemática do número de Peclet..... 63
Figura 18 - Principais técnicas analíticas utilizadas para caracterização de dispersões sólidas..... 65
Figura 19 - Esquema representativo de termograma com os principais fenômenos térmicos relacionados as estruturas cristalinas e amorfas..... 68
Figura 20 - Medidas das capacidades caloríficas: (a) para o estado cristalino; (b) para o estado amorfo..... 70
Figura 21 - Estrutura química do Efavirenz..... 75
Figura 22 - Estrutura do copolímero Soluplus®..... 78
Figura 23 - Estrutura do copolímero PVPVA..... 79
Figura 24 - Estrutura do polímero HPMCAS..... 80
Figura 25 - Esquema do processo de secagem por atomização (spray-drying) utilizado..... 90
Figura 26 - Imagem do mini spray dryer BUCHI B-290 com loop de inertagem B-295..... 91
Figura 27 - Microscópio Confocal Raman-AFM modelo alpha 300R..... 93
Figura 28 - Medida do ângulo de contato entre as fases líquida e sólida..... 95
Figura 29 - Esquema representativo de um sistema de sorção dinâmica de vapor..... 99
Figura 30 - Indicação dos grupos funcionais utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade (δ) do Soluplus® pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer..... 103
Figura 31 - Micrografias obtidas por MEV de partículas atomizadas à partir de

soluções de Soluplus® em etanol nas concentrações de: (a) 20%; (b) 15% e (c) 10% (m/v)..... 105
Figura 32 - Termogramas obtidos por DSC para o EFV cristalino puro, Soluplus® atomizado, formulações $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ e mistura física EFV:Soluplus® na proporção 1:1,25..... 108
Figura 33 - Difratogramas de raios-X referentes ao EFV cristalino, ao polímero Soluplus® atomizado e às dispersões sólidas obtidas por spray-drying $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$..... 110
Figura 34 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero Soluplus® atomizado, EFV original e das misturas EFV: Soluplus® obtidas por spray-drying ($DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$). Zoom na região do espectro FTIR: I. 1900-1550 cm^{-1}(deslocamento do pico do EFV a 1750 cm^{-1} na amostra $DS_{SOL}3$). II. 4000-2500 cm^{-1} (desaparecimento do pico atribuído à vibração N-H a 3320 cm^{-1})..... 112
Figura 35 - Micrografias obtidas por MEV de: (a) cristais de EFV; Soluplus® seco por *spray-drying*..... 115
Figura 36 (a,b,c) - Micrografias obtidas por MEV de produtos secos por *spray-drying*: (a) $DS_{SOL}1$, (b) $DS_{SOL}2$, (c) $DS_{SOL}3$..... 116
Figura 37 - Representação esquemática enriquecimento da superfície da gota em sólidos dissolvidos durante a evaporação..... 118
Figura 38 - Mapeamento espectral com análise elementar para os átomos de Cloro (amarelo) e Flúor (vermelho) do EFV indicando a localização do fármaco em $DS_{SOL}3$..... 119
Figura 39 - Espectros Raman evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do Soluplus® (2931 cm^{-1})..... 120
Figura 40 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras (a) $DS_{SOL}1$; (b) $DS_{SOL}3$, indicando as áreas analisadas para cada amostra..... 121
Figura 41 - Imagem Raman indicando a presença de EFV (azul) e Soluplus® (preto); e os espectros Raman evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do Soluplus® (2931 cm^{-1}) para a amostra $DS_{SOL}1$..... 121
Figura 42 - Imagem Raman indicando a presença de EFV (azul) e Soluplus® (preto); (c) Espectros Raman evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do Soluplus® (2931 cm^{-1}) para a amostra $DS_{SOL}3$..... 122

Figura 43 - Espectros RAMAN de DS_{SOL} indicando a presença dos picos característicos do EFV (2250 cm^{-1}) e do polímero Soluplus® (2931 cm^{-1})..... 123
Figura 44 - Gráfico representativo da solubilidade do fármaco EFV cristalino e da solubilidade aparente das partículas de $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0,5°C..... 126
Figura 45 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por spray-drying em (a) LSS 0.25% e (b) FeSSIF..... 127
Figura 46 - Isotermas de sorção e dessorção de água (DVS) para o polímero Soluplus®, para as dispersões sólidas $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ e para o fármaco EFV..... 131
Figura 47 - Sorção de água (25°C) nos sistemas DS_{SOL} em função do teor de EFV presente. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas..... 132
Figura 48 - Avaliação da distribuição do fármaco na estrutura polimérica por microscopia RAMAN, após análise DVS..... 133
Figura 49 - Difratogramas obtido para as amostras de cristais de EFV (original), $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}3$ após cerca de 1 ano armazenadas em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C and 23%UR)..... 135
Figura 50 - Indicação dos grupos funcionais do polímero PVPVA, utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade (δ) pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer, sendo *n* a unidade do monômero Polivinilpirrolidona (60%) e *m* a unidade do monômero Vinil acetato (40%)..... 138
Figura 51 - Termogramas mDSC para o EFV cristalino puro, PVPVA atomizado, mistura física na proporção 1 :1,25 e para as dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$..... 140
Figura 52 - Difratogramas de raios-X para o fármaco EFV, para o polímero PVPVA e para as dispersões sólidas obtidas por *spray-drying*, $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$..... 142
Figura 53 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero PVPVA, do fármaco EFV e das dispersões sólidas: $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$. Zoom nas regiões do espectro FTIR: I: 2000-2550 cm^{-1}, indicando o deslocamento do pico do EFV a 1750 cm^{-1} para 1757 cm^{-1} nas amostras de $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$. II:

3500-2500 cm^{-1} indicando o desaparecimento do pico característico do EFV a 3320cm^{-1} nas DS_{PVPVA}..... 143
Figura 54 (a,b,c,d) - Micrografia obtida por MEV de partículas atomizadas do PVPVA puro e das amostras) DS_{PVPVA} secas por *spray-drying*..... 146
Figura 55 - Mapeamento espectral com análise elementar para Cl (amarelo) e F (vermelho) presentes na molécula do EFV obtidos nas amostras de $DS_{PVPVA}3$ indicando a distribuição do fármaco na estrutura..... 149
Figura 56 - Espectros Raman evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm1) e do PVPVA (2934 cm-1)..... 150
Figura 57 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras: (a) $DS_{PVPVA}1$; (b) $DS_{PVPVA}3$, indicando as áreas analisadas para cada amostra..... 150
Figura 58 - Imagem Raman indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas áreas escaneadas, diferenciados pelas cores azul e preto (amostra $DS_{PVPVA}3$)..... 151
Figura 59 - Imagem Raman indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas áreas escaneadas, diferenciados pelas cores azul e preto (amostra $DS_{PVPVA}1$ e seus respectivos espectros..... 152
Figura 60 - Espectros RAMAN de DS_{PVPVA} indicando a presença dos picos característicos do EFV (2250 cm^{-1}) e do polímero PVPVA (2934 cm^{-1})..... 153
Figura 61 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e das partículas de $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0.5°C..... 155
Figura 62 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* nos meios de dissolução (a) LSS 0,25% (m/v) e meio (b) FeSSIF..... 157
Figura 63 - Isoterma de sorção de água (DVS) a 25°C do polímero PVPVA, do EFV e das dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$..... 160
Figura 64 - Sorção de água em função do teor de EFV presente nas amostras DS_{PVPVA}. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas..... 161
Figura 65 - Difratogramas obtido para as amostras de EFV isolado, $DS_{PVPVA}1$ e

$DS_{PVPVA}3$ após doze meses de armazenamento em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C and 23%UR)..... 163
Figura 66 - Indicação dos grupos funcionais do polímero HPMCAS utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer..... 166
Figura 67 - Termogramas DSC para o EFV cristalino puro, HPMCAS atomizado e para as dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$..... 168
Figura 68 - Difratogramas de raios-X-ray das amostras do fármaco EFV isolado, do polímero HPMCAS e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$..... 170
Figura 69 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero HPMCAS, EFV cristalino e das dispersões sólidas: $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$. Zoom na região do espectro FTIR: I. 3800-2600 cm-1, indicando o deslocamento do pico do EFV a 3320 cm-1 na amostra de $DS_{HPMCAS}3$..... 172
Figura 70 (a, b, c, d) - Micrografia obtida por MEV do polímero HPMCAS puro seco por spray-drying e das dispersões sólidas (b) $DS_{HPMCAS}1$; (c), $DS_{HPMCAS}2$; (d) $DS_{HPMCAS}3$..... 174
Figura 71 - Mapeamento espectral com análise elementar para átomos Cl em amarelo (b) e F em vermelho (c) presentes na molecula do EFV obtidos para a amostra $DS_{HPMCAS}3$ (a) indicando a distribuição da fármaco na estrutura polimérica..... 176
Figura 72 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras: (a) $DS_{HPMCAS}1$ e (b) $DS_{HPMCAS}3$..... 177
Figura 73 - Espectros Raman evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm-1) e do HPMCAS (3000 cm-1)..... 177
Figura 74 - Imagem Raman indicando a presença de EFV e HPMCAS em 2 clusters definidos nas areas escaneada, diferenciados pelas cores azul (EFV) e preto (HPMCAS) (amostra $DS_{HPMCAS}3$)..... 178
Figura 75 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas areas escaneada, diferenciados pelas cores azul (EFV) e preto (HPMCAS) (amostra $DS_{HPMCAS}1$)..... 179
Figura 76 - Espectros RAMAN de DS_{HPMCAS} indicando a presença dos picos

característicos do EFV (2250 cm-1) e do polímero HPMCAS (3000 cm-1)..... 180
Figura 77 - Gráfico representativo da solubilidade do fármaco EFV cristalino e da solubilidade aparente das partículas de $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°±0.5°C..... 182
Figura 78 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* em dois diferentes meios de dissolução: (a) LSS 0,25% (m/v) e (b) meio FeSSIF..... 184
Figura 79 - Isoterma de vapor de sorção e dessorção de água (DVS) para $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, para o fármaco EFV e para o polímero HPMCAS..... 187
Figura 80 - Sorção de vapor da água nos sistemas DS_{HPMCAS} em função do teor de EFV. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas..... 188
Figura 81 - Difratogramas obtido para as amostras de EFV isolado, $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}3$ após cerca de 1 ano armazenadas em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C and 23%UR)..... 190
Figura 82 - Temperaturas de transição vítreas do EFV, Soluplus®, PVPVA, HPMCAS e suas misturas com EFV na proporção de 10 à 44-45% de EFV nos sistemas binários (comparação entre valores experimentais e valores teóricos calculados pela equação de Gordon-Taylor)..... 192
Figura 83 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} em água purificada determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas..... 197
Figura 84 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} em LSS 0,25% determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas..... 198
Figura 85 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} em meio FeSSIF determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas..... 198
Figura 86 - Esquema representativo da interação do polímero anfifílico Soluplus® com moléculas do IFA hidrofóbico..... 200

Figura 87 - Representação esquemática de duas diferentes rotas de solubilização de um fármaco a partir de dispersões sólidas contendo o polímero HPMCAS..... 201
Figura 88 - Imagens da gota depositada nas amostras de $DS_{SOL}3$, $DS_{PVPVA}3$ e $DS_{HPMCAS}3$ ao longo do tempo..... 203
Figura 89 - Efeito dos polímeros e da quantidade de fármaco na performance de dissolução do EFV presente nas dispersões sólidas obtidas com os polímeros Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS. A cinética de dissolução foi avaliada a 37°C, durante 120 min nos meios FESSIF e LSS 0,25%..... 204
Figura 90 - Gráfico representativo do tamanho de partícula das dispersões sólidas agrupadas por quantidade de EFV presente na estrutura..... 207

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos farmacêuticos aprovados produzidos pela tecnologia de dispersões sólidas..... 49

Tabela 2 - Características dos polímeros selecionados para o desenvolvimento das dispersões sólidas do fármaco EFV por *spray-drying*..... 77

Tabela 3 - Exemplos de fármacos utilizados para produção de dispersões sólidas através do uso da técnica de *hot melt extrusion* e *spray-drying*..... 82

Tabela 4 - Efeitos do aumento do teor do fármaco na estabilidade física de uma dispersão sólida..... 84

Tabela 5 - Modelos dependente e independente para avaliação dos dados da cinética de liberação do fármaco..... 97

Tabela 6 - Decomposição manual do polímero Soluplus® para cálculo do parâmetro de solubilidade (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer)..... 102

Tabela 7 - Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para Soluplus®..... 103

Tabela 8 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas durante o processo de secagem (DS_{SOL})..... 106

Tabela 9 - Temperaturas de transição vítrea (Tg) obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor (DS_{SOL})..... 109

Tabela 10 - Características das soluções preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós obtidos após o processo de secagem (DS_{SOL})..... 113

Tabela 11 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e solubilidade aparente das partículas de DSSOL em água purificada, em água contendo LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°±0,5°C..... 125

Tabela 12 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras de dispersão sólida $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução

(ED_{120}) utilizando análises estatísticas ANOVA e teste de *Tukey*..... 129

Tabela 13 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC sob diferentes condições de armazenamento..... 134

Tabela 14 - Decomposição manual do polímero PVPVA para cálculo do parâmetro de solubilidade (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer)..... 137

Tabela 15 - Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para PVPVA..... 138

Tabela 16 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas durante o processo de secagem (PVPVA e DS_{PVPVA})..... 139

Tabela 17 - Temperaturas de transição vítrea (Tg) obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor (DS_{PVPVA})..... 141

Tabela 18 - Características das soluções de alimentação preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós obtidos após o processo de secagem (DS_{PVPVA})..... 145

Tabela 19 - Solubilidade do EFV cristalino puro e das amostras DS_{PVPVA} obtidas por *spray-drying* a a 37°±0,5°C..... 154

Tabela 20 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED_{120}) utilizando análise estatística por ANOVA e Teste de *Tukey*..... 158

Tabela 21 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC, sob diferentes condições de armazenamento..... 162

Tabela 22 - Decomposição manual do polímero HPMCAS para cálculo do parâmetro de solubilidade δ (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer)..... 165

Tabela 23 - Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para HPMCAS..... 166

Tabela 24 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas

durante o processo de secagem (HPMCAS e DS_{HPMCAS})..... 167

Tabela 25 - Temperaturas de transição vítrea obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor ($DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$)..... 169

Tabela 26 - Características das soluções de alimentação preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós (DS_{HPMCAS}) obtidos após o processo de secagem..... 173

Tabela 27 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e solubilidade aparente das partículas de DS_{HPMCAS} em água purificada, em água contendo LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0,5°C..... 181

Tabela 28 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras de dispersão sólida $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED) utilizando análises estatística ANOVA e teste de *Tukey, considerando nível de significância de 95%*..... 185

Tabela 29 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC, sob diferentes condições de armazenamento..... 189

Tabela 30 - Grupos funcionais aceptores (H_A) ou doadores de hidrogênio (H_D), presentes nos polímeros Soluplus®, PVPVA e HPMCAS..... 195

Tabela 31 - Valores de θ medidos entre uma superfície sólida constituída de diferentes amostras e uma gota de água purificada depositada nesta superfície (medida realizada em diferentes tempos: 2s e 10s) 203

Tabela 32 - Eficiência de dissolução das amostras de dispersão sólida obtidas com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED_{120}) utilizando análises estatísticas ANOVA e teste de *Tukey*, considerando nível de significância de 95%..... 205

Tabela 33 - Análise dos parâmetros de liberação cinética do EFV das dispersões sólidas obtidas com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA usando o modelo matemático de *Korshmeyer-Peppas*..... 209

Tabela 34 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero Soluplus® nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.....Apêndice A

Tabela 35 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero PVPVA nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C..... Apêndice A

Tabela 36 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero HPMCAS nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.....Apêndice A

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIC - Critério de informação de Akaikes

ANOVA - Análise de Variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

As – Área superficial do fármaco

ASC - Área sob a curva

CLAE-DAD - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada detector de arranjo de diodos

$C_{máx}$ - Concentração plasmática máxima

CP – Co-precipitação

C_s – Concentração máxima do soluto no meio de saturação

C_t - Concentração do soluto na solução no tempo

D – Coeficiente de difusão

dC/dt – Velocidade de dissolução

DP - Desvio Padrão

DPR - Desvio Padrão Relativo

DRX – Difração de raios-X

DS – Dispersão sólida

DSC - Calorimetria exploratória diferencial

mDSC - Calorimetria exploratória diferencial modulada

DS_{HPMCAS} – Dispersões sólidas de efavirenz e HPMCAS

DS_{PVPVA} – Dispersões sólidas de efavirenz e PVPVA

DS_{SOL} – Dispersões sólidas de efavirenz e Soluplus®

DVS – Sorção dinâmica de vapor

EFV - Efavirenz

FDA - *Food and Drug Administration*

F_{di} - constante de atração molar devido às forças de dispersão

F_{hi} - energia devido as pontes de Hidrogênio

F_{pi} - constante de atração molar devido às forças de interação polar

FTIR - Infravermelho por Transformada de Fourier

GT – Gordon-Taylor

h – Camada de difusão

HAART - Terapia antiretroviral de alta eficiência

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HME - *Hot melt extrusion*

HPC - Hidroxipropilcelulose

HPLC - *High Performance Liquid Chromatography*

HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose

HPMCP - Hidcroxipropilmetilcelulose ftalato

HPMCAS - Acetato Succinato de Hidroxipropilmetilcelulose

HTS - *High-throughput screning*

i - grupos químicos estruturais da molécula

IFA - Insumo farmacêutico ativo

IR – Infravermelho

K_{dd} - Velocidade de desintegração da formulação

K_{di} - Velocidade de dissolução intrínseca do fármaco

LSS - Lauril sulfato de sódio

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

NCE - Nova entidade química

OMS – Oraganização mundia de saúde

PCL - Policaprolactama

Pe – Número de Peclet

PEG - Polietilenoglicol

PVA - Polivinilacetato

PVP – Polivinilpirrolidona

PVPVA64 – Polivinilpirrolidona-vinil acetato 60 :40

RMSE - Erro médio quadrático

SCB - Sistema de Classificação Biofarmacêutica

SD – *Spray-drying*

SIDA - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

Tc – Temperatura de recristalização

Tg – Temperatura de transição vítrea

TGI - Trato gastrointestinal

Tm ou Tf – Temperatura de fusão

Tmáx - Tempo necessário para se atingir o Cmáx

USP - *United States of Pharmacopoeia*

VA - Vinil acetato

δd - Soma quadrática da contribuição das forças de dispersão

δ_h - Soma quadrática da contribuição das pontes de hidrogênio

δ_p - Soma quadrática da contribuição das interações polares

δ_T – Parâmetro de solubilidade total

CCD – Dispositivo de carga acoplada

EDX – Energia dispersiva de raios-X

UR – Umidade Relativa

LISTA DE SÍMBOLOS

% - porcentagem

< - menor que

> - maior que

°C – grau Celsius

µg - micrograma

cm – centímetro

C – Carbono

Cl – Cloro

Da - Dalton

F - Flúor

g – grama

H – Hidrogênio

h – hora

H_2O – água

J – Joules

K – Kelvin

kg – kilograma

kV – kilovolts

L – litro

log P – coeficiente de partição

m – massa

mA – miliampere

mg - miligrama

min – minuto

mL – mililitro

mm – milimetro

n – número

N_2 – nitrogênio

ng - nanograma

nm - nanômetro

pH – potencial hidrogeniônico

pKa – constante de acidez

R^2 - coeficiente de determinação

s – segundo

Σ – Somatório

v – volume

v/v – relação volume/volume

θ - Ângulo de contato

λ - Comprimento de onda

µL microlitro

µm – micrômetro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 32
2 OBJETIVOS 35
2.1 Objetivo Geral..... 35
2.2 Objetivos Específicos..... 35
Capítulo 1 - REVISÃO DA LITERATURA..... 36
3 REVISÃO DA LITERATURA..... 37
3.1 Noções gerais sobre a via oral e farmacocinética de absorção de fármacos – Generalidades..... 37
3.2 Absorção e Biodisponibilidade de Fármacos..... 38
3.3 Solubilidade/Dissolução..... 40
3.4 Fármacos de Baixa Solubilidade Aquosa e Estratégias para Aumento da Solubilidade e Dissolução..... 42
3.4.1 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)..... 42
3.4.2 Estratégias para Incrementar a Solubilidade e a Quantidade de Fármaco Dissolvido no Local de Absorção..... 43
3.5 Dispersões Sólidas..... 45
3.5.1 O Estado Amorfo..... 45
3.5.2 Dispersões Sólidas: definição e breve histórico..... 47
3.5.3 Aspectos importantes no desenvolvimento de dispersões sólidas..... 49
3.5.3.1 Miscibilidade fármaco-polímero..... 50
3.5.3.1.1 Miscibilidade baseada nos parâmetros de solubilidade..... 50
3.5.3.1.2 Miscibilidade baseada na Temperatura de Transição vítrea (Tg)..... 52
3.5.3.2 Comportamento de dissolução..... 53
3.5.3.3 Estabilidade..... 55
3.5.4 Métodos de Preparação..... 57
3.5.4.1 Método de fusão-extrusão (HME) 59
3.5.4.2 Secagem por atomização (*Spray-Drying*)..... 61
3.5.5 Caracterização de dispersões sólidas..... 65
3.5.5.1 Solubilidade aparente..... 65

3.5.5.2 Dissolução..... 66
3.5.5.3 Análise do Estado Sólido..... 68
3.5.5.3.1 Análise por DSC e mDSC..... 68
3.5.5.3.2 Difração de Raios-X..... 70
3.5.5.3.3 Técnicas Espectroscópicas de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e RAMAN..... 71
3.5.5.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... 72
3.5.5.3.5 Espectrometria de Energia Dispersiva De Raios-X – EDS..... 72
3.5.5.4 Higroscopicidade 73
3.5.5.5 Estabilidade..... 73
3.6 Efavirenz: Fármaco de Classe II SCB..... 74
3.7 Matrizes Poliméricas Selecionadas..... 76
3.7.1 Soluplus® 78
3.7.2 PVPVA 64..... 79
3.7.3 HPMCAS..... 80
3.8 Proporção Fármaco-Matriz..... 83
3.9 Síntese do Capítulo..... 65
Capítulo2 - MATERIAL E MÉTODOS DE PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ..... 87
4 MATERIAL E MÉTODOS..... 88
4.1 Material..... 88
4.1.1 Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) e excipientes..... 88
4.2 Métodos..... 88
4.2.1 Predição da Miscibilidade Efavirenz-Polímeros..... 88
4.2.1.1 Parâmetros de solubilidade (δ)..... 88
4.2.1.2 Parâmetros de miscibilidade baseado na Temperatura de Transição Vítrea (Tg).. 89
4.2.2 Preparação das Dispersões Sólidas..... 89
4.2.2.1 Avaliação da Viscosidade das Formulações Líquidas..... 91
4.2.3 Caracterização das Dispersões Sólidas..... 91
4.2.3.1 Análise Térmica..... 91
4.2.3.2 Difração de raios-X..... 92
4.2.3.3 Espectroscopia RAMAN..... 92

4.2.3.4 Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)..... 93
4.2.3.5 Quantificação do Efavirenz (EFV)..... 93
4.2.3.6 Análise Morfológica das Estruturas e Distribuição do Efavirenz..... 94
4.2.3.7 Tamanho e Distribuição Granulométrica..... 94
4.2.3.8 Ângulo de contato (θ)..... 95
4.2.4 Estudo de Solubilidade..... 96
4.2.5 Estudo da Cinética de Liberação in vitro..... 96
4.2.5.1 Cinética de dissolução *in vitro*..... 96
4.2.5.2 Modelos Matemáticos de Cinética de Liberação do EFV..... 97
4.2.6 Estudos de Estabilidade Previsional..... 98
4.2.6.1 Sorção dinâmica de vapor (DVS – *Dynamic Vapor Sorption*)..... 98
4.2.6.2 Exposição a condições de 75% UR e 40°C..... 99
4.2.6.3 Armazenamento à Temperatura Ambiente..... 99
4.3 Análise Estatística..... 100
Capítulo 3 - DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – SOLUPLUS®..... 101
5 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – SOLUPLUS®..... 102
5.1 Miscibilidade Efavirenz-Soluplus® baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ)... 102
5.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-Soluplus®..... 104
5.2.1. Definição das Condições do Processo..... 104
5.3. Caracterização das Dispersões Sólidas..... 106
5.3.1. Miscibilidade com Base na Temperatura de Transição Vítrea (Tg)..... 106
5.3.2 Difração de Raios-X (DRX)..... 109
5.3.3 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)..... 111
5.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas..... 112
5.3.4.1 Teor de Efavirenz..... 112
5.3.4.2 Tamanho de Partículas e Rendimento do Processo..... 113
5.3.4.3 Morfologia das Estruturas Sólidas (DS_{SOL})..... 114
5.3.4.4 Distribuição dos componentes nas estruturas sólidas (DS_{SOL})..... 118
5.3.4.4.1 MEV-EDX..... 119
5.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN..... 120
5. 4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas..... 123

5.4.1 Estudo de Solubilidade..... 124
5.4.2 Dissolução in vitro..... 126
5.4.2.1 Tratamento Cinético (modelos independente e dependente)..... 128
5.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução..... 129
5.5. Estudo de Estabilidade Previsional..... 130
5.5.1. Sorção de Umidade (DVS)..... 130
5.5.2 Estabilidade em condições aceleradas..... 132
5.5.3. Estabilidade a Temperatura Ambiente..... 134
Capítulo 4 - DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – PVPVA64..... 136
6 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – PVPVA64..... 137
6.1. Miscibilidade Efavirenz-PVPVA64 baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ). 137
6.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-PVPVA..... 139
6.3 Caracterização das Dispersões Sólidas..... 139
6.3.1 Miscibilidade com base na temperatura de transição vítrea (Tg)..... 139
6.3.2 Difração de Raios-X (DRX)..... 142
6.3.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)..... 143
6.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas..... 144
6.3.4.1 Teor de Efavirenz..... 144
6.3.4.2 Tamanho de Partículas e Rendimento do Processo..... 144
6.3.4.3 Morfologia das Estruturas Sólidas (DS_{PVPVA})..... 146
6.3.4.4 Distribuição dos Componentes nas Estruturas Sólidas (DS_{PVPA})..... 148
6.3.4.4.1 MEV-EDX..... 148
6.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN..... 149
6.4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas..... 153
6.4.1 Estudo de Solubilidade..... 153
6.4.2 Dissolução in vitro..... 156
6.4.2.1 Tratamento Cinético (modelo independente)..... 158
6.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução..... 158
6.5. Estudo de Estabilidade Previsional..... 159
6.5.1 Sorção de Umidade (DVS)..... 159
6.5.2. Estabilidade em Condições Aceleradas..... 161
6.5.3 Estabilidade a Temperatura Ambiente..... 162

Capítulo 5 - DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ - HPMCAS 164
7 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – HPMCAS..... 165
7.1 Miscibilidade Efavirenz-HPMCAS baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ).. 165
7.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-HPMCAS..... 167
7.3 Caracterização das Dispersões Sólidas..... 167
7.3.1 Miscibilidade com Base na Temperatura de Transição Vítrea (Tg)..... 167
7.3.2 Difração de Raios-X (DRX)..... 170
7.3.3 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)..... 171
7.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas..... 172
7.3.4.1 Teor de Efavirenz..... 172
7.3.4.2 Tamanho de partículas..... 172
7.3.4.3 Morfologia das estruturas sólidas (DS_{HPMCAS})..... 174
7.3.4.4 Distribuição dos Componentes nas Estruturas Sólidas (DS_{HPMCAS})..... 176
7.3.4.4.1 MEV-EDX..... 176
7.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN..... 177
7.4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas..... 180
7.4.1 Estudo de Solubilidade..... 180
7.4.2 Dissolução in vitro..... 183
7.4.2.1 Tratamento Cinético (modelo independente)..... 185
7.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução..... 185
7.5 Estudo de Estabilidade Previsional..... 186
7.5.1 Sorção de Umidade (DVS)..... 186
7.5.2 Estabilidade em condições aceleradas..... 188
7.5.3 Estabilidade a Temperatuda Ambiente..... 189
Capítulo 6- DISPERSÕES SOLIDAS DE EFAVIRENZ COM SOLUPLUS®, PVPVA64 E HPMCAS: ANALISE COMPARATIVA..... 191
8 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ COM SOLUPLUS®, PVPVA64 E HPMCAS: ANÁLISE COMPARATIVA..... 192
8.1 Miscibilidade e Capacidade de Formação de Dispersões Sólidas Amorfas com Efavirenz..... 192
8.2 Interações Fármaco-Polímero..... 193
8.3 Estabilidade Física no Estado Sólido..... 196

8.4 Solubilidade Aparente..... 197
8.4.1 Mecanismos diferentes de solubilização do fármaco contido nas dispersões sólidas..... 201
8.4.2 Solubilização Lenta ou Parcial do Polímero nos Meios Aquosos Estudados..... 202
8.5 Dissolução..... 202
8.5.1 Avaliação do Ângulo de Contato com Meio Aquoso..... 202
8.5.2 Perfis Cinéticos e Eficiência de Dissolução..... 204
8.5.3 Ajuste de Modelo Cinético..... 207
8.5.4 Implicações do Conhecimento do Mecanismo de Dissolução para Uso Prático das Dispersões Sólidas..... 210
9 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS..... 212
9. 1 Résumé éntendu en Français..... 214
REFERÊNCIAS..... 223
APÊNDICES..... 239
APENDICE A..... 240
APENDICE B..... 243
APENDICE C..... 246
APENDICE D..... 247
ANEXOS..... 250
ANEXO A..... 251
RÉSUMÉ FR..... 252
RÉSUMÉ EN..... 253

1 INTRODUÇÃO

O sucesso de uma formulação farmacêutica depende, sobretudo, da maneira (eficiente) que ela disponibiliza o fármaco no seu sítio de ação. A baixa solubilidade aquosa é um dos grandes desafios no desenvolvimento de novas formulações de medicamentos, principalmente para administração oral. Neste caso, uma dissolução insuficiente é fator limitante na biodisponibilidade. Várias técnicas têm sido desenvolvidas com foco no incremento da solubilidade, taxa de dissolução e biodisponibilidade oral para fármacos de baixa solubilidade aquosa, dentre elas as **dispersões sólidas amorfas**, sistemas de interesse deste trabalho.

Dispersão sólida é um termo geralmente usado para definir várias categorias de produtos resultantes de uma mistura íntima entre um insumo farmacêutico ativo (IFA) e um material com uma função de "estrutura". Uma estrutura amorfa corresponde a um estado sólido de maior energia, o que se traduz por propriedades interessantes no caso de um IFA como maior mobilidade molecular e maior reatividade (solubilidade). A diferença de solubilidade entre formas cristalinas e amorfas pode variar numa escala de 1 a 1000 vezes, o que influencia diretamente a biodisponibilidade do IFA e pode levar a um aumento no $M_{áx.}$ e na ASC quando uma forma amorfa é utilizada.

No entanto, este estado de maior energia também significa maior instabilidade e tendência a evoluir para um estado sólido mais estável (cristalino). O papel de uma dispersão sólida amorfa é o de associar um IFA cristalino a uma matriz hidrofílica, transformar o IFA cristalino em amorfo durante a associação com a matriz que terá por sua vez o papel de estabilizar a forma amorfa do IFA que deve ficar preferencialmente molecularmente disperso nesta matriz.

Dispersões sólidas amorfas tem sido estudados há varias décadas o que se traduz por um número consequente de publicações científicas. No entanto, a lista de produtos que chegaram ou chegam ao mercado é ainda modesta devido aos desafios tecnológicos que estes sistemas apresentam como a estabilização físico-química do IFA no seu estado amorfo quando submetido a condições de estresse para uma forma termodinamicamente instável (temperatura, umidade relativa, meio de dissolução).

Certa diversidade de polímeros hidrofílicos encontra-se disponível para o desenvolvimento de dispersões sólidas buscando-se estas características de estabilidade. Fusão-extrusão (*hot melt extrusion*) e secagem por atomização (*spray-drying*) representam os

processos mais estudados para desenvolvimento destes sistemas. Alguns dos desafios a superar para que estas formas sólidas possam ser mais largamente utilizadas são:

- melhor compreensão da influência da composição dos sistemas e do processo de produção sobre a estrutura das dispersões sólidas;

- melhor compreensão da estrutura do sólido e de seu impacto no mecanismo que governa a liberação do fármaco desta estrutura (e sua solubilização);

- melhor predição da estabilidade física durante o "envelhecimento" sob efeito das condições ambientes (temperatura e umidade relativa);

- melhor predição da estabilidade da forma amorfizada do fármaco durante uma dissolução *in vivo*.

Neste trabalho o fármaco de interesse foi o **Efavirenz (EFV),** um antirretroviral da classe dos inibidores da transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo, utilizado no tratamento de primeira linha no combate ao HIV, segundo o guia da Organização Mundial de Saúde (OMS). É uma molécula que apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade, sendo classificada como Classe II de acordo com Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).

O desenvolvimento de formulações de EFV sob a forma de dispersões sólidas tem sido uma área de pesquisa já explorada, com diversos tipos de matrizes e técnicas de produção. No entanto, apesar dos progressos obtidos, ainda considera-se um desafio a obtenção de dispersões sólidas a base de EFV com miscibilidade em nível molecular e estabilidade do estado amorfo, que favoreçam o incremento da solubilidade aparente e controle da cinética de dissolução e que possam ser incorporadas em formas farmacêuticas de uso oral para obtenção de uma biodisponibilidade adequada e com menor variabilidade.

A tese aqui apresentada concentrou esforços no desenvolvimento de dispersões sólidas como ferramenta para incremento da solubilidade e taxa de dissolução do fármaco Efavirenz. O trabalho foi descrito em 6 capítulos.

O **Capítulo 1** apresenta uma síntese bibliográfica com enfoque no tema 'dispersões sólidas amorfas para fármacos Classe II (SCB).

O **Capitulo 2** descreve as diferentes etapas envolvidas na preparação e caracterização das dispersões sólidas amorfas com Efavirenz e as matrizes poliméricas de nosso interesse. O processo utilizado é descrito bem como as técnicas utilizadas para a caracterização destes novos sistemas.

Os **Capítulos 3, 4 e 5** apresentam de forma sequencial os resultados referentes a cada tipo de dispersão sólida produzida: dispersões sólidas de Efavirenz e Soluplus®, chamadas de

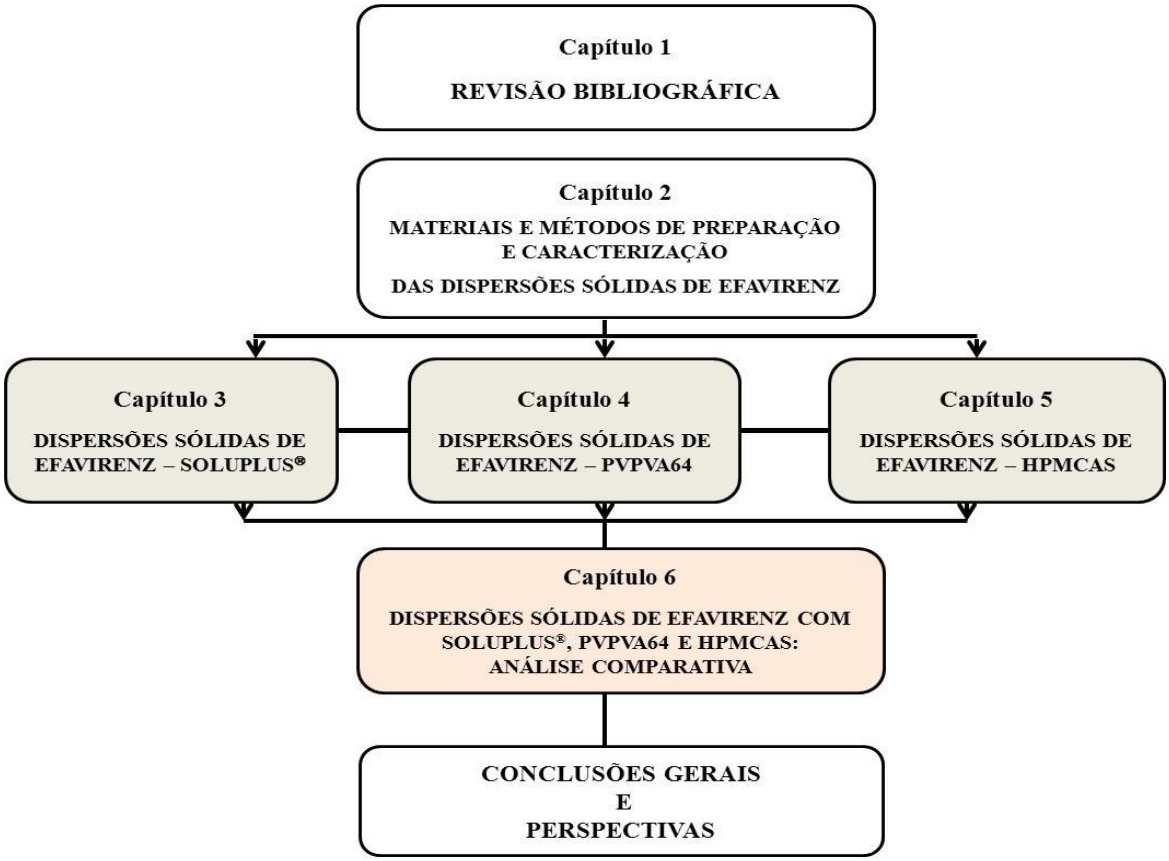
DS_{SOL} (Capítulo 3), dispersões sólidas de Efavirenz e PVPVA, denominadas DS_{PVPVA} (Capítulo 4) e finalmente as dispersões sólidas de Efavirenz e HPMCAS, chamadas de DS_{HPMCAS} (Capítulo 5). O parâmetro-chave destes estudos é a proporção mássica fármaco-polímero nas formulações.

O **Capitulo 6** retoma os principais resultados apresentados de forma individual nos Capítulos 3, 4 e 5, a fim de possibilitar una análise comparativa de resultados e também um tratamento cinético dos dados de dissolução numa tentativa de identificar os mecanismos governando as cinéticas de dissolução das diferentes estruturas geradas.

Enfim, este manuscrito é finalizado com a apresentação das principais **conclusões** do trabalho bem como as **perspectivas** para a continuidade desta atividade de pesquisa.

Esta tese foi realizada em cotutela ente a Universidade Federal de Pernambuco no Brasil e a *L'Ecole des Mines d'Albi-Carmaux*, na França.

Para facilidade de leitura e visão global do trabalho, sua estrutura é esquematizada a seguir:



2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Obtenção e caracterização de dispersões sólidas amorfas de EFV, visando o incremento da solubilidade e cinética de dissolução em meio aquoso, considerando os parâmetros o tipo de matriz polimérica e a proporção fármaco: polímero.

2.2 Objetivos Específicos

- Preparar dispersões sólidas do Efavirenz em 3 matrizes poliméricas hidrofílicas diferentes pela técnica de *spray-drying*;
- Avaliar o impacto da composição da matriz polimérica nas características físico-químicas das dispersões sólidas;
- Avaliar propriedades 'funcionais' (supersaturação e cinética de liberação in vitro do fármaco) em diferentes meios;
- Realizar estudo comparativo entre as DS produzidas com os diferentes polímeros;
- Verificar a estabilidade das DS em condições de *stress* controlado (umidade e temperatura) e em condições ambiente**.**

Capítulo 1

REVISÃO DA LITERATURA

O Capítulo 1 introduz, primeiramente, conceitos básicos relacionados ao tema (generalidades sobre a via oral para administração de fármacos, noções de solubilidade, dissolução, biodisponibilidade e de classificação biofarmacêutica).

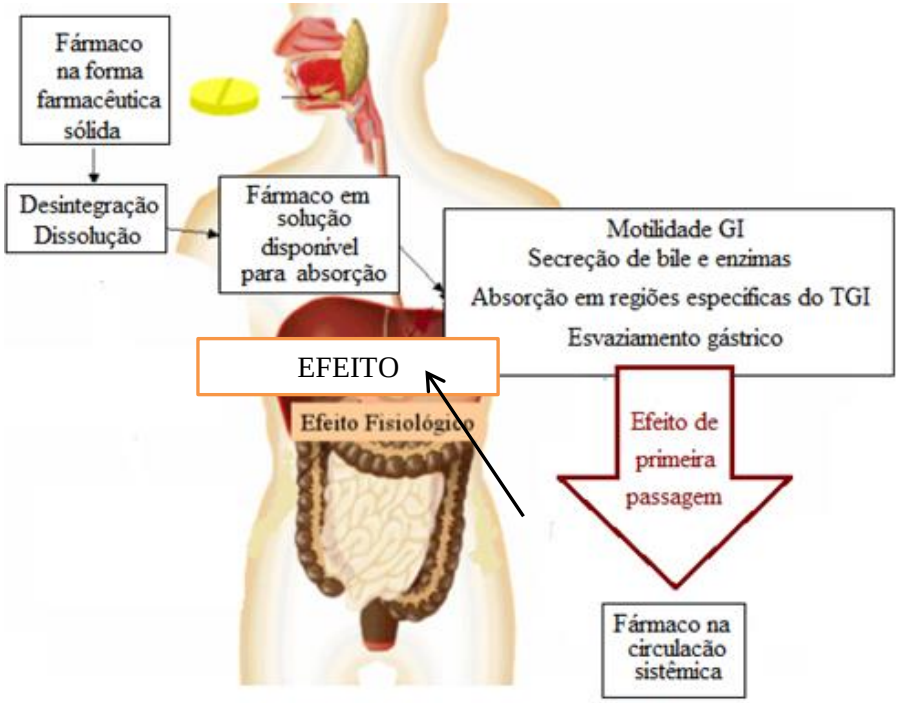
Em seguida, técnicas utilizadas para aumentar a solubilidade e a cinética de dissolução de fármacos são apresentadas, dentre elas as **dispersões sólidas**, sistemas que serão desenvolvidos neste trabalho. Os principais tópicos necessários para o desenvolvimento de dispersões sólidas (processos de preparação, técnicas de caracterização, estabilidade, dissolução) são abordados com base na literatura. Finalizando, segue a apresentação do **Efavirenz (EFV),** o fármaco de interesse, e dos polímeros envolvidos no desenvolvimento desta tese.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Noções Gerais Sobre a Via Oral e Farmacocinética de Absorção de Fármacos - Generalidades

Ao longo dos anos, a via de administração oral tem sido considerada preferencial para a administração de fármacos principalmente em razão da maior adesão do paciente ao tratamento (DESAI et al., 2012). No entanto, através dessa via, o fármaco é exposto às condições 'inóspitas' como variação do pH do trato gastrointestinal (TGI), presença de enzimas, secreções e alimentos, além do efeito de primeira passagem (Fig. 1), o que faz com que os princípios ativos administrados por esta via possam então apresentar biodisponibilidade variada e/ou limitada. Adicionalmente a estes fatores, características intrínsecas do fármaco como baixa solubilidade aquosa, cinética de dissolução inadequada, instabilidade e degradação no ambiente gastrointestinal ou ainda uma ineficiente permeabilidade, também são fatores que podem alterar a biodisponibilidade. Os princípios básicos que envolvem tais parâmetros serão discutidos brevemente a seguir.

Figura 1 - Esquema representativo da via oral e do TGI indicando os possíveis efeitos do sistema na absorção de fármacos até a ação farmacológica.



Fonte: Adaptado de http://www.psiquiatriageral.com.br.

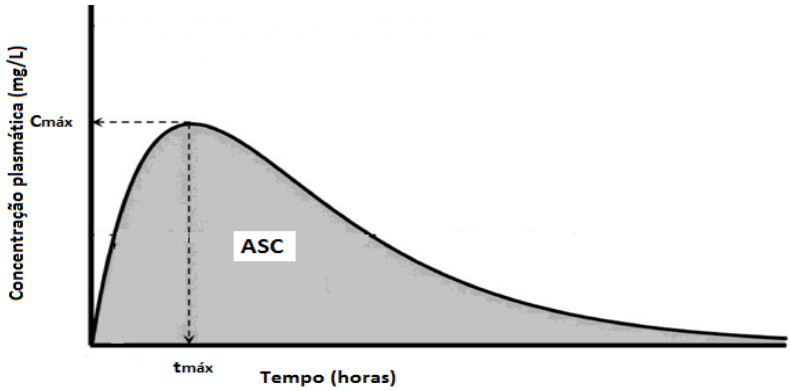
3.2 Absorção e Biodisponibilidade de Fármacos

A biodisponibilidade de um fármaco é definida como a velocidade a extensão na qual o ingrediente ativo é absorvido de um produto farmacêutico e torna-se disponível no local de ação (FDA, 1997). Como na prática, é raro que a concentração do fármaco possa ser determinada no local de ação, geralmente a biodisponibilidade se refere à velocidade e à extensão com que o fármaco é absorvido de uma forma farmacêutica e torna-se disponível na circulação sistêmica (ALLAM et al., 2011).

Do ponto de vista farmacocinético, os dados de biodisponibilidade de uma formulação são capazes de fornecer uma estimativa da fração relativa da dose administrada por via oral, que é absorvida para a circulação sistêmica, quando comparados com os dados de biodisponibilidade de uma forma de dosagem por via intravenosa. Além disso, estudos de biodisponibilidade também podem fornecer informações farmacocinéticas em relação à absorção, distribuição, permeabilidade e eliminação da substância ativa (FDA, 1997).

As medidas de biodisponibilidade baseiam-se na determinação da concentração do fármaco no sangue, supondo que haja uma relação direta entre a concentração deste ativo no plasma e sua concentração no local de ação. Essas medidas normalmente envolvem a avaliação do pico de concentração plasmática ($C_{máx.}$), o tempo em que se alcança o pico desta concentração ($T_{máx.}$) e a área sob a curva (ASC) da concentração sanguínea em função do tempo (OLIVEIRA et al., 2009), apresentados na Fig. 2.

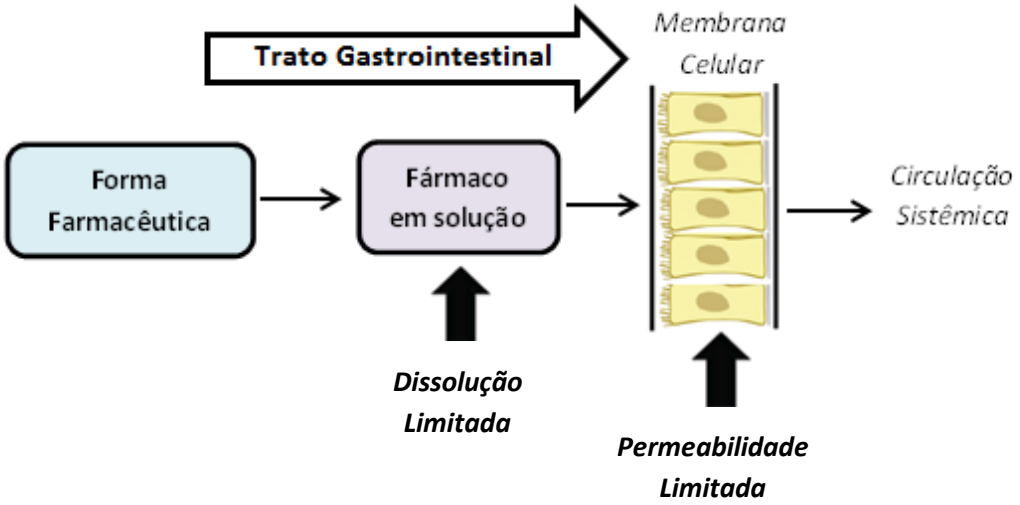
Figura 2 - Gráfico representativo de perfil farmacocinético indicando os parâmetros farmacocinéticos ASC, $C_{máx.}$ e $T_{máx}$.



Fonte: Autoria própria.

A atividade farmacológica relacionada a um fármaco depende, dentre outros fatores, da concentração com que esta se faz presente no fluido biológico que banha o tecido e seu receptor ativo. Esta concentração é determinada inicialmente pela desintegração e dissolução do ativo, veiculado por via oral em uma forma farmacêutica sólida, e, posteriormente, pela permeação destes fármacos através das membranas biológicas celulares, em especial das membranas da parede intestinal, onde se observa o maior tempo de permanência de um fármaco em um medicamento por via oral (VIÇOSA, 2003). O processo de absorção dos fármacos depende de fatores fisiológicos relacionados à estrutura e às funções do trato gastrointestinal, de fatores vinculados à forma farmacêutica e do uso de excipientes, além de fatores relacionados às propriedades intrínsecas do próprio fármaco como solubilidade e permeabilidade. As principais propriedades físico-químicas do fármaco que podem afetar a solubilidade e permeabilidade são: velocidade de dissolução, pKa, estabilidade química e formação de complexos (AULTON, 2005). O fármaco, quando em estado sólido, deve se dissolver a partir de sua forma farmacêutica originária para que todo o processo de absorção se inicie. Desta forma, não só sua permeabilidade frente às membranas biológicas, mas também sua solubilidade e nível de dissolução no meio fisiológico são parâmetros de extrema importância na avaliação farmacêutica e que podem limitar a biodisponibilidade do fármaco (Fig. 3) (LIEBERMAN; LACHMAN, 2001; USP35, 2012).

Figura 3 - Parâmetros limitantes da absorção de uma substância ativa a partir de formas farmacêuticas de uso oral.



Fonte: Adaptado de ENGMAN, 2003.

3.3 Solubilidade/Dissolução

A solubilidade de um sólido cristalino é um parâmetro termodinâmico, definido em termos quantitativos como a concentração do soluto em uma solução saturada a uma determinada temperatura (SIKARRA et al., 2012). Este parâmetro é dependente da natureza do solvente, do soluto e parâmetros como temperatura e pH.

O processo de solubilização do soluto envolve a quebra de interações inter-iônicas ou intermoleculares desta molécula, a separação das moléculas do solvente para criar um espaço no solvente para o soluto e finalmente a formação de interações iônicas ou moleculares entre o soluto e o solvente (LIMBACHIYA et al., 2012).

A solubilidade aquosa de qualquer fármaco é uma propriedade-chave no delineamento dos estudos de pré-formulação, ou seja, na etapa de investigação na qual se identificam as propriedades físicas e químicas de fármacos e excipientes que podem influenciar na formulação, na forma farmacêutica, no processo produtivo e nas propriedades farmacocinéticas do medicamento por ter implicações diretas na taxa de dissolução, absorção e consequentemente na eficácia *in vivo* (KALRA et al., 2011).

Em sistemas biológicos, a dissolução de medicamentos pode ser definida como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica, tornando-se disponível para ser absorvido pelo organismo. Os processos relacionados à liberação do fármaco de formas farmacêuticas sólidas estão representados na Fig. 4, como proposto na literatura (ROSA, 2005), onde K_{dd} representa a velocidade de desintegração da formulação e K_{di} a velocidade de dissolução intrínseca do fármaco.

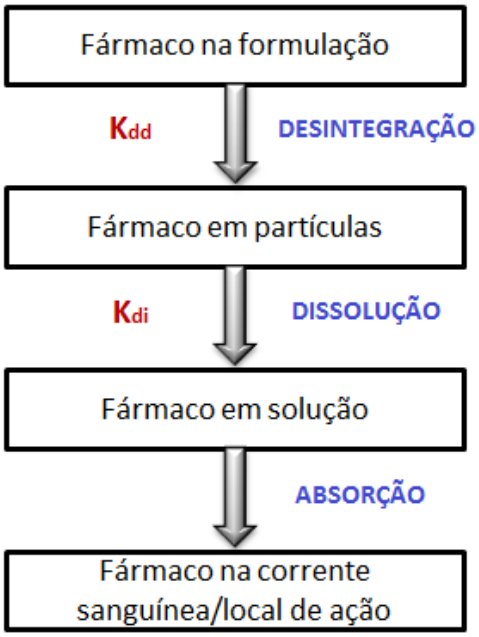
Constata-se que quando K_{dd} é maior que K_{di}, a dissolução é controlada pela dissolução intrínseca dos ativos, sendo suas propriedades físico-químicas consideradas importantes. Já quando K_{dd} é menor que K_{di}, a dissolução é controlada pela desintegração, sendo esta influenciada pelas propriedades coesivas da formulação (BROWN, 2004).

A maioria dos fármacos atravessa a mucosa intestinal no seu estado dissolvido. Se a permeabilidade não é o estágio que limita a absorção, a entrada na circulação sistêmica é determinada pela liberação do fármaco da forma farmacêutica, e particularmente no caso de compostos de baixa solubilidade aquosa, pela taxa de dissolução. Dessa forma, para estes fármacos, a taxa de dissolução é quem governa o processo de absorção (SCHELER, 2013).

Um dos desafios mais relevantes na rotina de desenvolvimento de formulações de liberação imediata contendo fármacos pouco solúveis concentra-se no controle da velocidade

de dissolução, liberação do ativo disponível e manutenção do mesmo em solução, a fim de assegurar perfis de concentração plasmática ideais, garantindo a intensidade e duração da ação do fármaco no organismo.

Figura 4 - Etapas do processo de liberação do fármaco da forma farmacêutica sólida



Fonte: Adaptado de ROSA, 2005.

Em 1897, Noyes e Whitney estabeleceram uma equação (Eq. 1.1), com base na segunda lei de difusão de Fick, relacionando a velocidade de dissolução com a solubilidade máxima do soluto (ou constante de saturação) e a concentração ao tempo t (MANADAS, 2002):

$$\frac{dC}{dt} = K(C_s - C_t) \qquad \text{(Eq. 1.1)}$$

Onde, dC/dt é a velocidade de dissolução, K o coeficiente de dissolução, C_s a concentração máxima do soluto no meio de dissolução, C_t a concentração do soluto na solução no tempo t; e (C_s – C_t) seu gradiente de concentração.

Em 1904, Nernst e Brunner modificaram a equação de Noyes e Whitney (Eq. 1.2), tendo incluído como parâmetros influentes no processo o coeficiente de difusão (D), a área superficial do fármaco (As), a espessura da camada de difusão (h) e o volume do meio de dissolução (V) (MANADAS, 2002):

$$\frac{dC}{dt} = K\frac{DA_s}{Vh}(C_S - C_t) \qquad \text{(Eq. 1.2)}$$

Estratégias que visem o aumento da velocidade de dissolução baseiam-se tipicamente em promover um aumento da área superficial do fármaco (As) pela redução do tamanho de partículas do fármaco e/ou o aumento da sua concentração máxima no meio de dissolução (Cs).

3.4 Fármacos de Baixa Solubilidade Aquosa e Estratégias para Aumento da Solubilidade e Dissolução

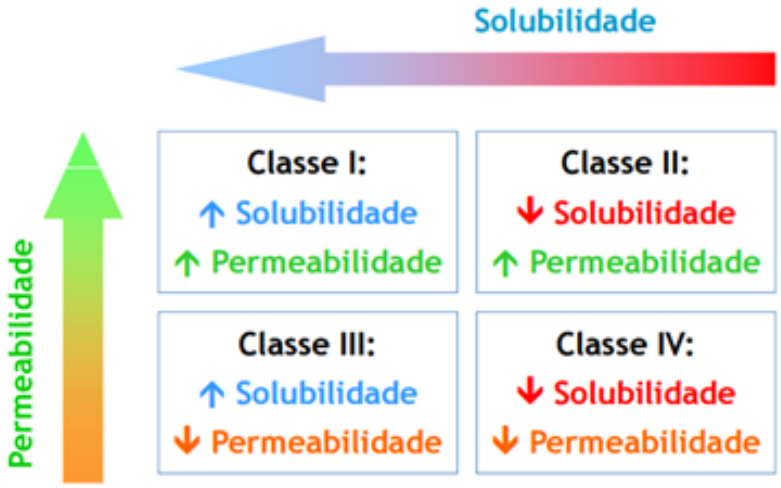
3.4.1 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB)

No início dos anos 90, as companhias farmacêuticas mais inovadoras iniciaram o uso de metodologias modernas de triagem de alto desempenho, *High throughput screening (HTS),* e da química combinatória com a finalidade de aumentar a produtividade na descoberta de novos fármacos. Como resultado, o número de compostos de baixa solubilidade aquosa tem aumentado e se tornado uma grande preocupação da indústria farmacêutica (VAN DEN MOOTER, 2012).

Atualmente, estima-se que pelo menos 40% das moléculas em *pipeline* na área farmacêutica e cerca de 60% das moléculas provenientes da síntese ou passíveis de serem obtidas através das metodologias HTS são ou serão pouco solúveis em água, o que frequentemente significa problemas de biodisponibilidade baixa ou variável (LIPINSKI, 2002).

A importância da solubilidade em termos biofarmacêuticos tem recebido destaque principalmente após a criação do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Fig. 5). Esse sistema, introduzido por Amidon et al. (1995), classifica o fármaco baseado na sua solubilidade aquosa, relacionando a sua maior dose disponível em três pHs relevantes e em sua permeabilidade biológica. Esta classificação visa predizer a absorção do fármaco em virtude do conhecimento desses parâmetros.

Figura 5 - Representação do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SBC), introduzido por AMIDON et al., 1995.



Fonte: Autoria própria.

O termo "fármacos de baixa solubilidade ou fármacos hidrofóbicos" tem sido comumente empregado para definir um grupo de moléculas que apresentam baixa solubilidade aquosa (MENG et al., 2015). O sistema SCB agrupa fármacos de baixa solubilidade em meio aquoso nas classes II e IV e tem sido utilizado como indicativo para antecipar a boa absorção ou não do ativo e, consequentemente, a biodisponibilidade de formulações orais com ele preparadas.

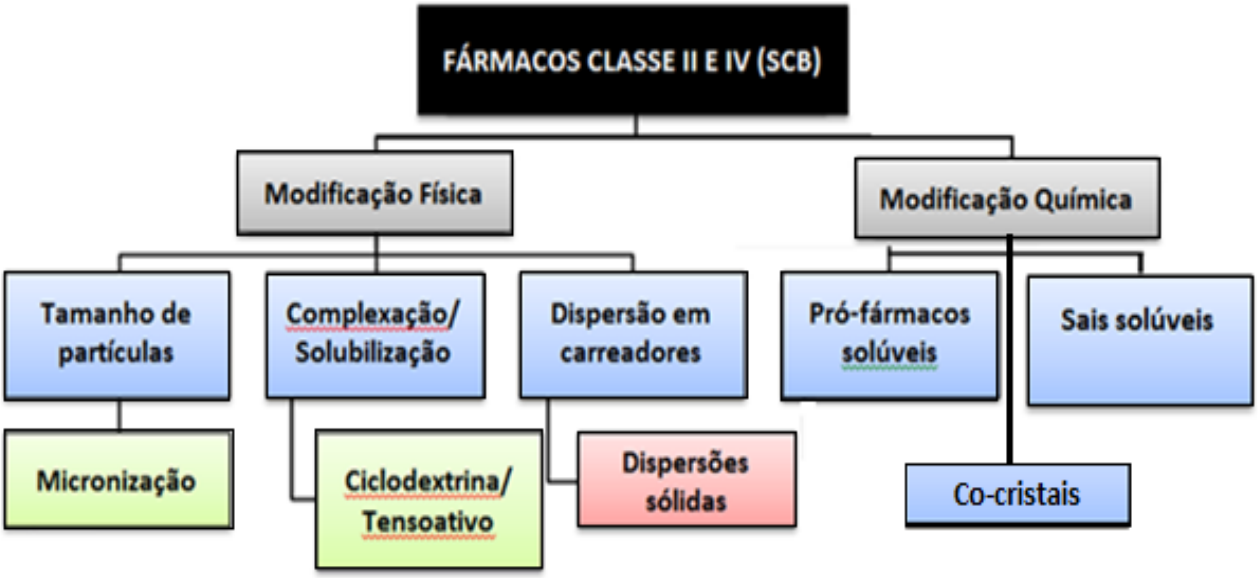
Para aumentar a biodisponibilidade para alcançar o objetivo terapêutico, existe a necessidade de manipular as propriedades farmacêuticas dos fármacos ou até mesmo interferir com as barreiras fisiológicas envolvidas no processo de absorção. Esta tem sido considerada uma abordagem tecnológica promissora em pesquisas farmacêuticas, tendo em vista que a maioria dos candidatos a novos fármacos enfrentam problemas semelhantes relacionados à solubilidade, dissolução e absorção (FASINU et al., 2011).

3.4.2 Estratégias para incrementar a solubilidade e a quantidade de fármaco dissolvido no local de absorção

Alternativas tecnológicas tem sido desenvolvidas na tentativa de aumentar a solubilidade e melhorar a biodisponibilidade de fármacos Classe II através de modificações químicas ou físicas das moléculas, ilustradas na Fig. 6.

As modificações químicas envolvem o preparo de sais solúveis em meio aquoso partindo de fármacos insolúveis, a formação de pró-fármacos e co-cristais. No entanto, os métodos mais aplicados para incremento de solubilidade são as que se baseiam em modificações físicas da molécula como redução de tamanho da partícula que acelera a cinética de dissolução, sendo a mais comum a micronização; a complexação com estruturas de ciclodextrinas e a associação de fármacos com carreadores na produção de dispersões sólidas que aumentam a interação fármaco-líquido biológico favorecendo também a dissolução (GUÉ, 2013).

Figura 6 - Principais técnicas para melhorar a solubilidade ou a cinética de dissolução.



Fonte: Autoria própria.

A formação de **dispersões sólidas amorfas** como técnica de incremento na cinética de dissolução e solubilidade aparente de fármacos Classe II tem apresentado crescente interesse, pois esses sistemas exibem um efeito de supersaturação que vem sendo considerado como um parâmetro importante para superar problemas relacionados à absorção limitada de moléculas desta classe (ZECEVIC et al., 2014). Este efeito deve-se ao **estado amorfo** do fármaco que será igualmente introduzido no tópico a seguir.

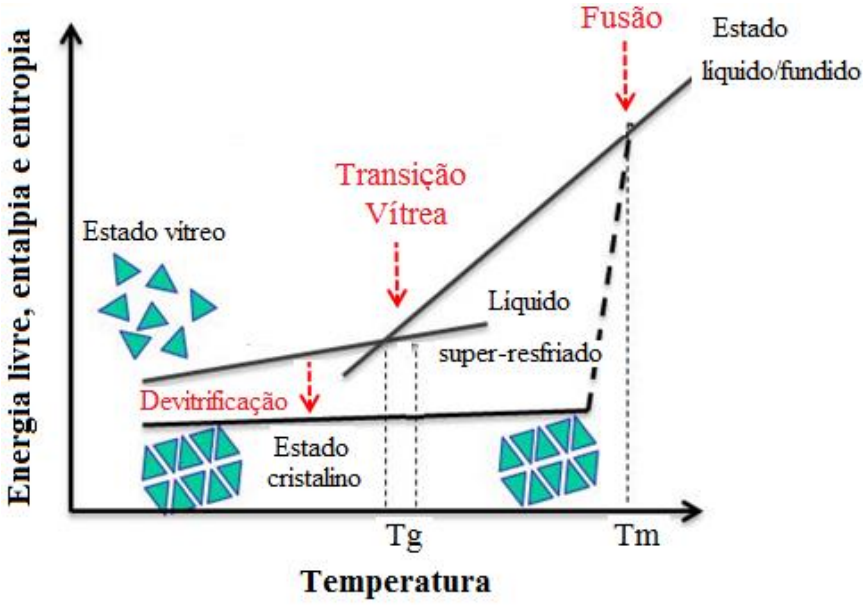
3.5 Dispersões Sólidas

3.5.1 O Estado Amorfo

O grau de organização das moléculas em um sólido varia do extremo de grande ordenação, característico de estruturas cristalinas, a um sistema de elevada desordem no arranjo molecular, típico do estado amorfo.

Estruturas amorfas geralmente são formadas quando há um arrefecimento brusco de substâncias previamente fundidas, fazendo com que os átomos não tenham tempo de voltar ao seu arranjo molecular termodinamicamente estável, formando um estado líquido-super-resfriado, com temperatura inferior à temperatura de fusão (Tm). Nesse estado a viscosidade se assemelha à do estado sólido, limitando o movimento atômico e impedindo o rearranjo organizado das moléculas, e consequentemente o processo de recristalização. No estado líquido super-resfriado o fármaco está em equilíbrio com o estado fundido, no entanto, o resfriamento tende a continuar até a que a temperatura de transição vítrea (Tg) seja atingida. Abaixo da Tg o fármaco amorfo permanece num estado de não-equilíbrio e converte para o estado vítreo "congelado" (Fig. 7). A Tg não corresponde a um ponto, mas a uma faixa de valores de temperatura (BABU et al., 2009; TEJA et al., 2013; BAGHEL et al., 2016).

Figura 7 - Gráfico representativo dos diversos estados de uma substância pura em função da temperatura (Tg indica a região de transição vítrea e Tm a temperatura de fusão).



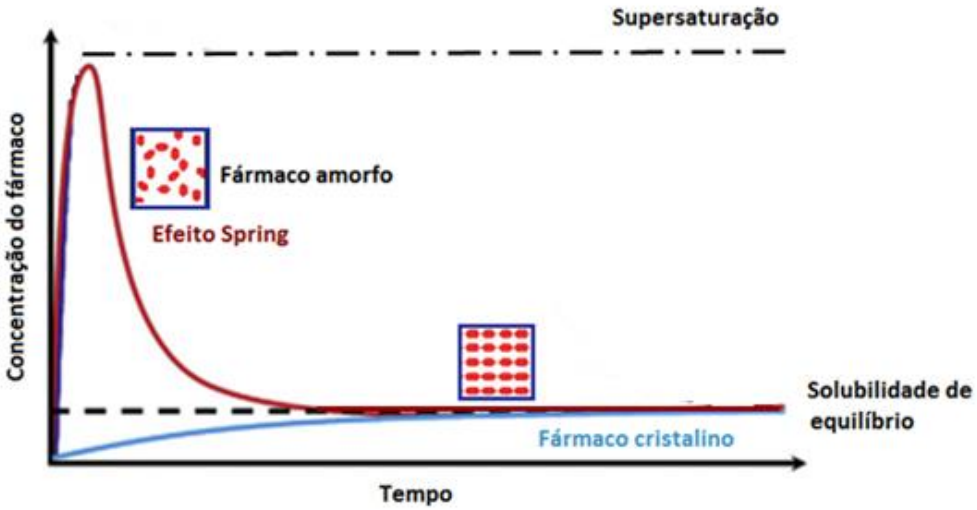
Fonte: Adaptado BAGHEL et al., 2016. Reproduzido com permissão.

Essa desordem do arranjo molecular faz com que o estado amorfo apresente propriedades termodinâmicas interessantes como níveis elevados de energia livre, entalpia, entropia e mobilidade molecular, o que lhe confere propriedades interessantes em termos de reatividade (solubilidade) e cinética de dissolução:

Solubilidade aparente. Geralmente, a solubilidade de uma molécula no seu estado amorfo é 100 a 1000 vezes superior a sua forma cristalina (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Para fármacos que apresentam problemas de biodisponibilidade em razão de uma baixa solubilidade aquosa, o incremento da solubilidade aparente pode aumentar a chance de sucesso na sua absorção e consequentemente na resposta farmacológica.

Cinética de dissolução. A dissolução de uma molécula na forma amorfa difere da dissolução da sua forma cristalina. Como já discutido neste capítulo, fármacos cristalinos quando adicionados em excesso em meio aquoso irão se dissolver até que a solução formada alcance o equilíbrio termodinâmico, após o qual a concentração do fármaco permanece constante. Uma forma amorfa inicialmente se dissolve mais rapidamente que a cristalina, alcançando maiores concentrações proporcionalmente à sua solubilidade aparente, o que é conhecido como efeito *spring* (Fig. 8). No entanto, essas concentrações elevadas tendem a apresentar curta duração e, após se atingir uma concentração máxima em solução (estado supersaturado, equivalendo a uma solubilidade aparente), a concentração diminui e tende à concentração máxima da forma mais estável em solução (solubilidade da forma cristalina).

Figura 8 - Gráfico representativo do perfil da solubilidade aquosa de um fármaco na forma amorfa em comparação à forma cristalina.

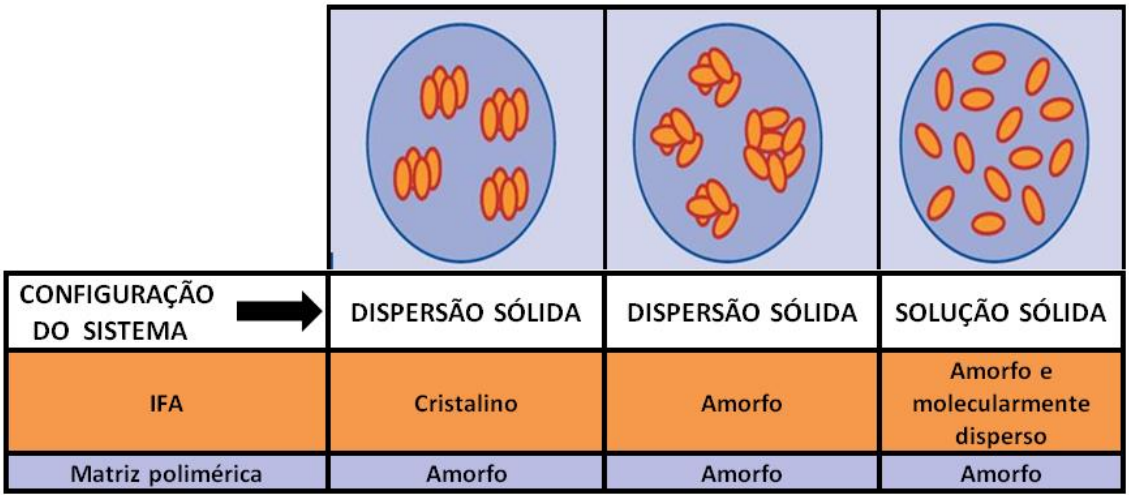


Fonte: Adaptado de BROUGH e WILLIAM, 2013. Reproduzido com permissão

3.5.2 Dispersões Sólidas: definição e breve histórico

Dispersões sólidas definem, numa terminologia ampla, várias categorias de produtos constituídos de pelo menos dois componentes: uma matriz (geralmente polimérica) e um fármaco. Geralmente a matriz é hidrofílica e o fármaco hidrofóbico (Classes II ou IV SCB). A matriz pode ser cristalina ou amorfa e o fármaco pode estar disperso molecularmente ou apresentar-se na forma de partículas amorfas ou cristalinas (KAPSI E AYRES, 2001), como esquematicamente representado na Fig. 9.

Figura 9 - Diferentes configurações de dispersões sólidas constituídas de um IFA e uma matriz (geralmente um polímero) em diferentes estados sólidos (amorfo ou cristalino).



Fonte: Adaptado de NADAUD, 2015.

O primeiro registro de dispersões sólidas é datado no ano de 1961, a partir da observação do incremento na dissolução em meio aquoso de uma mistura eutética sólida de sulfatiazol e uréia, notificado por Sekiguchi e Obi. Misturas de fármacos com matrizes cristalinas hidrofílicas como uréia e açúcares como manitol constituíram nesta década a primeira geração de dispersões sólidas. Ao final dessa década, observou-se que a obtenção dessas estruturas poderia ser mais eficaz quando a matriz utilizada apresentasse característica amorfa. Iniciou-se então, a segunda geração das dispersões sólidas, caracterizada pela preparação de sistemas onde o fármaco encontrava-se disperso numa matriz amorfa (VASCONCELOS et al., 2007).

A partir dos anos 70, a preparação de dispersões sólidas começou a ser empregada como um método efetivo para aumentar a cinética de dissolução de fármacos de baixa solubilidade aquosa, com o objetivo de promover um incremento na biodisponibilidade destas substâncias (KALRA & JAIN, 2011). Neste período, polímeros hidrofílicos foram apontados como bons excipientes no incremento da solubilidade e dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis. Dentre os polímeros utilizados, podem ser citados os de origem sintética que incluem polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG), álcool polivinílico (PVA); os derivados celulósicos naturais, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e suas variações como ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCP) e acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS), etilcelulose e hidroxipropilcelulose (HPC) (CIRRI et al., 2004), além de copolímeros de polivinil-vinilacetato (PVPVA), copolímero de polivinilcaprolactama, acetato de polivinila e polietilenoglicol (Soluplus®) e copolímeros de polietilenoglicol-caprolactona (PEG-PCL).

Mais recentemente, demonstrou-se que o perfil de dissolução de fármacos de baixa solubilidade aquosa pode ser melhorado se a matriz utilizada também apresentar propriedade auto-emulsionantes, caracterizando-se assim a terceira geração de dispersões sólidas. As matrizes, neste caso, são substâncias surfactantes ou uma combinação de polímeros amorfos e surfactantes. Com esta terceira geração, pretende-se alcançar o maior grau de biodisponibilidade de fármacos lipofílicos e também uma maior estabilidade das dispersões sólidas, evitando a recristalização do fármaco (KALRA & JAIN, 2011).

Numerosos estudos de dispersões sólidas publicados têm mostrado vantagens no incremento da solubilidade e da cinética de dissolução de fármacos de baixa solubilidade em água, que incluem a redução do tamanho de partícula no caso do fármaco permanecer cristalino, aumento da molhabilidade, bem como a mudança do estado cristalino do fármaco para o estado amorfo (VO; PARK; LEE, 2013). No entanto, várias limitações ainda continuam sendo objeto de estudo como a instabilidade física durante o armazenamento e problemas de miscibilidade/incompatibilidade entre fármacos e matrizes que podem ocasionar problemas de cristalização irregular e aumento insignificante na cinética de dissolução (GREENHALGH et al., 1999).

A comercialização de medicamentos baseados na tecnologia de dispersão sólida não é extensa devido a dificuldades nos processos produtivos envolvendo principalmente a instabilidade físico-química e problemas decorrentes de reprodutibilidade das propriedades físico-químicas dos sistemas (VO; PARK; LEE, 2013). No entanto, apesar das dificuldades

relatadas, nos últimos anos, houve um aumento no número de produtos farmacêuticos aprovados pelo FDA fabricados na forma de dispersões sólidas, estabelecendo essa alternativa como uma plataforma tecnológica para a formulação de fármacos com baixa solubilidade (HUANG; DAI, 2014). No Brasil, alguns desses produtos já possuem registro na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 - Produtos farmacêuticos aprovados produzidos pela tecnologia de dispersões sólidas.

Fármaco	**Polímero**	**Método de preparação**	**Fabricante**	**Aprovação de registro**	
				FDA	**ANVISA**
Lopinavir+Ritonavir	PVPVA	HME	Abbot	2005	2014
Etravirina	HPMC	SD	Janssen-Cilag	2008	2009
Everolimo	HPMC	SD	Novartis	2010	2004
Ritonavir	PVPVA	HME	Abbot	2010	2014
Itraconazol	HPMC	HME	Merz Pharmaceutial	2010	*
Telaprevir	HPMCAS	SD	Janssen-Cilag	2011	2011
Vemurafenib	HPMCAS	CP	Roche	2011	2011
Ivacaftor	HPMCAS	SD	Vertex	2012	*

SD – Atomização por *spray-drying* *Registro não encontrado na ANVISA

HME – Extrusão à quente (*hot-melt extrusion*)

CP – Co-precipitação

Fonte: Adaptado de HUANG e DAI, 2014. Reproduzido com Permissão.

3.5.3 Aspectos importantes no desenvolvimento de dispersões sólidas

As dificuldades que envolvem a produção de dispersões sólidas amorfas ocorrem principalmente pelo estado de maior energia do estado amorfo, que aumenta a reatividade química e física das estruturas causando uma tendência à recristalização (ZECEVIC et al., 2014). O uso de polímeros é tido como uma ferramenta promissora na estabilização destas formas amorfas (TEJA, et al., 2013), portanto aspectos como a **miscibilidade fármaco-polímero**, a forma de incremento da dissolução e a estabilidade devem ser parâmetros imprescindíveis a serem considerados durante a formulação destes sistemas.

3.5.3.1 Miscibilidade fármaco-polímero

A miscibilidade entre o fármaco e o polímero é um fator-chave no desenvolvimento de dispersões sólidas, que depende diretamente das interações moleculares entre os componentes da formulação. Interações mais fortes tendem a aumentar a habilidade do polímero em desfazer a rede cristalina do fármaco e com isso uma maior miscibilidade é obtida (AL-OBAIDI et al., 2013a). A miscibilidade parcial ou baixa, resultante de interações fracas, pode ocasionar uma distribuição irregular do fármaco pela matriz favorecendo a formação de sítios de maior concentração da molécula que podem acelerar o processo de recristalização durante o armazenamento.

O uso de métodos preditivos permite uma indicação antecipada da solubilidade/miscibilidade das moléculas dos fármacos nos carreadores poliméricos, se adequando a seleção racional de polímeros a serem utilizados para o delineamento de sistemas de dispersões sólidas amorfas robustas.

Métodos baseados na determinação de parâmetros de solubilidade entre os componentes das misturas têm sido utilizados como uma primeira aproximação para o desenvolvimento racional de misturas fármaco-polímero (TEJA, 2013).

3.5.3.1.1 Miscibilidade baseada nos parâmetros de solubilidade

O parâmetro de solubilidade tem sido utilizado na indicação preliminar de miscibilidade entre fármaco e matrizes poliméricas (LIU et al., 2013), baseando-se na já estabelecida regra química de "*likes dissolves likes",* isto é, semelhante dissolve semelhante (BARTON, 1983).

O parâmetro de solubilidade, δ, introduzido por Hildebrand e Hansen, baseia-se na energia coesiva de cada constituinte calculada a partir das forças de dispersão, de interações entre os grupos polares e de ligação de hidrogênio entre as unidades estruturais. Esta teoria propõe um parâmetro de solubilidade total, δ_T, determinado a partir da soma quadrática da contribuição das forças de dispersão (δd), interações polares (δ_p) e pontes de hidrogênio (δ_h) dos grupos químicos estruturais presentes nos componentes da mistura (FEDORS, 1974;VAN KREVELEN, TE NIJENHUIS, 2009; STEFANIS; PANAYIOTOU, 2008; DJURIS et al., 2013), como descrito na equação 1.3:

$$\delta_T = (\delta_d^2 + \delta_p^2 + \delta_h^2)^{1/2} \qquad \text{(Eq. 1.3)}$$

Um dos métodos utilizados para determinação das forças de interações é o de Van Krevelen e Hoftyzer (1976) que se baseia no cálculo de contribuição dos grupos químicos presentes nas moléculas. Tendo em vista que uma estrutura molecular é composta de vários grupos químicos e que cada grupo tem sua própria solubilidade, uma "decomposição" das moléculas nos seus grupamentos estruturais básicos permite o cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T). Dessa forma, as diferentes forças de interações vistas na Eq. 1.3, podem ser calculadas a partir das equações 1.4, 1.5 e 1.6 (SCOTT, 1992):

$$\delta_d = \frac{\sum Fdi}{V} \qquad \text{(Eq. 1.4)}$$

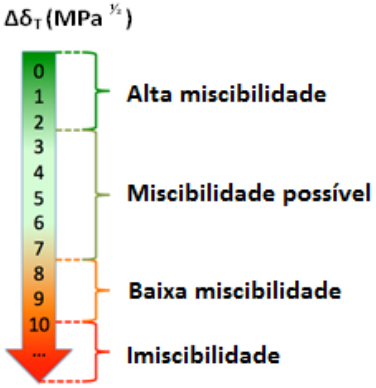
$$\delta_p = \frac{(\sum Fpi^2)^{1/2}}{V} \qquad \text{(Eq. 1.5)}$$

$$\delta_h = \left(\frac{\sum Fhi}{V}\right)^{1/2} \qquad \text{(Eq. 1.6)}$$

Sendo, i = grupos químicos estruturais da molécula, F_{di} = constante de atração molar devido às forças de dispersão, F_{pi} = constante de atração molar devido às forças de interação polar, F_{hi} = energia devido às pontes de Hidrogênio e V = volume molar do composto.

Greenhalgh e colaboradores (1999) classificaram a miscibilidade fármaco-polímero baseado na diferença entre os parâmetros de solubilidade total dos componentes da mistura ($\Delta\delta$). De acordo com a classificação, valores de $\Delta\delta > 10$ MPa ^{½} são característicos de sistemas com interações desfavoráveis e que apresentam separação de fases, enquanto valores com $\Delta\delta < 7$ MPa ^{½} correspondem a sistemas potencialmente miscíveis. Menores valores de $\Delta\delta$ predizem uma maior miscibilidade (Fig. 10).

Figura 10 - Esquema indicativo da miscibilidade baseado no valor de $\Delta\delta_T$.



Fonte: Adaptado de NADAUD, 2015

Os valores de *Fdi*, *Fpi* e *Ehi* são determinados estatisticamente por métodos termodinâmicos para os grupos estruturais. A literatura relata diversas tabelas de referências contendo valores específicos atribuídos aos grupos químicos estruturais das moléculas (VAN KREVELEN, TE NIJENHUIS, 2009; JUST et al., 2013) que podem apresentar valores diferentes para um mesmo grupo. Isso ocorre porque, entre as essas referências, os métodos de cálculos utilizados não são os mesmos. No entanto, o que deve ser considerado é o uso de um único método na avaliação comparativa entre as moléculas constituintes da mistura estudada. Um exemplo de tabela contendo valores de referência para contribuição dos grupos é disponibilizado neste trabalho (ANEXO I).

3.5.3.1.2 Miscibilidade baseada na Temperatura de Transição vítrea (Tg)

Outro método comumente utilizado para determinar a miscibilidade ou homogeneidade das misturas binárias entre fármacos e polímeros baseia-se na temperatura de transição vítrea (Tg), que pode ser determinada experimentalmente pela técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC). A temperatura de transição vítrea é utilizada na caracterização de polímeros puros, blendas, copolímeros, bem como compostos baseados em matrizes poliméricas. Valores da Tg em função da composição de misturas binárias contendo polímeros podem indicar se os sistemas são miscíveis, compatíveis ou imiscíveis (BROSTOW et al., 2008).

Misturas miscíveis apresentam uma única Tg de valor intermediário entre as obtidas para a molécula do fármaco e o polímero individualmente, indicando uma mistura de fase única quimicamente homogênea (SATHIGARI, et al., 2012). Em sistemas compatíveis, têm-

se dois valores de Tg que são função da composição da mistura. Para as misturas imiscíveis, os valores das Tg dos componentes puros não alteram com a composição da mistura binária, indicando um sistema de duas fases (BROSTOW et al., 2008).

A temperatura de transição vítrea das misturas binárias formadas na dispersão sólida pode ser estimada teoricamente utilizando-se a equação de Gordon-Taylor (GT) (Eq 1.7), que originalmente foi desenvolvida para descrever a dependência da Tg com a composição binária de polímeros miscíveis, e que atualmente tem sido bastante utilizada como ferramenta para predição da miscibilidade fármaco-polímero. Esta equação, de acordo com Gordon-Taylor, seria a representação das misturas consideradas ideais (ausência de interações moleculares) e baseia-se na fração molar, na densidade e nas Tg dos componentes da mistura (GORDON e TAYLOR, 1952).

$$Tg\ \text{mix} = \frac{Tg_1 W_1 + Tg_2 K W_2}{W_1 + W_2} \quad \text{(Eq. 1.7)}$$

Onde:

$$K = \frac{Tg_1 \times \rho_1}{Tg_2 \times \rho_2}$$

Na equação 1.7, Tg é a temperatura de transição vítrea, W_1 e W_2 são as frações molares dos constituintes da mistura e K é a constante calculada pelas densidades reais e temperaturas de transição vítreas dos constituintes da mistura.

Convencionalmente, os desvios das Tg determinadas experimentalmente em relação aos valores obtidos pela predição de GT são evidências para a confirmação de interações fármaco-polímero. Ainda assim, isto não fornece nenhuma informação específica da natureza das ligações, sendo necessário o uso de técnicas analíticas complementares, como as espectroscópicas, que podem revelar os diferentes tipos de interações entre os constituintes das dispersões sólidas (PAUDEL et al., 2012).

3.5.3.2 Comportamento de dissolução

O objetivo final das formulações amorfas é aumentar a concentração do fármaco em solução após a administração oral. A dissolução entre formas amorfas (sem polímero) e cristalinas em meios aquosos apresentam diferentes comportamentos. Fármacos cristalinos, quando adicionados em excesso em meio aquoso, irão se dissolver até que a solução formada

alcance o equilíbrio termodinâmico (função de temperatura e pressão), após o qual a concentração do fármaco permanece constante. Por outro lado, a forma amorfa inicialmente se dissolve mais rapidamente que a cristalina, alcançando maiores concentrações (solubilidade aparente), o que é conhecido como efeito *spring*. No entanto, essas altas concentrações tendem a apresentar curta duração e por se tratar de soluções supersaturadas, o fármaco tende a precipitar na forma cristalina até que seja alcançada uma concentração semelhante à obtida na solução do fármaco cristalino.

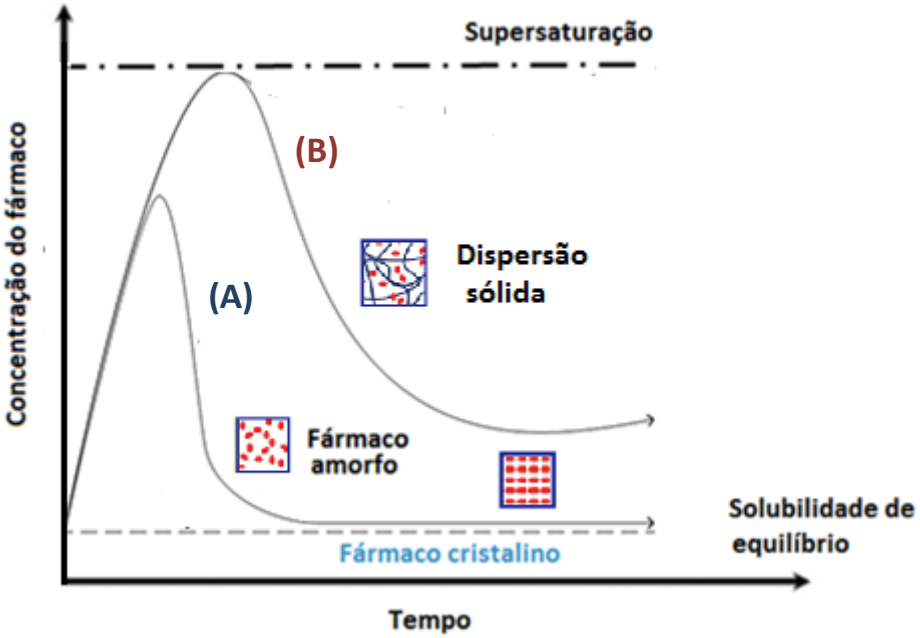
No caso das dispersões sólidas, também ocorre o efeito *spring*, mas o uso do polímero faz com que haja uma subsequente redução mais lenta na concentração do fármaco, mantendo a solução supersaturada por mais tempo, evento este conhecido como efeito *parachute* (LAITINEN et al., 2014). A Fig. 8 ilustra os efeitos de uma dispersão sólida no processo de dissolução de um fármaco e suas vantagens em relação à fase amorfa.

A manutenção da supersaturação tem sido relatada como um dos mecanismos que promovem o aumento da absorção intestinal (ILEVBARE et al., 2013). A aplicação de excipientes funcionais como polímeros e surfactantes atualmente é bastante utilizada para minimizar ou mesmo retardar a precipitação de fármacos em soluções supersaturadas.

A Fig. 11 demonstra um esquema onde pode ser melhor visualizado a diferença entre fármacos amorfos e sistemas de dispersões sólidas, considerando o parâmetro de solubilidade aparente.

A amorficidade de um fármaco leva a um aumento na sua solubilidade aparente, no entanto, por ser uma estrutura instável, o contato com o meio aquoso promove rapidamente a sua cristalização levando a uma rápida queda da curva da sua solubilidade aparente, como representado pela curva A. Já os polímeros utilizados na produção de dispersões sólidas tendem a formar estruturas amorfas que levam ao estado de supersaturação, no entanto, há uma inibição da recristalização do fármaco, mantendo o estado de supersaturação por um período mais prolongado, tornando mais lenta a evolução da forma amorfa para cristalina. A curva B representa esse comportamento que tem sido considerado como um fator preponderante para uma melhor absorção e biodisponibilidade dos fármacos.

Figura 11 - Gráfico representativo do perfil da solubilidade aquosa de um fármaco na forma cristalina, amorfa e associado a moléculas poliméricas que aumentam a extensão e o tempo da supersaturação.



Fonte: Adaptado de BROUGH e WILLIAM III, 2013. Reproduzido com permissão.

Apesar do uso de polímeros na produção de dispersões sólidas de fármacos hidrofóbicos ser considerado um método eficaz para manutenção da supersaturação e redução da recristalização, os mecanismos pelos quais essas formulações conseguem prolongar a supersaturação não são totalmente conhecidos, entre as várias possibilidades acredita-se que tal fato seja resultado de interações fármaco-polímero (HUANG; DAI, 2014). Sabe-se também que essas formulações afetam de maneira significativa a solubilidade do fármaco, a mobilidade molecular e a solvatação da molécula farmacêutica ao entrar em contato com o meio aquoso, alterando assim suas propriedades de recristalização (taxas de nucleação e crescimento) (GAO; SHI, 2012).

3.5.3.3 Estabilidade

Idealmente, uma dispersão sólida deveria ser cineticamente estável nas condições de temperatura e umidade durante sua produção e armazenamento. No entanto, a maior limitação destas estruturas sólidas é a inerente instabilidade termodinâmica. O principal interesse na

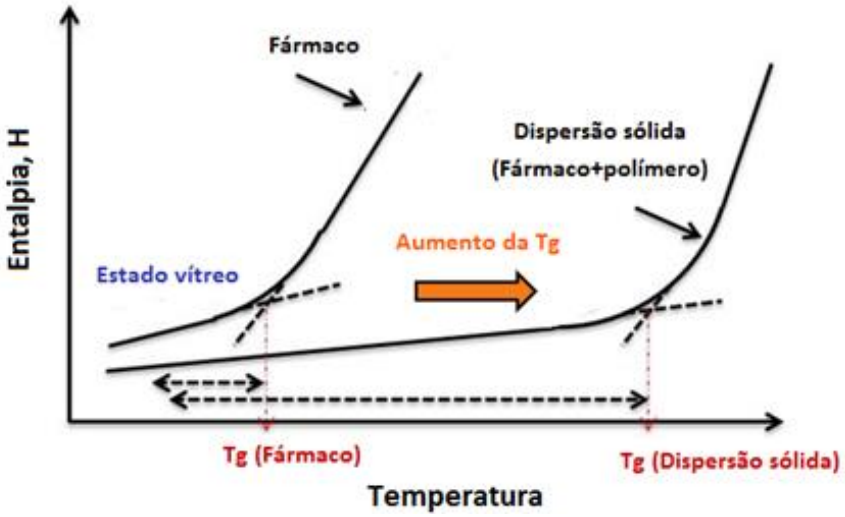
formulação destes sistemas é a obtenção de misturas homogêneas que mantenham a estabilidade física e evitem a recristalização do fármaco (QIAN et al., 2012).

É visto na literatura que a estabilidade física destes sistemas está relacionada a fatores como a natureza química da molécula do fármaco, a solubilidade e miscibilidade do fármaco na estrutura polimérica, as interações fármaco-polímero e a mobilidade molecular do fármaco da mistura (QIAN et al., 2012).

Uma dispersão sólida fisicamente estável tende a ser obtida quando o fármaco e o polímero estão intimamente misturados em nível molecular, formando uma solução vítrea (WYTTENBACH et al., 2013). A temperatura de transição vítrea (Tg) tem sido considerada um parâmetro-chave, uma vez que ela delineia o intervalo de temperatura entre uma grande mobilidade molecular (que acelera o processo de cristalização) e a uma baixa mobilidade molecular (que favorece a estabilização do estado amorfo) (KALOGERAS, 2011).

Uma abordagem atual para predizer a estabilidade física de dispersões sólidas tem sido selecionar polímeros que aumentem a Tg da dispersão quando comparada ao fármaco amorfo puro (WEGIEL et al., 2014). Dessa forma, dispersões sólidas produzidas a partir de polímeros com Tg elevada, apresentam Tg maior que a do fármaco no estado amorfo, devido ao efeito antiplastificante do polímero (Fig. 12). Esse aumento da Tg diminui a mobilidade do fármaco e, consequentemente, inibe ou retarda o processo de cristalização (BAIRD; TAYLOR, 2012; PAUDEL, 2013).

Figura 12 - Variação de entalpia em função da temperatura para substância pura e formulada como dispersão sólida.



Fonte: Adaptado de BAGHEL, 2016. Reproduzido com permissão.

Além do efeito antiplastificante, a estabilidade física é adicionalmente creditada a dois outros fatores: os efeitos estéricos inibitórios das longas cadeias poliméricas, que impedem estericamente a associação entre as moléculas do fármaco inibindo a sua recristalização (PAWAR; CHOUDHARI, 2012); e as interações intermoleculares específicas entre o fármaco e polímero, que aumentam a barreira energética para a nucleação do fármaco e consequente recristalização (PAUDEL, 2013). Dependendo do polímero utilizado e das características do complexo fármaco-polímero, um ou mais dos mecanismos indicados podem estar envolvidos na estabilização.

A literatura aponta como fatores que tendem a estimular a recristalização, a permanência de traços do fármaco cristalino na dispersão sólida, a umidade e a temperatura de armazenamento:

- A amorfização incompleta do fármaco e subsequente presença de traços de fármaco cristalino atua como agente de nucleação acelerando o processo de recristalização da estrutura amorfa. A completa transformação do fármaco para o estado amorfo parece ser um ponto importante na estabilidade física das dispersões sólidas (SHAMMA et al., 2013).

- A presença de água residual (umidade livre) pode ter um efeito plastificante reduzindo a Tg de sistemas amorfos, que favorece o aumento da mobilidade molecular e a recristalização (GRECO, 2012). A mobilidade molecular também exibe uma forte dependência da temperatura, sendo aconselhado o acondicionamento de sistemas amorfos em temperatura 50°C abaixo da Tg, visando limitar a mobilidade molecular e prolongar a estabilidade dos sistemas (SHAH et al., 2013).

O desenvolvimento de dispersões sólidas baseado na seleção adequada das matrizes poliméricas, na solubilidade e miscibilidade do fármaco com a matriz, e no controle dos parâmetros do processo de produção tem sido considerado um caminho promissor para obtenção de dispersões sólidas estáveis (HUANG; DAI, 2014).

3.5.4 Métodos de Preparação

Uma grande vantagem que se procura com dispersões solidas amorfas é obter e estabilizar um fármaco em seu estado amorfo e beneficiar de suas propriedades como melhor solubilidade e cinética de dissolução (Fig. 13). Dois tipos de sistemas podem ser obtidos: dispersões sólidas, quando o fármaco amorfo está disperso em quantidade superior à sua solubilidade na matriz e soluções sólidas, quando o fármaco encontra-se presente

molecularmente disperso na matriz, ou seja, em concentração inferior à sua solubilidade na matriz.

Figura 13 - Esquema representativo de um sistema de dispersão sólida formado a partir da associação de um fármaco cristalino e uma estrutura polimérica por processos diversos como fusão dos constituintes, mistura e resfriamento ou solubilização dos constituintes num solvente comum e evaporação do solvente.

Fonte: Autoria própria.

Vários métodos de preparação de dispersões sólidas têm sido relatados na literatura, mas basicamente os processos de produção podem ser classificados em métodos envolvendo a fusão dos constituintes, mistura e resfriamento ou solubilização dos constituintes num solvente comum e evaporação do solvente.

Nos métodos envolvendo o uso de solventes, uma solução contendo o fármaco e o polímero dissolvidos em um solvente é preparada e o solvente presente é eliminado em uma etapa posterior do processo (evaporação: *spray-drying*; sublimação: *freeze-drying;* ou ainda separação com uso de fluido supercrítico). Como produto, obtêm-se dispersões fármaco-polímero no estado sólido (PAUDEL et al., 2013). Uma das maiores vantagens do método com uso de solventes é que ele aumenta a capacidade de incorporação do fármaco na matriz como uma solução ou suspensão a temperaturas consideradas brandas, o que evita a sua degradação térmica (SRINARONG, 2011).

Os métodos que não envolvem o uso de solventes baseiam-se em processos de fusão, moagem ou uma combinação de ambos. Nos processos envolvendo fusão, o fármaco é incorporado na massa fundida (ele mesmo sendo levado à fusão) e, em seguida, a mistura é

resfriada ou solidificada. O sólido resultante é então submetido a um processo de redução do tamanho da partícula (moagem). A principal vantagem deste método é o não uso de solventes, no entanto os componentes da mistura devem ser miscíveis no seu estado fundido para garantir a homogeneidade do sistema (VO; PARK; LEE, 2013). Uma das grandes desvantagens do método de fusão é a possibilidade de degradação do fármaco quando exposto a temperaturas elevadas (160-230°C) geralmente necessárias à fusão da matriz polimérica e do fármaco se o objetivo é sua amorfização. O método mais representativo e utilizado atualmente é o de fusão-extrusão (HME ou *hot-melt extrusion*).

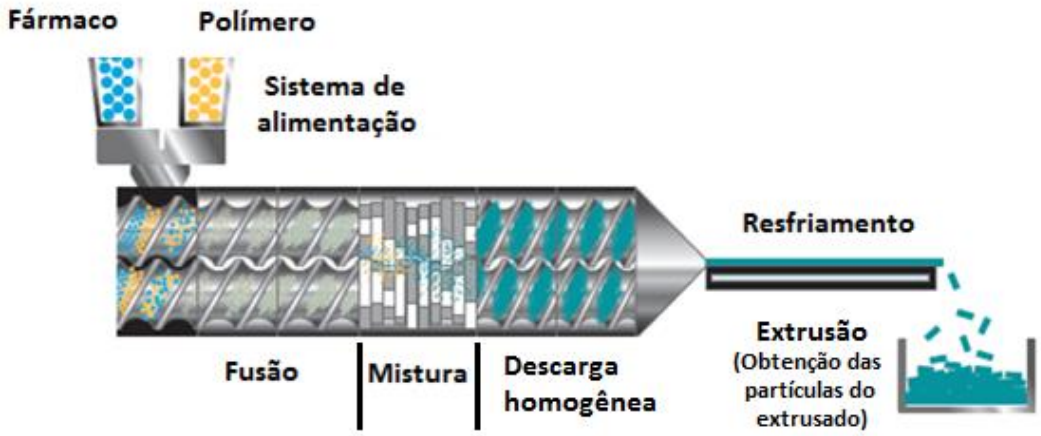
Outra alternativa para moléculas que não podem ser processadas por fusão ou por outros métodos solventes é chamada de **co-precipitação**. Nesse método, o fármaco e o polímero são solubilizados em um solvente orgânico e em seguida um anti-solvente é adicionado a esta solução de forma controlada (por exemplo, gota-a-gota e sob agitação constante), ocasionando a precipitação do complexo fármaco-polímero (PAUDEL et al., 2013). A suspensão formada é separada, geralmente por filtração a vácuo, lavada para remoção do solvente residual e seca a temperatura ambiente (NIKGHALB et al., 2012). A dispersão contendo o sistema fármaco-polímero é denominada pó a granel microprecipitado (MBP - *microprecipited bulk powder*), no qual o fármaco está uniformemente disperso no substrato polimérico (SARODE et al., 2013).

HME e *spray-drying* estão entre os métodos mais utilizados na preparação de dispersões sólidas, pois são passíveis do escalonamento de produção (HUANG; DAI, 2014). Estes métodos serão apresentados mais em detalhes nos próximos tópicos deste capítulo.

3.5.4.1 Método de fusão-extrusão (HME)

Neste método, o fármaco e o polímero são simultaneamente misturados, aquecidos, fundidos, homogeneizados e extrudados através de etapas sucessivas como ilustrado na Fig. 14, em uma extrusora de rosca dupla. A escolha de um molde adequado de saída permite a produção de diversas formas de dosagem sólidas como grânulos, pellets, comprimidos, hastes, ou partículas moídas, que podem sem associadas a outros excipientes para formulação de diferentes formas farmacêuticas.

Figura 14 - Representação esquemática de um processo de fusão-extrusão para produção de dispersões sólidas (extrusora de rosca dupla).



Fonte: Adaptado MANIRUZZAMAN et al., 2012.

É um método dependente das propriedades físico-químicas dos componentes da mistura e da miscibilidade destes no estado fundido. Os parâmetros de processo que podem influenciar na qualidade das dispersões sólidas produzidas (homogeneidade da mistura, estado sólido do fármaco) são:

- **Configuração de rosca**, composta de elementos de mistura e transporte da massa fundida, normalmente modulável e ajustável à reologia da massa fundida. Podem ser utilizadas roscas simples ou dupla, no entanto, a rosca dupla por promover melhor mistura, geralmente é a configuração utilizada na produção de dispersões sólidas;
- **Temperatura de processo**, geralmente regulável ao longo da rosca;
- **Velocidade da rosca**;
- **Vazão de alimentação dos constituintes da mistura**.

Além do fármaco e do polímero, esse sistema permite o uso de outros adjuvantes como modificadores de reologia (plastificantes) (VO; PARK; LEE, 2013).

O processo de fusão-extrusão oferece vantagens de ser contínuo, ter bom rendimento e ser de fácil escalonamento (DESHMUKH; KULAKRNI, 2012). No entanto, esta técnica também apresenta alguns inconvenientes como o uso de temperaturas elevadas para assegurar a fusão da matrix polimérica, o que limita a sua aplicabilidade em razão da estabilidade térmica do fármaco e da matriz. Além disso, o número de polímeros adequados ao processo ainda é limitado e as pressões elevadas utilizadas podem ocasionar degradação dos componentes da mistura.

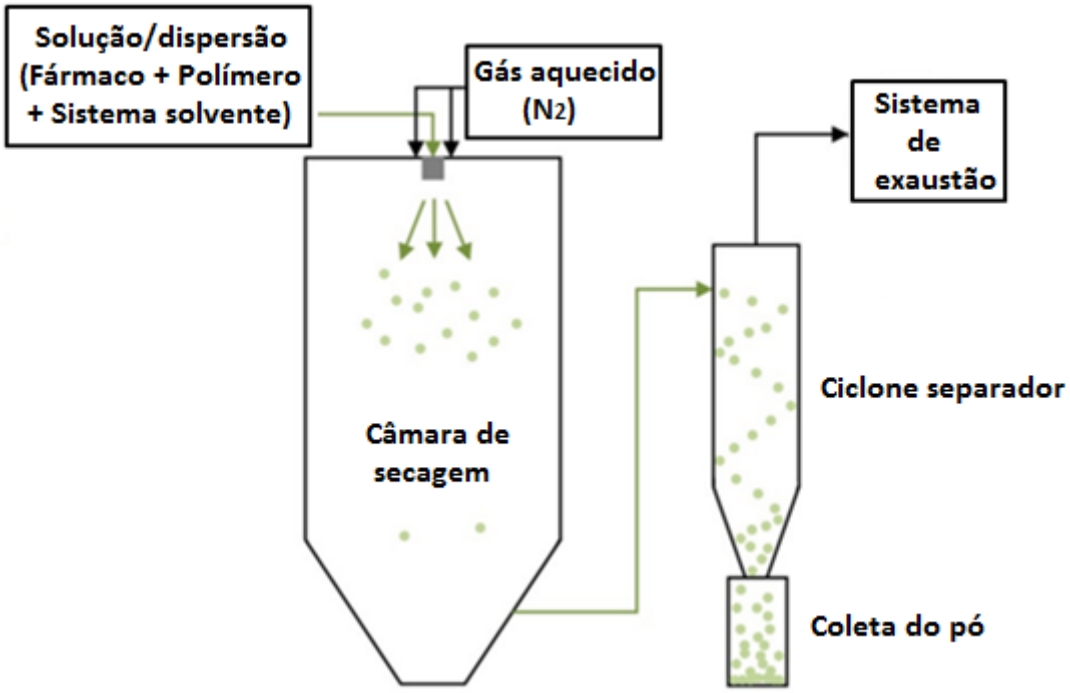
A literatura apresenta diversos estudos direcionados à obtenção de dispersões sólidas de fármacos Classe II como: efavirenz (YANG, GREY & DONEY, 2010), nimodipina (FU et al., 2011), ibuprofeno (ÖZGÜNEY et al., 2009) e indometacina (KHODAVERDI, et al., 2012; SARODE et al., 2013).

3.5.4.2 Secagem por atomização (*Spray-Drying*)

Spray drying é uma operação unitária de transformação de soluções ou suspensões em um produto sólido. Uma das características do processo é a evaporação extremamente rápida do solvente, que torna seu uso bastante interessante na obtenção de dispersões sólidas. Os fármacos em dispersões sólidas preparadas por *spray drying* geralmente estão no estado amorfo, o que é sugerido ser o principal fator para incremento da solubilidade e da taxa de dissolução. A técnica também apresenta como vantagens a obtenção reprodutível de partículas e a aplicabilidade tanto para materiais tanto sensíveis quanto resistentes à temperatura (RÉ, 2006).

Um esquema do processo de produção de dispersões sólidas por *spray-drying* pode ser visualizado na Fig. 15.

Figura 15 - Representação esquemática do funcionamento de um "*spray-dryer*".



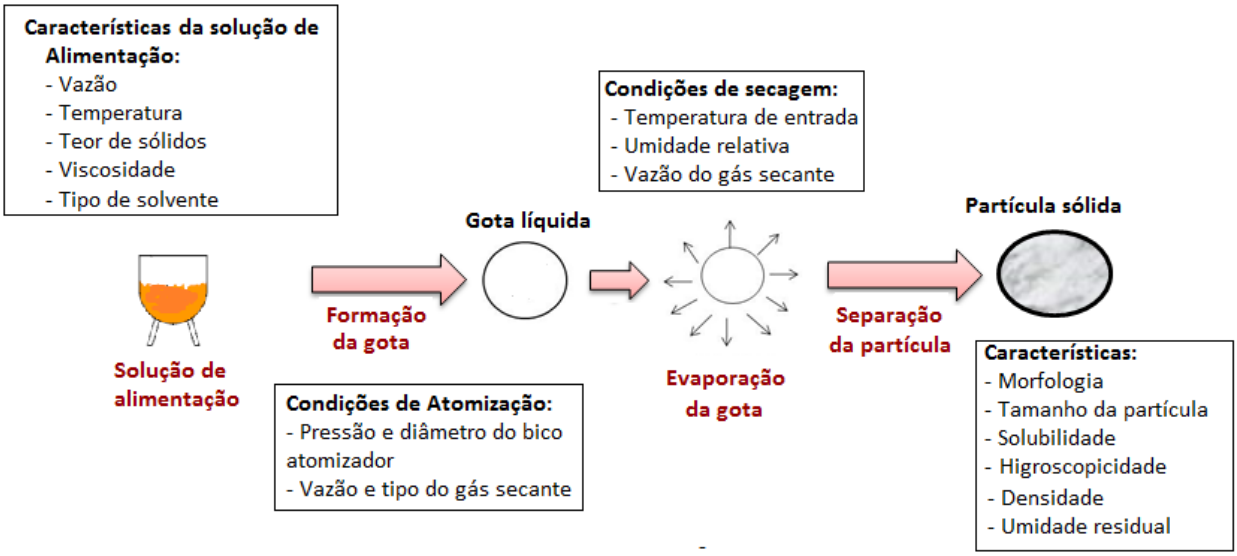
Fonte: Autoria própria.

O processo de atomização por *spray-drying* consiste em quatro etapas sequenciais: (1) atomização do líquido contendo a solução (sistema homogêneo) ou suspensão (sistema heterogêneo) que passa por um bico atomizador através de um sistema de bombeamento, (2) mistura deste líquido com o gás secante, (3) evaporação da umidade das gotas pelo contato com o ar aquecido e (4) formação das partículas secas sob condições de temperatura e fluxo de ar controlados. A última etapa do *spray-drying* é a coleta das partículas formadas por um equipamento de separação gás-sólido (um ciclone é geralmente utilizado). O tamanho das partículas sólidas obtidas da secagem por pulverização pode ser personalizada através da modulação do tamanho das gotas através do tipo do bocal (VO; PARK; LEE, 2013).

A técnica de *spray-drying* também possibilita o uso de um sistema de circuito fechado, que permite a atomização de soluções de alimentação contendo apenas solventes orgânicos, através da secagem com um gás inerte como o nitrogênio. Essa configuração permite a recuperação dos solventes com uso de condensador, evitando o risco de contaminação ambiental (PAUDEL, 2013).

Na técnica de *spray-drying*, a obtenção de partículas com a qualidade desejada está diretamente relacionada aos parâmetros do processo e as características da formulação (RÉ, 2006), como ilustrado na Fig. 16.

Figura 16 - Parâmetros do processo e da formulação que influenciam nas características da partícula.



Fonte: Adaptado de RÉ, 2006. Reproduzido com permissão.

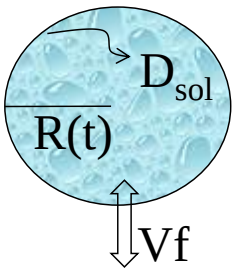
Dentre os parâmetros do processo, pode-se incluir a temperatura da solução de entrada, a vazão e temperatura do gás usado como veiculo de secagem (aporte de energia para a evaporação do solvente), a vazão de alimentação e as condições de atomização. Já as características das formulações a serem consideradas, envolvem a composição (IFA, matriz, solvente), o teor de sólidos, o tipo de solvente e a viscosidade da solução de alimentação (RÉ, 2006; PAUDEL, 2013).

A eficiência da atomização por *spray-drying* também depende da seleção do tipo e do tamanho do bico de atomização, que deve levar em consideração o processo de escalonamento, o perfil de evaporação do solvente e a distribuição do tamanho da gota.

Um dos parâmetros do processo que apresenta grande influência é a temperatura do gás de secagem, pois tem efeito determinante na estrutura interna da partícula resultante. A temperatura de entrada tem impacto direto na taxa de evaporação do solvente durante a secagem da gota, influenciando na morfologia, amorficidade e tamanho da partícula. A temperatura de saída, por sua vez, está diretamente ligada à temperatura de entrada e sua seleção deve levar em consideração aspectos da estabilidade físico-qúimica dos componentes da mistura, a fim de evitar a degradação térmica e de se obter níveis de recuperação do pó aceitáveis (PAUDEL et al., 2013).

A otimização da temperatura de entrada é essencial para manter o número de Peclet (Pe) e alcançar a temperatura de saída considerada adequada. O número de Peclet, **Pe** (Fig. 17), é um valor adimensional relevante no estudo de fenômenos de transporte em fluidos e pode ser usado para representar o efeito esperado nas variáveis em secagens por *spray-dryer:* temperatura de secagem e diâmetro do bico atomizador.

Figura 17 - Representação esquemática do número de Peclet.



Fonte: Adaptado de VEHRING, 2008. Reproduzido com permissão.

O número de Peclet estabelece um balanço entre efeitos convectivos e difusivos em uma gota submetida à evaporação, para a qual a energia é fornecida pelo ar secante:

$$Pe = V_f.R/D_{sol} \qquad \text{(Eq. 1.8)}$$

Onde:

V_f = velocidade de secagem (avanço do fronte de secagem);

R = diâmetro da gota,

D_{sol} = coeficiente de difusão dos constituintes da formulação líquida.

As variações de V_f, D_{sol} e R alteram características físicas das partículas formadas como tamanho, velocidade de secagem (aumento da capacidade de evaporação do processo e da difusão interna dos constituintes da formulação líquida com o aumento da temperatura do ar secante).

Quando *Pe* < 1, a velocidade de evaporação é lenta comparada à difusão dos componentes no interior da gota e seu tamanho e densidade variam gradualmente. Os constituintes da formulação tem tempo suficiente para se difundirem através da gota. Nestas circunstâncias, a partícula formada terá uma estrutura densa com uma densidade próxima à dos materiais que a constituem.

Quando *Pe* > 1, a velocidade de evaporação é muito rápida comparada aos efeitos internos difusivos e a superfície da gota atinge rapidamente a supersaturação crítica que leva à formação de uma crosta sólida. A partir dessa etapa, a difusão interna passa a ser controlada pela barreira física que a crosta representa e que reduz a velocidade de evaporação do solvente. Esta condição leva à formação de partículas maiores e de menor densidade.

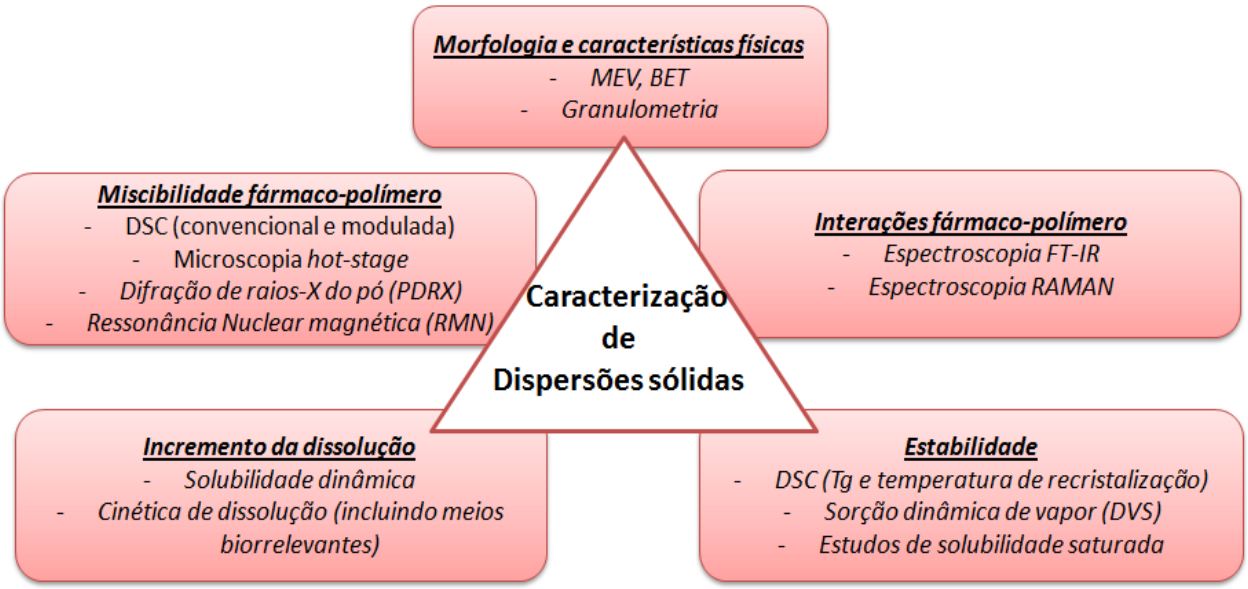
Um importante pré-requisito para o desenvolvimento de dispersões sólidas usando o método de *spray-drying* é que tanto o fármaco quanto a matriz sejam suficientemente solúveis em um solvente comum. Solventes que vem sendo utilizados na preparação de dispersões sólidas por *spray-drying* são etanol, metanol, acetato de etila, água e combinações entre estes solventes. Um solvente comum pode ser constituído de uma mistura de solventes a fim de conciliar uma boa solubilidade para ambos, fármaco e matriz. Exemplos de misturas já utilizadas: água e etanol (UCHIYAMA et al., 2010) ou álcool isopropílico e água (FAKES et al., 2009).

Polímeros hidrofílicos como derivados de celulose (HPMC, HPMCAS, HPMCP), polimetacrilatos (Eudragits) e polivinilpirrolidonas (Povidona, copovidona) são utilizados (FRIESEN et al., 2008).

3.5.5 Caracterização de dispersões sólidas

A natureza das dispersões sólidas amorfas e o risco inerente de recristalização requerem uma caracterização minuciosa destas estruturas. Diversas técnicas tem sido descritas na literatura, e geralmente empregadas de maneira associada, a fim de se obter um maior detalhamento das características estruturais destes tipos de formulações e da sua influência em propriedades funcionais como solubilidade e dissolução em meio aquoso. A Fig. 18 apresenta algumas técnicas analíticas utilizadas, baseado na característica que se deseja avaliar.

Figura 18 - Principais técnicas analíticas utilizadas para caracterização de dispersões sólidas.



Fonte: Autoria própria.

3.5.5.1 Solubilidade aparente

De uma maneira geral, as dispersões sólidas desenvolvidas a partir de fármacos Classe II tem a finalidade de melhorar a solubilidade e a cinética de dissolução em meio aquoso. A avaliação destes parâmetros *in vitro* pode fornecer informações sobre o nível de incremento, bem como o efeito relacionado ao tipo de polímero e concentração utilizada.

As metodologias utilizadas para determinação da solubilidade de um fármaco cristalino basicamente consistem de duas etapas fundamentais: saturação do solvente pelo soluto e quantificação do soluto presente por unidade do solvente no estado de saturação. Assim, o fármaco é adicionado em excesso ao meio, sob agitação e temperatura constante, até

que o equilíbrio seja atingido. Em seguida o fármaco dissolvido é filtrado e quantificado. O tempo para se alcançar o equilíbrio depende de cada molécula, e pode ser determinado através de quantificações sucessivas, até que se atinja um platô na concentração quantificada. Uma vez atingido esse platô, a fase dissolvida deve ser separada do soluto por filtração e/ou centrifugação. Após separação de fases, o sobrenadante límpido coletado é quantificado analiticamente (QIU et al., 2009).

Técnicas analíticas como a cromatografia líquida de alta eficiência, tem se mostrado como uma das mais importantes e eficientes para quantificação de moléculas durante a determinação da solubilidade, em virtude do aumento da especificidade. Nesta técnica, ocorre a detecção e separação de substâncias químicas, baseada na afinidade do soluto (fármaco) pela fase móvel ou pela fase estacionária, que permite que a molécula alvo seja distinguida de impurezas da síntese ou produtos de degradação gerados pelo contato com o meio solvente (QIU et al., 2009).

No caso de uma forma amorfa, acompanha-se no tempo a concentração de fármaco em solução que atingirá um valor máximo e depois decairá à medida que uma parte do fármaco em solução comece a recristalizar. Um platô num valor superior à concentração de saturação (efeito *parachute*) pode ser obtido no caso de dispersões sólidas amorfas (solubilidade aparente).

3.5.5.2 Dissolução

A dissolução pode ser definida como o processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica, tornando-se disponível para ser absorvido pelo organismo (OLIVEIRA et al., 2009). Através do ensaio de dissolução *in vitro*, pode-se avaliar a velocidade e a extensão de liberação do fármaco no meio em estudo. O resultado geralmente é expresso em porcentagem do fármaco dissolvido em um dado período de tempo.

Algumas variáveis podem interferir nos resultados de um ensaio de dissolução, tanto relacionadas às características do sólido a ser dissolvido, como as do meio de dissolução. Dentre os fatores que afetam os resultados de dissolução (DIAS, 2009), tem-se:

- ✓ **A solubilidade do fármaco**, fator que mais afeta a velocidade de dissolução;
- ✓ **A superfície livre das partículas**, relacionada ao diâmetro médio das partículas e a porosidade;
- ✓ **Velocidade de agitação do sistema**.

- ✓ **Temperatura e pH do meio de dissolução.**

O procedimento de realização do ensaio de dissolução *in vitro* deve garantir a manutenção das condições *sink*, que pode ser definida como não menos que três vezes o volume do meio necessário para obter a solução saturada do fármaco. Isto deve ser mantido para evitar que a velocidade de dissolução seja artificialmente influenciada pela aproximação de saturação durante a realização do teste. Condições *sink* são obtidas naturalmente *in vivo*. Assim, estudos de dissolução *in vitro* devem ser conduzidos obedecendo a esse parâmetro visando se aproximar ao máximo das condições de dissolução *in vivo* (OLIVEIRA, 2009).

Para o estudo de dissolução *in vitro* o uso de meios aquosos tamponados devem ser priorizados, no entanto, para os fármacos de baixa solubilidade aquosa, é permitido o uso de substâncias tensoativas para aumento da solubilidade destas moléculas (FDA, 1997).

Os compêndios oficiais recomendam para a realização dos testes de dissolução que as condições *sink* sejam mantidas e indicam também o uso de agentes surfactantes sintéticos em pequena quantidade para estabelecer as condições *sink* (FOTAKI et al., 2014). No entanto, há certa complexidade na avaliação da solubilidade e dissolução de sólidos amorfos tendo em vista sua tendência a recristalização ao entrar em contato com o meio aquoso. (BABU; NANGIA, 2011).

Resultados do estudo de dissolução podem ser utilizados como uma ferramenta na escolha do polímero adequado na preparação de dispersões sólidas. Pode-se considerar um polímero adequado àquele que possui, além da capacidade de aumentar a solubilidade e facilitar o processo de dissolução, a propriedade manter a solução supersaturada e influenciar na estabilidade física do sistema amorfo formado.

Condições não-*sink* são também usadas em estudos de dissolução de dispersões sólidas (TING et al., 2015) a fim de permitir a visualização dos eventos de supersaturação, nucleação e cristalização de novas formulações em solução. Desta forma, o potencial de uma dada associação fármaco-matriz pode ser avaliado em condições mais próximas de uma dissolução *in vivo* devido ao pequeno volume encontrado no trato gastrointestinal e aos maiores valores de concentração de fármaco que podem nele ser dissolvidos a partir de uma dispersão sólida (supersaturação).

3.5.5.3 Análise do Estado Sólido

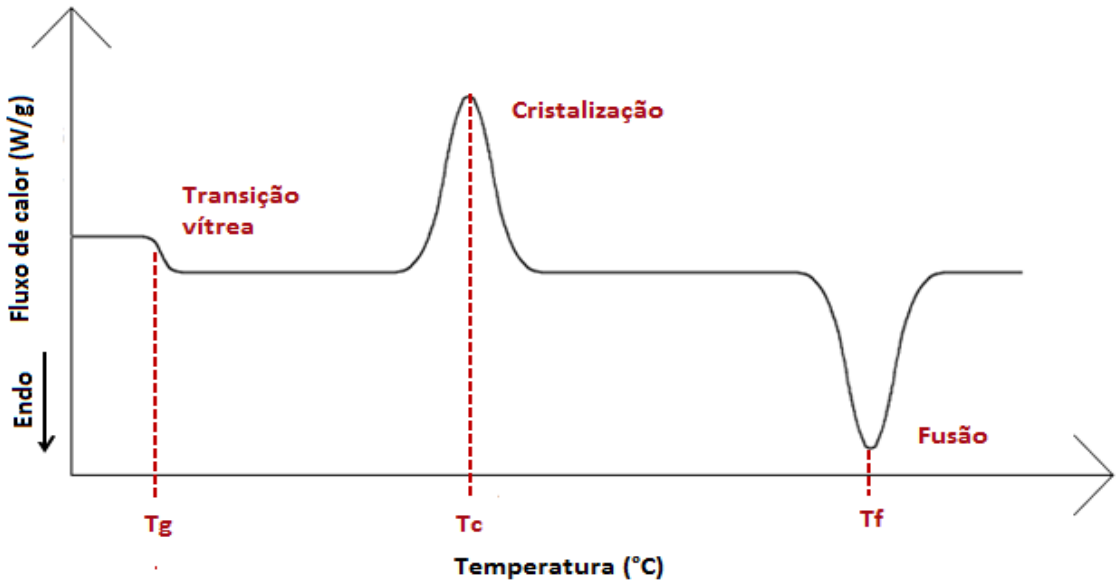
A avaliação das propriedades físico-químicas no estado sólido (cristalino ou amorfo) é de fundamental importância, na medida em que estas características influenciam diretamente a solubilidade, a dissolução e a estabilidade das dispersões sólidas.

3.5.5.3.1 Análise por DSC e mDSC

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) permite a visualização de fenômenos térmicos se produzindo em uma amostra quando esta é submetida a um aquecimento controlado (rampa de temperatura) e determina a temperatura na qual esses processos (transições ou reações química) ocorrem.

A Fig. 19 representa um difratograma típico obtido por DSC, no qual são identificados os fenômenos térmicos.

Figura 19 - Esquema representativo de termograma com os principais fenômenos térmicos relacionados às estruturas cristalinas e amorfas.



Fonte: Adaptado de GUÉ, 2013.

Estruturas cristalinas, ao serem aquecidas e atingirem uma temperatura específica (Tf), passam por uma transição de primeira ordem, a fusão, identificada no termograma Fig. 19 por um pico endotérmico. Já as estruturas amorfas, não apresentam uma temperatura de fusão, sendo caracterizadas pela presença de uma temperatura de transição vítrea (Tg), identificada no termograma também na Fig. 19 por um deslocamento da linha de base. Uma estrutura amorfa pode também recristalizar e o fenômeno é identificado por DSC (Tc).

A homogeneidade de uma dispersão sólida é um fator determinante para sua estabilidade. Uma única Tg, geralmente de valor intermediário à dos componentes puros da mistura, é considerada com um indicativo da homogeneidade da dispersão sólida em nível molecular, caracterizando um sistema de fase única. No entanto, se os compostos puros, apresentam um Tg próxima, a análise por DSC pode não apresentar a sensibilidade adequada para distinguir a presença de duas Tg, levando a um resultado falso-positivo em relação à homogeneidade do sistema (VAN DEN MOOTER, 2012). Dessa forma, para que as Tg de dois compostos sejam detectadas separadamente, elas devem apresentar uma diferença entre elas de no mínimo 10°C (MENG et al., 2015).

A análise por DSC permite a utilização de dois modos de operação, onde o mais comum e utilizado é considerado o modo padrão no qual há um aumento da temperatura, à qual a amostra é submetida, de modo linear. No entanto, para alguns sistemas o DSC padrão não é a técnica de medida ideal, como por exemplo, a verificação de Tg de algumas estruturas poliméricas. Neste caso, utiliza-se a DSC modulada (mDSC – *modulate differential scanning calorimetry)*, onde o aumento da temperatura ocorre de maneira sinusoidal. Para realização deste tipo de medida, um software é acoplado ao DSC convencional, permitindo a separação do sinal de fluxo de calor total em:

- fluxo de calor reverso (*reversing*): que representa os fenômenos relacionados a composição cinética;

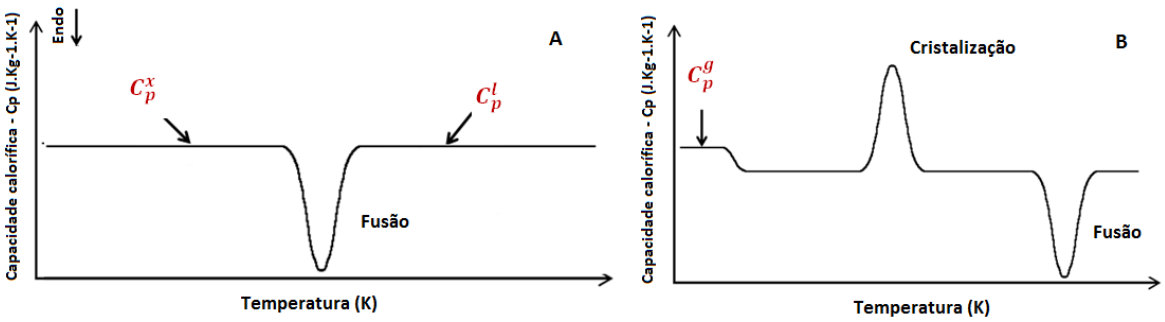
- fluxo de calor não reverso (*non-reversing)*: que representa os fenômenos relacionados à capacidade calorífica da amostra.

Desta forma, eventos com transições sobrepostas e de natureza diferenciada podem ser separados, aumentando a sensibilidade e resolução da análise térmica (BAIRD; TAYLOR, 2012).

A capacidade calorífica de uma amostra é a quantidade de calor necessário que deve ser fornecido a uma unidade de massa da substância para aumentar a sua temperatura em 1K. É expressa em $J.kg^{-1}.K^{-1}$, e pode ser obtida através da análise por DSC ou mDSC. A

determinação da capacidade calorífica de substâncias cristalinas deve ser obtida a partir de amostras puras, 100% cristalinas. Para essas amostras, a capacidade calorífica a pressão constante, é medida antes da endoterma de fusão do composto cristalino (C_p^x), e após a endoterma de fusão para composto líquido fundido C_p^l (Fig. 20a). Para as amostras amorfas, a capacidade calorífica deve ser medida antes da transição vítrea (Fig. 20b), pois com o aumento continuo da temperatura, a amostra tende a se recristalizar e em seguida se fundir; no entanto, não se pode assegurar que 100% da amostra foi recristalizada.

Figura 20 - Medidas das capacidades caloríficas: (a) para o estado cristalino; (b) para o estado amorfo.



Fonte: Adaptado de GUÉ, 2013.

A técnica de DSC tem se mostrado adequada para o estudo de compatibilidade dos componentes das dispersões sólidas e na avaliação da estabilidade das formulações (OLIVEIRA, 2011), sendo capaz de detectar eventos térmicos relacionados à recristalização do sistema.

3.5.5.3.2 Difração de Raios-X

A difratometria de raios-X é considerada uma ferramenta indispensável na caracterização de dispersões sólidas em razão da capacidade de identificação do estado amorfo ou cristalino (BAGHEL et al., 2016). Baseia-se na propriedade intrínseca de cada cristal em desviar, em um ângulo específico, a direção dos raios X emitidos sobre ele. O ângulo de desvio da radiação é único para cada forma do cristal permitindo assim caracterizá-lo. A denotação matemática deste desvio é descrita pela lei de Bragg (CUFFINI, PITALUGA JR e TOMBARI, 2009):

$$n\lambda = 2d\text{sen}\ \theta \qquad \text{(Eq.1.8)}$$

Onde, *n* corresponde a ordem de difração, λ ao comprimento de onda da radiação incidente, *d* ao espaço interplanar do cristal e θ ao ângulo de difração. A radiação difratada é representada graficamente pela intensidade do sinal no eixo da ordenada e pelo ângulo de espalhamento (2θ) na abcissa.

Em razão do ordenamento molecular, as substâncias cristalinas são capazes de difratar os raios-X incidentes na estrutura do cristal, o que ocasiona a formação de picos finos e alongados. Esse padrão é bem diferente do obtido para substâncias amorfas, onde não se evidência a formação de picos e sim, a presença de um halo difuso, consequência da ausência do ordenamento molecular (SHAH et al., 2006).

A aplicação desta técnica, considerada de simples execução, se estende aos estudos de estabilidade das dispersões sólidas amorfas, pois é capaz de identificar qualitativamente os picos de difração que surgem em decorrência do processo de recristalização da estrutura amorfa (LAITINEN et al., 2014).

3.5.5.3.3 Técnicas Espectroscópicas de Infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e RAMAN

Técnicas espectroscópicas vibracionais são excelentes métodos para a identificação de substâncias, pois através delas pode se obter espectros de impressão digital (*fingerprint)* que são específicos para cada substância.

A espectroscopia RAMAN e Infravermelho (IR) são técnicas baseadas na mesma origem física: na medida da energia de vibração das ligações entre os átomos de uma molécula (MENG et al., 2015). O IR baseia-se na absorção, reflexão e emissão da luz, e o RAMAN tem base no fenômeno de espalhamento da luz (PATEL; MEHTA, 2010), sendo consideradas técnicas complementares. Ambas tem sido frequentemente utilizadas para estudar interações fármaco-polímero, pela efetividade e rapidez na obtenção dos resultados.

A esperctroscopia de FT-IR permite identificar a presença de interações moleculares específicas intercompomentes como interações eletrostáticas, pontes de hidrogênio, interações dipolar e força de v*an der Walls* (na ordem decrescente de força). Interações são comumente consideradas um pré-requisito para se obter a miscibilidade fármaco-polímero e a inibição da cristalização de estruturas binárias como as dispersões sólidas amorfas (KALOGERAS, 2011). As interações mais fortes tendem a aumentar a capacidade do polímero em dissolver a estrutura cristalina do fármaco e, consequentemente, uma maior miscibilidade entre os

componentes da mistura é obtida (AL-OBAIDI et al., 2013a). Os sinais de qualquer interação podem ser refletidos pelo deslocamento ou alargamento de bandas, desaparecimento de picos ou alteração da intensidade quando comparados ao espectro do fármaco e polímeros puros (HONG, 2009).

A espectroscopia RAMAN oferece a vantagem em relação ao IR de, a partir dos espectros das substâncias, fornecer informações quimicamente detalhadas da distribuição espacial dos constituintes da amostra. Ao ser acoplada a microscopia, pode-se obter imagens químicas de alta resolução da distribuição espacial dos componentes da amostra através do mapeamento RAMAN (TRES et al., 2014).

Tem sido demonstrado que a identificação de uma única Tg, por análise de DSC, pode não ser indicativo de uma dispersão sólida homogênea. Dessa forma, o uso do RAMAN permite a observação direta da dispersão sólida, identificando a composição local da amostra e se há a formação de domínios cristalinos (QIAN et al., 2007; QIAN et al., 2010).

3.5.5.3.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica importante na análise preliminar das formas sólidas. É utilizada para obtenção de imagens tridimensionais de alta resolução, que permitem evidenciar caraterísticas sobre a morfologia de superfície de amostra de pós. Permite também uma avaliação da homogeneidade da amostra e do tamanho das partículas (BERNARDI, 2013).

A técnica baseia-se na emissão de feixes de elétrons, proveniente na maioria das vezes, da aplicação de diferença de potencial num filamento de Tungstênio, que vão interagir com a superfície do material a ser analisado, que em resposta produzem elétrons secundários que serão detectados formando a imagem da micrografia (ANINA et al., 2007).

3.5.5.3.5 Espectrometria de Energia Dispersiva De Raios-X – EDS

A microscopia eletrônica de varredura pode ser associada à técnica de análise da energia dispersiva de raios-X (EDX), permitindo a identificação química elementar de algumas estruturas, técnica conhecida como mapeamento EDX. Além da imagem convencional por MEV, o mapeamento EDX fornece uma imagem significativa da determinação espacial de alguns elementos químicos presentes na amostra.

Esta técnica baseia-se na detecção de raios-X característicos emitidos por determinado elemento químico, como resultado da excitação de um feixe de elétrons de alta energia. O feixe de elétrons normal de um microscópio eletrônico de varredura funciona como fonte de excitação. Em virtude da quantização dos níveis de energia dos elétrons, as energias de raios-X característicos emitidos para os elementos químicos serão diferentes de um elemento para o outro. Portanto, esta radiação é capaz de informar sobre a composição elementar da superfície da amostra (NEWBURY, 2013).

Tem sido uma técnica largamente aplicada na ciência, engenharia e tecnologia, por ser não destrutiva e relativamente rápida. Elementos químicos com número atômico superior ao Carbono (C) são capazes de serem detectados por este método.

3.5.5.4 Higroscopicidade

A higroscopicidade é um importante critério a ser considerado no desenvolvimento de dispersões sólidas amorfas, pois o uso de polímeros hidrofílicos aumenta a afinidade da estrutura por moléculas de água, que por sua vez, tem efeito plastificante, reduzindo a Tg das dispersões sólidas e aumentando a mobilidade molecular, podendo dessa forma, induzir o processo de recristalização (VO; PARK; LEE, 2013).

A Sorção Dinâmica de Vapor (DVS) tem sido utilizada para estudo de partículas amorfas ou com certo grau de amorficidade, como forma de verificar o efeito da umidade nestes sistemas (GRECO et al., 2012). Os estudos de DVS são conduzidos a uma temperatura controlada e baseiam-se em uma variação dinâmica de umidade, onde é medido o ganho em massa da partícula de acordo com a adsorção de vapor de água (sorção) e o efeito reverso durante a dessorção. A extensão da sorção e dessorção da água é relacionada com o conteúdo amorfo da amostra e permite a verificação da influência da umidade na recristalização de sistemas amorfos (SHAH et al., 2006).

3.5.5.5 Estabilidade

A dispersão de fármacos no estado amorfo em nível molecular em dispersões sólidas torna estes sistemas termodinamicamente instáveis e, portanto, sensíveis à ação da umidade e temperatura na qual são armazenados. O estudo da estabilidade de dispersões sólidas geralmente é realizado em condições ditas aceleradas, onde as amostras são submetidas a

valores de temperatura e umidade relativa (UR) relativamente elevados, a fim de evidenciar em um menor tempo possíveis alterações no seu estado amorfo e em condições normais de armazenamento.

A avaliação da estabilidade deve ser realizada por técnicas analíticas capazes de verificar mudanças na estrutura molecular das dispersões, como alteração da distribuição do fármaco, separação de fases e recristalização. O comportamento da cristalização de sólidos amorfos pode ser verificado através de técnicas como DSC, DRX e RAMAN.

A instabilidade física de dispersões sólidas devido à recristalização de fármacos tem sido objeto de estudo da maioria das publicações envolvendo dispersões sólidas. TIAN e colaboradores (2014) compararam o efeito da temperatura e da umidade relativa na estabilidade física de dispersões sólidas de cinarizina e Soluplus® e verificaram que estes dois fatores tem efeitos comparáveis sobre a estabilidade do sistema, quando submetidos a condições de *stress*, principalmente nas dispersões de maior concentração polimérica.

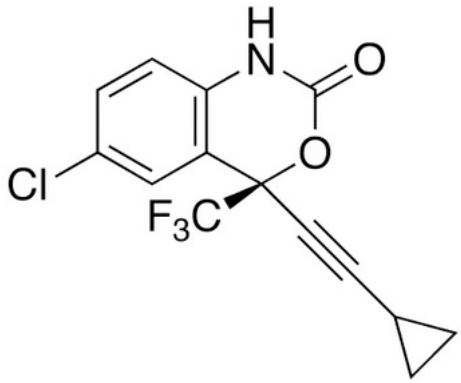
SONG e colaboradores (2015) avaliaram a estabilidade de dispersões sólidas do fármaco Lapatinibe com os polímeros HPMCAS, HPMCP, PVPVA e Soluplus® armazenadas a 40°C/75% UR. Os resultados obtidos indicaram que os polímeros HPMCAS e HPMCP inibiram efetivamente a recristalização do fármaco, enquanto que o Soluplus® e o PVPVA, apresentaram comportamento contrário.

O conhecimento da estabilidade do fármaco e da matriz carreadora dos sistemas de dispersão sólidas é parâmetro indispensável, tendo em vista que alterações nas propriedades estruturais e recristalização vão influenciar diretamente a solubilidade e o comportamento de dissolução do fármaco.

3.6 Efavirenz: Fármaco de Classe II SCB

O fármaco de interesse deste trabalho é o Efavirenz (EFV). Sua fórmula molecular é $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ (315,68 g/mol) e sua estrutura química é dada na Fig. 21. É uma molécula lipofílica, com solubilidade aquosa inferior à 10 µg/mL à 25°C (4 µg/mL segundo Chiappetta et al., 2011; 9,2 µg/mL de acordo com Rowe et al., 1999). Apresenta biodisponibilidade oral de cerca de 40-45% (CHIAPPETTA et al., 2010a), com variabilidade intra e inter-indivíduo de 55-58% e 19-24%, respectivamente, sendo classificado como uma molécula Classe II pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (AMIDON *et al.* 1995), que agrupa as moléculas com características de baixa solubilidade em água e alta permeabilidade intestinal.

Figura 21 - Estrutura química do Efavirenz



Fonte: Adaptado de RADESCA et al., 1999.

É um antirretroviral inibidor da transcriptase reversa não análogo de nucloesídeo (ITRNN), usado em combinação com outros agentes antirretrovirais para o tratamento da infecção pelo HIV-1 em crianças e adultos (MONTGOMERY et al., 2001).

A dose oral recomendada é de 600mg, administradas uma vez ao dia. Apresenta estreita janela terapêutica, cujo monitoramento terapêutico é recomendado para prevenir efeitos colaterais e a descontinuação do tratamento (CHIAPPETTA et al., 2010a).

O EFV apresenta-se na forma cristalina, descrito com pelo menos 6 diferentes polimorfos (RADESCA et al.,1999) - patente WO 99/6445 (DU PONT, 1999). Segundo esta patente, o processo de cristalização tem grande influência na forma polimórfica obtida. Segundo dados da literatura (DU PONT, 1999), a Forma I é caracterizada por ser a mais estável termodinamicamente, com faixa de fusão entre 138º e 140ºC. Atualmente, esta é a forma comercializada para produção de medicamentos.

Por ser um fármaco anti-HIV de primeira escolha de acordo com a terapia antirretroviral de alta eficiência (HAART), diferentes estratégias tem sido investigadas na tentativa de melhorar a sua solubilidade aquosa visando estudos que se dispõem ao incremento da sua biodisponibilidade e redução na variabilidade de absorção entre os quais se destaca:

- Formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas na presença de PVP (CHADHA et al., 2012), PVPK30 e polaxamer 407 (LAMBA; CHOWDARY, 2012);
- Encapsulação em micelas poliméricas (CHIAPPETTA et al., 2010b) (CHIAPPETTA et al., 2010a), (CHIAPPETTA et al., 2011);
- Nanonização por moagem (NOWACEK et al., 2011);
- Co-micronização com aditivos (LSS e PVP) (DA COSTA et al., 2013);

- Liofilização de nanocristais com aditivos (LSS e PVP) (PATEL et al., 2014);

A abordagem de formulações de EFV sob a forma de dispersões sólidas tem sido uma área de pesquisa também explorada, com diversos tipos de matrizes e técnicas de produção. Entre as técnicas relatadas tem-se: Fusão-extrusão ou HME (KOLHE; CHAUDHARI; MORE, 2013; SATHIGARI et al., 2012), evaporação de solvente (ALVES et al., 2014; KATATA et al., 2012; MADHAVI et al., 2011); *kneading* (malaxagem) (ALVES et al., 2014) ou ainda por solubilização micelar do fármaco com o uso de polímeros como polaxaminas (CHIAPPETTA et al., 2011).

Em relação às matrizes utilizadas, estudos foram relatados com os polímeros PVP K30 (ALVES et al., 2014), PVPK30 em associação a Ciclodextrina (VIEIRA et al., 2015), Eudragit EPO e Plasdone S-630 (SATHIGARI, et al., 2012) e amidos modificados (LAMBA; CHOWDARY, 2012). O número de trabalhos indica o grande interesse no IFA Efavirenz.

No entanto, apesar dos progressos obtidos, ainda considera-se um desafio à obtenção de dispersões sólidas a base de EFV com miscibilidade a nível molecular e estabilidade do estado amorfo, que favoreçam o incremento da solubilidade aparente e controle da cinética de dissolução e possam ser incorporadas em formas farmacêuticas de uso oral para obtenção de uma biodisponibilidade adequada, com menor variabilidade.

3.7 Matrizes Poliméricas Selecionadas

Dispersões sólidas geram soluções supersaturadas do fármaco que quando exposto ao meio aquoso do TGI tendem a cristalizar antes que ocorra o fenômeno de absorção. Uma variedade de matrizes poliméricas tem sido avaliadas em relação as suas capacidades de prolongar essa supersaturação e inibir de forma eficiente a recristalização (HUANG; DAI, 2014). Portanto, a escolha da matriz que será associada ao fármaco é um dos parâmetros-chave para a obtenção de dispersões sólidas com solubilidade, cinética de liberação e estabilidade adequadas.

A matriz pode ser selecionada a partir de polímeros sintéticos, como polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicol (PEG) e os polimetacrilatos; a partir de derivados da celulose, como etilcelulose, metilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e suas modificações HPMCAS (hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato), HPMCP

(hidcroxipropilmetilcelulose ftalato). Mais recentemente, os copolímeros, obtidos a partir da associação de duas ou mais estruturas poliméricas passaram a ser utilizados (KALRA, 2011).

Para desenvolvimento de dispersões sólidas utilizando como matriz estruturas poliméricas, a escolha do polímero deve ser feita com base em algumas características, tais como (PAUDEL et al., 2013):

- Temperatura de transição vítrea (Tg);
- Natureza do polímero (aniônico/catiônico) e presença de grupos funcionais;
- Higroscopicidade;
- Segurança e toxicidade;
- Solubilidade em solventes orgânicos (método por evaporação de solvente);
- Estabilidade físico-química e térmica (método por fusão);
- Compatibilidade com o fármaco;
- Doadores ou receptores de H^+.

Tabela 2 - Características dos polímeros selecionados para o desenvolvimento das dispersões sólidas do fármaco EFV por *spray-drying*.

Polímero	**Peso molecular (Da)**	**T_g (°C)**	**N° de grupos Doadores de H^+ (H_D) Aceptores de H^+ (H_A)**	**Higroscopicidade**
Soluplus®	90.000 – 140.000 (x = 115.000)	~70	H_D = 0 H_A = 3	Absorve cerca de 30% de água quando exposto a UR >80%. < 5% em temperaturas de 20 a 40°C.
HPMCAS	55.000 – 90.000 (x = 72.500)	~120	H_D = 0 - 6 H_A = 10 – 28 (Depende do grau de substituição)	Higroscópico e suscetível à hidrólise se exposto à umidade. Capaz de absorver umidade do ar.
PVPVA64	45.000-70.000 (x = 57.500)	106	H_D = 0 H_A = 2	<10% em ambiente com 50%UR.

Fonte: Autoria própria.

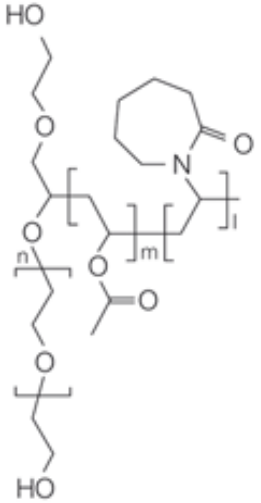
Para este estudo foram selecionados os seguintes polímeros: Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS, que serão apresentados nos itens 3.7.1, 3.7.2 e 3.7.3, respectivamente. As características desses polímeros em relação as suas estruturas químicas, peso molecular, temperaturas de transição vítrea, presença de grupos doadores/aceptores de prótons e higroscopicidade estão descritos resumidamente na Tabela 2.

3.7.1 Soluplus®

Soluplus® é um copolímero solúvel em água obtido pela polimerização tipo *graft* de polivinilcaprolactama (PCL), polivinlacetato (PVA) e polietilenoglicol (PEG), bastante utilizado para o incremento de solubilidade de fármacos com baixa solubilidade aquosa (LINN, 2011).

É formado por uma cadeia principal hidrofílica de polietilenoglicol e cadeias laterais de polivinil-caprolactama e polivinilacetato que constituem a parte lipofílica, apresentando, portanto, propriedades anfifílicas (SHAMMA; BASHA, 2013), como mostrado na Fig. 22.

Figura: 22 - Estrutura do copolímero Soluplus®



Fonte: Adaptado de THORSTEN, 2013.

Soluplus® possui comportamento surfactante funcionando como uma matriz polimérica para soluções sólidas e agente solubilizador de fármacos de baixa solubilidade aquosa, sendo considerado como um membro da quarta geração na produção de dispersão sólida devido a este caráter bifuncional e ao poder solubilizante através da formação de

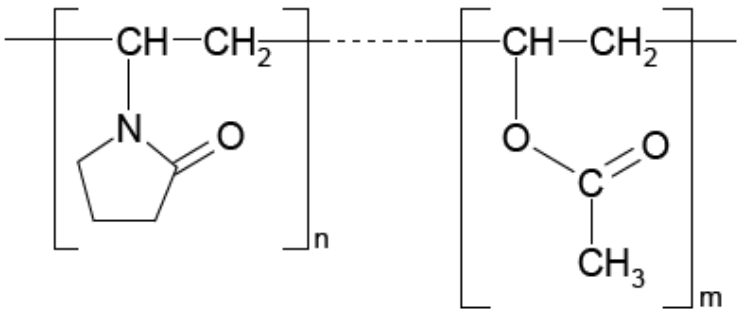
micelas ao entrar em contato com a água (SHAMMA; BASHA, 2013). O fármaco lipofílico tende a ficar no interior da micela formada após o contato com o meio aquoso, evitando assim sua cristalização. Por ser um polímero hidrofílico e não iônico, sua solubilidade não muda ao longo do trato gastrointestinal (TGI).

Soluplus® apresenta característica amorfa e boa estabilidade térmica (DJURIS et al., 2013). A temperatura vítrea descrita na literatura é cerca de 70°C, com massa molecular entre 90.000 e 140.000 $g.mol^{-1}$ (REINTJES et al., 2011) Apresenta biodisponibilidade oral inferior a 1%, não sendo praticamente absorvido pelo TGI e sendo excretado após cerca de 72h (THORSTEN, 2013). O uso deste polímero na produção de dispersões sólidas por *spray-drying* tem sido objeto de publicações científicas formulando fármacos como Celecoxib (HOMAYOUNI et al., 2015), Carvedilol (SHAMMA; BASHA, 2013) e Cetoprofeno (CHAN et al., 2015).

3.7.2 PVPVA 64

PVPVA 64 (Kollindon®VA64) é um copolímero produzido a partir da polimerização entre n-vinilpirrolidona, que é o monômero solúvel em água, e vinilacetato, monômero lipofílico, na proporção 6:4 (Figura 23).

Figura 23 - Estrutura do copolímero PVPVA



Fonte: Adaptado de SONG et al., 2015.

Um dos seus principais usos na indústria farmacêutica tem sido como excipiente (ligante) em processos de granulação úmida. Devido a sua temperatura de transição vítrea (Tg = 106°C) e sua termoplasticidade, foi introduzido como carreador poliméricos em processos de HME, tendo se mostrado compatível com um grande número de fármacos na produção de

dispersões sólidas (SONG et al., 2013; TOMINAGA, 2013) por HME mas também por *spray-drying* (CHAN et al., 2015; JANSSENS et al., 2008; SONG et al., 2015). Apresenta efeito solubilizante, dispersante e inibidor da cristalização, com bons resultados no incremento da cinética de dissolução e boa estabilidade física (WEUTS et al., 2004).

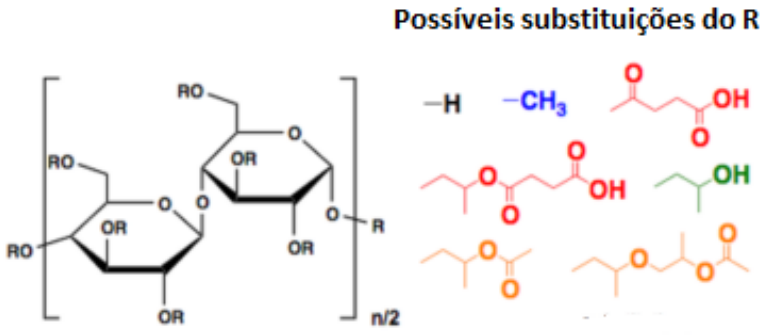
A seleção do polímero PVPVA64 baseou-se na sua capacidade de manter uma solução supersaturada dos fármacos no trato gastrointestinal e inibir a cristalização destas moléculas, incrementando a cinética de dissolução de moléculas hidrofóbicas e permitindo dessa forma a absorção adequada (HUANG; DAI, 2014).

No entanto, um cuidado deve ser tomado devido à possibilidade de desenvolvimento de sistemas viscosos podendo modificar de maneira indesejada uma cinética de liberação (GUÉ, 2013).

3.7.3 HPMCAS

Acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS), cuja estrutura química está representada na Fig. 24, é um derivado da celulose com substituições: metoxil, hidroxipropil, acetil e succinoil na base celulósica. Possui massa molecular média de 18.000g/mol e é solúvel em misturas hidroalcoólicas (20:80 e 50:50) e solventes clorados, não sendo solúvel em etanol puro.

Figura 24 - Estrutura do polímero HPMCAS



Fonte: Adaptado de SONG et al., 2015**.**

A notoriedade do uso dos polímeros derivados da celulose está associada à natureza não tóxica, biocompatibilidade e biodegradabilidade e à pequena influência das variáveis de processamento sobre a liberação do fármaco (GHOSH et al., 2011). O HPMCAS foi

inicialmente desenvolvido para aplicação como revestimento entérico e em formas farmacêutica sólidas de liberação sustentada.

Apresenta algumas propriedades que tornam seu uso adequado na preparação de dispersões sólidas como a alta temperatura de transição vítrea, na ordem de 120°C e sua natureza anfifílica, que permite a interação de moléculas de baixa solubilidade aquosa com a região hidrofóbica de sua estrutura, enquanto a parte hidrofílica permite a formação de estruturas coloidais hidratadas e estáveis no meio aquoso (ROBERTS et al., 2011).

Adicionalmente, quando comparado a outros polímeros, apresenta baixa higroscopicidade, o que faz com que dispersões sólidas amorfas obtidas a partir deste polímero tenham uma baixa adsorção de moléculas de água, fato que contribui para sua estabilidade física. Também tem sido relatada sua capacidade de inibir a precipitação de moléculas, prolongando a supersaturação de soluções do fármaco no TGI (HUANG; DAI, 2014).

Por ser um polímero entérico, dependente de pH, a biodisponibilidade pode ser melhorada pela prevenção da cristalização ou degradação ácida dos fármacos pelo suco gástrico (TANNO et al., 2004).

HPMCAS é capaz de formar sistemas amorfos com fármacos, como já relatado em trabalhos prévios. A título de exemplo podem ser citados os estudos envolvendo os fármacos Nifedipino (TANNO et al., 2004), Griseofulvina (AL-OBAIDI et al., 2013b), Danazol, Fenitoína (TING et al., 2015), com uma nova molécula BMS-A (QIAN et al., 2012) e com os flavonoides Naringenina e Quercetina (WEGIEL et al., 2014).

Três tipos de HPMCAS são atualmente disponíveis comercialmente: H, L e M, diferindo em razão da quantidade de grupamento acetil e succinoil presentes. Essa diferença pode influenciar na extensão da interação com o fármaco através da formação de pontes de H^+ (AL-OBAIDI; BUCKTON, 2009). No presente trabalho de tese foi utilizado o HPMCAS HG, que contém 12% de grupamento acetil e 6% de succinoil.

A Tabela 3 reúne alguns dos estudos descritos na literatura realizados com os três polímeros selecionados neste estudo (Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS) para o desenvolvimento de dispersões sólidas amorfas com o fármaco Efavirenz. Os estudos apresentados na referida tabela restringiram-se aos que utilizaram técnicas de produção de dispersões sólidas por fusão, *hot melt extrusion,* e por evaporação de solvente, *spray-drying*.

Tabela 3 - Exemplos de fármacos utilizados para produção de dispersões sólidas através do uso da técnica de *hot melt extrusion* e *spray-drying*.

POLÍMERO	FÁRMACO	MÉTODO		REFERÊNCIA
		SD	HME	
PVPVA	Cetoprofeno	x		(CHAN et al., 2015); (GUÉ, 2013)
	Nifedipino	x	x	(TOMINAGA, 2013)
	Lapatinibe	x		(SONG et al., 2015)
	Felodipino		x	(SONG et al., 2013)
HPMCAS	Griseofulvina, Fenitoína e Nifedipino	x		(CURATOLO et al., 2009)
	Itraconazol	x		(BHARDWAJ et al., 2014)
	Griseofulvina	x		(AL-OBAIDI et al., 2013b)
	Carbamazepina*		x	(ALSHAHRANI et al., 2015)
	Indometacina, Geiseofulvina e Itraconazol		x	(SARODE et al., 2013)
	Nifedipina	x	x	(TOMINAGA, 2013)
Soluplus®	Carvedilol	x	x	(SHAMMA; BASHA, 2013)
	Carbamazepina*		x	(ALSHAHRANI et al., 2015); (DJURIS et al., 2014)
	Fenofibrato, Danazol e Itraconazol		x	(LINN, 2011)
	Celecoxib	x		(HOMAYOUNI et al., 2015)
	Posaconazol		x	(FULE; AMIN, 2014)
	Efavirenz		x	(DESMUKH et al., 2011)

*DS com polímeros HPMCAS e Soluplus® em associação

Fonte: Autoria própria.

3.8 Proporção Fármaco-Matriz

Vários aspectos determinam o efeito da composição de uma dispersão sólida amorfa em sua estabilidade física. Primeiramente, a distância que separa as moléculas do fármaco depende da quantidade destas moléculas na formulação (menor teor do fármaco, maior distância a ser percorrida pelas moléculas para chegar a uma separação de fases). Segundo, menores teores do fármaco minimizam o risco de exceder a sua solubilidade no polímero em fase sólida (CHARUMANEE et al., 2004). Uma concentração de fármaco na dispersão sólida maior que a sua solubilidade na matriz representa uma força potencial para uma separação de fases. Em terceiro lugar, a temperatura de transição vítrea (Tg) de uma dispersão sólida homogênea é função da composição (ver Equação 1.7 apresentada em 3.5.3.1.2.).

Quando o fármaco tem uma Tg menor que a da matriz, uma concentração importante de sua molécula reduz a Tg da mistura aumentando o risco de separação de fases. E finalmente, se interações entre o fármaco e a matriz contribuem para uma melhor estabilidade física do sistema. Dessa forma, concentrações menores do fármaco são preferíveis para privilegiar as interações fármaco-matriz em detrimento das interações fármaco-fármaco. Todos estes argumentos levam à escolha de composições contendo teores não muito elevados da molécula ativa a fim de promover a estabilidade física da dispersão sólida formada..

Por outro lado, um teor elevado do fármaco pode reduzir a higroscopicidade da dispersão sólida e ser mais adequada para uma preparação subsequente de composições farmacêuticas convencionais à base destes sistemas (cápsulas, comprimidos, etc.). O fármaco sendo geralmente de natureza hidrofóbica é menos higroscópico que a matriz. Assim ao se apresentar molecularmente disperso no sistema, reduz o teor de água que pode ser absorvido/adsorvido quando a dispersão solida é exposta a uma atmosfera particularmente úmida, o que leva a uma redução na sua mobilidade molecular. Adicionalmente, um maior teor de fármaco na formulação também pode levar a uma redução do efeito plastificante de água absorvida/adsorvida pelo sistema. Nesta análise de pros e contras, é difícil de prever quais fatores são preponderantes. Uma segunda razão para aumento da estabilidade com o aumento do teor do fármaco na dispersão sólida é a inibição da cristalização da matriz acima de certo teor quando as moléculas do fármaco podem estericamente bloquear a migração das moléculas da matriz (KIRAN et al., 2009).

A Tabela 4 resume os efeitos diversos de um aumento do teor de fármaco em uma dispersão sólida.

Tabela 4 - Efeitos do aumento do teor do fármaco na estabilidade física de uma dispersão sólida.

O aumento da concentração do fármaco tende a *comprometer* a estabilidade física porque:
✓ Altera (geralmente diminui) a Tg de uma dispersão sólida homogênea. ✓ Reduz a distância entre as moléculas do fármaco, consequentemente facilitando a cristalização (facilita a nucleação).
O aumento da concentração do fármaco tende a *favorecer* a estabilidade física porque:
✓ Reduz a higroscopicidade e, consequentemente, o efeito plastificante da umidade (especialmente para dispersões sólidas homogêneas). ✓ Previne a cristalização da matriz polimérica, inibindo subsequentemente uma separação de fases.

Fonte: Adaptado de KUMAVAT et al., 2013.

3.9 Síntese do Capítulo

Uma análise da literatura mostra que fármacos cada vez menos hidrossolúveis tem sido desenvolvidos, o que tem levado a um problema de absorção através de uma administração oral, via esta normalmente privilegiada pelo paciente e pela indústria de medicamentos. Este é o caso de moléculas de Classe II e IV SCB, dentre elas, o Efavirenz (EFV), fármaco objeto de estudo deste tese, de fundamental importância na terapia antirretroviral.

De um modo geral, pode-se também identificar através desta síntese bibliográfica, um esforço de busca de alternativas tecnológicas para incrementar a solubilidade do EFV, no entanto uma maior biodisponibilidade com menor variabilidade ainda é considerada uma etapa a ser alcançada.

Dispersões sólidas poliméricas são formulações potencialmente interessantes para melhorar a biodisponibilidade de moléculas Classe II, semelhantes ao EFV. O desenvolvimento de formulações de EFV sob a forma de dispersões sólidas tem sido uma área de pesquisa que já vem sendo explorada, com diversos tipos de matrizes e técnicas de produção, algumas facilmente escalonáveis como HME, outras para estudo de laboratório. No entanto, apesar dos progressos obtidos, ainda considera-se um desafio a obtenção de dispersões sólidas a base de EFV que favoreçam o controle dos efeitos ***spring*** e ***parachute*** na cinética de dissolução em meio fisiológico, e consequentemente tenham um impacto positivo na biodisponibilidade (adequada e com menor variabilidade).

No entanto, o desenvolvimento de dispersões sólidas para o efeito pretendido não é um objetivo fácil de se alcançar. Dispersões sólidas apresentam o desafio de identificação da boa matriz a ser associada ao IFA e da composição (proporção mássica IFA e matriz) para assegurar boa estabilidade física do sistema que é, por definição, termodinamicamente instável e cineticamente controlável (cinética de cristalização e separação de fases). Estes problemas de estabilidade são geralmente associados à ausência de interações fármaco-matriz e ao teor inadequado do fármac no sistema. Uma grande variedade de matrizes poliméricas disponíveis comercialmente são utilizadas no desenvolvimento de dispersões sólidas, constituindo na maioria dos casos, um dos objetos principais dos estudos relatados na literatura.

Neste trabalho, três matrizes foram pré-selecionadas (Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS), principalmente com base em diferentes características que podem afetar a

estabilidade física das dispersões sólidas produzidas: - Temperatura de transição vítrea; - Higroscopicidade; - Composição química, favorecendo ou não as interações com o EFV. Estas matrizes tem sido usadas no desenvolvimento de dispersões sólidas de IFAs diversos, o que aumenta a possibilidade de sucesso no caso do IFA de interesse deste estudo.

Entretanto, para limitar os ensaios de formulação e otimizar os estudos de estabilidade, uma busca mais racional deve ser realizada, por exemplo, através do emprego de métodos preditivos de miscibilidade entre IFA e matriz. No desenvolvimento deste trabalho, um método simples baseado no cálculo dos parâmetros de solubilidade de Hansen foi utilizado visando uma verificação preliminar da miscibilidade entre EFV e as três matrizes pré-selecionadas.

Além da estabilidade física, as propriedades funcionais desejadas para estes sistemas (aumento da solubilidade e cinética de dissolução) podem ser afetadas pelo modo de produção. Diferentes processos podem ser usados baseados em transformações diferentes dos materiais (fusão, solubilização) e estes podem ser contínuos e escalonáveis em termos de capacidade de produção como fusão-extrusão (*HME*) ou *spray-drying*. Nesta tese, o processo de *spray-drying* é utilizado para gerar as dispersões sólidas de EFV com Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS.

As metodologias de caracterização empregadas para análise das dispersões sólidas geradas foram selecionadas a partir técnicas geralmente utilizadas para caracterizar interações moleculares e o comportamento de dispersões sólidas reunidas nesta síntese bibliográfica. Visto as controvérsias relativas ao efeito da concentração do IFA na estabilidade física destes sistemas amorfos, **a proporção IFA-matrizes** é o parâmetro principal do estudo realizado com as três diferentes matrizes.

Capítulo2

MATERIAL E MÉTODOS UTILIZADOS NA PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ

O Capítulo 2 descreve as metodologias empregadas para preparação e caracterização das dispersões sólidas de Efavirenz (EFV).

Três polímeros de uso farmacêutico foram avaliados como matrizes hidrofílicas: HPMCAS; Soluplus® e PVPVA. Primeiramente, serão descritos os métodos preditivos utilizados com o objetivo de antecipar a probabilidade de formação de misturas miscíveis entre EFV e polímeros.

Spray-drying foi a técnica escolhida para a produção das dispersões sólidas. Para cada polímero foram produzidas misturas binárias em diferentes proporções mássicas fármaco: polímero. O procedimento experimental utilizado será descrito, seguido da apresentação dos procedimentos de caracterização das diferentes formulações geradas.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material

4.1.1 Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) e excipientes

O IFA Efavirenz (EFV) foi doado pela Cristália Ltda. (Itapira, Brasil). O polímero HPMCAS foi obtido de Shin-Etsu Chemical (Aqoat® Tipo AS-HG, Shin Etsu, Japão) e os copolímeros Soluplus® e PVPVA64 foram fornecidos pela BASF (Ludwigshafen, Alemanha).

Etanol 99% da Fluka Analytical e água ultrapura (Milli-Q Millipore, EUA) foram usados como solventes. Acetonitrila grau cromatográfico foi obtido da Merck (Frankfurt, Alemanha). Acetato de amônia e lauril sulfato de sódio foram adquiridos da Vetec (Rio de Janeiro, Brazil).

Como meio de dissolução foram utilizados lauril sulfato de sódio (Vetec, Rio de Janeiro, Brasil) a 0,25% (m/v) em água e meio biorrelevante FeSSIF (Biorelevant.com, Reino Unido) simulando o fluido intestinal no estado alimentado, cuja composição é: Cloreto de sódio (203mM); Hidróxido de sódio (101mM); Lecitina de soja (3,75mM); Taurocolato de sódio (15mM) e Tampão acetato (0,144M, pH 5,0).

4.2 Métodos

4.2.1 Predição da Miscibilidade Efavirenz-Polímeros

A predição da formação de misturas binárias miscíveis entre EFV e os polímeros estudados é feita com base em parâmetros de solubilidade e na determinação das temperaturas de transição vítrea (Tg).

4.2.1.1 Parâmetros de solubilidade (δ)

Como um indicador da miscibilidade fármaco-polímero, os valores de δ_T de Hansen (Eq. 1.3, Capítulo 1) para as misturas binárias foram calculados pelo método de contribuição de grupos de Hoftyzer e Van Krevelen (VAN KREVELEN e HOFTYZER, 1976) descritos pelas Eq. 1.4, 1.5 e 1.6, apresentadas no Capítulo 1.

A decomposição dos polímeros em grupos funcionais para cálculo do parâmetro de solubilidade (δ) pelo método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer será apresentada nos Capítulos 3 (Soluplus®), 4 (PVPVA) e 5 (HPM CAS), juntamente com os resultados obtidos para as dispersões sólidas para cada um dos polímeros estudados.

Para o fármaco EFV, devido à dificuldade em identificar a contribuição de certos grupos não tabelados (tripla ligação do grupo alquino), utilizou-se o valor de δ_T descrito na literatura (SATHIGARI et al., 2012)' obtido por modelagem molecular pelo software ChemSW.

4.2.1.2 Parâmetros de miscibilidade baseado na Temperatura de Transição Vítrea (Tg)

A miscibilidade do fármaco EFV nos polímeros também foi avaliada pela temperatura de transição vítrea (Tg) dos sistemas. A Tg do EFV e dos polímeros foram experimentalmente determinadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a Tg das misturas binárias foi calculada a partir da equação de Gordon-Taylor, para misturas ideais. Esta equação baseia-se nas frações mássicas, densidades e Tg dos componentes puros da mistura, como descrito pela Eq. 1.7, apresentada no Capítulo1. (GORDON e TAYLOR, 1952):

Para cálculo da Tg segundo Gordon-Taylor, as densidades reais do EFV e de cada polímero foram determinadas, em duplicata, utilizando-se um picnômetro de deslocamento a gás (Accupyc 1330, Micromeritics, Alemanha).

4.2.2 Preparação das Dispersões Sólidas

O processo de *spray-drying* foi utilizado para preparar misturas binarias do fármaco EFV com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA.

Como solvente, foram utilizados etanol (99%) para os polímeros Soluplus® e PVPVA, e uma mistura água: etanol (20:80, m/m) para o polímero HPMCAS, considerando a solubilidade de cada polímero.

Os polímeros foram solubilizados nos respectivos solventes numa proporção de 10% (m/m) e em seguida o EFV foi incorporado às soluções poliméricas, em proporções mássicas de 1:10; 1:5 e 1:1,25 de EFV: polímero.

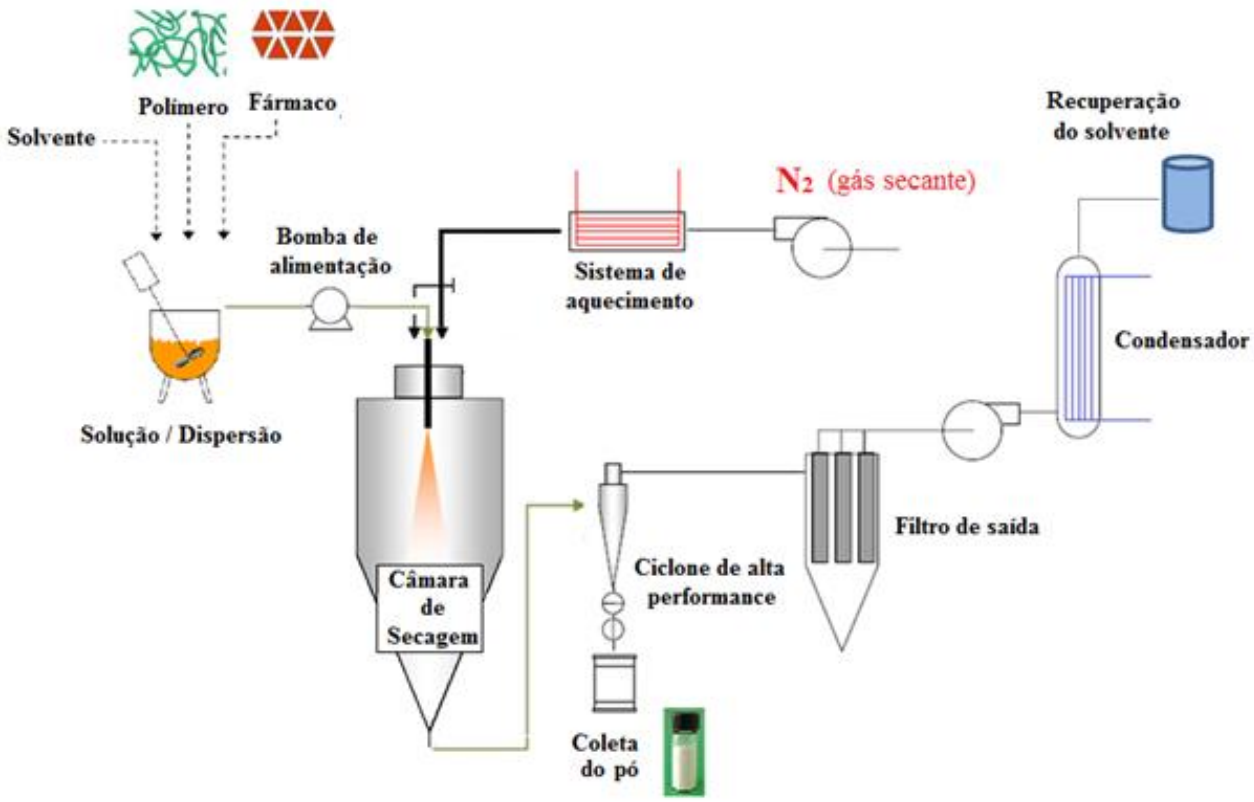
A secagem das formulações por atomização foi conduzida em Mini Spray Dryer Büchi B-290 (Buchi Labortechnik AG, Suíça), utilizando bico atomizador integrado tipo duplo fluido com 0,7mm de diâmetro, operando em atmosfera inerte de N_2 (*Inert Loop* B-295), condição exigida para a realização segura do processo com solvente orgânico. No mini *spray-dryer* o processo de secagem funciona segundo o princípio da corrente de ar e de produto em sentido concorrente. O produto seco (pó), resultado da evaporação do solvente, foi coletado em um ciclone de alta performance.

Um esquema e uma imagem da montagem experimental do processo utilizado podem ser visualizados respectivamente nas Figs. 25 e 26.

As amostras dos pós obtidos das dispersões sólidas foram acondicionadas em recipientes de vidro, fechados e mantidas em dessecador para posterior caracterização.

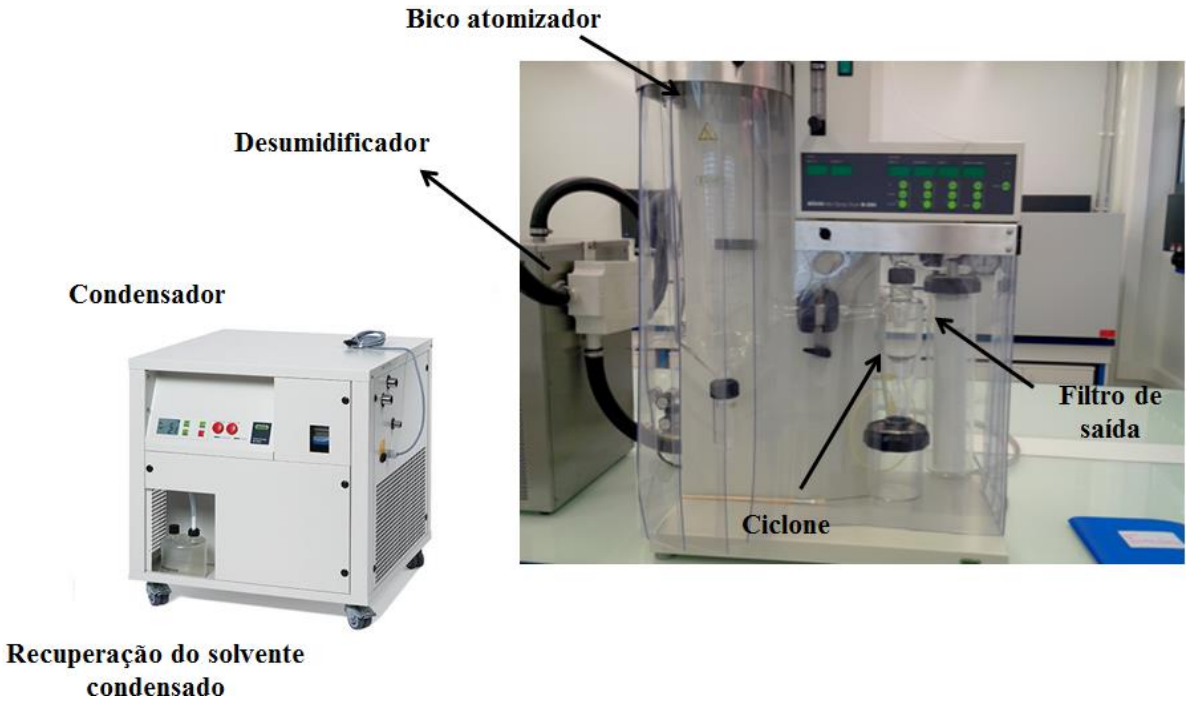
As condições do processo de secagem utilizadas para cada polímero serão descritas nos Capítulos 3, 4 e 5.

Figura 25 - Esquema do processo de secagem por atomização (*spray-drying*) utilizado



Fonte: Adaptado de DOBRY et al., 2009. Reproduzido com permissão.

Figura 26 - Imagem do mini *spray dryer* BUCHI B-290 com loop de inertagem B-295.



Fonte: Autoria própria.

4.2.2.1 Avaliação da Viscosidade das Formulações Líquidas

O efeito do tipo de polímero e da proporção EFV: polímero na viscosidade das soluções de alimentação foram avaliados utilizando o equipamento HAAKE RheoStress-600 que permite a medida da viscosidade de soluções poliméricas. Inicialmente as amostras das soluções poliméricas foram estabilizadas a 25°C e em seguida as medidas foram realizadas, utilizando a geometria de cone-placa a uma temperatura de 25 ± 0,4ºC. Os dados foram coletados automaticamente pelo software HAAKE RheoWin 3.40.00.

4.2.3 Caracterização das Dispersões Sólidas

4.2.3.1 Análise Térmica

O perfil térmico das amostras foi obtido através da análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC) utilizando-se o calorímetro DSC Q200 (TA Instruments, EUA). Amostras de EFV, dos polímeros e das dispersões sólidas foram aquecidas em

suportes de alumínio não-herméticos, a uma razão de aquecimento de 5°Cmin^{-1}, na faixa de 20 a 190 °C, com fluxo de N2 de 50 mLmin^{-1}.

Para o modo modulado (mDSC), as amostras foram aquecidas seguindo um programa de aquecimento sinoidal com taxa de 2°Cmin^{-1}, com período de 40s e amplitude de ±0,2°C, num intervalo de temperatura de 20 a 150°C.

4.2.3.2 Difração de raios-X

As amostras de EFV, dos polímeros isolados e das dispersões sólidas obtidas após a secagem foram analisadas em difratômetro de raios-X X'Pert Pro MPD (Philips, EUA), operando com tensão de 45 kV de voltagem e corrente de 40 mA, numa faixa 5 a 45° a 0,018°·min-1 e ângulo de difração de 2θ. As amostras foram irradiadas com radiação monocrômica CuKα (λ=1,5406).

4.2.3.3 Espectroscopia RAMAN

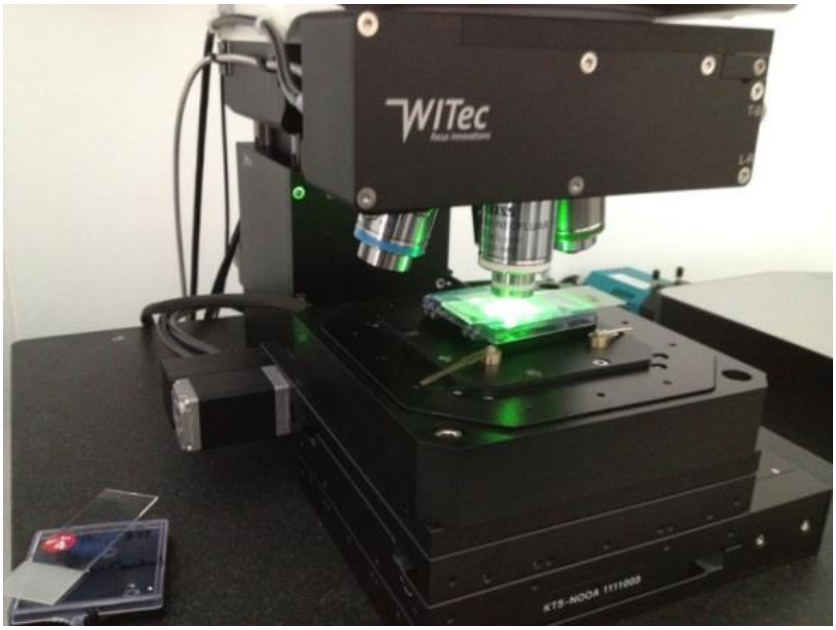
Análises por espectrometria RAMAN foram utilizadas para verificar as características químicas e estruturais do EFV puro, dos polímeros isolados, e das dispersões sólidas obtidas após o processo de atomização. Através desta técnica analítica também foi possível visualizar a distribuição do fármaco na matriz polimérica.

Para as medidas experimentais utilizou-se o espectrômetro RAMAN (Fig. 27) acoplado a um microscópio de força atômica WITEc alpha 300R (WITec GmbH, Alemanha) com faixa de resposta entre 200-3600 cm^{-1}.

As amostras dos pós foram dispersas em lâminas de vidro e analisadas a temperatura ambiente utilizando um comprimento de onda do laser confocal a 532nm (Nd:YAG laser) e um sistema espectroscópico *ultrahigh-throughput* (UHTS 300) com detector CCD. Imagens espectroscopias foram obtidas em uma média de 10 *scans* da área selecionada, utilizando o *software* WITec Suite.

Os constituintes das imagens foram coloridos de forma combinada com os espectros para melhor visualização.

Figura 27 - Microscópio Confocal RAMAN-AFM modelo Alpha 300R.



Fonte: Autoria própria.

4.2.3.4 Espectroscopia de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Possíveis interações entre o fármaco EFV e os polímeros Soluplus®, PVPVA e HPMCAS foram investigadas por FT-IR. Espectros no IR das amostras do EFV puro, polímeros isolados e dispersões sólidas foram obtidos utilizando o espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier, modelo Nicolet 5700 (Thermo Scientific, EUA). As amostras foram misturadas com brometo de potássio (KBr) na proporção de 1-2%. Em seguida, pastilhas foram preparadas pela compressão do pó com prensa aplicando-se força de 10 toneladas e analisadas na faixa de 4000 e 400 cm^{-1}, com resolução espectral de 4 cm^{-1}.

4.2.3.5 Quantificação do Efavirenz (EFV)

O teor de EFV foi determinado por cromatografia à líquido de alta eficiência (CLAE), utilizando um cromatógrafo modelo NEXERA (Shimadzu, Japão) com bomba quaternária LC-30AD, amostrador automático SIL 30AC, forno para coluna CTO-20AC e detector SPD-M30A.

A separação cromatográfica foi obtida utilizando coluna cromatográfica C18 Luna (Phenomenex®, EUA), 25 cm x 4,6 mm; 5µm, mantida a 40°C. O método analítico foi baseado num sistema de eluição isocrática com tampão acetato de amônia pH 7,5 (ajustado

com solução de amônia) e acetonitrila, numa proporção de 30:70 (v/v), fluxo de 1,5 mL/min, com detecção em λ = 252 nm e volume de injeção de 20µL, de acordo com o método aprovado pelo Comitê MD-AA da USP Pharmacopeia.

As amostras foram preparadas, em triplicata, dissolvendo-se quantidade do pó das dispersões sólidas equivalente a 10 mg de EFV em acetonitrila. As amostras foram sonicadas durante 15 minutos e em seguida diluídas até obtenção de uma solução com concentração final de 20µg/mL. A concentração do fármaco das amostras dos ensaios de teor, solubilidade e cinética de dissolução foram determinadas a partir de curvas de calibração (área x concentração), exemplificada no APENDICE C.

4.2.3.6 Análise Morfológica das Estruturas e Distribuição do Efavirenz

A avaliação morfológica do EFV, polímeros e dispersões sólidas foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As micrografias foram obtidas utilizando-se o microscópio eletrônico de varredura Philips XL30 FEG (Philips, EUA) de alta resolução, no modo elétrons secundários, operado a 20 kV. As amostras foram fixadas em suportes de alumínio (*stubs*) com fita de carbono e metalizadas com ouro a vácuo sob uma atmosfera de argônio.

A distribuição do EFV nas estruturas poliméricas foi verificada a partir da identificação espacial de átomos naturalmente presentes na molécula de EFV (Cl e F), utilizando-se a técnica de energia dispersiva de raios-X (EDX) associada à MEV.

4.2.3.7 Tamanho e Distribuição Granulométrica

Amostras do pó de EFV e das dispersões sólidas formadas foram caracterizadas em relação ao tamanho e a distribuição do tamanho da partícula pela técnica de difração à laser utilizando o analisador de partículas Mastersizer 2000 (Malvern Instruments, UK), via seca (com dispersão do pó). Os resultados médios obtidos foram baseados na distribuição do tamanho e na distribuição em volume das partículas.

O diâmetro médio de partícula foi expresso como o diâmetro médio volumétrico ($D_{[4.3]}$), equivalente ao diâmetro de uma esfera que possui a mesma área projetada que a partícula. O índice de polidispersão (*span*), que fornece informações sobre a homogeneidade da distribuição dos tamanhos, foi calculado a partir da Eq. 2.3.

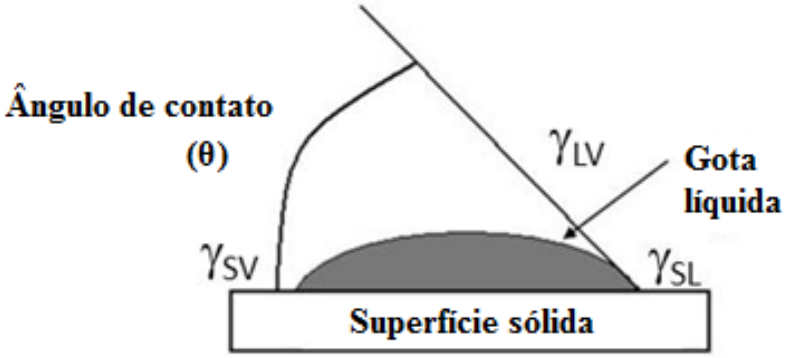
$$Span = (d_{90} - d_{10}) / d_{50} \qquad \text{(Eq. 2.3)}$$

Onde d_{10}, d_{50} e d_{90} representam os diâmetros acumulados de 10, 50 e 90 % das partículas, respectivamente. As medidas foram realizadas em triplicata.

4.2.3.8 Ângulo de contato (θ)

As propriedades de molhabilidade das dispersões sólidas foram caracterizadas por um método direto de medida de um ângulo de contato entre uma gota líquida depositada em uma superfície sólida (leito de partículas das dispersões sólidas) e a gota (Fig. 28).

Figura 28 - Medida do ângulo de contato entre as fases líquida e sólida



Fonte: Adaptado de COSTA NETO, 2014.

Um ângulo de contato θ é dado pela relação de Young (Eq. 2.4) em função das energias interfaciais:

$$\gamma_{SV} = \gamma_{LV.} \cos \theta + \gamma_{SL} \qquad \text{(Eq. 2.4)}$$

Onde γ_{SV} é a energia interfacial entre o sólido e o vapor, γ_{LV} é a energia interfacial entre o líquido e o vapor e γ_{SL} é a energia interfacial entre o sólido e o líquido (N/m).

Um espalhamento do líquido sobre a superfície sólida é considerado perfeito quando θ é igual a 0°, bom quando θ < 90°, medíocre quando θ > 90° e nulo quando θ = 180° (quando a gota toma a forma de uma esfera).

O ângulo de contato (θ) entre água e o fármaco ou as dispersões sólidas foi medido pelo método da gota pendente utilizando o equipamento Drop Shape Analyzer DSA30E (Kruss Instruments, Alemanha), para avaliar a molhabilidade das dispersões sólidas comparada ao fármaco puro cristalino. Uma gota de água destilada (5µL) foi gotejada na

superfície da amostra (leito de pó compactado) e θ foi medido no tempo inicial de 2 segundos e após 10 segundos do contato. Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

4.2.4 Estudo de Solubilidade

A solubilidade do EFV cristalino e a solubilidade aparente das dispersões sólidas foram avaliadas nos seguintes meios: água purificada, solução de lauril sulfato de sódio em água a 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF.

Para este estudo, amostras em excesso dos pós foram adicionadas em erlenmeyers contendo cerca de 15 mL dos três diferentes meios, mantidos sob agitação em um banho aquecido a 37°C ± 0,5°C (Dubnoff, Quimis, Brasil). Após 48 horas, amostras do sobrenadante das soluções saturadas (contendo EFV cristalino em excesso) ou supersaturadas (contendo as dispersões sólidas) foram coletadas, centrifugadas a 4000 rpm por 5 min, filtradas em filtro à membrana de politetrafluoroetieno – PTFE (Whatman International, Inglaterra) de 0,45 μm de porosidade e analisadas por CLAE. A medida da solubilidade foi feita em duplicata ou triplicata, dependendo da quantidade de material disponível.

4.2.5 Estudo da Cinética de Liberação in vitro

4.2.5.1 Cinética de dissolução *in vitro*

O perfil de dissolução do pó do EFV cristalino e das dispersões sólidas foi realizado utilizando o dissolutor com amostrador automático (Varian VK7010 e VK 8000, EUA), equipado com aparato II (pás, USP 35) e velocidade de rotação de 50rpm.

Para o fármaco EFV, que apresenta baixa solubilidade aquosa, as monografias de compêndios oficiais estabelecem o uso do surfactante aniônico lauril sulfato de sódios (LSS) como agente tensoativo, em concentrações entre 1% e 2% (m/v). No entanto, estudos prévios demostraram que esta concentrações não são discriminativas, ou seja, não permitem a detecção de alterações na cinética de dissolução em ração a modificações na molécula do fármaco. Um estudo descrito por PANIKUMAR e colaboradores (2012), mostrou que uma concentração de LSS a 0,25% foi discriminativa para avaliação da cinética de dissolução do EFV. No estudo aqui desenvolvido, essa condição do meio de dissolução com o tensoativo

LSS foi mantida. Como meio de dissolução foram então utilizados LSS 0,25% (m/v) em água e meio biorrelevante FeSSIF, mantidos aquecidos à 37±0.5°C (volume do meio = 900mL).

Amostras das dispersões sólidas e do fármaco cristalino foram pesadas e introduzidas diretamente nas cubas contendo os meios de dissolução. Condições *sink* foram mantidas durante todo o período do ensaio. Alíquotas de 5 mL da solução foram coletadas em intervalos de tempos regulares de 2, 5, 8, 10, 15, 20, 30, 60 e 120 min, filtradas em membrana PTFE de 0,45 µm (Whatman International, Inglaterra) e a concentração de EFV presente no meio de dissolução determinada por CLAE.

4.2.5.2 Modelos Matemáticos de Cinética de Liberação do EFV

Os perfis de dissolução obtidos foram avaliados quanto ao ajuste a modelos cinéticos e ao cálculo da Eficiência de Dissolução (ED), conforme equações descritas na Tabela 5.

Tabela 5 - Modelos dependente e independente para avaliação dos dados da cinética de liberação do fármaco.

Modelo	Método	Equação
Modelo-dependente	Korsmeyer-Peppas	$Mt = K_{KP}.\ t^n$ (Eq. 2.4)
	Weibull	$Mt = 1 - exp\left(\frac{-(t - Ti)b}{a}\right)$ (Eq. 2.5)
	Baker-Londasle	$3/2\ [1 - (1 - Mt/Mo)^{1/3}] = K_{BL}\ .\ t$ (Eq. 2.6)
	Critérios para avaliação do ajuste ao amodelo	$RMSE = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}(yiobs - yipred)^2}{n}}$ (Eq. 2.7) $AIC = 2k + n.[ln(\sum_{i=1}^{n}(yiobs - yipred)^2)]$ (Eq. 2.8)
Modelo-independente	Eficiência de Dissolução (ED%)	$DE = \left(\frac{\int_0^t Mtdt}{Mtmax\ .t}\right)x100$ (Eq. 2.9)

Mt: quantidade do fármaco liberada no tempo *t*;
Mo: quantidade inicial do fármaco na forma de dosagem;
K_{BL}: Constante de liberação na equação Baker-Londasle;
K_{KP}: Constante de liberação incorporando características estruturais e geométricas para a dosagem do fármaco;
n: exponente difusional indicando o mecanismo de liberação do fármaco
Mt_{max} = quantidade máxima do fármaco liberado (=100%)
N= número de pontos avaliados
Ti = tempo de latência até que o processo de dissolução ocorra (na maioria dos casos será zero).
a= escala de tempo decorrido do ensaio de cinética
b = parâmetro de forma (caracteriza a curva como exponencial, sigmoidal ou parabólica)

Fonte: Autoria própria.

O software KinetDS® 3.0 (Rev 2010, Polônia) foi usado para verificar o ajuste das cinéticas aos modelos matemáticos de *Korsmeyer-Peppas, Weibull* e *Baker-Londasle* (Eq., 2.4, 2.5 e 2.6 - Tabela 5). A precisão do ajuste e a capacidade de predição destes modelos foram verificadas a partir do cálculo do coeficiente de determinação (R^2), pelo critério de informação de Akaikes (AIC) e pelo erro médio quadrático (RMSE), sendo estes dois últimos descritos pelas Eq. 2.7 e 2.8 - Tabela 5.

A Eficiência de Dissolução a 120 min (ED_{120}) também foi calculada pelo *software* KinetDS®, conforme Eq. 2.9, Tabela 5. A diferença entre ED_{120} das formulações nos diferentes meios (LSS 0,25% e FeSSIF) foi avaliada estatisticamente por Análise de variância *one-way* (ANOVA), seguida do Teste de *Tukey*, considerando um nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

Neste método considerou-se: ED_{120} = dependente variável; Formulação DS (dispersão solida) = fator. Os cálculos foram realizados utilizando o *software Matlab*.

4.2.6 Estudos de Estabilidade Previsional

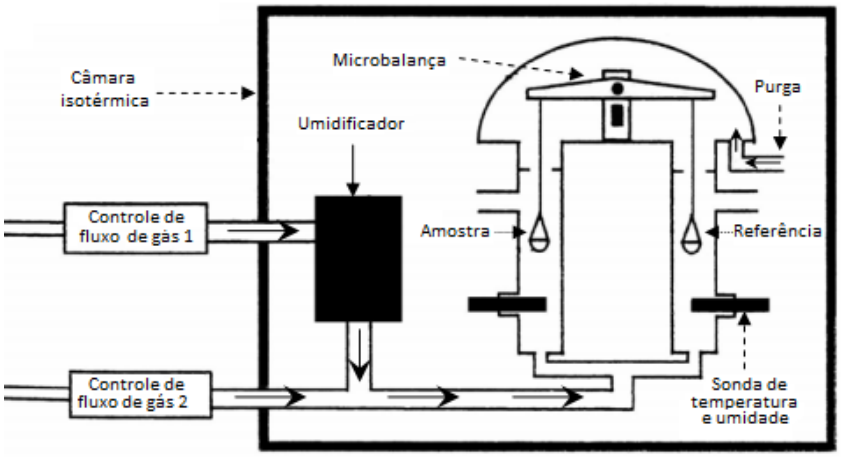
A estabilidade física das dispersões sólidas obtidas neste trabalho foi avaliada em diferentes condições de temperatura e umidade relativa e o efeito da influência destes parâmetros foi verificado através de análises por DSC e DRX.

4.2.6.1 Sorção dinâmica de vapor (DVS – *Dynamic Vapor Sorption*)

Perfis de sorção de umidade dos constituintes individuais (EFV amorfo e polímeros) e das dispersões sólidas foram determinados utilizando-se um analisador de sorção de água automático (DVS-2, Surface measurement Systems Ltd., London, UK). O DVS-2 mede a captação e a perda de vapor das amostras gravimetricamente, através de uma microbalança. A Figura 2.5 mostra um esquema do sistema de sorção dinâmica de vapor utilizado (NETO, 2014). A umidade relativa em torno da amostra foi controlada pela mistura de correntes de gás, seca e saturada de água em proporções controladas por um controlador de vazão. Antes de serem expostas a qualquer vapor de água, as amostras foram secas a 0% de umidade relativa para remover qualquer teor de água presente, utilizando o próprio equipamento. Em seguida, as amostras foram expostas a um percentual de umidade relativa desejado e a adsorção de água foi então medida.

Cerca de 50 mg das amostras das dispersões sólidas foram pesadas e submetidas a uma atmosfera de umidade relativa variando de 0 a 95% de UR, em ciclos de sorção-dessorção, com temperatura de 25°C e pressão constante. A variação de massa da sorção e da dessorção de vapor d'água nas amostras ao longo do tempo foi medido e expresso como porcentagem em relação à amostra seca.

Figura 29 - Esquema representativo de um sistema de sorção dinâmica de vapor



Fonte: Adaptado de COSTA NETO, 2014**.**

4.2.6.2 Exposição a condições de 75% UR e 40°C

O efeito de condições aceleradas de temperatura e umidade foi verificado através da avaliação da temperatura de transição vítrea (Tg). Amostras das dispersões sólidas foram expostas a um ambiente de 75% UR e temperatura de 40°C até que atingissem as condições de equilibrio, utilizando o equipamento DVS-2. Em seguida as amostras foram imediatamente analisadas por DSC.

4.2.6.3 Armazenamento à Temperatura Ambiente

Amostras foram mantidas em dessecador contendo sílica (~23% UR), à temperatura ambiente (~22°C) para avaliar o estado físico do EFV presente nas dispersões sólidas após um longo período de armazenamento. A temperatura de armazenamento foi mantida inferior à temperatura de transição vítrea de todas as amostras. Após 12 meses, as amostras foram caracterizadas pelas técnicas de DRX e DSC e os resultados foram avaliados comparativamente aos obtidos com os sistemas recém-preparados.

4.3 Análise Estatística

Os ensaios para caracterização das dispersões sólidas foram realizados em duplicata ou triplicata e os valores dos resultados obtidos expressos como média ± desvio padrão (DP) ou desvio padrão relativo (DPR).

A avaliação estatística através de testes de Análise de Variância *one-way* (ANOVA), Teste de Tukey e t de *Student* foi aplicada, sempre que possível, considerando um intervalo de confiança de 95% ($p<0,05$).

Capítulo 3

DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – SOLUPLUS®

O Capítulo 3 apresenta as dispersões sólidas de Efavirenz (EFV) e Soluplus® desenvolvidas no trabalho.

Os métodos de preparação e caracterização utilizados e os principais resultados referentes às características dos sistemas obtidos são descritos, como o impacto do teor de fármaco nas propriedades funcionais destas estruturas (solubilidade e cinética de dissolução *in vitro*) e a verificação de sua estabilidade em condições variadas de temperatura e umidade.

5 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – SOLUPLUS®

5.1 Miscibilidade Efavirenz-Soluplus® baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ)

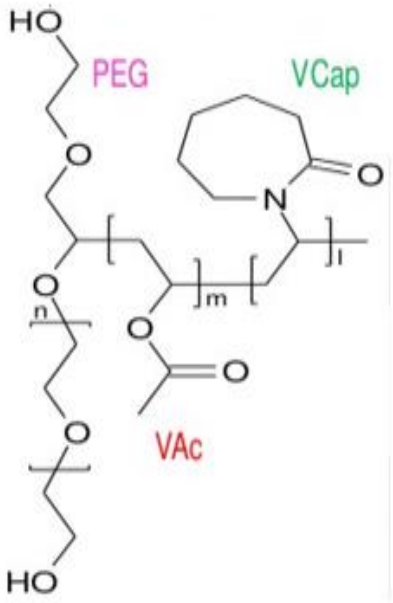
Neste estudo, com o objetivo de fornecer uma indicação preliminar de miscibilidade entre EFV e o polímero utilizado, o parâmetro de solubilidade do Soluplus® foi estimado pelo método de contribuição dos grupos descrito por Hoftyzer e Van Krevelen (1976). Para aplicação deste método, foram consideradas as unidades de monômeros que constituem o Soluplus® (Fig. 30). Aos percentuais de cada monômero (caprolactama = 57%, vinil acetato = 30% e polietilenoglicol (PEG) = 13%), foram atribuídos os valores referentes a cada grupo químico estrutural constituinte do copolímero (Tabela 6).

Tabela 6 - Decomposição manual do polímero Soluplus® para cálculo do parâmetro de solubilidade δ (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer).

Unidade (massa molar/ massa total)	Grupo/ Monômero	Grupo Estrutural	Fdi	Fpi	F^2pi	Ehi
Caprolactama (m= 151)	01	>C=O	290	770	592900	2000
	06	$-CH_2-$	270	0	0	0
	01	N	20	800	640000	5000
	01	>CH-	80	0	0	0
	01	Anel	190	0	0	0
Vinilacetato (m = 86)	01	CH_3	420	0	0	0
	01	COO	390	490	240100	7000
	01	CH	80	0	0	0
	01	CH_2	270	0	0	0
PEG (m_t= 30)	02	CH_2	270	0	0	0
	01	O	100	400	160000	3000

Fonte: Autoria própria.

Figura 30 - Indicação dos grupos funcionais utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade (**δ**) do Soluplus® pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer.



Fonte: Adaptado de THORSTEN, 2013.

Para efeito do cálculo do parâmetro de solubilidade total de Hansen, foram considerados como dados de entrada:

- Massa molar: 115.000 g/mol (valor médio);
- Densidade real: 1,18 ± 0,005g/cm^3 (determinada experimentalmente por picnometria à gás);
- Volume molar: 97.457,6 cm^3/mol.

A aplicação do procedimento de cálculo descrito no Capítulo 1 (item 1.7.1.1) resultou no valor de δ_T para o Soluplus® apresentado na Tabela 7.

Tabela 7- Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para Soluplus®

Parâmetros de solubilidade	**δ_d (MPa$^{1/2}$)**	**δ_p (MPa$^{1/2}$)**	**δ_h (MPa$^{1/2}$)**	**δ_T (MPa$^{1/2}$)**
Valores calculados	17,85	0,27	8,68	**19,8**

Fonte: Autoria própria.

Para o fármaco EFV, devido à dificuldade em identificar a contribuição de certos grupos não tabelados (tripla ligação do grupo alquino), considerou-se o valor de δ de 24,5 $MPa^{½}$ encontrado na literatura (SATHIGARI et al., 2012) e que foi calculado por modelagem molecular pelo software ChemSW (Fairfield, CA).

A diferença entre os parâmetros de solubilidade do EFV e do Soluplus® é de 4,7 $MPa^{½}$, sugerindo miscibilidade entre fármaco e polímero (Capítulo 1, item 3.5.3.1.1), um critério positivo na seleção do polímero para a constituição de dispersões sólidas amorfas.

5.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-Soluplus®

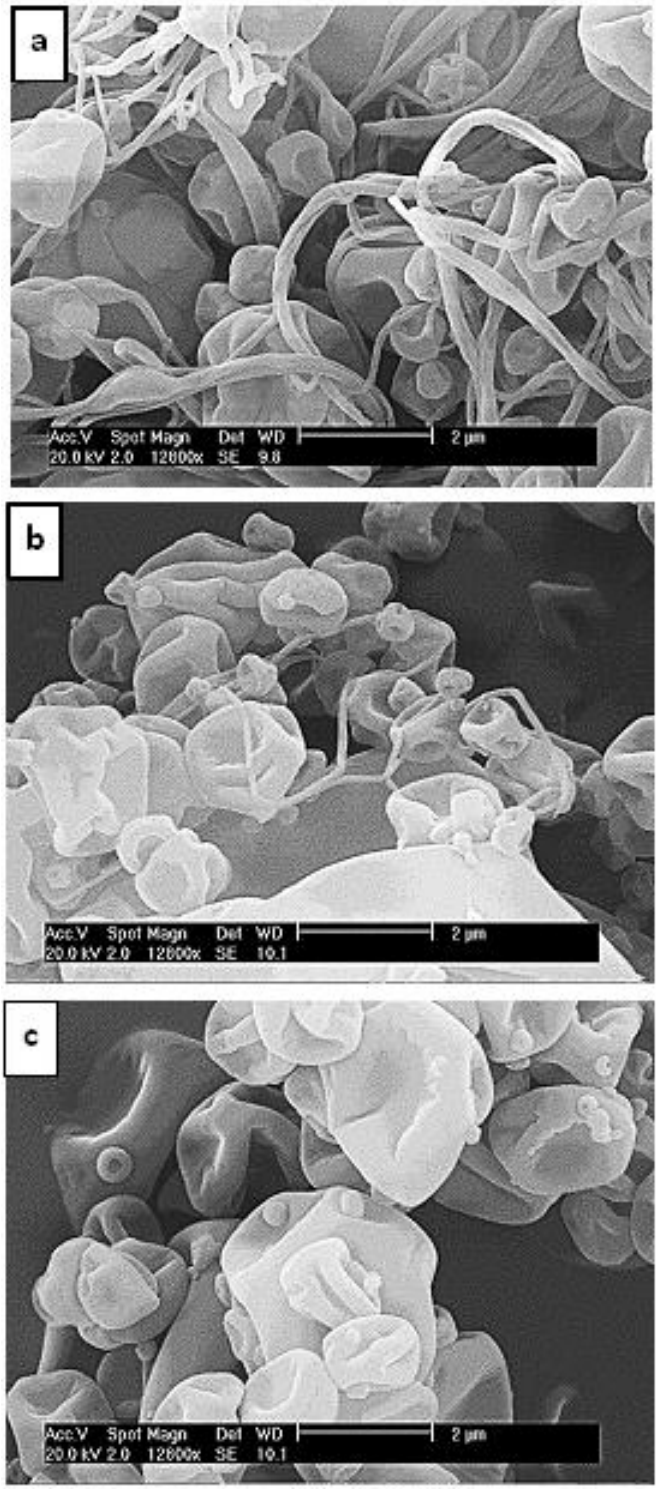
5.2.1. Definição das Condições do Processo

Etanol foi o solvente selecionado para solubilizar o fármaco e o polímero com base em vários critérios: solubilidade dos dois componentes (EFV e Soluplus®) de maneira a gerar uma solução concentrada e de baixa viscosidade para ser pulverizada, solvente volátil e de baixa toxicidade. (PAUDEL et al., 2013a).

Ensaios preliminares foram realizados sem EFV, preparando-se soluções com concentrações de 10, 15 e 20% (m/v) de polímero em etanol. As soluções foram então secas por spray-drying nas seguintes condições: diâmetro do bico atomizador (0,7mm); vazão de solução de alimentação (300 ml/h); vazão de N_2 (600l/h); temperatura de entrada (70±1°C) e temperatura de saída (62±3°C).

O produto seco recuperado foi observado por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As imagens obtidas (Fig. 31) mostram o efeito do aumento da concentração da solução polimérica na morfologia do produto. Nota-se a presença de fios poliméricos nos produtos obtidos da secagem de soluções com concentrações ≥ 15% (m/v) (Figs. 31a e 31b), o que comprova a dificuldade de desintegração do líquido na etapa de pulverização, indicando uma secagem ineficiente. Soluções a 10% (m/v) em Soluplus® geraram partículas dispersas, de formato homogêneo, sem a presença de fios (Fig. 31c), indicando que o processo de secagem foi adequado à formação de partículas sólidas, o que levou à escolha desta concentração para os ensaios posteriores realizados com a introdução do EFV na solução polimérica.

Figura 31 - Micrografias obtidas por MEV de partículas atomizadas a partir de soluções de Soluplus® em etanol nas concentrações de: (a) 20%; (b) 15% e (c) 10% (m/v).



Fonte: Autoria própria.

Após definição da concentração do polímero (10% m/v), soluções poliméricas contendo o fármaco foram preparadas através da adição do EFV, nas proporções mássicas

fármaco: polímero de 1:10, 1:5 e 1:1,25. As soluções obtidas foram secas por spray-drying utilizando-se as condições apresentadas na Tabela 8. Soluções dos componentes puros também foram preparadas e secas individualmente nas mesmas condições.

As partículas obtidas foram mantidas em recipientes hermeticamente fechados, em dessecador à temperatura ambiente.

Tabela 8 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas durante o processo de secagem (DS_{SOL}).

Amostra	**EFV:Soluplus®** **(m:m)**	**Temperatura (°C)**		**Aspiração (%)**	**Vazão de N_2 (L/h)**	**Vazão de alimentação (L/h)**
		entrada	***saída***			
EFV atomizado	1: 0	67-71	62-67	100	600	0,32
Soluplus® atomizado	0: 1	69-70	56-59			0,35
DS_{SOL}1	1: 10	70-71	67-69			0,32
DS_{SOL}2	1: 5	68-70	62-64			0,32
DS_{SOL}3	1: 1,25	70-71	64-67			0,31

Fonte: Autoria própria.

5.3. Caracterização das Dispersões Sólidas

5.3.1. Miscibilidade com Base na Temperatura de Transição Vítrea (Tg)

Os termogramas DSC do EFV cristalino utilizado como matéria-prima inicial, do polímero Soluplus® e das dispersões sólidas $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ estão apresentados na Fig. 32. Esta figura mostra ainda o termograma obtido da análise de uma mistura física EFV:Soluplus® na proporção 1:1,25. Os valores característicos (temperatura de fusão do EFV, temperaturas de transição vítrea das matérias-primas e produtos amorfos) estão reunidos na Tabela 9.

O fármaco EFV no seu estado cristalino apresentou um único pico endotérmico a 139,2°C (fusão) com uma entalpia (ΔH_m) de 51,9 J/g.

A Tg do EFV, por sua vez, foi determinada no segundo ciclo de aquecimento durante a análise por DSC apresentando valor de 35,5°C.

A habilidade em formar soluções vítreas pode ser predita pela relação Tg/Tm (em Kelvin) (ZALLEN, 1983). Insumos farmacêuticos ativos (IFA) que demonstram boas propriedades de formação de sistemas vítreos apresentam a relação *Tg*/*Tm* (em Kelvin) maior que 0,67, (regra do 2/3), de acordo com a regra de Boyer-Beaman. No caso do EFV, a relação *Tg/Tm* estimada é de 0,75; portanto, esperava-se que o mesmo, na forma de dispersões sólidas, fosse capaz de formar soluções vítreas (YU, 2014).

A partir da atomização por *spray-drying* do EFV em etanol, obteve-se um produto seco com uma Tg de 36°C (determinada no primeiro ciclo de aquecimento em mDSC), a partir da qual se pôde concluir que após o processo de secagem o fármaco apresentou-se no estado amorfo.

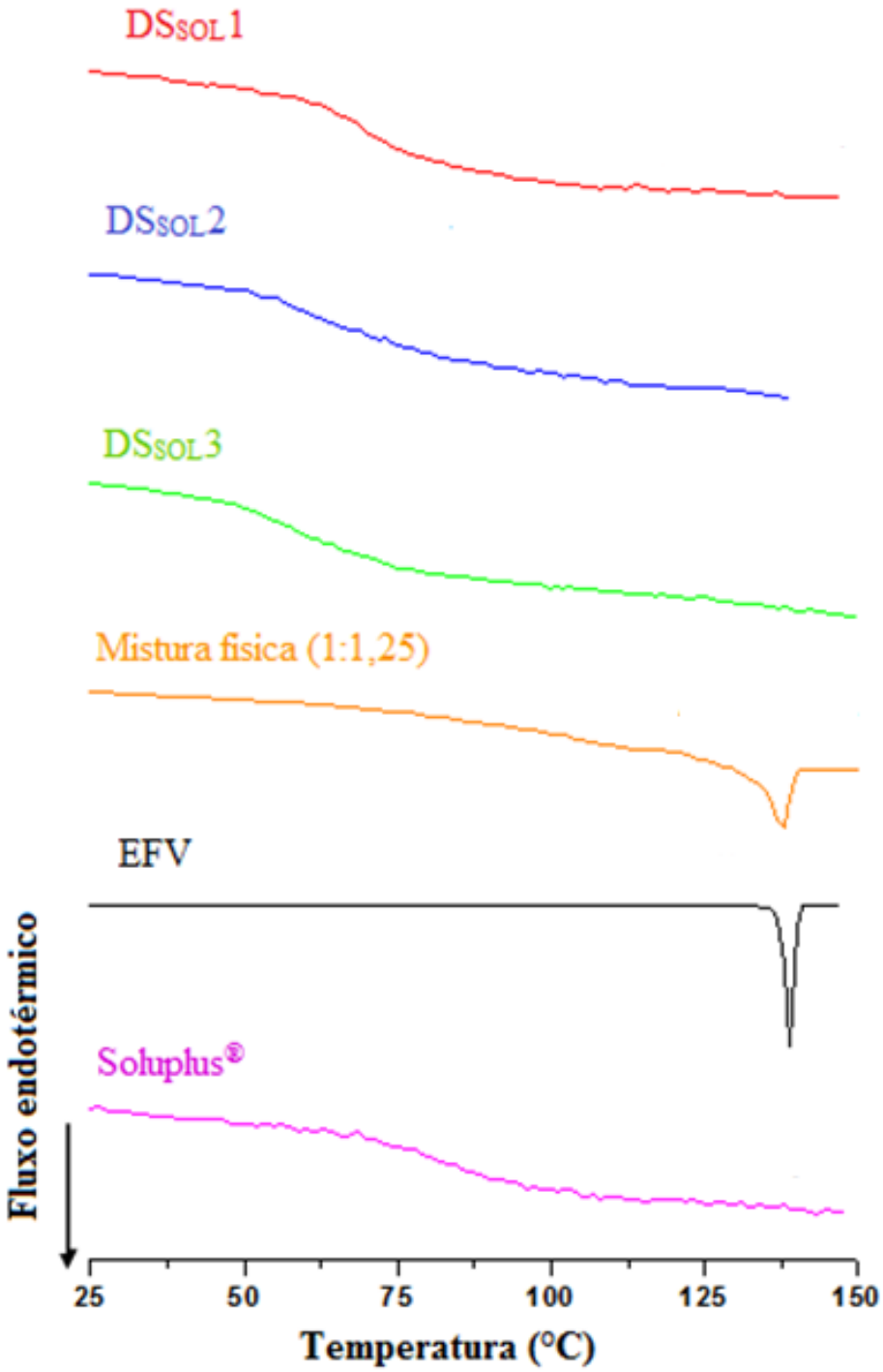
O polímero Soluplus® obtido pela secagem de uma solução etanólica por *spray-drying* apresentou uma Tg de 78,8°C (Tabela 9).

A análise da mistura física preparada com EFV e Soluplus® na proporção mássica de 1:1,25 (Fig. 32) mostrou a presença do pico endotérmico de fusão do EFV. No entanto, este pico não é observado no termograma DSC da amostra $DS_{SOL}3$, que corresponde à mesma proporção mássica entre fármaco e polímero. O pico endotérmico de fusão do EFV também não foi evidenciado nas demais formulações de dispersões sólidas ($DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}2$).

Além disso, a partir dos termogramas obtidos das análises por mDSC (Fig. 32) identificou-se apenas a presença de uma única Tg para cada uma das formulações estudadas ($DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$), conforme Tabela 9. Uma única Tg, numa faixa intermediária entre a Tg do fármaco e a Tg do polímero, tende a ser indicativo de sistemas de fase única no caso de uma mistura amorfa e, representar a homogeneidade da mistura a nível molecular (QIAN et al., 2010).

Através dos resultados obtidos pode-se também foi possível se observar o efeito do aumento da concentração de polímero na Tg das formulações: aumento de 58,1°C ($DS_{SOL}3$) a 62,3°C ($DS_{SOL}1$).

Figura 32 - Termogramas obtidos por DSC para o EFV cristalino puro, Soluplus® atomizado, formulações $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ e mistura física EFV:Soluplus® na proporção 1:1,25.



Fonte: Autoria própria.

Tabela 9 - Temperaturas de transição vítrea (Tg) obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor (DS_{SOL}).

Amostra	T_m (°C)	T_g Experimental (°C)	ΔCp (J/gK)	Tg Gordon-Taylor (°C)	ΔTg
EFV cristalino	139,2	35,5[1]	0,26	-	-
EFV atomizado	-	36,1[2]	0,32		
Soluplus® atomizado	-	78,8[2]	0,12	-	-
DS_{SOL} 3 (EFV: Soluplus® 1:1,25)	-	58,1[2]	0,28	59,5	-1,4
DS_{SOL} 2 (EFV: Soluplus® 1:5)	-	56,9[2]	0,25	70,2	-13,3
DS_{SOL} 1 (EFV: Soluplus® 1:10)	-	62,3[2]	0,22	72,7	-10,4

[1]2º ciclo de aquecimento (DSC); [2]1º ciclo de aquecimento (mDSC).

Fonte: Autoria própria.

Os valores experimentais de Tg determinados para $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ foram comparados aos valores de Tg estimados pela equação de misturas ideais de Gordon-Taylor (Eq. 1.7, Capítulo 1) em função da composição da mistura binária. Os valores calculados também são apresentados na Tabela 9. Como resultado comparativo, verifica-se um desvio negativo dos valores experimentais com relação aos valores estimados, sugerindo que o volume livre na mistura homogênea (única Tg) é maior que o volume livre na mistura ideal (sem interação entre os componentes).

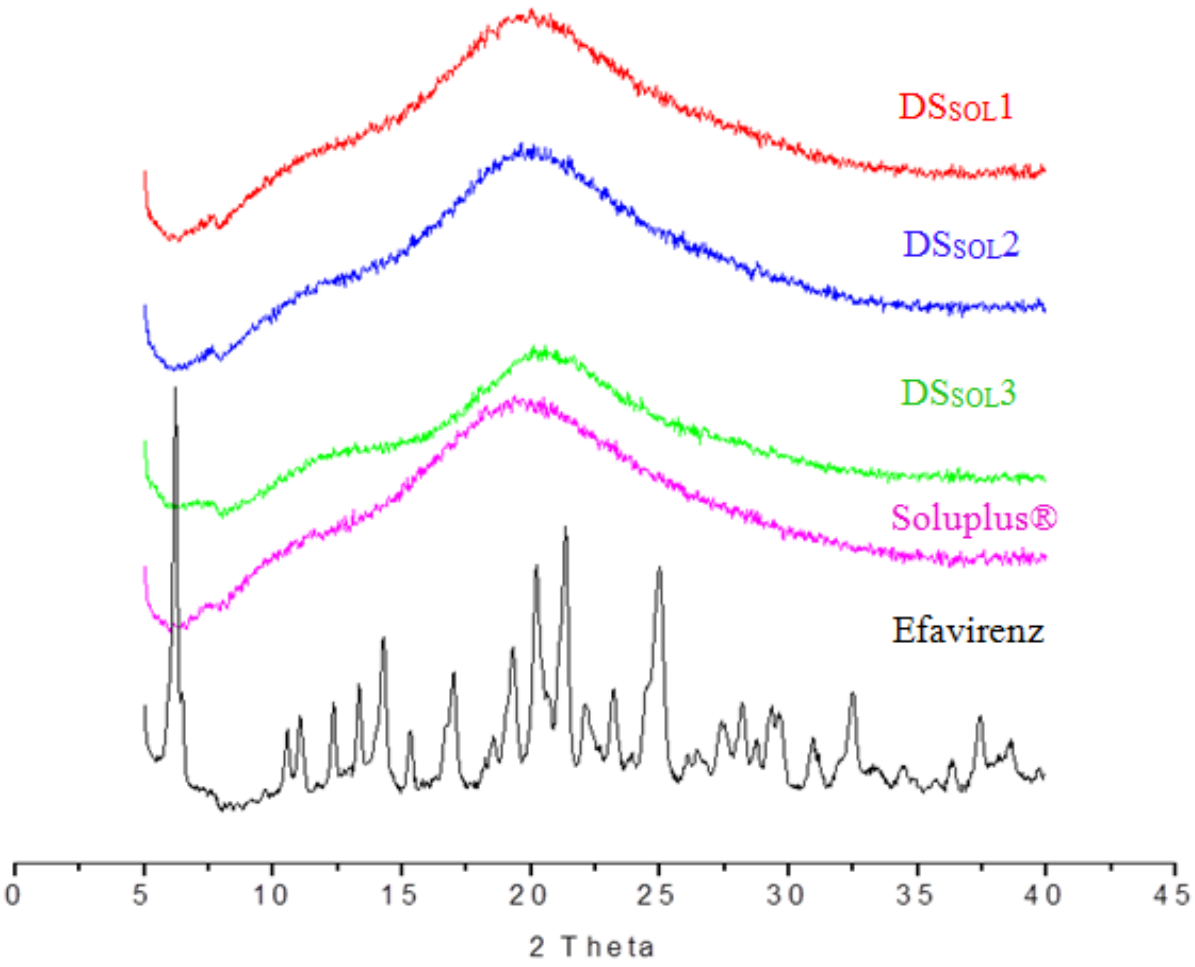
5.3.2 Difração de Raios-X (DRX)

A Fig. 33 apresenta o conjunto dos difratogramas de raios-X para as três amostras de DS_{SOL} juntamente com os difratogramas do EFV cristalino puro e do Soluplus® atomizado obtidos na região de 5-40° (2θ). O difratograma do EFV apresentou picos de difração finos e

bem definidos, confirmando a sua natureza cristalina, dentre os quais puderam ser identificados os picos obtidos à 6,20°, 20,20°, 21,35° e 25,00° característicos da forma polimórfica I, segundo descrito na literatura (MAHAPATRA et al., 2010).

O difratograma do Soluplus®, por sua vez, não apresentou picos de difração, o que era esperado, tratando-se de uma estrutura amorfa (HOMAYOUNI et al., 2015). Nos difratogramas de todas as formulações DS_{SOL} também não se identifica picos de difração correspondentes à forma cristalina do EFV. Em suma, os resultados das análises de DRX associadas aos obtidos da analise térmica (DSC) indicam, de forma complementar, que ocorreu a amorfização do EFV nas amostras $DS_{SOL}1$, DS_{SOL2} e $DS_{SOL}3$.

Figura 33 - Difratogramas de raios-X referentes ao EFV cristalino, ao polímero Soluplus® atomizado e às dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* $DS_{SOL}1$, DS_{SOL2} e $DS_{SOL}3$.



Fonte: Autoria própria.

5.3.3 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

A molécula de Efavirenz apresenta na sua estrutura molecular grupos doadores (N–H) e aceptores (C=O e –O–) de Hidrogênio (H^+). O Soluplus® é um copolímero composto de vinil acetato, caprolactama e polietilenoglicol contendo grupos funcionais de O–H e C=O (HOMAYOUNI et al., 2015), o que poderia favorecer a formação de interações com a molécula do EFV por pontes de H^+.

Com o objetivo de avaliar possíveis interações químicas entre o EFV e o Soluplus®, amostras dos componentes puros e dos sistemas DS_{SOL} foram analisadas e os espectros FT-IR correspondentes estão apresentados na Fig. 34.

O espectro do EFV puro apresentou picos bem definidos e com intensidade significante em 3320 cm^{-1} (vibração de estiramento do N–H), em 2250 cm^{-1} (vibração de estiramento C ≡ C); em 1750 cm^{-1} (vibração de estiramento do C = O). Ligações com o composto halogenado Flúor também foram identificadas em picos característicos na região de 1250 cm^{-1} (vibração de estiramento C – F).

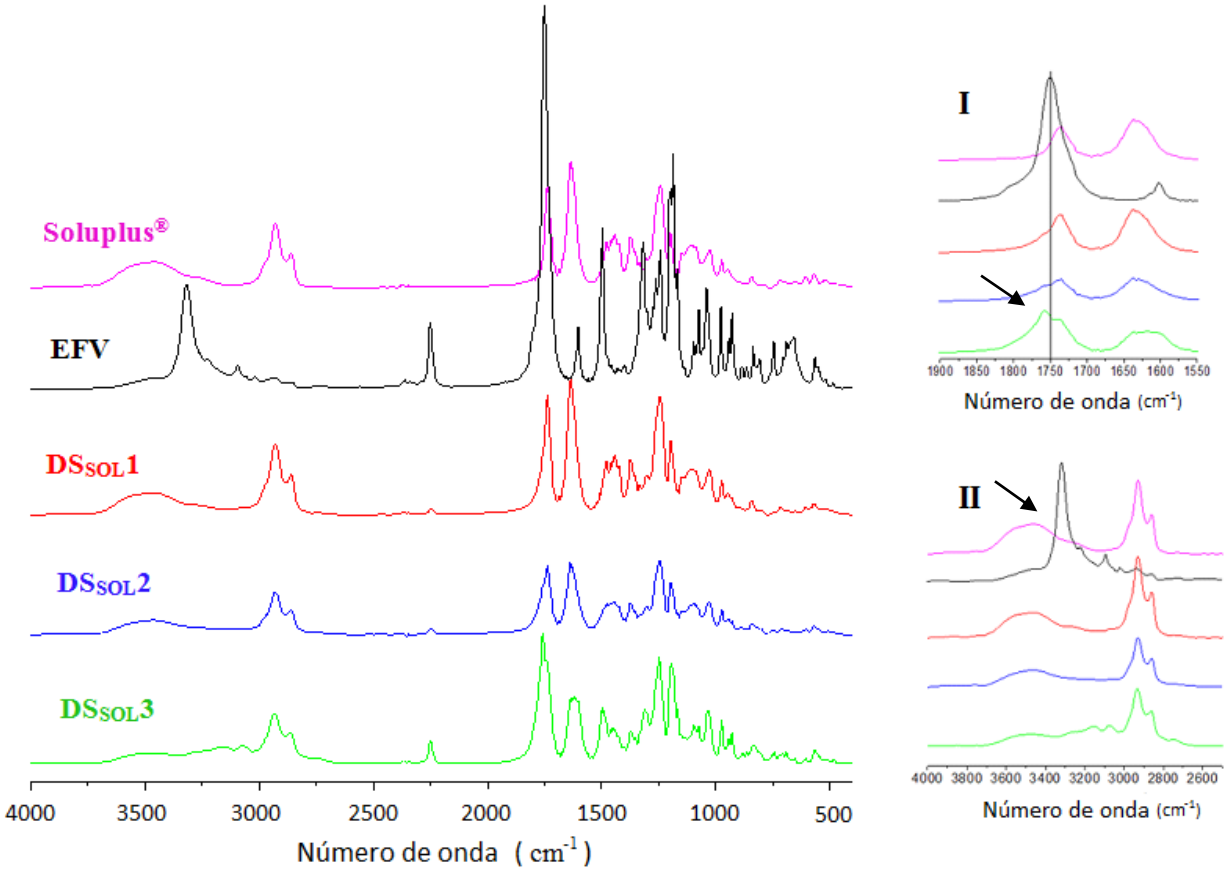
Já o polímero Soluplus® exibiu picos característicos a 3350 cm^{-1} (vibração de estiramento O-H), 2924 cm^{-1} (vibração de estiramento C-H alifático), 1750 cm^{-1} e 1632 cm^{-1} (estiramento C=O) e 1416 cm^{-1} atribuída à vibração de estiramento do C-O-C, conforme dados publicados na literatura (DJURIS et al., 2013; SHAMMA; BASHA, 2013)

Os espectros FT-IR dos sistemas DS_{SOL} apresentaram um aumento na intensidade dos picos característicos de acordo com o aumento da concentração de EFV no sistema binário, sobretudo na região de 2250 cm^{-1}, onde não há interferência do polímero (Fig. 34).

Verificou-se também o desaparecimento do pico a 3320 cm^{-1}, atribuído à vibração de estiramento N–H (Fig. 34 I) e um deslocamento do pico a 1750 cm^{-1} (C=O) para um número de onda maior, quando comparado ao EFV puro (Fig. 34 II).

Os eventos observados nas amostras de dispersões sólidas com o polímero Soluplus® podem ser atribuídos a possíveis interações por pontes de hidrogênio entre o grupo aceptor de prótons (C=O) do Soluplus® e o grupo doador de prótons (-NH) da molécula do EFV.

Figura 34 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero Soluplus® atomizado, EFV original e das misturas EFV:Soluplus® obtidas por *spray-drying* ($DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$). *Zoom* na região do espectro FT-IR: **I.** 1900-1550 cm^{1}(deslocamento do pico do EFV a 1750 cm^{-1} na amostra $DS_{SOL}3$). **II**. 4000-2500 cm^{-1} (desaparecimento do pico atribuído à vibração N-H a 3320 cm^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

5.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas

5.3.4.1 Teor de Efavirenz

O teor de EFV nas dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* foi determinado por CLAE segundo método analítico descrito no Capítulo 2 (item 4.2.3.5). Os valores experimentais são próximos dos valores teóricos, revelando uma boa incorporação do fármaco em todas DS_{SOL} (superior a 95%), sendo o maior desvio da ordem de 5% para $DS_{SOL}2$.

Tabela 10 - Características das soluções preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós obtidos após o processo de secagem (DS_{SOL}).

Amostras	Solução	Características do pó						
	μ (mPa.S ± DPR %)	Recuperação (%)	Teor de EFV (% ± DPR)		Tamanho de partícula (n=3) (μm ± dp)			
			Teórico	Exp	Dv10	D[4,3]	Dv90	Span
EFV	-	-	100	100	1,9 ± 0,6	21,6 ± 1,8	46,0 ± 2,4	2,2
Soluplus®	10,7 ± 2,9	-	-	-	-	-	-	-
$DS_{SOL}1$	9,8 ± 2,5	71,1 ± 1,0	10	10,0 ± 1,5	3,5 ± 0,6	7,7 ± 0,3	12,9 ± 0,4	1,3
$DS_{SOL}2$	9,9 ± 2,9	77,3 ± 1,1	15	14,3 ± 0,6	2,4 ± 0,4	6,1 ± 0,2	10,8 ± 0,3	1,6
$DS_{SOL}3$	9,9 ± 3,4	71,3 ± 1,0	45	44,1 ± 1,6	1,0 ± 0,01	4,2 ± 0,5	8,5 ± 1,3	2,2

μ - Viscosidade; **DPR -** Desvio padrão relativo ou coeficiente de variação (%).

Fonte: Autoria própria.

5.3.4.2 Tamanho de Partículas e Rendimento do Processo

O tamanho das partículas é um fator crítico no desenvolvimento de dispersões sólidas, pois tem impacto direto na cinética de dissolução (FRIZON et al., 2013). A Tabela 10 também apresenta os dados referentes ao tamanho e distribuição das partículas de EFV e DS_{SOL}. $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ que possuem, respectivamente, um diâmetro médio em volume D[4,3] de 7,7μm, 6,1μm e 4,2μm. A avaliação estatística por ANOVA *one-way* mostrou que os tamanhos apresentados diferem estatisticamente ($p < 0,05$) entre si. Os dados obtidos indicam uma redução do tamanho das partículas com o aumento da concentração de EFV nas DS_{SOL}.

De maneira geral, o tamanho reduzido das partículas de DS_{SOL} (< 12.9 µm) pode ser atribuído à baixa viscosidade das soluções atomizadas (~ 9,9 mPa.s) e a vazão do nitrogênio (máxima para o equipamento utilizado). O rendimento do processo situou-se na faixa de 71 à 77% (massa de produto seco recuperado/massa de EFV+Soluplus® na solução a ser seca), o que pode ser considerado adequado em equipamentos de pequena escala (laboratório, capacidade nominal de evaporação < 1 kg de água/h) (MAURY et al., 2005).

5.3.4.3 Morfologia das Estruturas Sólidas (DS_{SOL})

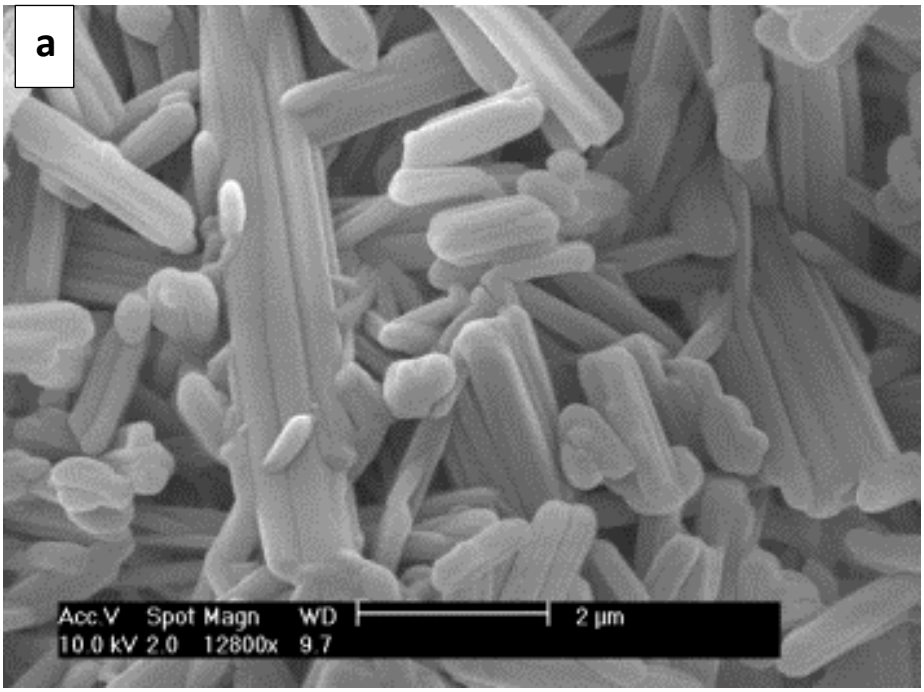
Os pós obtidos após a secagem das soluções de EFV:Soluplus® em etanol foram analisados por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Imagens MEV do EFV cristalino e do polímero Soluplus® atomizado foram obtidas para efeito de comparação (Figs. 35a e 35b). A amostra do EFV atomizado isoladamente não pôde ser analisada por MEV em razão da dificuldade de recuperação de um pó seco e disperso no final do processo de secagem.

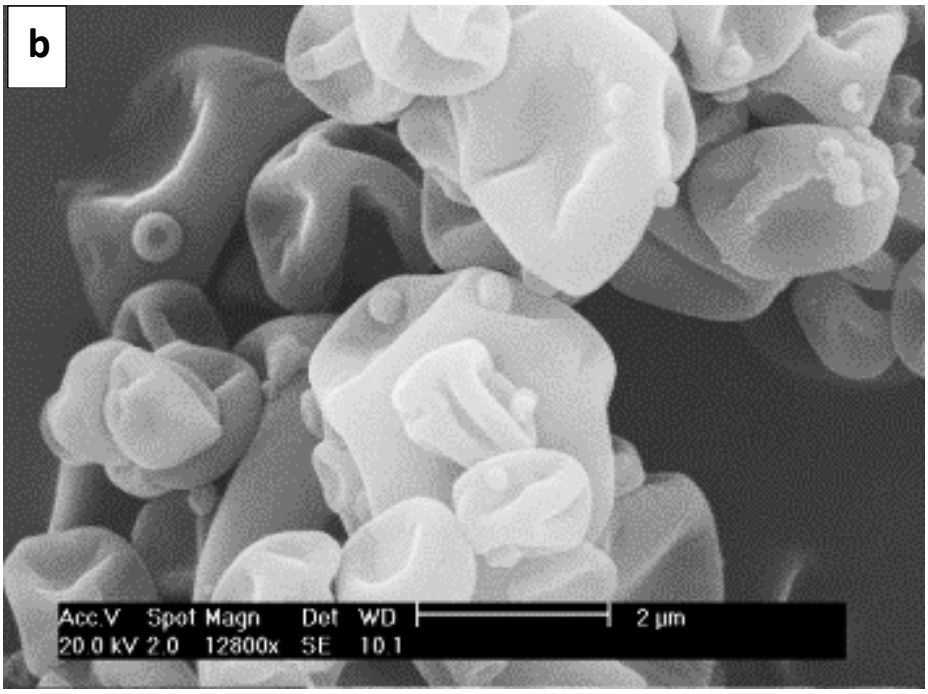
A Fig. 35a apresenta a imagem referente aos cristais do fármaco EFV, indicando estruturas com uma forma alongada (bastonetes). Estes bastonetes apresentam uma geometria regular e multifacetada, em concordância com a definição de cristais ortorrômbicos descrita na literatura (MISHRA et al., 2012).

Soluplus® puro atomizado gerou partículas com concavidades de diferentes profundidades na superfície (Fig. 35b), como já observado em outras estruturas poliméricas atomizadas por *spray-drying* (VEHRING, 2008).

A Fig. 36 reúne imagens das amostras de $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$. Em comparação às imagens das partículas de Soluplus® atomizado (Fig. 3.6b), a morfologia das partículas $DS_{SOL}1$ (Fig. 36a) e $DS_{SOL}2$ (Fig. 36b) praticamente não foi afetada pela presença do fármaco. Contrariamente, as partículas obtidas após a secagem da $DS_{SOL}3$ (36c), constituídas por uma maior proporção de EFV (~44% em massa), apresentaram-se como partículas de forma predominantemente esférica.

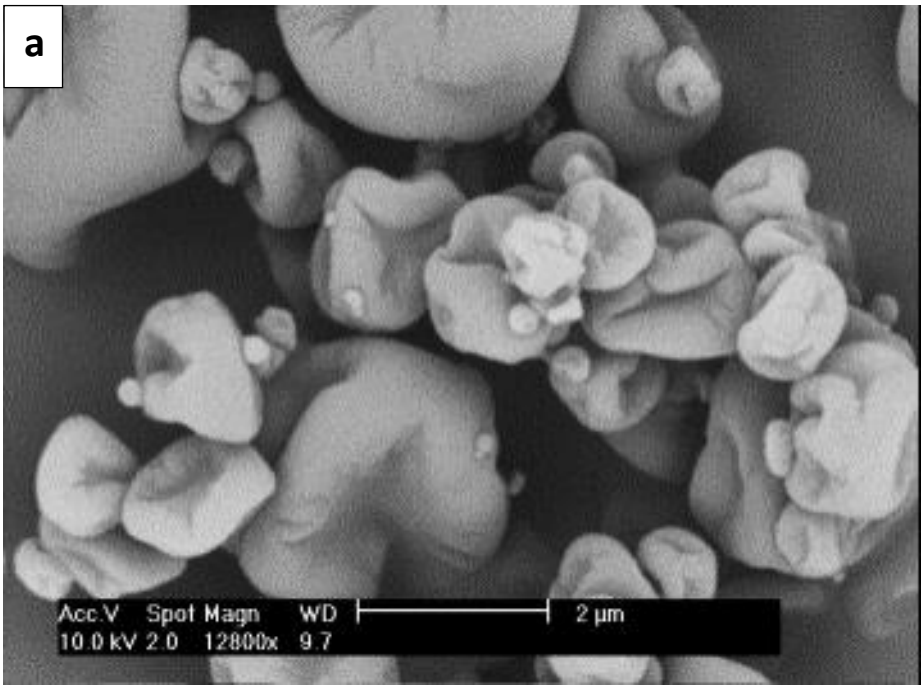
Figura 35 - Micrografias obtidas por MEV de: (a) cristais de EFV e (b) polímero Soluplus® seco por *spray-drying*.

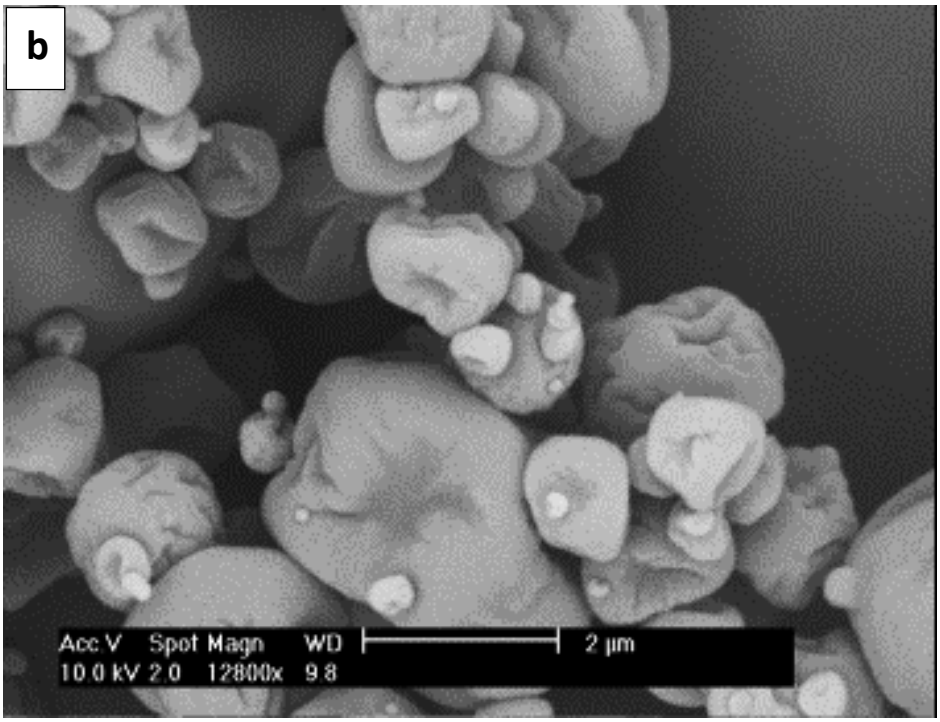




Fonte: Autoria própria.

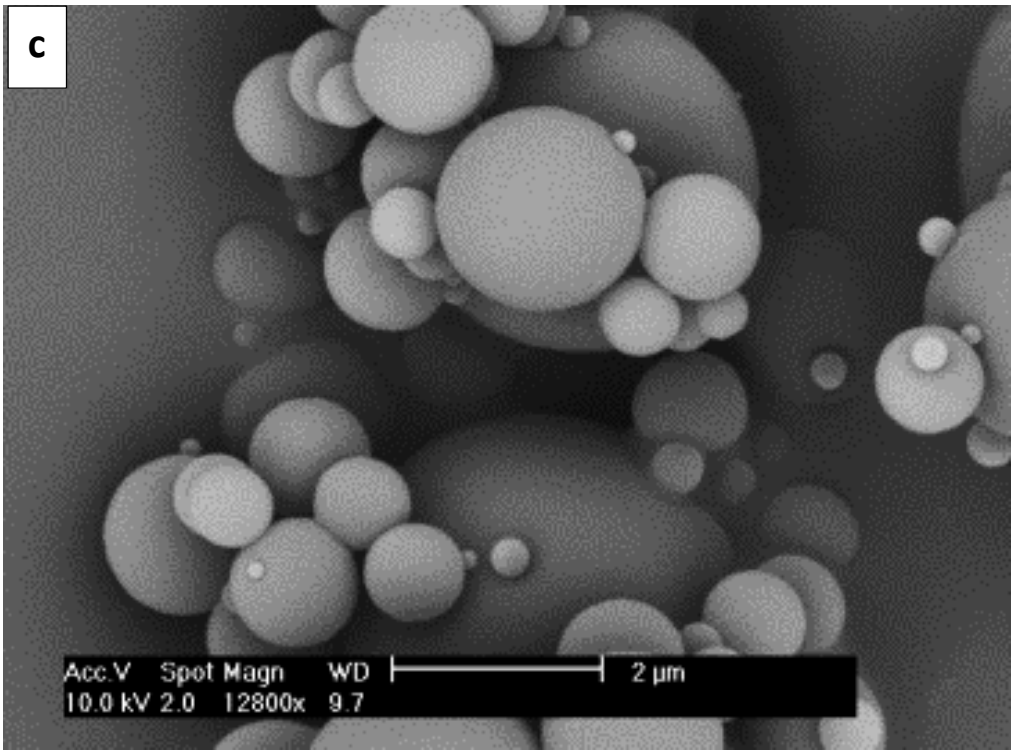
Figura 36 (a,b) - Micrografias obtidas por MEV de produtos secos por *spray-drying*: (a) $DS_{SOL}1$ e (b) $DS_{SOL}2$.





Fonte: Autoria própria.

Figura 36 (c) - Micrografias obtidas por MEV de produtos secos por spray-drying: (c) $DS_{SOL}3$.



Fonte: Autoria própria.

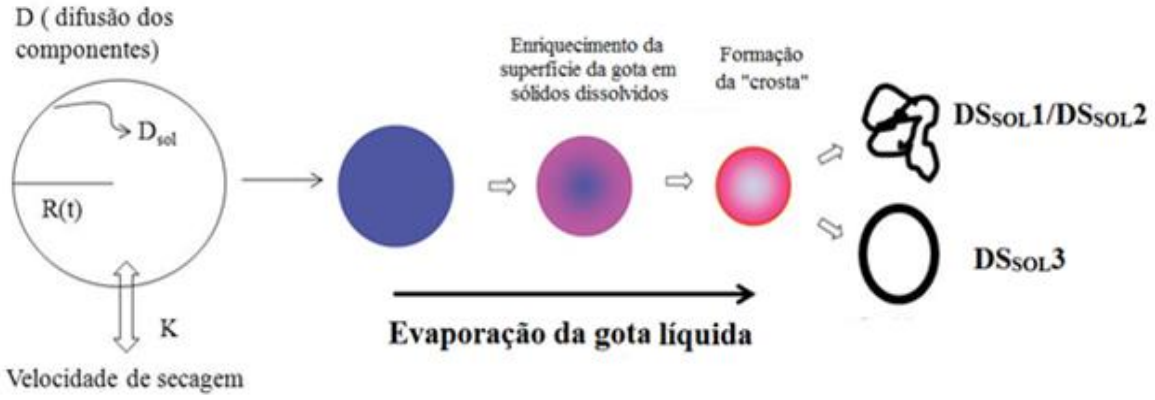
A concentração polimérica das soluções que geraram as três formulações permaneceu constante, no entanto, houve mudança na quantidade do EFV nelas incorporado. A variação morfológica observada para $DS_{SOL}3$ é atribuída aqui aos fenômenos que intervêm na formação das partículas sólidas no processo de secagem por spray-drying, frequentemente discutidos na literatura (VEHRING, 2008): velocidade de evaporação do solvente, difusão dos componentes em solução no interior das gotas líquidas formadas, características físicas da crosta sólida inicialmente formada na superfície das gotas durante a secagem.

A Fig. 37 esquematiza esta evolução com a finalidade de explicar a variação de morfologia entre $DS_{SOL}1$/$DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$. Os efeitos dos fenômenos de transporte (difusão dos componentes na solução, velocidade de secagem) são normalmente representados pelo número adimensional de Peclet, **Pe** ($Pe = V_f.R/D_{sol}$).

O número de Peclet estabelece um balanço entre efeitos convectivos e difusivos em uma gota submetida à evaporação para a qual a energia é fornecida pelo gás de secagem (no caso deste estudo, N_2). Considerando-se que a velocidade de evaporação do solvente é mais rápida do que a dos efeitos difusivos no interior da partícula ($Pe > 1$), a superfície da gota atinge rapidamente a supersaturação crítica levando à formação de uma crosta sólida. A partir

dessa etapa, o fenômeno da difusão interna passa a ser controlado pela barreira física que a crosta representa, ocorrendo assim uma redução na velocidade de evaporação do solvente (VEHRING, 2008).

Figura 37 - Representação esquemática enriquecimento da superfície da gota em sólidos dissolvidos durante a evaporação (formação mais lenta da crosta em $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}2$ em comparação à $DS_{SOL}3$).



Fonte: Adaptada de VEHRING, 2008. Reproduzido com permissão.

Em $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}2$, a concentração mássica total de sólidos é quase a mesma (11% e 11, 4%, respectivamente) que a solução polimérica sem o EFV (10%) e a maior parte dos sólidos é polímero. Mesmo que haja interação entre fármaco e polímero, o mecanismo de formação das partículas não poderia ser muito diferente, resultando, portanto, em estruturas de morfologia similar. Por outro lado, a $DS_{SOL}3$ é constituída de 18% de sólidos totais em massa, sendo praticamente metade fármaco e metade polímero. Neste caso, a concentração critica é atingida mais rapidamente levando à formação da crosta sólida que, composta de fármaco e polímero em proporções quase equivalentes, evolui diferentemente da crosta sólida formada em $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}2$ e 'congela' a forma física da gota (esférica).

5.3.4.4 Distribuição dos componentes nas estruturas sólidas (DS_{SOL})

A Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) associada à espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX) e o mapeamento por microscopia RAMAN foram as técnicas utilizadas para analisar a distribuição dos componentes EFV e Soluplus® nas amostras de DS_{SOL} produzidas.

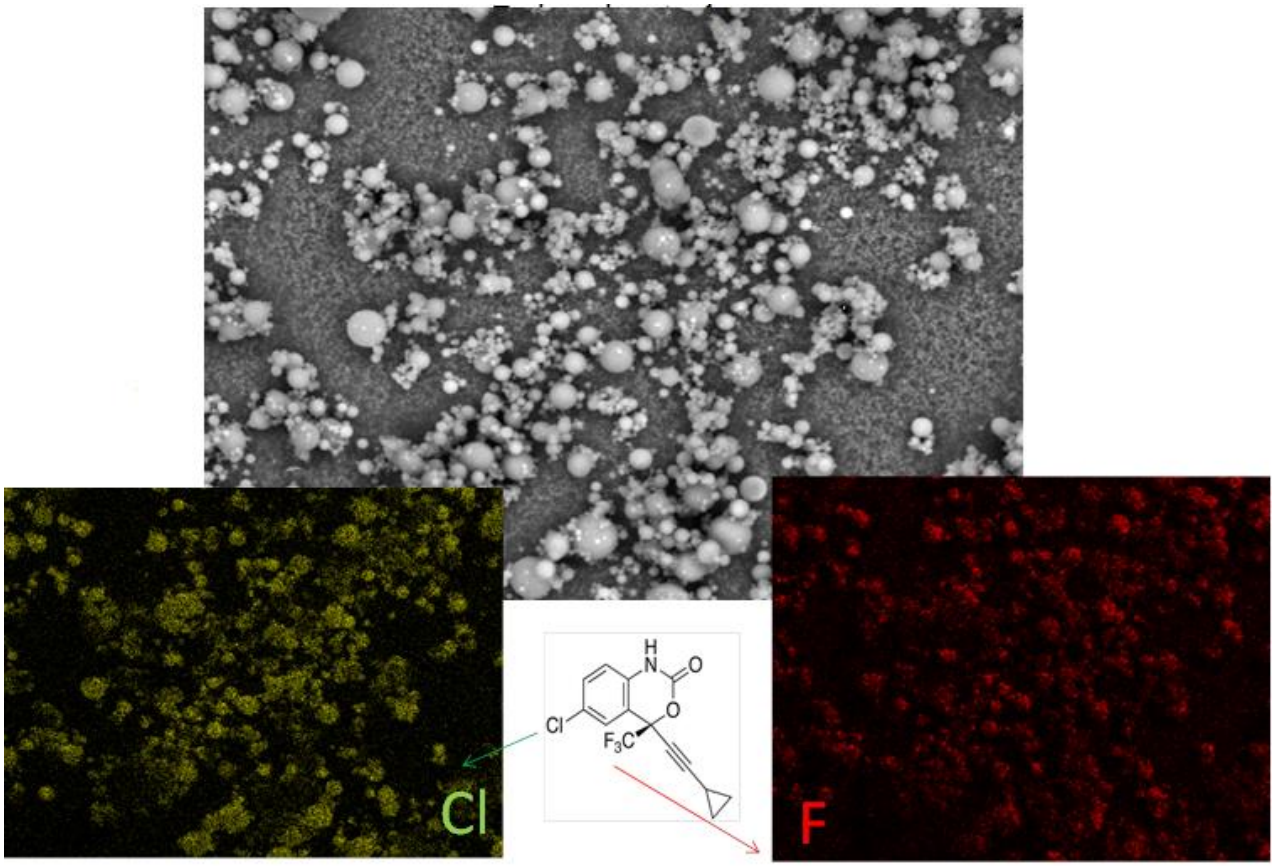
5.3.4.4.1 MEV-EDX

Para certas moléculas como o EFV, alguns elementos químicos presentes na estrutura molecular podem ser cartografados por cartografia X associada à MEV (PAPADIMITRIOU et al., 2012). O EFV apresenta na sua estrutura química molecular átomos de Cloro (Cl) e Flúor (F), que funcionam como elementos marcadores da distribuição do fármaco nas DS_{SOL}.

A análise foi realizada apenas na amostra com maior concentração de EFV ($DS_{SOL}3$), considerando a maior probabilidade de se identificar o EFV. O mapeamento espectral a partir dos dois elementos químicos, Cloro e Flúor, permitiu a obtenção de imagens espectrais a partir da energia específica emitida por esses átomos elementares.

A cartografia realizada por EDX permitiu a composição das imagens mostradas na Fig. 38, onde o elemento Flúor foi representado pela coloração vermelha e o Cloro pela cor amarela, em sobreposição à imagem original das partículas obtida pela análise por MEV.

Figura 38 - Mapeamento espectral com análise elementar para os átomos de Cloro (amarelo) e Flúor (vermelho) do EFV indicando a localização do fármaco em $DS_{SOL}3$.



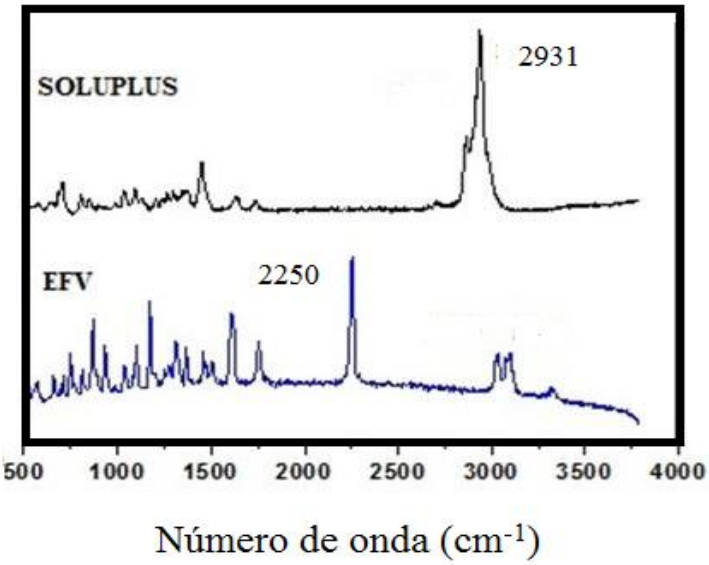
Fonte: Autoria própria.

As imagens mostraram que as cores vermelha e amarela encontraram-se associadas a todas as partículas, indicando distribuição aparentemente homogênea do EFV, apesar de não ser possível, através desta técnica, identificar a localização espacial exata das moléculas de fármaco nas partículas cartografadas.

5.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN

A análise da distribuição do EFV e do Soluplus® nas DS_{SOL} de forma mais efetiva pôde ser obtida por espectrometria RAMAN. Inicialmente, os espectros da região de interesse dos componentes isolados da mistura (EFV amorfo e Soluplus® atomizado) evidenciaram as bandas características do Soluplus® em 2931 cm^{-1} (OLKHOVYK et al., 2012) e do EFV em 2250 cm^{-1} (MISHRA et al., 2012), que serviram como marcador da presença dos componentes nas amostras de DS_{SOL} (Fig. 39).

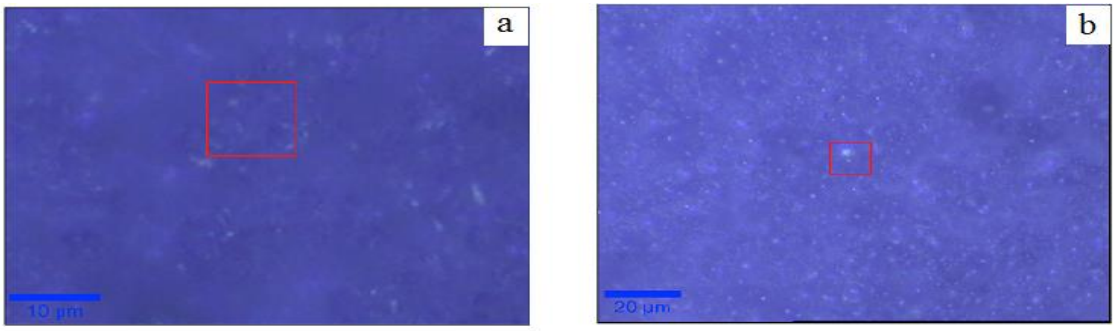
Figura 39 - Espectros RAMAN evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do Soluplus® (2931 cm^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

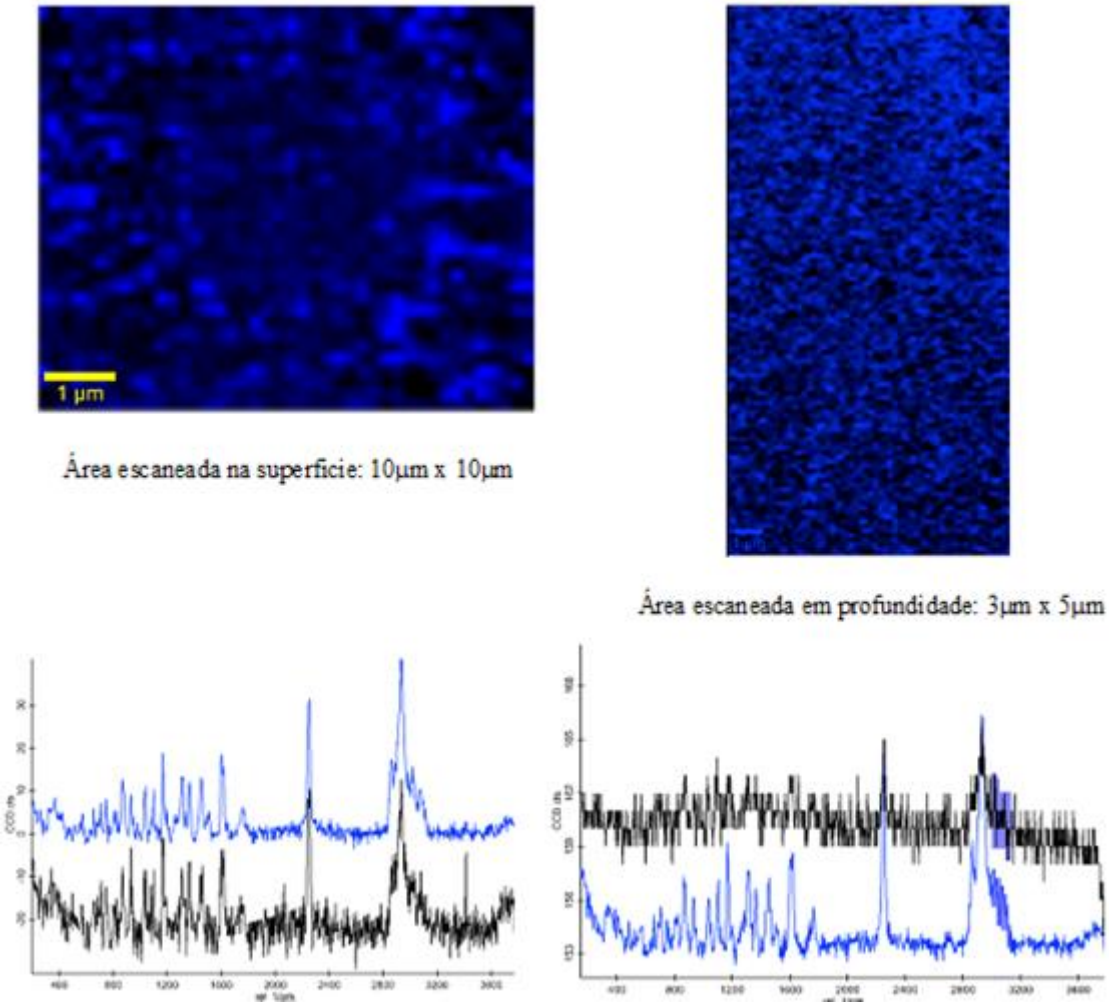
As amostras DS_{SOL} foram analisadas numa área de 10 μm x10 μm em superfície e por 8 μm x 20 μm em profundidade para a $DS_{SOL}1$ (Fig. 41); e 10 μm x10 μm em superfície por 10 μm x 20 μm em profundidade para a $DS_{SOL}3$ (Fig. 42).

Figura 40 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras: (a) $DS_{SOL}1$; (b) $DS_{SOL}3$, indicando as áreas analisadas para cada amostra.



Fonte: Autoria própria.

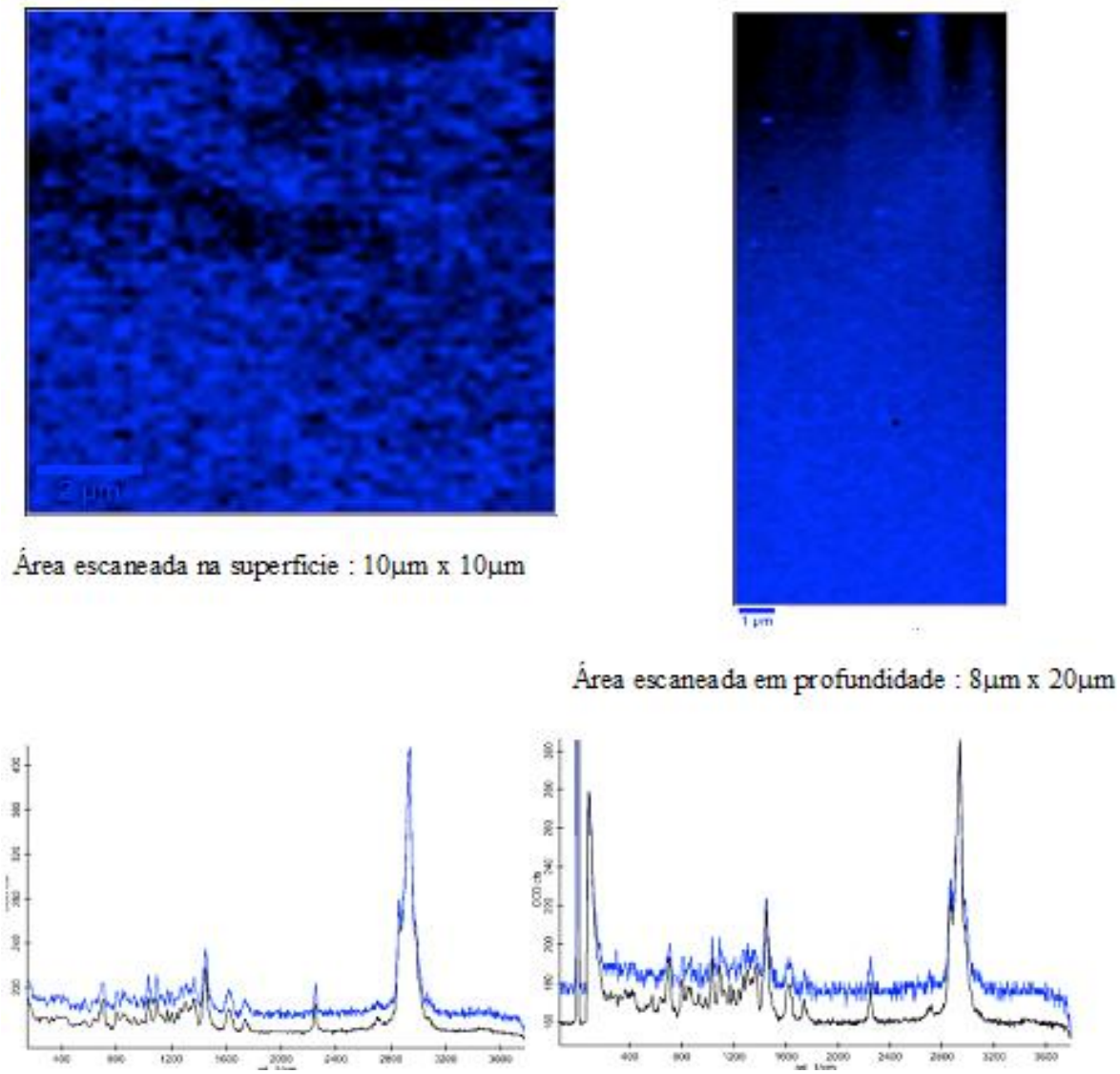
Figura 41 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV (azul) e Soluplus® (preto); e os espectros RAMAN evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm-1) e do Soluplus® (2931 cm-1) para a amostra $DS_{SOL}1$.



Fonte: Autoria própria.

Em seguida, as informações espectrais foram investigadas pixel a pixel nas áreas escaneadas de cada amostra DS_{SOL} (Fig. 40) formando as imagens apresentadas nas Figs. 41 e 42. Os espectros obtidos das regiões mostram sobreposição dos sinais RAMAN do EFV (visualizados em azul) e dos sinais referentes ao polímero Soluplus® (visualizados em preto), correspondendo à mistura dos dois componentes.

Figura 42 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV (azul) e Soluplus® (preto); (c) Espectros RAMAN evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do Soluplus® (2931 cm^{-1}) para a amostra $DS_{SOL}3$.

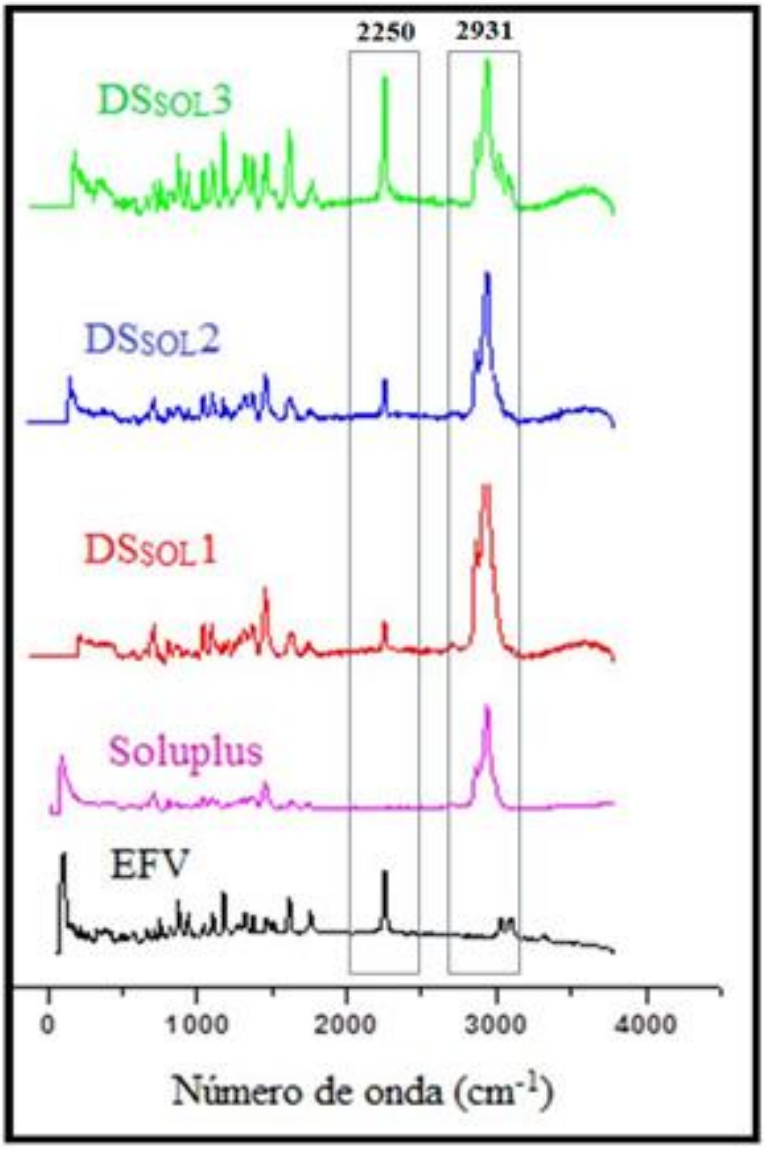


Fonte: Autoria própria.

A Fig. 43 apresenta os espectros obtidos para cada amostra de DS_{SOL}, permitindo uma melhor visualização onde é possível identificar a presença dos picos correspondentes aos dois

componentes presentes na mistura. É possível também verificar que a intensidade do pico característico do EFV aumentou de acordo com a quantidade de fármaco presente nas DS_{SOL} ($DS_{SOL}3$> $DS_{SOL}2$> $DS_{SOL}1$).

Figura 43 - Espectros RAMAN de DS_{SOL} indicando a presença dos picos característicos do EFV (2250 cm^{-1}) e do polímero Soluplus® (2931 cm^{-1})



Fonte: Autoria própria.

5. 4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas

Dispersões sólidas são conceitualmente programadas para melhorar propriedades de fármacos que apresentam problemas relacionados à biodisponibilidade. A transformação de

um fármaco de um estado cristalino para amorfo aumenta sua solubilidade em meio aquoso (ALVES et al., 2014). Entretanto, esta forma é também termodinamicamente instável e tende a evoluir para um estado de menor energia, levando à recristalização. Assim, as propriedades "funcionais" avaliadas foram a solubilidade, a cinética de dissolução em meio aquoso e a estabilidade em condições controladas de temperatura e umidade.

5.4.1 Estudo de Solubilidade

A solubilidade aparente do EFV nas DS_{SOL} foi medida a 37°C nos meios: água purificada, LSS 0,25% em água e em fluido entérico simulado (FeSSIF).

Os dados obtidos (Tabela 11) mostraram um aumento na solubilidade aparente para todas as formulações DS_{SOL} em relação ao fármaco cristalino, considerando os três meios avaliados. Experimentalmente, o EFV cristalino apresentou uma solubilidade aquosa de 1,74±8,0 µg/ml, cujo valor foi aumentado pela adição de 0,25% LSS para 350,11± 2,54 µg/ml. Em meio FeSSIF, a solubilidade encontrada foi de 861,97 ± 2,94 µg/ml, cerca de 500 vezes maior que a solubilidade do fármaco cristalino em água.

O logP do EFV é 5,4, o que indica alta lipofilicidade. Taurocolato de sódio e lecitina são surfactantes naturais, presentes no meio FeSSIF, responsáveis pela formação de agregados lipídicos maiores e mais complexos que as micelas formadas com surfactantes sintéticos como o LSS (ILARDIA-ARANA et al., 2005). Dessa forma, pode-se atribuir a maior solubilidade do EFV no meio FeSSIF ao efeito sinérgico do taurocolato de sódio e da lecitina conduzindo a um incremento na solubilidade do EFV por solubilização micelar.

De acordo com os dados obtidos, fica evidente que a solubilidade aparente do fármaco foi consideravelmente aumentada nos três meios avaliados para as dispersões sólidas. Estes resultados podem ser explicados pela característica anfifílica do Soluplus® que devido a presença de um certo número de hidroxilas na sua estrutura química o tornam um bom agente solubilizante para fármacos de baixa solubilidade aquosa (TAKRAL, 2012).

O efeito do aumento da solubilidade aparente foi avaliado em termos do aumento na solubilidade (ER_{sol}), tomando como referência a solubilidade do fármaco cristalino no meio avaliado (Tabela 11). A solubilidade aparente em água e em LSS foi incrementada com o aumento da proporção polimérica (efeito co-solvente). A amostra $DS_{SOL}2$ mostrou o máximo de aumento de concentração (4330,66 ± 0,51 µg/ml) no meio LSS, com ERsol de 12 vezes.

Surpreendentemente em meio FeSSIF, apesar de ter sido verificado aumento na solubilidade aparente para todas as DSSOL, não se observou o efeito da concentração do polímero ($p<0,05$) provavelmente devido à maior variabilidade dos dados experimentais (maior desvio padrão relativo). O resultado obtido para o meio biorrelevante é de grande importância em razão deste meio apresentar características mais próximas ao TGI, simulando inclusive o estado alimentado (FAGERBERG et al., 2010).

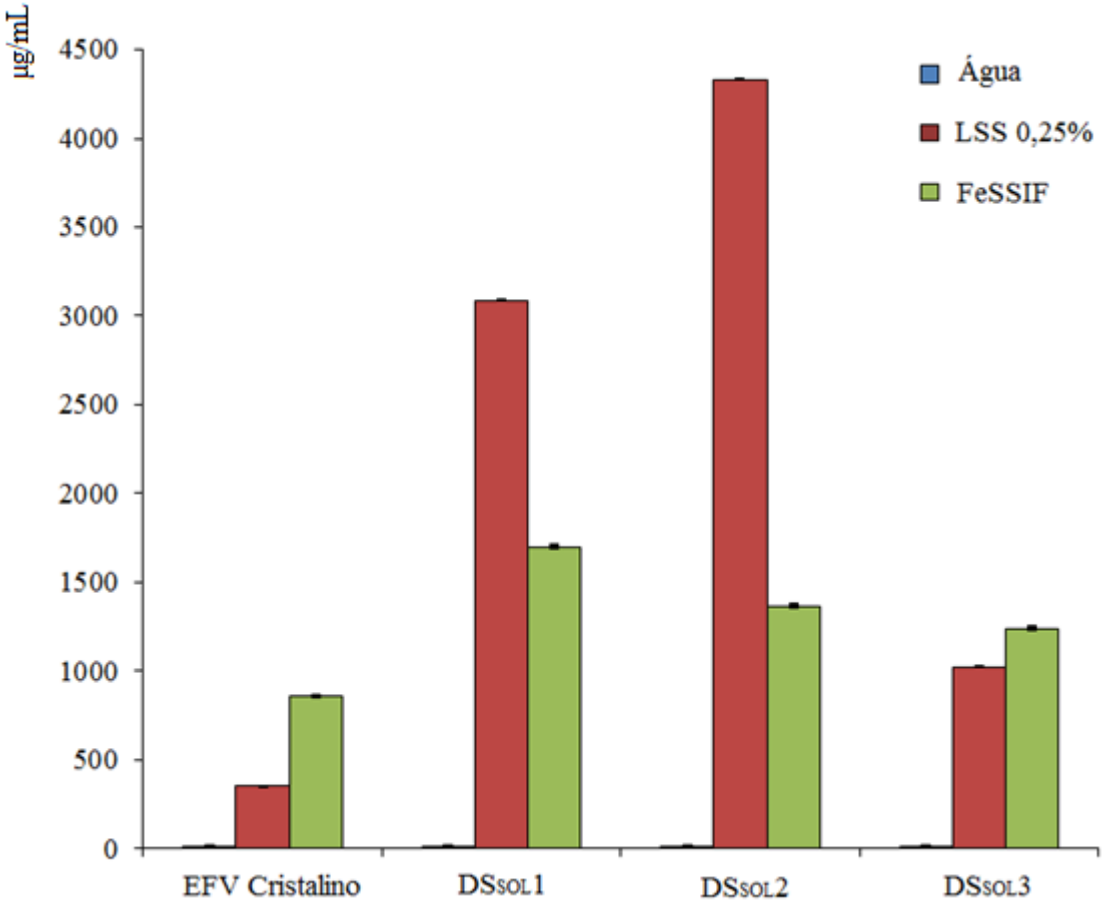
O incremento na solubilidade pode ser melhor visualizado no gráfico apresentado na Fig. 44.

Tabela 11 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e solubilidade aparente das partículas de DS_{SOL} em água purificada, em água contendo LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0,5°C.

Meio	**Solubilidade* (µg/mL ± DPR) a 37°± 0,5°C**			
	EFV cristalino	**$DS_{SOL}1$**	**$DS_{SOL}2$**	**$DS_{SOL}3$**
EFV:Soluplus®	**1:0**	**1:10**	**1:5**	**1 : 1,25**
Água purificada	1,74 ± 8,00 (n=2)	15,95 ± 5,82 (n=2)	14,78 ± 5,31 (n=2)	9,97 ± 13,84 (n=2)
ER_{sol}	**-**	**9**	**8,5**	**6**
LSS 0,25% (m/v)	350,11± 2,54 (n=3)	3088,32 ± 1,54 (n=3)	4330,66 ± 0,51 (n=3)	1022,44 ± 0,31 (n=3)
ER_{sol}	**-**	**9**	**12**	**3**
FeSSIF	861,97 ± 2,94 (n=2)	1698,21 ± 8,24 (n=2)	1365,55 ± 7,71 (n=2)	1241,04 ± 11,82 (n=2)
ER_{sol}	**-**	**2**	**1,6**	**1,5**

Fonte: Autoria própria.

Figura 44 - Gráfico representativo da solubilidade do fármaco EFV cristalino e da solubilidade aparente das partículas de $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0.5°C.

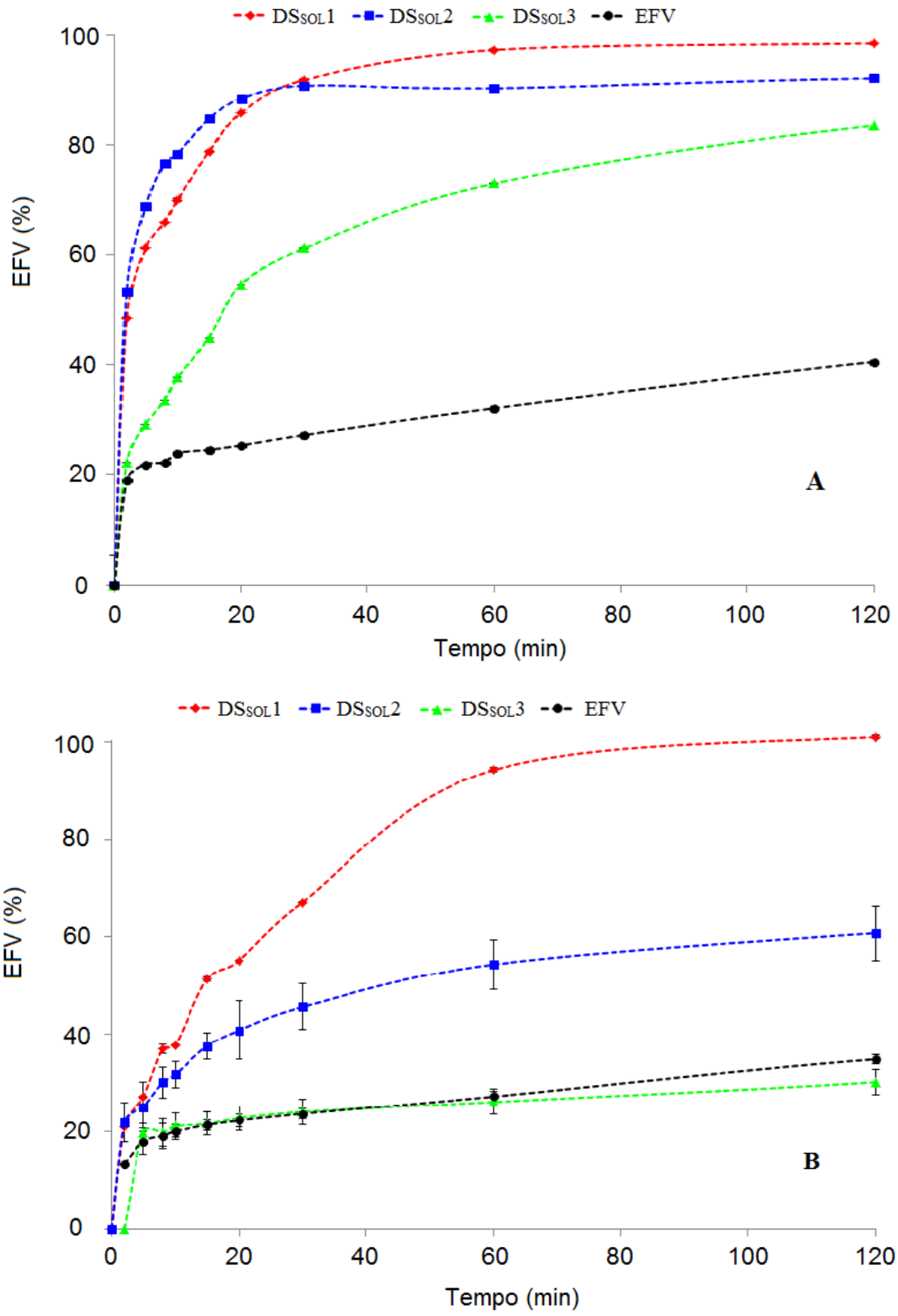


Fonte: Autoria própria.

5.4.2 Dissolução in vitro

Para este estudo foram utilizados os meios aquosos LSS 0,25% (m/v) e FeSSIF. Os gráficos comparativos para as amostras $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ são apresentados nas Fig. 45a e 45b, respectivamente. De uma maneira geral, como esperado, todas as DS_{SOL} liberaram o fármaco em concentrações visivelmente maiores que o fármaco cristalino puro, em ambos os meios avaliados, exceto para a amostra $DS_{SOL}3$ no meio FeSSIF, que apresentou quase uma sobreposição da cinética de liberação em relação ao fármaco cristalino.

Figura 45 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* em: (a) LSS 0.25%; (b) FeSSIF.



Fonte: Autoria própria.

O guia para testes de dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata estabelece que fármacos de Classe II (SCB) devem ser avaliados em dois tempos cinéticos, sendo o primeiro a 15 min e o segundo após 30, 45 ou 60 min, no qual 85% do fármaco devem estar dissolvidos (FDA, 1997).

Para o meio FeSSIF, apenas a amostra $DS_{SOL}1$ (maior proporção polimérica) apresentou um percentual de liberação do EFV acima de 80%. Esse teor de EFV liberado foi atingido após cerca de 40 min, enquanto que para a mesma formulação ($DS_{SOL}1$), no meio contendo LSS 0,25%, o percentual dissolvido foi atingido em 20 min. No meio FeSSIF, as demais formulações apresentaram um percentual de EFV dissolvido inferior ao preconizado mesmo após 120 min de análise.

O fármaco EFV no meio contendo LSS 0,25% dissolveu-se rapidamente, apresentando um valor de aproximadamente 50% (fármaco dissolvido) para a $DS_{SOL}3$ e 80% para as $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}2$ em 20 min, sendo observado, portanto, o efeito *spring*, desejável nas formulações de dispersões sólidas amorfas, onde o fármaco amorfo se dissolve juntamente com a matriz polimérica formando rapidamente uma solução de concentração elevada (BAGHEL et al., 2016). Para estas amostras, não foi verificado o declínio da concentração do fármaco, no período monitorado (2 h), indicado que não houve transformação da estrutura amorfa em cristalina mediada pelo solvente. A transformação de estruturas amorfas em cristalinas durante o processo de dissolução tem sido considerada um fator limitante no desenvolvimento de dispersões sólidas amorfas, pois a recristalização no meio biológico pode influenciar diretamente a absorção dos fármacos presentes nestes sistemas (BABU; NANGIA, 2011).

5.4.2.1 Tratamento Cinético (modelos independente e dependente)

A interpretação quantitativa dos valores obtidos em um ensaio de dissolução é facilitada pelo uso de equações que traduzem matematicamente a curva de dissolução. As cinéticas de liberação obtidas neste estudo foram avaliadas a partir da eficiência da dissolução (modelo independente) conforme descrito a seguir.

A avaliação quanto ao modelo matemático que melhor descreve o mecanismo de liberação será objeto de discussão no Capítulo 6.

5.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução

A eficiência de dissolução (ED) foi calculada a partir dos valores da área sob a curva (ASC) do perfil de dissolução paras as formulações $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ no intervalo de tempo entre 0 e 120 min. Os resultados encontram-se na Tabela 12.

Tabela 12 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras de dispersão sólida $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED_{120}) utilizando análises estatísticas ANOVA e teste de *Tukey*, considerando nível de significância de 95%.

Amostra	**Teor de EFV (%) ± DPR**	**Meio LSS 0.25% (m/v)**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED_{120}) média (n=2)*	
EFV	100	31,47 ± 0,01	27,00 ± 0,21 [a]
$DS_{SOL}1$	10,0 ± 0,1	91,08 ± 0,05	80,13 ± 0,23b
$DS_{SOL}2$	14,3 ± 0,1	87,84 ± 0,18	49,12 ± 2,57c
$DS_{SOL}3$	44,1 ± 0,7	66,77 ± 0,05	28,07 ± 0,03 [a]

* Os valores representam a média de duas determinações independentes.

[a] Os valores não diferem estatisticamente ($p<0,05$).

Fonte: Autoria própria.

A análise de variância *one-way* (ANOVA) mostrou haver diferença estatisticamente significativa entres as três formulações ($p>0.05$) nos dois meios avaliados. Para determinar diferenças em ED_{120}, foi aplicado o teste p*ost hoc* de Tukey, a partir do qual foi possível verificar que a eficiência de dissolução dos cristais de EFV no meio contendo LSS 0,25%, foi significativamente menor que das formulações DS_{SOL}, que também diferiram entre si. O mesmo comportamento foi observado no meio FeSSIF para as formulações DS_{SOL}. No entanto, a eficiência de dissolução da formulação $DS_{SOL}3$ não diferiu significativamente da estimada para o fármaco cristalino, fato este bem visualizado pela quase sobreposição dos perfis na Fig. 45b.

Nota-se que o aumento da concentração de fármaco nas dispersões sólidas reduz a eficiência de dissolução em ambos os meios estudados ($DS_{SOL}3<DS_{SOL}2<DS_{SOL}1$). Esta tendência pode ser atribuída à dois fatores distintos:

- Redução da distância entre as moléculas de EFV com o aumento da proporção do fármaco nas DS_{SOL}, facilitando o processo de nucleação e, consequentemente, a recristalização. Isto, provavelmente, foi o que ocorreu durante a dissolução da formulação $DS_{SOL}3$ no meio FeSSIF, onde a possível presença de parte do fármaco recristalizado dentro da dispersão sólida desacelerou a dissolução do EFV presente nesta amostra.

- Menor probabilidade de interação entre grupos hidrofóbicos do Soluplus® e do EFV com a redução da concentração do polímero.

Apesar de melhor refletirem o ambiente biológico, meios biorrelevantes como o FeSSIF tem uso limitado principalmente pelo alto custo e complexidade de preparação, sendo necessário o uso de meios mais simples como os que possuem tensoativos sintéticos (YANG et al., 2015). O lauril sulfato de sódio (LSS) é descrito como um tensoativo de escolha para o EFV (PANIKUMAR, et al 2012). No entanto, a diferença na eficiência de dissolução obtida neste estudo para os meios LSS 0,25% e FeSSIF mostram o interesse em uso do FeSSIF para avaliação de formulações para EFV que visam administração via oral.

5.5. Estudo de Estabilidade Previsional

5.5.1. Sorção de Umidade (DVS)

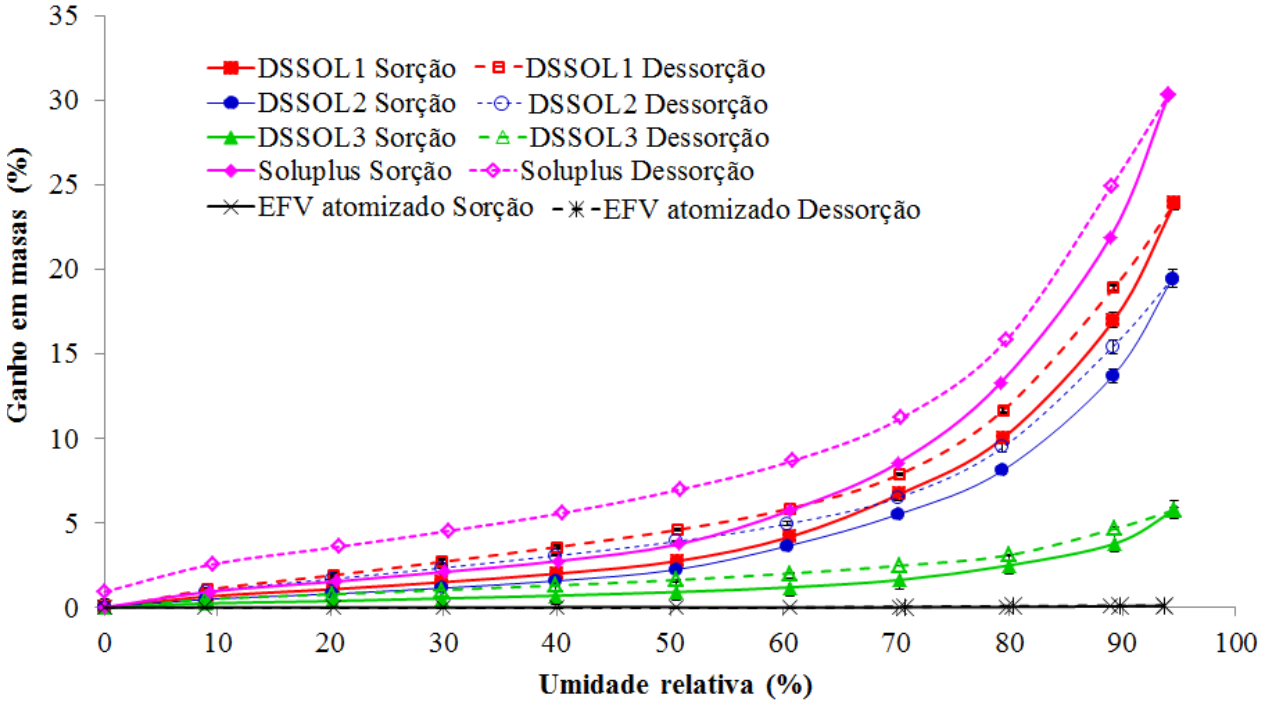
O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da composição das dispersões sólidas (DS_{SOL}) quanto à sorção de umidade determinando-se as isotermas de equilíbrio à 25°C. As isotermas obtidas por DVS são representadas graficamente na Fig. 46 (ciclos de sorção-dessorção).

As isotermas de dessorção confirmam a reversibilidade da captação da água de todas as dispersões sólidas. A histerese (separação) entre as isotermas de adsorção e dessorção provavelmente deve-se a um processo de dessorção limitado pela difusão no seio das estruturas amorfas.

A isoterma de sorção da água do polímero Soluplus® atomizado confirma o caráter higroscópico com um ganho de massa de 30,3% a 95% de UR, enquanto o EFV amorfo apresenta caráter hidrofóbico com ganho de massa de apenas 0,1%. Todas as três formulações

avaliadas ($DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$) apresentaram comportamento esperado, ou seja, a quantidade de água adsorvida diminuiu com o aumento da proporção do fármaco hidrofóbico presente no sistema binário ($DS_{SOL}3<DS_{SOL}2<DS_{SOL}1$).

Figura 46 - Isotermas de sorção e dessorção de água (DVS) para o polímero Soluplus®, para as dispersões sólidas $DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$ e $DS_{SOL}3$ e para o fármaco EFV.



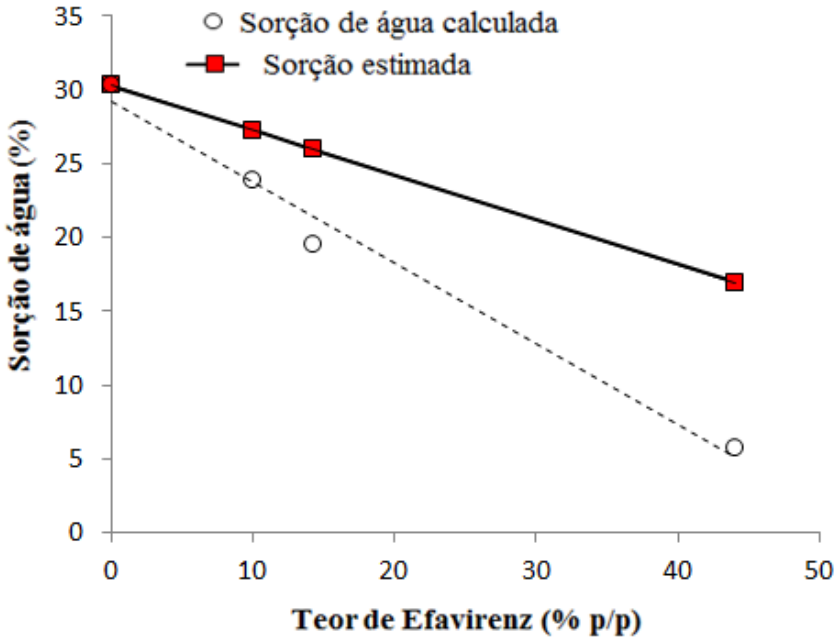
Fonte: Autoria própria.

Para comparar amostras com diferentes proporções de fármaco, o teor de água adsorvido pelas dispersões sólidas foi corrigido em relação à proporção do fármaco presente em cada DS_{SOL} e o Soluplus® foi considerado como uma matriz isolada. Os resultados são representados na Fig. 47, mostrando que o EFV inibe a captação da água pela matriz polimérica, resultando em uma diminuição linear na higroscopicidade do polímero com o aumento da proporção do EFV nas dispersões sólidas.

Assumindo a condição de não interação entre os componentes da mistura binária, a umidade destes sistemas pode ser calculada pela aditividade dos componentes individuais. Os valores do ganho da umidade teoricamente calculados para o Soluplus® são dados na Fig. 47, em função da composição do sistema binário. O desvio observado para os três sistemas produzidos pode ser devido a interações fármaco-polímero, o que explicaria o maior desvio observado para $DS_{SOL}3$ (maior concentração de EFV). Essas interações podem influenciar o número de grupos funcionais de caráter polar disponíveis para possíveis interações com

moléculas de água durante a sorção, como já observado em outras dispersões sólidas produzidas com Soluplus® (PUNČOCHOVÁ et al., 2014).

Figura 47 - Sorção de água (25°C) nos sistemas DS_{SOL} em função do teor de EFV presente. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas.



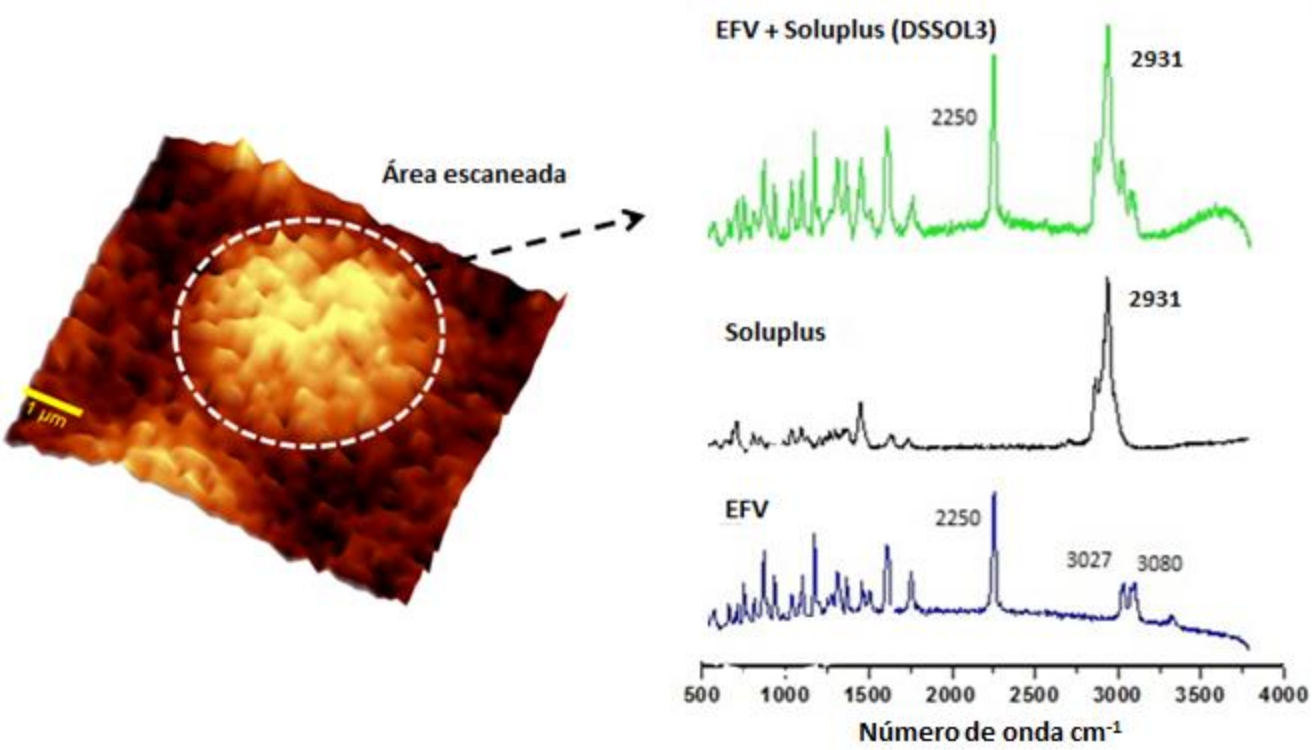
Fonte: Autoria própria.

5.5.2 Estabilidade em condições aceleradas

O estudo de estabilidade em condições aceleradas (40°C/75% UR) foi realizado nas amostras de maior proporção de fármaco ($DS_{SOL}3$), tendo em vista que concentrações mais elevadas de fármaco dispersos nas matrizes poliméricas tendem a aumentar a possibilidade de recristalização das amostras. Como já dito anteriormente, maiores concentrações de polímero reduzem a distância entre as moléculas dispersas na matriz polimérica, podendo ocasionar a formação de domínios do fármaco que induzem o processo de nucleação e, consequentemente, a recristalização do fármaco amorfo.

A amostra $DS_{SOL}3$ submetida à análise por DVS foi em seguida analisada por DSC. Esta análise mostrou uma redução na Tg da amostra (Tabela 13), que pode ser atribuída a ação plastificante da água (WYTTENBACH et al., 2013).

Figura 48 - Avaliação da distribuição do fármaco na estrutura polimérica por microscopia RAMAN, após análise DVS.



Fonte: Autoria própria.

Adicionalmente, a mesma amostra $DS_{SOL}3$ foi também avaliada através de mapeamento de seus componentes por espectroscopia RAMAN. Para esta análise, inicialmente os espectros do polímero e do fármaco isolados foram obtidos. Em seguida o espectro em superfície (10*10µm) e em profundidade (12*10µm) foi avaliado, de forma que possibilitasse a determinação da distribuição do fármaco e do polímero na amostra.

A análise possibilitou a obtenção do espectro apresentado na Fig. 48, que sugere a presença do EFV e do Soluplus® homogeneamente misturados nas partículas a partir da identificação dos picos característicos na região de 2250 cm^{-1} e 2931 cm^{-1}, para o fármaco e para o polímero, respectivamente.

Tabela 13 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC sob diferentes condições de armazenamento.

Amostra	**EFV: Soluplus®** **(p/p)**	***Estabilidade em condições aceleradas***	***DSC (1° ciclo de aquecimento)***	
			Tg°C **(T_{onset})**	**ΔCp** **J/g °C**
$DS_{SOL}3$	**1 :1,25**	t_0 (inicial)	58,1	0,28
		Após sorção de água por DVS (40°C/75% UR)	54,7	0,18
Estabilidade a temperatura ambiente (~22°C, 23% UR, 12 meses)				
$DS_{SOL}3$	**1 :1,25**	t_0 (inicial)	58,1	0,28
		~22°C, 23% UR, 12 meses	63,4	0,25
$DS_{SOL}1$	**1 :10**	t_0 (inicial)	62,3	0,22
		~22°C, 23% UR, 12 meses	69,9	0,26

Fonte: Autoria própria.

5.5.3. Estabilidade a Temperatura Ambiente

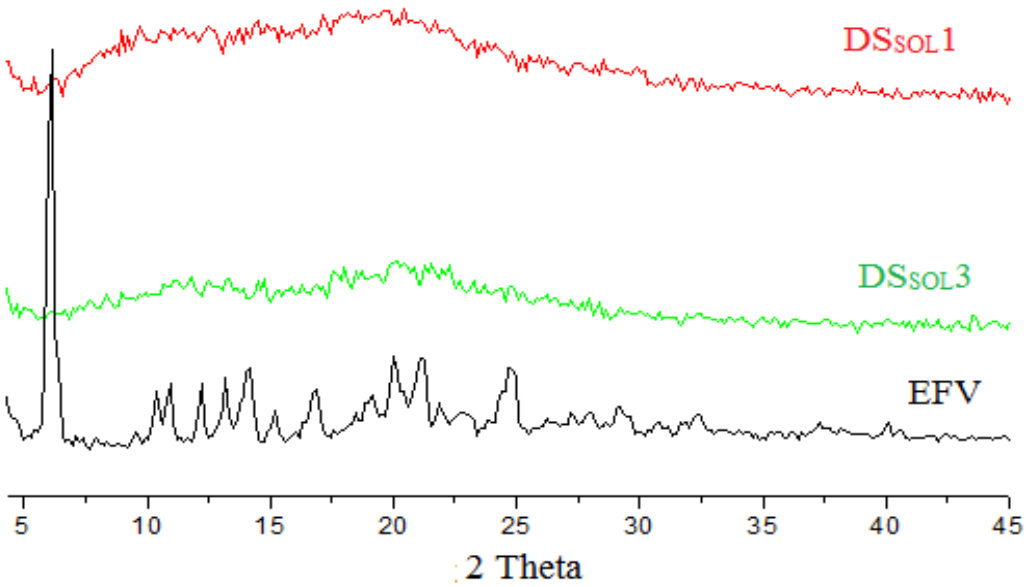
Para verificação da evolução da estabilidade física das dispersões sólidas após 12 meses de armazenamento, amostras das dispersões sólidas $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}3$ foram caracterizadas por DSC e DRX. Para ambas as amostras, os espectros DRX (Fig. 49) mostraram-se similares aos obtidos para as formulações recém-preparadas, e nenhum indício de cristalização foi observado após o período de armazenamento sob as condições utilizadas (dessecador a ~22°C e 23% UR).

A análise por mDSC confirmou a existência de uma única Tg (Tabela 13), o que sugere que o EFV presente nestas duas amostras manteve-se amorfo. No entanto, um aumento na Tg foi verificado após o período de armazenamento (Tabela 13), provavelmente devido a uma perda de água da amostra armazenada no dessecador contendo sílica (não quantificada).

A estabilidade física observada nas amostras pode ser atribuída a interações fármaco-polímero, confirmadas por FT-IR. O Soluplus® envolve as moléculas do fármaco, formando

pontes de H^+ que reduzem a mobilidade molecular do EFV e retarda a sua recristalização, como observado para outras moléculas com as quais o polímero apresentou interação (FULE et al., 2014). Além disso, a temperatura ambiente durante o armazenamento foi inferior a Tg das DS_{SOL}, o que favorece a estabilidade dos sistemas amorfos (HUANG; DAI, 2014), pois em temperaturas abaixo da Tg a mobilidade dos componentes é limitada, o que limita também a possibilidade de formação de domínios concentrados das moléculas do fármaco, que por sua vez acelerariam o processo de recristalização.

Figura 49 - Difratogramas obtido para as amostras de cristais de EFV (original), $DS_{SOL}1$ e $DS_{SOL}3$ após cerca de 1 ano armazenadas em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C e 23%UR).



Fonte: Autoria própria.

Capítulo 4

DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – PVPVA64

O Capítulo 4 apresenta as dispersões sólidas de Efavirenz e o copolímero de Polivilpirrolidona-Vinil acetato (PVPVA64).

De maneira análoga ao Capítulo 3, os métodos de preparação, de caracterização utilizados e os principais resultados referentes às características das estruturas sólidas e relação com suas propriedades funcionais (solubilidade e cinética de dissolução *in vitro*) e estabilidade são aqui descritos.

6 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ – PVPVA64

6.1. Miscibilidade Efavirenz-PVPVA64 baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ)

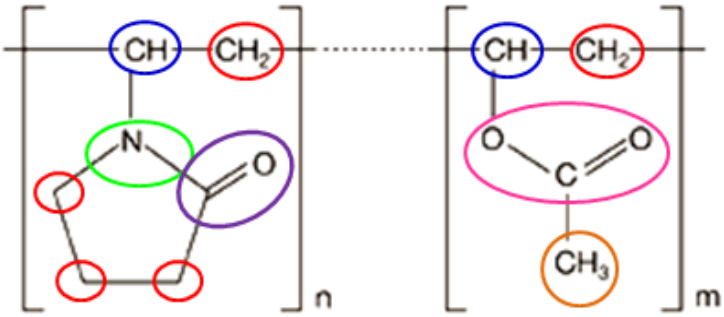
Como realizado para o Soluplus®, a verificação preliminar de miscibilidade entre o EFV e o copolímero PVPVA64 (denominado simplesmente PVPVA à partir daqui) também foi feita a partir dos parâmetros de solubilidade de Hansen-Hildebrand (δ). Para o cálculo, levou-se em consideração a proporção de cada monômero do copolímero descrita pelo fabricante, sendo 60% para o monômero polivinilpirrolidona (PVP) e 40% para o vinil acetato (VA), como apresentado na Tabela 14 e na Figura 50.

Tabela 14 - Decomposição manual do polímero PVPVA para cálculo do parâmetro de solubilidade δ (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer).

Unidade (Massa molar/ massa total)	Grupo/ Monômero	Grupo Estrutural	Fdi	Fpi	F^2pi	Ehi
Polivinilpirrolidona (m= 310,8)	04	$-CH_2-$	270	0	0	0
	01	>CH-	80	0	0	0
	01	N	20	800	640000	5000
	01	>C=O	290	770	592900	2000
	01	Anel	190	0	0	NA
Vinilacetato (m = 267,4)	01	$-CH_2-$	270	0	0	0
	01	>CH-	80	0	0	0
	01	$-CH_3$	420	0	0	0
	01	COO-	390	490	240100	7000

Fonte: Autoria própria.

Figura 50 - Indicação dos grupos funcionais do polímero PVPVA, utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade (**δ**) pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer, sendo ***n*** a unidade do monômero Polivinilpirrolidona (60%) e ***m*** a unidade do monômero Vinil acetato (40%).



Fonte: Adaptado de SONG et al., 2015. Reproduzido com permissão.

Para efeito do cálculo do parâmetro de solubilidade total de Hansen, foram considerados como dados de entrada:

- Massa molar: 57.500 g/mol;
- Densidade real: 1,21 g/cm^3 ± 0,006 g/cm^3 (determinada experimentalmente por picnometria à gás);
- Volume molar: 47.520,7 cm^3/mol.

O valor do parâmetro de solubilidade total (δ_T) calculado para o polímero PVPVA foi de 19,7 MPa$^{1/2}$ (Tabela 15), próximo ao obtido para o Soluplus® (19,8 MPa$^{1/2,}$ Tabela 3.2). A diferença dos parâmetros de solubilidade (**Δδ**) entre o EFV (24,5 MPa$^{1/2}$) e o PVPVA é de 4,8 MPa$^{1/2}$ (inferior a 7 MPa ½), indicando a possível miscibilidade do EFV também com este polímero.

Tabela 15 - Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para PVPVA

Parâmetros de solubilidade	**δ_d (MPa$^{1/2}$)**	**δ_p (MPa$^{1/2}$)**	**δ_h (MPa$^{1/2}$)**	**δ_t (MPa$^{1/2}$)**
Valores calculados	17,39	0,45	9,23	**19,7**

Fonte: Autoria própria.

6.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-PVPVA

Para preparação das dispersões sólidas com o copolímero PVPVA (DS_{PVPVA}), o solvente orgânico utilizado foi o etanol, como para o Soluplus®. EFV foi adicionado à solução de PVPVA em etanol (10% em massa), nas mesmas proporções fármaco:polímero já utilizadas nos estudos com Soluplus®. As formulações das dispersões sólidas e o polímero isolado foram atomizados em *spray-drying*, nas condições operacionais dadas na Tabela 16. Todas as DS_{PVPVA} foram acondicionadas para posterior caracterização do estado sólido.

Tabela 16 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas durante o processo de secagem (PVPVA e DS_{PVPVA}).

Amostra	**EFV:PVPVA64 (m:m)**	**Temperatura (°C)**		**Aspiração (%)**	**Vazão de N_2 (L/h)**	**Vazão de alimentação (ml/h)**
		entrada	***saída***			
PVPVA atomizado	0 : 1	70-72	57-61	100	600	0,29
$DS_{PVPVA}1$	1 : 10	70-73	52-54			0,30
$DS_{PVPVA}2$	1 : 5	70-75	53-56			0,31
$DS_{PVPVA}3$	1 : 1,25	70-74	54-58			0,29

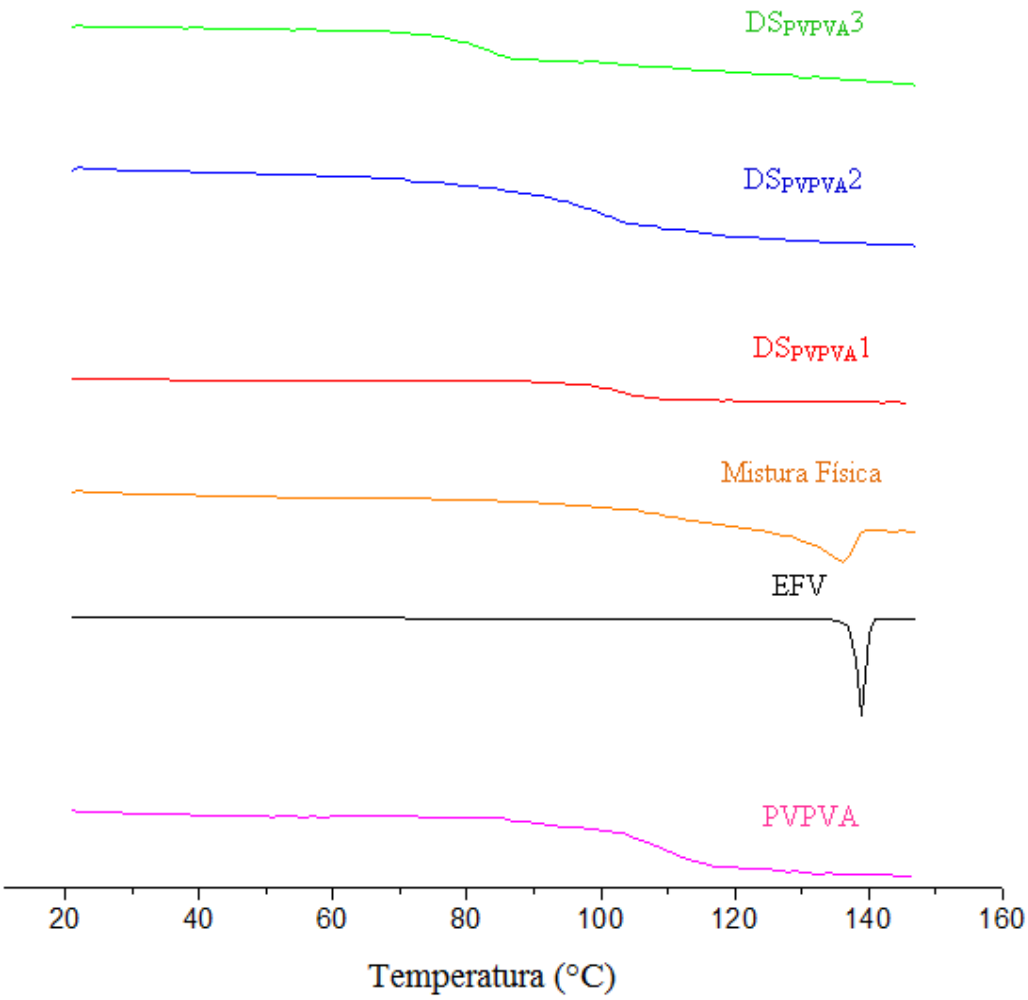
Fonte: Autoria própria.

6.3 Caracterização das Dispersões Sólidas

6.3.1 Miscibilidade com base na temperatura de transição vítrea (Tg)

O perfil térmico do EFV cristalino, do copolímero PVPVA, das DS_{PVPVA} obtidas por *spray-drying* e da mistura física preparada na proporção fármaco:polímero 1:1,25 são apresentados na Fig. 51. Observa-se a ausência de picos endotérmicos nas amostras de DS_{PVPVA} e do copolímero PVPVA puro atomizado. Na mistura física, nenhum evento adicional foi observado, sugerindo a não ocorrência de interação entre o fármaco e o polímero.

Figura 51 - Termogramas mDSC para o EFV cristalino puro, PVPVA atomizado, mistura física na proporção 1 :1,25 e para as dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$.



Fonte: Autoria própria.

A Tabela 17 apresenta os valores das temperaturas de transição vítrea para o copolímero PVPVA atomizado e para as diferentes formulações DS_{PVPVA} obtidas após secagem por *spray-drying*. No caso das amostras de $DS_{PVPVA,}$ também foi identificada uma única Tg com valor intermediário entre a Tg do EFV amorfo (36,1°C) e a Tg do PVPVA atomizado isoladamente (107,6°C). Observou-se o aumento da Tg com o aumento da concentração do polímero na mistura binária (Tg de 83,4°C para $DS_{PVPVA}3$ e de 103,8°C para $DS_{PVPVA}1$), como verificado anteriormente para $DS_{SOL.}$

Tabela 17 - Temperaturas de transição vítrea (Tg) obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor (DS_{PVPVA}).

Amostra	T_g[1] (°C)	ΔCp (J/gK)	$Tg_{Gordon-Taylor}$ (°C)	ΔTg
PVPVA atomizado	107,6	0,40	-	-
$DS_{PVPVA}3$ (EFV: PVPVA 1:1.25)	83,4	0,25	74,4	+ 9,0
$DS_{PVPVA}2$ (EFV: PVPVA 1:5)	99,5	0,29	94,1	+ 5,4
$DS_{PVPVA}1$ (EFV: PVPVA 1:10)	103,8	0,27	100,7	+ 3,1

[1] *1º ciclo de aquecimento (mDSC)*

Fonte: Autoria própria.

Contrariamente ao ocorrido com as dispersões sólidas do Soluplus®, observa-se na Tabela 17 que as três formulações com PVPVA apresentaram valores de Tg superiores aos estimados pela equação de Gordon-Taylor. Valores de Tg que excedem aqueles preditos pela equação de Gordon-Taylor (desvios positivos do comportamento ideal de mistura) representam, à principio, um indício de fortes interações entre o fármaco e o polímero na mistura (SONG et al., 2015). Uma forte interação fármaco-polímero é geralmente preferida, pois ela favorece a redução do volume livre que proporciona uma menor flexibilidade para o rearranjo molecular (BAGHEL et al., 2016; SATHIGARI et al., 2012), contribuindo para a estabilidade do sistema.

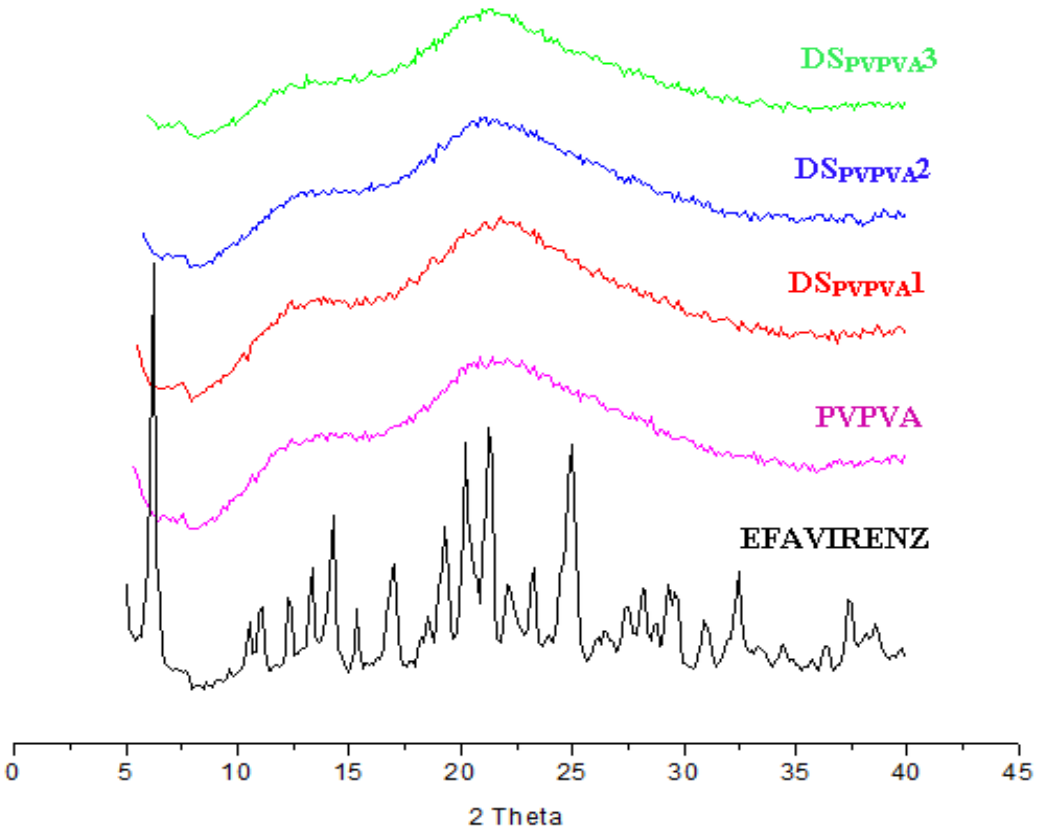
Casos de desvios positivos já foram relatados na literatura para outras dispersões sólidas com os polímeros PVPVA e PVP e explicados em termos de interações entre o fármaco estudado e o polímero como no caso de dispersões sólidas entre o inibidor de leucotrieno MK-0591 e PVP (KHOUGAZ; CLAS, 2000) onde foi demonstrada a interação íon-dipolo entre o PVP e a molécula de MK-0591; e no caso do fármaco CETP(2), confirmou-se a interação entre o CETP(2) e PVPVA com o deslocamento da banda amida do PVPVA (WYTTENBACH et al., 2013). No presente estudo, as interações intermoleculares

entre EFV e PVPVA foram analisadas por FT-IR e os resultados obtidos serão apresentados e discutidos posteriormente.

6.3.2 Difração de Raios-X (DRX)

Os resultados de difratometria de raios-x do pó das DS_{PVPVA} são apresentados na Fig.52. Nela é possível identificar o desaparecimento dos picos característicos da forma cristalina do EFV nas amostras DS_{PVPVA}. Como para o polímero PVPVA isolado, um padrão de halo com ausência de picos de difração foi observado nas amostras de $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$. Estes resultados indicam a natureza amorfa do EFV nos novos sistemas formados, corroborando com o resultado obtido pela análise de mDSC.

Figura 52 - Difratogramas de raios-X para o fármaco EFV, para o polímero PVPVA e para as dispersões sólidas obtidas por *spray-drying*, $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$.

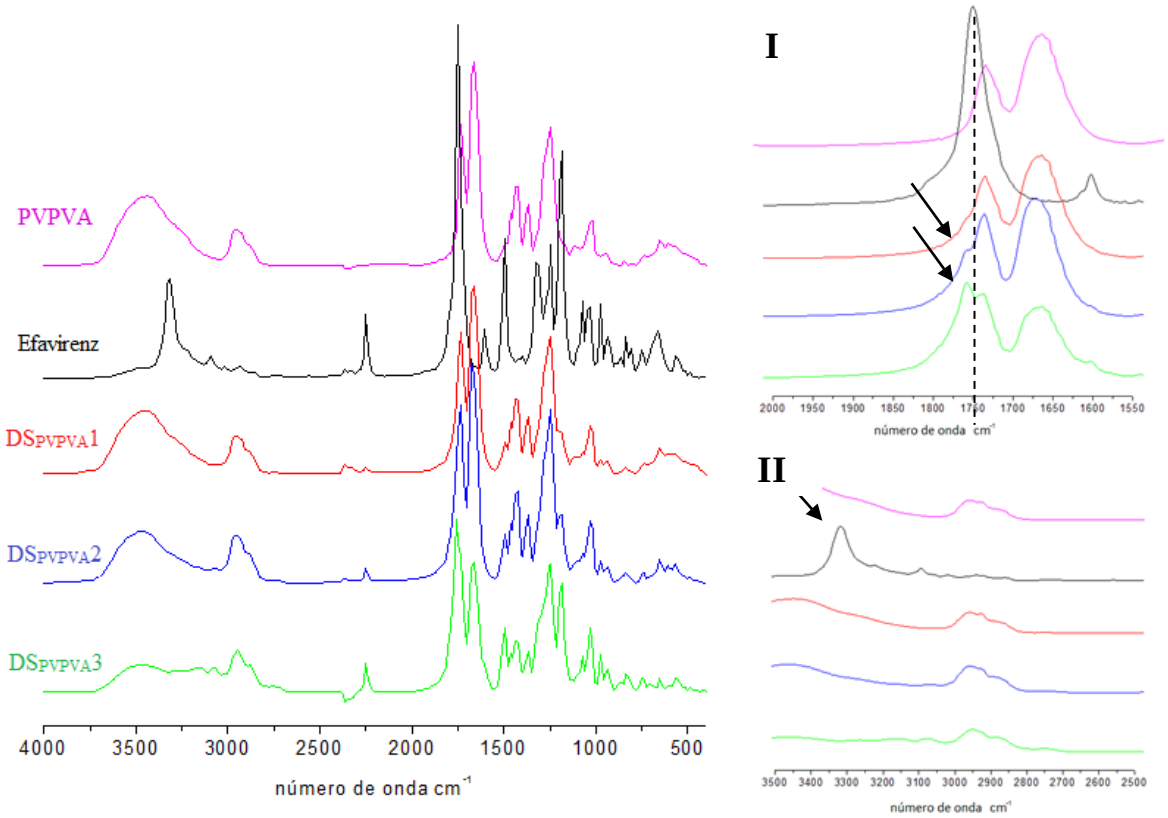


Fonte: Autoria própria.

6.3.3 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Na Fig. 53 são apresentados os espectros de FT-IR característicos para EFV, PVPVA e para as DS_{PVPVA} obtidas por *spray-drying*.

Figura 53 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero PVPVA, do fármaco EFV e das dispersões sólidas: $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$. *Zoom* nas regiões do espectro FT-IR:**I:** 2000-2550 cm^{-1}, indicando o deslocamento do pico do EFV a 1750 cm^{-1} para 1757 cm^{-1} nas amostras de $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$. **II:** 3500-2500 cm^{-1} indicando o desaparecimento do pico característico do EFV a 3320cm^{-1} nas DS_{PVPVA}.



Fonte: Autoria própria.

O polímero PVPVA não possui na sua estrutura química grupos doadores de H^+, no entanto apresenta dois grupos carbonila (C=O) que são aceptores de H^+ (LIU et al., 2013), referentes à estrutura da vinilpirrolidona e a do vinilacetato. No espectro referente ao PVPVA foram evidenciados os seguintes picos característicos: um sinal duplo na região de 1663 cm^{-1} e 1734 cm^{-1} referentes à vibração de estiramento da carbonila (C = O) do monômero PVP e do vinil acetato (VA), respectivamente (CHAN et al., 2015); na região de 2954 cm^{-1} referente

à vibração de estiramento C-H e na região de 3400 cm^{-1} referente à vibração de estiramento da amina secundária.

Para as formulações DS_{PVPVA}, foi verificado o deslocamento do pico referente à vibração de estiramento da C=O do EFV de 1750 cm^{-1} para um número de onda maior (1757 cm^{-1}). Este deslocamento é melhor evidenciado na $DS_{PVPVA}3$, em razão da quantidade de fármaco presente, notando-se também o alargamento do pico na região de 1734 cm^{-1}, correspondente a C=O do VA (Fig. 53 I). Deslocamento semelhante foi relatado na literatura pela interação entre o fármaco Cetoprofeno e o polímero PVPVA (CHAN et al., 2015) e entre o Nifedipino e o PVPVA (TOMINAGA, 2013), na forma de dispersões sólidas. De forma, similar ao ocorrido em DS_{SOL}, o pico característico da vibração de estiramento do N–H na região de 3320 cm^{-1} do EFV não é observado nas dispersões sólidas DS_{PVPVA} (Fig 53 II). Tais alterações ocorridas nos espectros IR das DS_{PVPVA} podem indicar interações entre o fármaco e o polímero.

6.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas

6.3.4.1 Teor de Efavirenz

O teor de EFV presente nas DS_{PVPVPA} é dado na Tabela 18. Pode-se verificar que a incorporação do fármaco nas estruturas amorfas é superior a 92%, sendo o maior desvio da ordem de 8% para a $DS_{PVPVA}3$. Estes percentuais elevados de incorporação do fármaco nas DS_{PVPVPA} demostram que as condições operacionais durante o processo de secagem foram adequadas para a atomização destas misturas binárias.

6.3.4.2 Tamanho de Partículas e Rendimento do Processo

Na Tabela 18 também são apresentadas as granulometrias do EFV cristalino e das partículas de $DS_{PVPVA.}$ A análise por difração a laser permitiu verificar que 90% das partículas das dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ são menores que 19,9 µm**;** 17,8µm; 7,75µm, respectivamente, diferindo estatisticamente entre si ($p<0,05$). Como observado para as partículas D_{SOL}, uma redução significativa no tamanho das partículas de todas as DS_{PVPVA} em relação ao EFV puro (46 µm) pode ser considerado um dos fatores para o incremento da velocidade de dissolução. A mesma tendência de redução do tamanho da partícula com o

aumento da quantidade de fármaco evidenciada com DS_{SOL} foi também verificada com DS_{PVPVA}.

Os diâmetros médios D[4,3] de $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ corresponderam a 10,14µm; 9,55 µm e 4,49 µm, respectivamente. Os valores obtidos para as amostras $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}2$ não diferiram significativamente ($p<0,05$), contrariamente ao apresentado com o polímero Soluplus®.

DS_{PVPVA} produzidas com o polímero PVPVA apresentaram rendimento de processo de 75 a 79% que, como já descrito anteriormente, é considerado adequado para o processo de secagem por atomização em escala laboratorial.

Tabela 18 - Características das soluções de alimentação preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós obtidos após o processo de secagem (DS_{PVPVA}).

Amostras	Solução	Características do pó						
	µ (mPa.S ±DPR%)	Recuperação (%)	Teor de EFV (% ± DPR)		Tamanho de partícula (n=3) (µm±dp)			
			Teórico	Exp	Dv10	D[4,3]	Dv90	Span
EFV	-	-	100	100	1,9 ± 0,6	21,6 ± 1,8	46,0 ± 2,4	2,2
PVPVA	7,82 ± 5,0	-	-	-	-	-	-	-
$DS_{PVPVA}1$	7,01 ± 4,0	78,8 ± 3,1	10	9,5 ± 1,1	1,6 ± 0,6	10,1 ± 0,1	19,9 ± 0,1	2,21
$DS_{PVPVA}2$	6,50 ± 2,6	75,3 ± 3,3	15	16,2 ± 0,6	3,5 ± 0,1	9,5 ± 0,2	17,8 ± 0,4	1,75
$DS_{PVPVA}3$	5,26 ± 4,8	,1 ± 1,5	45	41,5 ± 2,0	2,0 ± 0,1	4,5 ± 0,6	7,7 ± 1,4	1,44

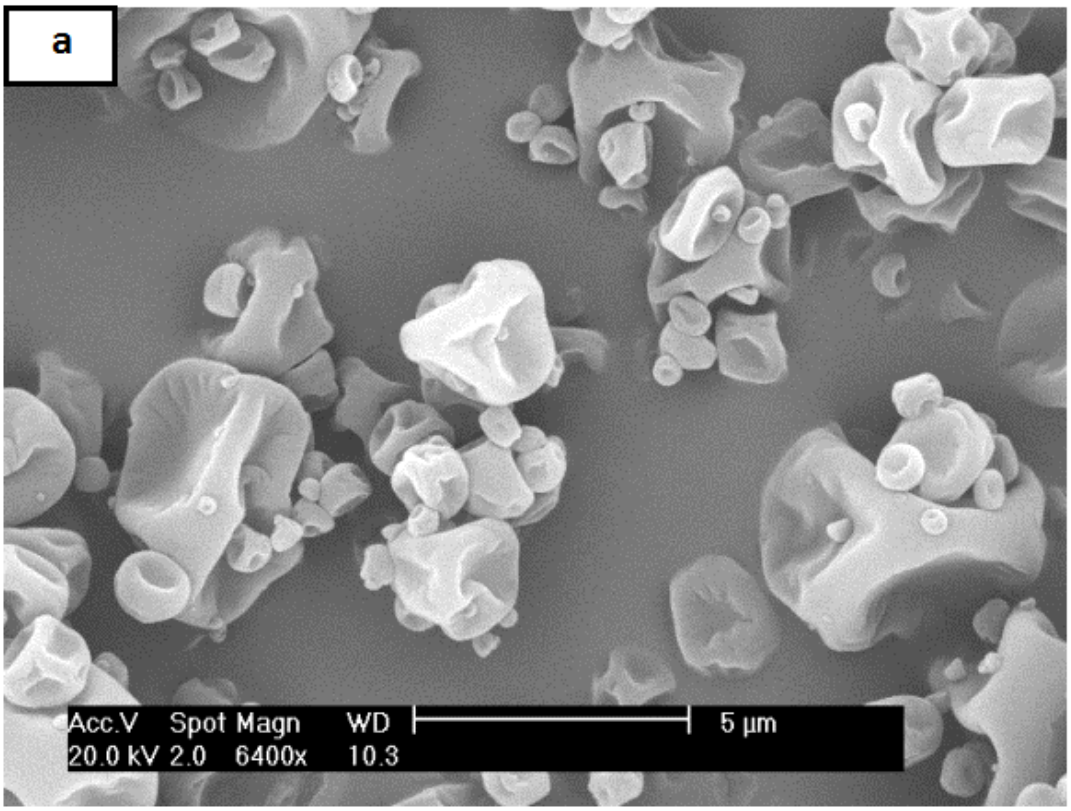
µ - Viscosidade

Fonte: Autoria própria.

6.3.4.3 Morfologia das Estruturas Sólidas (DS_{PVPVA})

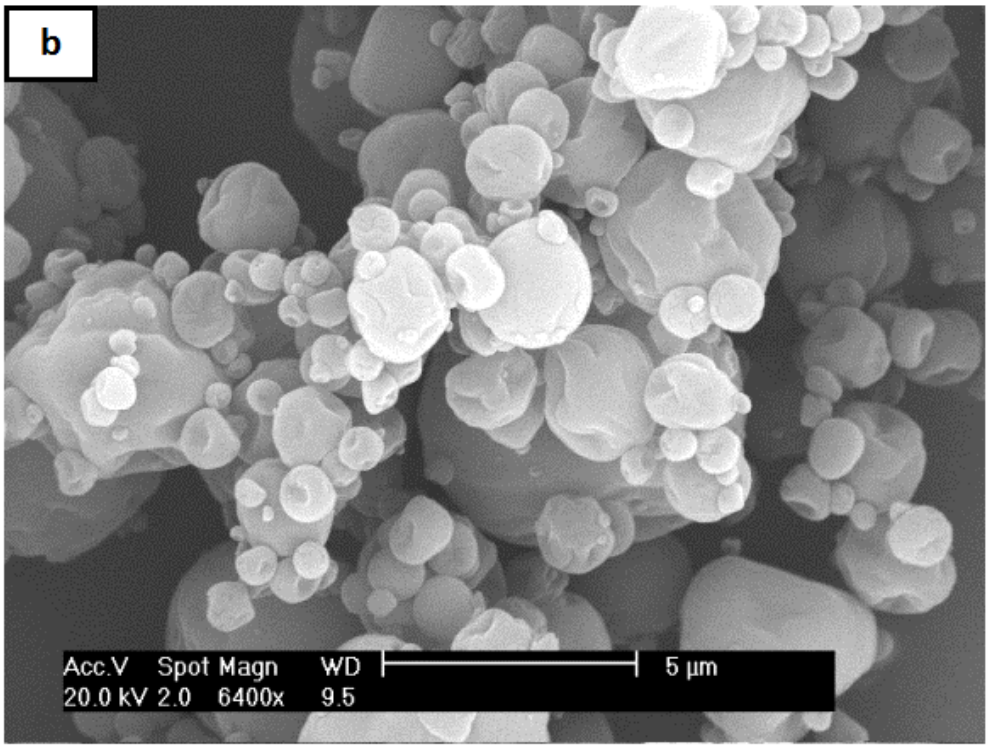
As imagens obtidas por microscopia eletrônica de varredura mostraram que, de maneira semelhante ao Soluplus®, o PVPVA atomizado isoladamente gerou partículas com superfície enrugada (Fig. 54a) e que a incorporação de EFV modificou a morfologia das partículas de DS_{PVPVA}. Pode se observar que, progressivamente, as partículas das dispersões sólidas também tenderam ao formato esférico com o aumento da concentração do EFV (Figs. 54b, 54c e 54d).

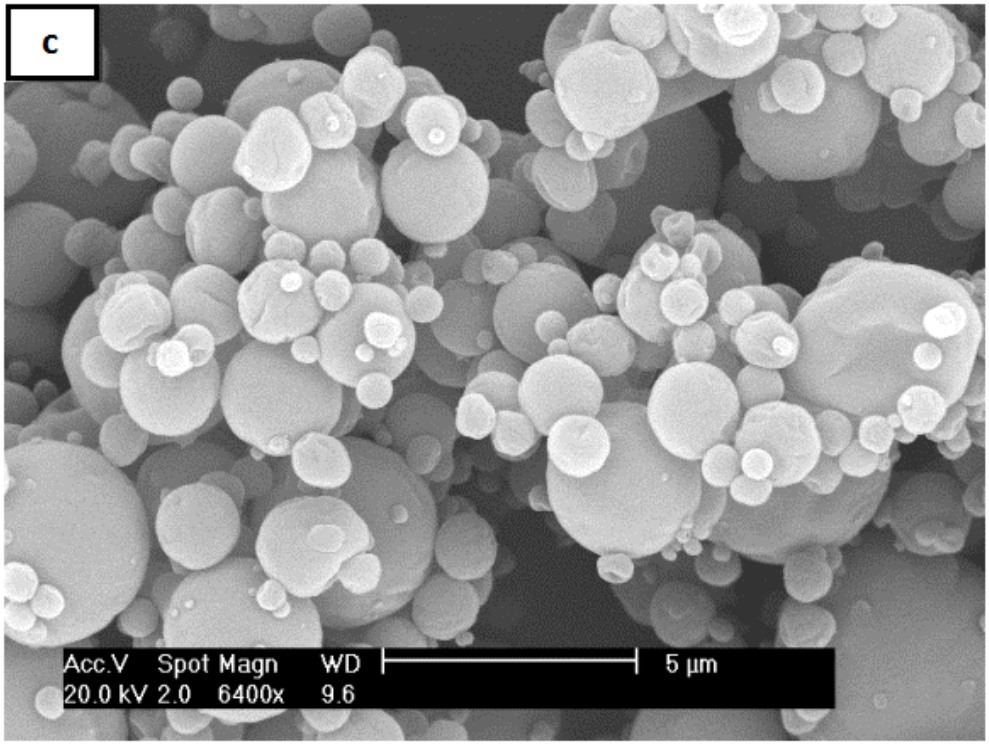
Figura 54(a) - Micrografia obtida por MEV de partículas atomizadas do PVPVA puro seco por *spray-drying*.



Fonte: Autoria própria.

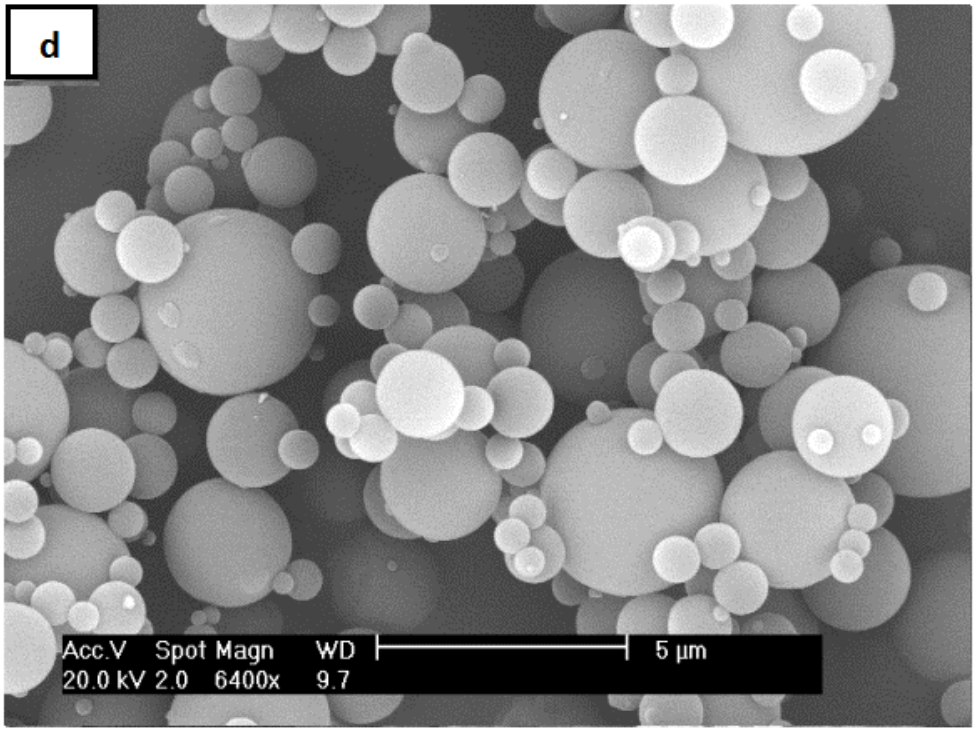
Figura 54(b, c) - Micrografias obtidas por MEV de: (b) $DS_{PVPVA}1$, (c) $DS_{PVPVA}2$.





Fonte: Autoria própria.

Figura 54(d) - Micrografia obtida por MEV de partículas atomizadas de $DS_{PVPVA}3$.



Fonte: Autoria própria.

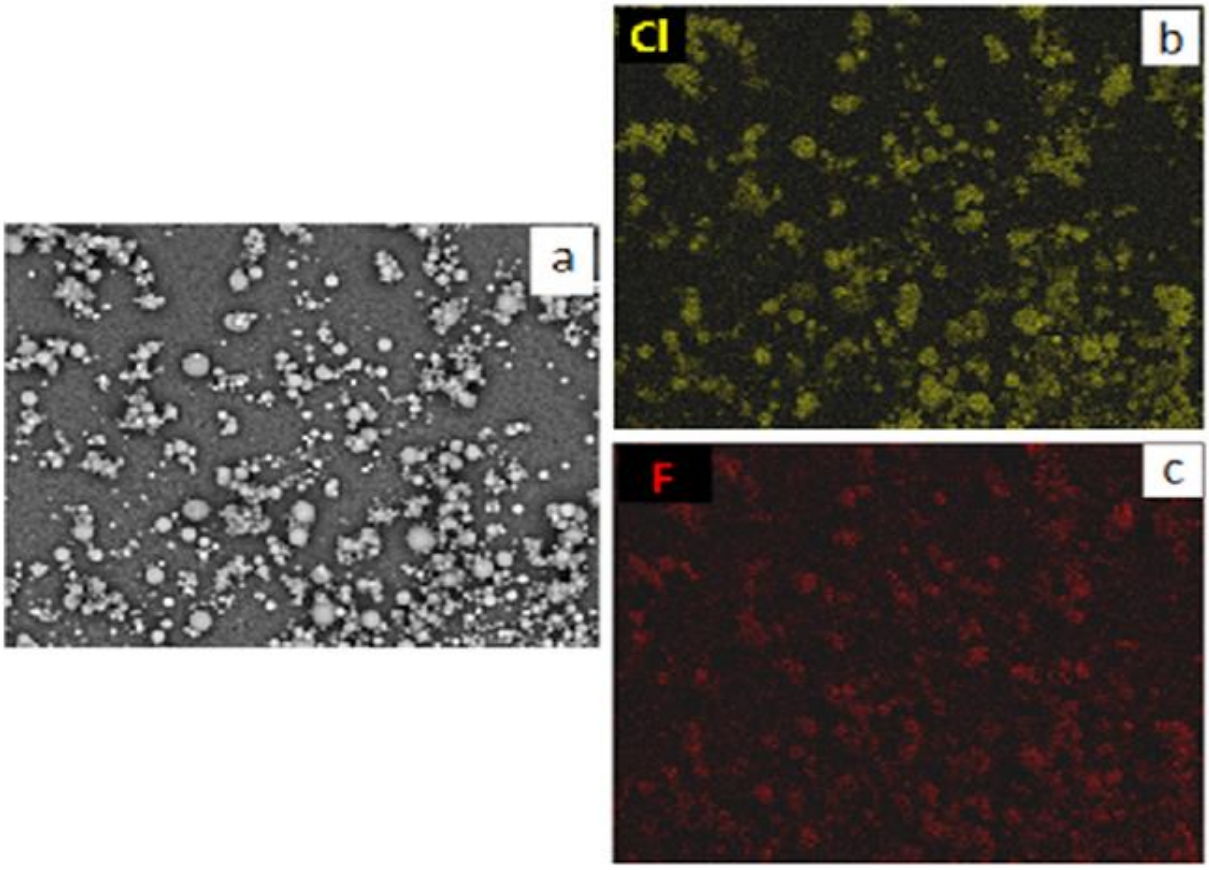
6.3.4.4 Distribuição dos Componentes nas Estruturas Sólidas (DS_{PVPA})

A distribuição e a homogeneidade do EFV na matriz polimérica de PVPVA também foram verificadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) associada à espectroscopia de energia dispersiva de raios-X (EDX) e através da técnica de mapeamento por microscopia RAMAN.

6.3.4.4.1 MEV-EDX

O mapeamento espectral obtido por MEV-EDX das partículas de DS_{PVPVA} (Fig. 55) permitiu a visualização da presença do fármaco na estrutura das partículas através da identificação dos átomos de Cl, indicados pela coloração amarela e vermelha, respectivamente, em sobreposição da imagem original. Através desta análise foi possível verificar, em nível macroscópico, que o EFV encontra-se homogeneamente distribuído na $DS_{PVPVA}3$ como se pode comprovar pela coloração amarela (Fig. 55a) ou vermelha (Fig. 55b) das partículas analisadas.

Figura 55 - Mapeamento espectral com análise elementar para Cl (amarelo) e F (vermelho) presentes na molécula do EFV obtidos nas amostras de $DS_{PVPVA}3$ indicando a distribuição do fármaco na estrutura polimérica.



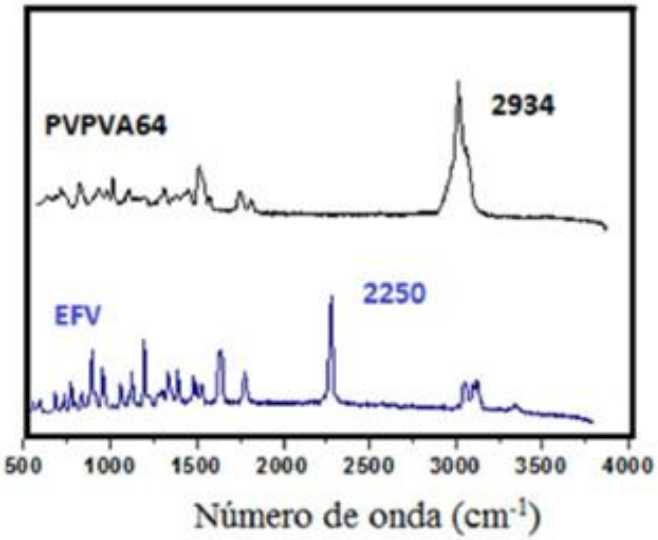
Fonte: Autoria própria.

6.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN

Amostras de EFV e do polímero PVPVA isolados foram analisadas por espectroscopia RAMAN para identificação dos espectros individuais destes componentes. O pico característico do PVPVA foi evidenciado na região de 2934 cm^{-1}, enquanto o EFV apresentou pico em 2250 cm^{-1}, como apresentado na Fig. 56.

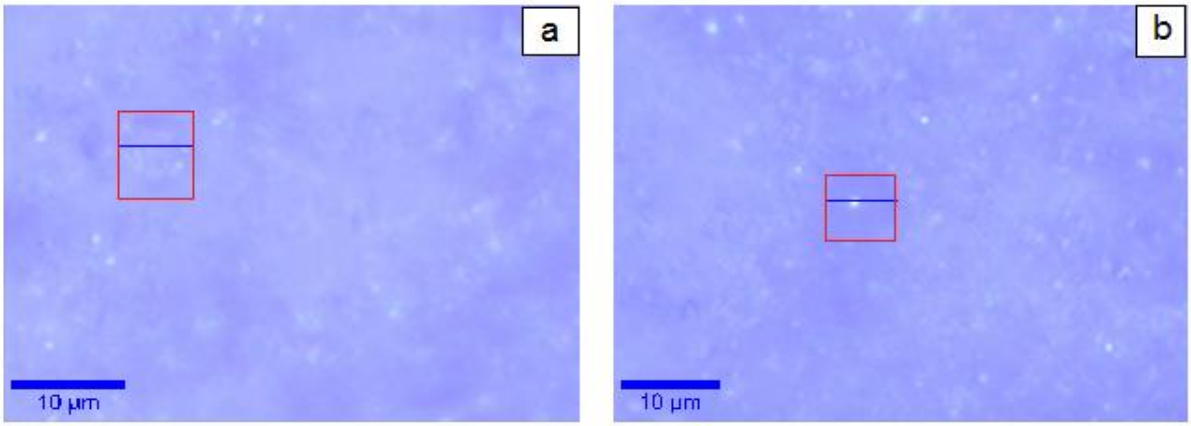
Após a obtenção dos espectros isolados do EFV, as amostras DS_{PVPVA} foram analisadas em áreas de 3µm x 3µm e 5µm x 7µm (varredura em superfície e em profundidade), para verificação da distribuição espacial de seus constituintes (EFV e PVPVA) em nível microscópico. A Fig. 57 mostra as áreas analisadas nas amostras $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$.

Figura 56 - Espectros RAMAN evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{1}) e do PVPVA (2934 cm^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

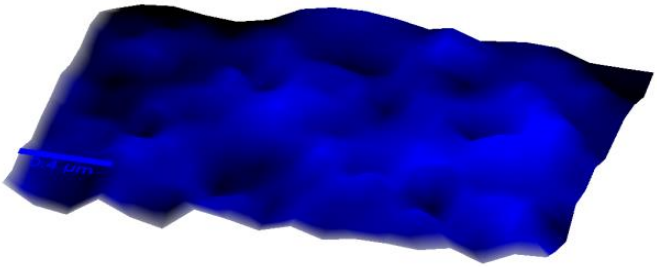
Figura 57 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras: (a) $DS_{PVPVA}1$; (b) $DS_{PVPVA}3$, indicando as áreas analisadas para cada amostra.



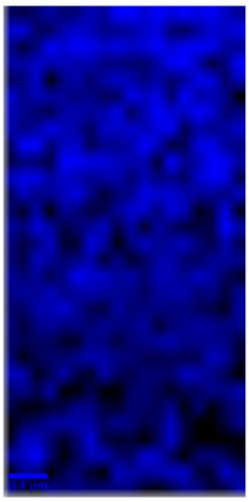
Fonte: Autoria própria.

Os resultados dessas análises geraram imagens, onde os sinais referentes aos espectros do polímero PVPVA64 (preto) e do EFV (azul), apresentados na Fig. 56, foram identificados nas amostras DS_{PVPVA}. As Figs. 58 e 59 ilustram esta análise (varredura em superficie e em profundidade) para as amostras $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$, respectivamente.

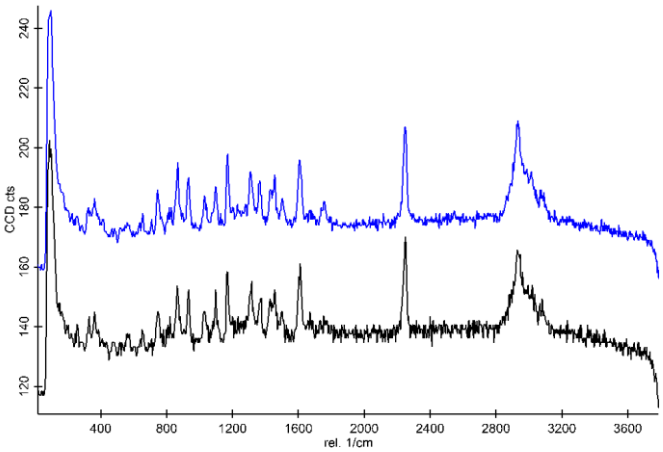
Figura 58 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas áreas escaneadas, diferenciados pelas cores azul (EFV) e preto (PVPVA) (amostra $DS_{PVPVA}3$).

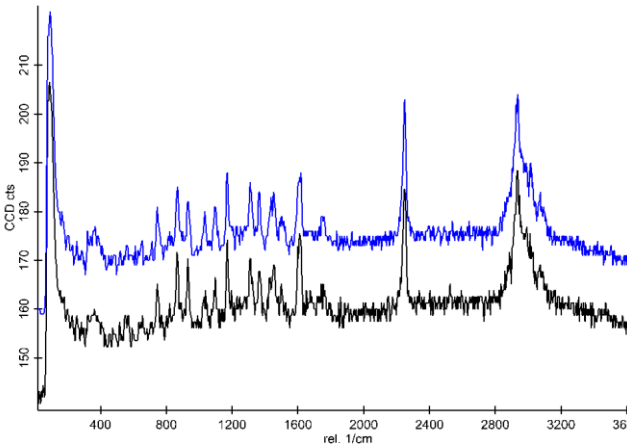


Área escaneada na superfície: 3µm x 2µm



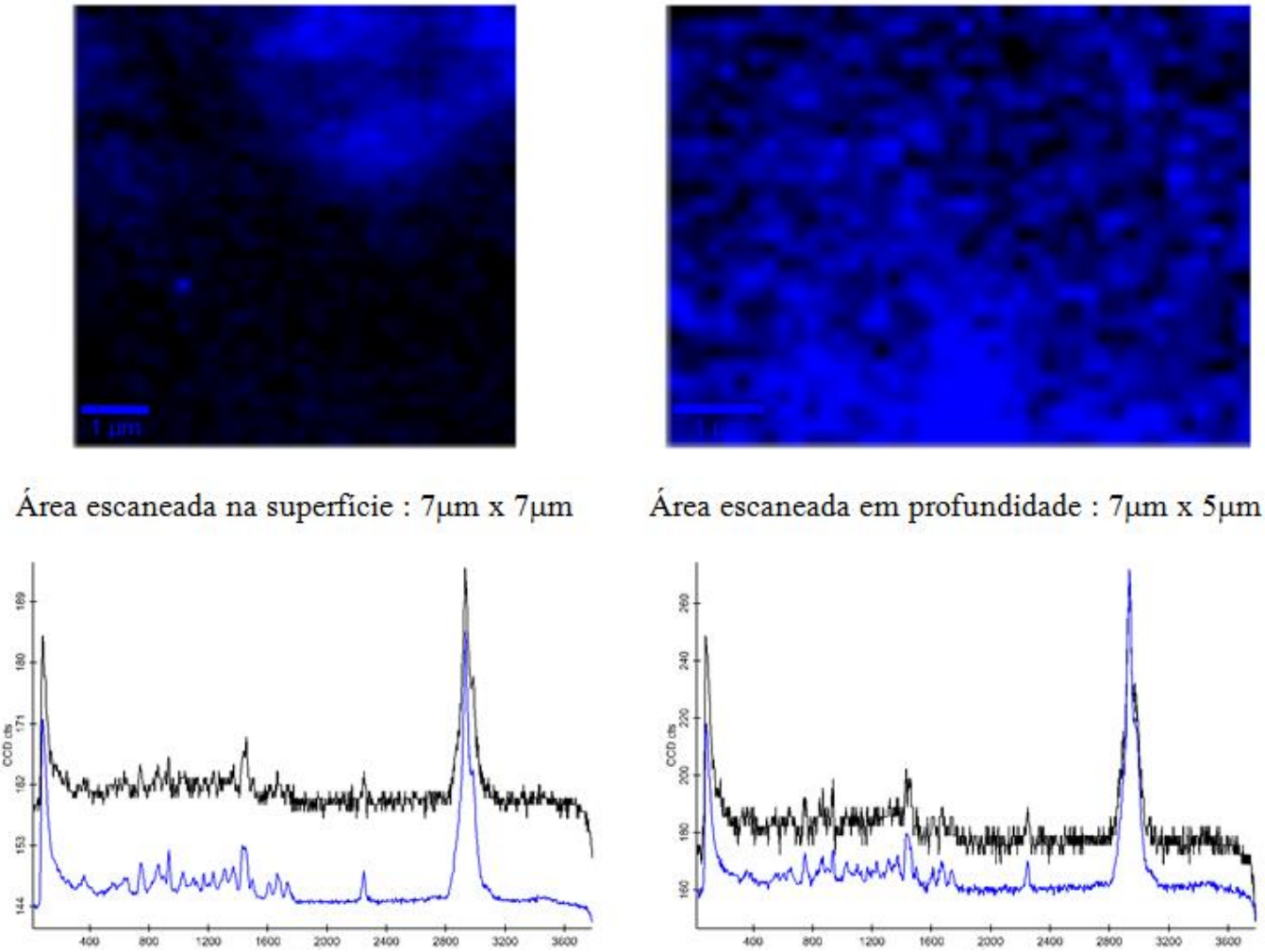
Área escaneada em profundidade: 3µm x 5µm





Fonte: Autoria própria.

Figura 59 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas áreas escaneadas, diferenciados pelas cores azul e preto (amostra $DS_{PVPVA}1$) e seus respectivos espectros.

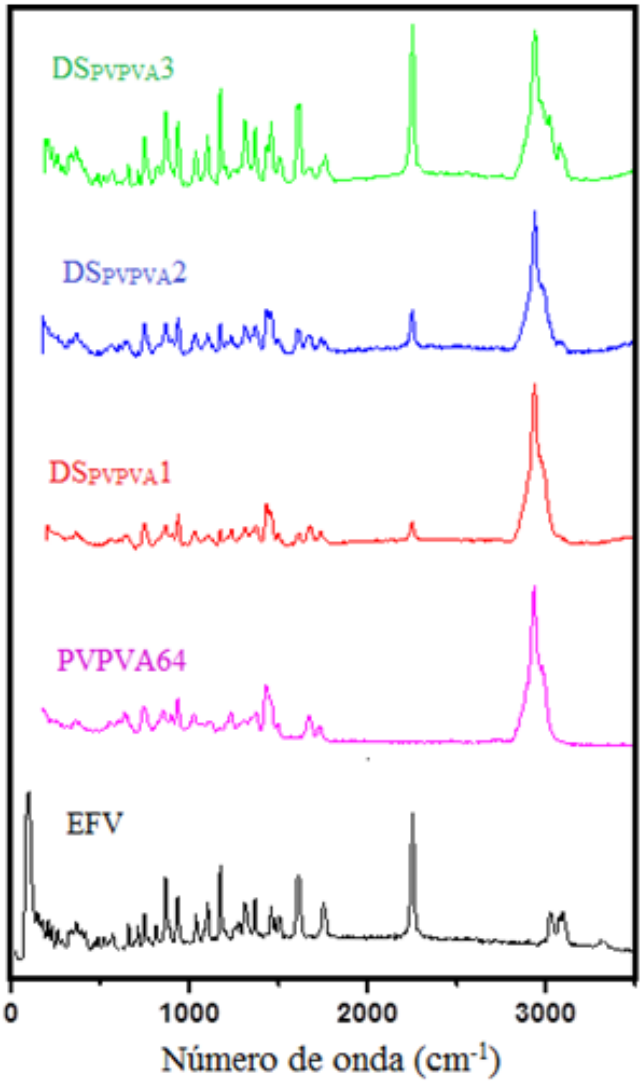


Fonte: Autoria própria.

Em suma, pode-se verificar que os resultados dos espectros obtidos para cada amostra de DS_{PVPVA} corresponderam a uma mistura dos espectros puros do EFV e do PVPVA.

Através da Fig. 60, onde é apresentado os esperctros referentes ao EFV, PVPVA e as três DS_{PVPVA}, pode-se notar também um aumento na intensidade do pico característico do EFV (2250 cm^{-1}), que é proporcional a concentração de fármaco presente nas amostras ($DS_{PVPVA}3$> $DS_{PVPVA}2$> $DS_{PVPVA}1$), semelhante ao observado nas dispersões sólidas obtidas anteriormente com o polímero Soluplus®.

Figura 60 - Espectros RAMAN de DS_{PVPVA} indicando a presença dos picos característicos do EFV (2250 cm^{-1}) e do polímero PVPVA (2934 cm^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

6.4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas

6.4.1 Estudo de Solubilidade

O efeito do polímero PVPVA na solubilidade aparente do EFV também foi avaliado em termos de ER_{sol} nos 3 meios estudados: água purificada, solução de LSS 0,25% em água e FeSSIF à 37°C. Os dados da solubilidade são apresentados na Tabela 19.

Tabela 19 - Solubilidade do EFV cristalino e das amostras DS_{PVPVA} obtidas por *spray-drying* a 37°±0,5°C.

Meio	Solubilidade* (µg/ml ± DPR) a 37°± 0.5°C			
	Efavirenz cristalino	**$DS_{PVPVA}1$**	**$DS_{PVPVA}2$**	**$DS_{PVPVA}3$**
EFV: PVPVA	**1 : 0**	**1 :10**	**1 :5**	**1 : 1,25**
Água purificada	1,74 ± 8,00 (n=3)	16,09 ± 2,06 (n=3)	14,91 ± 0,79 (n=3)	13,72 ± 2,44 (n=3)
ER_{sol}	**-**	**9**	**8,5**	**8**
LSS 0,25% em água (m/v)	350,11± 2,54 (n=3)	4548,84 ± 1,06 (n=3)	4301,37 ± 0,60 (n=3)	2716,45 ± 0,58 (n=3)
ER_{sol}	**-**	**13**	**12**	**8**
FeSSIF	861,97 ± 2,94 (n=2)	2986,70 ± 6,50 (n=2)	3112,62 ± 6,48 (n=2)	3019,92 ±8,99 (n=2)
ER_{sol}	**-**	**3,5**	**3,6**	**3,5**

ERsol = Incremento de solubilidade do EFV nas dispersões sólidas em relação ao EFV cristalino.

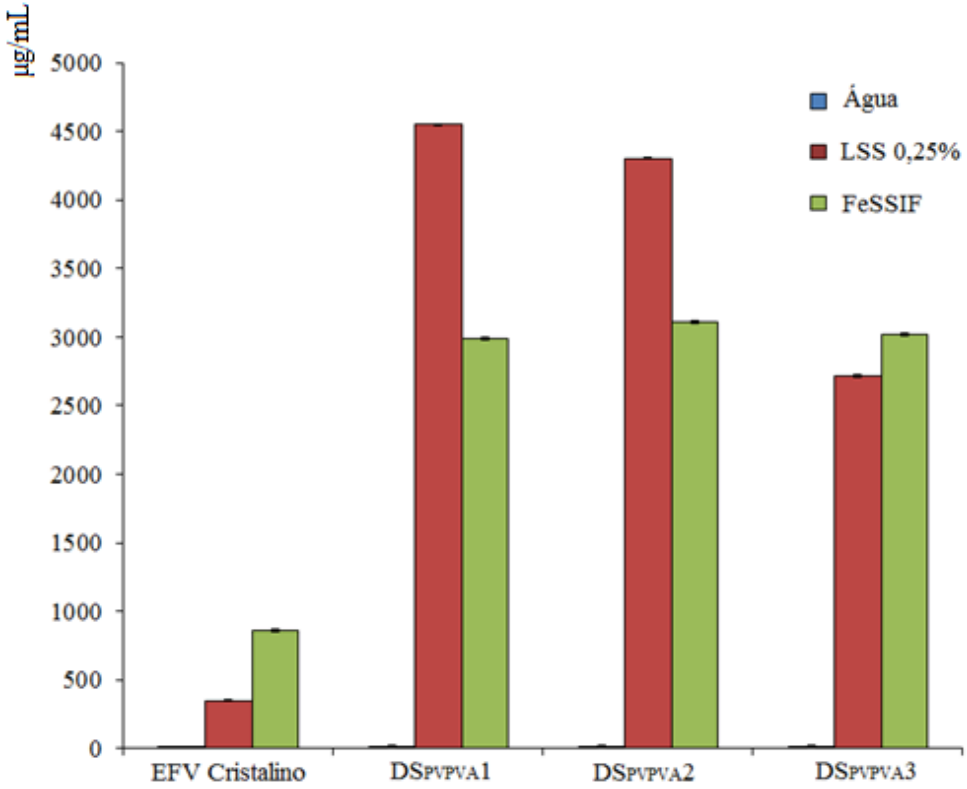
Fonte: Autoria própria.

Semelhante ao resultado obtido para DS_{SOL}, quando comparado ao fármaco na forma cristalina, o aumento da solubilidade das amostras de DS_{PVPVA} foi observado em todos os meios avaliados, como pode ser visualizado na Fig. 61. Tal resultado já era esperado devido às características das partículas de DS_{PVPVA}: estruturas amorfas (confirmadas por DRX e DSC) e de tamanho inferior ao dos cristais de EFV (conforme analise granulométrica).

O valor da solubilidade aparente das DS_{PVPVA}, similar ao observado com $DS_{SOL,}$ aumentou nos meios contendo LSS e FeSSIF em relação ao obtido em água.

As amostras de DS_{PVPVA} mostraram um aumento na solubilidade aquosa (ER_{sol}) de 9; 8,5 e 8 vezes para as amostras $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ quando comparadas ao fármaco puro. O mesmo ocorreu para o meio FeSSIF, onde todas as DS_{PVPVA} apresentaram aumento de cerca de 4 vezes do valor da solubilidade do EFVcristalino.

Figura 61 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e das partículas de $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{HPMCASPVPVA}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0.5°C.



Fonte: Autoria própria.

Em trabalho utilizando dispersões sólidas de Curcumina e PVPVA, Ajay et al., (2012) relataram um aumento da solubilidade independente da concentração deste polímero. Tal resultado foi atribuído à propriedade do PVPVA em inibir a liberação do fármaco quando presente em concentrações elevadas, o que concorda com os dados de solubilidade aparente apresentados na Tabela 4.6 em água e em meio FeSSIF. Diferentemente destes resultados, em meio contendo LSS 0,25%, a Tabela 19 também mostra um aumento de solubilidade de 8, 12 e 13 vezes para as amostras $DS_{PVPVA}3$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}1$, respectivamente, ou seja, um aumento da solubilidade aparente com o aumento da fração mássica de polímero presente no sistema binário.

Em estudo realizado por Panikumar e colaboradores (2012), o LSS foi o tensoativo que mostrou maior incremento na solubilidade do EFV, onde a solubilidade do fármaco aumentou proporcionalmente com a concentração deste surfactante no meio, sugerindo a

solubilização micelar do EFV, com pareamento iônico do LSS com o EFV aumentando a sua solubilidade.

6.4.2 Dissolução in vitro

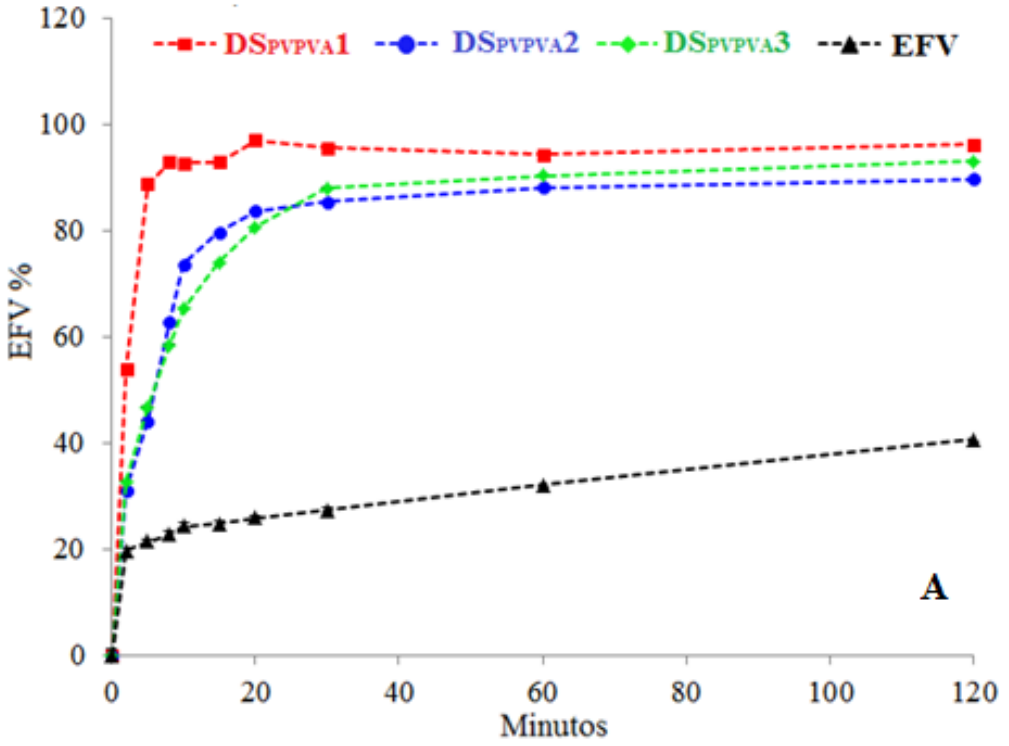
Os perfis de dissolução das formulações $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$, $DS_{PVPVA}3$ foram avaliados nos meios LSS 0,25% (m/v) e FeSSIF, em comparação ao EFV cristalino. As curvas obtidas são apresentadas nas Figs. 62a e 62b.

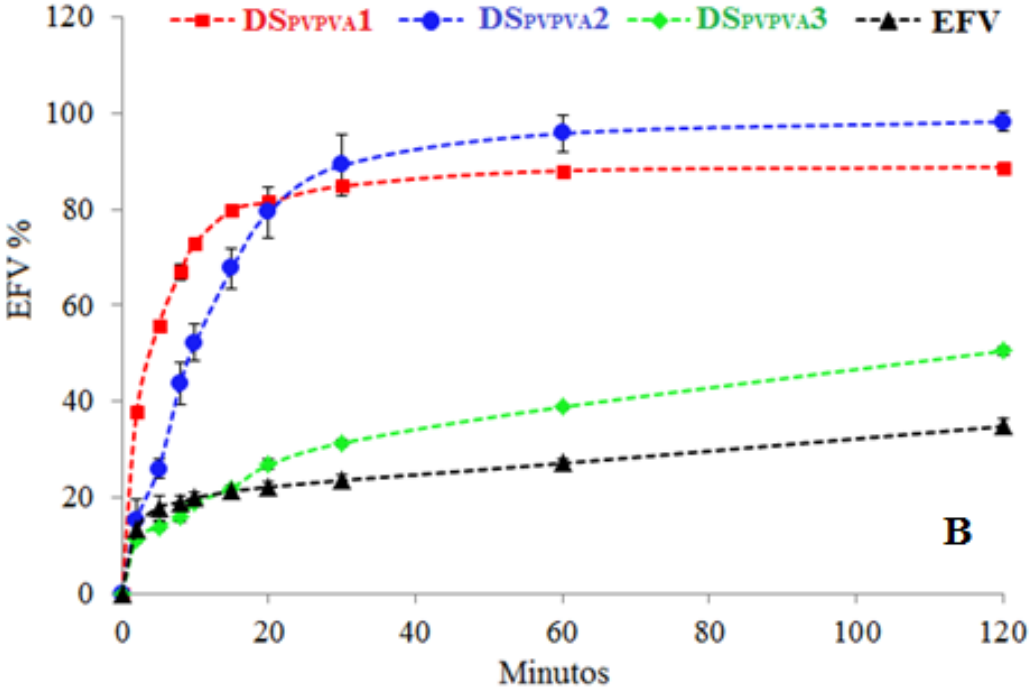
Os resultados confirmam o efeito esperado das DS_{PVPVA} (dispersões sólidas amorfas) na cinética de dissolução do EFV em todos os meios estudados. Para o meio LSS 0,25% (Fig. 62a), as três formulações apresentaram rápida dissolução, atingindo-se uma concentração de fármaco em solução bem superior à concentração do EFV cristalino, concentração esta mantida inalterada até o final da análise. O percentual dissolvido de EFV $\geq$ 85% em 20 minutos de análise assemelha-se ao percentual de dissolução de fármacos Classe I (FDA, 1997). Nesse meio, a concentração polimérica das amostras pareceu não apresentar influência na dissolução do EFV, com curvas de dissolução muito próximas entre si.

Pinto e colaboradores (2014) publicaram um estudo para o desenvolvimento de um método discriminativo para dissolução intrínseca do EFV, onde considerou um meio aquoso contendo 0,5% de LSS adequado para análise comparativa entre lotes diferentes de matérias-primas para o EFV cristalino. No entanto, no estudo aqui realizado, foi verificado que mesmo o uso de quantidade inferior de LSS (0,25%) mostrou pouca diferença entre os perfis de dissolução das estruturas amorfas contendo proporções diferentes do polímero PVPVA.

O estudo cinético realizado no meio FeSSIF mostrou que as amostras $DS_{PVPVA}1$e $DS_{PVPVA}2$ também apresentaram percentual de EFV dissolvido $\geq$ 80% a partir de 20 minutos de análise. Já a formulação $DS_{PVPVA}3$, de menor proporção polimérica, apresentou uma cinética de liberação do fármaco mais lenta e com percentual dissolvido de cerca de 50% ao final de 2 horas de análise. Fica evidente que a concentração polimérica influenciou a cinética de liberação do fármaco neste meio, e os perfis próximos entre formulações $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}2$ são resultados da diferença relativamente pequena entre as proporções poliméricas dessas formulações.

Figura 62 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* nos meios de dissolução (a) LSS 0,25% (m/v) e meio (b) FeSSIF.





Fonte: Autoria própria.

6.4.2.1 Tratamento Cinético (modelo independente)

As cinéticas de liberação do EFV presente nas formulações poliméricas de PVPVA também foram avaliadas quanto à Eficiência de Dissolução (ED), definida pela Eq. 2.9 (capítulo 2).

6.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução

A eficiência de dissolução (ED) foi calculada a partir dos valores de área sob a curva (ASC) do perfil de dissolução paras as formulações $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ no intervalo de tempo entre 0 e 120 min. Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente por ANOVA *one-way*, seguido de Teste de Tukey, considerando um nível de significância de 95%, e estão dispostos na Tabela 20.

Tabela 20 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED_{120}) utilizando análise estatística por ANOVA e Teste de *Tukey*.

Amostra	**Teor de EFV (%) ± DPR**	**Meio aquoso com LSS 0.25% m/v**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED_{120}) média (n=2)*	
EFV	100	31,47 ± 0,01	27,00 ± 0,21[a]
$DS_{PVPVA}1$	9,5 ± 1,08	92,50±1,12	83,44±0,28[b]
$DS_{PVPVA}2$	16,19 ± 0,58	83,37±0,03[a]	86,46±3,43[b]
$DS_{PVPVA}3$	41,55 ± 1,97	83,83±1,75[a]	36,47±0,41[c]

* Os valores representam a média de duas determinações independentes.

Fonte: Autoria própria.

Após análise estatística por ANOVA *one-way*, concluiu-se que os resultados de ED_{120} diferem estatisticamente entre as formulações e o EFV cristalino para cada meio avaliado ($p<0,05$), onde o EFV apresenta ED_{120} significativamente menor que todas as formulações DS_{PVPVA}. Como já dito anteriormente, este resultado pode ser facilmente atribuído ao caráter amorfo do EFV nos sistemas formados, pois a forma amorfa de um fármaco possui maior atividade termodinâmica que sua forma cristalina, conduzindo a rápida dissolução da molécula, como evidenciado neste estudo.

A verificação das diferenças entre as médias da ED_{120}, realizada pelo Teste *post hoc* de *Tukey*, indicou que para o meio LSS 0,25%, as formulações $DS_{PVPVA}2$ e DS_{PVPVA3} não diferem entre si, da mesma forma que os resultados obtidos para as formulações $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}2$ em meio FeSSIF, que novamente pareceu ser o meio que melhor refletiu as condições de dissolução de EFV e PVPVA na forma de uma dispersão sólida amorfa.

6.5. Estudo de Estabilidade Previsional

6.5.1 Sorção de Umidade (DVS)

O polímero PVPVA possui características consideráveis de hidrofilia e higroscopicidade (SONG et al., 2013), o que o torna interessante para o incremento da solubilidade de fármacos hidrofóbicos, mas também aumenta a susceptibilidade das formulações à ação plastificante das moléculas de água.

O objetivo do estudo pela técnica de DVS, cujos resultados aqui apresentados, foi de verificar o comportamento das DS_{PVPVA} quando expostas a diferentes condições de umidade.

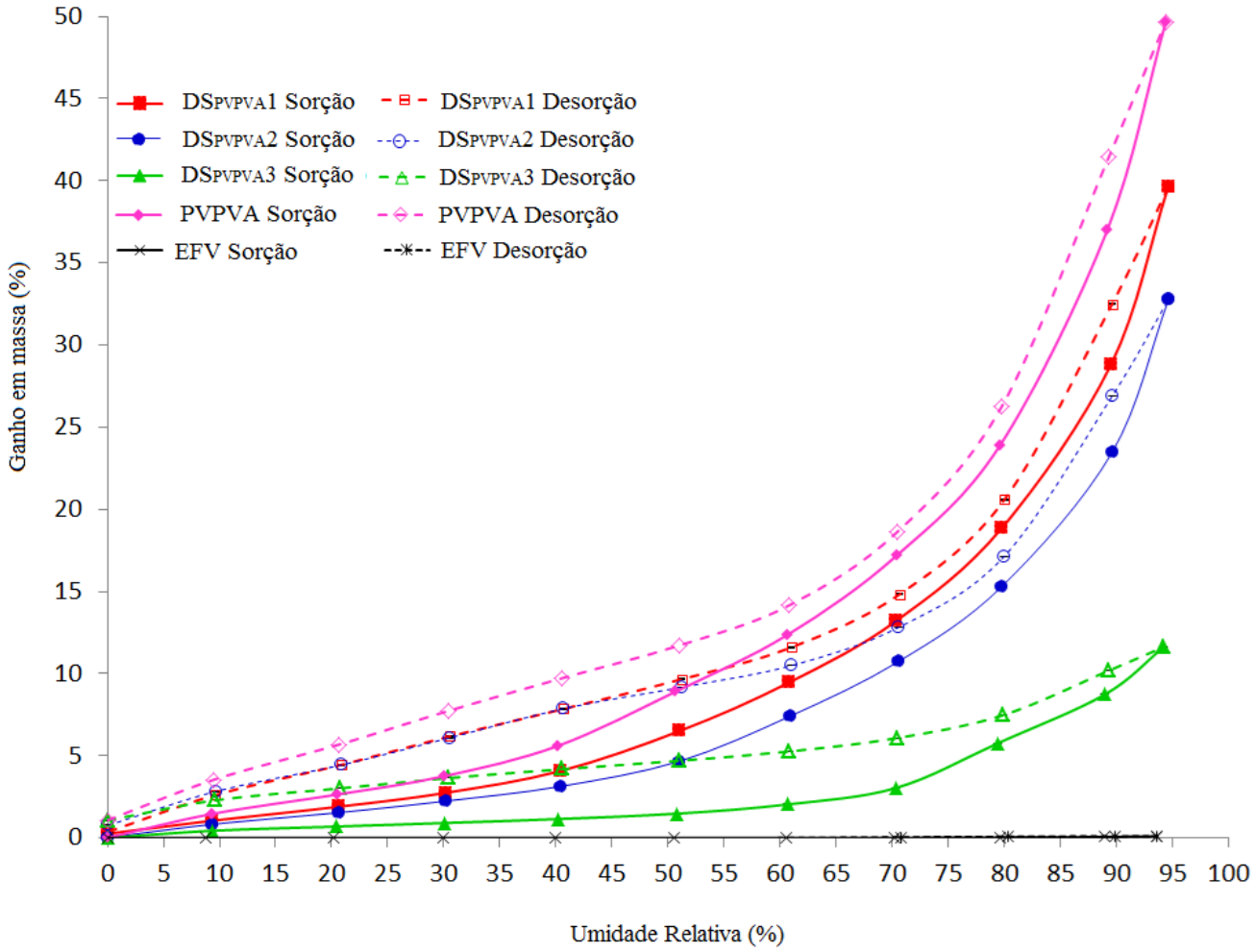
A Fig. 63 apresenta as isotermas de sorção de vapor d'água das seguintes amostras: EFV, PVPVA e das dispersões sólidas ($DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$). Estes resultados refletem a variação do percentual em massa das amostras em função da variação da umidade relativa (UR%) em condições fixas de temperatura (25°C).

Confirma-se através da isoterma de sorção do polímero PVPVA, sua elevada hidrofilia com um ganho de cerca de 50% em massa à 95%UR. Em consequência, as amostras DS_{PVPVA} seguiram esta tendência, no entanto, a quantidade de água adsorvida diminuiu com o aumento da proporção do fármaco EFV nas amostras ($DS_{PVPVA}3<DS_{PVPVA}2<DS_{PVPVA}1$).

Para as amostras $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$, o ganho de massa foi de 40% e 12%, respectivamente, sendo praticamente o dobro do obtido para as amostras do Soluplus® nas

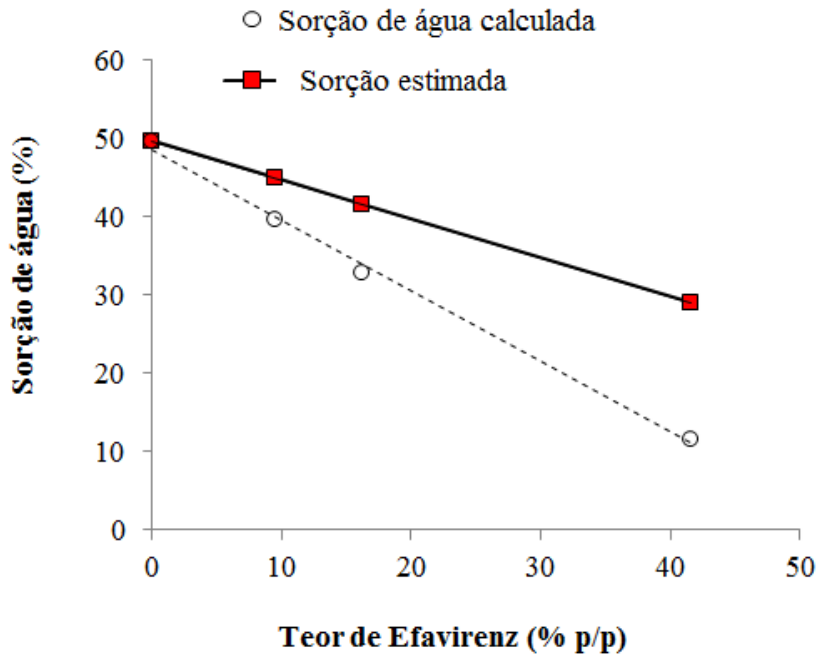
mesmas condições (Fig. 3.13, Capítulo 3). Para a amostra $DS_{PVPVA}2$, o ganho de massa foi de 32%, enquanto para $DS_{SOL}2$ foi de 20%. Isso indica uma maior afinidade por moléculas de água pelo polímero PVPVA. No entanto, essa maior hidrofilia pode agir negativamente na estabilidade física destas estruturas amorfas, induzindo o processo de recristalização pelo efeito plastificante da água, já descrito anteriormente.

Figura 63 - Isoterma de sorção de água (DVS) a 25°C do polímero PVPVA, do EFV e das dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$, $DS_{PVPVA}2$ e $DS_{PVPVA}3$.



Fonte: Autoria própria.

Figura 64 - Sorção de água em função do teor de EFV presente nas amostras DS_{PVPVA}. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas.



Fonte: Autoria própria.

Verifica-se, através da Fig. 64, que o EFV reduz de forma linear a adsorção de água pela matriz polimérica do PVPVA em razão da sua hidrofobicidade, resultando na redução da higroscopicidade pelas DS_{PVPVA} em função da proporção do EFV presente, semelhante ao obtido com Soluplus®. Também se observou uma menor sorção de água pelas DS_{PVPVA} quando comparada a estimada pelo modelo das misturas ideais. Seguindo o resultado obtido com as amostras $DS_{SOL,}$ pode se considerar que os desvios obtidos foram também devido às interações fármaco-polímero, que podem indisponibilizar os grupos polares que poderiam interagir com as moléculas de água durante a sorção.

6.5.2. Estabilidade em Condições Aceleradas

Amostras da $DS_{PVPVA}3$ foram submetidas à análise por DVS de modo semelhante ao realizado com as DS_{SOL}. O resultado da análise térmica (Tabela 21) mostrou uma redução na Tg da $DS_{PVPVA}3$, semelhante ao ocorrido na amostra $DS_{SOL}3$, justificando-se também pela ação plastificante da água.

Tabela 21 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC, sob diferentes condições de armazenamento.

Amostra	**EFV: PVPVA (m/m)**	***Estabilidade em condições aceleradas***	***DSC (1° ciclo de aquecimento)***	
			Tg°C (T_{onset})	**ΔCp J/g °C**
$DS_{PVPVA}3$	**1 :1,25**	t_0 (inicial)	83,4	0,25
		Após sorção de vapor de água por DVS (40°C, 75% UR)	81,0	0,22
Estabilidade a temperatura ambiente (~22°C, 23% UR, 12 meses)				
$DS_{PVPVA}3$	**1 :1,25**	t_0 (inicial)	83,4	0,25
		~22°C, 23% UR, 12 meses	80,0	0,33
$DS_{PVPVA}1$	**1 :10**	t_0 (inicial)	102,4	0,30
		~22°C, 23% UR, 12 meses	102,0	0,30

Fonte: Autoria própria.

Não foi possível avaliar a distribuição dos constituintes por espectroscopia RAMAN nas amostras de $DS_{PVPVA}3$ após a análise por DVS (insuficiência de material).

6.5.3 Estabilidade a Temperatura Ambiente

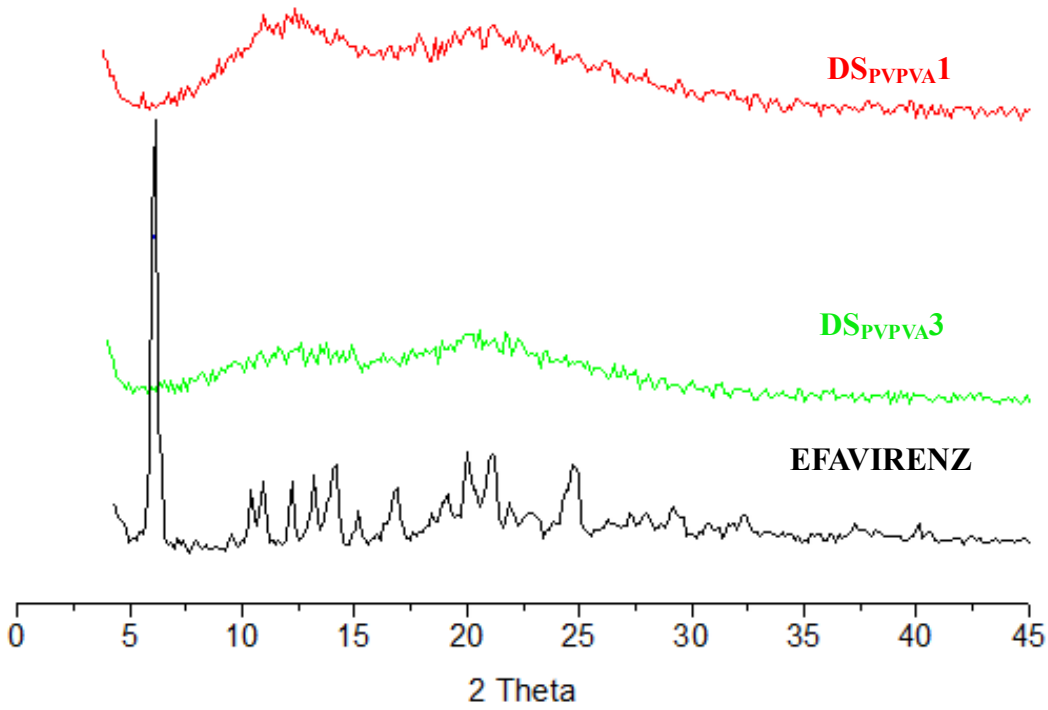
Amostras das dispersões sólidas $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$, armazenadas em dessecador a T.A (~22°C) e 23%UR foram avaliadas por análises térmica e DRX. A análise por *m*DSC mostrou a presença de uma única Tg, para ambas as amostras avaliadas, indicando que o sistema permaneceu amorfo e de fase única. Foi observada uma leve redução da Tg para a $DS_{PVPVA}3$, que pode ter sido ocasionada por uma possível presença de umidade, tendo em vista a higroscopicidade do polímero.

A amorficidade do sistema foi confirmada pela análise de DRX após um período de doze meses de armazenamento: os difratogramas das amostras (Fig. 65) apresentaram a

ausência de picos característicos da molécula de EFV cristalina. O padrão de halo apresentados para ambas as amostras ($DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$) assemelhou-se ao obtido na análise realizada com as amostras recém-preparadas, confirmando a manutenção da amorficidade das estruturas.

Os resultados obtidos indicaram que o polímero PVPVA foi capaz de estabilizar o EFV amorfo presente nas DS_{PVPVA} e evitar a recristalização do fármaco sob a condição de armazenamento avaliada.

Figura 65 - Difratogramas obtidos para as amostras de EFV isolado, $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{PVPVA}3$ após doze meses de armazenamento em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C e 23%UR).



Fonte: Autoria própria.

Capítulo 5

DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ - HPMCAS

O Capítulo 5 apresenta as dispersões sólidas de Efavirenz e HPMCAS (Hidroxipropilmetilcelulose acetato succinato).

Nele também são apresentados os métodos de preparação e caracterização, principais características das partículas sólidas formadas, além da avaliação do impacto nas propriedades funcionais destas dispersões sólidas, semelhante ao descrito nos Capítulos 3 e 4.

7 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ - HPMCAS

7.1 Miscibilidade Efavirenz-HPMCAS baseada em Parâmetro de Solubilidade (δ)

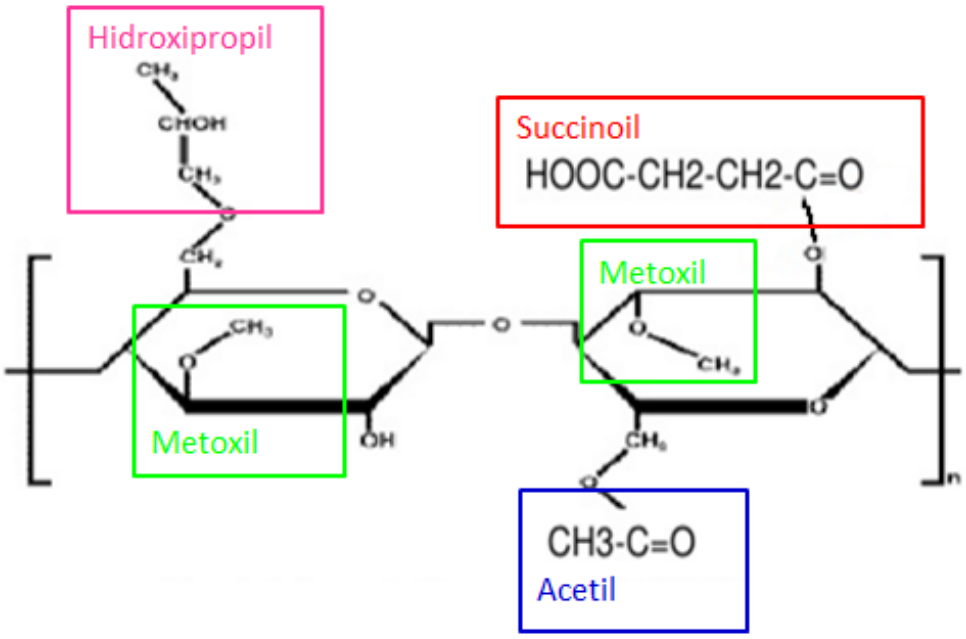
A predição da miscibilidade EFV-HPMCAS também foi estimada a partir dos parâmetros de solubilidade de Hansen-Hildebrand (δ) de acordo com o método de contribuição dos grupos descrito por Hoftyzer e Van Krevelen (1976), como mostrado na Tabela 21. Para aplicação deste método, a composição molar com percentual de substituição dos grupos do HPMCAS foi baseada no estudo publicado por GHOSH e colaboradores (2011), considerando a presença dos seguintes grupos funcionais (Fig. 66): metoxil (23,6%), hidroxipropil (7,3%), acetil (11,3%) e succinoil (7,3%).

Tabela 22 - Decomposição manual do polímero HPMCAS para cálculo do parâmetro de solubilidade δ (método de contribuição dos grupos de Van Krevelen/Hoftyzer).

Unid. Estrutural (Massa molar/ massa total)	Grupo/ Monômero	Grupo Estrutural	Fdi	Fpi	F^2pi	Ehi
Hidroxipropil (m=22,3)	01	CH_3	420	0	0	0
	01	CH	80	0	0	0
	01	OH	210	500	250000	20000
	01	CH_2	270	0	0	0
Succinoil (m= 13)	01	>C=O	290	770	592900	2000
	02	CH_2	270	0	0	0
	01	COOH	530	420	176400	10000
Metoxil (m = 141,6)	02	CH_3	420	0	0	0
Acetil (m= 49,6)	01	C=O	290	770	592900	2000
	01	CH_3	420	0	0	0
Unidade formadora da celulose (m= 59,4)	10	CH	80	0	0	0
	08	-O-	100	400	160000	3000
	01	OH	210	500	250000	20000
	02	CH_2	270	0	0	0
	02	Anel	190	0	0	0

Fonte: Autoria própria.

Figura 66 - Indicação dos grupos funcionais do polímero HPMCAS utilizados na determinação dos parâmetros de solubilidade pelo método de Van Krevelen/Hoftyzer.



Fonte: Adaptado de DONG e CHOI, 2008. Reproduzido com permissão.

Dados de entrada para o cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) de Hansen :

- Massa molar: 18000 g/mol
- Densidade real: 1,28 g/cm^3 ± 0,008g/cm^3
- Volume molar: 14062,5 cm^3/mol

Tabela 23 - Cálculo do parâmetro de solubilidade total (δ_T) para HPMCAS.

Parâmetros de solubilidade	δ_d (MPa$^{1/2}$)	δ_p (MPa$^{1/2}$)	δ_h (MPa$^{1/2}$)	δ_T (MPa$^{1/2}$)
Valores calculados	23,70	0,83	15,35	**28,2**

Fonte: Autoria própria.

O valor do parâmetro de solubilidade total (δ_T) calculado a partir do método de contribuição de grupos para o polímero HPMCAS, foi de 28,2 MPa$^{1/2}$, apresentado na Tabela 22. A diferença dos parâmetros de solubilidade ($\Delta\delta$) entre o EFV (24,5 MPa$^{1/2}$) e o HPMCAS é de 3,7 MPa$^{1/2}$ que, de maneira similar aos demais polímeros do estudo, é indicativo de provável miscibilidade entre HPMCAS e EFV.

7.2 Preparação das Dispersões Sólidas Efavirenz-HPMCAS

Amostras de dispersões sólidas contendo EFV e HPMCAS (DS_{HPMCAS}) foram preparadas pela técnica de *spray-drying*. A forma de preparação da solução contendo EFV e HPMCAS difere da utilizada para as dispersões sólidas com Soluplus® e PVPVA devido ao fato do HPMCAS ser menos solúvel em etanol puro. Para solucionar este problema, o polímero HPMCAS foi solubilizado em uma mistura hidroalcoólica (20:80). As proporções fármaco:polímero foram as mesmas utilizadas anteriormente e as condições operacionais do processo de secagem por *spray-drying* estão descritas na Tabela 23.

Após a secagem, as amostras foram acondicionadas em dessecador à temperatura ambiente para posterior caracterização do estado sólido.

Tabela 24 - Condições dos parâmetros da atomização por *spray-drying* mantidas durante o processo de secagem (HPMCAS e DS_{HPMCAS}).

Amostra	**EFV:HPMCAS (m:m)**	**Temperatura (°C)**		**Aspiração (%)**	**Vazão de N_2 (L/h)**	**Vazão de alimentação (L/h)**
		entrada	***saída***			
HPMCAS atomizado	0 : 1	70-72	67-71	100	600	0,25
$DS_{HPMCAS}1$	1 : 10	80-84	64-70			0,24
$DS_{HPMCAS}2$	1 : 5	80-84	64-69			0,22
$DS_{HPMCAS}3$	1 : 1,25	80-84	64-69			0,24

Fonte: Autoria própria.

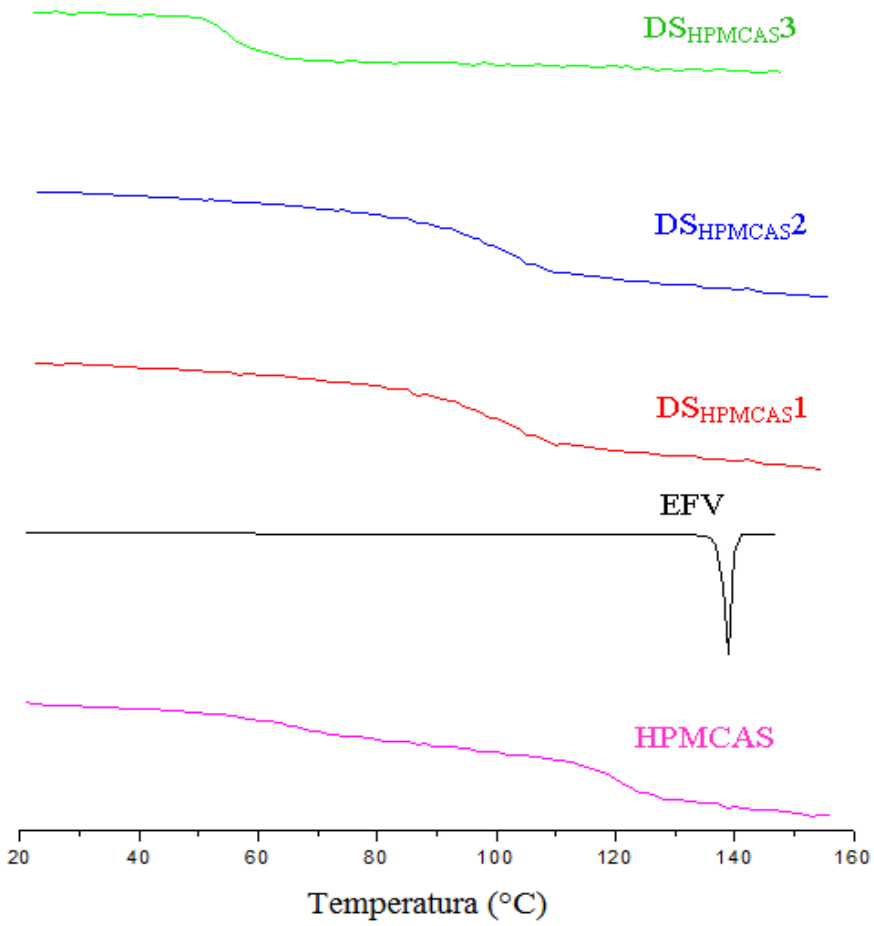
7.3 Caracterização das Dispersões Sólidas

7.3.1 Miscibilidade com Base na Temperatura de Transição Vítrea (Tg)

A Fig. 67 apresenta os perfis térmicos das dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, comparativamente aos resultados obtidos para EFV e para o polímero puro. Os

valores correspondentes aos eventos térmicos observados nos termogramas da Fig. 67 (DSC e *m*DSC) estão dispostos na Tabela 24.

Figura 67 - Termogramas DSC para o EFV cristalino puro, HPMCAS atomizado e para as dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$.



Fonte: Autoria própria.

Observando-se os termogramas, pode-se verificar que o pico endotérmico referente à fusão do EFV (Tf = 139,2°C) desapareceu completamente nas amostras $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, possivelmente devido à amorfização do EFV disperso molecularmente no polímero HPMCAS, semelhante ao ocorrido nas DS_{SOL} e DS_{PVPVA}. Para estes sistemas binários também foi identificada uma única Tg, com valores intermediários entre o fármaco amorfo (Tg = 36,1°C) e o polímero (Tg = 123,2°C). Estes resultados refletem a possível formação de um sistema homogêneo de fase única.

Tabela 25 - Temperaturas de transição vítrea obtidas experimentalmente por mDSC e estimadas pela equação de Gordon-Taylor ($DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$).

Amostra	T_g [1] Experimental (°C)	ΔCp (J/gK)	Tg Gordon-Taylor (°C)	ΔTg
HPMCAS atomizado	123,2	0,24	-	-
$DS_{HPMCAS}3$ (EFV: HPMCAS 1:1,25)	57,7	0,26	80, 9	-23,2
DS_{HPMCAS} 2 (EFV: HPMCAS 1:5)	85,9	0,26	106,2	-20,3
DS_{HPMCAS} 1 (EFV: HPMCAS 1:10)	104,0	0,28	114,1	-10,1

[1] 1º ciclo de aquecimento (mDSC)

Fonte: Autoria própria.

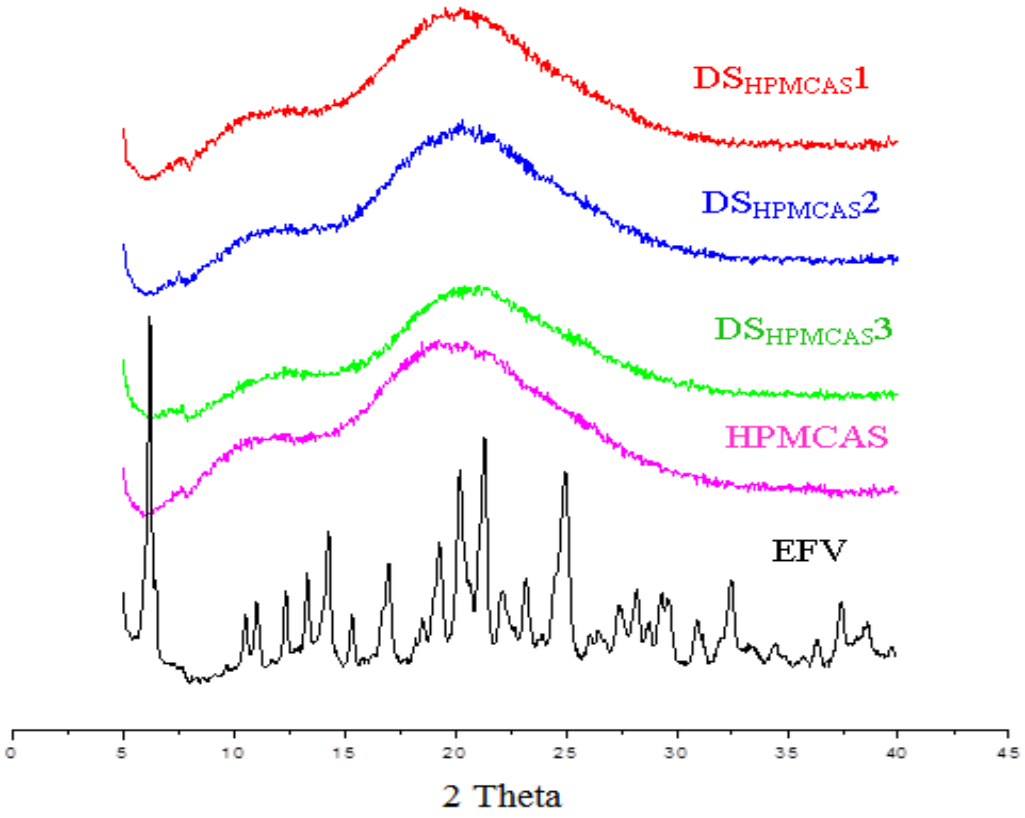
O efeito da concentração do polímero na Tg das formulações de DS_{HPMCAS} também foi obervado (Tg de 80,9°C para $DS_{HPMCAS}3$ e de 114,1°C para $DS_{HPMCAS}1$). Nota-se um aumento da Tg diretamente proporcional ao aumento da quantidade de polímero na mistura, tendência também observada neste trabalho com os demais polímeros (Soluplus® e PVPVA). Análises DRX foram realizadas para confirmar a amorfização dos sistemas e serão descritas posteriormente.

A análise comparativa entre os valores estimados pela equação de Gordon-Taylor para as misturas binárias e os obtidos experimentalmente por *m*DSC (Tabela 24), mostra um desvio negativo dos valores experimentais em relação aos valores téoricos (misturas ideais), semelhante ao apresentado pelas dispersões sólidas produzidas com Soluplus®. No entanto, entre todos os polímeros utilizados, as DS_{HPMCAS} foram as que apresentaram maior desvio. Esse resultado sugere um maior volume livre nestas amostras e relativa fraqueza nas interações heteromoleculares (KENNEDY et al., 2008).

7.3.2 Difração de Raios-X (DRX)

Os difratogramas referentes às amostras do polímero HPMCAS, do EFV cristalino e das dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ obtidos na região de 5 - 40° (2 θ) são apresentados na Fig. 68.

Figura 68 - Difratogramas de raios-X-ray das amostras do fármaco EFV isolado, do polímero HPMCAS e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$.



Fonte: Autoria própria.

Para todas as amostras DS_{HPMCAS}, observa-se a ausência de picos característicos do fármaco cristalino, em concordância com os resultados obtidos na análise por mDSC, indicando a amorfização dos sistemas binários. Dispersões sólidas amorfas tem sido obtidas com o polímero HPMCAS e outros fármacos como Griseofulvina (AL-OBAIDI et al., 2013b), Vemurafenib (SHAH, 2013) e Ácido Betulínico (YU et al., 2014).

7.3.3 Espectroscopia no Infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR)

Diferentemente dos polímeros usados anteriormente (Soluplus® e PVPVA), o HPMCAS possui na sua estrutura química grupos doadores e aceptores de prótons (TEJA et al., 2013) que possibilitam a formação de interações moleculares entre os componentes de misturas binárias. Por esta razão, a presença de possíveis interações entre o EFV e o HPMCAS foi investigada por espectroscopia FT-IR. A Fig. 69 mostra os espectros obtidos para as dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ comparativamente ao polímero HPMCAS isolado e ao EFV cristalino.

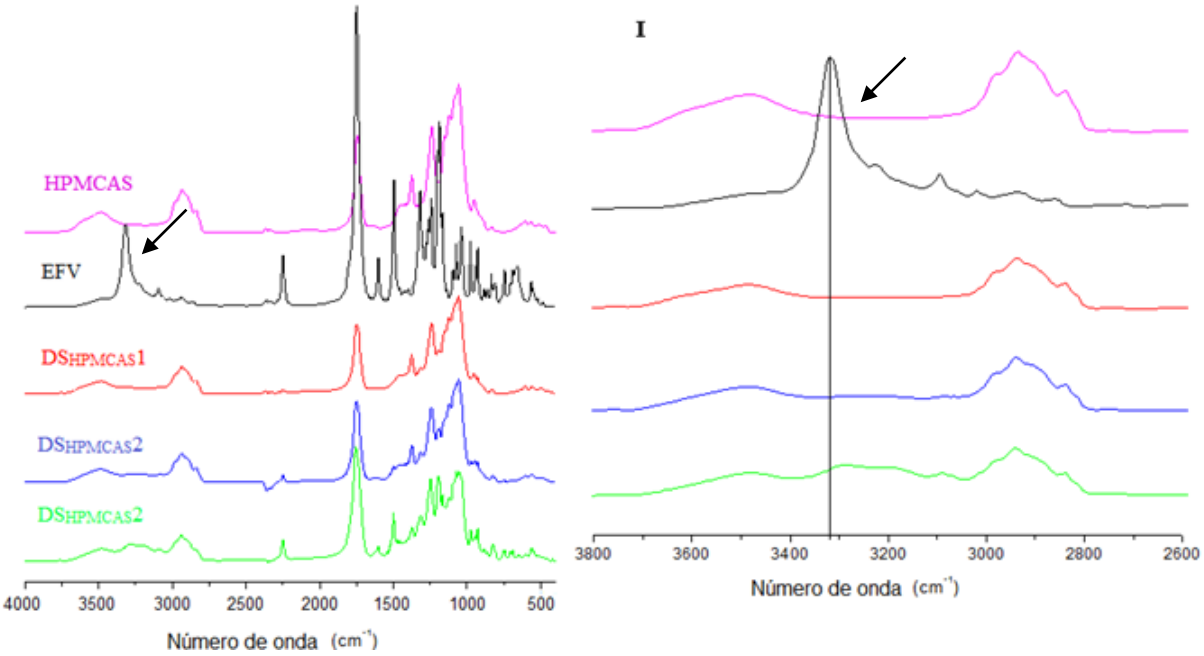
O espectro no infravermelho para o polímero HPMCAS exibiu picos característicos na região de 1064 cm^{-1} (vibração de estiramento C–O) dos éteres cíclicos, na região de 3000 cm^{-1} (vibração de estiramento dos grupos C–H), a 3400 cm^{-1} (vibração de estiramento O-H) e na região de 1750 cm^{-1} devido à vibração de estiramento do grupo C = O (AL-OBAIDI et al., 2013b; JEGANATHAN et al., 2015).

A molécula de EFV apresenta o pico característico da vibração de estiramento do N–H na região de 3320 cm^{-1} que não é observado nas dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}2$. No entanto, com o aumento da concentração de EFV na formulação $DS_{HPMCAS}3$, evidenciou-se o alargamento e um leve deslocamento deste pico para um número de onda maior, o que sugere interação com o polímero. De fato, HPMCAS contém grupos substituintes como o hidroxipropil e o metoxil que podem formar pontes de hidrogênio (H^+) com fármacos (ZHANG et al., 2009).

O desaparecimento da vibração de estiramento N-H da molécula de EFV em dispersões sólidas formadas com PVPK30 foi referenciado na literatura por Kol et al., 2013. A literatura também relata interações por pontes de H^+ entre o grupo N-H presente em moléculas do fármaco Carbamazepina e Felodipino com o polímero HPMCAS (ALSHAHRANI et al., 2015; KONNO H.; TAYLOR, 2006).

Tanto EFV quanto HPMCAS possuem em suas estruturas moleculares o grupamento carbonila (C=O), cuja vibração de estiramento corresponde ao pico a 1750 cm^{-1}. Foi observado que nas dispersões sólidas EFV-HPMCAS houve a sobreposição desses picos, sem que houvesse alargamento ou deslocamento dos mesmos. Assim, diferentemente do esperado, as alterações observadas nos espectros FT-IR podem caracterizar um nível de interação menor entre o fármaco EFV e o polímero HPMCAS quando comparado às dispersões sólidas EFV-Soluplus® e EFV-PVPVA.

Figura 69 - Espectros no infravermelho por transformada de Fourier do polímero HPMCAS, EFV cristalino e das dispersões sólidas: $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$. *Zoom* na região do espectro FT-IR: **I.** 3800-2600 cm^{-1}, indicando o deslocamento do pico do EFV a 3320 cm^{-1} na amostra de $DS_{HPMCAS}3$



Fonte: Autoria própria.

7.3.4 Teor de Efavirenz e Características Físicas das Dispersões Sólidas

7.3.4.1 Teor de Efavirenz

A quantificação do fármaco presente nas amostras de DS_{HPMCAS} revelou uma taxa de incorporação de EFV na estrutura amorfa formada acima de 94%, indicando que as condições operacionais do processo por *spray-drying* também foram eficientes para a atomização destes sistemas binários.

7.3.4.2 Tamanho de partículas

A distribuição de tamanho das partículas é mostrada na Tabela 26. O diâmetro médio $D_{[4,3]}$, obtido para as amostras $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, foi de 14,6µm; 11,6µm e 6,7µm, respectivamente, diferindo estatisticamente entre si ($p<0,05$). O aumento da proporção

de polímero na mistura resultou em aumento do tamanho das partículas e da dispersão de tamanho (*span*).

As partículas obtidas com o polímero HPMCAS apresentaram tamanho superior quando comparadas às obtidas com os polímeros Soluplus® e PVPVA64. Foram obtidos valores para Dv90 de 32,6µm, 22,9µm e 15,2µm para as amostras $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, respectivamente. Esse fato possivelmente ocorreu em razão de uma maior viscosidade apresentada pelas soluções hidroalcóolicas do EFV:HPMCAS (Tabela 26). Soluções mais viscosas tendem a formar gotas líquidas maiores durante o processo de atomização e consequentemente partículas sólidas maiores tendem a ser obtidas após a secagem (HOMAYOUNI et al., 2015).

Em relação às demais dispersões sólidas obtidas neste estudo (DS_{SOL} e DS_{PVPVA}), o processo de *spray-drying* utilizando o polímero HPMCAS foi o que apresentou o menor rendimento, com recuperação do pó inferior a 64%.

Tabela 26 - Características das soluções de alimentação preparadas para o processo de atomização por *spray-drying* e dos pós (DS_{HPMCAS}) obtidos após o processo de secagem.

Amostras	**Solução**	**Características do pó**						
	µ (mPa.S ± DPR)	**Recupe-ração (%)**	**Teor de EFV (% ± DPR)**		**Tamanho de partícula (n=3) (µm±dp)**			
			Teórico	**Exp**	**Dv10**	**D[4,3]**	**Dv90**	**Span**
EFV	-	-	100	100	1,9 ±0,6	21,6 ±1,8	46,0 ±2,4	2,2
HPMCAS	168,0 ± 8,5	-	-	-	-	-	-	-
DS_{HPMCAS} 1	178,5 ± 7,5	63,8 ± 2,6	10	9,8 ± 1,1	2,1 ±0,01	14,6 ± 0,2	32,6 ± 0,4	3,0
DS_{HPMCAS} 2	161,3 ± 7,8	52,9 ± 2,6	15	16,0 ± 1,8	2,75± 0,1	11,6 ± 0,2	22,9 ± 0,1	2,7
DS_{HPMCAS} 3	160,2 ± 8,2	46,2 ± 2,3	45	43,6 ± 1,6	1,2 ± 0,1	6,7 ± 1,1	15,2 ± 2,8	3,2

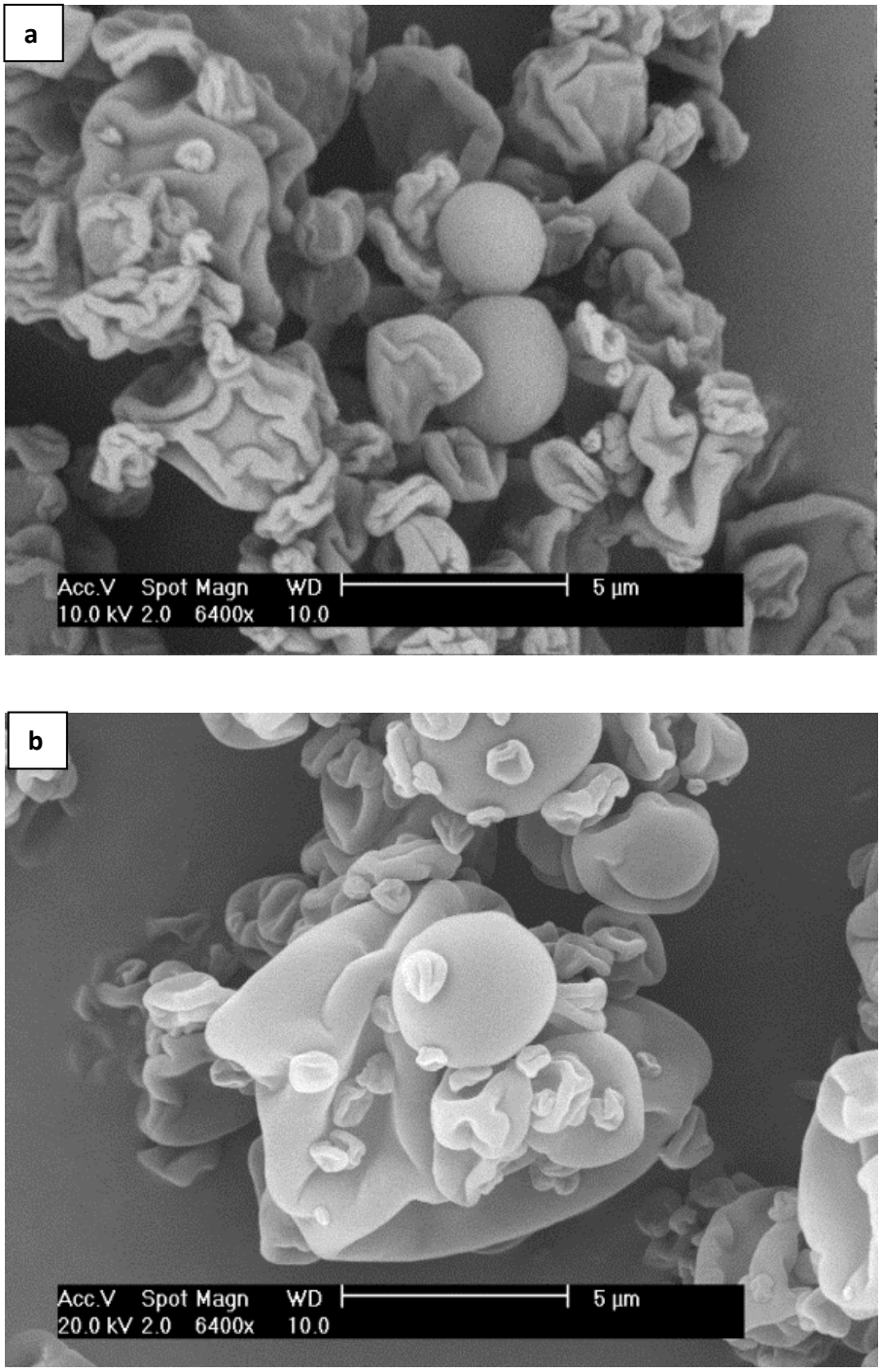
µ - Viscosidade

Fonte: Autoria própria.

7.3.4.3 Morfologia das estruturas sólidas (DS_{HPMCAS})

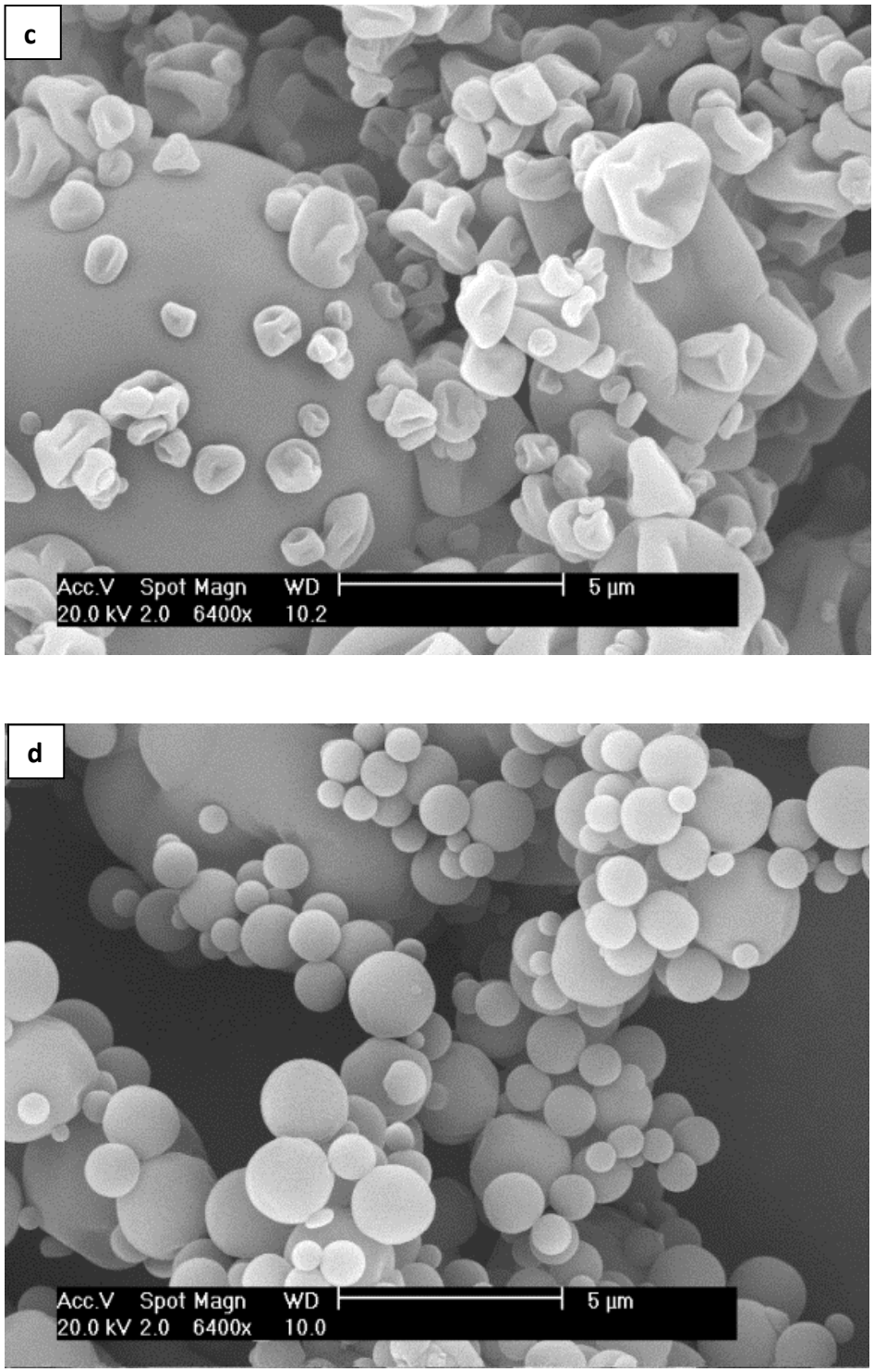
Imagens da microscopia eletrônica de varredura (MEV) das partículas de DS_{HPMCAS} podem ser visualizadas nas Figs. 70b, 70c e 70d.

Figura 70(a, b) - Micrografia obtida por MEV do polímero HPMCAS puro (a) seco por *spray-drying* e das dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}1$ (b).



Fonte: Autoria própria.

Figura 70 (c,d)- Micrografias obtidas por MEV das dispersões sólidas $DS_{HPMCAS}2$ (c) e $DS_{HPMCAS}3$ (d).



Fonte: Autoria própria.

De maneira similar ao verificado com as dispersões sólidas DS_{SOL} e DS_{PVPVA}, o aumento da concentração de fármaco nas misturas binárias levou a uma maior esfericidade das partículas, em relação à estrutura do HPMCAS atomizado isoladamente (Fig. 70a).

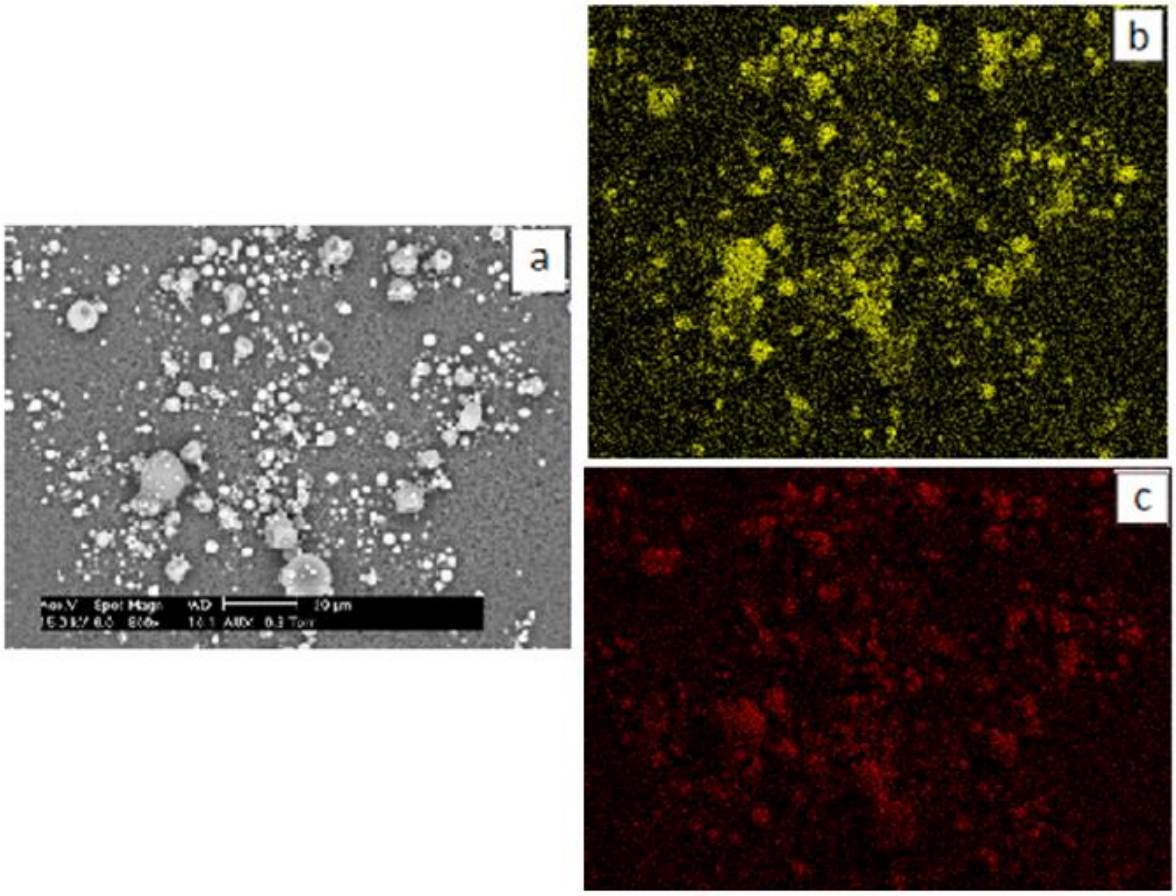
Também não foi possível observar a presença dos componentes dos sistemas individualmente, o que se caracterizou como indício de formação de um sistema binário miscível.

7.3.4.4 Distribuição dos Componentes nas Estruturas Sólidas (DS_{HPMCAS})

7.3.4.4.1 MEV-EDX

O mapeamento espectral das partículas a partir dos elementos químicos Cl (Fig. 71b) e F (Fig. 71c) presentes na estrutura do fármaco permitiu a obtenção de imagens onde observou-se a distribuição homogênea do EFV em toda superfície polimérica, tendo como referência a imagem MEV das partículas (Fig. 71a). Análises por espectroscopia RAMAN, apresentadas a seguir, corroboram com este resultado.

Figura 71 - Mapeamento espectral com análise elementar para átomos Cl em amarelo (b) e F em vermelho (c) presentes na molecula do EFV obtidos para a amostra $DS_{HPMCAS}3$ (a) indicando a distribuição da fármaco na estrutura polimérica.

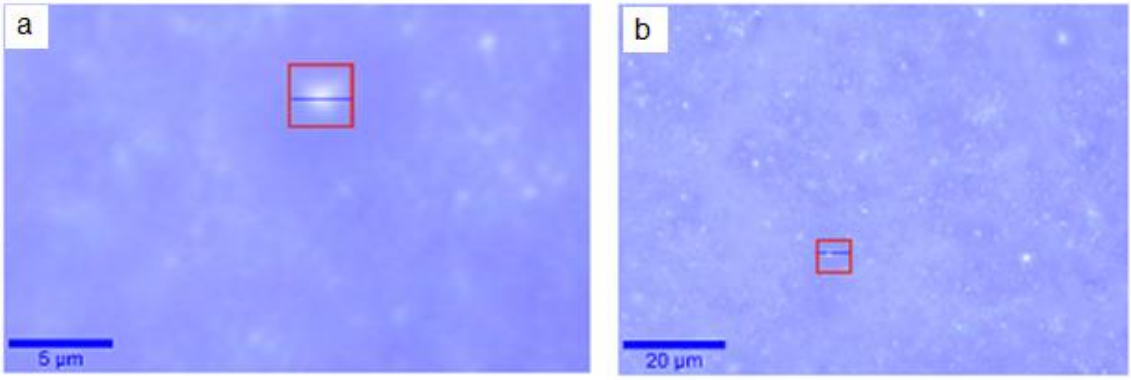


Fonte: Autoria própria.

7.3.4.4.2 Espectroscopia RAMAN

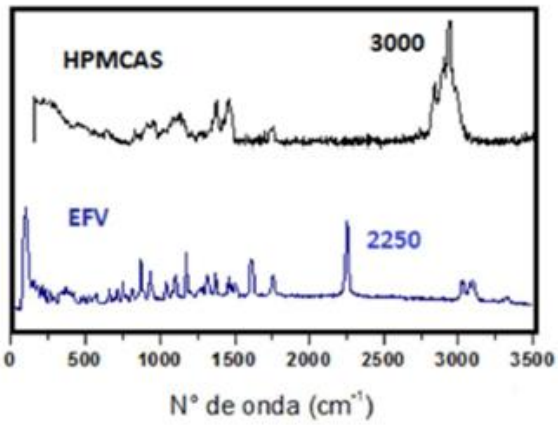
As amostras DS_{HPMCAS} foram analisadas por espectroscopia RAMAN em áreas de 5µm x 5µm ($DS_{HPMCAS}1$) e 7µm x 7µm ($DS_{HPMCAS}1$), em superfície e em profundidade, numa tentativa de focalização de partículas individuais e determinação da distribuição espacial de seus constituintes (EFV e HPMCAS). Na Fig. 72 são indicadas em vermelho as respectivas áreas analisadas para as amostras $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}3$.

Figura 72 - Imagens de microscopia óptica com aumento de 50x para as amostras: (a) $DS_{HPMCAS}1$; (b) $DS_{HPMCAS}3$.



Fonte: Autoria própria.

Figura 73 - Espectros RAMAN evidenciando as bandas características do EFV (2250 cm^{-1}) e do HPMCAS (3000 cm^{-1}).



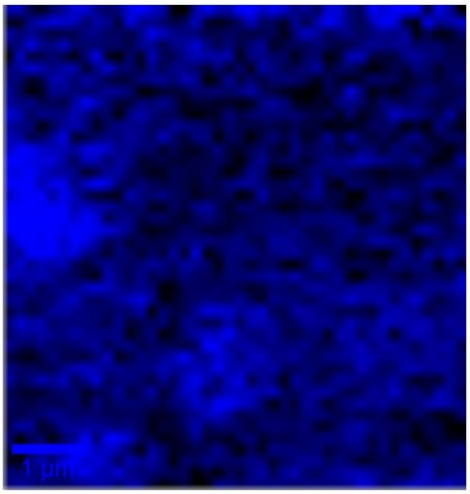
Fonte: Autoria própria.

Os resultados obtidos das análises por espectroscopia RAMAN das áreas indicadas na Fig. 72 geraram imagens onde as bandas características do HPMCAS (preto) e do EFV (azul)

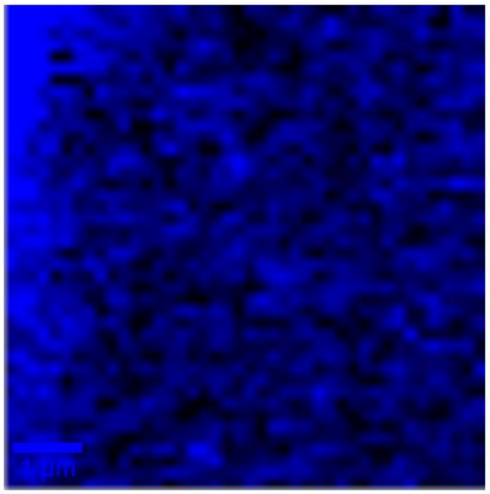
foram identificadas nas amostras das dispersões sólidas DS_{HPMCAS}, baseado nos espectros RAMAN dos componentes isolados (Fig. 73).

As Fig. 74 e 75 ilustram esta análise (varredura em superfície e em profundidade) para as amostras $DS_{HPMCAS}3$ e $DS_{HPMCAS}1$, respectivamente

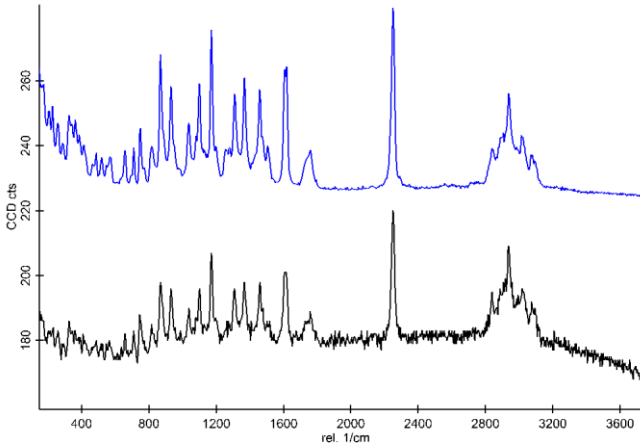
Figura 74 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV e HPMCAS em 2 clusters definidos nas áreas escaneada, diferenciados pelas cores azul (EFV) e preto (HPMCAS) (amostra $DS_{HPMCAS}3$).

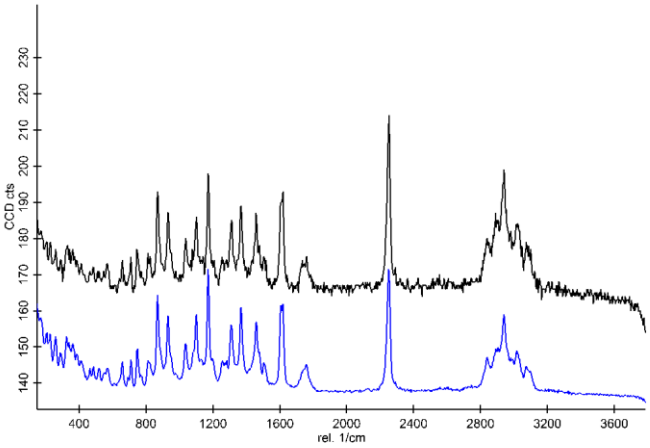


Área escaneada na superfície: 5µm x 5µm



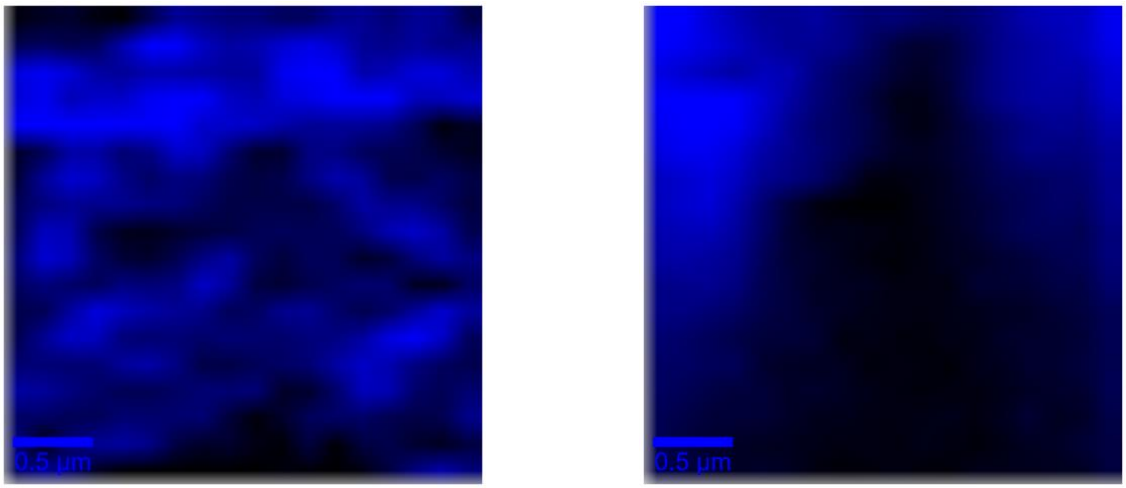
Área escaneada em profundidade: 7µm x 7µm





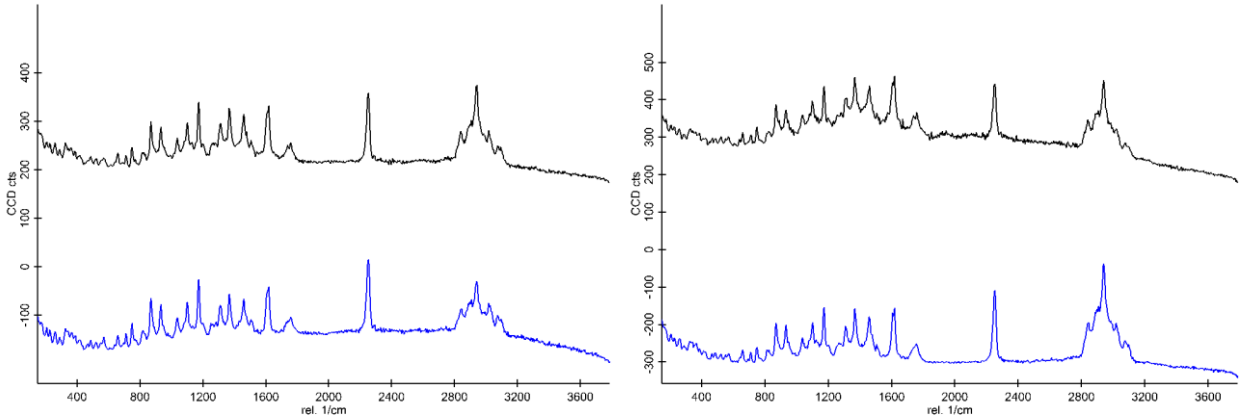
Fonte: Autoria própria.

Figura 75 - Imagem RAMAN indicando a presença de EFV e PVPVA em 2 clusters definidos nas áreas escaneadas, diferenciados pelas cores azul (EFV) e preto (HPMCAS) (amostra $DS_{HPMCAS}1$).



Área escaneada na superfície: 3µm x 3µm

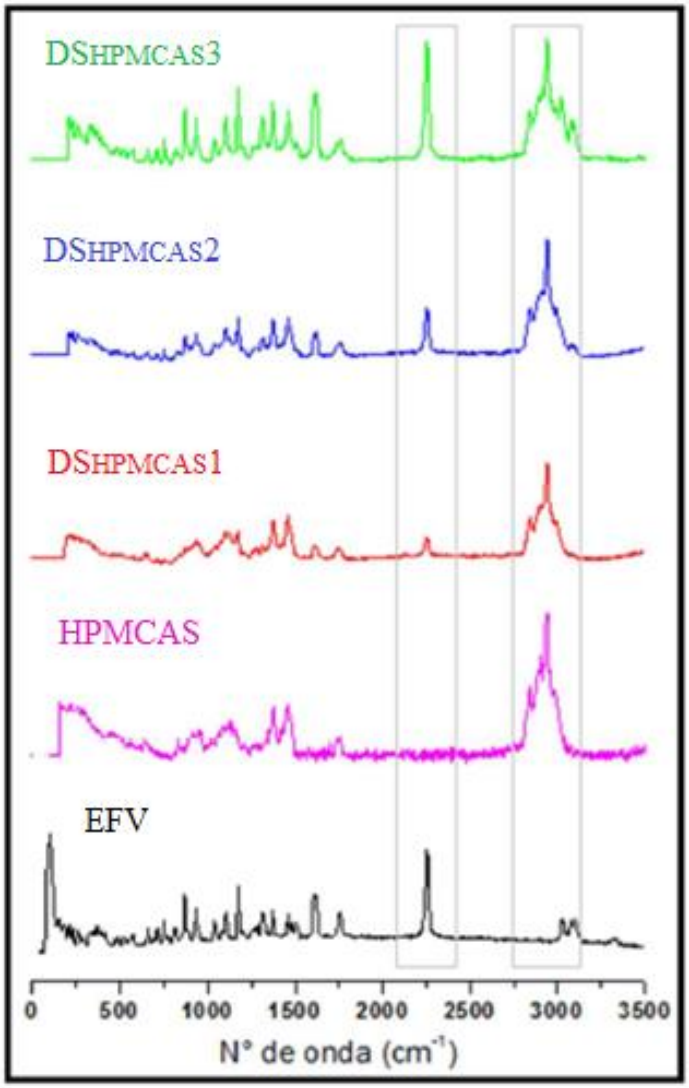
Área escaneada em profundidade: 3µm x 3µm



Fonte: Autoria própria.

Em resumo, os espectros representativos de cada amostra de $DS_{HPMCAS,}$ apresentados na Fig. 76, corresponderam a uma mistura dos espectros obtidos com as amostras isoladas do fármaco EFV e do polímero HPMCAS. Nota-se também um aumento na intensidade do pico característico do EFV (2250 cm^{-1}), proporcional a concentração de fármaco presente nas amostras ($DS_{HPMCAS}3$> $DS_{HPMCAS}2$> $DS_{HPMCAS}1$).

Figura 76 - Espectros RAMAN de DS_{HPMCAS} indicando a presença dos picos característicos do EFV (2250 cm^{-1}) e do polímero HPMCAS (3000 cm^{-1}).



Fonte: Autoria própria.

7.4 Propriedades Funcionais das Dispersões Sólidas

7.4.1 Estudo de Solubilidade

Como resultado do estudo de solubilidade realizado nos meios água purificada, LSS 0,25% (m/v) em água e fluido entérico simulado (FeSSIF) a 37°C foi verificado um aumento da solubilidade do fármaco presente nas dispersões sólidas amorfas em comparação ao EFV cristalino apenas para os meios água purificada e LSS 0,25% (m/v). O meio contendo FeSSIF,

surpreendentemente, apresentou um comportamento anômalo com redução da solubilidade para as amostras de dispersões sólidas quando comparada ao valor obtido para o fármaco cristalino puro, verificando-se uma redução da solubilidade do EFV em presença de HPMCAS. Os dados deste estudo são apresentados, mais detalhadamente, através da Tabela 27 e da Fig. 77.

Tabela 27 - Solubilidade do fármaco EFV cristalino e solubilidade aparente das partículas de DS_{HPMCAS} em água purificada, em água contendo LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0,5°C.

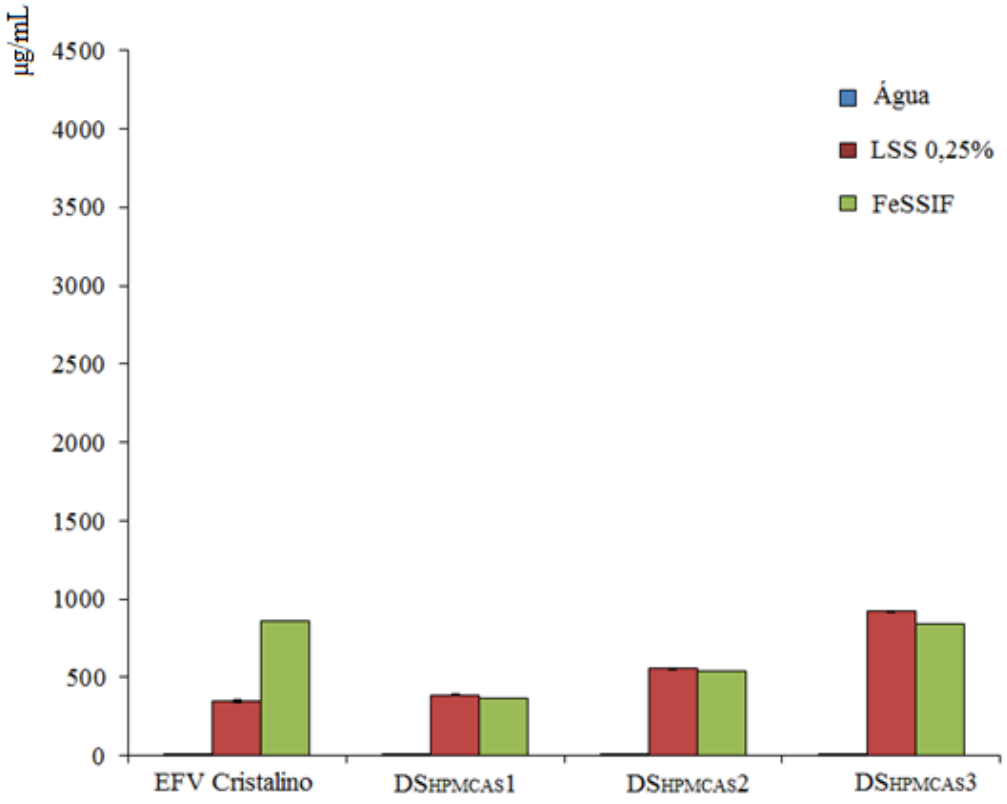
Meio	**Solubilidade* (µg/ml ± DPR) a 37°± 0.5°C**			
	Efavirenz cristalino	**$DS_{HPMCAS}1$**	**$DS_{HPMCAS}2$**	**$DS_{HPMCAS}3$**
EFV:HPMCAS	**1:0**	**1:10**	**1:5**	**1 : 1,25**
Água purificada	1,74 ± 8,00 (n=3)	4,26 ± 5,09 (n=3)	5,62 ± 6,61 (n=3)	6,74 ± 8,46 (n=3)
ER_{sol}	**-**	**3**	**3**	**5**
Solução aquosa de LSS 0,25%	350,11± 2,54 (n=3)	389,95 ±1,86 (n=3)	555,20 ±1,20 (n=3)	920,80 ±1,89 (n=3)
ER_{sol}	**-**	**1,1**	**1,6**	**2,6**
FeSSIF	861,97 ± 2,94 (n=2)	364,09 ± 3,03 (n=2)	541,94 ± 1,86 (n=2)	839,46 ± 1,67 (n=2)
ER_{sol}		**0,45**	**0,65**	**0,99**

Fonte: Autoria própria.

Considerando apenas os valores obtidos para as dispersões sólidas nos meios contendo tensoativos foi verificada uma tendência de redução na solubilidade em razão do aumento da concentração polimérica, tendo em vista que as partículas $DS_{HPMCAS}3$, com menor quantidade de polímero (~55% de HPMCAS), foram as que apresentaram maior teor de solubilização. Os

valores obtidos para as concentrações poliméricas de ~90% ($DS_{HPMCAS}1$) e ~83% ($DS_{HPMCAS}2$), não apresentaram diferença estatisticamente significativa entre os dois meios contendo tensoativos, LSS e FeSSIF ($p<0,05$). Já para a amostra contendo maior percentual de fármaco ($DS_{HPMCAS}3$), os valores obtidos foram significativamente diferentes ($p<0,05$), apesar de próximos.

Figura 77 - Gráfico representativo da solubilidade do fármaco EFV cristalino e da solubilidade aparente das partículas de $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ em água purificada, em solução de LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF à 37°± 0.5°C.



Fonte: Autoria própria.

De maneira geral, a redução da solubilidade aparente apresentada pelas dispersões sólidas EFV-HPMCAS pode ter ocorrido, entre outros fatores, em razão da solubilidade dependente de pH do polímero HPMCAS. O HPMCAS é um polímero entérico que, devido a presença dos grupamentos hidrofóbicos metoxil e acetato, é insolúvel em água e em meio ácido na sua forma não-ionizada (pH<5) e, quando ionizado (pH 6,0-7,5), permanece predominantemente disperso na forma coloidal no pH intestinal (FRIESEN et al., 2008;

TANNO et al., 2004). O tipo de HPMCAS utilizado neste estudo foi o grau –HG que dissolve em pH ≥ 6,8. No entanto, há relatos de que o grau –HG é moderadamente solúvel, dispersando para formar soluções coloidais em meio aquoso com pH acima de 5,7. (FRIESEN et al., 2008). Para os meios de dissolução LSS 0,25% e FeSSIF, os valores de pH foram de 6,2 e 5,0, respectivamente, o que pode justificar os baixos valores da solubilidade das DS_{HPMCAS} nos meios avaliados.

Adicionalmente, a formação de estruturas coloidais fármaco-polímero em solução aquosa tamponada, por sua vez, tendem a formar agregados que podem causar a precipitação do fármaco (FRIENSEN et al., 2008). Tal fato poderia explicar a redução da solubilidade do EFV observada nos meio FeSSIF para as amostras $DS_{HPMCAS.}$ Além disso, HPMCAS é um polímero que é facilmente dissolvido em meios contendo surfactantes, nos quais pode ocorrer a formação de complexos surfactante-polímero, que também podem retardar a solubilização da molécula do fármaco (CHEN et al., 2015).

7.4.2 Dissolução in vitro

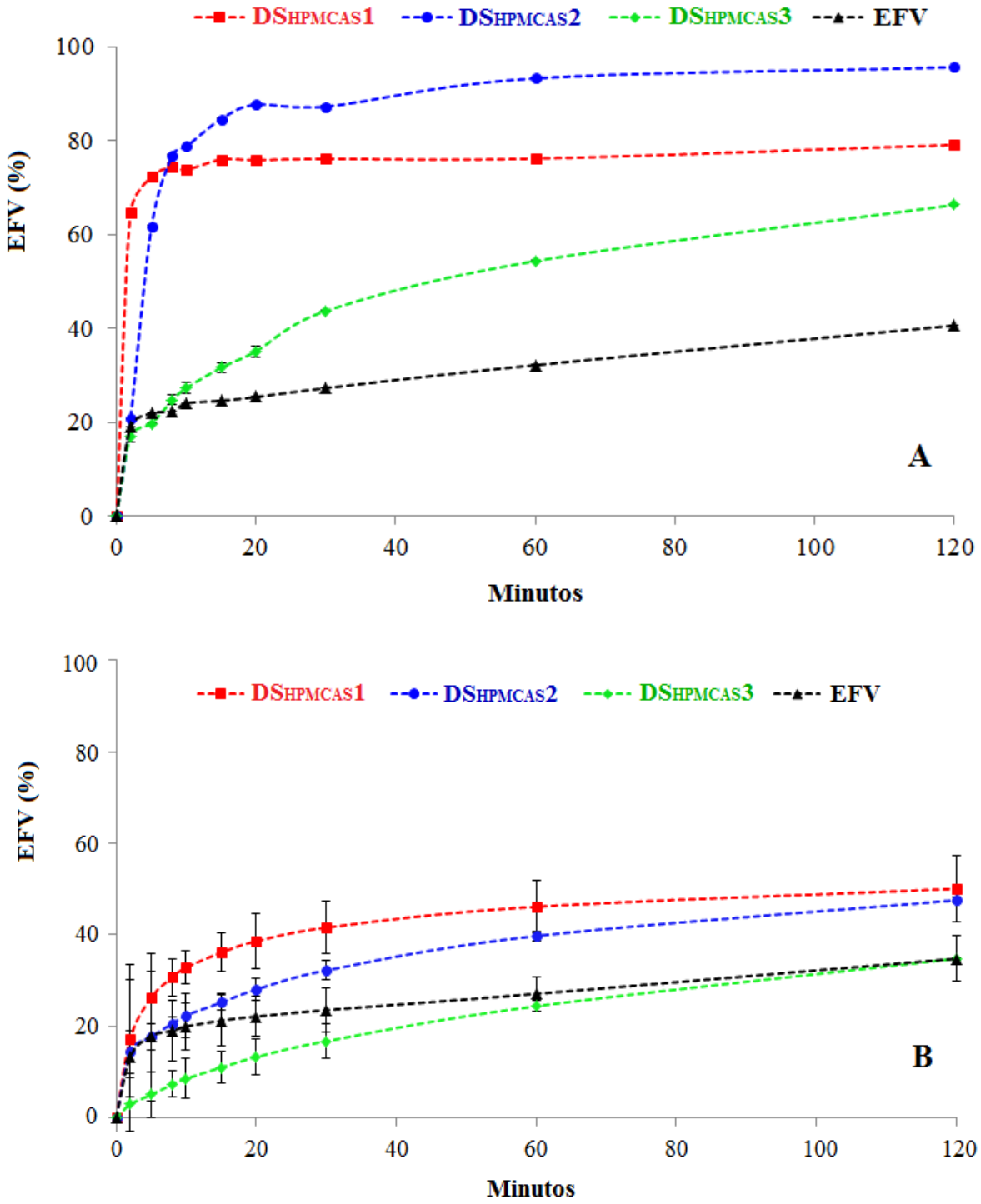
As cinéticas de liberação do EFV presente nas DS_{HPMCAS} também foram avaliadas em meio aquoso contendo LSS 0,25% e em meio biorrelevante FeSSIF. Os perfis de dissolução obtidos são apresentados nas Fig. 78a e 78b.

Para o meio LSS 0,25% (Fig. 78a) todas as dispersões sólidas apresentaram liberação do fármaco EFV em concentrações superiores à obtida com o fármaco cristalino.

As $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}2$ apresentaram rápida dissolução, em tempo inferior a 20 min. Neste caso, as partículas $DS_{HPMCAS}2$, com quantidade de ~83% de polímero apresentaram uma liberação maior que a obtida com a $DS_{HPMCAS}1$, que contém cerca de 90% de HPMCAS. As partículas com maior percentual de EFV, por sua vez, apresentaram uma cinética de liberação mais lenta, com teor dissolvido de apenas cerca de 60% ao final de 120 min.

Observando-se o comportamento das dispersões sólidas no meio FeSSIF, todas DS_{HPMCAS} apresentaram teor dissolvido abaixo de 50%, após 120 min de análise, não atingindo o mínimo requerido para ensaios de dissolução de formulações sólidas de uso oral, que é de 85% de teor dissolvido.

Figura 78 - Perfis de dissolução de amostras de EFV (estrutura cristalina) e das dispersões sólidas obtidas por *spray-drying* em dois diferentes meios de dissolução: (a) LSS 0,25% (m/v) e (b) meio FeSSIF.



Fonte: Autoria própria.

Considerando que o meio de dissolução FeSSIF é o mais representativo do comportamento do TGI, pode-se admitir que as formulações de dispersões sólidas de EFV com o polímero HPMCAS, obtidas por *spray-drying* nas condições utilizadas neste estudo, são inadequadas para o incremento da cinética de dissolução do referido fármaco.

7.4.2.1 Tratamento Cinético (modelo independente)

Os perfis cinéticos de liberação do EFV das DS_{HPMCAS} também foram avaliados como realizado anteriormente para as amostras DS_{SOL} e DS_{PVPVA}.

7.4.2.1.1 Eficiência de Dissolução

Os resultados obtidos da eficiência de dissolução (ED_{120}) para as formulações $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, avaliados estatisticamente por ANOVA *one-way* seguido de Teste de Tukey, estão apresentados na Tabela 28.

Tabela 28 - Comparação dos perfis de dissolução das amostras de dispersão sólida $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$ baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED) utilizando análises estatística ANOVA e teste de *Tukey*, considerando nível de significância de 95%.

Amostra	**Teor de EFV (%) ± DPR**	**Meio aquoso com LSS 0,25% m/v**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED_{120}) (n=2)*	
EFV	100	31,47 ± 0,01a	27,00 ± 0,21b
$DS_{HPMCAS}1$	9,8 ± 1,06	75,78 ± 0,01b	43,28 ± 2,45d
$DS_{HPMCAS}2$	16,0 ± 1,72	88,29 ± 0,09c	36,81 ± 0,43c
$DS_{HPMCAS}3$	43,6 ± 1,55	49,90 ± 0,03d	22,66 ± 0,32a

* Os valores representam a média de duas determinações independentes.

Fonte: Autoria própria.

A análise por ANOVA *one-way* permitiu verificar que as médias obtidas para ED_{120} diferiram estatisticamente entre as formulações e o EFV cristalino, em ambos os meios avaliados ($p<0,05$). No meio contendo LSS 0,25%, as formulações de DS_{HPMCAS} apresentaram uma maior eficiência de dissolução que o EFV cristalino (referência), como para as amostras do DS_{SOL} e $DS_{PVPVA.}$ Em meio FeSSIF, a formulação $DS_{HPMCAS}3$ apresentou ED_{120} inferior ao do EFV cristalino (estatisticamente diferente, apesar de próximo). Tal resultado já era esperado, considerando os valores da solubilidade dos dois compostos, apresentados na Tabela 28.

Contrariamente ao observado nas demais dispersões sólidas deste estudo, tanto no meio LSS 0,25% quanto em meio FeSSIF, todas as amostras avaliadas (EFV e DS_{HPMCAS}) apresentaram resultados que diferiram estatisticamente entre si.

7.5 Estudo de Estabilidade Previsional

7.5.1 Sorção de Umidade (DVS)

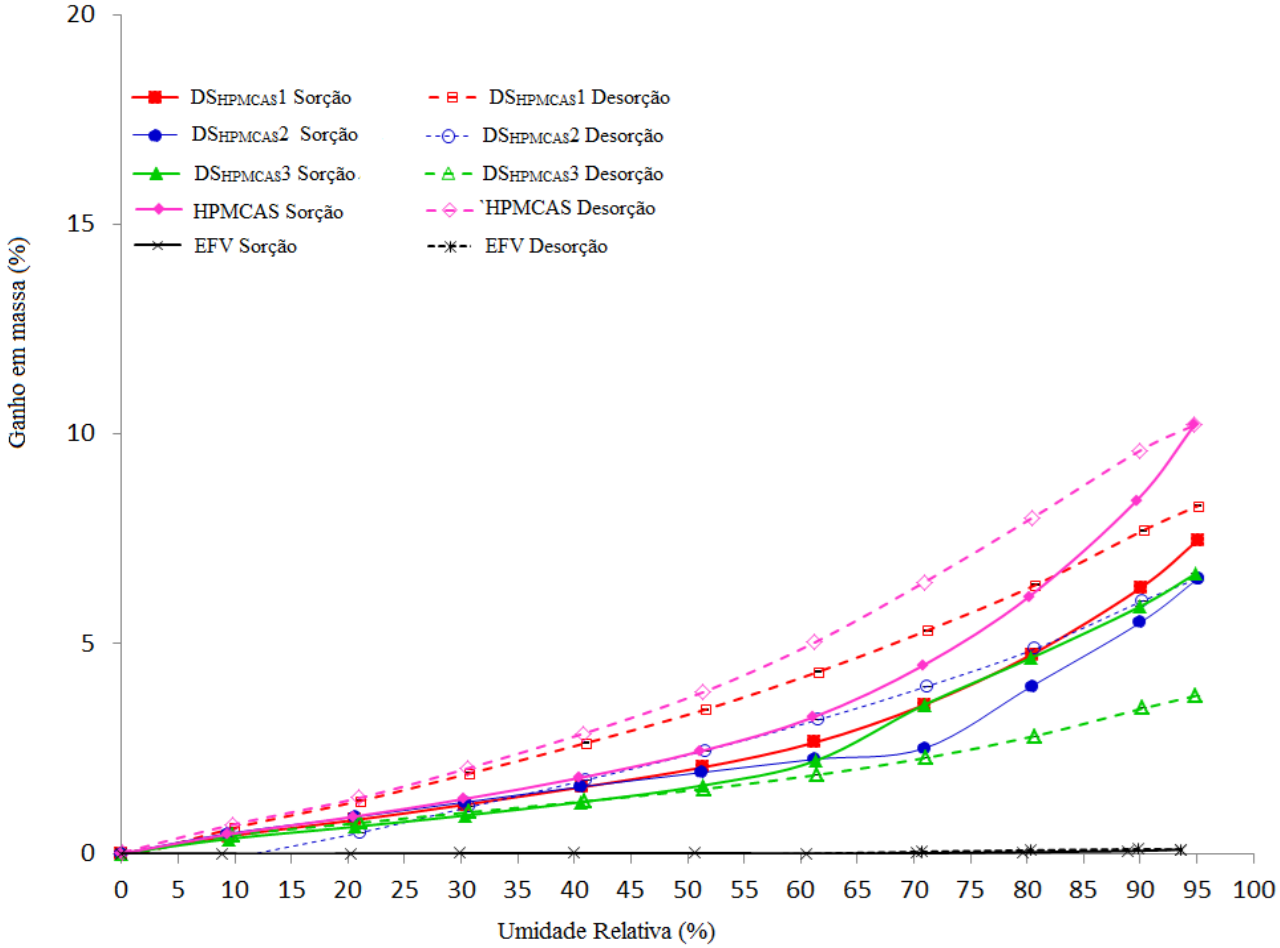
O polímero HPMCAS apresenta um nível de higroscopicidade relativamente baixo quando comparado a outros polímeros solúveis em água, o que faz dele um excelente excipiente (matriz) para estabilidade física (HONG, 2009).

A capacidade de captação de umidade e seu efeito na estabilidade física da DS_{HPMCAS} também foram avaliadas por DVS.

Na Fig. 79 são apresentados os ciclos de sorção-dessorção (isotermas de equilíbrio) obtidos à 25°C para amostras do EFV, do HPMCAS e das DS_{HPMCAS}. Estes dados confirmam o caráter menos higroscópico deste polímero, com um ganho de massa de 10,2% a 95% de UR, dez vezes maior que o valor obtido para o fármaco EFV nas mesmas condições (EFV = 0,1%) e menor que os valores obtidos para o Soluplus® e o PVPVA.

Além disso, como para os demais polímeros estudados, a incorporação de EFV nas DS_{HPMCAS} também implicou em variação proporcional da quantidade de água adsorvida verificada pelo ganho de massa de 7,5%, 5,5% e 3,8% para $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, respectivamente.

Figura 79 - Isoterma de vapor de sorção e dessorção de água (DVS) para $DS_{HPMCAS}1$, $DS_{HPMCAS}2$ e $DS_{HPMCAS}3$, para o fármaco EFV e para o polímero HPMCAS.

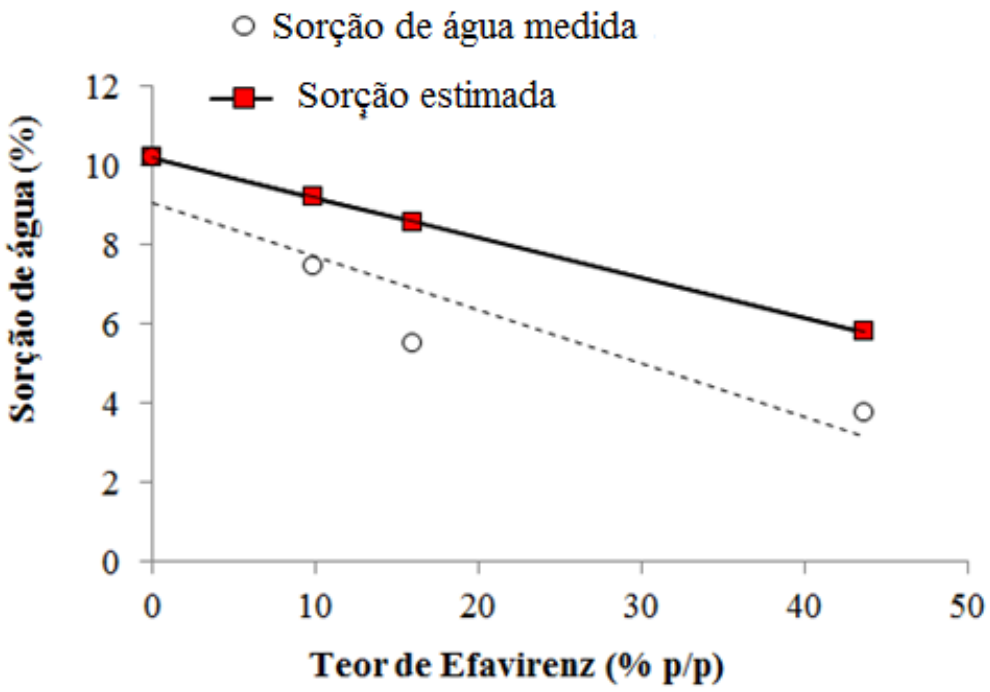


Fonte: Autoria própria.

A Fig. 80 mostra uma redução linear na captação da água pela matriz polimérica de HPMCAS em razão da quantidade de EFV presente nas DS_{HPMCAS}. Essa redução, quando comparada com a sorção estimada para as misturas ideais, verificou-se que a sorção das amostras obtidas experimentalmente foi menor que a predita.

O comportamento das amostras DS_{HPMCAS} foi semelhante ao obtido com as dispersões sólidas DS_{SOL} e $DS_{PVPVA,}$ podendo também ser atribuído às interações fármaco-polímero e a não disponibilização dos grupos polares passíveis de interação com as moléculas de água.

Figura 80 - Sorção de vapor da água nos sistemas DS_{HPMCAS} em função do teor de EFV. A linha sólida representa o ganho em umidade estimado teoricamente em função da composição das dispersões sólidas.



Fonte: Autoria própria.

7.5.2 Estabilidade em condições aceleradas

Amostras de $DS_{HPMCAS}3$ também foram submetidas à análise por DVS como realizado com as DS_{SOL} e DS_{PVPVA}.

O resultado da análise térmica mostra uma redução na Tg da $DS_{HPMCAS}3$, semelhante ao ocorrido na amostra $DS_{SOL}3$ e $DS_{PVPVA}3$, justificando-se também pela ação plastificante da água.

Não foi possível analisar a distribuição dos constituintes nas amostras após a análise por DVS (insuficiência de material).

Tabela 29 - Avaliação da estabilidade das amostras de dispersão sólida $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}3$ pela análise da temperatura de transição vítrea (Tg) obtida por mDSC, sob diferentes condições de armazenamento.

Amostra	**EFV: HPMCAS (m/m)**	***Estabilidade em condições acelerada***	***DSC (1° ciclo de aquecimento)***	
			Tg°C (T_{onset})	**ΔCp J/g °C**
$DS_{HPMCAS}3$	1 :1,25	t_0 (inicial)	57,7	0,26
		Após sorção de vapor de água por DVS (40°C/75%UR)	55,0	0,17
Estabilidade a temperatura ambiente (~22°C, 23% UR, 12 meses)				
$DS_{HPMCAS}3$	1 :1,25	t_0 (inicial)	57,7	0,26
		~22°C, 23% UR, 12 meses	52,1	0,28
$DS_{HPMCAS}1$	1 :10	t_0 (inicial)	101,9	0,34
		~22°C, 23% UR, 12 meses	101,4	0,61

Fonte: Autoria própria.

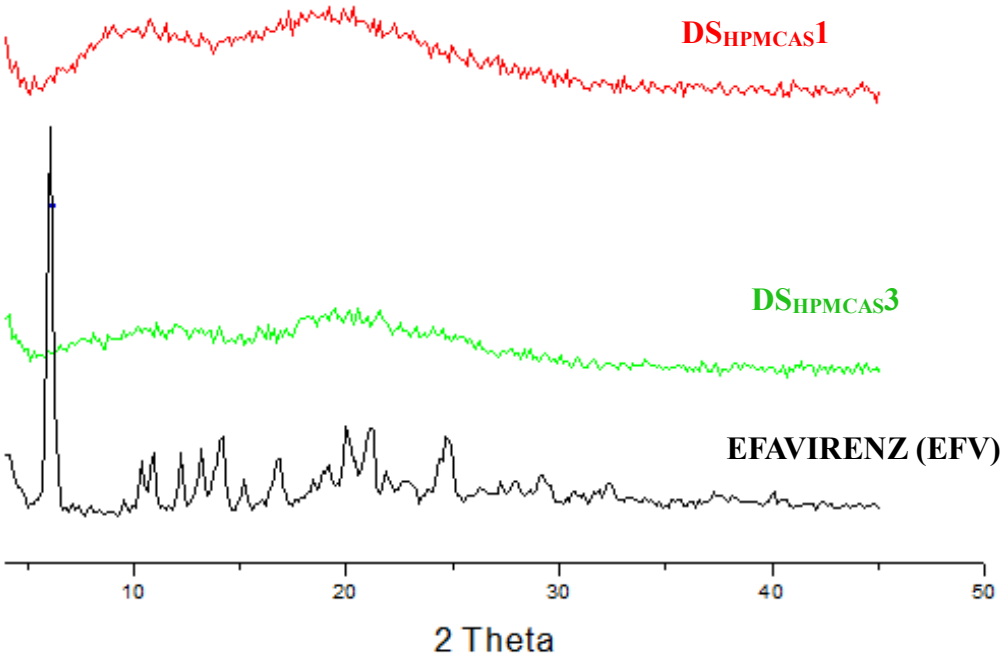
7.5.3 Estabilidade a Temperatura Ambiente

A avaliação da estabilidade nas condições de armazenamento foi realizada por análises de DSC e DRX de amostras mantidas em dessecador, a temperatura ambiente (~22°C) e 23%UR. As duas amostras analisadas por DSC, após aproximadamente 12 meses, apresentaram uma única Tg (Tabela 29), não havendo indícios de separação de fases que pudessem progredir para um processo de recristalização. Friesen e colaboradores (2008) relataram a estabilidade de dispersões sólidas amorfas utilizando o polímero HPMCAS após um período de 36 meses, quando armazenadas a T = 25°C e UR = 60%.

A confirmação do estado amorfo após o período de armazenamento foi verificada pela ausência de picos nos difratogramas obtido por análise DRX (Fig. 81), que se apresentou de forma semelhante à obtida com as amostras recém-preparadas.

A estabilidade nessas condições pode ser atribuída à elevada Tg da mistura, bem acima da temperatura típica de armazenamento, o que reduz a mobilidade molecular do fármaco em virtude da sua baixa taxa de difusão, que passa a ser a etapa limitante para a cristalização do fármaco (POKHARHAR et al., 2006).

Figura 81 - Difratogramas obtido para as amostras de EFV isolado, $DS_{HPMCAS}1$ e $DS_{HPMCAS}3$ após cerca de 1 ano armazenadas em temperatura ambiente protegidos da umidade (~22°C e 23%UR).



Fonte: Autoria própria.

Capítulo 6

DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ COM SOLUPLUS®, PVPVA64 E HPMCAS: ANÁLISE COMPARATIVA

Os Capítulos 3, 4 e 5 descreveram o processo de preparação, caracterização do estado sólido das dispersões sólidas de EFV obtidas por *spray-drying* com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA64 e o impacto dessas formulações na solubilidade aparente e na cinética de dissolução da molécula de EFV a partir destes sistemas. O Capítulo 6, por sua vez, descreve um estudo comparativo entre as dispersões sólidas geradas com as 3 diferentes matrizes focando nos seguintes aspectos:

- ✓ Miscibilidade e possíveis interações intermoleculares fármaco-polímero;
- ✓ Comparativo de solubilidade e dissolução com tentativa de elucidação dos mecanismos envolvidos na cinética de dissolução;
- ✓ Estabilidade física das estruturas.

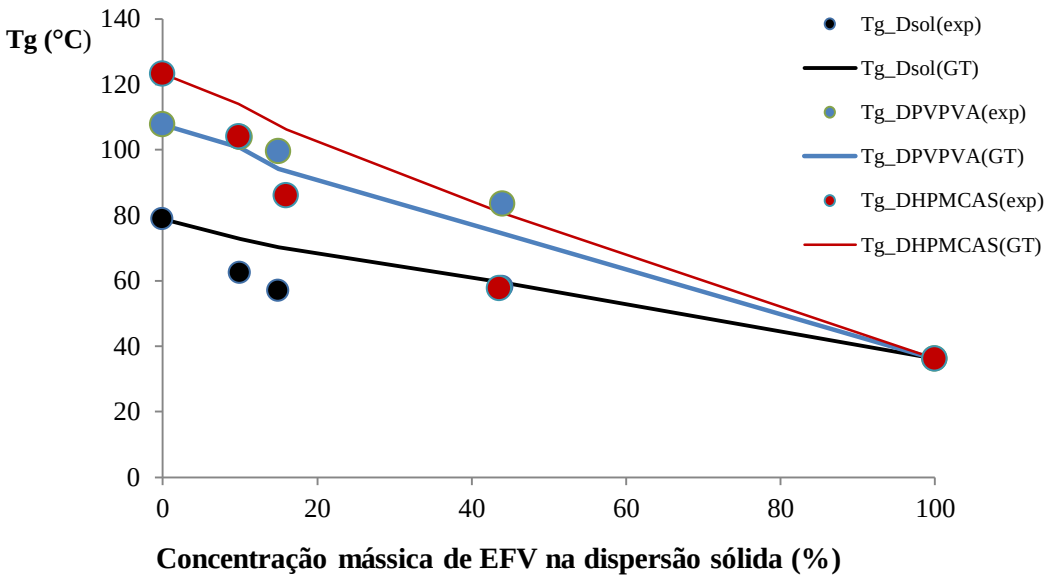
8 DISPERSÕES SÓLIDAS DE EFAVIRENZ COM SOLUPLUS®, PVPVA64 E HPMCAS: ANÁLISE COMPARATIVA

8.1 Miscibilidade e Capacidade de Formação de Dispersões Sólidas Amorfas com Efavirenz

Uma condição inicial favorável para a obtenção de dispersões sólidas é a miscibilidade entre o fármaco e a matriz utilizada. Todos os três polímeros avaliados apresentam parâmetros de solubilidade próximos aos do fármaco EFV (δ de 19,8; 19,7 e 28,2 $MPa^{1/2}$ respectivamente para Soluplus®, PVPVA e HPMCAS e de 24,5 $MPa^{1/2}$ para EFV), indicando a possível miscibilidade de todas as 3 matrizes com EFV ($\Delta\delta < 7$ $MPa^{1/2}$) (GREENHALGH et al., 1999).

A miscibilidade entre os componentes da mistura leva à formação de um sistema de fase única, geralmente detectável pela indicação de uma única temperatura de transição vítrea (Tg), o que foi verificado através de análise térmica das dispersões sólidas por mDSC, para cada composição estudada.

Figura 82 - Temperaturas de transição vítreas do EFV, Soluplus®, PVPVA, HPMCAS e suas misturas com EFV na proporção de 10 a 44-45% de EFV nos sistemas binários (valores experimentais x valores estimados pela equação de Gordon-Taylor).



Fonte: Autoria própria.

A Fig. 82 permite uma comparação direta do efeito da associação destas 3 matrizes com o fármaco EFV. A concentração de EFV variou de 10 a 44-45% em massa nas misturas. Nota-se que, como esperado, todos os sistemas estudados promoveram o aumento da Tg da mistura com o aumento da concentração dos polímeros nos sistemas binários.

Os valores de Tg em misturas amorfas são geralmente interpretados em termos de interações moleculares (BRANDALISE et al., 2009) e a variação das Tg obtidas experimentalmente em relação às estimadas pela equação das misturas ideais (Gordon-Taylor) é considerada um indicativo de interações entre os constituintes da mistura (KALOGERAS, 2011). Para as dispersões sólidas, uma forte interação fármaco-polímero é geralmente preferida, por resultar em uma mistura exotérmica de maior entropia.

As dispersões sólidas preparadas com o polímero PVPVA apresentaram Tg experimental maior que a estimada pela equação de GT, o que se explicaria por interações heteromoleculares (fármaco-polímero) maiores que as interações homomoleculares fármaco-fármaco e polímero-polímero (TEJA et al., 2013). Esses tipos de interações levam ao aumento do volume livre e da entropia configuracional, significando que há uma maior desordem na *malha* da nova estrutura formada pelo polímero associado ao fármaco. As interações entre os dois constituintes do sistema (fármaco-polímero) restringem a mobilidade molecular do fármaco na matriz polimérica, que por sua vez inibe ou retarda a separação de fases e recristalização, por interferirem nas etapas de difusão e nucleação do fármaco, influenciando de maneira positiva na estabilização do sistema (BAGHEL et al., 2016).

As dispersões obtidas com os polímeros Soluplus® e HPMCAS, por sua vez, apresentaram desvios negativos quando comparadas aos preditos pela equação de GT, sugerindo interações mais fracas entre EFV e estes polímeros (QIAN et al., 2010).

8.2 Interações Fármaco-Polímero

A extensão da mistura é também ditada pela natureza e magnitude das interações entre o fármaco e o polímero (TEJA et al., 2013). Uma análise detalhada da estrutura química do EFV (Fig. 21, Capítulo 1) mostra que esta molécula apresenta grupos doadores e aceptores de prótons, os quais podem potencialmente interagir com polímeros pela formação de pontes de hidrogênio. As pontes de hidrogênio correspondem ao tipo de força intermolecular mais intensa, ocorrendo entre dipolos permanentes das moléculas, em que o polo positivo é sempre

o hidrogênio, e o polo negativo pode ser um átomo de alta eletronegatividade como Flúor, o Oxigênio ou o Nitrogênio (STEINER, 2002).

A molécula do EFV possui na sua estrutura molecular átomos de Flúor, Oxigênio e Nitrogênio, podendo desta forma interagir com matrizes poliméricas. Os três polímeros aqui estudados apresentam em suas estruturas grupos químicos que funcionam como aceptores de prótons, possibilitando assim a formação de pontes de hidrogênio entre o grupo doador do EFV e os grupos aceptores dos polímeros (Tabela 30).

O grupo carbonila (C=O) presente nos polímeros Soluplus® e no PVPVA, possui o átomo de oxigênio que funciona como aceptor de prótons e que pode interagir com o H presente na amida (N-H) da molécula de EFV, por meio de pontes de hidrogênio, o que poderia ser um atributo positivo na busca da estabilização da molécula amorfa de EFV (CHAN et al., 2015).

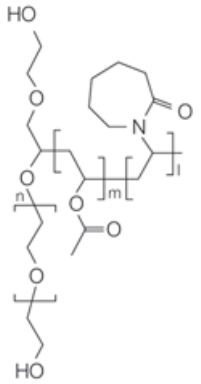
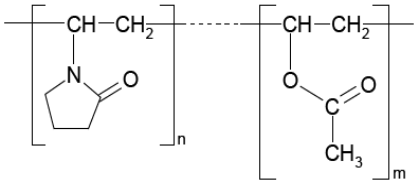
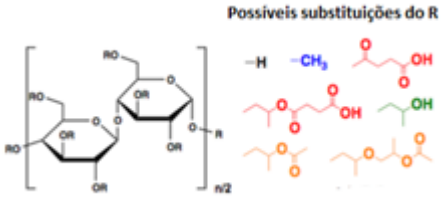
O polímero HPMCAS, por sua vez, apresenta vários grupos funcionais hidroxilas (OH) na sua estrutura molecular que podem funcionar como aceptores ou doadores de H^+ e, dessa maneira, formar pontes de hidrogênio com a molécula do EFV (AL-OBAIDI; BUCKTON, 2009). Quando ionizado, as cargas presentes na sua estrutura poderiam impedir a formação de agregados aumentando a estabilidade de um eventual complexo fármaco-polímero (FRIESEN et al., 2008).

O desaparecimento do pico entre 3000 e 3500cm^{-1} (correspondente à vibração de estiramento N-H) verificado nas dispersões sólidas com os três polímeros utilizados pode ser interpretado como uma possível ruptura das ligações entre as moléculas do EFV e a formação de novas pontes de hidrogênio com os polímeros. De fato, relatos anteriores na literatura confirmam esta possibilidade como, por exemplo, o trabalho de KOH e colaboradores (2013) que demonstra o desaparecimento do referido pico em dispersões sólidas de EFV com o polímero PVPK30. Os autores atribuíram este comportamento a interações intermoleculares do tipo pontes de hidrogênio.

O desaparecimento do pico entre 3000 e 3500cm^{-1} (correspondente a vibração de estiramento N-H) verificado nas dispersões sólidas com os três polímeros utilizados pode ser interpretado como uma possível ruptura das ligações entre as moléculas do EFV e a formação de novas pontes de hidrogênio com os polímeros. De fato, relatos anteriores na literatura confirmam esta possibilidade como, por exemplo, o trabalho de KOH e colaboradores (2013) que demonstra o desaparecimento do referido pico em dispersões sólidas de EFV com o

polímero PVPK30. Os autores atribuíram este comportamento a interações intermoleculares do tipo pontes de hidrogênio.

Tabela 30 - Grupos funcionais aceptores (H_A) ou doadores de hidrogênio (H_D), presentes nos polímeros Soluplus®, PVPVA e HPMCAS.

Polímero	**Grupo**	**Aceptores de H (H_A) ou Doadores de H (H_D)**	**Estrutura química**
Soluplus®	-C(O)-N- -C(O)-O- R-O-R	H_A H_A H_A	
PVPVA	-C(O)-N- -C(O)-O-	H_A H_A	
HPMCAS	-O- -C(O)-O- -OH -C(O)-OH	H_A H_A H_A e H_D H_A e H_D	

Fonte: Adaptado de WEGIEL et al., 2013; TEJA et al., 2013; TING et al., 2015.

8.3 Estabilidade Física no Estado Sólido

Estruturas amorfas apresentam a vantagem de uma maior solubilidade quando comparada às cristalinas. No entanto, o estado amorfo é menos estável e sua tendência à recristalização, chamada nesse caso de devitrificação, é um desafio para o desenvolvimento de formulações de fármacos amorfos. É geralmente entendido que a miscibilidade fármaco-polímero, a uniformidade da dispersão sólida e uma Tg elevada são características necessárias para a obtenção de dispersões sólidas estáveis (QIAN et al., 2012).

Como já discutido anteriormente, diferentes mecanismos de estabilização têm sido propostos para os polímeros incluindo interações específicas fármaco-polímero como pontes de hidrogênio, redução da mobilidade molecular, efeito antiplastificante e a sua capacidade de agir como uma barreira física, através do impedimento estérico. No entanto, o entendimento do mecanismo de estabilização proporcionado pelo uso de polímeros ainda não é completamente elucidado (BHARDWAJ et al., 2014).

Estudos tem sugerido que a formação de pontes de hidrogênio entre a molécula do fármaco e o polímero em sistemas binários seja o principal agente para estabilização do estado amorfo da molécula ativa (SONG et al., 2015). Vários exemplos são descritos na literatura onde os polímeros HPMCAS, Soluplus® e PVPVA tem promovido a estabilidade de fármacos presentes em dispersões sólidas amorfas como Vemurafenib (SHAH et al., 2013) e Griseofulvina (AL-OBAIDI et al., 2013b); Carvedilol (SHAMMA; BASHA, 2013), Sulfametoxazol (ALTAMIMI, 2015) e Felodipino (SONG et al., 2013), através da formação de pontes de hidrogênio.

As formulações aqui estudadas não demonstraram sofrer nenhum impacto das condições de estresse (aceleradas ou não) a que foram submetidas algumas das amostras produzidas. Nenhuma conclusão pode ser obtida da comparação das diferentes amostras analisadas, referente a uma diferença de estabilidade física entre elas. No entanto, há uma regra empírica conhecida como “Tg – 50°C”, que recomenda o armazenamento de estruturas amorfas em temperaturas 50°C abaixo da sua Tg. Isto retardaria a mobilidade molecular do fármaco amorfo, tornando a estrutura suficientemente estável durante o período de armazenamento (TEJA et al., 2013).

Todos os polímeros utilizados neste estudo foram capazes de elevar a Tg do Efavirenz no seu estado amorfo, tendo efeito antiplastificante sobre o fármaco (Tg = 36,1°C). Como já

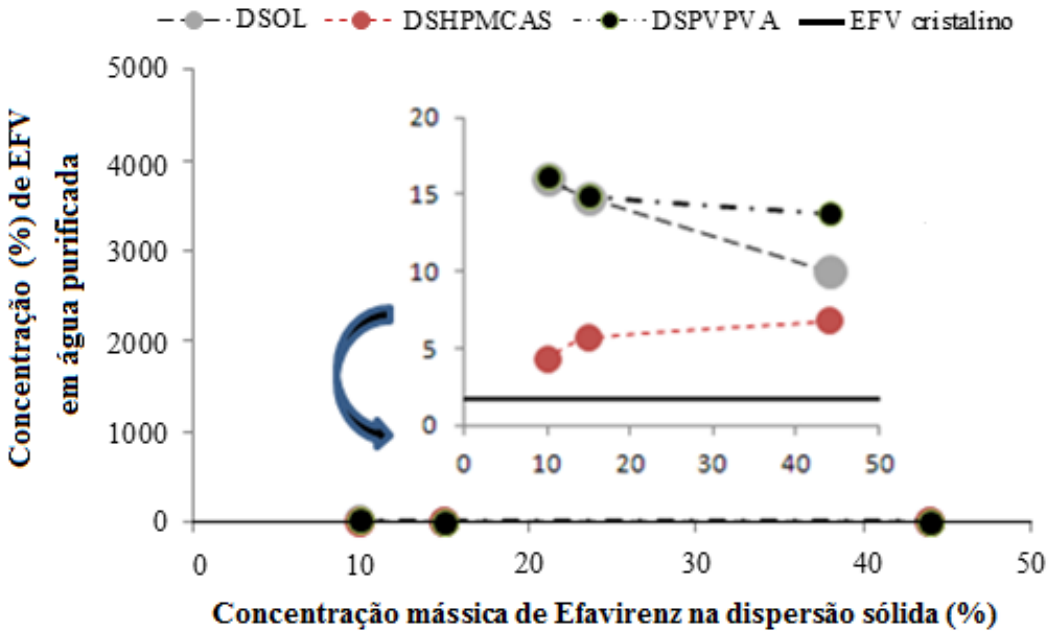
mostrado na Fig. 82, entre os polímeros avaliados, o PVPVA foi o responsável pela maior elevação na Tg das misturas binárias.

A interação favorável entre fármaco e polímero, indicada pela obtenção de uma Tg experimental maior que a predita pela equação de Gordon-Taylor (e confirmada pela análise por FT-IR) também é um fator que pode ter contribuído para a estabilidade destas dispersões. O polímero Soluplus® foi quem produziu sistemas binários de menor Tg. Tal resultado era esperado, tendo em vista ser este polímero o de menor Tg utilizado no estudo (Tg = 78,8°C). No entanto, as DS_{SOL} também apresentaram uma estabilidade física adequada quando submetidas às condições de temperatura e umidade descritas no Capítulo 3.

8.4 Solubilidade Aparente

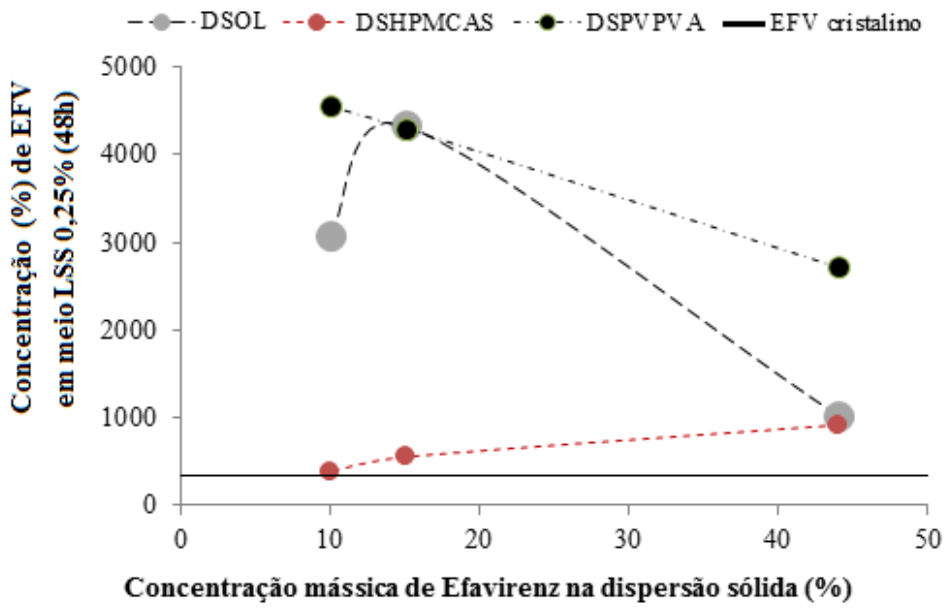
As Figs. 83, 84 e 85 apresentam os dados experimentais de solubilidade aparente para as diferentes dispersões sólidas, determinada após 48h, em cada meio aquoso estudado.

Figura 83 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} **em água purificada** determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas.



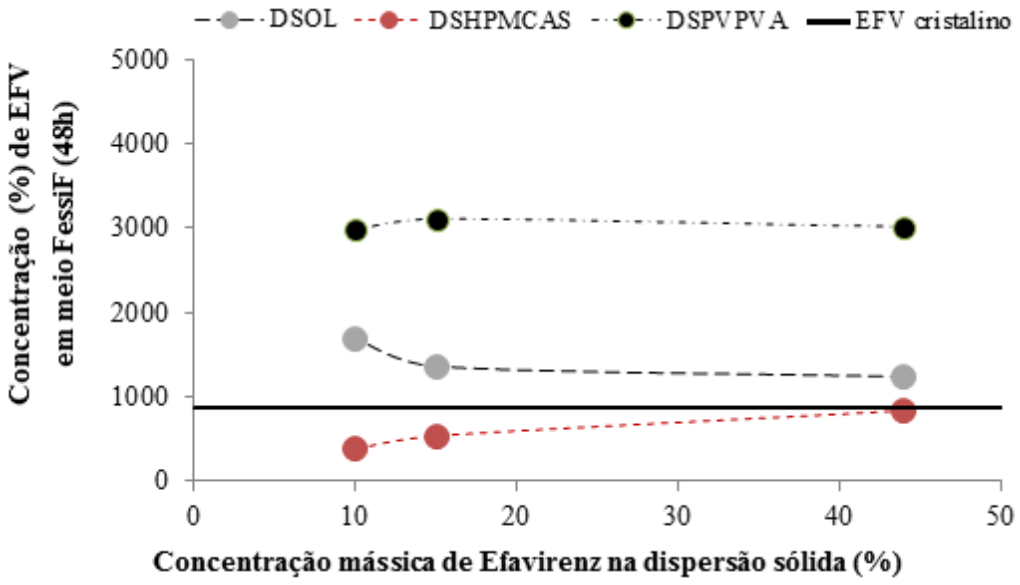
Fonte: Autoria própria.

Figura 84 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} **em LSS 0,25%** determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas.



Fonte: Autoria própria.

Figura 85 - Gráfico representativo da solubilidade aparente do EFV e das dispersões sólidas DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} **em meio FeSSIF** determinada a 37°C e após 48h, nas três concentrações de fármaco estudadas.



Fonte: Autoria própria.

A concentração de EFV medida nos diferentes meios indica que as dispersões sólidas preparadas neste estudo melhoraram a solubilidade aparente das partículas constituídas sobretudo com os polímeros PVPVA e Soluplus®, e que este efeito é dependente da concentração do EFV nas formulações.

Tomando-se particularmente o meio LSS 0,25% (Fig. 84), observa-se 3 diferentes comportamentos em função do polímero utilizado:

- Aumento da supersaturação de $DS_{SOL}1$ para $DS_{SOL}2$ seguido de brusca redução para $DS_{SOL}3$;

- Redução progressiva da supersaturação com o aumento da concentração de EFV nas DS_{PVPVA} ($DS_{PVPVA}1 > DS_{PVPVA}2 > DS_{PVPVA}3$);

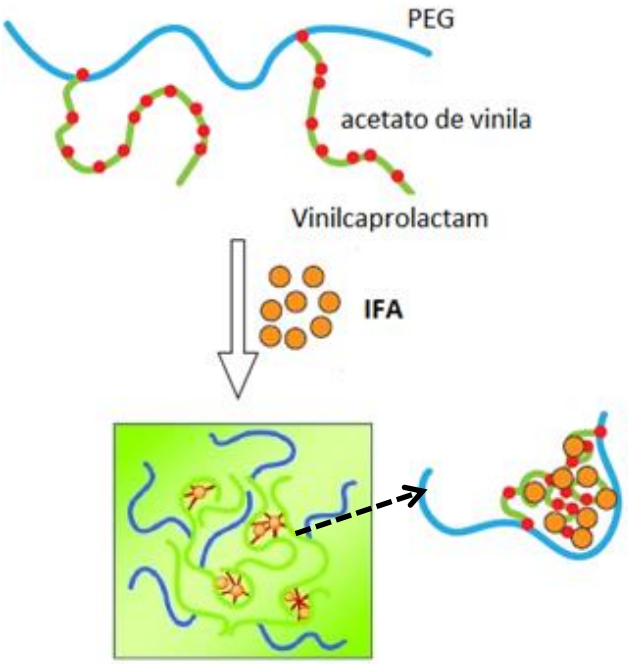
- Aumento progressivo da supersaturação com o aumento da concentração de EFV nas DS_{HPMCAS} ($DS_{HPMCAS}1 > DS_{HPMCAS}2 > DS_{HPMCAS}3$);

O Soluplus®, pela sua natureza anfifílica, tem mostrado aumentar a solubilidade aquosa de fármacos hidrofóbicos pela formação de micelas, independente da estrutura do fármaco.

Este polímero possui vários sítios hidrofóbicos de ligação localizados nos resíduos lipófilos criados pela polimerização *graft* do acetato de vinila e de vinilcaprolactam, que podem interagir com moléculas hidrofóbicas (TANIDA et al., 2016). Dessa forma, o fármaco hidrofóbico interage com a parte lipofílica da estrutura do polímero, conforme esquema demonstrado na Fig. 86, criando um ambiente hidrofóbico capaz de solubilizá-lo e mantê-lo em solução, e a parte hidrofílica da cadeia polimérica permite a hidratação da estrutura fármaco-polímero em meio aquoso (HOMAYOUNI et al., 2015).

O aumento da concentração de EFV na mistura de 10-15% ($DS_{SOL}1$, $DS_{SOL}2$) para 44-45% ($DS_{SOL}3$) corresponde a uma redução importante na quantidade do polímero presente na formulação, o que, em meio contendo o LSS 0,25%, não é mais suficiente para manter o nível de solubilização micelar obtido nas menores concentrações, e que provavelmente leva à formação de cristais de EFV no meio de dissolução.

Figura 86 - Esquema representativo da interação do polímero anfifílico Soluplus® com moléculas do IFA hidrofóbico.



Fonte: Adaptado de ALI & KOLTER, 2012.

Quanto à $DS_{PVPVA,}$ observa-se nas Figs. 83, 84 e 85 que estas dispersões foram as que apresentaram maior incremento na supersaturação de EFV nos meios estudados. Essa maior capacidade de manutenção da supersaturação das dispersões sólidas obtidas com o PVPVA pode estar relacionada ao tipo de interação fármaco-polímero que pode ter levado à formação de complexos solúveis capazes de manter o fármaco solubilizado na solução supersaturada, o que aumenta as chances de dois componentes permanecerem associados após a exposição ao meio ambiente aquoso (AL-OBAIDI et al., 2013b).

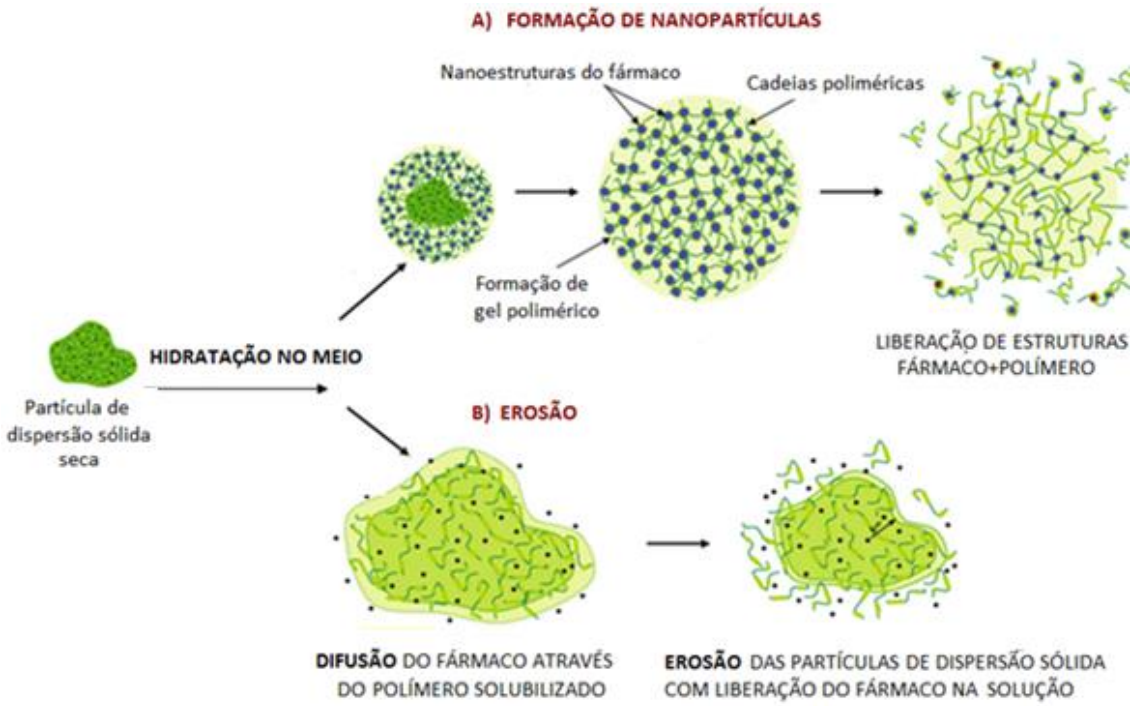
Além disso, em meio LSS 0,25%, uma contribuição adicional no aumento da solubilidade aparente pode vir de uma possível formação de complexos fármaco/PVPVA/LSS (efeito sinérgico da presença do LSS) como relatado no estudo com o fármaco Sorafenib (LIU et al., 2016). Por outro lado, observa-se um efeito de redução da supersaturação no meio contendo LSS 0,25% (Fig. 84) com a dispersão sólida de maior concentração de EFV ($DS_{PVPVA}3$) o que indica que, nesta formulação, o polímero não se encontra em quantidade suficiente para prolongar o efeito de supersaturação no período estudado.

Por sua vez, as dispersões sólidas geradas com HPMCAS apresentam um efeito mais modesto na solubilidade aparente, mesmo se ele pode ser observado em dois dos meios estudados (água e LSS 0,25%). Como já discutido no Capítulo V, o modesto efeito de supersaturação apresentada pelas dispersões sólidas EFV-HPMCAS quando comparado ao dos outros polímeros, pode ser atribuído a diferentes fatores que serão discutidos a seguir:

8.4.1 Mecanismos diferentes de solubilização do fármaco contido nas dispersões sólidas

Estudos de dispersões sólidas contendo o polímero HPMCAS tem emitido hipóteses de que a dissolução destas estruturas pode ocorrer segundo mecanismos diferentes, dependendo da solubilidade do fármaco no polímero (SHAH et al., 2013). A solubilização pode ocorrer segundo dois mecanismos esquematizados na Fig. 87.

Figura 87 - Representação esquemática de duas diferentes rotas de solubilização de um fármaco a partir de dispersões sólidas contendo o polímero HPMCAS.



Fonte: Adaptado de SHAH et al., 2014.

Quando o fármaco tem solubilidade limitada no polímero, a presença da água do meio de dissolução diminui ainda mais essa solubilidade e aumenta a mobilidade dos componentes

da estrutura, levando a formação de nanopartículas do fármaco no seio da massa polimérica. Estas **nanopartículas** devem ser solubilizadas para que a concentração do fármaco em solução possa ser medida como supersaturação.

Dependendo da solubilidade do polímero no meio de dissolução, a hidratação que leva ao intumescimento e à formação de um gel pode ser lenta. O fármaco será liberado na solução através de um **processo de erosão** que também pode ser lento, limitando a sua difusão no meio aquoso.

8.4.2 Solubilização Lenta ou Parcial do Polímero nos Meios Aquosos Estudados

Como dito anteriormente no Capítulo 5, o tipo de HPMCAS utilizado neste estudo foi o grau –HG que dissolve em pH ≥ 6,8. Os pHs dos meios de dissolução LSS 0,25% e FeSSIF correspondem a respectivamente 6,2 e 5,0, o que poderia justificar os baixos valores de concentração medidos nos meios avaliados decorrentes da não liberação do EFV das dispersões sólidas no período de tempo estudado. De fato, nota-se sempre um aumento da concentração com o aumento do teor de EFV, prova de que o meio ainda parece dissolver o fármaco que se libera das dispersões sólidas. Nestes sistemas, a concentração do fármaco é geralmente inferior à sua solubilidade no polímero (SHAH et al., 2013).

8.5 Dissolução

8.5.1 Avaliação do Ângulo de Contato com Meio Aquoso

Através da medida do ângulo de contato entre as dispersões sólidas e um meio aquoso (água purificada), busca-se avaliar o efeito da associação dos polímeros hidrofílicos (PVPVA>Soluplus®>HPMCAS) ao fármaco hidrofóbico EFV que pode afetar a cinética de dissolução das mesmas. O ângulo de contato θ é o ângulo formado pela interface sólido/líquido e a interface líquido/vapor, medido do lado do líquido.

A Tabela 31 apresenta os valores de θ medidos após 2s e após 10s do depósito da gota de água na superfície sólida. Estes valores confirmam que as dispersões sólidas apresentam menores ângulos de contato com a água, comparado ao fármaco cristalino. Menores valores de θ (ilustrados pela Fig. 88) sugerem melhor molhabilidade dos sólidos quando introduzidos em meio aquoso (meio de dissolução), o que pode acelerar a dissolução. No entanto, nenhuma

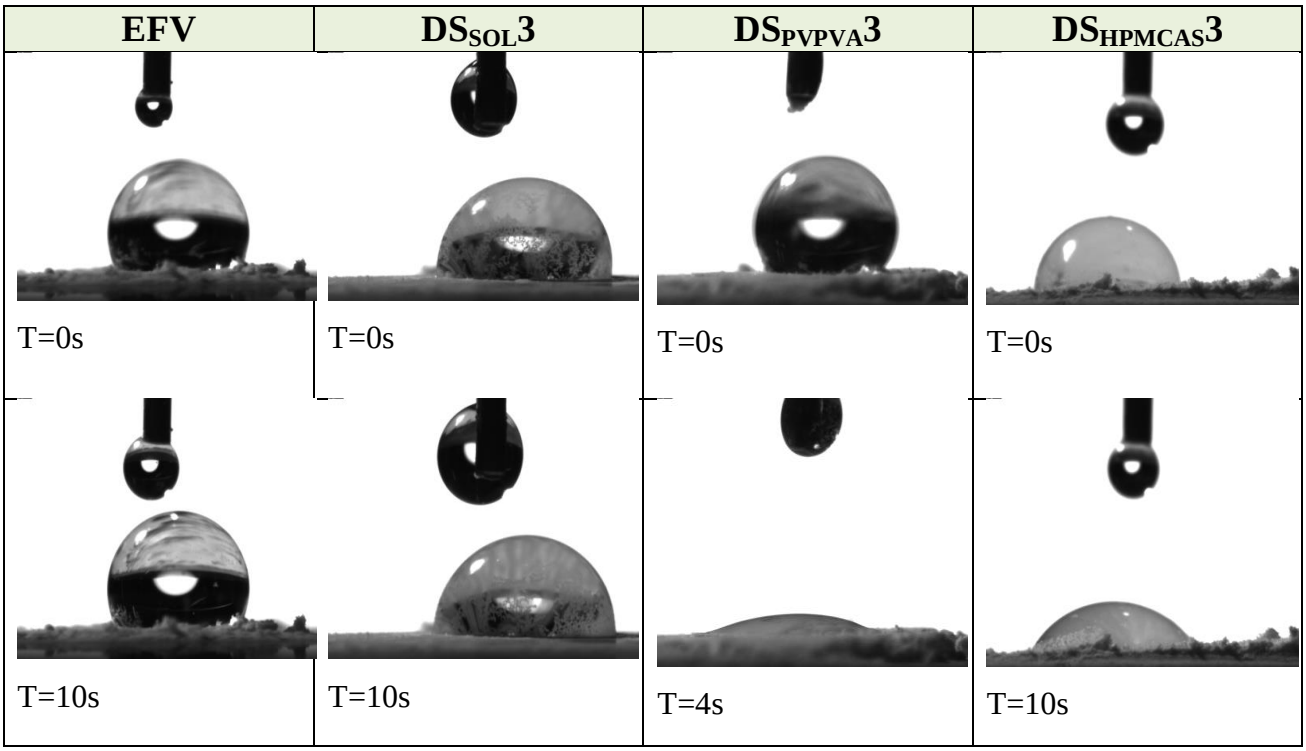
tendência comportamental (como um efeito da concentração do polímero nas dispersões sólidas) pôde ser identificada através desta análise.

Tabela 31 - Valores de θ medidos entre uma superfície sólida constituída de diferentes amostras e uma gota de água purificada depositada nesta superfície (medida realizada em diferentes tempos: 2s e 10s)

Amostra sólida	Ângulo de contato (θ) (n=2)	
	2s	10s
EFV cristalino	130,3 ± 1,5	130,3 ± 1,5
$DS_{SOL}1$	91,5 ± 2,6	92,5 ± 3,9
$DS_{SOL}3$	93,4 ± 3,6	90,5 ± 0,8
$DS_{PVPVA}1$	89,2 ± 2, 2	83,9 ± 3,0
$DS_{PVPVA}3$	92,3 ± 0,2	13,8 (em 4s)
$DS_{HPMCAS}1$	114,2 ± 17,7	111,9 ± 18,4 (em 6 s)
$DS_{HPMCAS}3$	86,8 ± 4,0	43,8

Fonte: Autoria própria.

Figura 88 - Imagens da gota depositada nas amostras de $DS_{SOL}3$, $DS_{PVPVA}3$ e $DS_{HPMCAS}3$ ao longo do tempo.

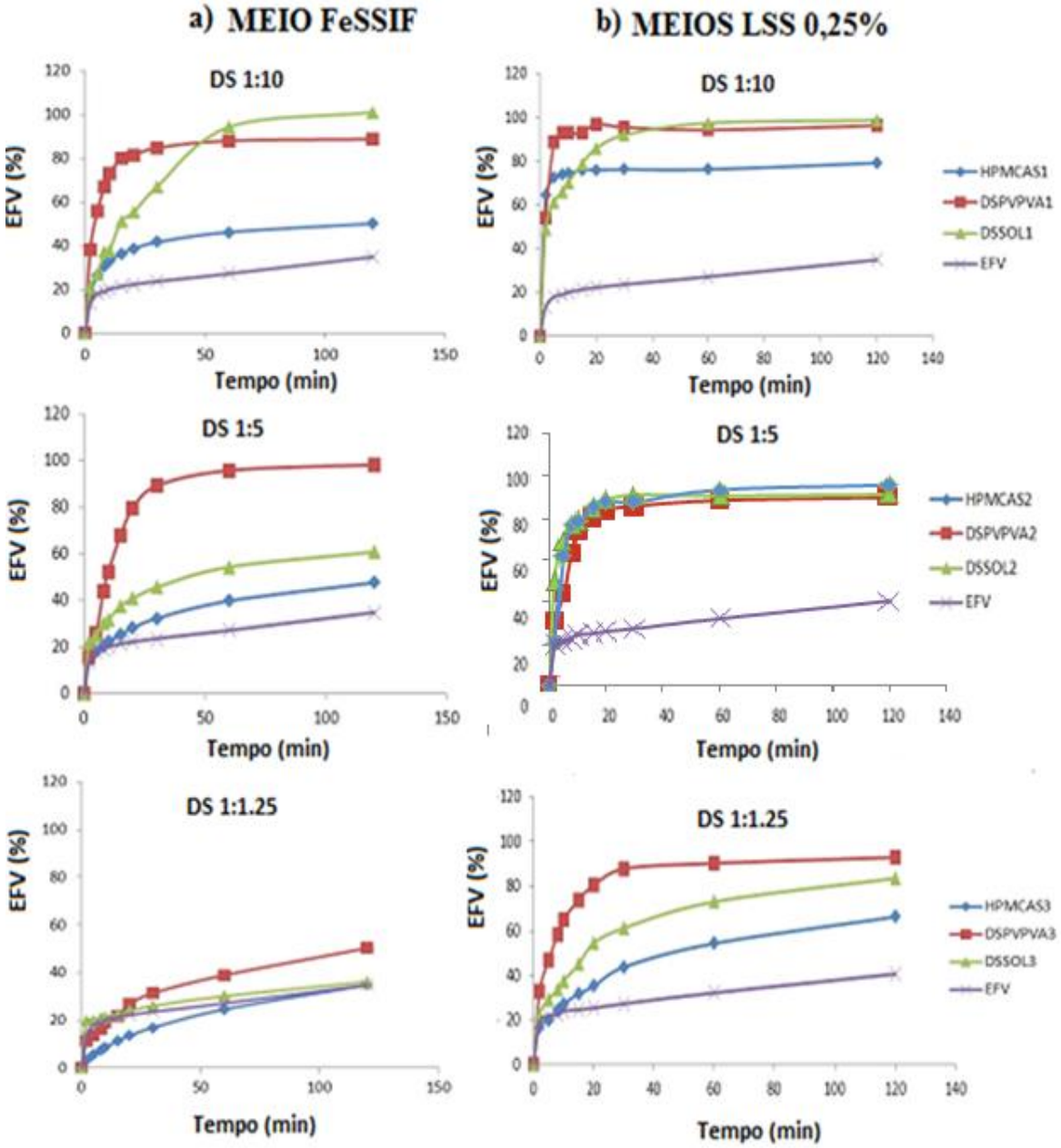


Fonte: Autoria própria.

8.5.2 Perfis Cinéticos e Eficiência de Dissolução

Para cada uma das composições estudadas (proporção mássica EFV:polímero), o efeito do tipo de polímero pode ser avaliado comparando-se os perfis cinéticos, como mostrado na Fig. 89.

Figura 89 - Efeito dos polímeros e da quantidade de fármaco na dissolução do EFV presente nas dispersões sólidas obtidas com os polímeros Soluplus®, PVPVA64 e HPMCAS. A cinética de dissolução foi avaliada a 37°C, durante 120 min nos meios FeSSIF e LSS 0,25%.



Fonte: Autoria própria.

A eficiência de dissolução, no intervalo de 0 a 120min (ED_{120}), para cada uma das dispersões sólidas de Soluplus®, HPMCAS e PVPVA foi calculada a partir dos dados cinéticos e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 32, considerando os dois meios de dissolução estudados (LSS 0,25% e FeSSIF).

Tabela 32 - Eficiência de dissolução das amostras de dispersão sólida obtidas com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA baseando-se nos valores da eficiência de dissolução (ED_{120}) utilizando análises estatísticas ANOVA e teste de *Tukey*, considerando nível de significância de 95%.

Fármaco cristalino		**LSS 0.25% (m/v)**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED)*	
EFV		31,47 ± 0,01	27,00 ± 0,21
Formulação	**Quantidade de EFV (%)**	**LSS 0.25% (m/v)**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED)*	
$DS_{SOL}1$	10	91,08 ± 0,05 **b**	80,13 ± 0,23 **c**
$DS_{HPMCAS}1$	9,8	75,78 ± 0,01 **a**	43,28 ± 2,45 **a**
$DS_{PVPVA}1$	9,5	92,50 ± 1,12 **b**	83,44 ± 0,28 **b**
Formulação	**Quantidade de EFV (%)**	**LSS 0.25% (m/v)**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED)*	
$DS_{SOL}2$	14	87,84 ± 0,18**c**	49,12 ± 2,57 **b**
$DS_{HPMCAS}2$	16	88,29 ± 0,09**c**	36,81 ± 0,43 **a**
$DS_{PVPVA}2$	16,1	83,37±0,03**a**	86,46±3,43 **c**
Formulação	**Quantidade de EFV (%)**	**LSS 0.25% (m/v)**	**Meio FeSSIF**
		Eficiência de Dissolução (ED)*	
$DS_{SOL}3$	44	66,77 ± 0,05**b**	28,07 ± 0,03**b**
$DS_{HPMCAS}3$	43,6	49,90 ± 0,03**a**	22,66 ± 0,32**a**
$DS_{PVPVA}3$	41,6	83,83±1,75**c**	36,47±0,41**c**

***n = 2**

OBS: As diferentes cores para as letras utilizadas indicam comparação apenas entre as três dispersões sólidas com a mesma quantidade de fármaco presente na estrutura e em cada meio isoladamente.

Fonte: Autoria própria.

Em meio LSS 0,25%, para uma da composição estudada, confirma-se o efeito do tipo de polímero na eficiência de dissolução, à exceção das formulações $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{SOL}1$ (que possuem cerca de 10% de EFV) e das formulações $DS_{SOL}2$ e $DS_{HPMCAS}2$ (14-16% de EFV), para as quais as diferenças de ED não são estatisticamente significativas.

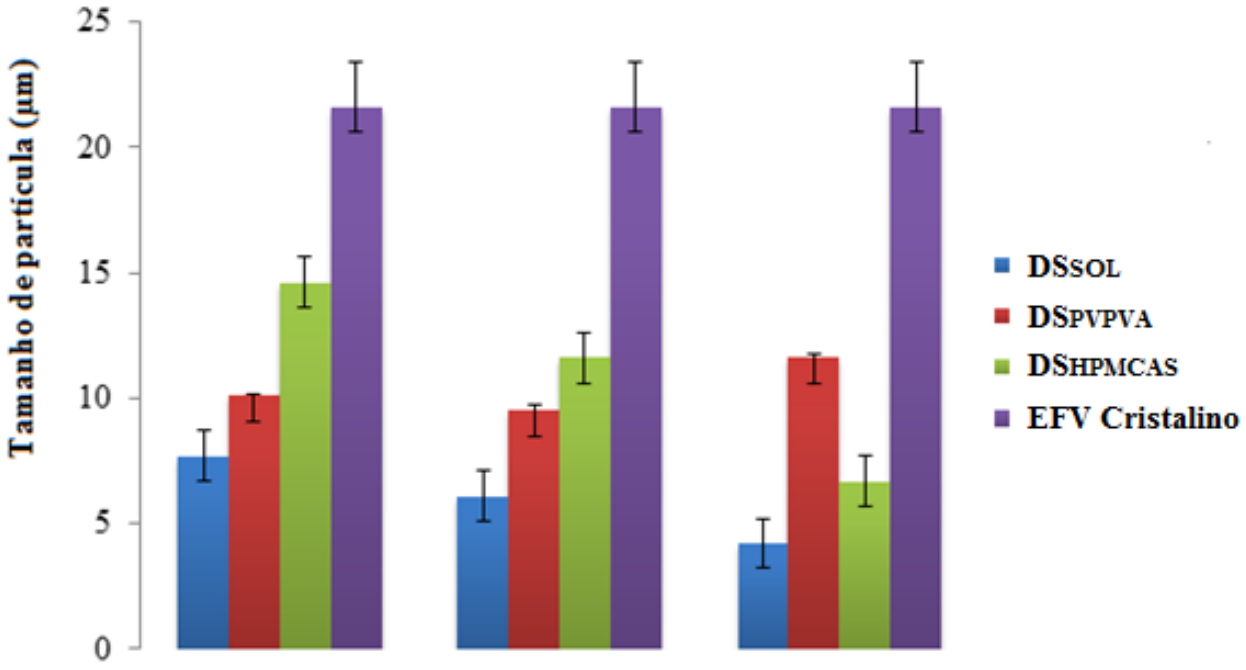
Em meio FeSSIF, para cada uma das composições estudadas, confirma-se estatisticamente o efeito do tipo de polímero na eficiência de dissolução. Estudos cinéticos de liberação em meio FeSSIF tendem a ser considerados uma ferramenta preditiva do comportamento de liberação do fármaco após sua administração *in vivo*, por apresentar características de pH, osmolalidade e surfactantes biológicos, que visam mimetizar as condições do TGI, bem como a influência do estado alimentado (KLEIN, 2010; SINHA et al., 2010).

Em comparação ao fármaco EFV no seu estado cristalino, o comportamento cinético apresentado pelas dispersões sólidas desenvolvidas neste trabalho está relacionado às características destes sistemas binários, dentre as quais se podem indicar: o aumento da solubilidade aparente (supersaturação) devido à amorfização, como demonstrado pelo estudo de solubilidade cinética; e a melhora da molhabilidade, como demonstrado pela redução do ângulo de contato com um meio aquoso.

Um terceiro fator, que também contribuiu para acelerar a dissolução do EFV presente nas dispersões sólidas em contato com os meios utilizados, corresponde ao aumento da área superficial das partículas. De fato, o processo de secagem por atomização em *spray-drying* conduziu à formação de partículas sólidas numa faixa granulométrica de 1 a 12,9 μm para as dispersões contendo Soluplus®; de 1,6 a 19,9 μm para as contendo PVPVA e de 1,2 a 32,6 μm para as com o polímero HPMCAS (para Dv_{10} e Dv_{90}, ver Tabelas 10, 18 e 26 apresentadas nos Capítulos 3, 4 e 5, respectivamente).

A Fig. 90 representa um gráfico comparativo que permite a visualização direta da diferença de granulometria entre as dispersões sólidas geradas neste estudo, em relação aos cristais do fármaco EFV puro, baseado no diâmetro médio em volume da partícula ($d_{(4,3)}$).

Figura 90 - Gráfico representativo das do tamanho de partícula das dispersões sólidas agrupadas por quantidade de EFV presente na estrutura. A coluna correpondente ao EFV refere-se ao tamanho de particula do fármaco cristalino.



Fonte: Autoria própria.

8.5.3 Ajuste de Modelo Cinético

Os dados obtidos da liberação *in vitro* do EFV a partir das dispersões sólidas foram cineticamente avaliados por métodos dependentes de modelos matemáticos apresentados no Capítulo II (Item 2.2.4.9.2, Tabela 5). Análises de regressão não-linear foram aplicadas aos perfis cumulativos do EFV dissolvido nos meios LSS 0,25% e FeSSIF utilizando-se o software KINETDS 3.0. O coeficiente de determinação (R^2), o erro médio quadrático (RMSE) e o critério de informação Akaike (AIC) destes modelos foram determinados para avaliar a precisão e o ajuste ao modelo mais adequado de liberação do EFV.

Três modelos foram testados:

- O modelo matemático de *Korsmeyer-Peppas*, que é um modelo semi-empírico relacionando exponencialmente a liberação do fármaco com o tempo. É bastante utilizado para analisar a liberação do fármaco de sistemas poliméricos, quando o mecanismo de liberação não é bem conhecido ou quando mais de um fenômeno de liberação pode estar envolvido (KORSMEYER et al., 1983). Neste modelo, o exponente de liberação (*n*) é usado

para caracterizar diferentes mecanismos de liberação. Se *n* é ≤ 0,5, o mecanismo de liberação segue a lei de difusão de Fick. Já valores de *n* entre 0,5 e 1 correspondem a um modelo não-Fickiano do tipo transporte anômalo, com fenômenos de *difusão* e erosão combinados. O valor de n = 1 corresponde a um modelo (Caso II) descrevendo a influência da hidratação do polímero e seu intumescimento no caso de polímeros intumescíveis ou a influência da erosão no caso de polímeros não intumescíveis (LOBO; COSTA, 2001).

- O modelo de Weibull é um modelo empírico bastante usado para descrever, mas não para explicar propriedades cinéticas da dissolução de um fármaco (LOBO; COSTA, 2001).

- O modelo de Baker-Londasle que descreve uma cinética de dissolução controlada pela difusão a partir de partículas esféricas do tipo matricial.

Os resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados experimentais (R^2, RMSE e AIC) para as DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS} são apresentados no APÊNDICE A, nas Tabelas 34, 35 e 36, respectivamente.

O modelo de melhor ajuste foi considerado o que apresentou coeficiente de determinação (R^2) mais próximo de 1 e os menores valores para o erro médio quadrático (RMSE) e para o critério de seleção de AIC (LOBO; COSTA, 2001).

Com exceção do modelo de Baker-Londasle, todos os coeficientes de determinação (R^2) apresentaram valores acima de 0,98 e os menores valores para o RMSE e para o critério de informação de Akaike (AIC) foram obtidos com o modelo cinético de *Korsmeyer-Peppas*, sendo este considerado o que apresentou melhor ajuste à cinética de liberação do EFV presente em todas as dispersões sólidas geradas neste trabalho. A adequação deste modelo em representar os dados experimentais pode ser verificada observando-se o ajuste de modelo nas curvas de dissolução apresentadas no APÊNDICE B.

Os exponentes de liberação *n* e os valores das constantes cinéticas referentes ao modelo *Korsmeyer-Peppas* para as formulações obtidas com os três polímeros estão apresentados na Tabela 33.

Tabela 33 - Análise dos parâmetros de liberação cinética do EFV das dispersões sólidas obtidas com os polímeros Soluplus®, HPMCAS e PVPVA usando o modelo matemático de *Korsmeyer-Peppas.*

MEIO FeSSIF					
$DS_{SOL}1$		**$DS_{SOL}2$**		**$DS_{SOL}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
13,66	0,47	18,62	0,25	14,23	0,19
MEIO LSS 0,25% (m/v)					
$DS_{SOL}1$		**$DS_{SOL}2$**		**$DS_{SOL}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
41,24	0,23	45,99	0,24	16,77	0,37
MEIO FeSSIF					
$DS_{PVPVA}1$		**$DS_{PVPVA}2$**		**$DS_{PVPVA}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
28,58	0,41	8,40	0,78	7,92	0,39
MEIO LSS 0,25% (m/v)					
$DS_{PVPVA}1$		**$DS_{PVPVA}2$**		**$DS_{PVPVA}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
24,44	1,14	18,72	0,58	24,61	0,41
MEIO FeSSIF					
$DS_{HPMCAS}1$		**$DS_{HPMCAS}2$**		**$DS_{HPMCAS}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
19,87	0,20	11,47	0,30	2,71	0,53
MEIO LSS 0,25% (m/v)					
$DS_{HPMCAS}1$		**$DS_{HPMCAS}2$**		**$DS_{HPMCAS}3$**	
K(min^{-1})	**n**	**K(min^{-1})**	**n**	**K(min^{-1})**	**n**
29,20	1,14	9,12	1,19	12,13	0,36

Fonte: Autoria própria.

A análise dos parâmetros do modelo de *Korsmeyer-Peppas*, ***K*** e ***n***, permite inferir sobre a contribuição relativa da difusão, da relaxação viscoelástica e da erosão nos perfis cinéticos de dissolução de EFV a partir de dispersões sólidas formuladas com 3 diferentes polímeros e 3 teores de fármaco.

A liberação de EFV de todas as dispersões sólidas contendo 44-45% de EFV ($DS_{SOL}3$, $DS_{PVPVA}3$, $DS_{HPMCAS}3$) é controlada pela difusão Fickiana ($n \leq 0,5$) tanto em meio LSS 0,25% como em meio FeSSIF.

Para as dispersões sólidas contendo 14-16% de EFV ($DS_{SOL}2$, $DS_{PVPVA}2$, $DS_{HPMCAS}2$) nota-se uma tendência de prevalência de um transporte anômalo ($0,5 < n < 1$), enquanto que para as dispersões contendo cerca de 10% de EFV ($DS_{SOL}1$, $DS_{PVPVA}1$, $DS_{HPMCAS}1$), a tendência é de difusão Fickiana em meio FeSSiF, com modificação de mecanismo para $DS_{PVPVA}1$ e $DS_{HPMCAS}1$ em meio LSS 0,25% onde prevalece um mecanismo de Caso II (cinética controlada pela erosão do sistema).

De maneira geral, pode-se verificar que a velocidade de dissolução diminui com o aumento da concentração de fármaco nas formulações de DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS}. Esta tendência também tem sido observada na literatura: Lin e Cham (1996) relataram que dispersões sólidas de Naproxeno e PEG6000 liberavam mais rapidamente o fármaco em formulações com 5% de Naproxeno que em formulações contendo 20%, 30% ou 50% do fármaco. Resultados similares foram obtidos com outros fármacos como Carvedilol (SHARMA; JAIN, 2010) ou Carbamazepina (El-ZEIN et al., 1998). Isto sugere que baixas concentrações de fármaco resultam em uma cinética controlada pelo polímero dependendo mais de suas propriedades que das do fármaco, enquanto que concentrações elevadas tornam-se dependentes das propriedades do fármaco e da qualidade da dispersão do fármaco no polímero.

8.5.4 Implicações do Conhecimento do Mecanismo de Dissolução para Uso Prático das Dispersões Sólidas

O conhecimento dos mecanismos governando a dissolução das dispersões sólidas permite prever e inferir na cinética do processo. Em outras palavras, se o sistema é controlado pela dissolução do polímero então as propriedades físicas do fármaco (como por exemplo, o tamanho das partículas) tornam-se menos críticas. Neste caso, as propriedades da matriz (como massa molecular, solubilidade e velocidade de dissolução) terão um papel determinante na cinética de liberação do fármaco destes sistemas. Os resultados obtidos com as formulações contendo os menores teores de fármaco mostraram o efeito da matriz, por exemplo, como uma possível mudança de mecanismo de dissolução com a mudança de

polímero (PVPVA e HPMCAS) e meio de dissolução (passagem de LSS 0,25% para FESSIF).

Por outro lado, se a cinética é controlada pelo fármaco, então são as propriedades deste constituinte é que devem ser consideradas como, por exemplo, a recristalização a partir de seu estado amorfo, variações do tamanho de partículas e a sua distribuição na estrutura formada.

9 CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

Dispersões sólidas de Efavirenz–Soluplus®, Efavirenz–PVPVA e Efavirenz–HPMCAS foram produzidas por *spray-drying* com o objetivo de incrementar a solubilidade e cinética de dissolução do fármaco. Foram estudadas proporções do fármaco na matriz polimérica que variaram de 10 a 45% em massa. Por se tratar de um fármaco de alta dosagem para obtenção do efeito terapêutico, as formulações com maior quantidade de EFV tendem a ser mais interessante do ponto de vista farmacêutico.

Os sistemas produzidos na forma de partículas sólidas possuem granulometria inferior a 30 microns e foram caracterizados através de uma associação de técnicas a fim de obter informaçoes referentes às suas propriedades físico-químicas e funcionais (homogeneidade da mistura, solubilidade, molhabilidade, comportamento de dissolução, estabilidade, dentre outras).

Todas as dispersões sólidas obtidas apresentaram característica amorfa, confirmada por analise térmica (DSC) e DRX, e foram constituídas de um sistema homogêneo (única Tg) com uma distribuição homogênea do EFV na matriz polimérica (espectroscopia RAMAN).

O objetivo esperado foi atingido com o aumento da solubilidade aparente do EFV de 1 a 9 vezes e um aumento da cinética de dissolução nos meios avaliados - LSS em água 0,25% (m/v) e meio biorrelevante (Fessif).

Quanto ao desempenho das diferentes dispersões sólidas amorfas produzidas, pode-se verificar que a velocidade de dissolução diminui com o aumento da concentração de fármaco nas formulações de DS_{SOL}, DS_{PVPVA} e DS_{HPMCAS}, um comportamento que deve ser analisado com cautela quando se busca preferencialmente formulações concentradas em EFV por este se tratar de um fármaco que demanda alta dosagem para obtenção do efeito terapêutico.

As cinéticas de dissolução se ajustam ao modelo matématico de *Korsmeyer-Peppas*. De modo geral, a dissolução é controlada pela difusão Fickiana, mas o mecanismo pode mudar em função do tipo de polímero e de sua concentração nas formulações, tornando-se dependente também da erosão do sistema. Baixas concentrações de fármaco tenderam a uma cinética controlada pelo polímero, dependendo predominantemente de suas propriedades, enquanto que concentrações elevadas tornam-se dependentes das propriedades do fármaco e da qualidade da dispersão do fármaco no polímero.

Os estudos de estabilidade mostraram que os três polímeros foram capaz de inibir a recristalização do EFV amorfo nas condições de tempo, umidade relativa e temperatura

avaliadas. Interações fármaco-polímero, por pontes de hidrogênio, demonstradas por análise FT-IR, provavelmente tiveram efeito positivo na estabilidade física das amostras. A estabilidade observada à temperatura ambiente pode ser atribuída, além a presença dessas interações, ao armazenamento em temperatura inferior à Tg dos sistemas, fator considerado preponderante na redução da mobilidade molecular.

Os dados obtidos neste estudo claramente demonstraram que os polímeros estudados possuem atributos físico-químicos para incrementar a solubilidade, mantendo a supersaturação e prevenindo a recristalização do fármaco. No entanto, baseado no estudo cinético, sobretudo no meio FeSSIF (que possui características semelhantes ao TGI), verificou-se que os polímeros PVPVA e Soluplus® se sobrepuseram ao HPMCAS no que diz respeito ao incremento da solubilidade e liberação do fármaco EFV, quando avaliados em condições *sink*. Associado a estes resultados, a avaliação da estabilidade, que apesar de não evidenciar o polímero de maior resistência ao processo de recristalização, indicou interações fármaco-polímero mais evidentes e uma maior temperatura de transição vítrea das misturas Efavirenz-PVPVA, do **PVPVA**, o polímero de maior potencial para estudos posteriores visando o incremento na biodisponibilidade do EFV para formas farmacêuticas de administração oral.

Frente aos resultados obtidos, em **perspectiva**, os seguintes aspectos podem ser explorados:

- ✓ Condições *não-sink* para avaliar o potencial das formulações estudadas em manter a supersaturação no meio e antecipar, de maneira preditiva, a escolha entre os melhores sistemas aqui identificados (DS_{SOL} ® e DS_{PVPVA}), o mais adequado para avaliação da biodiponibilidade em modelos animais.
- ✓ Complemento de estudo das dispersões sólidas DS_{PVPVA} para otimização da concentração de EFV (entre 15 e 44% em massa) após confirmação dos resultados em condições *não-sink*.
- ✓ Aumento da concentração de Efavirenz nas dispersões solidas DS_{SOL}® e DS_{PVPVA} (> 45% em massa) para entender o efeito da estabilidade observada (as concentrações utilizadas estão abaixo da solubilidade do EFV nos polimeros? Seria esta a causa da estabilidade observada nas condições de *stress* estudadas?).
- ✓ Estudo da influência das condições de secagem por *spray-drying* (tipo de solvente, temperatura de secagem e evaporação do solvente).

RÉSUMÉ ÉTENDU EN FRANÇAIS

Cette thèse de doctorat porte sur les techniques d'amélioration de la solubilité et de la cinétique de dissolution d'une molécule d'effet antirétroviral, l'Efavirenz (EFV). L'EFV appartient à une classe de médicaments appelés analogues nucléosidiques. Il inhibe l'action d'une enzyme appelée transcriptase inverse (TI) dont les cellules infectées par le VIH se servent pour fabriquer de nouveaux virus. Puisque l'EFV inhibe ou réduit l'activité de cette enzyme, cette molécule fait en sorte que les cellules infectées ralentissent ou cessent la production de nouveaux virus.

L'amélioration de la solubilité des principes actifs peu solubles est devenue l'un des principaux challenges de l'industrie pharmaceutique. Bien que présentant une structure chimique potentiellement idéale pour interagir avec la cible, ces principes actifs échouent dans l'efficacité in vivo : après administration, ils ne peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux biologiques et par conséquent ne peuvent être transportés sur leur site d'action pour atteindre la concentration efficace, conduisant à un échec thérapeutique. Les dispersions solides sont étudiées depuis plus de 40 ans et ont conduit à de très nombreuses publications mais jusqu'à aujourd'hui peu de produits ont été commercialisés, principalement pour des raisons de stabilité physico-chimique. Les dispersions solides ont pour but de présenter le principe actif sous sa forme amorphe car cette forme solide présente un état d'énergie plus élevée, et par conséquent une solubilisation facilitée. Par ailleurs, le système doit rester stable durant le stockage.

Le travail a été structuré en trois parties principales :

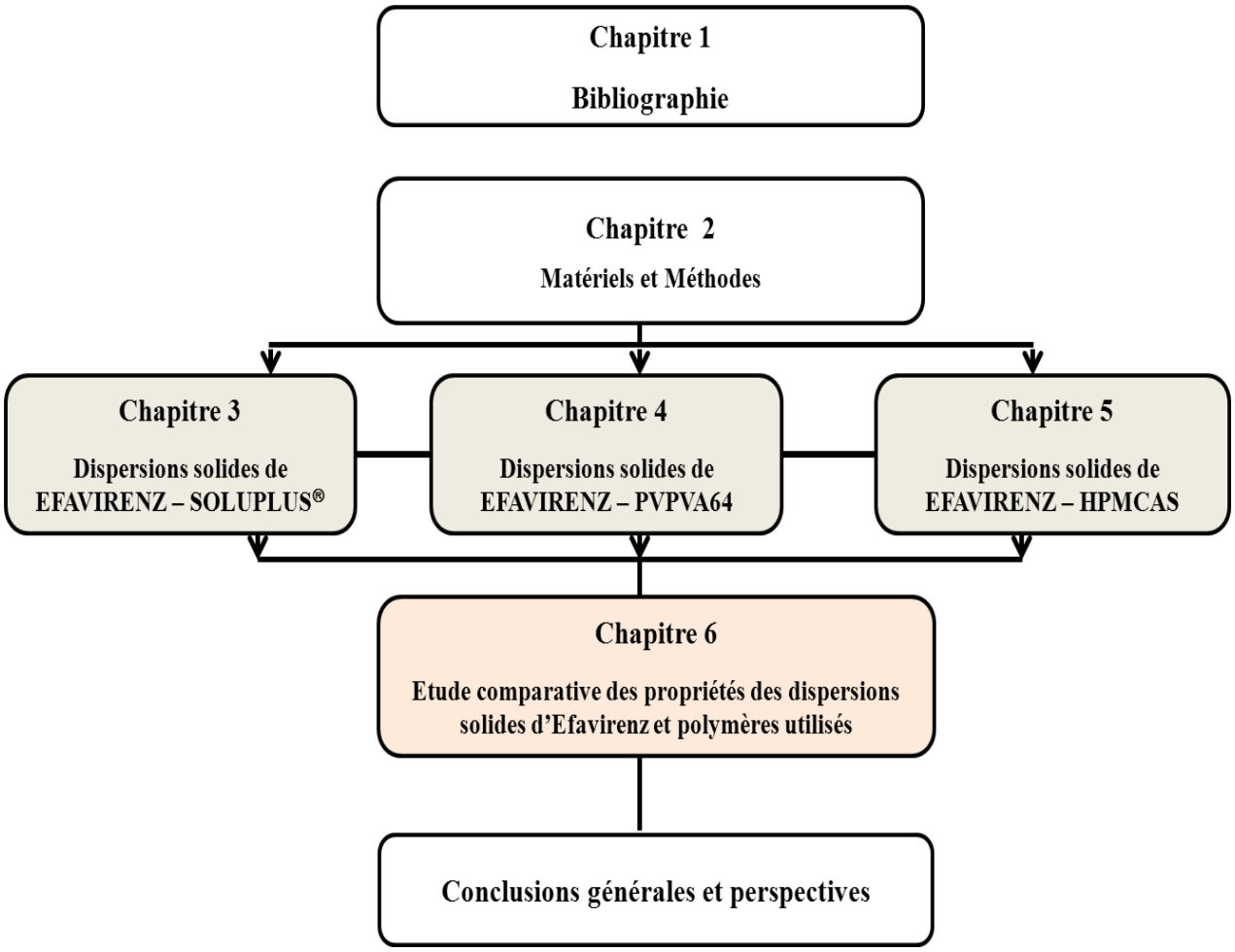
1. Recherche d'un polymère miscible avec l'EFV (approche thermodynamique, données expérimentales).

2. Génération de dispersions solides, par la dispersion de l'EFV dans une matrice polymère en utilisant la technique de séchage par atomisation (SD).

3. Analyse des dispersions solides formées à travers un ensemble de techniques de caractérisation (calorimétrie différentielle à balayage DSC, diffractométrie de rayons X, microscopie électronique à balayage MEB, cartographie X, spectroscopie Raman...), avant et après conditions de stress (température et humidité relative élevées).

Cette thèse a été menée en cotutelle entre le Centre Rapsodee de L'Ecole des Mines d'Albi-Carmaux et l'Université Fédérale de Pernambuco (UFPe) au Brésil.

Le manuscrit se divise en six chapitres et se structure comme schématisé ci-après.



Le premier chapitre **(Chapitre 1)** est consacré à une synthèse bibliographique qui introduit l'ensemble des notions techniques et scientifiques utiles à ce travail de thèse. Dans un premier temps sont rapidement présentées la voie orale et la pharmacocinétique d'aborption des principes actifs par cette voie d'administration des médicaments, les notions de solubilité et dissolution, la classification biopharmaceutique (I, II, III et IV) et les différentes stratégies utilisées pour augmenter la solubilité et la cinétique de dissolution des molécules de type II (faible solubilité, bonne perméabilité) et IV (faible solubilité, faible perméabilité) de la classification biopharmaceutique. Ensuite, plus en détail, les dispersions solides sont définies, les moyens d'obtention et outils de caractérisation utilisés dans le cadre de cette thèse sont expliqués, et la notion de stabilité est abordée. Enfin, le principe actif d'intérêt de cette thèse (Efavirenz, EFV, de classe II) ainsi que les polymères Soluplus®, HPMCAS et PVPVA64 choisis pour formuler les dispersions solides d'EFV sont présentés, et

l'importance de la proportion massique polymère-principe actif dans les dispersions solides est discutée.

Le deuxième chapitre (**Chapitre 2**) présente les matériels et méthodes utilisés pour la préparation et la caractérisation des dispersions solides. Les dispersions solides ont été préparées à partir de solutions contenant l'EFV et les polymères. Le solvant commun pour l'EFV, Soluplus® et PVPVA est l'éthanol 99% ; pour l'EFV et HPMCAS le solvant utilisé est un mélange d'éthanol (80%) et d'eau (20%). Les conditions de séchage ont été déterminées à travers une série de tests préliminaires de préparation de particules 'blanches', sans l'EFV : concentration de polymère, température de séchage, débit d'alimentation de solution.

Les **Chapitres 3, 4 et 5** présentent, de manière détaillée et consécutive, les résultats obtenus pour les trois dispersions solides générées dans cette étude : les dispersions solides de Efavirenz et Soluplus® nommées DS_{SOL} (Chapitre 3), les dispersions solides d'EFV et PVPVA nommées DS_{PVPVA} (Chapitre 4) et enfin les dispersions solides d'EFV et HPMCAS, les DS_{HPMCAS} (Chapitre 5). Le paramètre d'étude a été la proportion massique entre l'EFV et les polymères dans les formulations (théoriquement fixées à 1 :1 ; 1 :5 et 1 :10, ce qui correspond à une teneur de 10 à 45% en masse d'EFV dans les dispersions solides).

Ces chapitres démarrent par une présentation des paramètres de solubilité (δ) afin de prédire la miscibilité entre la molécule EFV et les polymères Soluplus® (Chapitre 3), PVPVA (Chapitre 4) et HPMCAS (Chapitre 5). Le paramètre de solubilité caractérise les interactions (forces de dispersions, liaisons hydrogène…) entre molécules chimiques. En règle générale deux molécules dont les paramètres de solubilités sont proches ont de bonnes affinités. Lorsqu'elles sont mélangées, elles peuvent former une seule phase homogène. Les paramètres de solubilité (δ) de l'EFV et des polymères Soluplus®, PVPVA et HPMCAS ont été calculés à partir de la méthode de contribution des groupes (Tableaux 6, 14 et 22 dans les Chapitres 3, 4 et 5 respectivement). Les valeurs calculées pour l'EFV sont de 24,5 $MPa^{1/2}$ et de 19,8, 19,7 et 28,2 $MPa^{1/2}$ respectivement pour les polymères Soluplus®, PVPVA et HPMCAS. Il a été postulé qu'un mélange avec des différences relatives $\Delta\delta < 7$ $MPa^{1/2}$ sera probablement miscible tandis que des constituants avec $\Delta\delta > 10$ $MPa^{1/2}$ seront probablement immiscibles (Greenhalgh et al, 1999). Dans notre cas, les polymères présentent des différences relatives $\Delta\delta$ inférieures à 4,8 $MPa^{1/2}$ et sont probablement miscibles avec l'EFV. Des solutions solides sont alors attendues. Ces trois polymères ont été retenus pour l'étude de génération de dispersions solides de l'EFV dans le cadre de cette thèse.

L'étape suivante a consisté en la préparation de mélanges binaires principe actif et polymères pour la détermination de la température de transition vitreuse du mélange. Des mélanges physiques et des dispersions solides ont été préparés et analysés par calorimétrie différentielle à balayage modulée (mDSC). La mDSC est un moyen de mesure performant dans l'identification des transitions dans les mélanges complexes. Elle permet en effet de découpler les signaux réversibles et irréversibles d'un signal enthalpique total ordinairement exploité en DSC classique. L'indication expérimentale de la miscibilité apparente de deux constituants amorphes est la présence d'une seule température de transition de phase (Tg). Pour les particules constituées de mélanges binaires EFV/polymères, une seule Tg a été identifiée pour les 3 polymères et les 3 proportions massiques EFV/polymère étudiées, ce qui laisse supposer que ces mélanges sont miscibles ('solutions solides').

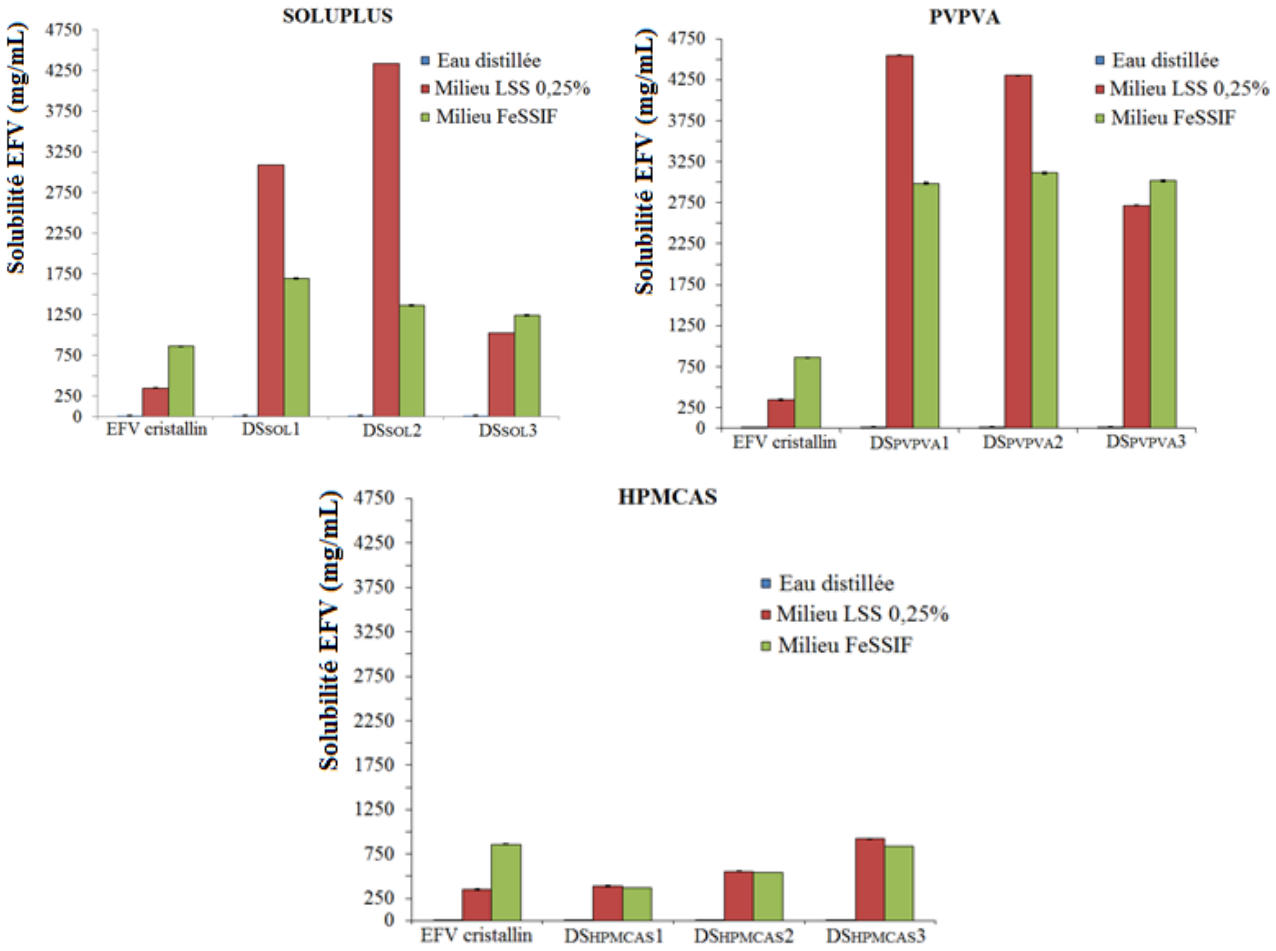
La fonctionnalité recherchée pour ces particules constituées d'EFV et d'un polymère (Soluplus® ou PVPVA ou HPMCAS) est d'augmenter la solubilité et la cinétique de dissolution de l'EFV. La proportion massique EFV : polymère est le paramètre d'ajustement de ces caractéristiques recherchées. Plusieurs techniques d'analyse (analyse calorimétrique différentielle à balayage, diffraction de rayons-X, spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier, microscopie électronique à balayage avec cartographie X, microscopie Raman…) ont été employées afin de connaître la structure solide des particules séchées issus du procédé de pulvérisation/séchage car elles sont complémentaires, comme nous allons le montrer dans chacun de ces chapitres.

Les techniques d'analyse (DSC, DRX) ont permis d'observer que les structures formées étaient amorphes avec une distribution homogène d'EFV dans les trois matrices polymériques (cartographies X (MEB) et par microscopie Raman). Un mélange amorphe peut absorber l'eau dans sa structure, ce qui peut changer considérablement la mobilité moléculaire. L'eau peut être absorbée pendant le procédé de génération du solide ou pendant son conditionnement et peut atteindre des valeurs élevées lors des tests de stabilité. L'immiscibilité provoquée par l'humidité est un facteur important, et nous avons étudié le comportement de nos dispersions solides après les avoir exposées à une atmosphère à 75 % d'humidité relative et 40 °C jusqu'à l'absorption à l'équilibre (étude en DVS, Dynamic Vapor Sorption) ou après exposition à une atmosphère à 23% d'humidité relative et 22°C pendant 12 mois. A la fin de ces études, les échantillons ont été aussitôt analysés par analyse calorimétrique différentielle à balayage.

Les détails des travaux réalisés et décrits dans le Chapitre 3 pourront être trouvés dans la publication *Solubility and dissolution performances of spray-dried solid dispersion of Efavirenz in Soluplus*, Drug Development and Industrial Pharmacy , 2016 (auteurs : Zênia Maria Maciel Lavra, Davi Pereira de Santana, Maria Inês Ré) : dx.doi.org/10.1080/03639045.2016.1205598.

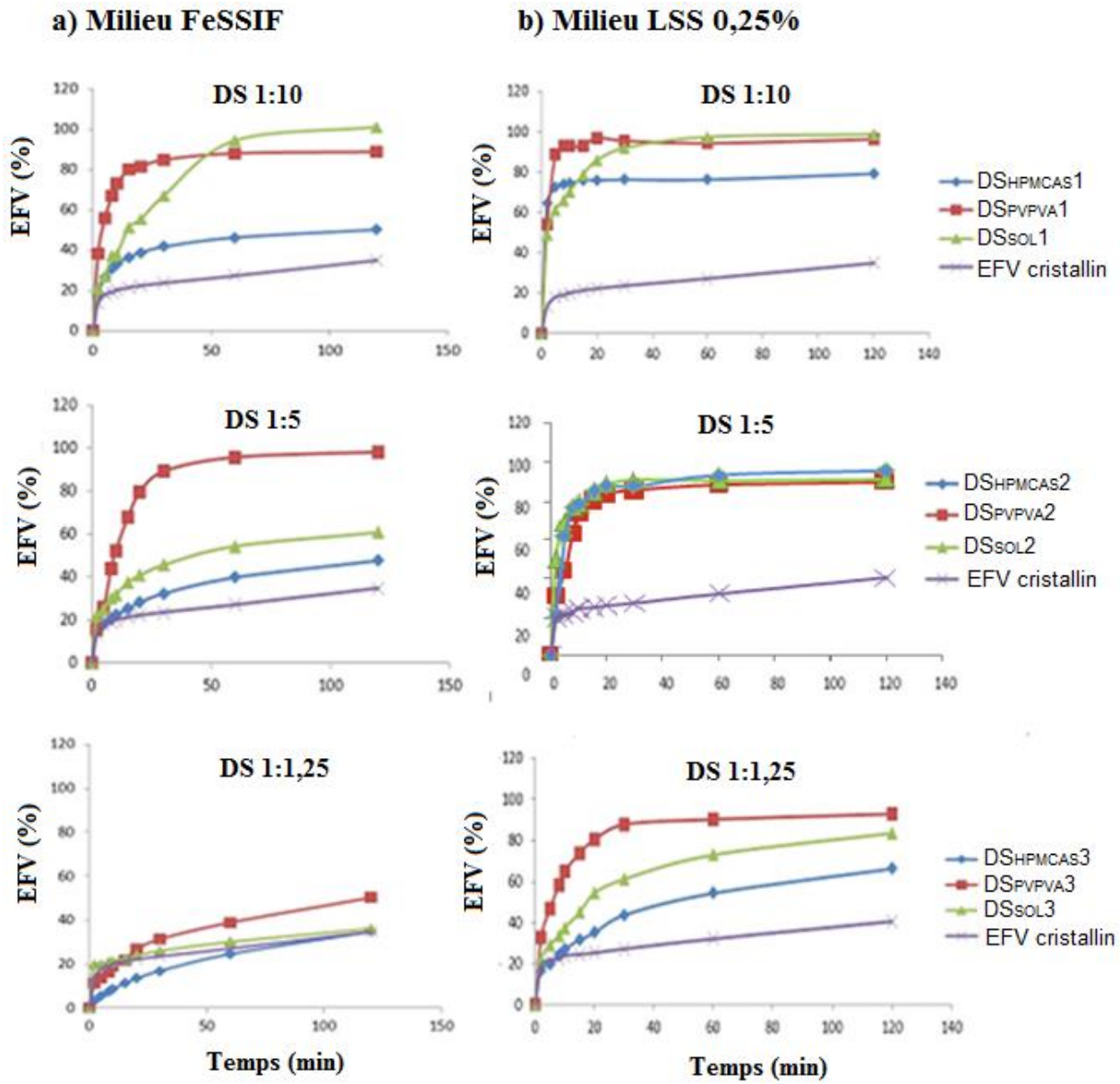
Le **Chapitre 6** regroupe les caractéristiques principales des dispersions solides générées tout au long de ce travail sous une forme comparative : température de transition vitreuse (Tg) en fonction de la composition des formulations, solubilité et profils de dissolution in vitro dans différents milieux aqueux, interactions possibles entre l'EFV et les polymères, stabilité physique des structures solides. La solubilité apparente a été déterminée après 48h à 37°C dans différents milieux aqueux : - eau purifiée ; dans un milieu de dissolution constitué d'eau avec 0,25% en masse de lauryl sulfate de sodium (LSS) ou dodécylsulfate de sodium (SDS), plus connu sous sa dénomination INCI sodium lauryl sulfate ou SLS; dans le milieu «FeSSIF» (*Fed state simulated intestinal fluid* en anglais) mimant le contenu intestinal après un repas. Le milieu FeSSIF est constitué de chlorure de sodium (203mM); lécithine (3,75mM); taurocholate de sodium (15mM) et hydroxyde de sodium (101mM). Le pH est ajusté à 5 avec un tampon phosphate (0,144M).

En comparaison à sa forme cristalline, les résultats confirment l'effet positif des dispersions solides sur la solubilité apparente de l'EFV dans les différents milieux aqueux étudiés, notamment dans les dispersions EFV-Soluplus® et EFV-PVPVA. De plus, cet effet est dépendant du type de polymère et de sa concentration dans les dispersions solides, ce qui est discuté plus en détail au Chapitre 6. Cette discussion est basée sur les caractéristiques des polymères utilisés comme le caractère amphiphile du Soluplus®, sur les interactions intermoléculaires entre l'EFV et le PVPVA pouvant amener à la formation de complexes solubles, et sur une solubilité de l'EFV dans le polymère HPMCAS plus faible que pour les autres polymères étudiés.



Les profils cinétiques de dissolution des différentes dispersions solides dans deux milieux aqueux (LSS 0,25% et FessiF) ont été déterminés. Ils montrent que la vitesse de dissolution diminue avec l'augmentation de la teneur en EFV (notation 1 = ~ 10% ; notation 2 = ~15% ; notation 3 = ~ 45%) dans les dispersions solides. Plusieurs modèles mathématiques pour les profils de dissolution ont été sélectionnés afin d'évaluer la qualité de leur ajustement par rapport aux données expérimentales de dissolution. Les modèles suivants ont été testés : Baker-Lonsdale, Weibull et Korsmeyer-Peppas. L'évaluation des coefficients R^2 ajusté, Moyenne des Carrés des Erreurs (MCE) et AIC de Akaike ont permis d'identifier le modèle s'ajustant le mieux aux données (Korsmeyer-Peppas).

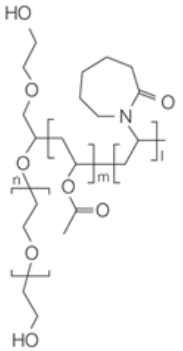
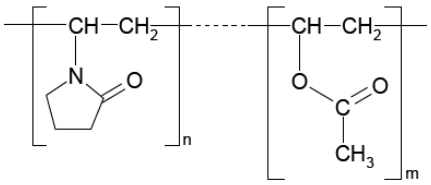
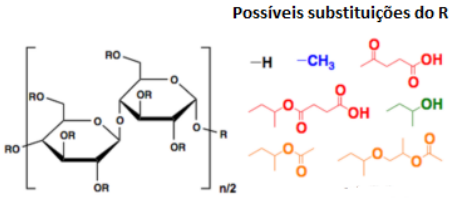
Les résultats obtenus avec le modèle Korsmeyer-Peppas font ressortir le rôle prédominant de la diffusion dans le contrôle de cette cinétique de libération de l'EFV dans les milieux de dissolution. Néanmoins, le mécanisme peut changer en fonction du type de polymère et de sa concentration dans les dispersions solides faisant apparaître l'effet couplé diffusion/érosion pour les concentrations plus élevées en polymère.



Concernant la stabilité physique, les études menées dans différentes conditions de température et humidité relative n'ont pas mis en évidence une évolution de la structure solide des dispersions étudiées (aucune modification de la Tg du mélange, aucune évidence de séparation de phases ou de recristallisation de l'EFV). En effet, la molécule d'EFV possède dans sa structure moléculaire des atomes de fluor, oxygène et nitrogène. Les 3 polymères choisis présentent des groupements fonctionnels pouvant fonctionner comme des accepteurs de protons, ce qui permettrait la formation de liaisons hydrogène avec la molécule d'EFV. En effet, pour les 3 différentes dispersions solides, la disparition du pic entre 3000 e 3500cm^{-1} sur les spectres infrarouge correspondant aux vibrations stretching du groupe N-H a pu être

interprétée comme due à de nouvelles liaisons hydrogène entre la molécule EFV et les polymères, ce qui contribue à la stabilité physique de ces mélanges homogènes.

Groupes accepteurs (H_A) ou donneurs de liaison hydrogène (H_D), présents dans les polymères Soluplus®, PVPVA et HPMCAS.

Polymère	Groupe	Accepteurs de H (H_A) ou Donneurs de H (H_D)	Structure chimique
Soluplus®	-C(O)-N-	H_A	
	-C(O)-O-	H_A	
	R-O-R	H_A	
PVPVA	-C(O)-N-	H_A	
	-C(O)-O-	H_A	
HPMCAS	-O-	H_A	
	-C(O)-O-	H_A	
	-OH	H_A e H_D	
	-C(O)-OH	H_A e H_D	

Les valeurs de Tg dans des mélanges amorphes sont généralement interprétées en termes d'interactions moléculaires et la différence entre les valeurs expérimentales et les valeurs théoriques calculées pour un mélange idéal (par exemple par l'équation de Gordon-Taylor) est un indicateur d'interactions entre les constituants du mélange. Des interactions fortes entre le principe actif et le polymère sont préférables dans les dispersions solides. En effet, elles peuvent restreindre la mobilité moléculaire du principe actif dans la matrice polymérique et restreindre ou retarder la séparation de phases et la recristallisation, influant de

façon positive sur la stabilité physique du mélange binaire amorphe. Les dispersions solides avec le polymère PVPVA semblent être les plus intéressantes en termes d'interactions hétéromoléculaires (EFV-polymère) car la différence est positive (Tg expérimentale supérieure à la Tg calculée par l'équation de Gordon-Taylor).

En synthèse, les résultats obtenus nous conduisent à conclure que les dispersions solides EFV-PVPVA et EFV- Soluplus® sont les plus prometteuses en termes d'amélioration des propriétés de solubilité et cinétique de dissolution de l'EFV pour une administration orale.

Dans une dernière partie, des perspectives de recherche sont proposées pour poursuivre ce travail :

- ✓ Réaliser une étude de dissolution dans des conditions non-sink afin d'évaluer la capacité de ces dispersions solides (DS_{SOL} ® et DS_{PVPVA}) sur le prolongement de l'effet 'parachute' sur la sursaturation du milieu de dissolution ;
- ✓ Optimiser la concentration d'EFV dans ces dispersions solides (entre 15 et 45% en masse) avant de passer à des études chez l'animal;
- ✓ Approfondir l'étude du procédé de séchage par atomisation (type de solvant, température de séchage) et son impact sur les propriétés des dispersions solides.

Le manuscrit se termine par une série de quatre annexes :

Annexe A – Dans cette annexe les paramètres d'ajustement des modèles cinétiques obtenus à partir des profils de dissolution in vitro des dispersions solides dans deux milieux aqueux (LSS 0,25% et FeSSIF à 37°±0,5°C) sont regroupés par type de polymère étudié (Soluplus®, PVPVA e HPMCAS).

Annexe B – Profils de dissolutions in vitro des dispersions solides DS_{SOL} (Soluplus®), DS_{PVPVA} (PVPVA) et DS_{HPMCAS} (HPMCAS) dans les milieux aqueux a) LSS 0,25% et (b) FeSSIF : comparaison entre données expérimentales et calculées par le modèle de Korsmeyers-Peppas.

Annexe C - Mise au point de la méthode de dosage HPLC de la molécule EFV

Annexe D – Liste de publications.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AJAY, S.; HARITA, D.; TARIQUE, M.; AMIN, P. Solubility and dissolution rate enhancement of curcumin using kollidon Va64 by solid dispersion technique. **International Journal of PharmTech Research**, v. 4, n. 3, p. 1055–1064, 2012.

ALI, S.; KOLTER, K. Challenges and Opportunities in Oral Formulation Development. **American Pharmaceutical Review.** Dezembro, 2012. Disponível em: http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/126887-Challenges-and-Opportunities-in-Oral-Formulation-Development/. Acesso em 01/06/2016.

ALLAM, A. N.; EL GAMAL, S. S.; NAGGAR, V. F. Bioavailability: A Pharmaceutical Review. **International Journal Novel Drug Delivery Technology**, v. 1, n. 1, p. 80–96, 2011.

AL-OBAIDI, H.; LAWRENCE, M. J.; SHAH, S.; MOGHUL, H.; AL-SADEN, N.; BARI, F. Effect of drug-polymer interactions on the aqueous solubility of milled solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 446, n. 1-2, p. 100–105, 2013a.

AL-OBAIDI, H.; LAWRENCE, M. J.; AL-SADEN, N.; KEB, P.. Investigation of griseofulvin and hydroxypropylmethyl cellulose acetate succinate miscibility in ball milled solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 443, n. 1-2, p. 95–102, 2013b.

AL-OBAIDI, H.; BUCKTON, G. Evaluation of griseofulvin binary and ternary solid dispersions with HPMCAS. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 4, p. 1172–1177, 2009.

ALSHAHRANI, S. M.; LU, W.; PARK, J. B.; MOROTT, J. T.; ALSULAYS, B. B.; MAJUMDAR, S.; LANGLEY, N.; KOLTER, K.; GRYCZKE, A.; REPKA, M.A. Stability-enhanced Hot-melt Extruded Amorphous Solid Dispersions via Combinations of Soluplus® and HPMCAS-HF. **AAPS PharmSciTech**, v. 16, n. 4, p. 824–834, 2015.

ALTAMIMI, M. A. **Thermodynamic Study to Form More stable and Soluble Drug-Polymer Mistures Using Soluplus and itr component homopolymers**. Filadélfia, 2015, 257 p. [Tese de Doutorado] Universidade de Ciências da Filadélfia.

ALVES, L. D. S. et al. Solid dispersion of efavirenz in PVP K-30 by conventional solvent and kneading methods. **Carbohydrate Polymers**, v. 104, p. 166–174, 2014.

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

ANINA, D. B.; DAVID, GOMES, C. I.; MACHADO, G. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA - Aplicações e preparação de amostras - Materiais Poliméricos, metálicos e semicondutores. **Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**, p. 1–30, 2007.

AULTON, M.E.; GONZALEZ ORTEGA, G. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed., Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.

AUCAMP, M.; LIEBENBERG, W.; STRYDOM, S. J.; van TONDER, E. C.; VILLIERS, M.

M. Physicochemical Properties of Amorphous Roxithromycin Prepared by Quench Cooling of the Melt or Desolvation of a Chloroform Solvate. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 2, p. 467–476, 2012.

BÜCHI. **Manuel d'instructions atomisateur de séchage** B-290. 2005.

BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility Advantage of Amorphous Drugs and Pharmaceutical Cocrystals. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 7, p. 2662–2679, 2011.

BABU, R. J. BROSTOW, W .; KALOGERAS, I. M.; SATHIGARI, S. Glass transitions in binary drug+polymer systems. **Materials Letters**, v. 63, n. 30, p. 2666–2668, 2009.

BAGHEL, S.; CATHCART, H.; O'REILLY, N. J. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2016 (No prelo).

BAIRD, J. A.; TAYLOR, L. S. Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 5, p. 396–421, 2012.

BARTON, A.F.M. **Handbook of Solubility Parameters and Other Cohesion Parameters.** CRC Press, Boca Raton, Florida, 1983.

BERNARDI, L. **Caracterização e estudos das propriedades no estado sólido do cloridrato de venlafaxina** Santa Catarina, 2013. 231p. Tese de Doutorado. Centro de Ciências da Saúde. Faculdade de Farmácia. Universidade Federal de Santa Catarina.

BHARDWAJ, S. P. et al. Mechanism of amorphous itraconazole stabilization in polymer solid dispersions: role of molecular mobility. **Molecular pharmaceutics**, v. 11, n. 11, p. 4228–4237, 2014.

BRANDALISE, R. N.; ZENI, M.; MARTINS, J. D. N.; FORTE, M. M. C. Morphology, mechanical and dynamic mechanical properties of recycled high density polyethylene and poly(vinyl alcohol) blends. **Polymer Bulletin.** v. 62, p. 33–43, 2009.

BROUGH, C; WILLIAM III, R. Amorphous solid dispersion and nano crystal technologies for poorly water-soluble drug delivery. **International Journal Pharmaceutics.** 2013; 453: 233–252.

BROSTOW, W.; CHIU, R.; KALOGERAS, I. M.; VASSILIKOU-DOVA, A. Prediction of glass transition temperatures: Binary blends and copolymers. **Materials Letters**, v. 62, p. 3152–3155, 2008.

BROWN, C. K.; CHOKSHI, H. P.; NICKERSON, B.; REED, R. A.; ROHRS, B. R.; SHAH, P. A. Acceptable analytical practices for dissolution testing of poorly soluble compounds. **Pharmaceutical Technology.** v. 28, n. 18, p. 56-65, 2004.

CHADHA, R.; ARORA, P.; BHANDARI, S.; JAIN, D. V. S. Effect of hydrophilic polymer on complexing efficiency of cyclodextrins towards efavirenz-characterization and

thermodynamic parameters. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**. v. 72, p. 275–87, 2012.

CHAN, S. Y.; CHUNG, Y. Y.; CHEAH, X. Z.; TAN, E. Y. L.; QUAH, J. The characterization and dissolution performances of spray dried solid dispersion of ketoprofen in hydrophilic carriers. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences.** v. 10, n. 5, p. 372–385, 2015.

CHEN, J.; ORMES, J.D.; HIGGINS, J.D.; TAYLOR, L.S. Impact of surfactants on the crystallization of aqueous suspensions of celecoxib amorphous solid dispersion spray dried particles. **Molecular pharmaceutics.** v. 12, n. 2, p. 533–41, 2015.

CHARUMANEE S, OKONOKI S AND SIRITHUNYALUG J. Improvement of the Dissolution Rate of Piroxicam by SurfaceSolid Dispersion. **CMU Journal.**, v. 3, p. 77-84, 2004

CHIAPPETTA, D. A.; HOCHT, C.; TAIRA, C.; SOSNIK, A. Efavirenz-loaded polymeric micelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability. **Nanomedicine (London, England)**, v. 5, n. 1, p. 11–23, 2010a.

CHIAPPETTA, D. A.; ALVAREZ-LORENZO, C.; REY-RICO, A.; TABOADA, P.; CONCHEIRO, A.; SOSNIK, A. N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antiretroviral efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, n. 1, p. 24–37, 2010b.

CHIAPPETTA, D. A.; HOCHTC, C.; TAIRA, C.; SOSNIK, A. Oral pharmacokinetics of the anti-HIV efavirenz encapsulated within polymeric micelles. **Biomaterials**, v. 32, n. 9, p. 2379–2387, 2011.

CIRRI, M.; MURA, P.; RABASCO, A. M.; GINÉS, J. M.; MOYANO, J. R.; GONZALES-RODRIGUEZ, M. L. Characterization of ibuproxan binary and ternary dispersions with hydrophilic carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**. v. 30, p. 65–74, 2004.

COSTA NETO, B. P.; **Micropartículas de quitosana estruturadas com aerosil®: estabilidade, adsorção, encapsulação e liberação de substâncias ativas**. Natal, 2014. 164p. Tese de Doutorado. Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal do Rio Grande do Norte

CUFFINI, S; PITALUGA JR., A; TOMBARI, D; Polimorfismo em fármacos. Em: **Biofarmacotécnica**; Editora Guanabara: Rio de Janeiro, 2009; p. 21-31.

CURATOLO, W.; NIGHTINGALE, J. A.; HERBIG, S. M. Utility of hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate (HPMCAS) for initiation and maintenance of drug supersaturation in the GI milieu. **Pharmaceutical Research**, v. 26, n. 6, p. 1419–1431, 2009.

DA COSTA, M. A.; SEICEIRA, R. C.; RODRIGUES, C. R.; HOFFMEISTER, C. R. D.; CABRAL, L. M.; ROCHA, H. V. A. Efavirenz Dissolution Enhancement I: Co-Micronization. **Pharmaceutics**. v. 5, n. 1, p. 1–22, 2013.

DESAI, P. P.; DATE, A. A.; PATRAVALE, V. B. Overcoming poor oral bioavailability using nanoparticle formulations – opportunities and limitations. **Drug Discovery Today: Technologies**. v. 9, n. 2, p. 87–95, 2012.

DESMUKH, V.; MULIK, S.; DESHMUKH, T.; KASAT, K. Solubility Enhancement of Efavirenz Hydrochloride by Hot Melt Technique. **Journal of Current Pharma Research**, v. 1, n. 4, p. 320–336, 2011.

DESHMUKH, A.; KULAKRNI, S. Novel Self Micro-emulsifying drug delivery systems (SMEDDS) of Efavirenz. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 4, n. 8, p. 3914–3919, 2012.

DIAS, S. T. **Estudo de técnica de recobrimento de cristais de rifampicina com excipientes hidrofílicos visando aumento da velocidade de dissolução**, 2009. Dissertação (Mestrado em Processos Industriais) – Instituto de Pesquisas Tecnológicas do Estado de São Paulo, São Paulo.

DJURIS, J.; NIKOLAKAKIS, I.; IBRIC, S.; DJURIC, Z.; KACHRIMANIS, K. Preparation of carbamazepine-Soluplus® solid dispersions by hot-melt extrusion, and prediction of drug-polymer miscibility by thermodynamic model fitting. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 1, p. 228–237, 2013.

DJURIS, J.; IOANNIS, N.; IBRIC, S.; DJURIC, Z.; KACHRIMANIS, K. Effect of composition in the development of carbamazepine hot-melt extruded solid dispersions by application of mixture experimental design. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 232–243, 2014.

DOBRY, D.E.; SETTELL, D.M.; BAUMANN, J.M.; RAY, R. J.; GRAHAM, L. J.; BEYERINCK. A Model-Based Methodology for Spray-Drying Process Development. **Journal of Pharmaceutical Innovation,** v. 4, n. 3, p. 133-142, 2009.

DONG, Z.; CHOI, D.S. Hydroxypropyl Methylcellulose Acetate Succinate: Potential Drug–Excipient Incompatibility. **AAPS PharmSciTech,** v. 9; n. 3; p. 991-997, 2008.

EL-ZEIN, H.; RIAD, L.; EL-BARY, A. A. Enhancement of carbamazepine dissolution: in vitro and in vivo vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics,** v. 168, p. 209-220, 1998.

ENGMAN H. **Intestinal barriers to oral drug absorption: Cytchrome P450 3A and ABC Transport Proteins** (*Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from Faculty of Pharmacy*)**.** Suécia, 2003. 61p. Tese de Doutorado - Faculdade de Farmácia - Universidade da Suécia.

FAGERBERG, J. H.; TSINMAN, O.; SUN, N.; TSINMAN, K.; AVDEEF, A.; BERGSTROM, C.A.S. Dissolution rate and apparent solubility of poorly soluble drugs in biorelevant dissolution media. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n. 5, p. 1419–1430, 2010.

FAKES, M.G., VAKKALAGADDA, B.J., QIAN, F., DESIKAN, S., GANDHI, R.B., LAI, C., HSIEH, A., FRANCHINI, M.K., TOALE, H., BROWN, J. Enhancement of oral bioavailability of an HIV-attachment inhibitor by nanosizing and amorphous formulation approaches. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 370, n.1-2, p. 167–174, 2009.

FASINU, P.; PILLAY, V.; NDESENDO, V. M. K.; DU TOIT, L. C.; CHOONARA, Y. E. Diverse approaches for the enhacement of oral drug bioavailability. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v. 32, p. 185–209, 2011.

FDA. U.S. Food and Drug Administration. **Guidance for Industry Dissolution Testing of Immediate.** v. 4, n. August, p. 15–22, 1997.

FEDORS, R. F. A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. **Polymer Engineering and Science**, v. 14, n. 2, p. 147–154, 1974.

FRIESEN, D. T.; SHANKER, R.; CREW, M.; SMITHEY, D. T.; CURATOLO, W. J.; Nightingale, J. A. S. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 6, p. 1003–1019, 2008.

FOTAKI, N.; LONG, C. M.; TANG, K.; CHOKSHI, H. Dissolution of Amorphous Solid Dispersions: Theory and Practice. In: **Amorphous Solid Dispersions-Theory and Practice**. New York: Editora Springer, 2014, cap. 15, p. 487-514.

FRIZON, F.; ELOY, J.O.; DONADUZZI, C.M.; MITSUI, M.L.; MARCHETTI, J.M. Dissolution rate enhancement of loratadine in polyvinylpyrrolidone K-30 solid dispersions by solvent methods. **Powder Technology**, v. 235, p. 532–539, 2013.

FU, J.; XU, L.; WANG, X.; ZHANG, S.; TAO, X.; ZHAO, X.; HE, H.; TANG, Xl. Nimodipine (NM) tablets with high dissolution containing NM solid dispersions prepared by hot-melt extrusion. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 37, n. 8, p. 934–44, 2011.

FULE, R.; AMIN, P. Development and evaluation of lafutidine solid dispersion via hot melt extrusion: Investigating drug-polymer miscibility with advanced characterisation. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 9, p. 92–106, 2014.

GAO, P.; SHI, Y. Characterization of supersaturatable formulations for improved absorption of poorly soluble drugs. **The AAPS Journal**, v. 14, n. 4, p. 703–13, 2012.

GHOSH, I.; SNYDER, J.; VIPPAGUNTA, R.; ALVINE, M.; VAKIL, R.; TONG, W. Q.; VIPPAGUNTA, S. Comparison of HPMC based polymers performance as carriers for manufacture of solid dispersions using the melt extruder. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, n. 1-2, p. 12–19, 2011.

GORDON, M.; TAYLOR, J. S. Ideal copolymers and the second-order transitions of synthetic rubbers. I. Non-crystalline copolymers. **Journal of Applied Chemistry**. v. 2, p. 493– 500, 1952.

GRECO, S.; AUTHELIN, J. R.; LEVEDER, C.; SEGALINI, A. A practical Method to Predict Physical Stability of Amorphous Solid Dispersions. **Pharmaceutical Research**, v. 29, p. 2792–2805, 2012.

GREENHALGH, D. J.; WILLIAMS, A. C.; TIMMINS, P.; YORK, P. Solubility parameters as predictors of miscibility in solid dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 11, p. 1182–1190, 1999.

GUE, Emilie**. Formes galéniques polymériques avec cinétiques de libération améliorée pour le kétoprofène et le fénofibrate**. France, 2013. 180p. Tese de Doutorado – Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques - Université du Droit et de la Santé - Lille II.

HANSEN, C. M. **Hansen Solubility Parameters: A User's Handbook.** 2 ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2007.

HOFTYZER P. J, KREVELEN D. W.V. **Properties of polymers**. 2.ed. Amsterdam: Elsevier Scientific, 1976.

HOMAYOUNI, A.; SADEGHI, F.; NOKHODCHI, A. Preparation and characterization of celecoxib dispersions in Soluplus® : Comparison of spray drying and conventional methods. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research,** v. 14, n. 1, p. 35–50, 2015.

HONG, L. **Solid Molecular Dispersions of Itraconazole for Enhanced Dissolution and Controlled Drug Delivery**. Toronto, 2009. 79p. Dissertação de mestrado. Universidade de Toronto.

HUANG, Y.; DAI, W-G. Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. **Acta Pharmaceutica Sinica B,** v. 4, n. 1, p. 18–25, 2014.

ILEVBARE, G. A.; LIU, H.; EDGAR, H. J.; TAYLOR, L. S. Maintaining supersaturation in aqueous drug solutions: Impact of different polymers on induction times. **Crystal Growth and Design**, v. 13, n. 2, p. 740–751, 2013.

ILARDIA-ARANA, D.; KRISTENSEN, H.G.; MÜLLERTZ, A. Biorelevant dissolution media: aggregation of amphiphiles and solubility of estradiol. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.95, n.2, p. 248–255, 2006.

IPT. Instituto de Pesquisas Tecnológicas (São Paulo). Maria Inês Ré. **Método de microencapsulação de agentes terapêuticos e composição farmacêutica**. BR n.PI 0103732-3, 11 jul. 2001, 29 maio 2007.

JAIN, R.A.; BRITO, L.; STRAUB, J.A.; TESSIER, T.; BERNSTEIN, H. Effect of powder processing on performance of fenofibrate formulations. **European Journal Pharmaceutical and. Biopharmaceutical**. 2008, 69, 727–734.

JANSSENS, S.; HUMBEECK, J. VAN; VAN DEN MOOTER, G. Evaluation of the formulation of solid dispersions by co-spray drying itraconazole with Inutec SP1, a polymeric surfactant, in combination with PVPVA 64. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 2, p. 500–505, 2008.

JEGANATHAN, B.; PRAKYA, V.; DESHMUKH, A. Preparation and Evaluation of Diclofenac Sodium Tablet Coated with Polyelectrolyte Multilayer Film Using Hypromellose Acetate Succinate and Polymethacrylates for pH-Dependent, Modified Release Drug Delivery. **AAPS PharmSciTech**, 2015.

JUST, S.; SIEVERT, F.; THOMMES, M.; BREITKREUTZ, J. Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion. E**uropean Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 85, n. 3 Part B, p. 1191–1199, 2013.

KALOGERAS, I. M. A novel approach for analyzing glass-transition temperature vs. composition patterns: Application to pharmaceutical compound + polymer systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 5, p. 470–483, 2011.

KALRA, K.; JAIN, D. A. **Solubilty Enhancement of Poorly Water Soluble Drugs – Techniques to overcome poor water solubility.** LAP Lambert Academic Publishing. 2011. 144p.

KANIG, J.; LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**; Fundação Calouste Gulibenkian: Lisboa, Portugal, 2001; Volume 2.

KAPSI, S. G.; AYRES, J. W.; Processing factors in development of solid solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 229, p. 193-203, 2001.

KATATA, L.; TSHWEU, L.; NAIDOO, S.; KALOMBO, L.; SWAI, H. Design and formulation of nano-sized spray dried efavirenz-part I: Influence of formulation parameters. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, n. 11, p. 1-8, 2012.

KENNEDY, M. HU, J.; GAO, P.; LI, L.; ALI-REYNOLDS, A.; CHAL, B.; GUPTA, V.; MA, C.; MAHAJAN, N.; AKRAMI, A.; SURAPANENI, S. Enhanced bioavailability of a poorly soluble VR1 antagonist using an amorphous solid dispersion approach: A case study. **Molecular Pharmaceutics**, v. 5, n. 6, p. 981–993, 2008.

KHODAVERDI, E.; KHALILI. N.; ZANGIABADI, F.; HOMAYOUNI, A. Preparation Characterization and Stability Studies of Glassy Solid Dispersions of Indomethacin using PVP and Isomalt as carriers. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**. v. 15, n. 3, p. 820–832, 2012.

KHOUGAZ, K.; CLAS, S. D. Crystallization inhibition in solid dispersions of MK-0591 and poly(vinylpyrrolidone) polymers. **Journal of pharmaceutical sciences,** v. 89, n. 10, p. 1325-34, 2000.

KIRAN T., SHASTRI N.; RAMAKRISHNA S.; SADANANDAM M.; Surface solid dispersion of glimepiride for enhancementof dissolution rate. **International Journal of PharmTech Research.** v. 1, p. 822-831, 2009.

KLEIN S. The use of biorelevant dissolution media to forecast the in vivo performance of a drug. **The AAPS Journal.** v. 12, n. 13, p. 397–406, 2010.

KOH, P. T.; CHUAH. N.; TALEKAR, M.; GORAJANA, A.; GARG, S. Formulation development and dissolution rate enhancement of efavirenz by solid dispersion systems. **Indian journal of pharmaceutical sciences**, v. 75, n. 3, p. 291–301, 2013.

KOLHE, S. .; CHAUDHARI, P. .; MORE, D. Dissolution Enhancement of Poorly Water Soluble Efavirenz by Hot Melt Extrusion Technique. **International Journal of Drug Development & Research**, v. 5, n. 2, p. 368–381, 2013.

KONNO H.; TAYLOR, L. S. Influence of Different Polymers on the Crystallization Tendency of Molecularly Dispersed Amorphous Felodipine. **Journal of Pharmaceutical**

Sciences, v. 95, n. 12, p. 2692–2705, 2006.

KORSMEYER, R. W.; GURNY, R.; DOELKER, E.; BURI, P.; PEPPAS, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 15, n. 1, p. 25–35, 1983.

KUMAVAT, S. D.; CHAUDHARI, Y. S.; BADHE, M.; BOROLE, P.; SHENGHANI, K. Physical stability of amorphous solid dispersion: a review. **International Journal of Pharmaceutical** , 129-136, 2013.

LAITINEN R.; PRIEMEL, P. A.; SURWASE, S.; GRAESER, K.; STRACHAN, C. J.; GROHGANZ, H.; RADES, T. **Theoretical considerations in developing amorphous solid dispersions.** In: **A**morphous solid dispersions: theory and practice. New York: Editora Springer; 2014, cap. 2, p. 35–90.

LAMBA, S.; CHOWDARY, K. P. R. A factorial study on formulation development of Efavirenz tablets employing β cyclodextrin- Poloxamer 407- PVP k30. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 3, n. 3, p. 782–787, 2012.

LEHTO, P.; KORTEJÄRVI, H.; LIIMATAINEN, A.; OJALA, K.; KANGAS, H.; HIRVONEN, J.; TANNINEN, V.P.; PELTONEN, L. Use of conventional surfactant media as surrogates for FaSSIF in simulating in vivo dissolution of BCS class II drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 78, n. 3, p. 531–538, 2011.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V**, v. 50, n. 1, p. 47–60, 2000.

LINN, M. **In vitro characterization of the novel solubility enhancing excipient Soluplus**. Alemanha, 2011.133p. Tese de Doutorado. University Des Saarlandes.

LIPINSKI, C. A. Poor aqueous solubility: An industry wide problem in drug discovery. **American Pharmaceutical Review**. v. 5, n. 3, p. 82-85, 2002.

LIU, J.; CAO, F.; ZHANG, C.; PING, Q. Use of polymer combinations in the preparation of solid dispersions of a thermally unstable drug by hot-melt extrusion. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 3, n. 4, p. 263–272, 2013.

LIU, C.; CHEN, Z.; CHEN, Y.; LU, J.; LI, Y.; WANG, S.; WU, G.; QIAN, F. Improving Oral Bioavailability of Sorafenib by Optimizing the “spring” and “parachute” Based on Molecular Interaction Mechanisms. **Molecular Pharmaceutics.** v. 13, n. 2, p. 599-608, 2016.

LOBO, M. S.; COSTA, P. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutics Sciences** v. 13, p. 123–133, 2001.

MACEDO, R. O.; NASCIMENTO, T. G. Thermal characterization of lapachol by means of TG and DSC coupled to a photovisual system. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry,** v. 64, p. 751-756, 2001.

MADHAVI, B. B.; KUSUM, B.; CHATANYA, C. K.; MADHU, M. N.; HARSHA, V. S.; BANJI, D. Dissolution enhancement of efavirenz by solid dispersion and PEGylation techniques. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 1, p. 29–34, 2011.

MAHAPATRA, S.; THAKUR, T.S.; JOSEPH, S.; VARUGHESE, S.; DESIRAJU, G. R. New solid state forms of the anti-HIV drug efavirenz. Conformational flexibility and high Z' issues. **Crystal Growth and Design**, v. 10, n. 7, p. 3191–3202, 2010.

LIMBACHIYAA, M. I.; AGRAWAL, M.; SAPARIYA, A.; SONI, S. Solubility Enhancement Techniques for Poorly Soluble Drugs: a Review. **International journal of pharmaceutical research and development**, v. 4, n. 0974, p. 71–86, 2012.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**,v. 4, n. 38, p.375-399, 2002.

MANIRUZZAMAN, M.; BOATENG, J. S.; SNOWDEN, M. J.; DOUROUMIS, D. A review of hot-melt extrusion: process technology to pharmaceutical products. **International Scholarly Research Network-ISRN pharmaceutics**, v. 2012, Article ID 436763, p. 1-9, 2012.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica.** São Paulo, 2003, 114 p.[Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Farmacêuticas, Universidade de São Paulo

MAURY, M.; MURPHY, K; KUMAR, S.; SHI, L.; LEE, G. Effects of process variables on the powder yield of spray-dried trehalose on a laboratory spray-dryer. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 59, n. 3, p. 565–573, 2005.

MENG, F. et al. Investigation and correlation of drug polymer miscibility and molecular interactions by various approaches for the preparation of amorphous solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 71, p. 12–24, 2015.

MISHRA, S.; TANDON, P.; AYALA, A. P. Study on the structure and vibrational spectra of efavirenz conformers using DFT: comparison to experimental data. **Spectrochimica acta. Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy,** v. 88, p. 116–23, 2012.

MONTGOMERY, E. R.; EDMANSON, A. L.; COOK, S. C.; HOVSEPIAN, P. K. Development and validation of a reverse-phase HPLC method for analysis of efavirenz and its related substances in the drug substance and in a capsule formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, n. 2, p. 267–284, 2001.

MURA, P.; MURA, P.; FAUCCI, M. T.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L. Compatibility study between ibuproxam and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 18, p. 151-163, 1998.

NEWBURY, D. E.; RITCHIE, N. W. Is scanning electron microscopy/energy dispersive X-ray spectrometry (SEM/EDS) quantitative? **The Journal of Scanning Microscopies.** v. 35, n.

3, p. 141-168, 2013.

NIKGHALB, L. A.; Singh, G.; Singh, G.; Kahkeshan, K. F. Solid Dispersion: Methods and Polymers to increase the solubility of poorly soluble drugs. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 2, n. 10, p. 170–175, 2012.

BALKUNDI, S.; NOWACEK, A. S.; VEERUBHOTLA, R. S.; CHEN, H.; MARTINEZ-SKINNER, A.; ROY, U.; MOSLEY, R. L.; Kanmogne, G.; LIU, X.; KABANOV, A. V.; BRONICH, T.; McMILLAN, J.; GENDELMAN, H. E. Comparative manufacture and cell-based delivery of antiretroviral nanoformulations. I**nternational Journal of Nanomedicine**. v. 6, p. 3393–3404, 2011.

OLIVEIRA, M. A. DE. Análise térmica aplicada à fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224–1230, 2011.
OLIVEIRA, M. E.; MANZO, R.H. O sistema de classificação biofarmacêutica e as bioisenções. In: STORPIRTIS,S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmarmacotécnica.** 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2009, cap 18, p.187-203.

OLKHOVYK, O.; LANGLEY, N.; ALI, S. Investigating the Miscibility of an API in Soluplus® Dispersions by RAMAN Chemical Imaging Technique. **AAPS Annual Meeting and Expositionl**, 2012.

OZGÜNEY, I.; SHUWISITKUL, D.; BODMEIER, R. Development and characterization of extended release Kollidon SR mini-matrices prepared by hot-melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 73, n, 1, p. 140-45, 2009

PANIKUMAR, A.D.; SUNITHA, G.; VENKAT RAJU, Y.; SATHESH BABU, P.R.; SUBRAHMANYAM, C. V. S. Development of Biorelevant Efavirenz and Its Formulations. **Asian Journal of Pharmaceutical and clinical Research,** v. 5, p. 3–6, 2012.

PAPADIMITRIOU, S. A.; BARMPALEXIS, P.; KARAVAS, E.; BIKIARIS, D. N. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Optimizing the ability of PVP / PEG mixtures to be used as appropriate carriers for the preparation of drug solid dispersions by melt mixing technique using artificial neural networks : I. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 82, n. 1, p. 175–186, 2012.

PAUDEL, A.; WORKU, Z. A.; MEEUS, J.; GUNS, S.; VAN DEN MOOTER, G. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, p. 253–284, 2013.

PAUDEL, A. **Formulation and Process Considerations in Manufacturing Spray-Dried Amorphous Solid Dispersions : A Case Study with Naproxen-Polyvinylpyrrolidone**. Leuven, 2013. 216p. [Tese de Doutorado]. Faculdade de Ciências Farmacêuticas e Farmacológicas. Universidade de Leuven.
PAUDEL, A.; NIES, E.; VAN DEN MOOTER, G. Relating hydrogen-bonding interactions with the phase behavior of naproxen/PVP K 25 solid dispersions: Evaluation of solution-cast and quench-cooled films. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 11, p. 3301–3317, 2012.

PATEL, B.D; J. MEHTA, P. An Overview: Application of RAMAN Spectroscopy in Pharmaceutical Field. **Current Pharmaceutical Analysis**, v. 6, n. 2, p. 131–141, 2010.

PATEL, G. V.; PATEL, V. B.; PATHAK, A.; RAJPUT, S. J. Nanosuspension of efavirenz for improved oral bioavailability: formulation optimization, in vitro, in situ and in vivo evaluation. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 40, n. 1, p. 80–91, Jan. 2014.
PAWAR, A; CHOUDHARI, P. Novel techniques for solubility, dissolution rate and bioavailability enhancement of class II and IV drugs. **Asian Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 2, n. 13, p. 9–14, 2012.

PINTO, E. C.; CABRAL, L. M.; SOUSA, V. P. D. Development of a discriminative intrinsic dissolution method for efavirenz. **Dissolution Technologies**, p. 31–40, 2014.

PORKHARKAR, B.B.; MANDPE, L. P.; PADAMWAR, M. N.; AMBIKE, A. A.; MAHADAKI, K.R.; PARADKAR, A. Development, characterization and stabilization of amorphous formo f a low Tg drug. **Powder Technology**. v. 167, p. 20-25, 2006.

PUNČOCHOVÁ, K.; HENG, J. Y. Y.; BERÁNEK, J.; STEPÁNEK, F. Investigation of drug–polymer interaction in solid dispersions by vapour sorption methods. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 469, n. 1, p. 159–167, 2014.

QIAN, F.; TAO, J., DESIKAN, S.; HUSSAIN, M.; SMITH, R. L. Mechanistic investigation of Pluronic based nano-crystalline drug-polymer solid dispersions. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 8, p. 1551–60, 2007.

QIAN, F.; HUANG, J.; ZHU, Q.; HADDADIN, R.; GAWEL, J.; GARMISE, R.; HUSSAIN, M. Is a distinctive single Tg a reliable indicator for the homogeneity of amorphous solid dispersion? **International Journal of Pharmaceutics**, v. 395, n. 1-2, p. 232–235, 2010.

QIAN, F.; WANG, J.; HARTLEY, R.; TAO, J.; HADDADIN, R.; MATHIAS, N.; HUSSAIN. Solution behavior of PVP-VA and HPMC-AS-Based amorphous solid dispersions and their bioavailability implications. **Pharmaceutical Research**, v. 29, n. 10, p. 2766–2776, 2012.

QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G.G.Z.; LIU, L.; PORTER, W. **Developing solid oral dosage forms: Pharmaceutical Theory and Pratices**. 1. ed. New York: Elsevier, 2009.

RADESCA, L.; 203 Cheltenham Road, Newark, DE 19711(US); MAURIN, M.B.; 28 Country Gates Road, Wilmington, DE 19810 (US); RABEL, S.R.; 431 Buttonwood Drive, Landenberg, PA 19350 (US); MOORE, J.R.; 39 Flinthill Drive, Newark, DE 19702 (US). **Crystalline Efavirenz.** C07D 265/18, A61K 31/535. PCT/US99/13199. WO 99/64405. 10 jun. 1999. 16 dez. 1999.

RÉ, M. I. Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying. **Drying Technology.** v. 24, n. 4, p. 433-446, 2006.

REINTJES, T. KOLTZENBURG S, KARL M, SCHÖNHERR M, HERTING MG, NGUYEN-KIM V. **Solubility enhancement with BASF Pharma polymers - Solubilizer compendium**. 2011. 128 p.

ROBERTS, M.; EHTEZAZI, T.; COMPERNOLLE, A.; AMIN, K. The effect of spray drying on the compaction properties of hypromellose acetate succinate. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 37, n. 3, p. 268–273, 2011.

ROSA, T. C. C. **Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos.** 2005. 81f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, Rio de Janeiro, 2005.

SARODE, A. L.; SANDHUB, H.; SHAHB, N.; MALICK, W.; ZIA, H. Hot melt extrusion (HME) for amorphous solid dispersions: Predictive tools for processing and impact of drug-polymer interactions on supersaturation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 3, p. 371–384, 2013.

SATHIGARI, S. K.; RADHAKRISHNAN, V. K.; DAVIS, V. A.; PARSONS, D. L.; BABU, R. J. Amorphous-state Characterization of Efavirenz-Polymer Hot-Mel0Extrusion Systems for Dissolution Enhancement. **Pharmaceutical Technology**, v. 101, n. 9, p. 3456–3464, 2012.

SCHELER, S. Micro- and Nanosizing of Poorly Solubles Drugs bu Grinding Techniques. In: DOUROUMIS, D.; FAHR, A. **Drug Delivery Strategies for Poorly Water-Soluble Drugs.** 1. ed. Reino Unido. John Wiley & Sons Ltd, 2013, cap. 16. 509-550.

SERAJUDDIN, A. T. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs : Early Promises , Subsequent Problems , and Recent Breakthroughs. J**ournal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 10, p. 1058–1066, 1999.

SHAH, S.; MADDINENI, S.; LU, J.; REPKA, M. A. Melt extrusion with poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, 2013.

SHAH B, KAKUMANU VK, BANSAL AK. 2006. Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phases in pharmaceutical solids. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 95, n. 8, p. 1641–1665, 2006

SHAH, N.; SANDHU, H.; CHOI, D.S.; CHOKSHI, H.; MALICK, A.W. Amorphous Solid Dispersions - Theory and Practice. New York : Springer, 2014.

SHAMMA, R. N.; BASHA, M. Soluplus®: A novel polymeric solubilizer for optimization of Carvedilol solid dispersions: Formulation design and effect of method of preparation. **Powder Technology**, v. 237, p. 406–414, 2013.

SHARMA, A.; JAIN, C.P.; TANWAR, Y.S. Preparation and Characterization of Solid Dispersions of Carvedilol With Poloxamer 188. **Journal of the Chilean Chemical Society,** v. 58, n. 1, p. 1553-57, 2013.

SIKARRA, D.; SHUKLA, V.; KHARIA, A. A. Review - Técnicas de aumento da solubilidade **Journal of Medical Pharmaceutical and Allied Sciences**, v. 1, p. 1–22, 2012.

SILVA, M. S.; COCENZA, D. S.; MELO, N. F., S.; GRILLO, R.; ROSA, A. H.; FRACETO, L. F. Nanopartículas de Alginato como Sistema de Liberação para o Herbicida Clomazone.

Química Nova, v. 33, n. 9, p. 1868–1873, 2010.

SINHA, S.; ALI, M.; BABOOTA, S.; AHUJA, A.; KUMAR, A.; ALI, J. Solid dispersion as an approach for bioavailability enhancement of poorly water-soluble drug ritonavir. **AAPS PharmSciTech** [Internet]. v. 11, n. 2, p. 518-27, 2010.

SINGHVI, G.; SINGH, M. Review: in vitro drug release characterization models. **International Journal of Pharmaceutical Studies and Research,** v. II, n. I, p. 77–84, 2011.

SONG, Y.; WANG, L.; YANG, P.; WENSLOW JR, R. M.; TAN, B.; ZHANG, H.; DENG, Z. Physicochemical Characterization of Felodipine-Kollidon VA64 Amorphous Solid Dispersions Prepared by Hot-Melt Extrusion. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 102, n. 6, p. 1915–1923, 2013.

SONG, Y.; YANG, X.; CHEN, X.; NIE, H.; BYRN, S.; LUBACH, J.W. Investigation of Drug-Excipient Interactions in Lapatinib Amorphous Solid Dispersions Using Solid-State NMR Spectroscopy. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 3, p. 857–866, 2015.

SRINARONG, P. **Improved Dissolution Behavior of Lipophilic Drugs by Solid Dispersions A Matter of Composition**. Holanda, 2011. 150p.Tese de Doutorado. Faculdade de Matemática e Ciências Naturais. Universidade de Groningen.

STEFANIS, E.; PANAYIOTOU, C. Prediction of Hansen solubility parameters with a new group-contribution method. **International Journal of Thermophysics**, v. 29, n. 2, p. 568–585, 2008.

STEINER, T; The Hydrogen Bond in the Solid State - REVIEWS. **Angewandte Chemie International Edition**. v. 41, n. 1, p. 48-76, 2002.
STORPIRTIS,S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmarmacotécnica.** 1.ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan S.A., 2009, cap 18, p.187-203.

TAJAROBI, F.; LARSSON, A.; MATIC, H.; ABRAHMSÉN-ALAMI, S. The influence of crystallization inhibition of HPMC and HPMCAS on model substance dissolution and release in swellable matrix tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 78, n. 1, p. 125–133, 2011.

TANIDA, S.; KUROKAWA, T.; SATO, H.; KADOTA, K.; TOZUKA, Y. Evaluation of the Micellization Mechanism of an Amphipathic Graft Copolymer with Enhanced Solubility of Ipriflavone. **Chemical Pharmaceutical Bulletin.** v. 64, n. 1, p. 68-72, 2016.

TANNO, F.; NISHIYAMA, Y.; KOKUBO, H.; OBARA, S. Evaluation of hypromellose acetate succinate (HPMCAS) as a carrier in solid dispersions. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 30, n. 1, p. 9–17, 2004.

TEJA, S.B.; PATIL, S.P.; SHETE, G; PATEL, S.; BANSAL, A. K. Drug-excipient behavior in polymeric amorphous solid dispersions. **Journal of Excipients and Food Chemicals,** v. 4, n. 3, p. 70–94, 2013.

THAKRAL, N. K.; RAY, A. R.; BAR-SHALOM, D.; ERIKSSON, A. H.; MAJUMDAR, D. K. Soluplus-Solubilized Citrated Camptothecin - A Potential Drug Delivery Strategy in Colon

Cancer. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 1, p. 59–66, 2012.

THORSTEN, C. **Soluplus® - application guide. Symposium BASF**, 2013.
TIAN, B.; ZHANG, L.; PAN, Z.; GOU, J.; ZHANG, Y.; TANG, X. A comparison of the effect of temperature and moisture on the solid dispersions : Aging and crystallization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 475, n. 1-2, p. 385–392, 2014.

TING, J. M. et al. Deconstructing HPMCAS: Excipient Design to Tailor Polymer–Drug Interactions for Oral Drug Delivery. **ACS Biomaterials Science & Engineering**, v. 1, n. 10, p. 978–990, 2015.

TOMINAGA, K. **Effect of Manufacturing Methods Used in the Stability of Amorphous Solid Solutions and Predictions to Test them**. Estados Unidos das Américas, 2013. [Tese de Doutorado]. Ciências Biomédicas e Farmacêuticas. Universidade de Rhode Island, 2013.

TORRADO, S.; TORRADO, S.; TORRADO, J. J.; CADÓRNIGA, R. Preparation, dissolution and characterization of albendazole solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 140, n. 2, p. 247–250, 1996.

TRES, F.; TREACHER, K.; BOOTH, J.; HUGHES L. P.; WREN, S. A. C.; AYLOTT. J. A.; BURLEY, J. C. Real time RAMAN imaging to understand dissolution performance of amorphous solid dispersions. **Journal of Controlled Release**, v. 188, n. 2014, p. 53–60, 2014.

TSINMAN, O.; TSINMAN, K.; ALI, S. Soluplus®: An Understanding of Supersaturation From Amorphous Solid Dispersions. **Drug Development & Delivery**. Jan/Fev, 2015. Disponível em: http:// http://www.drug-dev.com/Main/Back-Issues/EXCIPIENT-UPDATE-Soluplus-An-Understanding-of-Supe-824.aspx. Acesso em: 10/04/2016.

UCHIYAMA, H.; TOZUKA, Y.; IMONO, M.; TAKEUCHI, H.; Improvement of dissolution and absorption properties of poorly water-soluble drug by preparing spray-dried powders with a-glucosyl hesperidin. **International Journal Pharmaceutical.** v. 15, n. 392, p.101–106. 2010.

The United States Pharmacopeia e National Formulary USP 35–NF 30; **The United States Pharmacopeial Convention**, Inc.: Rockville, MD, 2012.

VAN DEN MOOTER, G. The use of amorphous solid dispersions: A formulation strategy to overcome poor solubility and dissolution rate. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 9, n. 2, p. 79–85, 2012.

VAN KREVELEN DW, NIJENHUIS K. **Properties of Polymers:** Their Correlation With Chemical Structures, Their Numerical Estimations and Prediction From Additive Group Contribution Method. Cap. 7. 4th ed. Amsterdam: Elsevier; 2009

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 23-24, p. 1068–1075, 2007.

VEHRING, R. Pharmaceutical particle engineering via spray drying. **Pharmaceutical**

Research, v. 25, n. 5, p. 999–1022, 2008.

VIÇOSA, A. **Estudo Da Utilização De Incrementadores De Dissolução Para Compressão Direta : Enfoque No Desenvolvimento De Medicamentos** Disseratação de Mestrado. Rio de Janeiro, 2013. 189p. Universidade Federal do Rio de Janeiro

VIEIRA, A. C. C.; FERREIRA FONTES, D. A.; CHAVES, L. L.; ALVES, L. D. S.; DE FREITAS NETO, J. L.; DE LA ROCA SOARES, M. F.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. Multicomponent systems with cyclodextrins and hydrophilic polymers for the delivery of Efavirenz. **Carbohydrate Polymers,** v. 130, p. 133–140, 2015.

VO, C. L. N.; PARK, C.; LEE, B.-J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 85, n. , p. 799–813, 2013.

WANG, F. J.; WANG, C.H. Sustained release of etanidazole from spray dried microspheres prepared by non-halogenated solvents. **Journal of Controlled Release**, v. 81, n. 3, p. 263–280, 2002.

WEGIEL, L. A.; MAUER, L. J.; EDGAR, K. J.; TAYLOR, L. S. Mid-infrared spectroscopy as a polymer selection tool for formulating amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 66, n. 2, p. 244–255, 2014.

WENDEL, S; ÇELIK, M. An overview of spray-drying applications. **Pharmaceutical Technology**, v. 21, p.124–156, 1997.

WEUTS, I.; KEMPEN, D.;DECORTE, A.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.; VAN DEN MOOTER, G. Phase behaviour analysis of solid dispersions of loperamide and two structurally related compounds with the polymers PVP-K30 and PVP-VA64. **European journal of pharmaceutical sciences**, v. 22, n. 5, p. 375–85, 2004.

WYTTENBACH, N.; JANAS, C.; SIAM, M.; LAUER, M. E.; JACOB, L.; SCHEUBEL E.; PAGE, S. Miniaturized screening of polymers for amorphous drug stabilization (SPADS): Rapid assessment of solid dispersion systems. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, n. 3, p. 583–598, 2013.

YANG, J., GREY, K., DONEY, J. An improved kinetics approach to describe the physical stability of amorphous solid dispersions**. International Journal of Pharmaceutics,** v. 384, n. 1–2, p. 24–31, 2010.

YANG, B.; WU, C.; KI, B.; AI, X.; KUANG, X.; WU, M.; SUN, M.; LUO, C.; HE, Z.; SUN, J. The biorelevant concentration of Tween 80 solution is a simple alternative medium to simulated fasted state intestinal fluid. **RSC Adv.**, v. 5, n. 127, p. 104846–104853, 2015.

YU, M.; OCANDO, J.E.; TROMBETTA, L.; CHATTERJEE, P. Molecular interaction studies of amorphous solid dispersions of the antimelanoma agent betulinic Acid. AAPS **PharmSciTech**, v. 16, n.2, p. 384–97, 2014.

ZALLEN, R. The Physics of Amorphous Solids. 1ed. New York: Wiley-VCH, 1983.

ZECEVIC, D. E.; MEIER, R.; DANIELS, R.; WAGNER, K. G. Site specific solubility improvement using solid dispersions of HPMC-AS/HPC SSL - mixtures**. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 87, n. 2, p. 264–270, 2014.

ZHANG, H. X.; WANG, J. X.; ZHANG, Z. B.; LE, Y.; SHEN, Z. G.; CHEN, J. F. Micronization of atorvastatin calcium by antisolvent precipitation process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, n. 1-2, p. 106–113, 2009.

ZHAO, M.; BARKER, S.; BELTON, P. S.; MCGREGOR, C.; CRAIG, D. Q. M. Development of fully amorphous dispersions of a low Tg drug via co-spray drying with hydrophilic polymers. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics,** v. 82, n. 3, p. 572–579, 2012.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação in vitro do EFV das dispersões sólidas obtidas com os polímeros Soluplus®, PVPVA e HPMCAS nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.

Tabela 34 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero Soluplus® nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.

Método modelo dependente	**Parâmetros cinéticos**	**AMOSTRAS**					
		$DS_{SOL}1$		**$DS_{SOL}2$**		**$DS_{SOL}3$**	
		LSS 0,25%	**FeSSIF**	**LSS 0,25%**	**FeSSIF**	**LSS0,25%**	**FeSSIF**
Korsmeyer-Peppas	**R^2**	0,9972	0,9953	0,9981	0,9842	0,9944	0,9803
	RMSE	0,86	3,58	1,04	1,74	2,11	1,40
	AIC	12,92	58,45	12,43	42,62	37,18	37,86
Weibull	**R^2**	0,9981	0,9971	0,9989	0,9874	0,9922	0,9816
	RMSE	1,27	1,66	0,53	1,20	1,85	1,54
	AIC	17,66	28,76	5,69	34,33	43,85	39,90
Baker-Lonsdale	**R^2**	0,9602	0,9064	0,9505	0,9129	0,9413	0,9392
	RMSE	59,98	62,53	62,68	41,59	54,51	25,68
	AIC	63,88	121,36	53,43	112,39	118,34	101,78

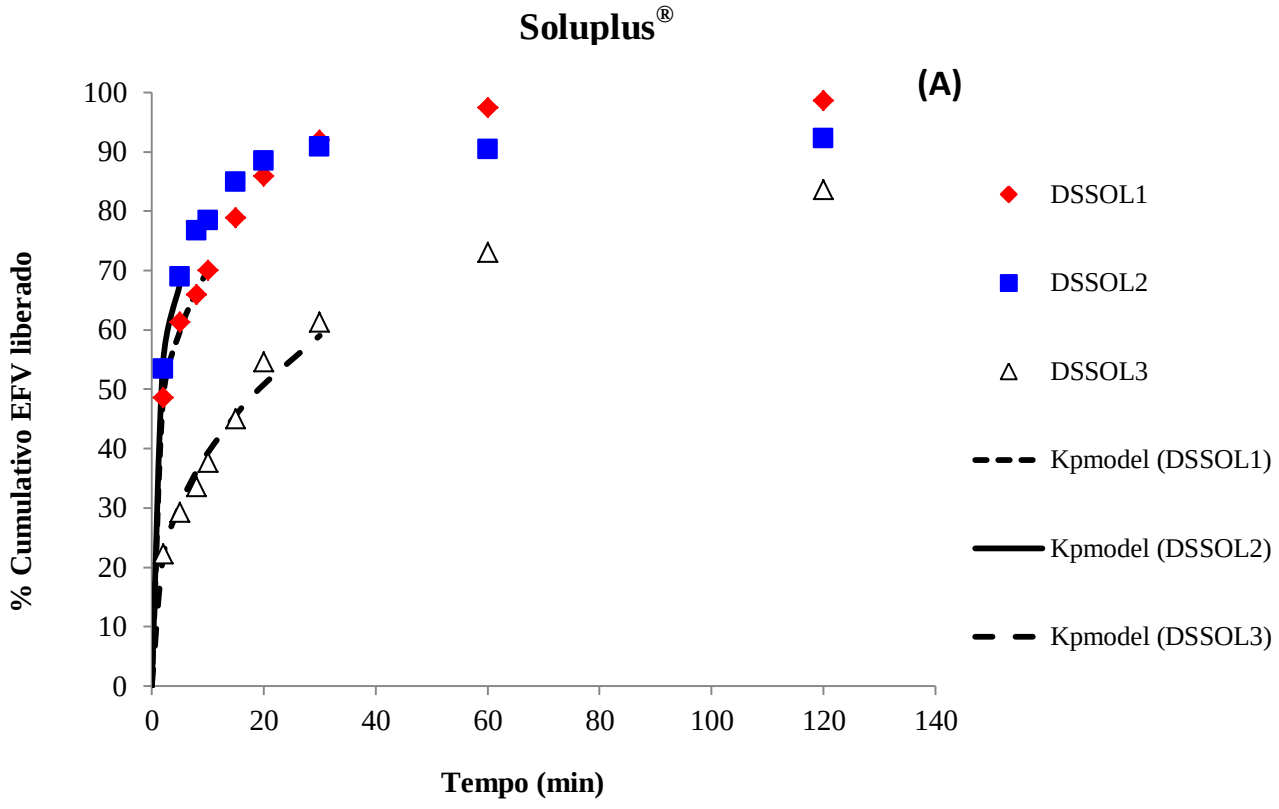
Tabela 35 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero PVPVA nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.

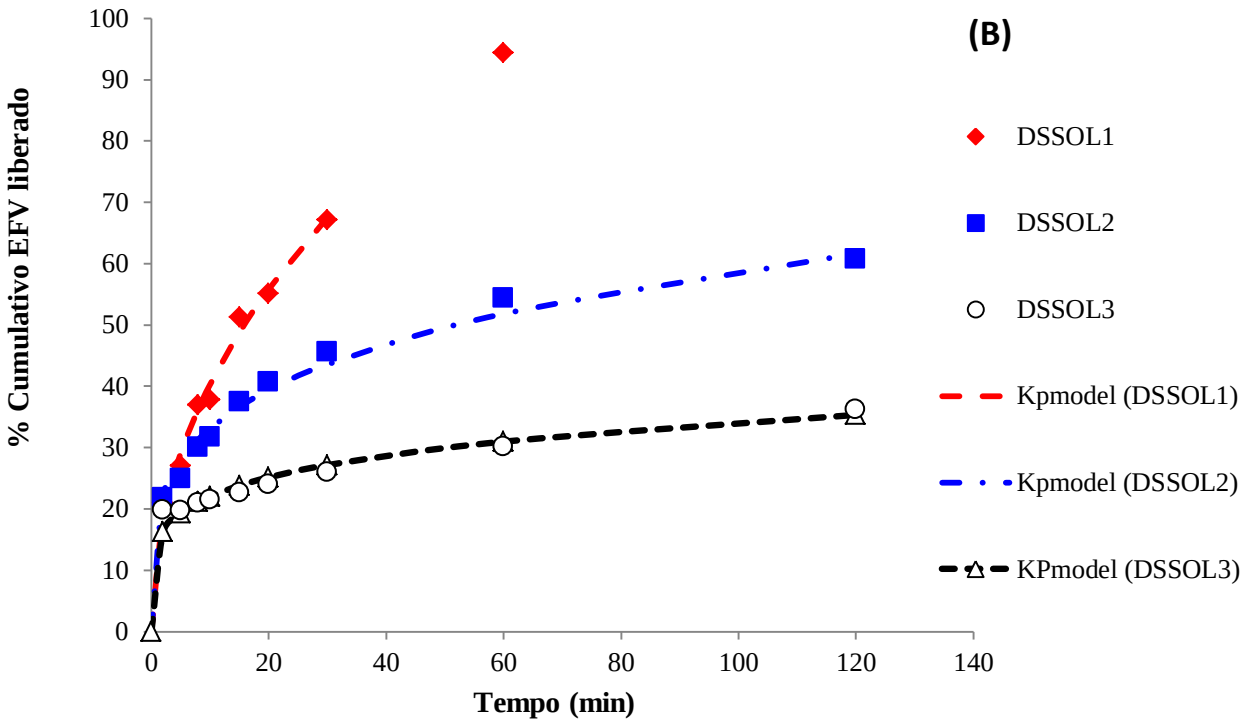
Método modelo dependente	**Parâmetros cinéticos**	**AMOSTRAS**					
		$DS_{PVPVA}1$		**$DS_{PVPVA}2$**		**$DS_{PVPVA}3$**	
		LSS 0,25%	**FeSSIF**	**LSS 0,25%**	**FeSSIF**	**LSS0,25%**	**FeSSIF**
Korsmeyer-Peppas	**R^2**	1,000	0,9991	0,9991	0,9996	0,9982	0,9892
	RMSE	$4,75x10^{-19}$	$2,45x10^{-4}$	2,29	1,82	0,93	0,97
	AIC	-0,0163	-1,69	20,35	21,96	13,93	29,66
Weibull	**R^2**	1,000	0,9995	0,9996	0,9999	0,9991	0,9917
	RMSE	$1,2x10^{-3}$	7,61	5,45	2,06	7,95	15,78
	AIC	-113,60	25,78	29,00	23,39	39,63	91,06
Baker-Lonsdale	**R^2**	1,000	0,9999	0,9470	0,9392	0,9972	0,9959
	RMSE	38,05	47,53	49,50	41,12	52,24	31,16
	AIC	19,94	40,43	51,07	59,35	62,22	106,03

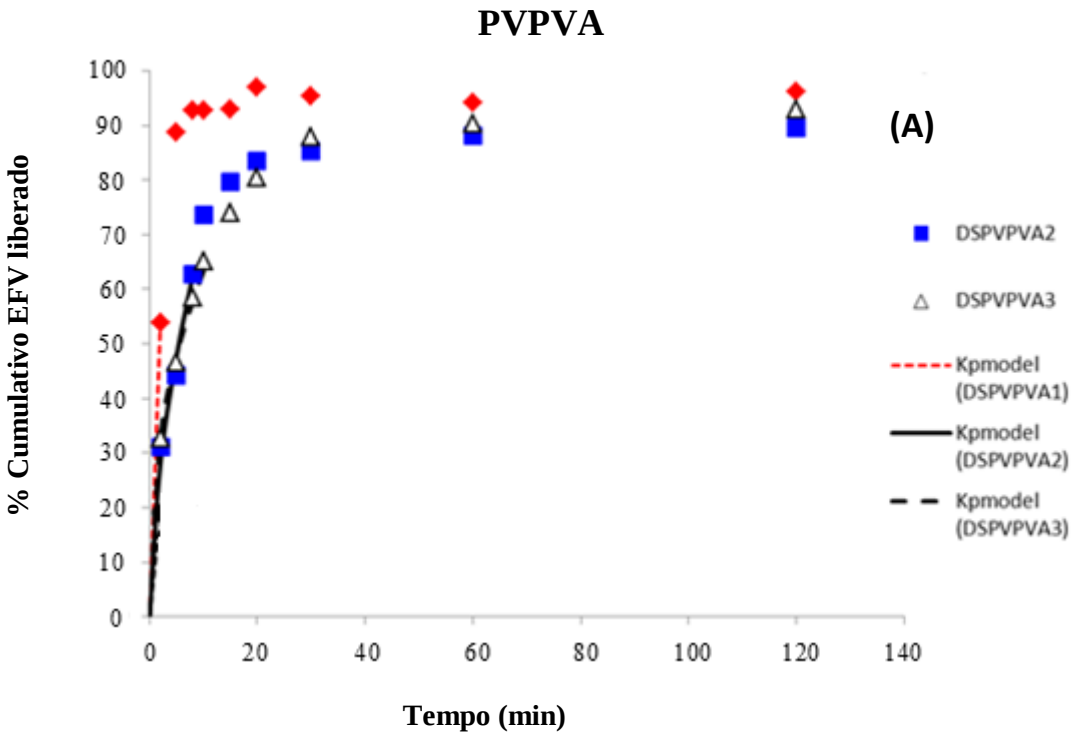
Tabela 36 - Resultados obtidos para os parâmetros de ajustes dos modelos cinéticos a partir dos dados de liberação *in vitro* do EFV das dispersões sólidas obtidas com o polímero HPMCAS nos meios LSS 0,25% e FeSSIF a 37°±0,5°C.

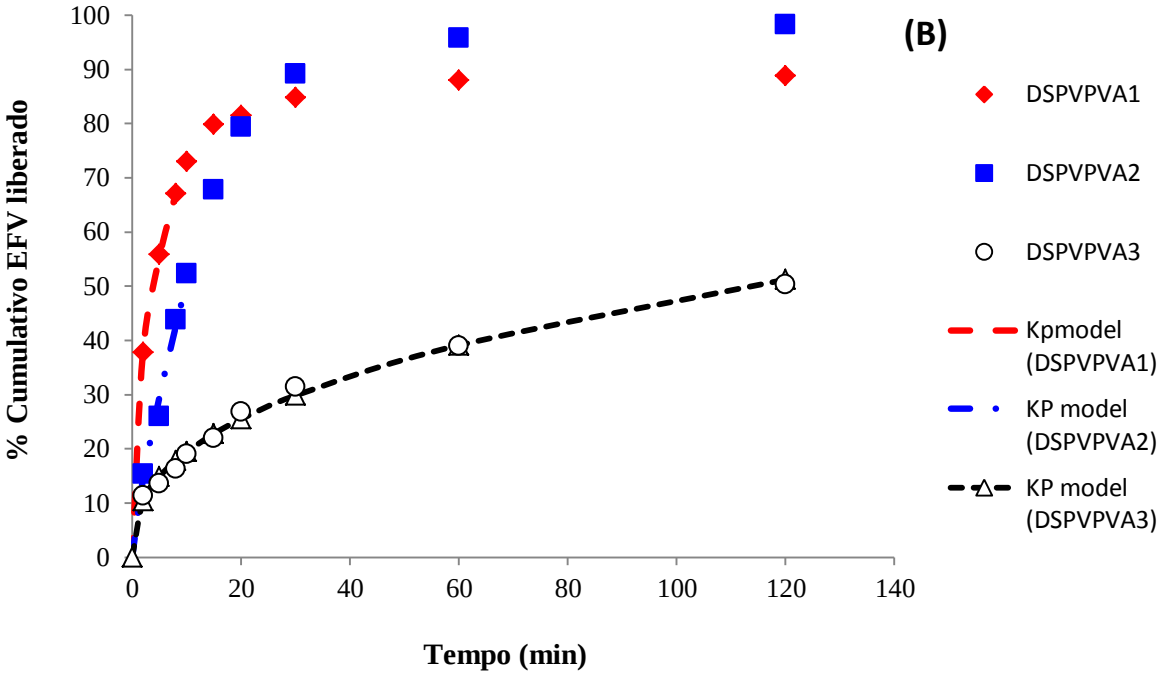
Método modelo dependente	**Parâmetros cinéticos**	**AMOSTRAS**					
		$DS_{HPMCAS}1$		**$DS_{HPMCAS}2$**		**$DS_{HPMCAS}3$**	
		LSS 0,25%	**FeSSIF**	**LSS 0,25%**	**FeSSIF**	**LSS0,25%**	**FeSSIF**
Korsmeyer-Peppas	**R^2**	1,000	0,9829	0,9999	0,9859	0,9912	0,9950
	RMSE	$1,42x10^{-20}$	2,21	$4,26x10^{-10}$	0,72	1,34	0,66
	AIC	-177,40	47,81	-122,16	19,76	32,83	21,26
Weibull	**R^2**	1,000	0,9852	0,9998	0,9882	0,9935	0,9961
	RMSE	$2,00x10^{-14}$	1,85	$7,42x0^{-11}$	0,48	1,26	0,33
	AIC	-120,76	43,94	-132,64	14,23	31,16	6,09
Baker-Lonsdale	**R^2**	1,000	0,8372	0,8948	0,9642	0,9845	0,9991
	RMSE	45,70	37,19	37,54	30,92	36,77	19,71
	AIC	20,67	109,93	29,05	105,87	99,11	95,96

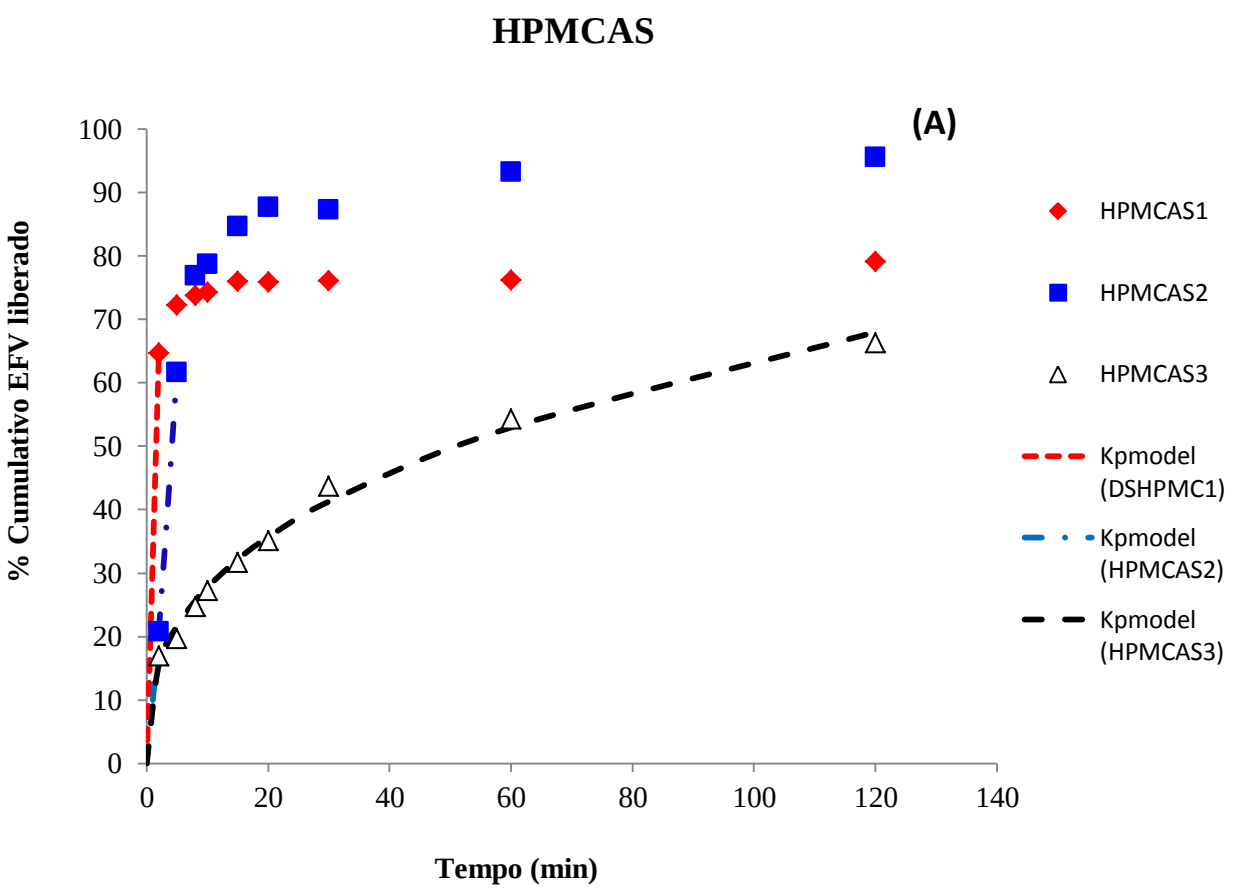
APENDICE B – Perfil de liberação cumulativo *in vitro* do modelo *Korsmeyers-Peppas* para o EFV presente nas DS_{SOL} (Soluplus®), DS_{PVPVA} (PVPVA) e DS_{HPMCAS} (HPMCAS), nos meios (a) LSS 0,25% e (b) FeSSIF.

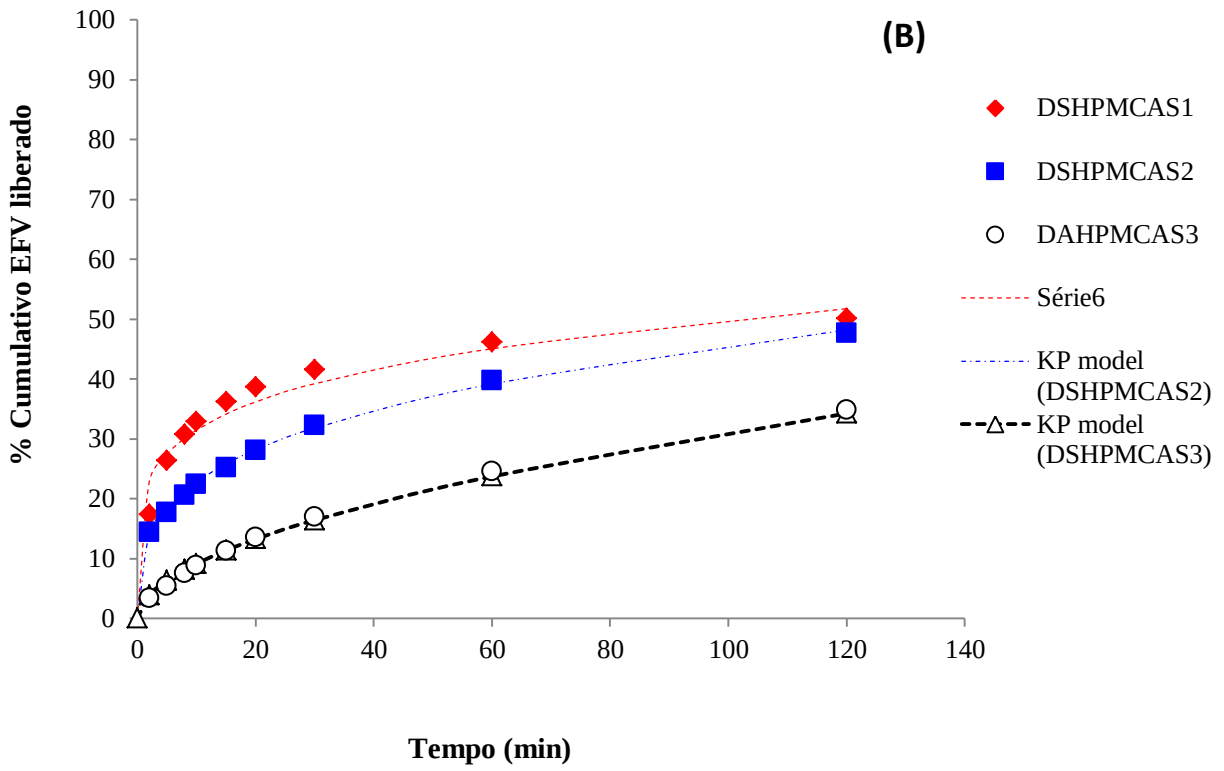





PVPVA
(A)
% Cumulativo EFV liberado
Tempo (min)
DSPVPVA2
DSPVPVA3
Kpmodel (DSPVPVA1)
Kpmodel (DSPVPVA2)
Kpmodel (DSPVPVA3)

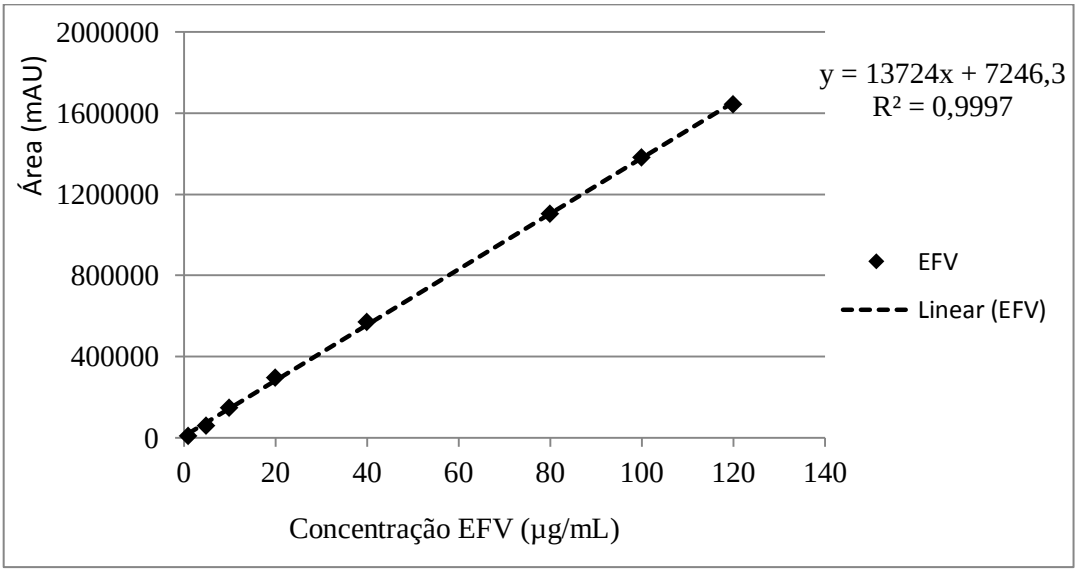

(B)
% Cumulativo EFV liberado
Tempo (min)
DSPVPVA1
DSPVPVA2
DSPVPVA3
Kpmodel (DSPVPVA1)
KP model (DSPVPVA2)
KP model (DSPVPVA3)


HPMCAS
(A)
% Cumulativo EFV liberado
Tempo (min)
HPMCAS1
HPMCAS2
HPMCAS3
Kpmodel (DSHPMC1)
Kpmodel (HPMCAS2)
Kpmodel (HPMCAS3)

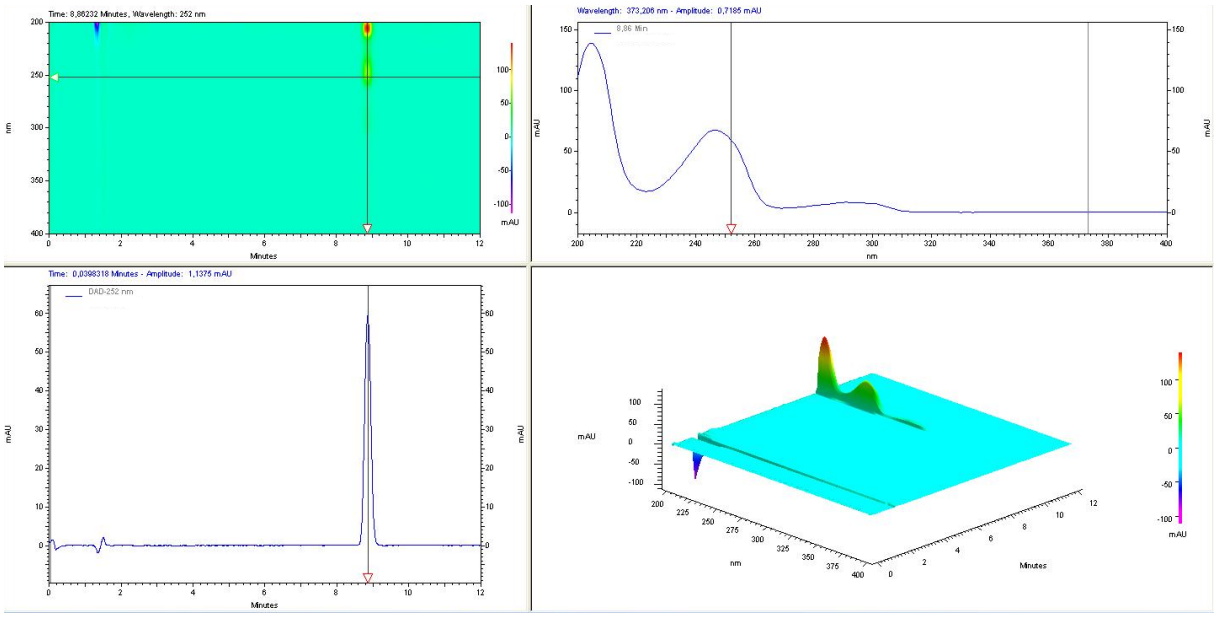

(B)
% Cumulativo EFV liberado
Tempo (min)
DSHPMCAS1
DSHPMCAS2
DAHPMCAS3
Série6
KP model (DSHPMCAS2)
KP model (DSHPMCAS3)

APÊNDICE C – Análise para quantificação do fármaco EFV.

I - Exemplo de curva de calibração utilizada no método para quantificação do fármaco EFV presente nas amostras das dispersões sólidas nos ensaios de teor, solubilidade e cinética de dissolução.



II - Análise por CLAE-DAD do fármaco EFV pelo método de quantificação, com o pico cromatográfico e espectro da molécula em 252nm (2D e 3D).



APÊNDICE D – PUBLICAÇÕES

I – Em periódico com comitê editorial:

Journal: DRUG DEVELOPMENT AND INDUSTRIAL PHARMACY

Volume: 43, 2017 - **Issue 1:** Oral administration

Solubility and dissolution performances of spray-dried solid dispersion of Efavirenz in Soluplus

Zênia Maria Maciel Lavra, Davi Pereira de Santana & Maria Inês Ré

Pages 42-54 | Received 21 Mar 2016, Accepted 19 Jun 2016, Accepted author version posted online: 27 Jun 2016, Published online: 17 Jul 2016

http://dx.doi.org/10.1080/03639045.2016.1205598

Abstract

Efavirenz (EFV), a first-line anti-HIV drug largely used as part of antiretroviral therapies, is practically insoluble in water and belongs to BCS class II (low solubility/high permeability). The aim of this study was to improve the solubility and dissolution performances of EFV by formulating an amorphous solid dispersion of the drug in polyvinyl caprolactam–polyvinyl acetate–polyethylene glycol graft copolymer (Soluplus®) using spray-drying technique. To this purpose, spray-dried dispersions of EFV in Soluplus® at different mass ratios (1:1.25, 1:7, 1:10) were prepared and characterized using particle size measurements, SEM, XRD, DSC, FTIR and Raman microscopy mapping. Solubility and dissolution were determined in different media. Stability was studied at accelerated conditions (40 °C/75% RH) and ambient conditions for 12 months. DSC and XRD analyses confirmed the EFV amorphous state. FTIR spectroscopy analyses revealed possible drug–polymer molecular interaction. Solubility and dissolution rate of EFV was enhanced remarkably in the developed spray-dried solid dispersions, as a function of the polymer concentration. Spray-drying was concluded to be a proper technique to formulate a physically stable dispersion of amorphous EFV in Soluplus®, when protected from moisture.

Keywords: Efavirenz, amorphous, solid dispersion, spray drying, dissolution, drug solubility, stability.

Trabalho apresentado oralmente: *Co-amorphous spray-dried microspheres to improve Efavirenz dissolution behavior.*

Co-amorphous spray-dried microspheres to improve Efavirenz dissolution behavior

LAVRA, Z.M.M.*; SANTANA, D. P. ; RÉ M. I.
*Universidade Federal de Pernambuco - UFPE, Recife, Brazil (zeniamaciel@hotmail.com)

INTRODUCTION AND OBJECTIVE

The aqueous solubility of a drug is a critical determinant of its dissolution rate. The limited dissolution rate arising from low solubility frequently results in the low bioavailability of orally administered drugs. Amorphous solid dispersions are being used with increasing frequency for poorly soluble pharmaceutical compounds in development. Usually, these systems consist of an amorphous active pharmaceutical ingredient (API) stabilized by an amorphous polymer hydrophilic (Padden 2011).

Efavirenz (EFV) is a non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, used for the treatment of the HIV. EFV is a molecule of class II of the biopharmaceutical class system (Amidon 1995) that presents low solubility (4 μgmL^{-1}) (Chiappetta 2010) and high permeability. Soluplus® is a water-soluble copolymer of polyvinyl caprolactam-polyvinyl acetate-polyethylene glycol, with an average molecular weight ranging from 90,000 to 140,000 g/mol that is used for solubilizing poorly water-soluble drugs. The chemical structures of EFV and Soluplus® are shown in Fig. 1.

The objective of this study was to generate and stabilize the amorphous form of EFV by producing co-amorphous EFV-Soluplus® spray-dried microspheres with increased drug dissolution profile in comparison to the EFV crystalline form.

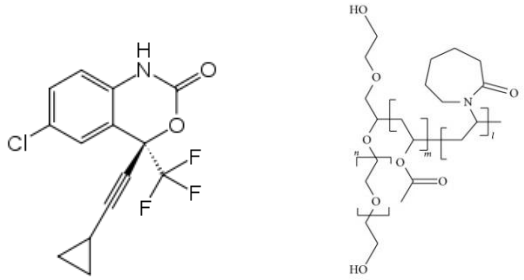


Figure 1. Chemical structures of : (a) Efavirenz and (b) Soluplus®.

MATERIALS AND METHODS

EFV was obtained from Cristalia S.A (Itapira, Brazil). Soluplus® was obtained from BASF (France). Ethanol was used as the solvent for EFV and Soluplus®.

Binary mixtures of EFV and Soluplus® were prepared with EFV at various compositions (10%, 17% and 45% of the total weight) to make a solution of 10% (w/w) total solids in the ethanol solution. Spray drying was performed using a Buchi mini spray dryer B-290 (Büchi, Switzerland) with an inert loop B-295 to capture the solvent. The solution feed rate was tipically 5mL/min and was delivered through a 0.7 mm two-fluid nozzle. Heated nitrogen gas was used as the drying/carrying gas with a gas flow rate of 600L/h. The inlet temperature was set to 75 ± 1°C and the outlet temperature was kept at 52 ± 1°C, lower than the Tg of Soluplus® (70°C). The spray-dried material was passed through a high-performance cyclone and collected in a collection vessel.

Analytical techniques were used to characterize the co-amorphous spray-dried microspheres. Scanning electron microscopy (SEM) was used to observe particle morphology. The solid state was investigated by using powder X-ray diffraction (XRD), Fourrier transformer Infrared (FT-IR) and modulated differential scanning calorimetry (mDSC). Their dissolution behavior was studied using standard dissolution apparatus and an aqueous medium containing 0.5% w/w sodium lauril sulfate. EFV was quantified in the dissolution medium by HPLC using a C18 column with a mobile phase of ammonium acetate and acetonitrile (50:50).

RESULTS AND DISCUSSION

The apparent drug-polymer miscibility was determined by observing the glass transition behavior of the spray-dried binary mixtures. Table 1 shows the effect of EFV content on the Tg of the spray-dried powders investigated by mDSC, compared to the theoretical predictions of the Gordon-Taylor equation (assuming no interaction between components of the mixture).

Table 1. Glass transition temperature (Tg) of the pure drug, polymer and spray-dried binary mixtures (first heating mDSC cycle).

Code	EFV (% w/w)	$Tg_{mixture}$ (°C)		ΔTg
		Experimental	Gordon-Taylor	
EFV	100	36.1	-	-
Soluplus®	0	78.8	-	-
SD-1	10	62.3	75.3	-13.0
SD-2	17	56.9	72.8	-15.9
SD-3	45	58.1	61.8	-3.7

The presence of a single Tg in all co-amorphous microspheres (SD-1, SD-2 and SD-3) is an indicator of phase mixing and miscibility (Brostow 2008),

though not infallible. The negative deviation from the Gordon-Taylor equation suggests some type of interaction in the system. In fact, this result was corroborated by FT-IR studies, which showed some evidence of intermolecular interactions between EFV and Soluplus® (data not shown).

The XRD analysis also indicated that, after solvent evaporation by spray drying, the drug was converted in the amorphous form. This result was confirmed by detecting halo pattern in diffractograms of all spray-dried binary mixtures (Fig. 2).

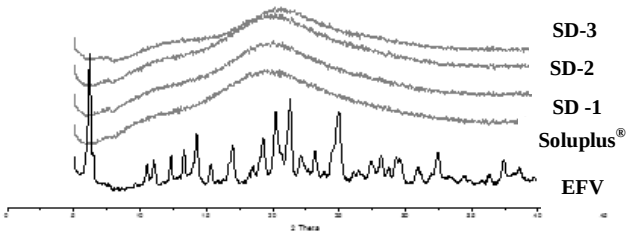


Figure 2. X-ray diffractograms of pure EFV, Soluplus and spray-dried binary mixtures.

SEM images of spray-dried binary mixtures shown in Fig. 3 (Fig. 3c, 3d, 3e) revealed both a structure that was morphologically different as well as smaller spherical particles compared to the pure drug (Fig. 3a). The morphology was dependent of the EFV content in the samples, becoming more spherical with increased EFV content.

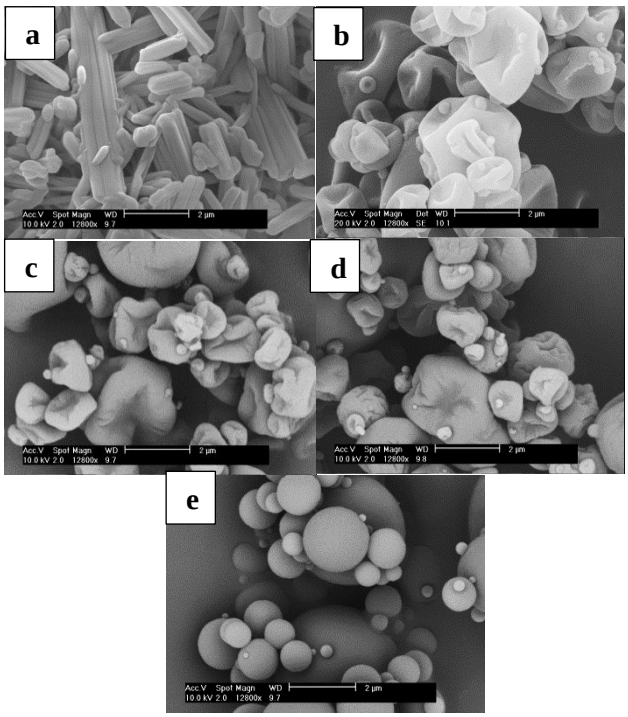


Figure 3. SEM images of (a) EFV pure, (b) spray-dried Soluplus® and spray-dried binary mixtures containing different drug concentrations : (c) 10% w/w, (d) 17% w/w, (e) 45% w/w.

Dissolution studies were carried out to investigate the dissolution advantage of the co-amorphous spray-dried microspheres. Figure 4 shows the amount of EFV dissolved as a function of time from the co-amorphous spray-dried microspheres of EFV and Soluplus®. It is evident that the rate of dissolution of pure EFV is very low, less than 50% of the drug being dissolved within 120 min in an aqueous medium containing 0.5% w/w sodium lauril sulfate. However, there is no evidence of the effect of the studied range of polymer concentration in the co-amorphous microspheres dissolution kinetics.

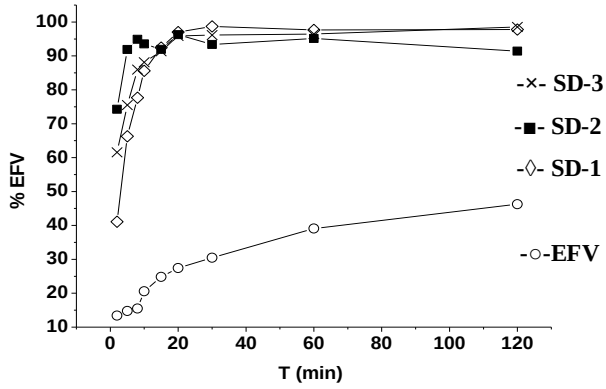


Figure 4. Dissolution profiles of EFV and spray-dried binary mixtures in 0,5% sodium lauryl sulfate medium

CONCLUSIONS

The preparation of EFV-Soluplus® co-amorphous microspheres by spray-drying seems to be an effective way to enhance EFV dissolution rate compared to the crystalline drug, regardless of the drug concentration in the studied range (from 10 to 45%w/w of the total weight of the spray-dried solids).

Stability studies are on-going with the co-amorphous microspheres prepared in the study, under accelerated and stress conditions at 40° C and 75% RH.

REFERENCES

Amidon G. L. et al. (1995) *A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability.* Pharm. Research. 12(3)413-20.

Chiappetta D.A. et al. (2010) *Efavirenz-loaded polymeric micelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability.* Nanomedicine. 5(1)11–23.

Padden, B.E. et al. (2011) *Amorphous Solid Dispersions as Enabling Formulation for Discovery and Early Development.* American Pharm. Review (1) 66-7.

Brostow, W. et al. (2008) *Prediction of glass transition temperatures: Binary blends and copolymers*. Materials Letters. 62(17-18) 3152-55.

ACKNOWLEDGMENTS

To CNPq (Brazil) for financial support, Rapsodee Centre and the French Gala® technological platform (France) for technical support and Cristalia (Brazil) for providing the drug (EFV).

ANEXOS

ANEXO A - Valores de contribuição de grupos para cálculo dos parâmetros de solubilidade.

GRUPO FUNCIONAL	F_{di} $(MJ.m^3)^{1/2}.mol^{-1}$	F_{pi} $(MJ.m^3)^{1/2}.mol^{-1}$	E_{hi} $(J.mol^{-1})$
$-CH_3$	420	0	0
$-CH_2-$	270	0	0
>CH-	80	0	0
>C<	-70	0	0
$=CH_2$	400	0	0
=CH-	200	0	0
=C<	70	0	0
C_6H_{11}	1620	0	0
C_6H_5	1430	110	0
C_6H_4 (orto/meta/para)	1270	110	0
-F	220	-	-
-Cl	450	550	400
-Br	550	-	-
-CN	430	1100	2500
-OH	210	500	20000
-O-	100	400	3000
-COH	470	800	4500
-CO-	290	770	2000
-COOH	530	420	10000
-COO-	390	490	7000
HCOO-	530	-	-
$-NH_2$	280	-	8400
-NH-	160	210	3100
>N-	20	800	5000
$-NO_2$	500	1070	1500
-S-	440	-	-
$=PO_4$	740	1890	13000
Presença de Anel	190	-	-
Um plano de simetria	NA	x 0,5	-
Dois planos de simetria	NA	x 0,25	-
Mais de dois planos de simetria	NA	x 0	x 0

Fonte : Adaptado de Van Krevelen, & Nijenhuis, 2009.

Résumé FR

Amélioration de la solubilité et de la cinétique de dissolution de l'Efavirenz par des mélanges binaires amorphes Efavirenz-polymère.

L'amélioration de la solubilité des principes actifs peu solubles est devenue l'un des principaux challenges de l'industrie pharmaceutique. Bien que présentant une structure chimique potentiellement idéale pour interagir avec la cible, elles échouent dans l'efficacité in vivo : après administration, elles ne peuvent se dissoudre dans les milieux aqueux biologiques et par conséquent ne peuvent être transportées sur leur site d'action pour atteindre la concentration efficace, amenant à un échec thérapeutique. De nombreuses stratégies très intéressantes ont été proposées pour surmonter ce sérieux obstacle. Les dispersions solides sont étudiées depuis plus de 40 ans et ont conduit à de très nombreuses publications mais jusqu'à aujourd'hui peu de produits ont été commercialisés principalement pour des raisons de stabilité physico-chimique. Celles-ci ont pour but de présenter le principe actif sous sa forme amorphe car cette forme solide présente un état d'énergie plus élevé et par conséquent une solubilisation facilitée. Par ailleurs, le système doit rester stable durant le stockage, ainsi la recristallisation ou tout autre changement entraînant une modification du profil de libération doivent être évités. Différentes techniques de production peuvent être utilisées pour préparer les dispersions solides comme l'extrusion à chaud ou l'atomisation-séchage. Le principal objectif de ce travail a été d'améliorer la solubilité de l'Efavirenz (EFV), un principe actif peu soluble dans l'eau, par sa dispersion dans une matrice polymère en utilisant la technique d'atomisation-séchage. Différents polymères ont été utilisés : Soluplus®, PVPVA64 et HPMCAS. Des mélanges binaires EFV-polymère (Soluplus®, PVPVA64 et HPMCAS) ont été générées et caractérisées. Les techniques de caractérisation utilisées ont été la calorimétrique différentielle modulée, la diffraction des rayons X, l'analyse Raman et la spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier et l' analyse de sorption de vapeur pour la caractérisation physicochimique de l'état solide des mélanges binaires. L'étude de caractérisation a été complétée par une étude de solubilité et de dissolution dans différents milieux aqueux ainsi que de stabilité dans différentes conditions de estresse de température et humidité relative. Les résultats ont mis en évidence la formation de dispersions solides amorphes avec les trois polymères utilisés. Les différents profils de libération obtenus à partir des mélanges binaires générées dans ce travail montrent l'influence du type de polymère, de la concentration du principe actif dans les dispersions solides et de la composition du milieu de dissolution sur la fonctionnalité des produits (solubilité, dissolution).

Mot-Clés : Solubilité. Biodisponibilité. Molécule pharmaceutique. Dispersion solide. Atomisation-séchage. Amorphe.

Résumé EN

Improving the solubility and dissolution kinetics of the Efavirenz drug through formation of amorphous binary mixtures with polymeric matrixes

Poor aqueous solubility has become a property of numerous new drug candidates causing major concern. Despite a potentially ideal chemical structure allowing for interaction with the target, these substances fail to be effective in vivo: upon administration, they cannot dissolve sufficiently in the aqueous fluids of the body and, thus, cannot be transported to their site of action to reach therapeutically effective concentrations. Various interesting strategies have been proposed to overcome this crucial hurdle. Solid dispersions have been studied for more than 40 years and lead to numerous interesting research articles. However, today, only a few products have reached the market principally due to problems with the physico-chemical stability. The idea is to transform the crystalline raw material into a physical state having a greater energy in order to increase the driving force for drug dissolution. At the same time, the system should be stable during long term storage, thus, re-crystallization or other system changes, resulting in altered drug release rates, must be avoided. Different manufacturing techniques can be used to prepare such polymeric systems, including hot-melt extrusion and spray-drying. The main objective of this work has been to improve Efavirenz (EFV) solubility by forming solid dispersions using the spray-drying technique. In this study EFV has been incorporated into hydrophilic polymeric matrices Soluplus®, PVPVA64 and HPMCAS to increase its aqueous solubility. Binary mixtures EFV-Soluplus®, EFV-PVPVA64 and EFV-HPMCAS) were produced and characterized using SEM, X-ray diffraction, DSC, RAMAN, Infrared spectroscopy and water vapor sorption. This physicochemical characterization was completed by solubility and in vitro dissolution studies at different stress conditions (temperature, RH). The results obtained confirmed the formation of amorphous solid dispersions for all studied drug-polymer combinations. The different kinetic profiles obtained from the various solid dispersions generated in this work showed the influence of the type and polymer and drug-polymer binary mixture composition and in vitro dissolution medium on the functionality of spray-dried solid dispersions produced in this work (solubility and dissolution kinetics).

Keywords : Solubility. Bioavailability. Drug. Solid dispersion. Spray-drying. Amorphous.