



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

AMANDA CARLA QUINTAS DE MEDEIROS VIEIRA

**INCREMENTO DA SOLUBILIDADE AQUOSA DE UM NOVO DERIVADO
TIAZOLIDÍNICO (LPSF/GQ-130) PARA TERAPIAS ANTI-INFLAMATÓRIAS
UTILIZANDO A TÉCNICA DE DISPERSÕES SÓLIDAS**

Recife

2013

AM2ANDA CARLA QUINTAS DE MEDEIROS VIEIRA

**INCREMENTO DA SOLUBILIDADE AQUOSA DE UM NOVO DERIVADO
TIAZOLIDÍNICO (LPSF/GQ-130) PARA TERAPIAS ANTI-INFLAMATÓRIAS
UTILIZANDO A TÉCNICA DE DISPERSÕES SÓLIDAS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Recife

2013

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Vieira, Amanda Carla Quintas de Medeiros

Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas/ Amanda Carla Quintas de Medeiros Vieira– Recife: O Autor, 2013.

161 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Inovação Terapêutica, 2013.

Inclui bibliografia e anexos

- 1. Tiazóis 2. Inflamação I. Rolim Neto, Pedro José (orientador) II. Título**

547.594

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2013- 197



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Recife, 25 de fevereiro de 2013.

Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 25 de fevereiro de 2013, cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof Dr Pedro José Rolim Neto
(Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof^a Dr^a Maria Bernadete de Sousa Maia
(Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof^a Dr^a Geisiane Maria Alves Presmich
(Programa Pós-Graduação em Produtos Naturais da Universidade Federal da Paraíba)

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Souza Ramos

DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^ª. Dr^ª. Ângela Maria Isidro Farias

VICE-DIRETORA DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^ª. Dr^ª. Silvia Regina Arruda de Moraes

**COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA**

Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA**

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

À amável Prof^a. Suely Lins Galdino (*in memoriam*),
com amor e eternas saudades.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a **Deus**, inteligência suprema e causa primária de todas as coisas, por ter me dado o direito à vida;

Continuando, agradeço:

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto**, que me forneceu subsídios para realização deste trabalho através de apoio técnico-científico, amizade, confiança e demonstrações públicas de uma personalidade guerreira e otimista;

À minha família, **Antônio José de Medeiros Vieira** (pai), **Jaciara Maria Quintas de Medeiros Vieira** (mãe), **Caio César Quintas de Medeiros Vieira** (irmão) e **Bárbara de Araújo Batista** (cunhada), por todo o carinho, amor, apoio moral e financeiro;

À **Leandro Medeiros**, pela dedicação, serenidade, companheirismo e amor;

Aos mais novos integrantes da minha vida, **Laura Quintas** e **Miguel Fortes**, os sobrinhos mais maravilhosos que Deus pode me conceber;

Ao meu **cachorrinho**, pelo amor primário e puro, além dos momentos de alegria e descontração;

À **Cybelly Marques de Melo** e **André Luis Nascimento**, pelo apoio imensurável durante todo o período da execução deste trabalho. Sem vocês eu não teria conseguido...!

Ao **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM)** pela oportunidade de realizar este trabalho e a **todos os seus integrantes**, com destaque para **Larissa Rolim**, **Lariza Alves**, **Keyla Emmanuely**, **Ricardo Tadeu** e **Caio Cezar**, que contribuíram de forma direta ou indireta na construção deste trabalho científico;

À **Giuseppe Trevisan Cruz**, por ter auxiliado no tratamento estatístico deste trabalho;

A todos que compõem o **grupo PPGIT**, pela união, força de vontade e determinação visualizada a cada dia, que inspiram a todos no caminho.

Aos **professores participantes desta banca de defesa**, pela atenção dada ao trabalho e toda a contribuição científica dispensada;

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)**, pelo auxílio financeiro no desenvolvimento deste projeto na forma de bolsa de estudos.

AGRADECIMENTOS

Por fim, faço um agradecimento especial àquela a quem dedico este trabalho, **Profª. Suely Lins Galdino** (*in memorian*). Meus sinceros agradecimentos a este anjo, que hoje tanto brilha no céu! Que honra ter convivido por quase dois anos com ela. Quantos ensinamentos morais, quantos momentos de alegria e, claro, quantos momentos de muito trabalho. Trabalho este que nos preenchia, que nos trazia o sentimento de vida. Ah, quem dera se todos possuíssem as lentes da Profª. Suely! Guardo em meu coração cada sorriso, cada apoio, cada abraço... guardo comigo também um sentimento profundo de não poder ter dito, enquanto houve tempo, “muito obrigada por tudo aquilo que fez em minha vida, muito obrigada por tudo o que fez pela vida das pessoas”. Compartilho com os leitores deste trabalho o poema preferido desta mulher guerreira, seu lema de vida, de João Cabral de Melo Neto.

Tecendo a Manhã (João Cabral de Melo Neto)

"Um galo sozinho não tece a manhã: ele precisará sempre de outros galos. De um que apanhe esse grito que ele e o lance a outro: de outro galo que apanhe o grito que um galo antes e o lance a outro; e de outros galos que com muitos outros galos se cruzam os fios de sol de seus gritos de galo	para que a manhã, desde uma tela tênue, se vá tecendo, entre todos os galos. E se encorpando em tela, entre todos, se erguendo tenda, onde entrem todos, se entretendendo para todos, no toldo (a manhã) que plana livre de armação. A manhã, toldo de um tecido tão aéreo que, tecido, se eleva por si: luz balão".
--	---

*Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que
quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito
está em ter êxito, e não em ter condições de êxito.
Condições de palácio tem qualquer terra larga,
mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?
(Fernando Pessoa)*

RESUMO

VIEIRA, A.C.Q.M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas. 2013. 160f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

O LPSF/GQ-130 é uma tiazolidinodiona que apresentou atividade anti-inflamatória promissora em estudos *in vivo*, porém, sua insolubilidade aquosa repercutiu em dissolução e absorção inadequada no organismo. Assim, este trabalho objetivou incrementar esta propriedade através da técnica de dispersões sólidas (DS). A caracterização química e físico-química do protótipo permitiu a confirmação da molécula através das técnicas espectrométricas tradicionais, bem como a determinação da sua faixa de fusão (171,3 a 176,5°C) e pureza (99,37% $\pm$ 0,19), através da análise térmica. A obtenção da cinética de degradação térmica não isotérmica elucidou sua energia de ativação (95,14 KJ.mol⁻¹), ordem de reação (0) e temperatura de decomposição térmica (238,3 a 297,4°C). Estudos preliminares de estabilidade identificaram intensa susceptibilidade a degradação em condições básicas e oxidativas. Os aspectos físicos da NEQ envolvem estruturas cristalinas (5,5; 16,3 e 44,18° 2 θ), de formato acicular, com diâmetro médio dos aglomerados de 12,48 μ m. A validação do método de doseamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD) foi realizada em coluna C₁₈ (25 cm x 4mm, 5 μ m) fase reversa, com fase móvel composta por acetonitrila:H₂O (85:15) e fluxo de 2 mL.min⁻¹, sendo a solubilidade aquosa do protótipo inferior ao limite de quantificação do método (0,0001 μ g.mL⁻¹). O desenvolvimento do método de dissolução apresentou o meio de pH 1,2 com 1% de lauril sulfato de sódio como condição ótima para a execução das análises. As dispersões sólidas foram obtidas através do método do solvente (diclorometano), utilizando como matriz a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC). O lote HPMC02 apresentou incremento de 28,57 e 11% na eficiência de dissolução (ED%) da DS binária (120 min), em comparação ao LPSF/GQ-130 isolado à mistura física (MF), respectivamente. A solubilidade da DS em água e em meio de dissolução foi incrementada em 7,7x10⁶% e 1,99x10³%, respectivamente. A obtenção dos sistemas ternários demonstrou maior ED% para a MF do que para a DS (47,45 e 44,97, respectivamente). Assim, pode-se concluir que o método empregado na obtenção da DS foi eficiente para a obtenção de DS binárias, entretanto, não repercutiu em melhoras para o sistema ternário. Ambos os sistemas constituem matérias-primas aperfeiçoadas para o desenvolvimento tecnológico de formas farmacêuticas a base deste protótipo.

Palavras-chave: LPSF/GQ-130. Hidroxipropilmetilcelulose. Dispersão sólida. Dissolução.

ABSTRACT

VIEIRA, A.C.Q.M. Enhancement of aqueous solubility of a new thiazolidine derivative (LPSF/GQ-130) to anti-inflammatory treatment through solid dispersion development. 2013. 160f. Dissertation (Master). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

The LPSF/GQ-130 is a thiazolidinedione which showed promising anti-inflammatory activity in *in vivo* studies. However, its aqueous insolubility leads to wrong dissolution and absorption by the body. Thus, this work aimed enhances this property trough solid dispersion technique (SD). The chemical and physic-chemical characterization allowed the molecule confirmation trough the traditional techniques of spectrometry, as well as its melting range (171.3 to 176.5°C) and purity (99,37% $\pm$ 0,19), by thermal analysis. The non-isothermal kinetic of thermal degradation of LPSF/GQ-130 showed its activation energy (95.14 KJ.mol⁻¹), its reaction order (0) and its temperature of thermal decomposition (238.3 to 297.4°C). Preliminary studies of stability showed higher susceptibility to degradation in basic and oxidative conditions. The physical characteristics are crystalline structures (5.5; 16.3 and 44.18° 2 Θ), needle format, and agglomerates with an average diameter of 12.48 μ m. The validation of assay method by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was made in C₁₈ (25 cm x 4mm, 5 μ m) reverse phase chromatography column. The mobile phase was constituted of acetonitrile:H₂O (85:15) and 2 mL.min⁻¹ rating flow. The LPSF/GQ-130 aqueous solubility was below the quantification limit of the HPLC method (0.0001 μ g.mL⁻¹). The dissolution method development showed the best dissolution medium to LPSF/GQ-130 (pH 1.2 + 1% sodium laurylsulfate). The SD was obtained though solvent method (dichloromethane), applying hydroxypropylmethylcellulose as matrix of the system. The HPMC02 bath enhanced 28.57 and 11% the dissolution efficiency (DE%) against pure LPSF/GQ-130 and their physical mixture, respectively. The SD aqueous and dissolution medium solubility was enhanced in 7.7x10⁶% and 1.99x10³%, respectively. The ternary solid dispersion showed smaller DE% then its physical mixture (47.45 and 44.97, respectively). Thus, it is possible to conclude that the solvent method did not reflect in improvement to the ternary systems. Both systems became improved raw materials than pure LPSF/GQ-130 to the technological development of new medicines.

Key-words: LPSF/GQ-130. Hydroxypropylmethylcellulose. Solid dispersion. Dissolution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Estrutura molecular de alguns AINEs.	36
Figura 2 – Núcleo dos glicocorticoides e alguns exemplos de seus derivados	40
Figura 3 – Estrutura terciária do PPAR- γ .	43
Figura 4 – Estruturas químicas dos anéis de tiazolidina e tiazolidina-2,4-diona.	44
Figura 5 – Estrutura química do 3-benzil-5-benzidileno-tiazolidina-2,4-diona	45
Figura 6 – Diagrama de síntese do LPSF/GQ e seus derivados.	46
Figura 7 – Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS.	51
Figura 8 – Diagrama esquemático proposto por Craig e colaboradores (2002) que mostra o destino de partículas de fármaco durante o processo de dissolução a partir de dispersões sólidas usando polímeros hidrofílicos.	52
Figura 9 – Curvas de calibração obtidas para o LPSF/GQ-130 em cada solvente orgânico testado	63
Figura 10 – Estrutura molecular do LPSF/GQ-16.	67
Figura 11 – Distribuição dos pontos experimentais de uma matriz Doehlert para otimização de suas variáveis, representada por um hexágono regular com as coordenadas normalizadas.	71
Figura 12 – Diagrama de fluxo para aplicação de planejamento Doehlert na otimização de métodos analíticos.	72
Figura 13 – Profundidade da coleta das amostras obtidas durante a dissolução.	73
Figura 14 – Aspecto macroscópico do LPSF/GQ-130.	80
Figura 15 – Curva DSC do LPSF/GQ-130 obtida em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ .	81
Figura 16 – Curva TG, DTG e DTA do LPSF/GQ-130 obtida em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e razão de aquecimento de 10 °C.min ⁻¹ .	81
Figura 17 – Gráfico de linearização de Van't Hoff obtido a partir da curva DSC do LPSF/GQ-130.	82
Figura 18 – Espectro de ¹ H RMN do LPSF/GQ-130.	83
Figura 19 – Estrutura química do LPSF/GQ-130 com identificação dos tipos de hidrogênios presentes.	84
Figura 20 – Espectro de ¹³ C do LPSF/GQ-130.	85
Figura 21 – Molécula de LPSF/GQ-130 com identificação dos seus tipos de carbono.	86
Figura 22 – Espectro de absorção na região do Infravermelho do LPSF/GQ-130.	87

Figura 23 – Espectro de Massas do LPSF/GQ-130 por inserção direta (ionização negativa).	88
Figura 24 – Curva de distribuição de frequência relativa e cumulativa da matéria prima LPSF/GQ-130.	90
Figura 25 – Isoterma de absorção e dessorção do LPSF/GQ-130.	91
Figura 26 – Perfil difratométrico do LPSF/GQ-130.	92
Figura 27 – Microscopia eletrônica de varredura do LPSF/GQ-130, sob aumento de 350 vezes.	92
Figura 28 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 obtidas em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e sob diferentes razões de aquecimento (5; 10; 15 e 20°C.min ⁻¹).	95
Figura 29 – Curvas do logaritmo da razão de aquecimento (logA) em função do inverso da temperatura (K ⁻¹).	96
Figura 30 – Gráfico da função G(X) do inverso da temperatura do LPSF/GQ-130.	96
Figura 31 – Cromatograma do LPSF/GQ-130 obtido por CLAE em fase móvel ACN/H ₂ O 85:15 (1,5 mL.min ⁻¹) a 25°C.	98
Figura 32 – Cromatograma do LPSF/GQ-130 obtido por CLAE, com fase móvel ACN/H ₂ O 85:15 (2 mL.min ⁻¹), a 25°C.	101
Figura 33 – Linearidade do método de quantificação proposto para o LPSF/GQ-130.	101
Figura 34 – Pico secundário nos cromatogramas do LPSF/GQ-130 em diferentes concentrações, obtidos por CLAE no método proposto.	102
Figura 35 – Especificidade do método de quantificação por CLAE proposto, utilizando o LPSF/GQ-16 como agente contaminante.	103
Figura 36 – Gráfico de Superfície Resposta do LPSF/GQ-130 frente às variáveis pH e %LSS, num volume fixo de 1000mL.	110
Figura 37 – Gráfico de Contorno do LPSF/GQ-130 frente as variáveis pH e %LSS, num volume fixo de 1000 mL.	110
Figura 38 – Perfil de dissolução do LPSF/GQ-130 em pH 1,2, 1% de LSS, volume 1000 mL, sob temperatura de 37,5°C e velocidade de agitação de 100 RPM.	111
Figura 39 – Curvas DTA do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com excipientes candidatos à formação de sistemas binários de dispersão sólida, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ .	115
Figura 40 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com excipientes candidatos à formação de sistemas binários de dispersão sólida, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50mL.min ⁻¹ .	117
Figura 41 – Curvas DTA do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com tensoativos, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50mL.min ⁻¹ .	118

Figura 42 – Curva DTG de LPSF/GQ-130, LSS e sua MF, sob fluxo de nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ .	119
Figura 43 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com tensoativos, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50mL.min ⁻¹ .	119
Figura 44 – Diagrama de solubilidade de fases do LPSF/GQ-130 frente a diferentes concentrações dos tensoativos EPEG100, LSS e PLS80.	120
Figura 45 – Curvas TG e DTA da dispersão sólida HPMC01 e sua mistura física, sob razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50 mL.min ⁻¹ .	123
Figura 46 – Espectrometria do LPSF/GQ-130, sistemas binários e misturas físicas.	124
Figura 47 – Aspecto visual dos sistemas binários obtidos em PVP K-30 (PVP02) e HPMC (HPMC01), pelo método da evaporação do solvente.	126
Figura 48 – Aspecto visual dos lotes HPMC01, HPMC02, HPMC03 e HPMC05.	127
Figura 49 – Espectrometria na região do Infravermelho das Dispersões Sólidas obtidas a partir utilizando HPMC como matriz.	128
Figura 50 – Perfis de dissolução do LPSF/GQ-130 puro, DS HPMC02 e sua MF, em meio pH 1,2 + 1% LSS, a 37,5°C e sob velocidade de agitação de 100 rpm.	129
Figura 51 – Curvas TG e DTA das amostras LPSF/GQ-130, HPMCTE01, HPMCTE02, HPMCTE03 e da mistura física LPSF/GQ-130/EPEG 100/HPMC (1:0,3:8,7), sob atmosfera de nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e razão de aquecimento 10°C.min ⁻¹ .	131
Figura 52 – Espectros na região do Infravermelho do LPSF/GQ-130, suas Dispersões Sólidas ternárias (HPMCTE01, 02 e 03) e mistura física LPSF/GQ-130/EPEG 100/HPMC (1:0,3:8,7).	132
Figura 53 – Perfis de dissolução do lote HPMCTE02, sua MF e do LPSF/GQ-130, em meio de dissolução pH 1,2 + 1% LSS e temperatura 37,5°C, sob velocidade de agitação de 100 rpm.	133

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Ação inflamatória dos principais metabólitos do ácido araquidônico envolvidos no processo inflamatório.	34
Quadro 2 – Atividade fisiológica das prostaglandinas e tromboxanos produzidos pela ciclooxigenase 1, no ciclo do ácido araquidônico.	37
Quadro 3 – Classificação das Dispersões Sólidas carreadores poliméricos.	50
Quadro 4 – Composição das fases móveis utilizadas no desenvolvimento do método de quantificação por CLAE para o LPSF/GQ-130.	64
Quadro 5 – Planejamento da precisão intermediária para validação do método de quantificação por CLAE para o LPSF/GQ-130.	68
Quadro 6 – Composição e solventes utilizados na obtenção das dispersões sólidas pelo método da evaporação do solvente.	77
Quadro 7 – Classificação dos pós segundo a Farmacopéia Brasileira, 5ª edição.	89
Quadro 8 – Avaliação teórica dos sítios potenciais de para formação de ligação de hidrogênio entre excipientes e LPSF/GQ-130.	113

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade anti-inflamatória dos derivados do LPSF/GQ.	47
Tabela 2 – Estudo dose-resposta do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-130 na peritonite induzida por tioglicolato 3% e zimosan.	48
Tabela 3 – Níveis normalizados dos fatores empregados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130.	69
Tabela 4 – Representação dos experimentos realizados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130, utilizando o planejamento fatorial completo de Montgomery (2001).	69
Tabela 5 – Percentual médio de degradação do LPSF/GQ-130 após 72 horas de exposição às condições de hidrólise.	93
Tabela 6 – Percentual médio de degradação do LPSF/GQ-130 após 48 horas de exposição às condições de oxidação.	94
Tabela 7 – Concentração de saturação (C_s) do LPSF/GQ-130 obtidas por espectrofotometria na região do ultravioleta visível em diferentes solventes orgânicos, a 327 nm.	97
Tabela 8 – Tempos de retenção do LPSF/GQ-130 obtidos para cada fase móvel testada.	98
Tabela 9 – Áreas dos picos de LPSF/GQ-130 obtidas a partir da variação do sistema de diluição das amostras.	99
Tabela 10 – Concentrações de LPSF/GQ-130 obtidas a partir da variação do sistema de diluição das amostras.	100
Tabela 11 – Tempos de retenção de LPSF/GQ-130 em diferentes condições de temperatura (25 e 30°C) e fluxo (1,5 e 2,0 mL.min ⁻¹).	100
Tabela 12 – Controle do percentual do pico secundário nos cromatogramas de LPSF/GQ-130.	102
Tabela 13 – Concentrações de LPSF/GQ-130 em CLAE para amostras de concentrações conhecidas do protótipo (40 µg/mL) puro e contaminado com LPSF/GQ-16.	103
Tabela 14 – Concentrações reais e calculadas pelo método proposto de LPSF/GQ-130.	104
Tabela 15 – Concentrações de LPSF/GQ-130 obtidas por CLAE para seis repetições de amostra a 40 µg/mL.	104
Tabela 16 – Resultados obtidos para precisão intermediária do método de quantificação por CLAE proposto.	105
Tabela 17 – Valores das concentrações obtidos na avaliação da robustez do método de quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE.	105

Tabela 18 – Áreas do pico de LPSF/GQ-130 obtidas após dissolução do LPSF/GQ-130 (120 min) por CLAE, em triplicatas, utilizando as condições estabelecidas no planejamento fatorial completo de Montgomery (2001).	107
Tabela 19 – Valores obtidos a partir da regressão linear da Equação 2 para os fatores principais e associados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130.	107
Tabela 20 – Análise de Variância (ANOVA) para o estudo de dissolução do LPSF/GQ-130.	109
Tabela 21 – Matriz de Doehlert empregada no desenvolvimento do método de dissolução do LPSF/GQ-130.	109
Tabela 22 - Valores obtidos de T_{onsetD} e T_{onsetF} para o LPSF/GQ-130 puro e em suas misturas físicas.	116
Tabela 23 – Valores de T_{onsetF} e T_{onsetD} do LPSF/GQ-130 em mistura física (1:1) com tensoativos, sob fluxo de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.	120
Tabela 24 – Concentrações de LPSF/GQ-130 alcançadas em água na presença de diferentes concentrações de tensoativos.	121
Tabela 25 – Concentrações de saturação em meio de dissolução calculadas para as DS binárias obtidas através de diferentes polímeros.	122
Tabela 26 – Concentrações de saturação em solução tampão pH 1,2 + LSS 1% dos lotes de DS HPMC02, HPMC03, HPMC04 e HPMC05.	126
Tabela 27 – Valores de Eficiência de Dissolução (%) para a dispersão sólida HPMC02, mistura física de LPSF/GQ-130 + HPMC (1:9) e LPSF/GQ-130 puro.	129
Tabela 28 – Concentrações de saturação em meio de dissolução e água pura da dispersão sólida HPMC02, sua MF e LPSF/GQ-130.	130
Tabela 29 – Concentrações de saturação calculadas para as DS ternárias obtidas em HPMC contendo 10% de LPSF/GQ-130.	130
Tabela 30 – Valores de Eficiência de Dissolução (%) para a dispersão sólida HPMCTE02, mistura física de LPSF/GQ-130 + EPEG 100 + HPMC (1:0,3:8,7) e LPSF/GQ-130 puro.	133
Tabela 31 – Concentrações de saturação obtidas para a dispersão sólida ternária HPMCTE02, sua MF e o LPSF/GQ-130 em meio de dissolução e em água pura.	134

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

^{13}C RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Carbono 13
^1H RMN	Ressonância Magnética Nuclear de Prótons
ACN	Acetonitrila
AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
ANOVA	Tratamento Estatístico por Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Dispositivo de Reflectância Total Atenuada
BET	<i>Brunauer-Emmett-Teller</i>
CETENE	Centro de Ciências Estratégicas do Nordeste
CLAE ou HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
COX	Ciclooxigenase
COXIBE	Inibidor seletivo da ciclooxigenase-2
Cs	Concentração de Saturação
CV	Coeficiente de Variação
DE	Disfunção Erétil
Dp	Desvio Padrão
DS	Dispersão Sólida
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DST	Sistema Ternário Dispersão
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	1ª derivada da curva TG
ED%	Eficiência de Dissolução
EMEA	Agência Européia de Medicamentos
EPEG 100	Estearato de polietilenoglicol 100
EtOH	Alcool Etílico
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GL	Graus de Liberdade
GQ	Glicocorticóides
H_2KPO_4	Dihidrogeno fosfato de potássio
H_2O	Água
HCl	Ácido clorídrico

HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
HPMC-AS	Succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulose
ICH	<i>International Conference Harmonization</i>
IL	Interleucina
ISSO	<i>International Organization for Standardization</i>
LD	Limite de Detecção
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LOX	Lipooxigenase
LPSF	Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos
LPSF/GQ	3-benzil-5-benzidileno-tiazolidina-2,4-diona
LPSF/GQ-130	(5-(4-cloro-benzidileno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona)
LQ	Limite de Quantificação
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
LT	Leucotrieno
mAU	Mili unidade de absorbância
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MeOH	Álcool Metílico
MF	Mistura Física
Na ₂ HPO ₄	Fosfato de sódio dibásico
NaCl	Cloreto de sódio
NaOH	Hidróxido de Sódio
NEQ	Nova Entidade Química
NF-k β	Fator nuclear kappa beta
NO	Óxido Nítrico
PDB	Protein Data Bank
PEG 6000	Polietilenoglicol 6000
PG	Prostaglandina
pH	Potencial Hidrogeniônico
PLS 80	Polissorbato 80
PPAR	Receptores Ativados por Proliferadores de Peroxissomos
Ppm	Partes Por Milhão
PPRE	Elemento responsivo aos proliferadores de peroxissomos
PVP	Polivinilpirrolidona

PVP K-30	Polivinilpirrolidona K-30
RDC	Resolução da Diretoria Colegiada
RE	Resolução
RG	Receptor de Glicocorticóides
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
Rpm	Rotações por minuto
RXR	Receptor do ácido 9- <i>cis</i> retinóico
TDZ	Tiazolidinodiona
TG	Termogravimetria
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral alfa
TR	Tempo de Retenção
TXA ₂	Tromboxano A ₂
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UV2	Ultravioleta
UV-vis	Ultravioleta visível

LISTA DE SÍMBOLOS

-	Menos
%	Porcentagem
/	Dividido por
+	Mais
=	Igual a
±	Mais ou menos
®	Marca registrada
°	Grau
°C	Graus Celsius
°Θ	Grau teta
µg	Migrograma
Å	Ångström
C	Elemento químico carbono
C=C	Ligação dupla entre carbonos
C=O	Ligação dupla entre carbono e oxigênio
cm ⁻¹	Centímetro elevado a menos um
C-N	Ligação entre carbono e nitrogênio
E _a	Energia de ativação
G	Grama
H	Hora
H	Elemento químico hidrogênio
Hz	Hertz
J	Joule
K	Kelvin
K	Kappa
KJ	Quilojoule
Log	Logarítimo
M	Molar
M	Massa
M	Molar
m ² /g	Metro quadrado/ grama

Mg	Miligrama
MHz	Mega Hertz
Min	Minuto
mL	Mililitro
N-H	Ligação entre nitrogênio e hidrogênio
Nm	Nanômetros
nº	Número
P	Peso
PPM	Partes por milhão
R	Constante geral dos gases
r ²	Coeficiente de correlação linear
S	Segundo
S _{BET}	Área superficial
S _{BET}	Área Superficial
sp ²	Hibridização do carbono tipo sp ²
sp ³	Hibridização do carbono tipo sp ³
T	Temperatura
T _o	Temperatura de fusão do analito 100% puro (em Kelvin)
T _{onsetD}	Temperatura Inicial de Degradação
T _{onsetF}	Temperatura Inicial de Fusão
T _s	Temperatura de fusão das impurezas (em Kelvin)
U	Termo de Erro Aleatório
V	Volume
Vs	Versus
X ²	Fração molar das impurezas na fase líquida
X ²	Fração molar das impurezas na fase líquida
Z	Carga
A	Absorbância
A	Alfa
B	Beta
Γ	Gama
Δ	Delta
Δ	Variação

ΔH	Calor de fusão da amostra pura
Δm	Variação de massa
E	Absortividade molar
Λ	Comprimento de onda
Mm	Micrograma
$\nu_{C=O}$	Vibração da ligação C=O
K	Constante de proporcionalidade
Ct	Concentração do fármaco no meio no tempo “t”
$<$	Menor que
$>$	Maior que
D	Coeficiente de difusão
V	Volume do meio
S	Área da superfície de um sólido
H	Camada de difusão
M^{-1}	Desprotonação
-1	Elevado a menos 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	28
2 OBJETIVOS	31
2.1 OBJETIVO GERAL	31
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
3 REVISÃO DA LITERATURA	33
3.1 INFLAMAÇÃO	33
3.2 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS	35
3.2.1 Anti-inflamatórios Clássicos	35
3.2.1.1 <i>Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES)</i>	36
3.2.1.2 <i>Anti-inflamatórios esteroidais</i>	39
3.3 NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS	41
3.3.1 Tiazolidinodionas	44
3.3.1.1 <i>LPSF/GQ-130</i>	45
3.4 DISPERSÕES SÓLIDAS COMO ALTERNATIVA NO INCREMENTO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPOSTOS INSOLÚVEIS	48
3.4.1 Principais métodos empregados para obtenção de DS	53
3.4.1.1 <i>Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da Fusão</i>	53
3.4.1.2 <i>Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da Evaporação do Solvente</i>	54
3.4.1.3 <i>Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da técnica fusão-solvente</i>	55
3.4.1.4 <i>Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da malaxagem</i>	55
4 MATERIAIS E MÉTODOS	58
4.1 LPSF/GQ-130	58
4.2 PARTE I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA LPSF/GQ-130	58
4.2.1 Matérias-primas e solventes	58
4.2.2 Determinação das propriedades organolépticas	58
4.2.3 Caracterização térmica e determinação da pureza	58
4.2.5 Análises espectrofotométricas: identificação da estrutura molecular	59
4.2.5.1 <i>Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN)</i>	59
4.2.5.2 <i>Espectrometria de absorção na região do Infravermelho</i>	59

4.2.5.3 <i>Espectrometria de massas</i>	60
4.2.6 Granulometria a laser e determinação da área superficial específica	60
4.2.7 Difração de raios X	60
4.2.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	61
4.2.9 Estudo preliminar de degradação forçada	61
4.2.9.1 <i>Hidrólise e oxidação</i>	61
4.2.9.2 <i>Cinética de degradação térmica</i>	62
4.3 PARTE II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA DOSEAMENTO DO LPSF/GQ-130	62
4.3.1 Matéria-prima, reagentes e vidrarias	62
4.3.2 Equipamentos	63
4.3.3 Determinação da solubilidade quantitativa do LPSF/GQ-130 em solventes orgânicos	63
4.3.4 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de LPSF/GQ-130	64
4.3.4.1 <i>Determinação da composição da fase móvel</i>	64
4.3.4.2 <i>Determinação do sistema de diluição das amostras de LPSF/GQ-130</i>	64
4.3.4.3 <i>Determinação do método de obtenção das soluções concentradas</i>	65
4.3.4.4 <i>Determinação dos parâmetros do equipamento</i>	65
4.3.5 Validação do Método de Quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE-DAD	65
4.3.5.1 <i>Preparo das soluções concentradas</i>	66
4.3.5.2 <i>Preparo das soluções diluídas</i>	66
4.3.5.3 <i>Linearidade</i>	66
4.3.5.4 <i>Especificidade</i>	66
4.3.5.5 <i>Exatidão</i>	67
4.3.5.6 <i>Precisão</i>	67
4.3.5.7 <i>Robustez</i>	68
4.4 PARTE III: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA O LPSF/GQ-130	68
4.4.1 Matérias-primas e Reagentes	68
4.4.2 Equipamentos e Vidrarias	68
4.4.3 Desenvolvimento do Método de Dissolução de LPSF/GQ-130	69
4.4.4 Preparo dos meios de dissolução	72

4.4.5 Preparo das amostras de LPSF/GQ-130	73
4.4.6 Condições do equipamento e detalhamento do experimento	73
4.4.7 Condições de leitura das amostras obtidas	74
4.5 PARTE IV: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS (DS) A PARTIR DO LPSF/GQ-130	74
4.5.1 Matéria-prima, reagentes	74
4.5.2 Equipamentos	74
4.5.3 Estudos de Pré-formulação	75
4.5.3.1 Seleção qualitativa de candidatos à formação da matriz dos sistemas binários	75
4.5.4 Obtenção das dispersões sólidas binárias e ternárias	76
4.5.4.1 Obtenção de DS por evaporação do solvente	76
4.5.4.2 Obtenção de DS binária a base de HPMC por malaxagem	77
4.5.5 Caracterização das dispersões sólidas	77
4.5.5.1 Obtenção da Concentração de Saturação dos Sistemas Desenvolvidos	77
4.5.5.2 Caracterização Térmica	78
4.5.5.3 Obtenção dos Perfis de Dissolução	78
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80
5.1 PARTE I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA LPSF/GQ-130	80
5.1.1 Determinação das propriedades organolépticas	80
5.1.2 Caracterização térmica e determinação da pureza do LPSF/GQ-130	80
5.1.3 Análises espectrométricas: identificação da estrutura molecular	82
5.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)	82
5.1.3.2 Espectrometria de absorção na região do infravermelho	87
5.1.3.3 Espectrometria de massas	88
5.1.4 Granulometria a laser e determinação da área superficial específica	88
5.1.5 Difração de Raios X (DRX)	91
5.1.6 Microscopia eletrônica de varredura	92
5.1.7 Estudo Preliminar de Degradação Forçada	93
5.1.7.1 Hidrólise e Oxidação	93
5.1.7.2 Cinética de Degradação Térmica	94

5.2 PARTE II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA DOSEAMENTO DO LPSF/GQ-130	97
5.2.2 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de LPSF/GQ-130	97
5.2.2.1 <i>Determinação da composição da fase móvel</i>	97
5.2.2.2 <i>Determinação do sistema de diluição das amostras de LPSF/GQ-130</i>	99
5.2.2.3 <i>Determinação do método de obtenção das soluções concentradas</i>	99
5.2.2.4 <i>Determinação de parâmetros do equipamento</i>	100
5.2.3 Validação do Método de Quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE	101
5.2.3.1 <i>Linearidade</i>	101
5.2.3.2 <i>Especificidade</i>	102
5.2.3.3 <i>Exatidão</i>	103
5.2.3.4 <i>Precisão</i>	104
5.2.3.5 <i>Robustez</i>	105
5.3 PARTE III: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA O LPSF/GQ-130	105
5.4 PARTE IV: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS A PARTIR DO LPSF/GQ-130	111
5.4.1 Estudos de Pré-formulação	111
5.4.1.1 <i>Seleção qualitativa de candidatos à formação da matriz dos sistemas binários</i>	111
5.4.1.2 <i>Estudo de compatibilidade térmica do LPSF/GQ-130 frente aos excipientes candidatos à formação da matriz dos sistemas binários</i>	114
5.4.1.3 <i>Seleção qualitativa de tensoativos para obtenção de sistemas ternários</i>	118
5.4.2 Desenvolvimento dos sistemas de DS binários e ternários a base de LPSF/GQ-130	121
5.4.2.1 <i>Desenvolvimento e Caracterização de DS binárias</i>	121
5.4.2.2 <i>Desenvolvimento e Caracterização de DS Ternárias</i>	130
6. CONCLUSÃO	136
7. PERSPECTIVAS	139
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	141
9. ANEXOS	161

INTRODUÇÃO

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

1 INTRODUÇÃO

O processo inflamatório consiste na primeira linha de defesa dos organismos vivos a estímulos lesivos exógenos ou endógenos, o qual possui grande complexidade, dinamismo e coordenação (RODRIGUEZ-VITA; LAWRENCE, 2010). Entretanto, em algumas situações pode haver exacerbação e prolongamento deste por falhas nos mecanismos de controle fisiológico, que podem evoluir e provocar danos em diversos órgãos e doenças crônicas (TLASKALOVA-HOGENOVA et al., 2005). O tratamento atualmente empregado para esta condição gira em torno do emprego de medicamentos anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e esteroidais (corticosteróides).

Embora figurem entre os medicamentos mais prescritos em todo o mundo (SOUZA et al., 2012), nos últimos anos tem sido questionada a segurança do uso de AINEs e esteróides em decorrência dos efeitos colaterais marcantes provocados, sobretudo na sua utilização crônica (BATLOUNI, 2010). Este cenário conduz diversas pesquisas para a busca de novas opções terapêuticas anti-inflamatórias com princípios ativos eficazes, mais específicos e que acarretem menos efeitos adversos (SANTOS, 2009).

O receptor ativador da proliferação dos peroxissomos (PPAR) foi recentemente identificado como um novo alvo biológico para a terapêutica anti-inflamatória, onde demonstrou regular a homeostase do processo inflamatório através de um mecanismo diferente daquele realizado pelos fármacos disponíveis no mercado, sobretudo em resposta à atividade agonista de tiazolidinadionas (OXER, 2008). Neste sentido, o Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos da Universidade Federal de Pernambuco – LPSF/UFPE, sintetizou um novo derivado tiazolidínico, LPSF/GQ-130, que demonstrou, através de estudos *in vivo* realizado em camundongos, resultados promissores e baixa toxicidade aguda (SANTOS et al., 2005), mostrando-se como potente candidato para obtenção de um medicamento inovador.

No entanto, a baixa solubilidade aquosa desta nova entidade química (NEQ) representa um entrave tecnológico crítico, pois proporciona problemas de absorção no trato gastrointestinal e consequentemente biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica. Neste sentido, uma das mais tradicionais abordagens para o incremento da biodisponibilidade de fármacos com essa característica se dá através do aumento da velocidade e taxa de dissolução pela formação de dispersões sólidas (DS) (ALVES, 2010).

Para tanto, a obtenção destes sistemas deve ser subsequente a realização da carta de identidade do protótipo a partir da sua caracterização química e físico-química, além de estudos que direcionem quesitos de estabilidade (RODRIGUES et al., 2005; SOARES, 2011) e o desenvolvimento e validação de métodos analíticos capazes de fornecer informações precisas sobre o protótipo e seus sistemas. Estes itens possuem o intuito de obter as especificações necessárias para o desenvolvimento racional de uma forma farmacêutica, tornando-a viável para os estudos clínicos posteriores e para a possível inserção de um medicamento inovador no mercado farmacêutico nacional.

OBJETIVOS

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Incrementar a solubilidade aquosa da nova substância LPSF/GQ-130 através da técnica de dispersões sólidas.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o LPSF/GQ-130 através de ensaios químicos e físico-químicos;
- Desenvolver e validar método analítico por CLAE para doseamento do LPSF/GQ130 isolado;
- Desenvolver e validar método de dissolução para o LPSF/GQ-130 ;
- Desenvolver sistemas binários e ternários de dispersões sólidas utilizando carreadores hidrofílicos e tensoativos;
- Caracterizar os sistemas obtidos através das seguintes técnicas: análise térmica, solubilidade em meio de dissolução, solubilidade em água, perfil de dissolução, eficiência de dissolução e espectrometria de absorção na região do infravermelho.

REVISÃO DA LITERATURA

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 INFLAMAÇÃO

A inflamação constitui o mecanismo central de reparação dos tecidos após a ocorrência de um dano, seja ele de natureza química, física ou biológica (TLASKALOVA-HOGENOVA, 2005; ABBAS et al., 2008). Iniciado pela fase aguda (com duração de aproximadamente três dias), de caráter não imunológico, o processo inflamatório atrai células ativadas do sistema fagocítico e macrófagos teciduais para o local da lesão, as quais secretam histamina, serotonina e citocinas. Este último grupo de mediadores da inflamação atraem para o foco inflamatório, através de um processo auto-regulatório, monócitos e neutrófilos (VOLTARELLI, 1994).

A inflamação crônica, com duração de semanas, meses e até anos, possui caráter imunológico e produz e libera outros mediadores químicos para o local afetado, responsáveis pelas características da área inflamada. Dentre esses mediadores, encontram-se a histamina, os metabólitos do ácido araquidônico, o fator de ativação plaquetária, a bradicinina, o óxido nítrico (NO), os neuropeptídeos e diferentes citocinas (COUTINHO et al., 2009). As citocinas permanecem regulando a ação celular de todo o processo inflamatório, tanto favorecendo a aderência leucocitária ao endotélio, quanto atraindo e ativando células inflamatórias móveis (BOTTING, 2006), além de ativar o fator de transcrição NF- κ B (*nuclear factor kappa B*), que é responsável pela resposta celular a estímulos exógenos e endógenos (ZHANG, 2008).

Neste processo, o NO permite o aumento da permeabilidade vascular devido a sua potente ação vasodilatadora, além de regular o recrutamento de leucócitos e exercer ação citotóxica contra micro-organismos (ABBAS et al., 2008); já os metabólitos do ácido araquidônico, via de maior impacto na geração das características inflamatórias, são responsáveis por exacerbar o edema e promover dor, calor e rubor no local da lesão (COUTINHO, 2009). Estes metabólitos são produzidos a partir da ativação da enzima fosfolipase A2 em resposta à injúria, que hidrolisa os fosfolípidios de membrana, liberando ácido araquidônico para o citoplasma. Este substrato, por sua vez, sofre a ação de duas vias enzimáticas: a via das ciclooxigenases (COXs) e a via das lipooxigenases (LOXs) (BATLOUNI, 2010), produzindo assim seus metabólitos.

Particularmente, a via das COXs é responsável pela síntese da prostaglandina (PG) H_2 (PGH_2), a qual estimula a formação de diversas outras PG e prostaciclina, como PGI_2 , PGD_2 , PGE_2 , PGF_2 , além do tromboxano A_2 (TXA_2). Nesta via, existe a atuação de duas isoformas

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

de COX: a ciclooxigenase 1 (COX-1), constitutiva, presente na maioria dos tecidos e essencial para manutenção do estado fisiológico normal de muitos tecidos; e a ciclooxigenase 2 (COX-2), que se expressa naturalmente nas células vasculares endoteliais normais e nos outros tecidos corpóreos é produzida por indução do processo inflamatório, mediante aumento das concentrações séricas de citocinas, endotoxinas e fatores de crescimento. Já a via das LOXs produz principalmente leucotrienos (LT) e lipoxinas (FITZGERALD, 2004). A ação inflamatória dos principais mediadores produzidos pela via do ácido araquidônico pode ser visualizada no Quadro 1.

Quadro 1 – Ação inflamatória dos principais metabólitos do ácido araquidônico envolvidos no processo inflamatório.

Mediador Químico	Ação Inflamatória
PGE₂	Ação vasodilatadora; Exacerbação de edema; Promoção de hipersensibilidade a estímulos dolorosos; Envolvimento da patogenia da febre;
PGD₂	Ação vasodilatadora; Exacerbação de edema; Envolvimento na patogenia da dor e da febre;
PGF_{2α}	Ação vasodilatadora; Exacerbação de edema; Envolvimento na patogenia da dor e da febre;
PGI₂	Ação vasodilatadora; Potencialização dos efeitos quimiotáticos; Aumento da permeabilidade de outros mediadores. Estímulo dos nociceptores, reduzindo o limiar da dor; Provoca sensibilização periférica.
TXA₂	Aumenta interação entre leucócitos e plaquetas.
LTB₄	Exerce atividade quimiotática para leucócitos, eosinófilos e monócitos; Promove a produção de superóxidos, que contribuem para os danos teciduais da inflamação; Inibe formação de edema.
LTC₄	Aumento da permeabilidade vascular; Provoca vasoconstrição.
LTD₄	Aumento da permeabilidade vascular; Inibe vasoconstrição.
LTE₄	Aumento da permeabilidade vascular;

Fonte: autoria própria (Baseado nos textos de COUTINHO, 2009; BATLOUNI, 2010; SOUZA et al., 2012; SANTOS, 2009).

Deste modo, o processo inflamatório apresenta-se como mecanismo natural e essencial para manutenção da integridade dos organismos frente às constantes e inevitáveis agressões a que estão expostos. No entanto, por vezes este processo perde o equilíbrio com as outras funções celulares (BARRETO et al., 2011), manifestando-se de modo desorganizado. Assim, o lado negativo da inflamação é viabilizado, promovendo uma série de desordens que podem evoluir e provocar danos em diversos órgãos, bem como doenças crônicas (TLASKALOVA-HOGENOVA et. al., 2005), tais como: asma, artrite reumatóide, esclerose múltipla, osteoartrite, lúpus eritematoso, psoríase e aterosclerose (SANTOS, 2009). Além destas, há os

eventos inflamatórios crônicos subclínicos, também conhecidos como inflamação sistêmica de baixo grau, que estão ligados a uma série de desordens metabólicas, proporcionando aumento de risco para doenças cardiovasculares e diabetes tipo II na obesidade, particularmente nos casos de adiposidade visceral (FANTUZZI, 2005).

Neste contexto, o uso de medicamentos anti-inflamatórios torna-se imprescindível para cessar o evento inflamatório descontrolado, visando não comprometer a vitalidade dos tecidos envolvidos e oferecer uma melhor qualidade de vida aos pacientes portadores dessas doenças.

3.2 FÁRMACOS ANTI-INFLAMATÓRIOS

3.2.1 Anti-inflamatórios Clássicos

A classe de fármacos anti-inflamatórios figura dentre os grupos mais amplamente prescritos na prática clínica em todo o mundo. O investimento global para o tratamento da dor em 2009 alcançou 50 bilhões de dólares, dos quais 27 bilhões foram investimentos das sete maiores economias mundiais da época, a saber: EUA, França, Japão, Alemanha, Itália, Espanha e Reino Unido (MELNIKOVA, 2010). Segundo Inotai e colaboradores (2010), o aumento do consumo de determinados fármacos anti-inflamatórias aumentou de 2,07 a 325%, em um estudo realizado em seis países europeus, no período de 2002 a 2007. No Brasil, o diclofenaco de potássio alcançou o primeiro lugar na venda de fármacos na indústria farmacêutica, no ano 2000. Esta informação é confirmada por estudos sobre o uso da droga no país, em que os AINEs obtiveram um dos melhores lugares no *ranking* dos medicamentos mais utilizados pela população (RIBEIRO; SERVALHO; CÉSAR, 2006).

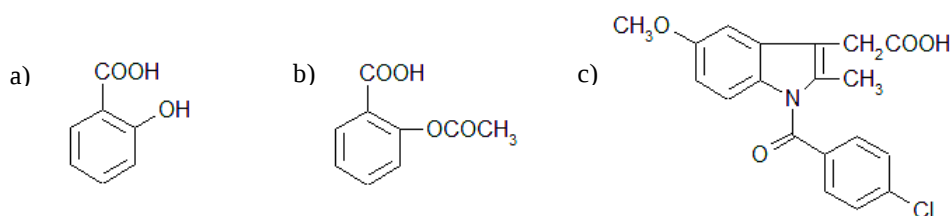
As terapias anti-inflamatórias clássicas são baseadas na inibição da COX, sendo seu grupo farmacológico denominado de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), ou através da inibição da expressão gênica da COX-2, mediante uso de corticóides, também conhecidos como anti-inflamatórios esteroidais. Ambas as vias previnem a geração de prostaglandinas e, no caso dos corticóides, ocorre inibição da expressão da fosfolipase A2, bloqueando, portanto, toda a cascata do ácido araquidônico (SOUZA et al., 2012).

3.2.1.1 Anti-inflamatórios não esteroidais (AINES)

Os AINES constituem um grupo de fármacos que compartilham uma variedade de atividades farmacológicas e efeitos colaterais. Esta classe de fármacos possui ampla gama de indicações terapêuticas, tais como: antipirética, analgésica, anti-inflamatória e profilaxia de doenças cardiovasculares (DUBOIS et al., 1998). Sua ação analgésica é indicada para o alívio da dor leve e moderada (EBELL, 2004). Já no campo da ação anti-inflamatória, são utilizadas no tratamento da lesão muscular, tendinite, bursite e no alívio da dor pós-operatória, além da indicação para as doenças crônicas reumáticas, tais como: artrite reumatóide, osteoartrite, artrite gotosa e espondilite anquilosante (POUNTOS et al., 2011a). Nestes últimos casos, os AINES são frequentemente associados a fármacos anti-reumáticos modificadores da doença, visando alcançar a regressão da doença, além dos efeitos paliativos dos anti-inflamatórios não esteroidais (WOODFORK; DYKE, 2008).

Os AINES foram descobertos a partir da elucidação do ácido salicílico (Figura 1a) pelos europeus, mediante isolamento do componente ativo das folhas da casca do salgueiro, a salicilina, frequentemente utilizada pelos ingleses para tratar febre e inflamação (RAO; KNAUS, 2008). Após a descoberta, esse fitofármaco foi substituído pelo fármaco sintético, diminuindo o custo de sua obtenção, sendo inserido no mercado pela Indústria Farmacêutica Bayer® em 1899, na forma de ácido acetilsalicílico, palatavelmente mais agradável (Figura 1b) (VANE, 2000). Posteriormente, a intervenção da química fina proporcionou modificações moleculares que permitiram o aumento do arsenal de moléculas disponíveis para o tratamento da inflamação e das doenças inflamatórias, como a artrite reumatóide, a partir da introdução de moléculas como a indometacina no mercado (Figura 1c).

Figura 1 – Estrutura molecular de alguns AINES.



GOODMAN; GILMAN, 2006. a) Ácido salicílico; b) Ácido acetilsalicílico; c) indometacina.

A ação anti-inflamatória dos AINES é explicada pelo efeito inibitório exercido na COX que, como visto no *tópico 3.1*, é responsável pela síntese de prostaglandinas: mediadores químicos responsáveis pelo aspecto e sensorial inflamatório dos tecidos acometidos

(TANAKA et al., 2009). Entretanto, a COX-1 e a COX-2 são enzimas com estruturas químicas similares, possuindo 60% de homologia na sequência de aminoácidos e padrões singulares de expressão (BATLOUNI, 2010). Este fato dificultou a obtenção de fármacos mais específicos, e por este motivo grande parte dos AINES são não seletivos, ou seja, inibem tanto a ação da COX-1 quanto da COX-2.

Assim, além de serem efetivos na inibição da produção de prostaglandinas indutoras do processo inflamatório, os AINES não seletivos também inibem a ação fisiológica da COX-1, que exerce atividade extremamente importante para a manutenção da homeostase corpórea (Quadro 2).

Quadro 2 – Atividade fisiológica das prostaglandinas e tromboxanos produzidos pela ciclooxygenase 1, no ciclo do ácido araquidônico.

Mediador Químico	Ação Fisiológica
PGE₂	Proteção da mucosa gastrointestinal; Regulação da vasculatura renal; Regulação dos efeitos diuréticos e natriuréticos renal; Manutenção da taxa de filtração glomerular; Broncodilatação.
PDG₂	Regulação da função renal (perfusão do órgão); Broncodilatação.
PGF_{2α}	Regulação dos efeitos diuréticos e natriuréticos renal.
PGI₂	Inibição da agregação plaquetária e desagregação de aglomerados pré-formados, contribuindo para a regulação do equilíbrio trombo-hemorrágico junto ao TXA ₂ ; Proteção da mucosa gastrointestinal; Regulação da vasculatura renal (perfusão do órgão); Manutenção da taxa de filtração glomerular.
TXA₂	Ativação plaquetária; Vasoconstrição; Regulação do equilíbrio trombo-hemorrágico junto ao PGI ₂ ; Importante na fase final do parto.

Fonte: autoria própria. Baseado nos textos de COUTINHO, 2009; BATLOUNI, 2010 e SOUZA et al., 2012.

Neste contexto, a literatura aponta diversos efeitos colaterais provocados pelo uso de AINES não seletivos. Uma vez que a PGI₂ e o PGE₂ são fundamentais para proteger a parede estomacal dos efeitos corrosivos do ácido clorídrico, bem como para manter a condição naturalmente saudável da mucosa gástrica (ANTMAN, 2005), a inibição da COX-1 pode levar ao desencadeamento de manifestações que vão desde náuseas a úlceras hemorrágicas, podendo inclusive levar o usuário à óbito. Portanto, o uso de altas doses ou o consumo prolongado desta classe de fármacos, juntamente com sua administração junto a corticoesteróides e/ou anticoagulantes, tabagismo e/ou bebidas alcoólicas, aumenta a probabilidade de obtenção destes efeitos (POUNTOS et al., 2011a).

Adicionalmente, o declínio dos níveis de prostaglandinas renais vasodilatadoras diminui a perfusão renal total e redistribuem o fluxo sanguíneo para o córtex, sobretudo quando ocorre estimulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona e/ou estimulação do sistema nervoso

simpático. Tais processos podem resultar em vasoconstrição renal aguda, isquemia medular e, em certas condições, insuficiência renal aguda (BATLOUNI, 2010). Portanto, o uso de AINEs não seletivos pode provocar variáveis graus de disfunção renal, que vão desde o comprometimento reversível da taxa de filtração glomerular até danos renais irreversíveis (WINKELMAYER et al., 2008, POUNTOS et al 2011a), variando conforme o tipo de AINE utilizado. Segundo Griffin e colaboradores (2000), a indometacina propõe o maior risco, seguindo do ibuprofeno e piroxicam, sendo este último o de menor risco em relação aos outros AINEs.

A disfunção erétil (DE) também se encontra dentre os possíveis efeitos colaterais provocados pelo uso contínuo de AINEs não seletivos. Segundo Shiri e colaboradores (2006), a consequente inibição da síntese de prostaglandinas e TXA_2 pelos AINEs pode interferir no processo fisiológico da ereção peniana através da via do NO, que constitui um sinal fisiológico essencial. Apesar de diversos estudos terem associado a DE com pacientes portadores de artrite (SEYAM et al., 2003; PIRILDAR; MUEZZINOGLU; PIRILDAR, 2004), os estudos de Shiri e colaboradores (2006) elucidaram a independência da DE com a doença incidente, apresentando a relação com a terapia farmacológica utilizada, que neste caso, eram os AINES.

Ademais, Pountos e colaboradores (2011a; 2011b) detectaram associação negativa entre o uso de AINEs e o processo de reparo ósseo, podendo haver retardo na união da fratura e, portanto, resultados inadequados.

Devido à extensa variedade de efeitos colaterais provocados pelos AINEs não seletivos, surgiu o interesse em desenvolver fármacos inibidores específicos da COX-2, por se acreditar que, desta forma, impedir-se-ia o processo inflamatório sem expor o usuário aos seus efeitos adversos. Desta forma, a descoberta destes inibidores seletivos levou à obtenção da segunda geração de fármacos anti-inflamatórios não esteroidais, os inibidores seletivos de cicloxigenase-2, também denominados COXIBEs, os quais possuem grupos sulfonamidas e sulfona, responsáveis pelo direcionamento à COX-2 (LAZZARONI; BATTOCCHIA; PORRO, 2007).

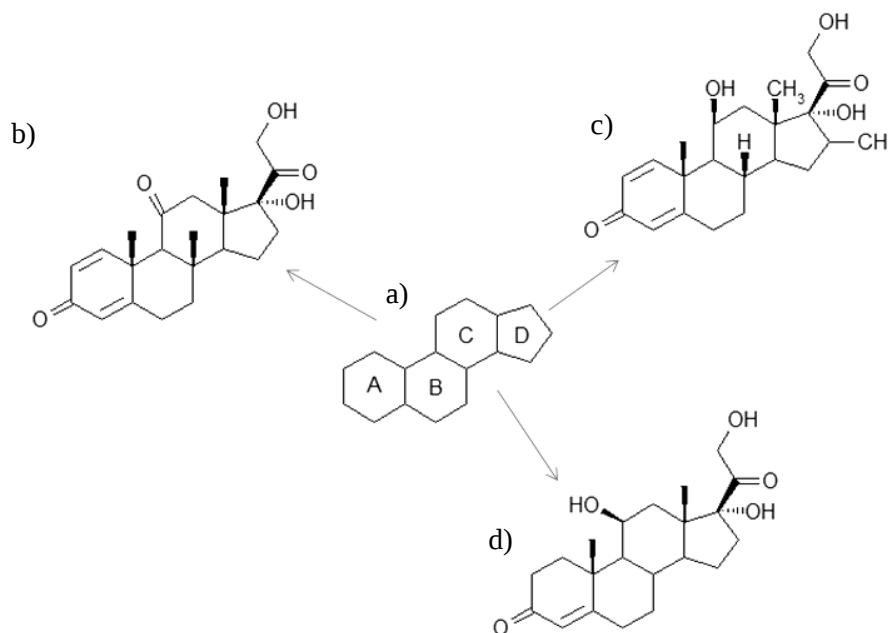
O primeiro COXIBE aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) foi o colecoxibe, em dezembro de 1998 (WHELTON, 2001; KUMMER; COELHO, 2002), sendo posteriormente incluídos o valdecoxibe, parecoxibe, rofecoxibe, etoricoxibe e o lumiracoxibe (BATLOUNI, 2010). Entretanto, três anos após a inserção do colecoxibe no mercado, o mesmo foi retirado devido à constatação de efeitos cardiovasculares significativos. Estes efeitos provavelmente seriam provocados pela inibição da fração de COX-2 naturalmente

presente no endotélio vascular, responsável pela produção de prostaciclina. Uma vez que a prostaciclina atua no equilíbrio trombo-hemorrágico, sua inibição torna o organismo bastante susceptível a eventos trombóticos e outras complicações cardiovasculares (FITZGERALD, 2004; ANTMAN, DEMETS; LOSCALZO, 2005; BATLOUNI, 2010; POUNTOS et al., 2011a). Assim, atualmente o mercado brasileiro também cancelou o registro do lumiracoxibe e do eterocoxibe 120mg, restringiu o uso do parecoxibe ao ambiente hospitalar e solicitou adequação do texto da bula do colecoxibe. Os demais fármacos deste grupo foram incluídos na lista C1 de princípios ativos controlados, segundo a Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) nº 79 publicada em 4 de novembro de 2008 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) (BRASIL, 2008), visando a reduzir o acesso inadequado a tais medicamentos.

3.2.1.2 Anti-inflamatórios esteroidais

Os anti-inflamatórios esteroidais, corticoides ou glicocorticoides (GC), são hormônios esteroides provenientes do metabolismo do colesterol, possuindo como núcleo químico básico derivados do colesterol-ciclopentano perhidrofenantreno (figura 2) (DAMIANI et al., 2001). O cortisol, representante natural dos GCs, foi sintetizado pela primeira vez em 1946, e utilizado no tratamento da artrite reumatoide dois anos mais tarde. Entretanto, apesar de ampla efetividade como agente anti-inflamatório e imunossupressor, diversos efeitos colaterais foram constatados, limitando seu uso terapêutico (LÖWENBERG et al., 2008). Tal descoberta levou, em 1950, a síntese de novos análogos, como a prednisolona, dexametasona, betametasona, beclometasona, metilprednisolona, prednisolona e triancinolona (LÖWENBERG et al., 2008; ANTONOW, MONTEIRO; ARAUJO, 2007).

Figura 2 – Núcleo dos glicocorticoides e alguns exemplos de seus derivados



SCHIMMER; PARKER, 2007. a) colesterol-ciclopentano perhidrofenantreno; b) prednisolona; c) dexametasona; d) cortisol.

O mecanismo de ação clássico desta classe de fármacos envolve sua interação com um receptor de glicocorticóides (RG) e a regulação da expressão de proteínas. Neste mecanismo, a ativação do RG pelos GCs modula a transcrição de genes (BARNES; ADCOCK, 2009), induzido a codificação de genes anti-inflamatórios chave, os quais codificam moléculas anti-inflamatórias, além de reprimir seletivamente genes específicos que codificam citocinas inflamatórias, quimiocinas, moléculas de adesão, enzimas, mediadores lipídicos da inflamação, dentre outros (FERNANDES et al., 2008).

Outro mecanismo anti-inflamatório mediado pelos GCs está relacionado com a interferência da interação do NF- κ B e o RG a partir do aumento da produção de proteínas capazes de se ligar e inibir a ativação do NF- κ B, quais sejam: I κ B e leucina zipper induzida por corticóides (GLIZ). Ademais, os GQ induzem a expressão dos receptores ativados por proliferadores de peroxissomos tipo α (PPAR- α), o qual é capaz de inibir a ativação do NF- κ B e a expressão de genes inflamatórios (CUZZOCREA et al., 2008).

Deste modo, os mecanismos de ação dos GC exercem profundos efeitos sobre quase todos os sistemas orgânicos, além de apresentarem poderosos efeitos anti-inflamatórios e imunossupressores, fazendo com que esta classe medicamentosa encontre-se dentre os fármacos mais amplamente utilizados na terapêutica. Portanto, além de tratar distúrbios inflamatórios, como a artrite reumatoide na reumatologia, suas indicações se estendem para diversas especialidades médicas, como dermatologia (DESHMUKH, 2007), endocrinologia,

oncologia, oftalmologia (ANTONOW; MONTEIRO; ARAUJO, 2007), gastroenterologia (FARRELL; KELLEHER, 2003) e pneumologia (ZELE et al., 2010).

Por outro lado, a ampla ação dos GCs também interfere nos mecanismos bioquímicos responsáveis pela homeostase corpórea, fazendo com que esses fármacos proporcionem uma série de efeitos colaterais (DAMIANI et al, 2001; ANTONOW; MONTEIRO; FLAMMER; ROGATSKY, 2011), principalmente quando administrados em altas doses e por períodos prolongados (LÖWENBERG et al., 2008). Dentre as funções fisiológicas acometidas encontram-se o balanço hidro-eletrolítico, o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, os sistemas cardiovascular, músculo-esquelético e nervoso central e a formação de elementos sanguíneos, além de outros tecidos orgânicos a partir de uma variedade de vias metabólicas (CHANEY, 2002).

Segundo Deshmukh (2007), o efeito dos GC sobre fluidos e eletrólitos decorre da sua ação mineralocorticoide, que provoca retenção de sal e água, gerando edema, ganho de peso e hipertensão, além de hipocalcemia, que pode manifestar um quadro de fraqueza severa. Por outro lado, a hiperglicemia é causada principalmente pelo aumento da capacidade hepática em realizar a gliconeogênese e redução da sensibilidade à insulina. Já o incremento da produção de lipídeos no fígado apresenta-se como consequência do aumento da lipólise no tecido adiposo, que estimula a redistribuição de reservas de gorduras, carboidratos e proteínas. Esta disfunção metabólica, em adição ao aumento do apetite, pode levar ao desenvolvimento da síndrome de *cushing* (face de lua, acúmulo de gordura na nuca e obesidade central).

Diante do exposto, Damiani e colaboradores (2001) insistem na verificação da relação risco-benefício diante de uma terapia com GCs, que muitas vezes é desfavorável ao paciente. Segundo o autor, alguns dos pontos a serem avaliados são os tipos de preparação medicamentosa; a via de administração; a dose, esquema de administração e tempo de uso; a doença a ser tratada e se não há outra alternativa terapêutica que desencadeie menos efeitos colaterais; e idade e sexo do paciente.

3.3 NOVOS ALVOS TERAPÊUTICOS

A necessidade de inovação no campo das doenças inflamatórias tem aumentado o interesse da comunidade científica, observado pelo movimento das pesquisas cada vez mais avançadas das áreas da química, farmacologia, modelagem molecular, dentre outros (SANTOS, 2009). Deste modo, diversos novos alvos terapêuticos e agentes farmacêuticos têm sido testados quanto a sua atividade anti-inflamatória, como os componentes de

transdução de sinal (KULKARNI et al, 2006), duplo inibidores da COX-2 e da 5-LOX (CHARLIER; MICHAUX, 2003) e citocinas pró-inflamatórias (KOPF et al., 2010), dentre outros.

Neste contexto, um novo alvo biológico para terapia anti-inflamatória foi recentemente descoberto: os receptores ativados por proliferadores de peroxissomos (PPARs). Os PPARs constituem uma família de fatores de transcrição pertencentes à superfamília dos receptores nucleares (LEMBERGER; DESVERGNE; WAHLI, 1996), e foram originalmente identificados em 1990, por Isseman e Green. Sua designação decorre da sua ativação por fármacos que induzem a proliferação de peroxissomos como resposta celular a compostos químicos e a certas condições fisiopatológicas (OXER, 2008). Tal resposta repercute em várias modificações no metabolismo, proliferação e diferenciação celular, bem como na resposta imunológica (STRAUS; GLASS, 2007).

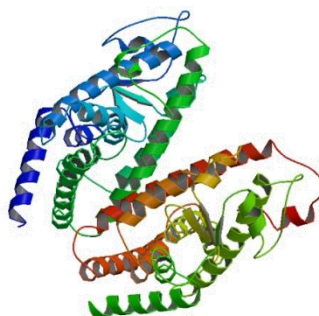
Estes receptores regulam a expressão gênica em resposta a ligantes específicos (MARX et al., 2012), denominados de elementos responsivos aos proliferadores de peroxissoma (PPREs). Tais elementos responsivos situam-se em sítios regulatórios de cada gene. Neste processo, o PPAR liga-se ao PPRE como um heterodímero, juntamente com um fator proteico adicional, o receptor do ácido 9-*cis* retinóico (RXR) (TAVARES; HIRATA; HIRATA, 2007), responsável por estabelecer ligações de alta afinidade do complexo PPAR-PPRE, e promover uma ativação efetiva da transcrição (OXER, 2008). Sob atuação de agonistas, a conformação do PPAR é alterada e estabilizada, criando um sítio de ligação, com posterior recrutamento de coativadores transcrpcionais, resultando em aumento na transcrição gênica específica, de acordo com o PPRE em questão (CLARK et al., 2011).

Atualmente três diferentes membros de PPAR foram identificados, denominados de PPAR α , PPAR β (PPAR δ ou NUC-1) e PPAR γ (CLARK et al., 2011). Estes três tipos de receptores possuem estruturas e domínios funcionais similares, porém distribuição e funções diferentes (OXER, 2008). De acordo com Bull (2003), apesar de bastante onipresente e ser mais expresso que os outros receptores de PPAR, sabe-se muito pouco sobre o PPAR- β . Os dados a respeito deste receptor demonstram que o mesmo exerce atividade importante no controle do metabolismo e transporte de lipoproteínas, especialmente nos macrófagos (OLIVER, 2001), além de desempenhar papel na placentação e adiposidade, entretanto não se tem relatos sobre sua atividade específica (BULL, 2003). Segundo Clark e colaboradores (2011), os PPARs- β podem formar ligações com fibratos, ácidos graxos específicos e eicosanoides.

O PPAR- α , por sua vez, se expressa predominantemente nos tecidos do fígado, coração e rins (DUEZ; FRUCHART; STAELS, 2001; DAYNES; JONES, 2002). Os ativadores endógenos deste receptor compreendem os ácidos graxos poliinsaturados, alguns eicosanoides e fibratos (CLARK et al., 2011). A princípio, sua atividade biológica estava relacionada apenas ao metabolismo de ácidos graxos, devido a sua ação regulatória sob inúmeros genes importantes no metabolismo lipídico, como acetil-CoA-sintetase, HMG-CoA-sintetase, apo-AI e apo-CIII1 (MARX; LIBBY; PLUTZKY, 2001). Entretanto, vários estudos demonstram que o PPAR- α pode inibir genes inflamatórios e, conseqüentemente, reduzir os mediadores pró-inflamatórios, como as interleucinas (IL) (IL-6, IL-1 α , IL-12, COX-2), quando ligados a seus agonistas (CHUNG et al., 2008).

Já o PPAR- γ (Figura 3) é o PPAR mais estudado (BULL, 2003). Este se expressa em diferentes tipos celulares, incluindo o sistema imunológico, adipócitos, colonócitos, hepatócitos, fibroblastos, células mamárias, precursores da medula óssea, dentre outros (CLARK et al., 2011). Apesar de originalmente se acreditar que o PPAR- γ apenas influenciaria na diferenciação de adipócitos e na homeostase da glicose (MORAES; PIQUERAS; BISHOP-BAILEY, 2006), seu papel na resposta inflamatória recentemente descoberto tem-se demonstrado bastante importante. De acordo com Chung e colaboradores (2008), este receptor inibe a expressão de genes inflamatórios, modulando, dentre outras vias, a ação do NF- κ B, AP-1, transdutores de sinal e ativadores de transcrição. Adicionalmente, além do seu papel como fator de transcrição, a ativação do PPAR- γ provoca uma atuação trans-repressora de genes inflamatórios de macrófagos (SOUZA et al., 2012).

Figura 3 – Estrutura terciária do PPAR- γ .



Protein Data Bank (PDB), em janeiro de 2012 – disponível em www.rcsb.org – a partir do PDB ID: 1PRG.

Deste modo, o mecanismo bioquímico desenvolvido a partir da ativação deste receptor é capaz de inibir a expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), IL-1 α , IL-6, óxido nítrico sintase induzível, dentre outros mediadores da inflamação (MARX et al., 2012). Além

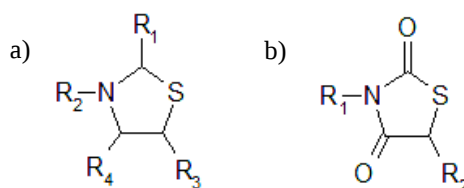
do mais, estudos demonstram que a ativação deste receptor pode, ainda, reduzir tanto doenças inflamatórias intestinais quanto neoplasias (como o tumor de cólon) (BULL, 2003), indicando-o como potencial alvo terapêutico no controle do processo inflamatório e de doenças inflamatórias crônicas.

Os ativadores do PPAR- γ incluem os ligantes naturais (endógenos), como os metabólicos da prostaglandina D2 (15-deoxi- $\Delta^{12,14}$ -J₂ prostaglandina, ou 15d-PGJ₂), ácido linoleico oxidado e um componente da lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada. Seus ligantes sintéticos (exógenos) são as tiazolidinodionas (p. ex.: pioglitazona e rosiglitazona), grupo indicado para o tratamento do diabetes, mas que recentemente tem sido citado como novo agente anti-inflamatório (OXER, 2008; MARX et al., 2012).

3.3.1 Tiazolidinodionas

A presença do anel tiazolidínico (Figura 4a) em penicilinas e derivados relacionados foi o primeiro reconhecimento das tiazolidinas na natureza (LIMA et al., 2010). Este grupamento químico fundamental representa uma classe de fármacos de grande interesse científico, em virtude de suas propriedades químicas e atividades biológicas, tais como antimicrobiana (ALBUQUERQUE et al., 1999; LIESEN et al., 2008), antiprotozoária (LIESEN et al., 2008), antirretroviral (RAWAL et al., 2005), analgésica (SANTOS, 2009; LIMA et al., 2010), hipoglicemiante (LEITE et al., 2007) e anti-inflamatória (SANTOS, 2005; COUTO, 2006; PEREIRA, 2007; MAGALHÃES, 2007; SANTOS, 2009; LIMA et al., 2010).

Figura 4 – Estruturas químicas dos anéis de tiazolidina e tiazolidina-2,4-diona.



LIESEN, 2008; SANTOS, 2009. Estruturas químicas dos anéis de a) tiazolidina e b) tiazolidina-2,4-diona.

Em 1980 o Japão desenvolveu as tiazolidinodionas (TDZ), as quais possuem uma estrutura química parcial comum, a tiazolidina-2,4-diona (Figura 4b). A primeira TDZ aprovada pelo FDA foi a troglitazona (Sankyo), em 1997. Destinada para o tratamento do diabetes tipo 2, este fármaco apresentou sérios efeitos hepatotóxicos que culminou na morte de um número considerável de pacientes nos Estados Unidos e Japão, sendo retirada do mercado em 2000 (BUCKINGHAM, 2005). A partir disto, diversos trabalhos foram

desenvolvidos propondo o desenvolvimento de novas TDZs, as quais compuseram sua segunda geração, aprovada pelo FDA em 1999: o maleato de rosiglitazona (Avandia[®], Gsk) e o cloridrato de pioglitazona (Actos[®], Abbott) (SALTIEL; OLEFSKY, 1996; SANTOS, 2009).

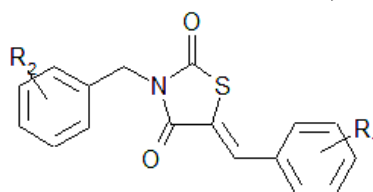
Entretanto, em uma revisão sistemática realizada no ano de 2010 por Steven, Nissen e Wolski observou-se o incremento do risco de infarto do miocárdio em 28% dos usuários de rosiglitazona. Esta e outras análises anteriores culminaram na retirada da rosiglitazona do mercado brasileiro, assim como ocorreu no mercado europeu, segundo a Agência Européia de Medicamentos (do inglês, EMEA), e na venda restrita no mercado norte-americano. Por outro lado, a pioglitazona permanece em uso na atualidade por diversos países, incluindo os Estados Unidos, Japão, Brasil e países da Europa (SALTIEL; OLEFSKY, 1996; ANVISA, 2011).

Recentemente, diversos estudos verificaram atuação neuroprotetora contra isquemia cerebral e hemorragia intracerebral a partir de algumas TZDs (CHEN et al., 2006; LUO et al., 2006; PEREIRA et al., 2006; ZHAO et al., 2007). Tal fato chamou a atenção da sua possível atividade anti-inflamatória, tornando-se, mais tarde, moléculas anti-inflamatórias conhecidas. Segundo Barros e colaboradores (2010), este efeito farmacológico se torna cada vez maior quanto mais estável for o conjunto de ligações estabelecido (ligações de alta afinidade) entre o ligante e o receptor (como, por exemplo, ligações de hidrogênio), a qual repercute na inibição da expressão do NF- κ B, resultando na inibição de substâncias críticas para que o processo inflamatório seja desencadeado ou continue a ser proliferado.

3.3.1.1 LPSF/GQ-130

Em torno dos estudos realizados com as TDZs, o Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, situado na Universidade Federal de Pernambuco (LPSF-UFPE), desenvolveu uma nova série desta classe química: os derivados da 3-benzil-5-benzidileno-tiazolidina-2,4-diona (Figura 5), com pretendida atividade anti-inflamatória, as quais apresentaram resultados satisfatórios.

Figura 5 – Estrutura química do 3-benzil-5-benzidileno-tiazolidina-2,4-diona

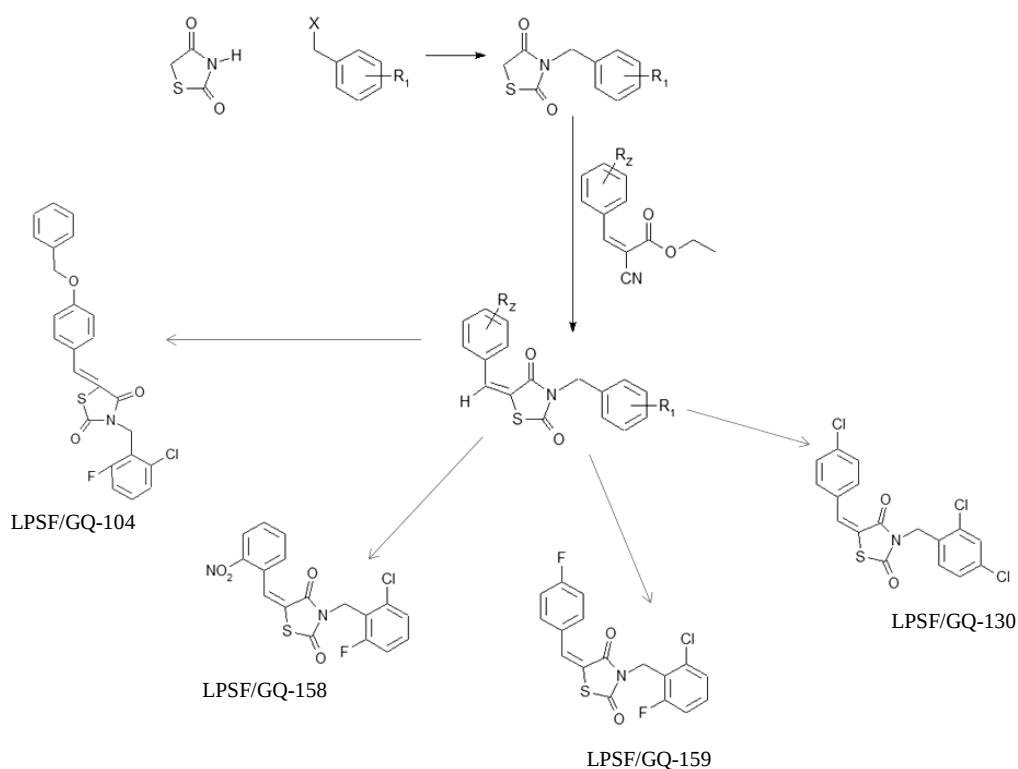


Santos (2009).

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

O estudo de Santos (2009) contemplou a síntese e a verificação do potencial anti-inflamatório, bem como da atividade antinociceptiva e a toxicidade aguda de cada protótipo obtido. A figura 6 representa o diagrama de síntese utilizado para obtenção de quatro moléculas derivadas do 3-benzil-5-benzidileno-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ), cujas estruturas foram devidamente comprovadas através de análises espectrométricas.

Figura 6 – Diagrama de síntese do LPSF/GQ e seus derivados.



SANTOS, 2009.

Segundo o autor, todos os LPSF/GQs apresentaram atividade anti-inflamatória em modelos experimentais *in vivo*, na dose de 10 µmol/kg, administrada por via oral (SANTOS, 2009) (Tabela 1).

Tabela 1 – Atividade anti-inflamatória dos derivados do LPSF/GQ.

Substância de Tratamento	Quantidade administrada ($\mu\text{mol/kg}$) / Via de administração	Número de PMNL (por cavidade)	Inibição da migração celular (%)
LPSF/GQ-158	10/v.o	10,8 +/- 0,8 x10 ⁵	58,5
LPSF/GQ-159	10/ v.o	10,1 +/- 0,8 x10 ⁵	61,1
LPSF/GQ-104	10/ v.o	11,12 +/-0,SE7 x10 ⁵	57,5
LPSF/GQ-130	10/ v.o	7,7 +/- 0,5 x10 ⁵	70,4
Indometacina	28/ v.o	6,5 +/- 0,5 x10 ⁵	75,1
Rosiglitazona	10/ v.o	13,8 +/- 0,6 x10 ⁵	45,4
Controle (solução salina)	-	26,2 +/- 1,5 x10 ⁵	-

Legenda – PMNL: Leucócitos Polimorfonucleares; v.o.: via oral

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 1, o LPSF/GQ-130 (5-(4-cloro-benzidileno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona) obteve os melhores parâmetros e, por isso, foi selecionado para prosseguir os estudos.

No estudo de toxicidade aguda, a nova entidade química (NEQ) LPSF/GQ-130 não levou nenhum animal a óbito com a dose única investigada de 2.000 mg/kg, além de não ser detectada nenhuma variação de peso significativa em relação ao grupo controle, durante todo o período do experimento (14 dias). Portanto, pode-se concluir que o protótipo apresenta baixa toxicidade aguda (SANTOS et al., 2005; SANTOS, 2009).

Também foi realizada a contagem de leucócitos após indução da inflamação a partir de injeção na cavidade peritoneal de tioglicolato de sódio 3% (agente flogístico), com e sem tratamento prévio com o LPSF/GQ-130 e substâncias de referência. O estudo seguiu os critérios de Bonhomme-Faivre e colaboradores (2000). Este estudo também permitiu a verificação da relação dose-resposta na peritonite induzida, onde o tioglicolato de sódio 3% avalia a migração celular de mastócitos e monócitos, e o zimosan avalia a participação de outras células, como os neutrófilos, no mecanismo de ação do protótipo (Tabela 2) (SANTOS, 2009).

Tabela 2 – Estudo dose-resposta do derivado tiazolidínico LPSF/GQ-130 na peritonite induzida por tioglicolato 3% e zimosan.

Substância de Tratamento	Indução por Tioglicolato 3%			Indução por Zimosan		
	Dose *	Nº de PMNL **	Inibição da migração celular (%)	Dose*	Nº de PMNL **	Inibição da migração celular (%)
LPSF/GQ-130	3	8,9+/-1,4 x10 ⁵	66,0	3	14+/-1,6x10 ⁵	46,3
	10	7,7+/-0,5 x10 ⁵	70,4	10	15+/-0,7 x10 ⁵	40,6
	30	8,5+/-0,6 x10 ⁵	67,3	30	9,1+/-0,6 x10 ⁵	64,1
Rosiglitazona	X	x	x	10	8,5+/-1,1 x10 ⁵	66,2
Indometacina	X	x	x	28	12,5+/-1,8 x10 ⁵	52,3
Controle	-	26,2+/-1,5 x10 ⁵	-	-	25,4+/-0,8 x10 ⁵	-

SANTOS, 2009.*Dose em µmol/kg, administrada por via oral; **Número de polimorfonucleares expresso por cavidade.

Entretanto, em nenhum dos dois modelos realizados observou-se a relação dose-dependência. Este estudo denota destacada importância, pois sugere baixa solubilidade aquosa da NEQ, o que promove uma absorção errática e, conseqüentemente, biodisponibilidade e atividade não proporcional à dose administrada (SANTOS, 2009). Além da intensa repercussão clínica na administração oral, esta característica também representa um impasse significativo no desenvolvimento de medicamentos, pois interfere nos processos de obtenção da forma farmacêutica e, obviamente, nos estudos de controle de qualidade que determinam a segurança do mesmo. Desta forma, torna-se clara a necessidade de uma intervenção tecnológica para contornar este problema (RAMA et al., 2006; ALVES, 2010).

3.4 DISPERSÕES SÓLIDAS COMO ALTERNATIVA NO INCREMENTO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DE COMPOSTOS INSOLÚVEIS

Estima-se que aproximadamente 40% dos fármacos disponíveis no mercado e que de 70 a 90% das NEQs que se encontram sob pesquisa e desenvolvimento apresentam baixa solubilidade aquosa (ZHANG et al., 2011) . Uma vez que esta propriedade físico-química pode repercutir na dissolução errática do fármaco no organismo, necessitando muitas vezes do aumento do seu aporte para alcançar a dosagem terapêutica e, além disso, pode influenciar na incidência dos efeitos colaterais do medicamento, esforços constantes são realizados visando incrementar o perfil de dissolução aquosa das substâncias ativas. Segundo Yu e colaboradores (2010), esta característica representa um dos aspectos mais desafiadores no desenvolvimento de medicamentos.

Neste contexto, várias técnicas têm sido descritas na literatura com este objetivo. Dentre as mais citadas, encontram-se a micronização de partículas; a formação de sais; a obtenção de pró-drogas ou polimorfos; a complexação com ciclodextrinas; e a obtenção de dispersões

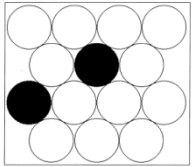
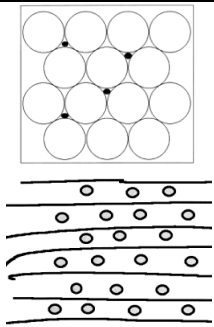
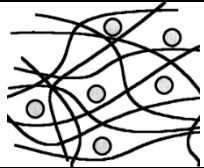
sólidas (DS), dentre outras (CHOWDARY et al., 2011). Apesar de as três primeiras serem comumente utilizadas com a finalidade de incrementar o perfil de dissolução dos fármacos pouco solúveis em água, elas possuem limitações práticas consideráveis e a biodisponibilidade desejada nem sempre é alcançada (JOSHI, 2004). A complexação com ciclodextrinas é um processo de alto custo, cuja eficácia nem sempre compensa o desprendimento financeiro. Já o sistema de DS tem mostrado resultados promissores no incremento da biodisponibilidade destas substâncias (CHIOU; RIEGELMAN, 1971; JOSHI, 2004), além de se apresentar como um artifício de aplicação industrial, pois se trata de uma técnica simples e de baixo custo (ALVES et al., 2012; DHIRENDRA et al., 2009).

As DS são sistemas nos quais um ou mais componentes ativos encontram-se dispersos em uma matriz biologicamente inerte a fim de melhorar a solubilidade, aumentar a taxa de dissolução, modular a ação terapêutica e a permeabilidade do fármaco através das membranas absortivas, e assim, incrementar sua biodisponibilidade oral (ALVES et al., 2012; SINHA et al., 2010). Este sistema, primeiramente descrito na década de 60 (HIRASAWA; OKAMOTO; DANJO, 1998; ALVES et al., 2012), produz uma significativa redução no tamanho da partícula do fármaco, com consequente aumento da uniformidade e superfície de contato, propiciando uma dissolução e absorção mais rápida (BIKIARIS et al., 2005; JANSSENS et al., 2008; DINUZIO et al., 2010). As metodologias frequentemente utilizadas para sua obtenção compreendem o uso da fusão, evaporação do solvente, fusão-solvente e malaxagem (ALVES et al., 2012; CHOWDARY et al., 2011; PATEL et al., 2008). Outros métodos descritos na literatura são a co-precipitação (SINGH et al., 2010) e o método da gota (SHAHAROODI, 2003).

As primeiras DS foram obtidas a partir de carreadores cristalinos, sendo classificadas como de primeira geração. Estas dispersões eram baseadas na formação de misturas eutéticas (LEUNER; DRESSMAN, 2000), as quais reduziam o tamanho da partícula do fármaco e aumentava sua molhabilidade. Entretanto, estes sistemas possuem a desvantagem de formar DS cristalinas, que são termodinamicamente mais estáveis e não liberam o fármaco tão rapidamente quanto no estado amorfo (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Na década de 70 Chiou e Riegelman obtiveram DS a partir de polímeros hidrofílicos, os quais dispersam molecularmente o fármaco na forma irregular do carreador amorfo, sendo denominadas de DS de segunda geração. Segundo Leuner e Dressman (2000), estes sistemas podem ser classificados de acordo com a miscibilidade entre o fármaco e o carregador e de acordo com a maneira como o fármaco encontra-se disperso no carreador polimérico. O Quadro 3 traz as diferenças entre os sistemas supracitados.

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

Quadro 3 – Classificação das Dispersões Sólidas carreadores poliméricos.

Classificação		Descrição	Ilustração
Quanto à miscibilidade entre fármaco-carreador	Contínua	Fármaco e carreador apresentam solubilidade entre si em qualquer proporção	---
	Descontínua	Fármaco e carreador apresentam solubilidade limitada entre si	---
Quanto à distribuição do fármaco no carreador	Substituição	DS de estrutura cristalina, onde as moléculas do fármaco podem tanto substituir moléculas do carreador quanto encaixar-se no interstício entre as moléculas do carreador. A substituição só se fará possível se o tamanho das moléculas do fármaco não diferir de 15% no tamanho das moléculas do carreador.	
	Intersticial	DS de estrutura cristalina em que o fármaco dissolvido ocupa o espaço intersticial entre as moléculas do carreador. Para tanto, o diâmetro das partículas do fármaco não podem exceder 0,56 vezes o diâmetro das partículas do carreador.	
	Amorfo	DS em que o fármaco encontra-se molecularmente disperso num sistema irregular amorfo.	

LEUNER;DRESSMAN, 2000.

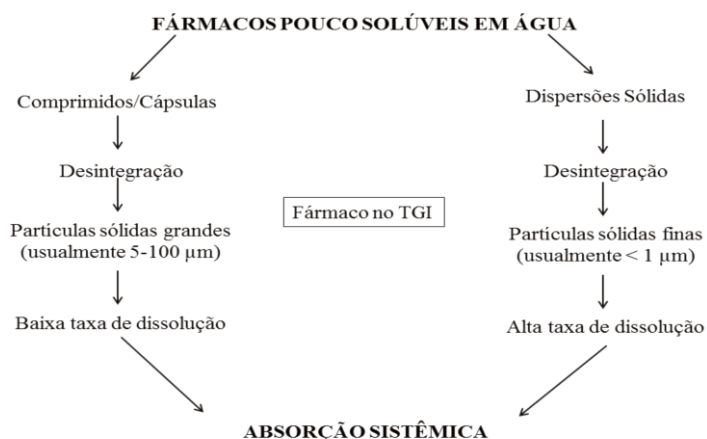
Apesar de poder incrementar cerca de centenas de vezes a solubilidade aquosa do princípio ativo envolvido (HUANG; TONG, 2004), alguns sistemas poliméricos apresentam instabilidade e, portanto, tornam-se sujeitos a transições cristalinas, tanto durante os processos de obtenção do sistema quanto durante seu período de armazenamento (SZTERNER et al., 2010). Esta problemática é particularmente importante em virtude da gama de parâmetros intensamente afetados pela transição cristalina de substâncias farmacêuticas ativas, como as propriedades físico-químicas, termodinâmicas, cinéticas, interfaciais, mecânicas (RAW et al., 2004; GARLAND, 2007; LEE et al., 2011), de estabilidade e, obviamente, solubilidade (STAHLY, 2007). Uma vez que estes itens são essenciais para o desenvolvimento bem sucedido de candidatos a medicamentos, tais divergências podem gerar impacto direto tanto no desempenho e estabilidade do produto farmacêutico, como também na capacidade de processamento do princípio ativo e da mistura na produção do medicamento (RAW et al., 2004; LI, 2008). Segundo Sinha e colaboradores (2010) condições de estresse comuns, como

força de cisalhamento, aquecimento e resfriamento, comumente observado na obtenção de grandes escalas de DS, são capazes de gerar recristalização.

Com o intuito de contornar este problema, alguns fatores como interações fármaco-polímero ou confinamento molecular provocam redução da mobilidade molecular e, assim, inibem a recristalização da substância ativa (YU et al., 2010; SUN; JU; LEE, 2011). Segundo Al-Obadi (2011), a imobilização molecular pode ser alcançada através do uso de carreadores ou matrizes capazes de formar ligações não covalentes com o fármaco, como as ligações de hidrogênio (YU et al., 2010; AL-OBAIDI, 2011). Ademais, algumas interações específicas podem gerar desvio positivo na temperatura de transição vítrea da substância ativa, proporcionando maior estabilidade do sistema (DINUNZIO et al., 2008). Os surfactantes ou agentes com propriedades emulsionantes também exercem este papel, com consequente incremento no perfil de dissolução. Estes sistemas ternários (fármaco, polímero e tensoativo) caracterizam a terceira geração das DS (ALVES, 2012), e possuem o objetivo de alcançar o mais elevado grau de biodisponibilidade dos fármacos pouco solúveis, além de estabilizar tais sistemas (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Em comparação às formulações convencionais de cápsulas e comprimidos, as DS apresentam a destacada vantagem de liberar o fármaco carregado na forma de partículas de tamanho inferior a 1 μm , em contraste com um tamanho superior a 5 μm , no caso dos medicamentos convencionais (Figura 7) (SERAJUDDIN, 1999; ALVES et al, 2012).

Figura 7 – Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS.

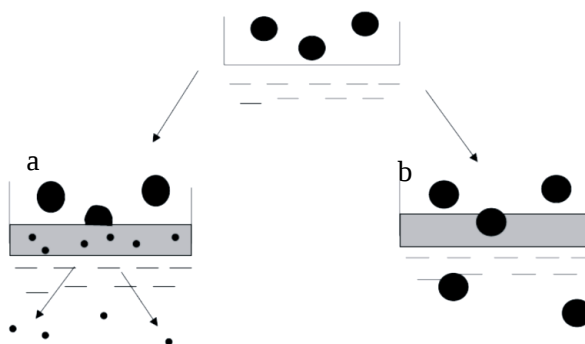


Fonte: Adaptado de ALVES et al., 2012

Craig (2002) propôs uma explicação para esta redução no tamanho de partícula a partir da utilização de polímeros hidrofílicos como matriz da DS. Os autores propõem a formação

de lâminas ricas em polímeros, que quando entram em contato com o meio de dissolução geram um gradiente de concentração entre a área externa do aglomerado de pó e a área interna. Assim, através do fenômeno da difusão, o fármaco atravessa as lâminas ricas em polímero para alcançar o meio de dissolução. Este processo é suficientemente rápido, de modo que as partículas de fármaco solúveis no polímero não conseguem se rearranjar para formar formas cristalinas maiores, e são assim liberadas para o meio (Figura 8a).

Figura 8 – Diagrama esquemático proposto por Craig e colaboradores (2002) que mostra o destino de partículas de fármaco durante o processo de dissolução a partir de dispersões sólidas usando polímeros hidrofílicos.



Fonte: CRAIG, 2002

Este fenômeno é frequentemente observado quando se utiliza um aporte pequeno de fármaco na obtenção das DS. Nesta situação, a velocidade de dissolução do fármaco é determinada pela velocidade de dissolução do carreador. Seguindo esta afirmação, Lloyd e colaboradores (1999), em estudo com diferentes formas cristalinas do paracetamol, verificaram que se a taxa de dissolução do fármaco for dominada pelas propriedades do carreador, a forma física do princípio ativo será irrelevante para taxa de liberação final.

Por outro lado, a utilização de grandes aportes de fármaco na obtenção das DS torna sua taxa de dissolução tão pequena quanto a do fármaco puro. Nestas situações, a estrutura cristalina do fármaco utilizado possui grande repercussão na dissolução da dispersão final. Além disso, quando a velocidade necessária para atravessar as lâminas ricas em polímero é muito pequena, as moléculas da substância ativa conseguem se rearranjar de tal modo que suas propriedades físicas são mantidas (Figura 8b), não sendo observados benefícios significativos na dissolução (CRAIG et al., 2002).

3.4.1 Principais métodos empregados para obtenção de DS

As DS podem ser obtidas através de diferentes métodos, entretanto cada um deles gera um produto com características físico-químicas e de estabilidade particulares. Assim, a avaliação desta interferência é estabelecida como pré-requisito significativo no desenvolvimento destes sistemas, visando à escolha do método mais eficiente e estável (BIKIARIS et al., 2005).

3.4.1.1 Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da Fusão

As DS podem ser obtidas através do aquecimento do fármaco junto ao carreador até uma temperatura ligeiramente superior ao ponto de fusão daquele que apresentar o valor mais elevado, sendo mantido em aquecimento até alcançar a formação de uma solução homogênea, macro e microscopicamente, seguido do resfriamento sob agitação constante. Este método, denominado “método de fusão”, apresenta maior probabilidade de quebra do estado cristalino do fármaco para o estado amorfo (KIM et al., 2006), e a depender de sua solubilidade no carreador, pode gerar soluções sólidas, situação em que o fármaco permanece molecularmente disperso no polímero, ainda que no estado sólido (JUPPO et al., 2003). Por outro lado, o método demonstra-se inadequado para fármacos termolábeis e/ou quando ocorre polimorfismo, devido a potencial transição cristalina durante a fusão dos compostos (ZAJC et al., 2005).

A utilização do método por extrusão de fase quente (*hot melt extrusion*) foi iniciada em 1971 na indústria farmacêutica, e tem ganhado grande aceitação como método de escolha para obtenção de DS nos últimos anos (DINUZIO et al., 2010; SINGH et al., 2010; QI et al., 2007). Segundo Qi e colaboradores (2008), trata-se de um método industrialmente viável por possuir uma única etapa e não envolver o uso de solventes. Este processo é considerado como uma plataforma tecnológica que proporciona a oportunidade de misturar intensivamente o fármaco e o carreador sob elevadas temperaturas, obtendo a DS após arrefecimento (GUNS et al., 2012). Apesar de os processos que requerem elevadas temperaturas serem considerados limitados (SERADUJIN et al., 1999), diversos estudos tem demonstrado o sucesso desta técnica na obtenção de DS (ZHENG et al., 2007; LI et al., 2006; MILLER et al., 2006; CHOKSHI et al., 2005; ZHU et al., 2006; DINUZIO et al., 2010). Um dos artifícios utilizados para reduzir o aumento excessivo na temperatura é através da utilização de agentes plastificantes, frequentemente utilizados para aplicar a técnica a fármacos termicamente

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

sensíveis (DINUZIO et al., 2010; CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007; REPKA et al., 2008). Outra alternativa, citada por Singh e colaboradores (2010), é a prévia amorfização do fármaco por evaporação do solvente e posterior obtenção das DS na extrusora. Além disso, Saerens e colaboradores (2011) defendem que nem todos os fármacos termolábeis devem ser excluídos do processo, uma vez que o tempo de exposição às altas temperaturas é muito curto.

3.4.1.2 Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da Evaporação do Solvente

A obtenção de DS a partir da evaporação do solvente foi primeiramente descoberta por Tachibana e Nakumara (1965), na qual utilizou o vácuo como método de secagem. Esta nova metodologia apresentou diversos benefícios em comparação a utilização da fusão, como a utilização de substâncias termolábeis e polímeros de alto ponto de fusão. Isto porque a técnica de evaporação do solvente emprega uma faixa de temperatura de 23-65°C e não necessita liquefazer o carreador para obtenção das DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Em linhas gerais, a técnica baseia-se na solubilização simultânea do fármaco e do carreador em um determinado solvente, o qual é submetido a um processo de secagem. A depender da técnica de secagem escolhida pode haver modificações nas características físico-químicas do produto final (ALVES, 2012). A literatura descreve, além da utilização do vácuo, o aquecimento da mistura, a evaporação lenta do solvente a baixas temperaturas e o uso de outros equipamentos de secagem tais como o rotaevaporador e o *spray-drying*, dentre outros (GIRI et al., 2012).

Em 1966 Mayersohn e Gibaldi incrementaram 11 vezes a taxa de dissolução da griseofulvina a partir da obtenção de DS por evaporação do solvente com polivinilpirrolidona (PVP) em clorofórmio. Yadav e colaboradores (2011) obtiveram DS através deste método a base de ketoprofeno com secagem do solvente (EtOH) em banho-maria na temperatura de 45-50°C e posterior armazenamento em dissecador. Este procedimento gerou incremento na taxa de dissolução do ketoprofeno de até 76% em 30 minutos, em comparação a 12% do fármaco puro no mesmo intervalo de tempo. Mishra e colaboradores (2011) obtiveram incremento de hidrossolubilidade para pioglitazona de 98,05% através da obtenção de DS com polietilenoglicol 6000 (PEG 6000) na proporção de 1:3 (fármaco:excipiente), utilizando como solvente o álcool metílico (MeOH). Adicionalmente, o produto obteve rendimento de aproximadamente 97% e melhora significativa das propriedades de fluxo.

A utilização do *spray-drying* é um dos mais comuns métodos para evaporação do solvente. Este consiste em dissolver ou suspender o fármaco e o carreador em solvente orgânico ou em um sistema hidro-orgânico e, em seguida, libera um jato de ar aquecido para

remoção do mesmo (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). A utilização desta técnica frequentemente envolve o objetivo de obter materiais amorfos (PAUDEL et al., 2012), apesar de também ser possível a obtenção de sistemas cristalinos, semi-cristalinos e cristais metaestáveis, dentre outros (CORRIGAN, 1995). A maioria dos carreadores utilizados para obtenção de sistemas amorfos são os polímeros hidrofílicos, pois reduzem a mobilidade molecular do fármaco inibindo assim sua recristalização (BEE; RAHMAN, 2010). Para substâncias insolúveis, a utilização desta técnica para obtenção de DS se torna possível se tanto o fármaco quanto o carreador forem solúveis em um mesmo solvente orgânico volátil ou uma mistura deles (PAUDEL et al., 2012). Diversos trabalhos foram recentemente publicados demonstrando sucesso na obtenção da DS amorfas, como no caso da atrovastatina (KIM et al., 2011), do sulfato de salbutamol (GRISEDAL et al., 2012) e de diversos candidatos ao desenvolvimento da indústria de medicamentos Pfizer® utilizando succinato de acetato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMC-AS) como carreador (CURATOLO et al., 2009).

3.4.1.3 *Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da técnica fusão-solvente*

Esta técnica propõe o aquecimento do carreador até temperatura ligeiramente superior ao seu ponto de fusão, enquanto o fármaco é previamente solubilizado em solvente orgânico. Quando as duas fases estão liquefeitas, adiciona-se a solução contendo o fármaco ao carreador fundido. Posteriormente o sistema é resfriado sob agitação constante e levado à secagem. Este método, desenvolvido por Francois e Jones em 1978 (SINGH et al., 2010), torna-se útil para fármacos que tenham elevado ponto de fusão ou termolábeis, no entanto, é um método pouco relatado na literatura (ALVES et al., 2012).

3.4.1.4 *Obtenção de Dispersões Sólidas por meio da malaxagem*

Uma vez que a quantidade de solvente orgânico utilizada nos processos de obtenção de DS deva ser a menor possível, métodos alternativos foram introduzidos a fim de atingir este objetivo, como a malaxagem (TRAN et al., 2011). Neste método, o carreador e o fármaco são misturados por diluição geométrica e a mistura é malaxada com mínima a adição de solvente (equivalente à 30% do peso dos pós), até alcançar consistência úmida. A mistura então é submetida a secagem para obtenção do produto final. A secagem do material pode ser feita em estufa ou diretamente na malaxadora acompanhada de pulverização para uniformizar o tamanho de partícula (TRAN et al., 2011; ALVES et al., 2012). Devido à simplicidade, ao

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

elevado rendimento e à facilidade de transposição de escala, este método é um dos mais utilizados na indústria farmacêutica (LIMA et al., 2008).

Uma alternativa à malaxagem é o método de *cogriding*, onde o fármaco é triturado em uma mínima quantidade de solvente até ser completamente dissolvida. Posteriormente o carreador é adicionado à mistura e a suspensão é constantemente triturada a temperatura ambiente até o solvente ser completamente evaporado (TRAN et al., 2011). A utilização deste método demonstrou sucesso na obtenção de DS com a pioglitazona, utilizando lactose ou Starch 1500 (amido solúvel) como carreadores (CHOWDARY et al., 2011).

MATERIAL E MÉTODOS

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 LPSF/GQ-130

O 5-(4-cloro-benzidileno)-3-(2,4-dicloro-benzil)-tiazolidina-2,4-diona (LPSF/GQ-130), teor igual a 99,7%, foi sintetizado e cedido pelo LPSF-UFPE (lote LTM0412), na quantidade de aproximadamente 20 g.

4.2 PARTE I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA LPSF/GQ-130

4.2.1 Matérias-primas e solventes

Foram utilizados os solventes: álcool etílico P.A e álcool metílico P.A (Vetec®, lotes 1007904 e 1002744, respectivamente); água ultrapura (MILLI Q®), acetonitrila (Carlo Erba®, lote V9E853259E) e clorofórmio deuterado (cedido pela central de química analítica – UFPE). Outros materiais, como membranas filtrantes de porosidade 0,22µm Millipore® e de 0,45µm de celulose foram utilizados. As substâncias hidróxido de sódio (NaOH), fosfato de potássio dibásico, ácido clorídrico (HCl) e peróxido de hidrogênio (H₂O₂) foram utilizadas da marca Vetec®.

4.2.2 Determinação das propriedades organolépticas

A matéria prima foi visualizada a olho nu, sobre uma placa de petri para verificação do aspecto, cor e odor (Farmacopéia Brasileira 5ª edição)

4.2.3 Caracterização térmica e determinação da pureza

A caracterização térmica do LPSF/GQ-130 foi realizada por meio de um calorímetro da marca Shimadzu®, modelo DSC-60, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, numa faixa de aquecimento de 25 a 300°C, para obtenção dos termogramas. Para este método a massa das amostras utilizadas foi em torno de 2 mg (± 0,1) acondicionadas em porta-amostra de alumínio hermeticamente fechados, devido aos três átomos de cloro presentes no protótipo, que podem ser liberados na forma de gás quando exposto ao calor, danificando o equipamento. A determinação da pureza foi realizada

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

também de acordo com este método, porém utilizando uma razão de aquecimento de $2^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, conforme recomendações de Araújo e colaboradores (2010). As amostras foram verificadas em triplicata. Antes dos ensaios realizou-se calibração do equipamento via ponto de fusão do Índio ($156,6 \pm 0,3^{\circ}\text{C}$) e Zinco ($419,6^{\circ}\text{C} \pm 0,3$). O fluxo de calor e entalpia foram calibrados via ponto de fusão do Índio ($18,59 \text{ J.g}^{-1} \pm 0,3$), sob as mesmas condições das amostras. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS[®] (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu[®].

As curvas TG, DTA e a primeira derivada da curva TG (DTG) foram obtidas a partir de termobalança Shimadzu[®], modelo DTG-60H, sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de $50 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$, razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, numa faixa de aquecimento de 25 a 600°C . Para este método foi utilizado massa das amostras de 3 mg ($\pm 0,1$), acondicionado em porta-amostra de alumínio. As análises foram realizadas em triplicata. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado com perdas de massa definidas. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS[®] (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu[®].

4.2.5 Análises espectrofotométricas: identificação da estrutura molecular

4.2.5.1 Ressonância Magnética Nuclear de ^1H e ^{13}C (RMN)

A amostra de LPSF/GQ-130 foi preparada em tubo de penicilina e solubilizada em clorofórmio deuterado, sendo analisada em equipamento de ressonância magnética nuclear (Varian[®]) de 400 MHz.

4.2.5.2 Espectrometria de absorção na região do Infravermelho

O espectro de infravermelho foi obtido utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) (Miracle ATR, Pike Technologies Spectroscopic Creativity) com cristal de selenato de zinco. A amostra a ser analisada foi transferida diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR. As micrografias foram obtidas com varredura de 4000 a 650 cm^{-1} em resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.5.3 Espectrometria de massas

A espectrometria de massas foi realizada em espectrômetro de massas Shimadzu[®] por incisão direta ionizada no modo negativo. A amostra de LPSF/GQ-130 foi primeiramente solubilizada em acetonitrila (grau CLAE) e injetada pequena alíquota no equipamento. Foi utilizado acetonitrila, álcool metílico e água como fase móvel, sendo seu tempo de retenção 0,647 min.

4.2.6 Granulometria a laser e determinação da área superficial específica

A granulometria a laser foi realizada no Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE). O experimento foi realizado por via úmida, utilizando álcool etílico como meio de dispersão. A preparação da suspensão de LPSF/GQ-130 em EtOH foi submetida a agitação por ultrassom com duração de 5 minutos. A análise foi realizada em analisador de distribuição de tamanho de partícula (Microtac[®], S3500), com módulo de medida SDC, taxa de fluxo de 70% e modelo de difração de Fraunhofer.

A medida da área superficial específica foi obtida por adsorção física de nitrogênio sobre pó material, pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET). Portanto, foi utilizado um analisador de área superficial ASAP2440 micrometrics[®], munido do software para determinar a área superficial (S_{BET}). Foram pesados aproximadamente 100 mg da amostra a qual foi degaseificada por 48 h a 110°C para remover qualquer material adsorvido na superfície do material. A amostra do protótipo LPSF/GQ-130 foi analisada com a temperatura de atomização de 160°C no fluxo de ar de 350 mL/h.

4.2.7 Difração de raios X

O difratograma do protótipo foi obtido no difratômetro SIEMENS (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com anodo de cobre. A amostra foi analisada no intervalo de ângulo $2^\circ\theta$ de 2-60 a uma velocidade de digitalização de $0,02^\circ\ 2^\circ\theta/s$. A amostra foi preparada em suportes de vidro com uma fina camada de material do pó sem solvente.

4.2.8 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A MEV foi realizada no laboratório de microscopia eletrônica do Departamento de Física da UFPE, para avaliação do tamanho e forma dos cristais. A amostra foi montada em fita dupla-face de carbono, e metalizada com ouro por 15 minutos. A análise foi realizada em microscópio FEI®, modelo Quanta 200F, com 200kV de voltagem de aceleração, baixo vácuo (0.5torr), emissor FEG e elétrons secundários como modo de aquisição de imagem.

4.2.9 Estudo preliminar de degradação forçada

4.2.9.1 Hidrólise e oxidação

Os estudos prévios de degradação hidrolítica foram conduzidos com a matéria prima LPSF/GQ-130, utilizando soluções de HCl, NaOH e água ultrapura para verificação das hidrólises ácida, básica e neutra, respectivamente, à temperatura ambiente e sob proteção da luz. Para verificação das hidrólises, as amostras foram solubilizadas em solução de HCl e NaOH de 0,01M; 0,1M e 1M, avaliando o comportamento por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) nos tempos 0h, 24h e 48h. A hidrólise neutra foi avaliada variando apenas o tempo de exposição ao solvente aquoso, também de 0h, 24h e 48h.

A degradação oxidativa foi conduzida utilizando solução de peróxido de hidrogênio 1, 3 e 9%, e avaliados seus comportamentos por CLAE nos tempos 0h, 24h e 48h.

Já que o protótipo não possui um método indicativo de estabilidade, que determina o teor de protótipo e suas substâncias relacionadas, optou-se por utilizar as condições aplicadas à rosiglitazona e pioglitazona, moléculas estruturalmente semelhantes ao LPSF/GQ-130, descritas nos trabalhos de Gomes (2004) e Varanasi e colaboradores (2008). Neste contexto, foram obtidas três curvas autênticas do LPSF/GQ-130 nas concentrações de 25, 50 e 100 µg/mL, obtendo-se $r^2=0,999$ (Equação 1).

$$\text{Concentração Protótipo} = \frac{(\text{área} - 95003)}{57938,95} \quad (\text{Equação 1})$$

4.2.9.2 Cinética de degradação térmica

As curvas TG, DTA, assim como a primeira derivada das curvas TG (DTG), foram empregadas para caracterização do protótipo e análise da cinética de degradação através de uma termobalança Shimadzu®, modelo DTG-60H, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa das amostras analisadas em torno de 3 mg ($\pm 0,1$) acondicionadas em porta-amostras de alumínio. A caracterização foi realizada com aquecimento das amostras na faixa de temperatura de 25 a 600°C e razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado com perdas de massa definidas. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS® (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu®.

O estudo cinético não-isotérmico foi realizado conforme método de Ozawa (1965), com aquecimento das amostras até 600 °C, e razões de aquecimento de 5; 10; 15 e 20°C.min⁻¹. Para o tratamento dos dados, foi utilizado o modelo proposto por Ozawa (1965), conforme programa de análise cinética desenvolvido pela Shimadzu®. O coeficiente angular (slope) do gráfico que correlaciona log A vs. 1/T (K⁻¹) fornece a E_a do processo. Os valores do fator frequência (A) e ordem de reação também são obtidos neste estudo cinético, a partir do gráfico que correlaciona a massa residual da amostra pelo tempo reduzido em minutos (OZAWA, 2000; RODANTE; CATALANI; VECCHIO, 2002; CIDES et al., 2006).

4.3 PARTE II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA DOSEAMENTO DO LPSF/GQ-130

4.3.1 Matéria-prima, reagentes e vidrarias

Foram utilizados os solventes orgânicos álcool metílico P.A e álcool etílico P.A (Vetec®, lotes 1007904 e 1002744, respectivamente); acetona P.A e diclorometano P.A (Dinâmica®, lotes 42061 e 1002744, respectivamente); e acetonitrila (ACN) grau CLA (Carlo Erba®, lote V9E853259E). A água utilizada foi ultrapurificada pelo equipamento MilliQ Millipore® (Milli-Q® System, Massachusetts, USA). O LPSF/GQ-130 (lote LTM0412, teor 99,37%) foi sintetizado e cedido pelo LPSF-UFPE. Todas as vidrarias utilizadas foram volumétricas (Satelit®), com certificado de calibração por lote pelo fabricante.

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

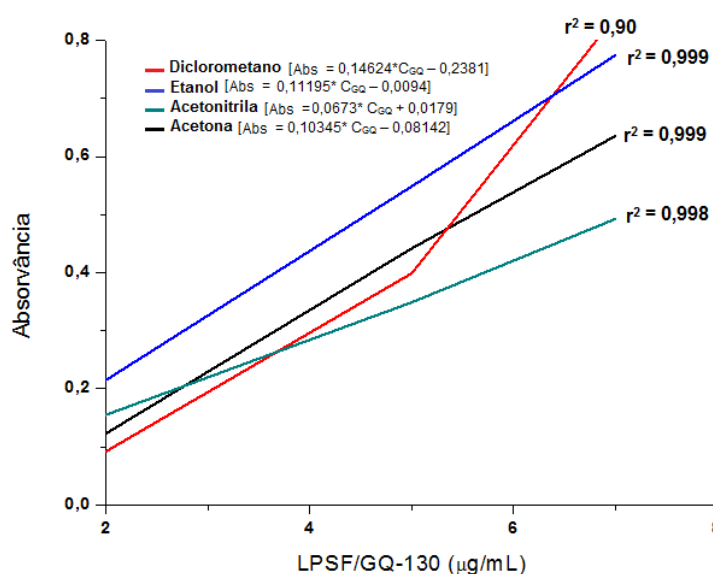
4.3.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados no estudo foram Balança Analítica Bioprecisa®, modelo FA2104N, Ultra-som 1.500 Barnson® (70 W potência) e Cromatografo Líquido de Alta Eficiência (CLAE-DAD) modelo DGU-20 A₅, Shimadzu®.

4.3.3 Determinação da solubilidade quantitativa do LPSF/GQ-130 em solventes orgânicos

A solubilidade qualitativa do LPSF/GQ-130 foi conduzida em acetona, diclorometano, álcool etílico e acetonitrila. Foram obtidas soluções concentradas de LPSF/GQ-130 em cada um desses solventes (100 µg/mL), as quais foram diluídas para obtenção de três soluções diluídas (2, 5 e 7 µg/mL) (Figura 9), utilizadas para confecção de três curvas de calibração autênticas para cada solvente. Posteriormente, foi adicionado excesso de LPSF/GQ-130 a 10 mL de cada solvente, em triplicata. As amostras foram filtradas e diluídas na proporção de 1:100 para leitura em espectrofotômetro na região do ultravioleta visível (UV-vis) em varredura. Os resultados foram transformados em concentração e multiplicados pelo fator de correção (100).

Figura 9 – Curvas de calibração obtidas para o LPSF/GQ-130 em cada solvente orgânico testado



4.3.4 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de LPSF/GQ-130

O solvente orgânico utilizado no preparo das soluções diluentes do método analítico foi selecionado de acordo com os resultados obtidos no estudo de solubilidade qualitativa. A área do pico correspondente ao LPSF/GQ-130 observada por CLAE-DAD foi utilizada para definir o melhor sistema de diluição (100% ACN; 70:30 ACN/H₂O; 50:50 ACN/H₂O) e a forma e o tempo de agitação (5 min por ultrassonicação e agitação mecânica; e 10 min por ultrassonicação), utilizando tratamento estatístico por análise de variância (ANOVA) *One-way*, com um nível de significância de 95%, através do software OriginPro 8[®]. Já o tempo de retenção do LPSF/GQ-130 foi utilizado como parâmetro para definição da composição e o fluxo da fase móvel, além da temperatura de execução do referido método.

4.3.4.1 Determinação da composição da fase móvel

Foram preparadas três soluções concentradas (100 µg/mL) de LPSF/GQ-130 em ACN, as quais foram sonicadas por 10 min, sendo posteriormente diluídas até a obtenção de três soluções de 10 µg/mL, para cada solução concentrada. As soluções diluídas foram filtradas em filtro Millipore® e acondicionadas em vials. Estas amostras foram utilizadas para testar as composições da fase móvel, com parâmetros fixos de temperatura (25°C), fluxo (1,5 mL/min) e volume de injeção das amostras (20 µL) (Quadro 4).

Quadro 4 – Composição das fases móveis utilizadas no desenvolvimento do método de quantificação por CLAE para o LPSF/GQ-130.

Fase	Composição
A	75% ACN + 15% MeOH + 10% H ₂ O
B	65% ACN + 15% MeOH + 20% H ₂ O
C	65% ACN + 35% H ₂ O
D	75% ACN + 25% H ₂ O
E	85% ACN + 15% H ₂ O

4.3.4.2 Determinação do sistema de diluição das amostras de LPSF/GQ-130

Três tipos de diluição foram testados utilizando a melhor fase móvel, determinada no experimento anterior. Foram preparadas três soluções de 100 µg/mL em ACN pura e, a partir destas, três soluções diluídas foram preparadas na concentração de 10 µg/mL: 1) em ACN pura; 2) em ACN/H₂O (70:30) e 3) em ACN/H₂O 50:50. As amostras foram previamente

filtradas em filtro Millipore para leitura no equipamento. O sistema de diluição das amostras foi definido em relação a área detectada pelo aparelho, onde aquele sistema que apresentou a maior área foi o escolhido para dar continuidade ao desenvolvimento do método.

4.3.4.3 Determinação do método de obtenção das soluções concentradas

Após definição do sistema utilizado para diluir as amostras a serem lidas no CLAE-DAD, variou-se o método e o tempo de agitação no preparo das soluções concentradas (100 µg/mL). Assim, foram testados além da sonicação por 10 minutos, a sonicação por 5 minutos e a agitação manual por 5 minutos. As soluções concentradas foram diluídas a fim de obter concentração de 10 µg/mL em ACN/H₂O (70:30), com posterior filtração em filtro Millipore e injeção no equipamento.

4.3.4.4 Determinação dos parâmetros do equipamento

Com a fase móvel e o método de obtenção das soluções concentradas e diluídas definidas, variou-se a temperatura do forno (30 e 25°C) e o fluxo da fase móvel (1,5 e 2,0 mL/min). A escolha destes parâmetros levou em consideração a área dos picos e o tempo de retenção da amostra.

4.3.5 Validação do Método de Quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE-DAD

A validação da metodologia analítica proposta teve os parâmetros robustez, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão, exatidão e especificidade conforme critérios estabelecidos pela *International Conference Harmonization* (ICH). A confiabilidade dos parâmetros pode ser avaliada pelo coeficiente de variação (CV %) ou através do desvio padrão relativo de uma série de medidas. Cada parâmetro foi tratado estatisticamente por análise de variância (ANOVA) *One-way*, a um nível de significância de 95%. Para cada conjunto de análises foi admitido um valor de CV % inferior a 5%.

4.3.5.1 *Preparo das soluções concentradas*

As soluções concentradas de LPSF/GQ-130 foram obtidas a partir da completa solubilização de 0,01g da NEQ em acetonitrila grau HPLC, sendo esta solução submetida a sonicação por 10 min, adquirindo uma concentração final de 100 µg/mL.

4.3.5.2 *Preparo das soluções diluídas*

As soluções diluídas foram preparadas a partir da retirada de alíquotas pré-estabelecidas da solução concentrada e tendo seu volume completado para 25 mL com solução de ACN/H₂O (70:30). As amostras foram previamente filtradas em filtro Millipore e acondicionadas em vials para leitura no CLAE-DAD.

4.3.5.3 *Linearidade*

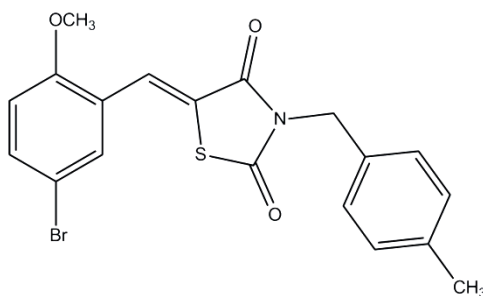
O quesito linearidade foi avaliado a partir da obtenção de sete soluções diluídas, finalizadas com as seguintes concentrações: 10, 20, 30, 40, 50, 60 e 70 µg/mL. Para cada concentração relacionou-se a área apresentada no equipamento e plotou-se uma reta, onde o eixo “x” corresponde a concentração das amostras e o eixo “y” corresponde a área observada no equipamento. Os dados pertinentes a reta, como o “R” quadrático (r^2), coeficiente de linearidade (*intercept*) e o coeficiente angular (*slope*) foram obtidos a partir da utilização do programa OringPro 8[®].

4.3.5.4 *Especificidade*

O quesito especificidade foi avaliado a partir da obtenção de uma solução concentrada de LPSF/GQ-130 com contaminação por LPSF/GQ-16 (Figura 10) em ACN grau HPLC. Assim, seguiu-se inteiramente o método de obtenção da solução concentrada, porém com o LPSF/GQ-130 contaminado. A solução foi posteriormente diluída para 40 µg/mL de LPSF/GQ-130, ponto médio da reta obtida para linearidade. As amostras foram previamente filtradas em filtro Millipore. A especificidade foi avaliada qualitativa, a partir da visualização de novos picos referente à substância contaminante, e quantitativamente, através de tratamento estatístico por análise de variância (ANOVA) *One-way*, a um nível de

significância de 95%, e da verificação do CV% obtido entre as áreas de LPSF/GQ-130 a 40 µg/mL com e sem a contaminação.

Figura 10 – Estrutura molecular do LPSF/GQ-16.



4.3.5.5 Exatidão

Foram preparadas três soluções diluídas de LPSF/GQ-130 em ACN/H₂O (70:30) a 20, 40 e 60 µg/mL. As concentrações obtidas em relação a área fornecida pelo equipamento foram estatisticamente tratadas pelo método ANOVA.

4.3.5.6 Precisão

Repetibilidade

Para avaliar o quesito repetibilidade foram verificados os valores das áreas obtidas em seis diferentes amostras diluídas (40 µg/mL). A partir destes valores foi calculada a média e o desvio padrão dos resultados e, posteriormente, o coeficiente de variação (CV%) da análise, utilizando o programa Microsoft Excel 2010 como ferramenta.

Precisão Intermediária

A precisão intermediária foi avaliada a partir da variação de analistas e dos dias de execução do preparo de amostras diluídas a 40 µg/mL (Quadro 5). A partir das concentrações obtidas foi realizado teste estatístico por análise de variância (ANOVA) *One-way*, a um nível de significância de 95%, através do software OriginPro8[®]. Adicionalmente, foram calculadas as médias e os desvios padrão dos resultados e, posteriormente, o coeficiente de variação (CV%) da análise, utilizando o programa Microsoft Excel 2010 como ferramenta.

Quadro 5 – Planejamento da precisão intermediária para validação do método de quantificação por CLAE para o LPSF/GQ-130.

Variação do analista	Variação do dia	Amostra
ANALISTA 1	1º DIA	F1
ANALISTA 1	3º DIA	F3
ANALISTA 2	1º DIA	G1
ANALISTA 2	3º DIA	G3

4.3.5.7 Robustez

Para verificação da robustez do método proposto foram variadas as temperatura do forno do equipamento (24, 25 e 26°C) e o fluxo da fase móvel (1,9; 2,0; e 2,1 mL/min). A partir das áreas dos picos obtidas foi calculada a média e o desvio padrão dos resultados e, posteriormente, o coeficiente de variação (CV%) da análise, utilizando o programa Microsoft Excel 2010 como ferramenta. Também foi aplicado o teste estatístico ANOVA, com 95% de significância, através do software OringPro[®], em duas etapas.

4.4 PARTE III: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA O LPSF/GQ-130

4.4.1 Matérias-primas e Reagentes

Foram utilizadas as matérias-primas e reagentes: LPSF/GQ-130 (teor 99,37%); hidróxido de sódio (NaOH); dihidrogeno fosfato de potássio (H₂KPO₄); fosfato de sódio dibásico (Na₂HPO₄); ácido cítrico; ácido clorídrico; cloreto de sódio (NaCl); água ultrapurificada obtida por MilliQ Millipore[®] (Milli-Q[®] System, Massachusetts, USA); e lauril sulfato de sódio (LSS). Para execução do experimento o LPSF/GQ-130 foi inserido em cápsulas gelatinosas transparentes nº 4 (Capsugel[®]).

4.4.2 Equipamentos e Vidrarias

Apenas vidrarias volumétricas Satelit[®] com certificado de calibração por lote foram utilizadas no desenvolvimento do método. Os equipamentos utilizados no estudo foram Balança Analítica Bioprecisa[®], modelo FA2104N, Dissolutor Varian[®] VK 7010 e Cromatografo Líquido de Alta Eficiência (CLAE-DAD) modelo DGU-20 A₅, Shimadzu[®].

4.4.3 Desenvolvimento do Método de Dissolução de LPSF/GQ-130

O desenvolvimento do método de dissolução do protótipo levou em consideração três fatores críticos, a saber: pH, % LSS e volume do meio de dissolução (Tabela 3), tendo seus níveis normalizados para +1, 0 e -1, representando os níveis alto, central e baixo, respectivamente. A escolha das variações e fatores apoiou-se nas diretrizes da RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010. O efeito de cada fator isolado e associado na resposta, sendo a última representada pela área do pico ou pela concentração referente ao LPSF/GQ-130 no CLAE, foi analisado a partir da implementação de um Planejamento Fatorial completo de Montgomery (2001) (Tabela 4). Todas as áreas foram obtidas em triplicatas visando possibilitar uma inferência estatística mais robusta. O cálculo do erro foi realizado em triplicatas no ponto central, visando gerar resultados mais confiáveis. O planejamento experimental consistiu de n^k experimentos, onde o número base “n” indica a quantidade de níveis escolhidos e “k” representa a quantidade de fatores. Com a realização das triplicatas no ponto central para os três fatores e em cada fator variado em dois níveis, totalizaram-se nove experimentos em triplicatas.

Tabela 3 – Níveis normalizados dos fatores empregados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130.

<i>Valores normalizados</i>	<i>A- pH</i>	<i>B – Volume (mL)</i>	<i>C – LSS (%)</i>
-	1,2	800	0,5
0	4,6	900	0,75
+	6,8	1000	1

Tabela 4 – Representação dos experimentos realizados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130, utilizando o planejamento fatorial completo de Montgomery (2001).

<i>Nº experimento</i>	<i>pH (A)</i>	<i>Volume (B)</i>	<i>% LSS (C)</i>	<i>AB</i>	<i>AC</i>	<i>BC</i>	<i>ABC</i>
1	-	+	-	-	+	-	+
2	-	-	+	+	-	-	+
3	+	-	-	-	-	+	+
4	+	+	+	+	+	+	+
5	-	+	+	-	-	+	-
6	+	+	-	+	-	-	-
7	+	-	+	-	+	-	-
8	-	-	-	+	+	+	-
9	0	0	0	0	0	0	0

Com o intuito de observar os efeitos principais e de interação, a equação a ser estimada obedece a seguinte estrutura (Equação 2):

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 A_i + \beta_2 B_i + \beta_3 C_i + \beta_4 AB_i + \beta_5 AC_i + \beta_6 BC_i + \beta_7 ABC_i + u_i \quad (\text{Equação 2})$$

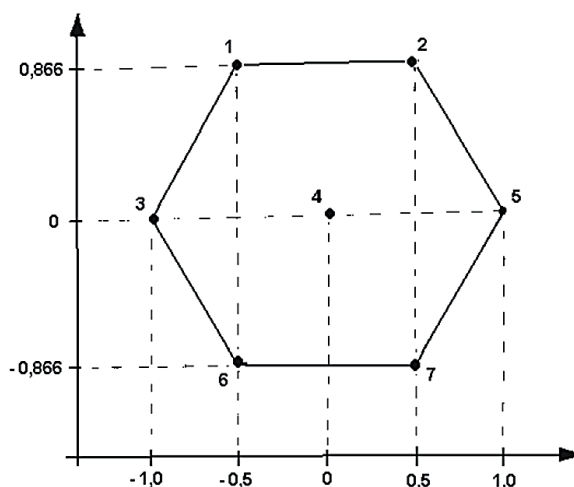
onde “y” representa a área ou concentração do LPSF/GQ-130 obtida, e “A, B e C” são os efeitos principais do modelo, respectivamente, os fatores pH, volume, e %LSS. Os efeitos de interação destes fatores são representados por AB, AC, BC e ABC e o termo de erro aleatório recebe a notação “u”. Para a estimação dos efeitos foi utilizado o método de *Ordinary Least Square* (GUJARATI, 2000), onde os estimadores são obtidos pela equação 3:

$$\hat{\beta} = (X'X)^{-1} X'y \quad (\text{Equação 3})$$

A matriz X é composta pelos números normalizados dos níveis escolhidos para os experimentos. A inferência estatística foi realizada por meio dos testes t-Student e Análise de Variância (ANOVA).

Objetivando otimizar a utilização dos fatores na obtenção da área/concentração do LPSF/GQ-130, o Planejamento de Doehlert e a metodologia de Superfícies de Respostas foram implementados. A Matriz de Doehlert (DOEHLERT, 1970) consiste de um planejamento onde os pontos do experimento são espaçados de forma equidistante, gerando uma figura geométrica condizente com a quantidade de fatores a se otimizar. No caso do experimento deste trabalho, a matriz segue uma estrutura semelhante a da Figura 11, apresentando 5 pontos no eixo das abcissas e 3 pontos no eixo das ordenadas, configurando um hexágono. De forma geral, o planejamento de Doehlert deve seguir um total de $k^2 + k + 1$ experimentos, onde “k” é quantidade de fatores.

Figura 11 – Distribuição dos pontos experimentais de uma matriz Doehlert para otimização de suas variáveis, representada por um hexágono regular com as coordenadas normalizadas.

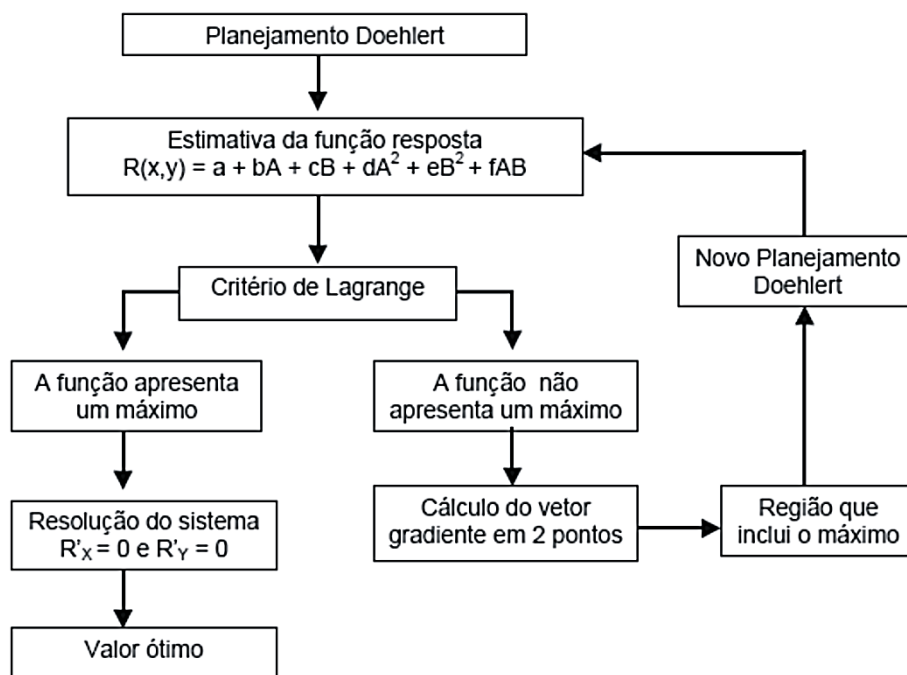


Fonte: BEZERRA, 2003.

Para tanto, fez-se necessário a execução de novos experimentos, utilizando meio de dissolução de pH 4 com as seguintes variações no percentual de LSS: 0,41; 0,75 e 1,12%.

Após obter os experimentos do planejamento de Doehlert, a otimização é originada pela técnica de Superfície de Resposta, sendo necessário estimar uma função matemática que descreva a relação entre os fatores e a resposta (BOSQUE-SENDRA et al, 1995). O critério de Lagrange, que se baseia no cálculo do determinante da matriz Hessiana (composta pelas segundas derivadas), informa a respeito da existência de um máximo, de um mínimo ou de um ponto de sela. O fluxograma expresso na Figura 12 descreve os passos que devem ser seguidos na implementação do planejamento de Doehlert e da metodologia de Superfície de Resposta até encontrar o valor ótimo.

Figura 12 – Diagrama de fluxo para aplicação de planejamento Doehlert na otimização de métodos analíticos.



Fonte: BEZERRA, 2003.

Para a estimação dos efeitos dos fatores e análise inferencial foram utilizados os softwares Stata e Microsoft EXCEL. Para a otimização dos fatores através da metodologia de Superfície de Resposta, precedida pelo planejamento de Doehlert, foi utilizado o software STATISTICA.

4.4.4 Preparo dos meios de dissolução

Os meios de dissolução foram preparados utilizando como solvente principal água ultrapura milliQ®. Para o preparo de um litro de solução tampão pH 1,2 obteve-se 500 mL de solução de NaCl 4 mg/mL, adicionou-se 70 mL de ácido clorídrico puro e completou-se o volume para 1 L com água ultrapura. O preparo de uma solução de biftalato de potássio a 0,05 M forneceu a solução tampão de pH 4,0. O preparo de 1 L de solução tampão de pH 4,6 se procedeu a partir da mistura de 93,5 mL de solução Na_2HPO_4 0,2 M com 106,5 mL de solução de ácido cítrico 0,1 M, tendo seu volume completado para 1 L com água ultrapura. Por fim, a solução tampão de pH 6,8 constituiu-se da mistura de 500 mL de solução H_2KPO_4 0,1M com 236,5 mL de solução NaOH 0,1 M e completou-se o volume para 1 L com água ultrapura. Os quantitativos de LSS foram previamente pesados e teve seu volume completado com as respectivas soluções tampão.

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

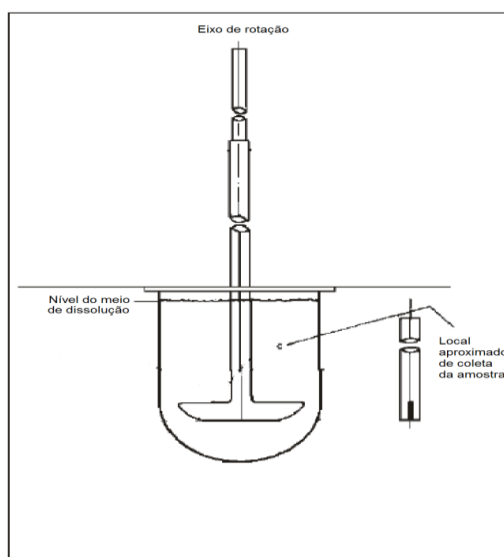
4.4.5 Preparo das amostras de LPSF/GQ-130

As pesagens da matéria-prima para enchimento das cápsulas foram realizadas de acordo com o volume do meio a ser testado, de modo a obter-se uma concentração final máxima de 10 µg/mL. As amostras de LPSF/GQ-130 foram pesadas em balança analítica e inseridas em cápsulas de gelatina dura transparentes. A encapsulação se deu artesanalmente, uma a uma, conferindo-se o conteúdo interno da cápsula através da pesagem prévia do invólucro e a posterior pesagem da cápsula cheia, admitindo variações de $\pm 5\%$ do conteúdo interno.

4.4.6 Condições do equipamento e detalhamento do experimento

O dissolutor foi mantido a temperatura de 37,5°C ($\pm 0,2$ °C) e a temperatura de cada cuba monitorada por termômetros do próprio equipamento. Para o sistema de rotação foi utilizado o aparato pá, 100 RPM, sendo as cápsulas inseridas em âncoras para garantir sua deposição no fundo da cuba. Os tempos de coleta foram de 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min. Em cada coleta foram retirados 3 mL do meio de dissolução com imediata reposição do mesmo volume. As mesmas foram realizadas manualmente, respeitando as dimensões estabelecidas pela farmacopeia brasileira, 5ª edição (Figura 13). As alíquotas retiradas foram filtradas em filtro de papel e, em seguida, em filtro Millipore®, e acondicionadas em vials para leitura em CLAE.

Figura 13 – Profundidade da coleta das amostras obtidas durante a dissolução.



Fonte: Adaptado da Farmacopeia brasileira 5ª edição.

4.4.7 Condições de leitura das amostras obtidas

As amostras foram lidas em CLAE no respectivo meio de dissolução. Uma curva de calibração foi obtida diariamente a partir da obtenção de solução concentrada em ACN pura (100 µg/mL), com a retirada de alíquotas para confecção das amostras diluídas com solvente na proporção final 70:30 (v/v) de ACN/solução tampão. A todos os outros parâmetros foram atribuídas as condições do método desenvolvido e validado para quantificação de LPSF/GQ-130 por CLAE-DAD.

4.5 PARTE IV: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS (DS) A PARTIR DO LPSF/GQ-130

4.5.1 Matéria-prima, reagentes

A obtenção das DS utilizou as matérias primas LPSF/GQ-130 (teor 99,37%), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC); Polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30); Polietilenoglicol 6000 (PEG 6000); Neusilin[®] FH2; Starch 1500[®]; Lactose (Tabletose[®]); Compritol 888 ATO[®]; Lauril sulfato de sódio (LSS); Estearato de polietilenoglicol 100 (EPEG 100) – comercializado por Myrj[®] 59; e polissorbato 80 (PLS 80) – comercializado por Sepitrap[®] 80. Os solventes utilizados foram diclorometano, ACN e álcool etílico.

4.5.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados no estudo foram Balança Analítica Bioprecisa[®], modelo FA2104N, banho-maria com agitação (Dubnoff, Nova ética), Cromatografo Líquido de Alta Eficiência (CLAE-DAD) modelo DGU-20 A₅, Shimadzu[®]. Na compatibilidade físico-química LPSF/GQ-130-excipientes, as curvas TG, DTG e DTA foram obtidas em termobalança Shimadzu[®], modelo DTG-60H.

4.5.3 Estudos de Pré-formulação

4.5.3.1 Seleção qualitativa de candidatos à formação da matriz dos sistemas binários

A seleção qualitativa da matriz das DS partiu de um estudo teórico dos sítios potenciais de formação de ligação de hidrogênio entre o LPSF/GQ-130 e os excipientes candidatos, as quais representam ponto crítico no processo de escolha da matriz do sistema também por serem intensamente relacionadas ao confinamento molecular da substância ativa, inibindo assim sua recristalização (SUN; JU; LEE, 2012). Algumas opções de excipientes foram extraídas de publicações realizadas com a pioglitazona, tiazolidinadiona utilizada para o tratamento do diabetes, a qual representou objeto de estudo para obtenção de DS nos trabalhos de Chowdary e colaboradores (2011), Mishra e colaboradores (2011) e Amhed (2011).

Estudo de compatibilidade físico-química do LPSF/GQ-130 frente aos excipientes candidatos

As curvas TG e DTA, bem como sua derivada DTG, modelo DTG-60H, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa das amostras de LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas (1:1 p/p) de 3 mg e 6 mg ($\pm 0,1$), respectivamente. As amostras foram acondicionadas em porta-amostras de alumínio, e submetidas a uma razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, de 30 a 600°C. As temperaturas iniciais de fusão (T_{onsetF}) foram obtidas através do cálculo do pico de fusão observado pela curva DTA, realizado pelo software TA-60WS[®] (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu[®]. Já as temperaturas iniciais de degradação (T_{onsetD}) foram mensuradas de acordo com os eventos expressos na curva DTG.

Diagrama de Solubilidade de Fases

O estudo de solubilidade de fases foi baseado no método de Higuchi e Connors (1965). Foram preparadas, separadamente, amostras contendo 10 mL de soluções de PLS 80, EPEG100 e LSS, nas concentrações de 0,5; 0,75; 1; 3 e 5% (p/v). A estas soluções foi adicionado excesso de LPSF/GQ-130. As amostras foram submetidas a agitação de 100 RPM em banho-maria, a uma temperatura de 25°C, por 48 h. Em seguida, as amostras foram deixadas reservadas por 24 h para alcançar a solubilidade de equilíbrio.

Para leitura, as amostras foram filtradas em filtro de papel e em filtro millipore (20 μ m), acondicionadas em vial e submetidas ao método de quantificação validado neste trabalho.

Todas as análises foram realizadas em triplicata com curva de calibração obtida no dia da leitura do experimento.

Análise Estatística

Para constatação da significância estatística dos resultados foi aplicado o teste de variância ANOVA, considerando um nível de significância de 95%. O teste ANOVA foi realizado no programa OriginPro[®] 8.

4.5.4 Obtenção das dispersões sólidas binárias e ternárias

4.5.4.1 Obtenção de DS por evaporação do solvente

As DS foram obtidas aplicando-se metodologia utilizada nos trabalhos de Sun, Ju e Lee (2012), com adaptações. Foram pesados 0,08 g de LPSF/GQ-130 e 0,72 g de cada polímero (HPMC, PVP K-30 e PEG 6000) a fim de se obter 0,8 g de mistura, na proporção 1:9 (LPSF/GQ-130:Polímero). Inicialmente obtiveram-se as misturas físicas mediante trituração dos componentes em gral por 1 minuto. Em seguida, quantidades suficientes dos respectivos solventes para solubilizar os pós foram utilizadas. Nos lotes iniciais, o líquido obtido foi despejado em placas de petri e secos em estufa a 50-60°C, por 4h. Nos lotes seguintes, um processo de sonicação por 10 minutos foi introduzido previamente a passagem do líquido obtido para a placa de petri. Após secagem das amostras, as mesmas foram imediatamente congeladas em ultra-freezer (-70°C) por 12 h para evitar a recristalização induzida pelo calor. Em seguida, as amostras foram acondicionadas em tubos de penicilina previamente esterilizados. O quadro 6 apresenta os lotes de DS obtidos pelo método da evaporação do solvente.

Quadro 6 – Composição e solventes utilizados na obtenção das dispersões sólidas pelo método da evaporação do solvente.

<i>Lote</i>	<i>Composição</i>	<i>Solvente Utilizado</i>
HPMC01	10% LPSF/GQ-130 + 90% HPMC	Diclorometano
HPMC02	10% LPSF/GQ-130 + 90% HPMC	Diclorometano
HPMC03	1% LPSF/GQ-130 + 99% HPMC	Diclorometano
HPMC05	30% LPSF/GQ-130 + 70% HPMC	Diclorometano
HPMCTE01	10% LPSF/GQ-130 + 1% EPEG 100 + 89% HPMC	Diclorometano
HPMCTE02	10% LPSF/GQ-130 + 3% EPEG 100 + 87% HPMC	Diclorometano
HPMCTE03	10% LPSF/GQ-130 + 5% EPEG 100 + 85% HPMC	Diclorometano
HPMCTP01	10% LPSF/GQ-130 + 1% PLS 80 + 89% HPMC	Diclorometano
HPMCTP02	10% LPSF/GQ-130 + 3% PLS 80 + 87% HPMC	Diclorometano
HPMCTP03	10% LPSF/GQ-130 + 5% PLS 80 + 85% HPMC	Diclorometano
PEG01	10% LPSF/GQ-130 + 90% PVP K-30	Diclorometano
PVP01	10% LPSF/GQ-130 + 90% PVP K-30	Acetona/EtOH 71:29
PVP02	10% LPSF/GQ-130 + 90% PVP K-30	EtOH/Diclorometano 75:25

4.5.4.2 Obtenção de DS binária a base de HPMC por malaxagem

A DS obtida por malaxagem (lote HPMC04) seguiu a metodologia descrita por Chowdary e colaboradores (2012), com adaptações. Foram pesados 0,1g de LPSF/GQ-130, o qual foi solubilizado em 30 mL de diclorometano. Posteriormente, 0,1g de HPMC foi adicionado à solução, aos poucos, e triturados continuamente até a formação de uma massa úmida. A mistura foi seca em estufa a 50-60°C por 2 h.

4.5.5 Caracterização das dispersões sólidas

4.5.5.1 Obtenção da Concentração de Saturação dos Sistemas Desenvolvidos

Foi adicionado a 10 mL de água e meio de dissolução (pH 1,2 + 1% LSS), separadamente, excesso de todos os lotes obtidos, bem como suas misturas físicas. As amostras foram submetidas a banho maria, a 37,5°C, sob agitação (100 RPM), por 24 h. Em seguida, as amostras foram reservadas por 24 h para alcançar a solubilidade de equilíbrio.

Para leitura, as amostras foram filtradas em filtro de papel e em filtro millipore (20 µm), acondicionadas em vial e submetidas ao método de quantificação desenvolvido anteriormente. Todas as análises foram realizadas em triplicata com curva de calibração obtida no dia da leitura do experimento.

4.5.5.2 Caracterização Térmica

As curvas TG, DTA e a primeira derivada da curva TG (DTG) foram obtidas a partir de termobalança Shimadzu®, modelo DTG-60H, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, numa faixa de aquecimento de 30 a 600°C. As curvas foram obtidas para as dispersões sólidas que apresentaram maior desempenho na concentração de saturação, utilizando massa de 20 mg ± 0,1. Para fins de comparação, foram obtidas as curvas TG, DTA e DTG para as misturas físicas das dispersões sólidas testadas, pesando-se 20 mg ± 0,1, bem como foi obtida uma nova curva para o LPSF/GQ-130 com massa de 2mg ± 0,1. Estes valores de massa objetivaram manter massa de 2 mg de LPSF/GQ-130 em todos os sistemas testados. As amostras foram acondicionadas em porta-amostra de alumínio e verificadas em triplicata. Antes dos ensaios verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de oxalato de cálcio monoidratado com perdas de massa definidas. Os dados termoanalíticos foram analisados por meio do software TA-60WS® (Therma Analysis) versão 2.20 da Shimadzu®.

4.5.5.3 Obtenção dos Perfis de Dissolução

Os perfis de dissolução foram obtidos em dissolutor Varian® VK 7010, utilizando 1000 mL de meio pH 1,2 + 1% LSS, agitação com aparato pá a 100 RPM, a uma temperatura de 37,5°C, monitorada pelo equipamento. Os pontos de coleta foram 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min. As amostras foram acondicionadas em cápsula transparente nº 3. Cada lote teve o peso das amostras em torno de 10% da Cs, visando manter a condição *sink* do experimento.

Para cada ponto da curva foi retirado um volume de 3 mL do meio de dissolução com o auxílio de uma seringa, sendo este repostado logo em seguida com o meio de dissolução sem o protótipo. A altura da coleta das amostras foi fixada conforme especificado no método geral de dissolução da Farmacopéia Brasileira, 5ª edição.

Para fins de comparação entre os perfis de dissolução obtidos foi calculada a Eficiência de Dissolução (ED%) dos mesmos, conforme Equação 4 (KHAN, 1975):

$$ED\% = As \times 100 \div At \quad \text{(Equação 4)}$$

Onde “As” representa a área sombreada e “At” representa a área total do retângulo. Os valores da área sob a curva (ASC) e área total foram calculados no software OringPro®.

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PARTE I: CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA LPSF/GQ-130

5.1.1 Determinação das propriedades organolépticas

O LPSF/GQ-130 apresenta-se visualmente como placas de pó levemente amareladas, formadas por pequenos cristais em forma de agulha e odor característico (Figura 14). A olho nu percebe-se que o pó é leve e facilmente aglomerável. Sua trituração não é aconselhável, pois é bastante susceptível ao acúmulo nas superfícies.

Figura 14 – Aspecto macroscópico do LPSF/GQ-130.



5.1.2 Caracterização térmica e determinação da pureza do LPSF/GQ-130

A partir do termograma obtido, evidenciou-se um evento endotérmico correspondente ao ponto de fusão do LPSF/GQ-130 (Figura 15), sendo a faixa de fusão situada entre 170,16 a 171,73°C, consumindo 123,02 J g⁻¹. Este evento foi confirmado pela manutenção da massa na mesma faixa de temperatura na curva TG (Figura 16).

Figura 15 – Curva DSC do LPSF/GQ-130 obtida em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$.

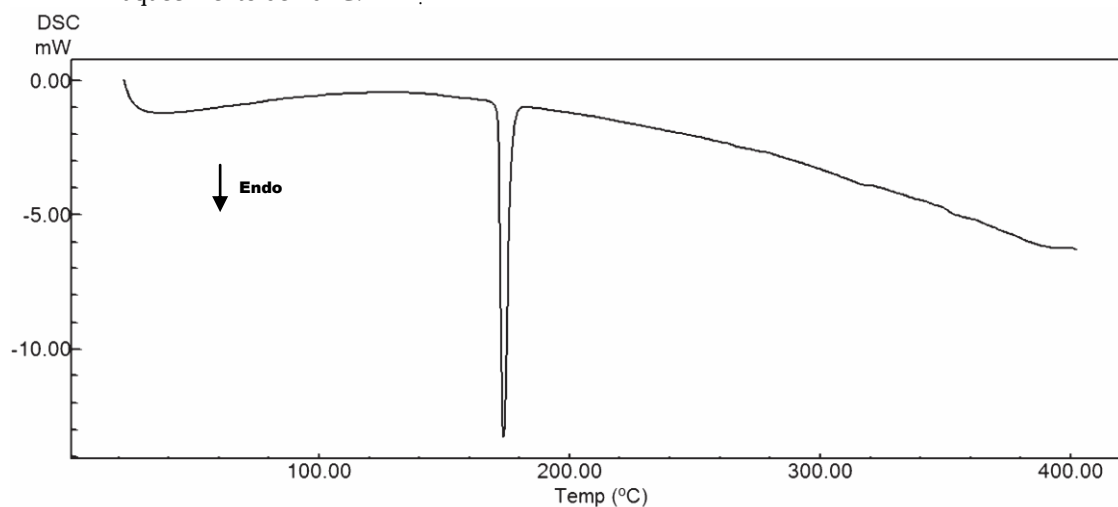
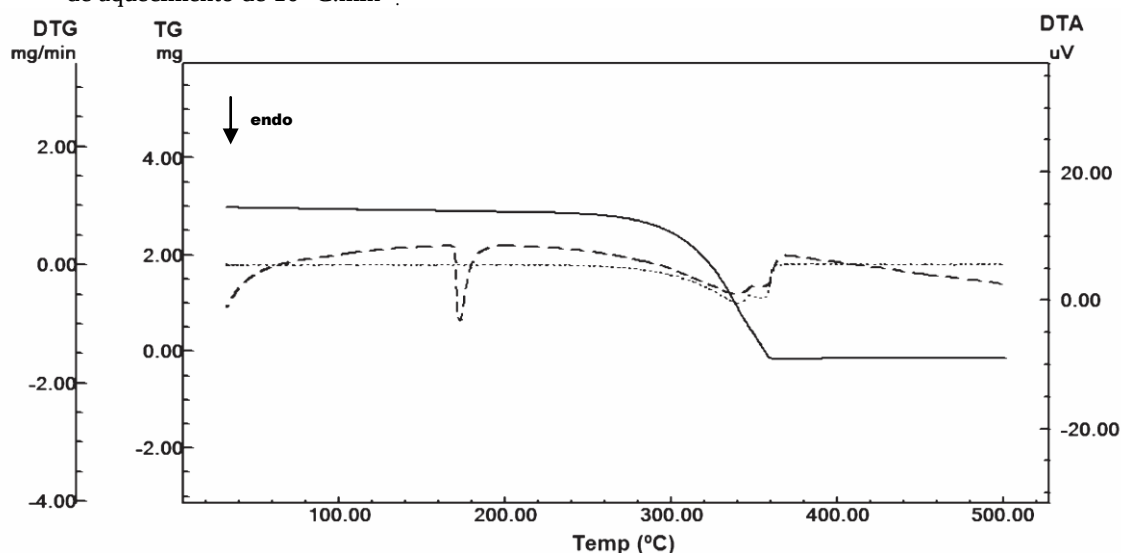
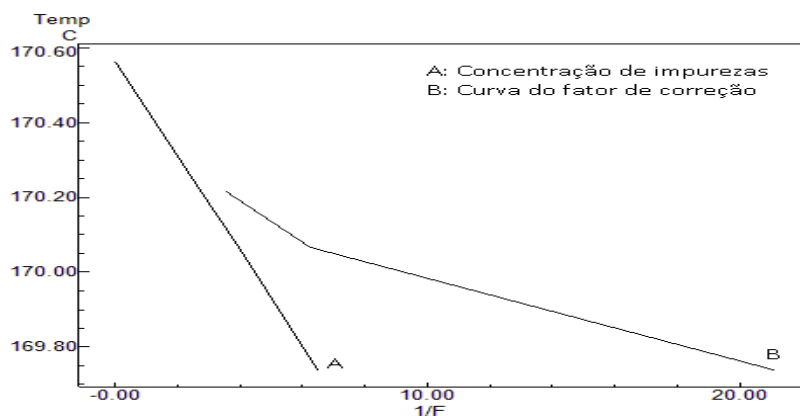


Figura 16 – Curva TG, DTG e DTA do LPSF/GQ-130 obtida em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min^{-1}) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C.min}^{-1}$.



Através da linearização do evento de fusão, aplicando-se a equação de Van't Hoff, foi possível calcular a pureza do protótipo, verificada em triplicata. De acordo com este método a pureza é determinada pelo desvio da linearidade do evento, que ocorre devido à presença de impurezas. Conhecendo-se o desvio da linearidade, pode-se inferir sobre o fator de correção na linearização da reta para 100 % de pureza, o que está diretamente associado à presença de impurezas. Como resultado, o teor de pureza do LPSF/GQ-130 observado foi de $99,37 \pm 0,19\%$ e o fator de correção calculado para as impurezas foi de 11,13% (Figura 17).

Figura 17 – Gráfico de linearização de Van't Hoff obtido a partir da curva DSC do LPSF/GQ-130.

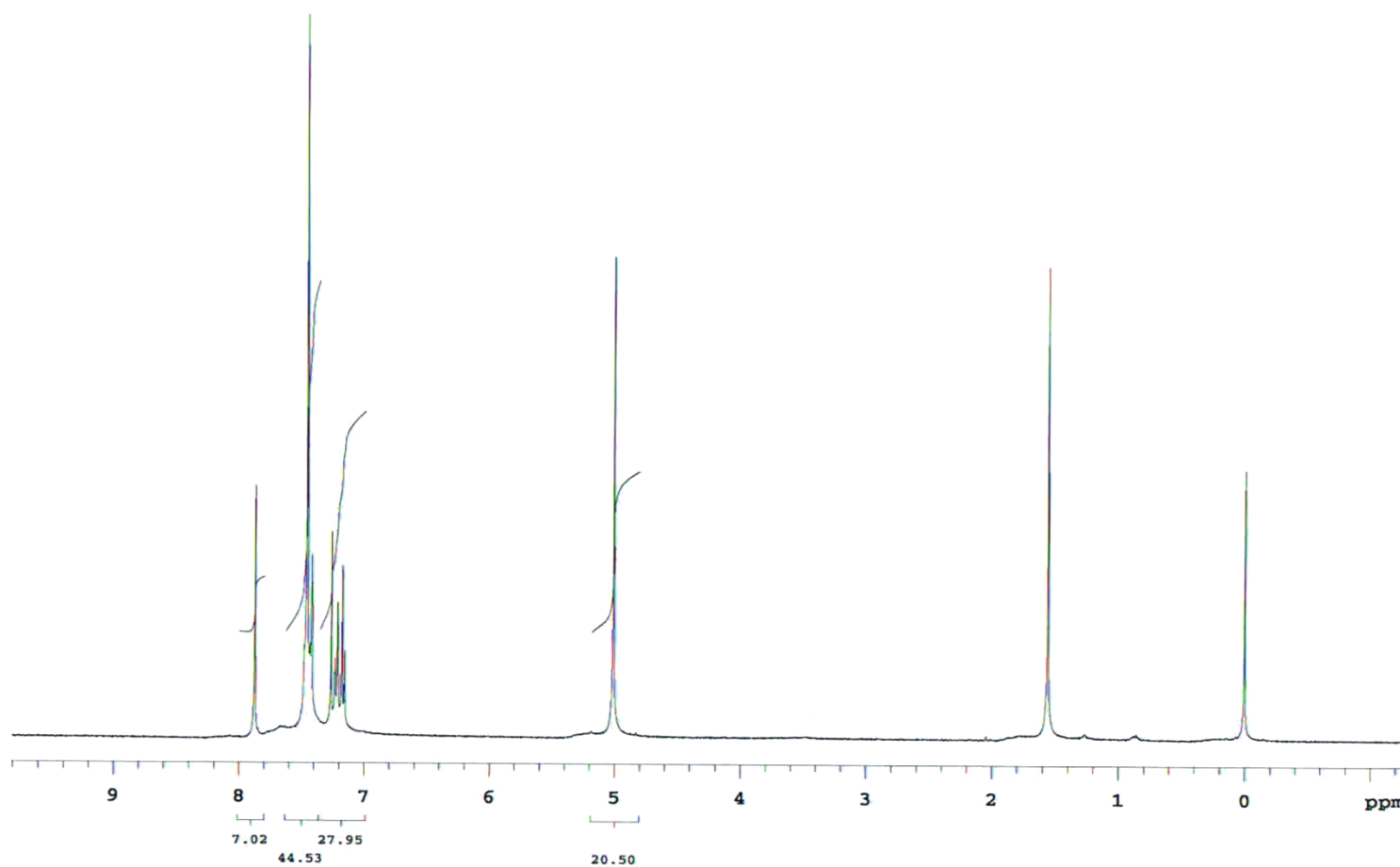


5.1.3 Análises espectrométricas: identificação da estrutura molecular

5.1.3.1 Ressonância Magnética Nuclear (RMN)

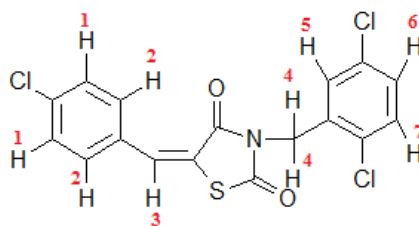
De acordo com o espectro de RMN ^1H , inicialmente identifica-se a presença de seis sinais, conforme Figura 18. Cinco desses sinais são referentes a hidrogênios nos deslocamentos químicos de, aproximadamente, 8; 7,4; 7,2; 5; e 1,4 ppm, com área integral 1:4:3:2:x (x = não identificado), e um deles referente ao marcador da escala, o tetrametilsilano (0 ppm).

Figura 18 – Espectro de ^1H RMN do LPSF/GQ-130.



Entretanto, a molécula proposta por Santos (2009) (Figura 19) possui sete tipos de hidrogênios. Uma vez que a presença do anel tiazolidínico 2,4-dissubstituído por radicais bastante eletronegativos exerce forte efeito diamagnético local sobre os hidrogênios próximos a este grupamento químico, provocando desblindamento eletrônico destes núcleos, os prótons absorvem maior energia e, portanto, apresentam deslocamentos químicos maiores que os usualmente apresentados para seus grupos químicos.

Figura 19 – Estrutura química do LPSF/GQ-130 com identificação dos tipos de hidrogênios presentes.

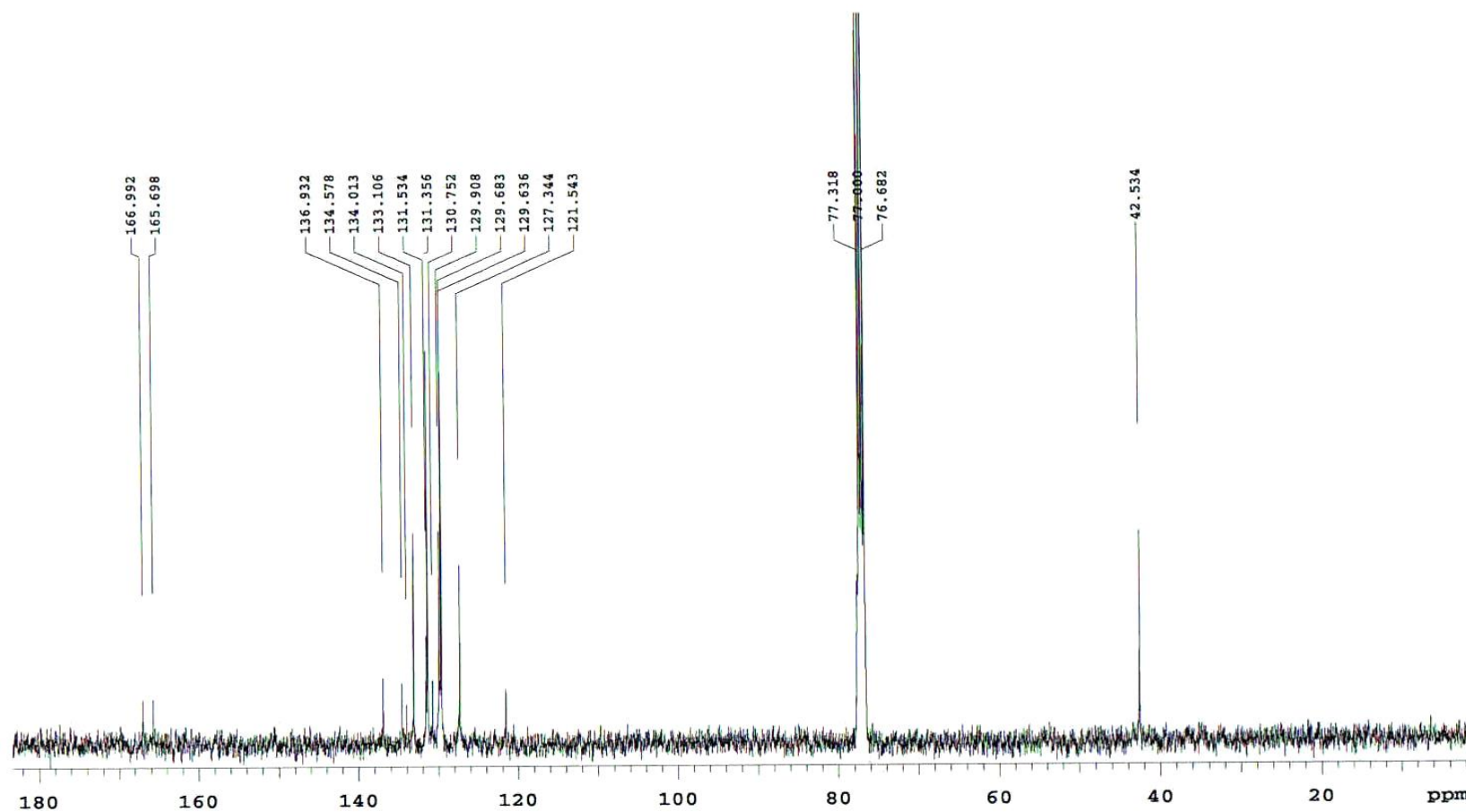


Adaptado de SANTOS, 2009.

O espectro de RMN ^1H permitiu a identificação, a partir das áreas integrais dos sinais visualizados na figura 18, do hidrogênio vinílico (7,871 ppm) e dos dois hidrogênios ligados ao Csp^3 , através do singlete em 5 ppm, com área integral para dois. Infelizmente a obtenção do espectro ampliado a partir de 5ppm não trouxe benefícios na identificação dos sinais, uma vez que as constantes de acoplamento não puderam ser calculadas por demonstrar um grande número de sinais em um mesmo deslocamento químico. Entretanto, presume-se que este conjunto de sinais entre 7,153 e 5,455 ppm, que possuem área integral de 3 e 4, referem-se aos sete tipos de hidrogênios arílicos da molécula. Ademais, segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2007), o singlete expresso em 1,6 ppm possui grande possibilidade de se referir aos hidrogênios da água, impureza frequentemente observada quando se utiliza clorofórmio deuterado como solvente, os quais aparecem no espectro exatamente neste deslocamento químico, como um sinal fino e forte.

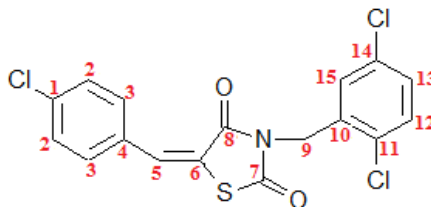
No espectro de ^{13}C (Figura 20) pode-se ainda confirmar alguns destes resultados. A partir deste, observa-se apenas um sinal de Csp^3 , apoiando a hipótese de que o sinal em 1,6 ppm no espectro de ^1H referia-se à água. Além disso, classicamente pode-se evidenciar o sinal com três picos em aproximadamente 77 ppm, referentes ao clorofórmio deuterado utilizado como solvente (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

Figura 20 – Espectro de ^{13}C do LPSF/GQ-130.



De acordo com a molécula em questão, a mesma apresenta quinze tipos de carbono a ser sinalizado no espectro, como demonstra a Figura 21.

Figura 21 – Molécula de LPSF/GQ-130 com identificação dos seus tipos de carbono.



Uma vez que ambas as carbonilas estão ligadas diretamente a um átomo de nitrogênio, a ressonância bem pronunciada estabelecida neste local blinda estes prótons, de modo que há menor absorção energética e, conseqüentemente, deslocamento químico menor. Este fenômeno explica, portanto, o motivo pelo qual os sinais referentes a estes dois tipos de carbonos possuem deslocamento químico em aproximadamente 166,968 e 165,683 ppm, e não em 200 ppm, onde se visualiza o sinal típico de carbonila que não sofre efeito diamagnético local (SOLOMONS; FRYHLE, 2005; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

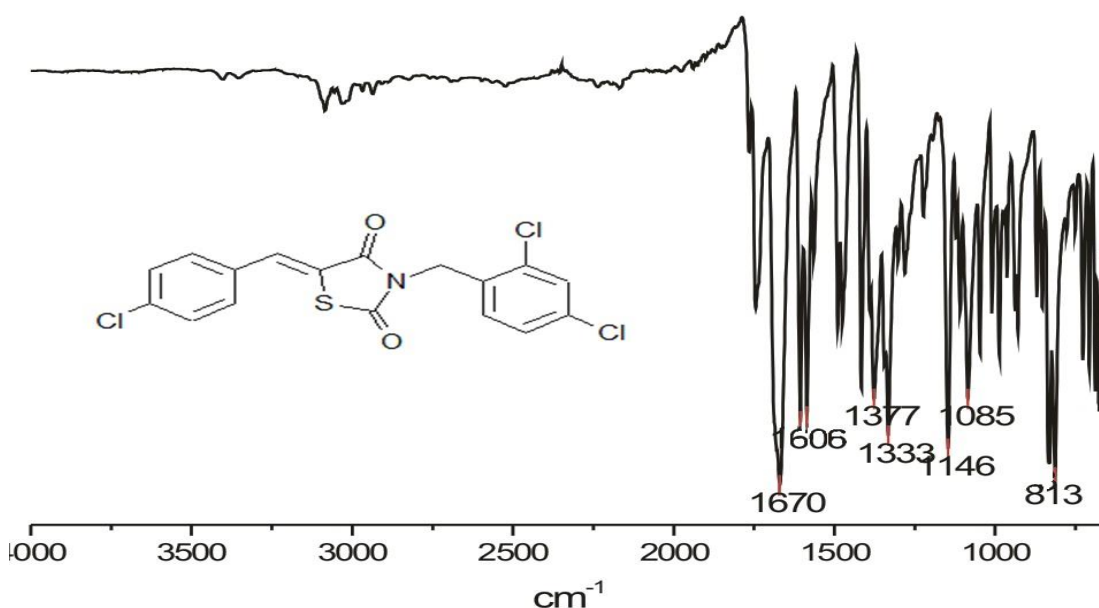
Além disso, pode-se identificar dez sinais compreendidos entre os deslocamentos químicos de 129,636 e 136,932 ppm, região típica de carbono arílico. Os sinais referentes aos carbonos sp^2 são claramente percebidos nos deslocamentos químicos de 127,344 e 121,543, região típica deste tipo de núcleo. Por fim, o sinal situado em 42,534 ppm refere-se ao C_{sp^3} , que sofreu leve deslocamento em virtude de sua vizinhança química, por se tratar de estruturas bastante eletronegativas, assim como foi apresentado no espectro de 1H .

Deste modo, a junção das duas técnicas de RMN permitiu identificar molecularmente o LPSF/GQ-130, entretanto, por se tratar de uma técnica de alto custo, seu acesso é bastante reduzido nas indústrias farmacêuticas. Assim, uma vez correlacionado este espectro de RMN ao espectro na região do IV, pode-se realizar futuras análises apenas a partir da comparação com este último, já que se apresenta como opção mais acessível tanto em se tratando de custo e manutenção, quanto na facilidade da análise e interpretação dos resultados.

5.1.3.2 Espectrometria de absorção na região do infravermelho

A análise espectrométrica por IV permite a identificação dos principais grupos funcionais presentes em uma molécula, a partir das vibrações em frequências características por cada um deles. Deste modo, abaixo pode ser visualizado as bandas obtidas através desta técnica (Figura 22).

Figura 22 – Espectro de absorção na região do Infravermelho do LPSF/GQ-130.



De acordo com o espectro pode-se evidenciar uma banda de absorção característica da deformação axial da ligação C=O (carbonila), de alta intensidade e situada na frequência 1670 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007; SANTOS, 2009). A função amida terciária pode ser visualizada a partir da presença de duas bandas de absorção referentes ao estiramento C-N nas frequências 1108,86 e 1085 cm^{-1} e da ausência de pequenas bandas na região de $3700\text{-}3400 \text{ cm}^{-1}$, referentes à ligação N-H característico de amida primária e secundária e/ou aminas (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007).

As bandas de absorção na frequência 1606 cm^{-1} correspondem à ligação C=C de composto aromático (SANTOS, 2009). Segundo Silverstein, Webster e Kiemle (2007) pode-se perceber a presença de bandas em frequências características de benzeno 1,4 dissubstituído ($\lambda = 813,28 \text{ cm}^{-1}$); benzeno 1,2,4 trissubstituído ($\lambda = 929,12 \text{ cm}^{-1}$); deformação axial do cloreto de arila ($\lambda = 1146,21 \text{ cm}^{-1}$); e de sulfonamida ($\lambda = 1332,90 \text{ cm}^{-1}$). A ausência de bandas características das funções álcool, ácido carboxílico e

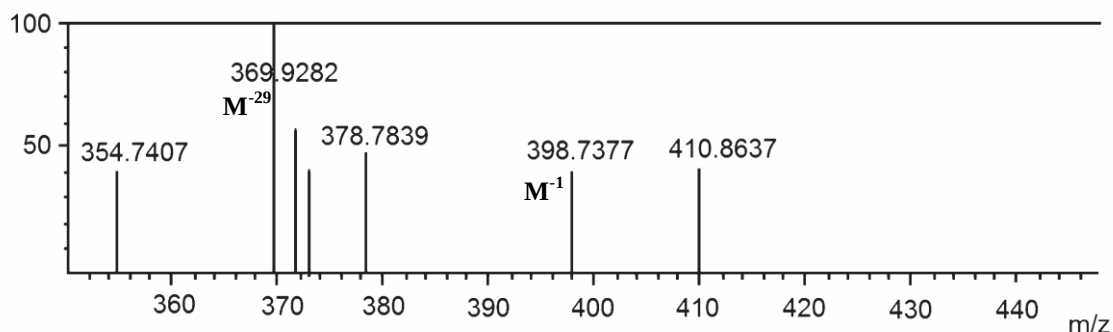
amina permite excluir a presença destes grupamentos químicos na molécula de LPSF/GQ-130.

Assim, a técnica espectrométrica na região do IV permitiu a identificação molecular do protótipo, destacando-se a elucidação dos grupamentos químicos responsáveis pela atividade anti-inflamatória do protótipo, como o anel tiazolidínico, o qual age como substrato para o receptor $\text{PPAR}\gamma$ (STRAUS; GLASS, 2007).

5.1.3.3 Espectrometria de massas

O espectro de massas (EM) do LPSF/GQ-130 (Figura 23) apresenta na razão massa/carga (m/z) 398,7377 o sinal referente à desprotonação do protótipo (M^{-1}). O sinal em m/z 369,9282, com 100% de abundância relativa, refere-se ao íon mais estável formado na ionização negativa. De acordo com a estrutura química do LPSF/GQ-130 e seus pontos de susceptibilidade a quebra e ionização, este sinal provavelmente se refere a forma descarboxilada do protótipo.

Figura 23 – Espectro de Massas do LPSF/GQ-130 por inserção direta (ionização negativa).



5.1.4 Granulometria a laser e determinação da área superficial específica

A análise granulométrica dos pós apresenta-se como crucial se o objetivo pretendido é fazer deste material componente de uma forma farmacêutica (SARRAGUÇA et al., 2010). Variações de granulometria repercutem em propriedades físicas críticas na obtenção de medicamentos. Portanto, conhecer este parâmetro significa gerar subsídio para identificar propriedades inadequadas da substância, antecipar os problemas de formulação e propor alternativas tecnológicas para contornar o problema (RODRIGUES et al., 2005; SOARES, 2011).

Apesar de a Farmacopeia Brasileira 5ª edição preconizar a determinação da granulometria das partículas pela retenção desta em tamises com diferentes aberturas de malha, este procedimento solicita a utilização de aproximadamente 25 g de material, tornando inviável a realização desta análise segundo este compêndio oficial, uma vez que a quantidade disponível é muito inferior à necessária para sua execução. Deste modo, a granulometria a laser foi escolhida para determinar a granulometria das partículas de LPSF/GQ-130. Esta técnica foi estabelecida como um padrão internacional (ISO 13.320-1, 1999) através de um estudo comparativo entre os resultados do teste efetuado com os tamises e a granulometria a laser, o qual obteve resultados correlacionáveis (BYUNG-MAN et al., 2008).

Portanto, os resultados obtidos por este método podem ser comparados aos obtidos pelo método descrito na Farmacopéia Brasileira e classificado de acordo com esta. Conforme estabelecido, a classificação dos pós abrange partículas com retenção em tamis cuja malha de abertura varia entre 20 μ m a 9,5 mm (Quadro 7).

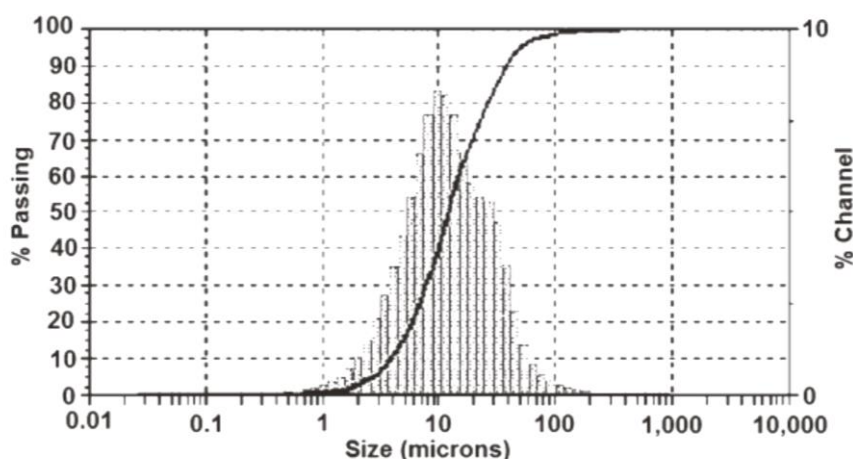
Quadro 7 – Classificação dos pós segundo a Farmacopéia Brasileira, 5ª edição.

Classificação	Parâmetros
Pó grosso	aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 710 μ m e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 250 μ m.
Pó moderadamente grosso	aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis de abertura nominal de malha de 355 μ m e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μ m.
Pó semifino	aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis de abertura nominal de malha de 355 μ m e, no máximo, 40% pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μ m.
Pó fino	aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 180 μ m.
Pó finíssimo	aquele cujas partículas passam em sua totalidade pelo tamis com abertura nominal de malha de 125 μ m.

Segundo a curva assimétrica positiva de distribuição obtida e de acordo com a curva de distribuição de frequência cumulativa (Figura 24), obteve-se como diâmetro médio das partículas do LPSF/GQ-130 o valor de 12,48 μ m, sendo encontrados grupos de partículas com diâmetro variando de 5,5 a 37 μ m (considerando frequência de

distribuição mínima em torno de 5%). Adicionalmente, a curva de distribuição granulométrica permite visualizar a faixa de granulometria média que deve ser encontrada na caracterização de outros lotes do protótipo, a qual varia de 11, 65 a 13,10 μ m.

Figura 24 – Curva de distribuição de frequência relativa e cumulativa da matéria prima LPSF/GQ-130.

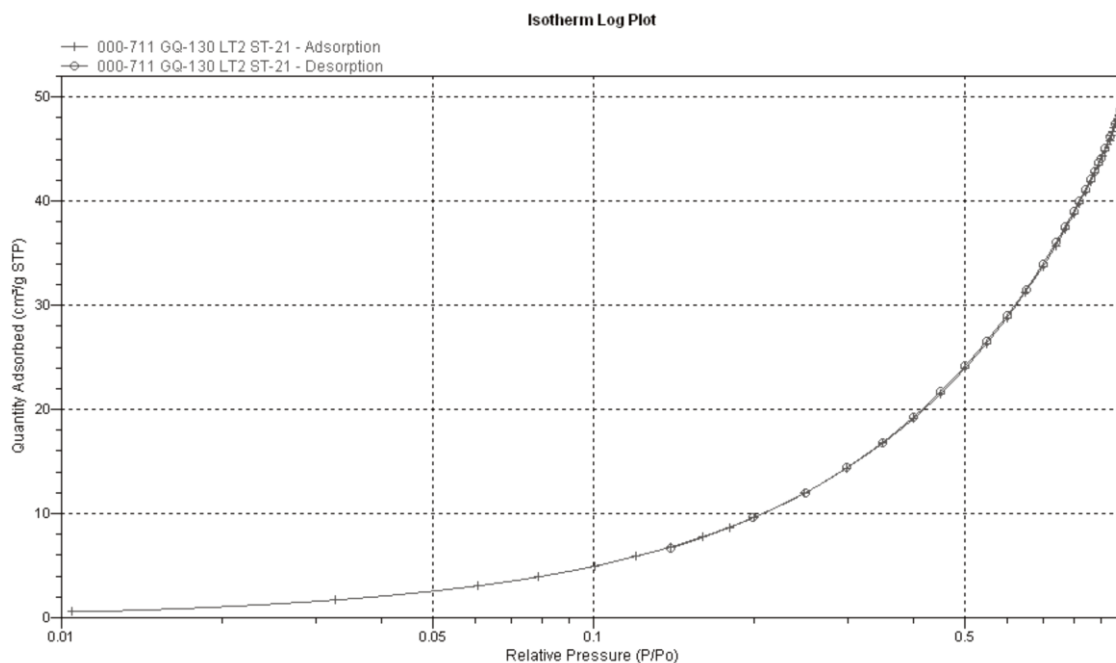


Portanto, seguindo as especificações da Farmacopéia Brasileira mais recente, o pó do LPSF/GQ-130 recebe a classificação de pó finíssimo. Segundo Castellanos e colaboradores (1999), partículas que possuem diâmetro abaixo de 30 μ m apresentam coesividade interparticular dominante, repercutindo intensamente nas propriedades de fluxo da substância. Esta, por sua vez, representa ponto crítico em diversos processos unitários de produção como mistura, compressão, enchimento adequado das matrizes e transposição de escala, dentre outros (AULTON, 2005; SARRAGUÇA et al., 2010), intensificando a dificuldade de obtenção de formas farmacêuticas sólidas (LACHMAN; LIBERMAN; KANIG, 2001; AULTON, 2005).

De acordo com a análise da medida de área superficial específica obtida pelo método Brunauer-Emmett-Teller (BET), sua área superficial foi determinada em 81,3529 m²/g. Possivelmente este resultado decorre da utilização do método de liofilização para secagem após a síntese da NEQ. Por outro lado, a isoterma de absorção e dessorção obtida (Figura 25) apresenta uma curva característica do tipo III, a qual é relacionada a sólidos não porosos associados a mesoporos (poros com diâmetro de 20 a 500 Å) (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001), porém também está relacionada a sistemas onde as moléculas do adsorvato apresentam maior interação entre si do que

com o sólido (LOWELL; SHIELDS, 1979), prejudicando a análise de área superficial e da porosidade (TEIXEIRA; COUTINHO; GOMES, 2001).

Figura 25 – Isoterma de absorção e dessorção do LPSF/GQ-130.

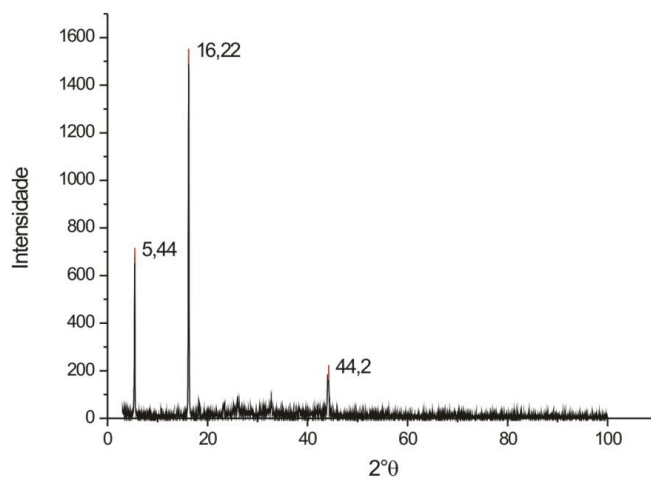


Neste contexto, as análises permitem prever que o pó de LPSF/GQ-130 terá de sofrer alterações tecnológicas visando alcançar propriedades de fluxo e solubilidade aquosa adequadas, repercutindo em taxa de dissolução e biodisponibilidade eficientes, na tentativa de tornar possível seu uso na elaboração de medicamentos viáveis.

5.1.5 Difração de Raios X (DRX)

O perfil difratométrico do LPSF/GQ-130 (Figura 26) revela a presença de 3 picos de maior intensidade a 5,44; 16,22 e 44,2 °2 θ , além de diversos picos secundários, evidenciando o comportamento cristalino do protótipo.

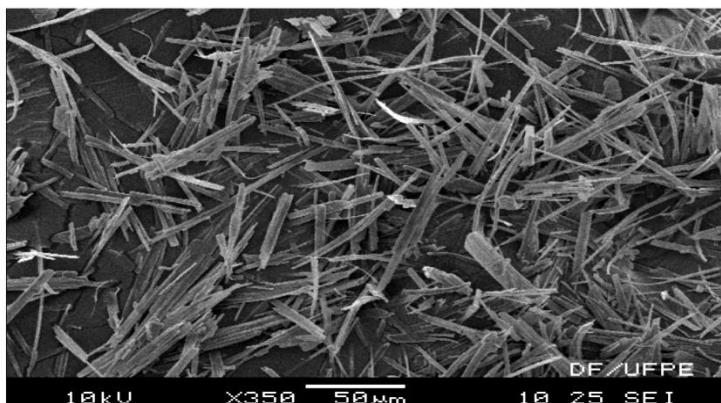
Figura 26 – Perfil difratométrico do LPSF/GQ-130.



5.1.6 Microscopia eletrônica de varredura

A micrografia obtida através do MEV (Figura 27) demonstrou caráter cristalino, corroborando com os dados obtidos por DRX. Aparentemente, os cristais apresentam-se como de geometria acicular.

Figura 27 – Microscopia eletrônica de varredura do LPSF/GQ-130, sob aumento de 350 vezes.



Segundo Saifee e colaboradores (2009), de forma geral estruturas cristalinas na forma acicular apresentam propriedades de fluxo inadequadas quando comparadas com partículas de morfologia cúbica ou arredondadas, sendo necessária a intervenção de excipientes para submetê-los à diversos processos industriais na obtenção de

medicamentos. Assim, esta análise reafirma a necessidade da intervenção tecnológica para a elaboração de um produto farmacêutico de qualidade.

5.1.7 Estudo Preliminar de Degradação Forçada

5.1.7.1 Hidrólise e Oxidação

Segundo Carvalho e colaboradores (2008), a observação do comportamento das moléculas frente às condições de hidrólise e oxidação adquire notável importância, uma vez que estas são as condições nas quais os medicamentos são mais frequentemente expostos, em virtude da umidade na própria atmosfera e presença de oxigênio. Em se tratando de uma NEQ, torna-se indiscutível a necessidade desta compreensão.

Assim, as amostras de LPSF/GQ-130 foram submetidas à hidrólise neutra e catalisada por ácido (HCl) e base (NaOH). Segundo a Tabela 5, a hidrólise ácida (HCl 0,01; 0,1 e 1M) foi capaz de degradar mais de 10% do protótipo no período de exposição de 72 h, não demonstrando relação com a concentração do ácido, propondo que a instabilidade gerada é devido a catálise ácida da reação de hidrólise, provavelmente pelo deslocamento do equilíbrio da dissociação da água na reação. Por outro lado, o percentual de degradação do protótipo, no mesmo período de exposição, às condições básicas (NaOH 0,01, 0,1 e 1 M), demonstraram a notória instabilidade do mesmo, uma vez que em todas as concentrações de NaOH utilizadas houve degradação de 100%. Todos os picos observados tiveram suas purezas garantidas.

Tabela 5 – Percentual médio de degradação do LPSF/GQ-130 após 72 horas de exposição às condições de hidrólise.

Condição	0,01M	0,1M	1M	40%
Hidrólise Neutra (H₂O)	-	-	-	9%
Hidrólise Ácida (HCl)	15%	15%	15%	-
Hidrólise Básica (NaOH)	100%	100%	100%	-

Segundo Baertschi e Alsante (2005), a função química amida apresenta susceptibilidade à hidrólise, sendo lenta apenas quando exposta a condições neutras. Assim, pode-se concluir que o grupo farmacofórico da molécula é o principal alvo de ataque destes meios, a tiazolidina-2,4-diona.

Na degradação frente às condições oxidativas (Tabela 6), com o auxílio do peróxido de hidrogênio em solução, observou-se percentual de degradação em torno de 30% para concentrações mais baixas de peróxido testadas (1 e 3%), e em torno de 70% quando utilizado 9% de peróxido de hidrogênio, após 72 horas. Apesar de estes resultados não representarem todos os possíveis mecanismos de oxidação da molécula no estado sólido, o mesmo fornece indícios da susceptibilidade à degradação na presença de oxigênio.

Tabela 6 – Percentual médio de degradação do LPSF/GQ-130 após 48 horas de exposição às condições de oxidação.

Condição	Peróxido de hidrogênio a 1%	Peróxido de hidrogênio a 3%	Peróxido de hidrogênio a 9%
Degradação (%)	30%	30%	70%

Portanto, os procedimentos que utilizem condições básicas e oxidativas devem ser executados com monitoramento constante do teor do LPSF/GQ-130, visto sua susceptibilidade de degradação nestas condições.

5.1.7.2 Cinética de Degradação Térmica

A avaliação da estabilidade térmica e a determinação dos parâmetros cinéticos de decomposição do LPSF/GQ-130 foram realizadas através de termogravimetria (TG), por esta ter se mostrado uma técnica bastante eficaz para o objetivo pretendido (ARAÚJO et al., 2010). Inicialmente, o protótipo foi submetido a razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ para avaliação do seu comportamento térmico. As curvas obtidas demonstram que o protótipo é termicamente estável até aproximadamente 238°C , apresentando um evento que ocorre na faixa de $238,3$ a $297,4^{\circ}\text{C}$, com perda de massa (Δm) de 98,6% (Figura 29). Além do mais, na faixa de temperatura de fusão ($171,3$ a $176,5^{\circ}\text{C}$), evento observado nas curvas DSC, não foi observada nenhuma variação de massa. Essa verificação é importante tendo em vista que algumas substâncias, como o diclofenaco de sódio, podem sofrer decomposição e/ou ciclização antes de atingir a temperatura de fusão dependendo da razão de aquecimento e atmosfera do ensaio e como consequência pode haver erros na determinação do seu ponto de fusão (GIORDANO et al., 2001).

Nos ensaios da análise cinética não-isotérmica com razões de aquecimento (A) de 5; 10; 15 e 20°C.min⁻¹ obtiveram-se as curvas TG (Figura 28) e o respectivo gráfico de logA x S. K⁻¹(Figura 29), a partir do modelo proposto por Ozawa (1965). Na Figura 29 se observa uma relação de dependência da razão de aquecimento sobre a taxa de decomposição térmica, como já demonstrada para a zidovudina em estudo realizado por Araújo e colaboradores (2005). Segundo os autores, estes resultados indicam que a razão de aquecimento influencia a distribuição da temperatura no interior da amostra e a detecção do equipamento, prejudicando a elucidação de eventos discretos.

Os dados provenientes das quatro curvas TG possibilitaram a determinação da energia de ativação, do fator frequência e da ordem da reação do processo de decomposição térmica do LPSF/GQ-130, através do gráfico que correlaciona a massa residual da amostra pelo tempo reduzido (Figura 30). O gráfico em questão demonstrou uma boa correlação dos ensaios realizados sob as quatro razões de aquecimento, quais sejam, 5; 10; 15 e 20°C.min⁻¹. Além do mais, verificou-se que a ordem de reação do LPSF/GQ-130 é zero, ou seja, sua reação de perda ou decomposição independe da concentração de reagente e é constante com relação ao tempo (LACHMAN; LIEBERMAN; KANIG, 2001).

Figura 28 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 obtidas em atmosfera de nitrogênio (50 mL.min⁻¹) e sob diferentes razões de aquecimento (5; 10; 15 e 20°C.min⁻¹).

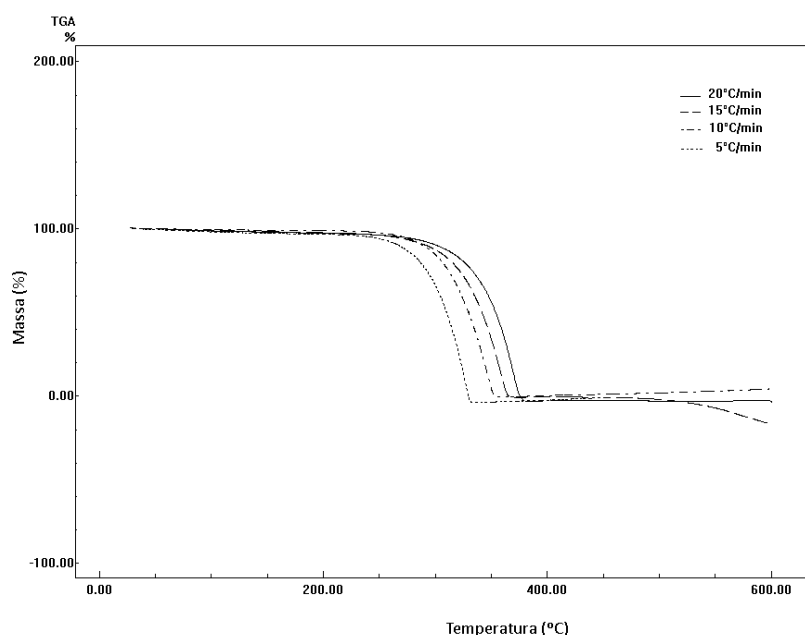


Figura 29 – Curvas do logaritmo da razão de aquecimento ($\log A$) em função do inverso da temperatura (K^{-1}).

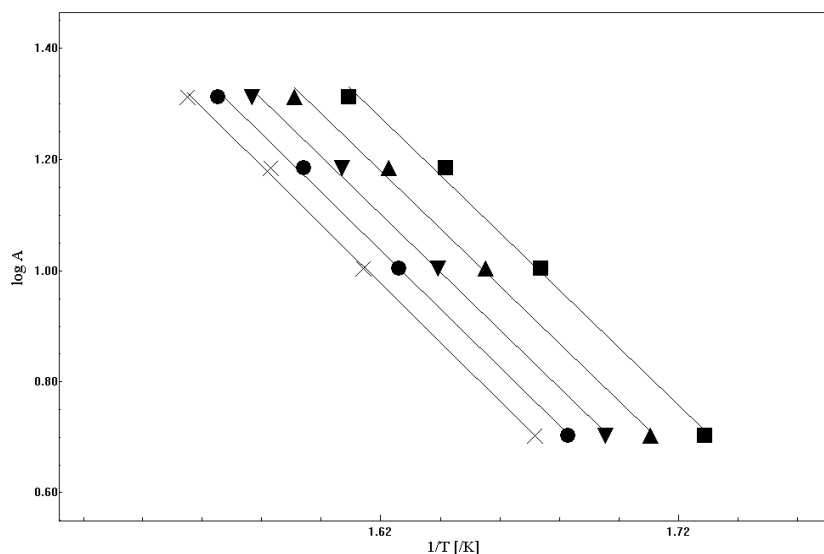
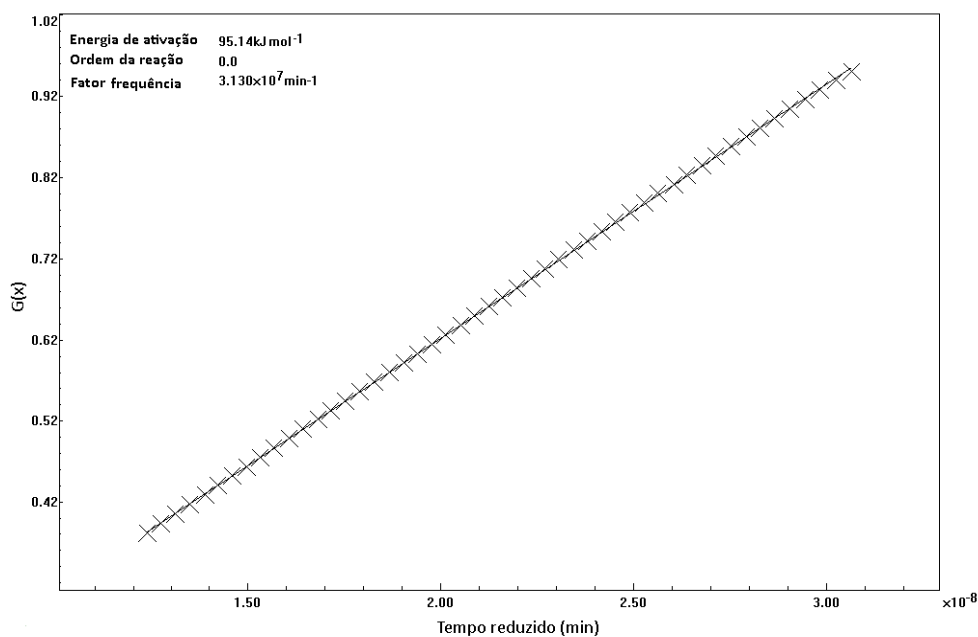


Figura 30 – Gráfico da função $G(X)$ do inverso da temperatura do LPSF/GQ-130.



Assim, o estudo evidenciou que o LPSF/GQ-130 apresenta-se estável termicamente, em virtude da temperatura e energia de ativação elevadas que são requeridas para início da reação de decomposição. Esse dado, em conjunto com os parâmetros cinéticos obtidos, será muito útil para continuidade dos estudos com esse protótipo, a fim de melhor caracterizá-lo, ora para aprofundar os conhecimentos

referentes aos derivados tiazolidínicos, ora para planejar adequadamente os estudos de pré-formulação (compatibilidade fármaco-excipientes) para obtenção de medicamentos com o devido protótipo.

5.2 PARTE II: DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE MÉTODO ANALÍTICO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA DOSEAMENTO DO LPSF/GQ-130

5.2.1 Determinação da solubilidade quantitativa do LPSF/GQ-130 em solventes orgânicos

De acordo com a Tabela 7, o diclorometano apresenta a maior capacidade de solubilização do LPSF/GQ-130, alcançando uma concentração de saturação (C_s) de 4,4 mg/mL. Entretanto, a imiscibilidade em água deste solvente impede seu uso na quantificação do LPSF/GQ-130 em água, objeto de destacada importância para este trabalho. Assim, sua utilização no desenvolvimento do método foi descartada.

Os solventes miscíveis em água acetonitrila e acetona apresentam valores de C_s próximos, em contraste com a C_s obtida em álcool etílico, que se demonstrou quase 9 vezes inferior. Dentre os dois primeiros, optou-se pelo uso da acetonitrila, pois a acetona é um solvente muito volátil e nocivo aos equipamentos sensíveis.

Tabela 7 – Concentração de saturação (C_s) do LPSF/GQ-130 obtidas por espectrofotometria na região do ultravioleta visível em diferentes solventes orgânicos, a 327 nm.

<i>Solvente utilizado</i>	<i>C_s ($\mu\text{g/mL}$)</i>
Acetonitrila	804,0119
Acetona	925,4906
Álcool Etilico	134,3457
Diclorometano	4411,9100

5.2.2 Desenvolvimento do método analítico para quantificação de LPSF/GQ-130

5.2.2.1 Determinação da composição da fase móvel

De acordo com os tempos de retenção (TR) obtidos para cada sistema de fase móvel proposto, destacam-se as fases móveis A (75% ACN + 15% MeOH + 10% H₂O) e E (85% ACN + 15% H₂O), pois apresentaram TR < 10 min (Tabela 8). Isto se deve à

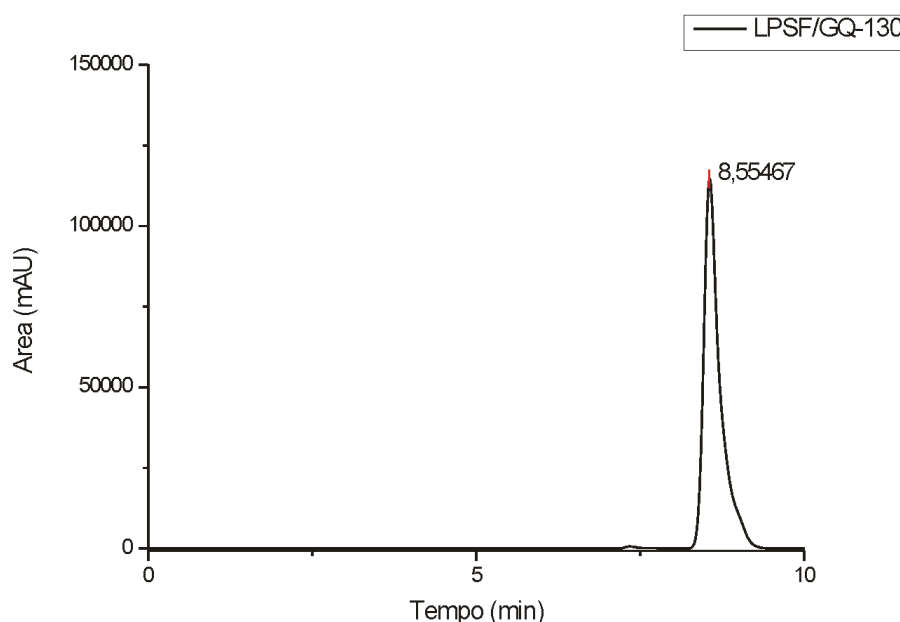
afinidade do protótipo por estas fases móveis, fazendo com que a amostra passe com maior velocidade no detector do equipamento.

Tabela 8 – Tempos de retenção do LPSF/GQ-130 obtidos para cada fase móvel testada.

<i>Fase Móvel</i>	<i>Tempo de retenção (min)</i>
A	6,06
B	14,85
C	17,23
D	40,29
E	8,55

Entretanto, apesar de a fase móvel A ter apresentado menor tempo de retenção que a fase E, esta não foi a escolhida para continuação do desenvolvimento do método, pois a solubilidade limitada do LPSF/GQ-130 em álcool metílico o torna susceptível à recristalização durante as análises. Ainda, o tempo de retenção da fase móvel E apresenta-se suficientemente ideal e, portanto, optou-se por este sistema para dar continuidade ao desenvolvimento do método (Figura 31).

Figura 31 – Cromatograma do LPSF/GQ-130 obtido por CLAE em fase móvel ACN/H₂O 85:15 (1,5 mL.min⁻¹) a 25°C.



5.2.2.2 Determinação do sistema de diluição das amostras de LPSF/GQ-130

De acordo com os estudos de Valério e colaboradores (2012), um método de doseamento foi desenvolvido e validado utilizando amostras de LPSF/AC-23 em diferentes sistemas de diluição com ACN:H₂O ultrapura. Adicionalmente, o estudo de solubilidade em solventes orgânicos, somado a necessidade de mensurar a hidrossolubilidade do composto, inclinam as decisões para o mesmo caminho. As áreas obtidas através da diluição de alíquotas da solução concentrada em diferentes proporções de ACN:H₂O (Tabela 9) demonstraram diferenças estatisticamente significativas entre si (p -valor $< 0,05$) a um nível de significância de 95%.

Tabela 9 – Áreas dos picos de LPSF/GQ-130 obtidas a partir da variação do sistema de diluição das amostras.

<i>Diluição</i>	<i>Média das áreas (mAU) $\pm$ dp</i>	<i>CV%</i>
ACN	635970,7 $\pm$ 11051,08	1,73
ACN/H ₂ O 70:30	694258 $\pm$ 12646,47	1,82
ACN/H ₂ O 50:50	448710 $\pm$ 11096,6	2,47

Concentração das amostras: 10 μ g/mL

Deste modo, as soluções de LPSF/GQ-130 devem ser diluídas num sistema ACN/H₂O 70:30, visando alcançar a maior quantidade de protótipo solúvel nas amostras.

5.2.2.3 Determinação do método de obtenção das soluções concentradas

As áreas alcançadas para amostras de 10 μ g/mL, as quais foram obtidas a partir de diferentes métodos de agitação da solução concentrada (Tabela 10), demonstram que estas alterações no método geram resultados estatisticamente diferentes entre si (p -valor $< 0,05$). Assim, o método de obtenção das soluções concentradas deve incluir a etapa de sonicação por 10 minutos, pois esta apresentou melhor desempenho de leitura nas condições do método.

Tabela 10 – Concentrações de LPSF/GQ-130 obtidas a partir da variação do sistema de diluição das amostras.

<i>Diluição</i>	<i>Médias das Áreas (mAU) ± dp</i>
Sonicação 10min	686613,3 ± 12662,11
Sonicação 5 min	546114,7 ± 7985,957
Agitação mecânica 5 min	508974 ± 9797,82

5.2.2.4 Determinação de parâmetros do equipamento

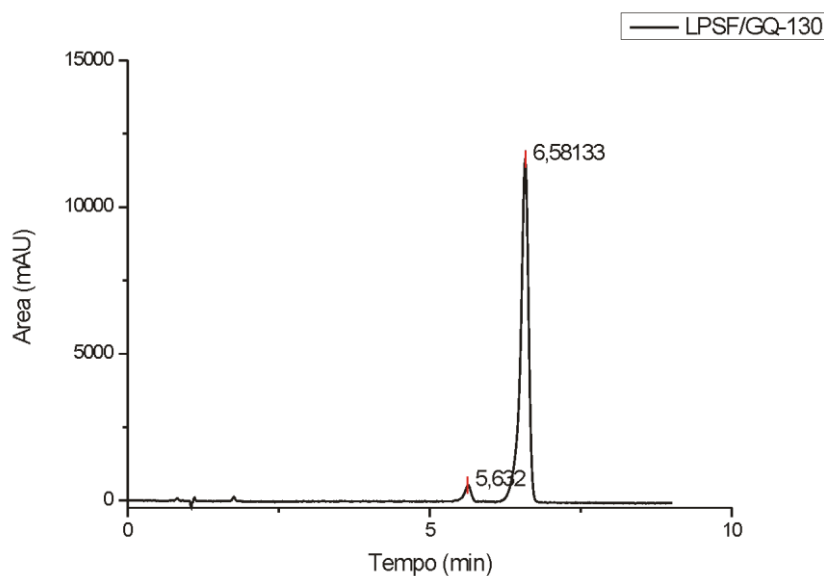
Outros parâmetros, tais como a temperatura do forno do equipamento e o fluxo da fase móvel também foram avaliados. De acordo com os resultados (Tabela 11), o fluxo de 2 mL.min⁻¹ apresenta TR menor do que o fluxo 1,5 mL.min⁻¹ em ambas as temperaturas testadas.

Tabela 11 – Tempos de retenção de LPSF/GQ-130 em diferentes condições de temperatura (25 e 30°C) e fluxo (1,5 e 2,0 mL.min⁻¹).

<i>Temperatura do forno (°C)</i>	<i>Fluxo (mL/min)</i>	<i>Tempo de Retenção (min)</i>
25	1,5	8,55
25	2,0	6,58
30	1,5	8,16
30	2,0	6,12

Adicionalmente, foi percebido que apenas no fluxo de 2 mL.min⁻¹ o cromatograma passou a identificar um segundo pico, de menor intensidade, num TR 5,6 (Figura 32). Isto torna ainda mais importante a utilização deste parâmetro no processo. A variação da temperatura do forno não apresentou benefícios importantes e, portanto, selecionou-se a temperatura usual de 25°C.

Figura 32 – Cromatograma do LPSF/GQ-130 obtido por CLAE, com fase móvel ACN/H₂O 85:15 (2 ml.min⁻¹), a 25°C.

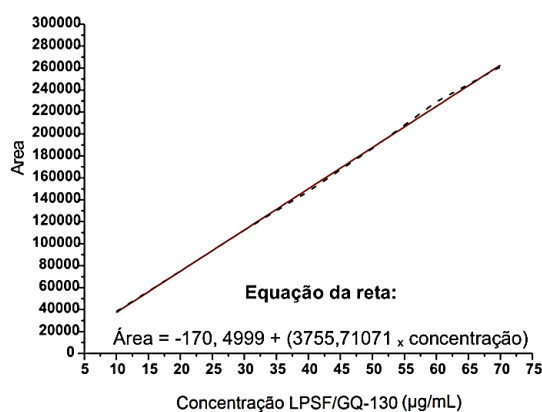


5.2.3 Validação do Método de Quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE

5.2.3.1 Linearidade

De acordo com as áreas obtidas para os sete pontos de concentração avaliados, o método demonstrou-se linear com R^2 de 0,9992, como apresentado na Figura 33.

Figura 33 – Linearidade do método de quantificação proposto para o LPSF/GQ-130.



Nesta etapa, as áreas do pico secundário foram monitoradas visando garantir seu percentual inferior a 5% em relação à área total obtida para as diferentes concentrações de LPSF/GQ-130 (Figura 34, Tabela 12).

Figura 34 – Pico secundário nos cromatogramas do LPSF/GQ-130 em diferentes concentrações, obtidos por CLAE no método proposto.

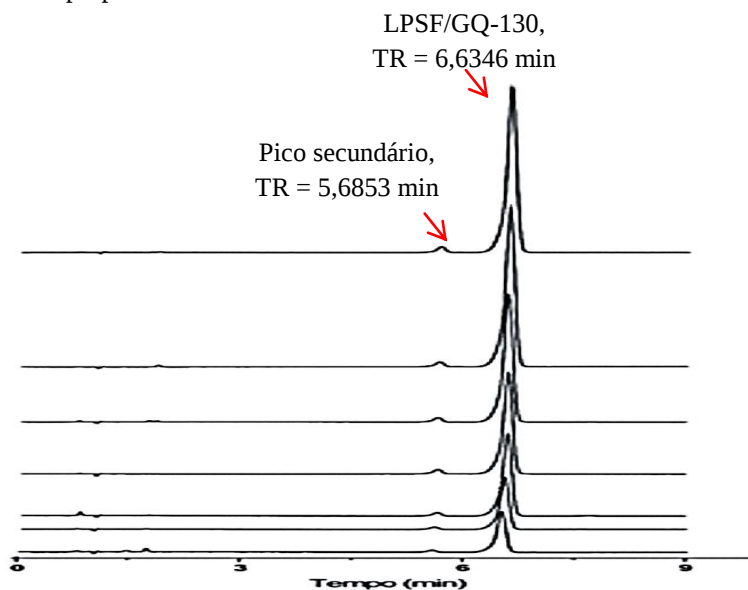


Tabela 12 – Controle do percentual do pico secundário nos cromatogramas de LPSF/GQ-130.

<i>Concentração de LPSF/GQ-130 (µg/mL)</i>	<i>Média das áreas de LPSF/GQ-130 ± dp</i>	<i>Média das áreas do pico secundário ± dp</i>	<i>% representativo do pico secundário</i>
10	43667,3 ± 11669,66	1579 ± 448,44	3,6
20	74946,3 ± 1851,63	2883,3 ± 116,39	3,8
30	112083,7 ± 3733,00	3999 ± 163,04	3,5
40	147261,3 ± 3722,67	4838,6 ± 1054,36	3,3
50	186436 ± 3215,1210	5359 ± 712,89	2,9
60	229115,3 ± 1222,36	5259 ± 1014,00	2,3
70	260948,3 ± 5353,84	8479,6 ± 640,61	3,2

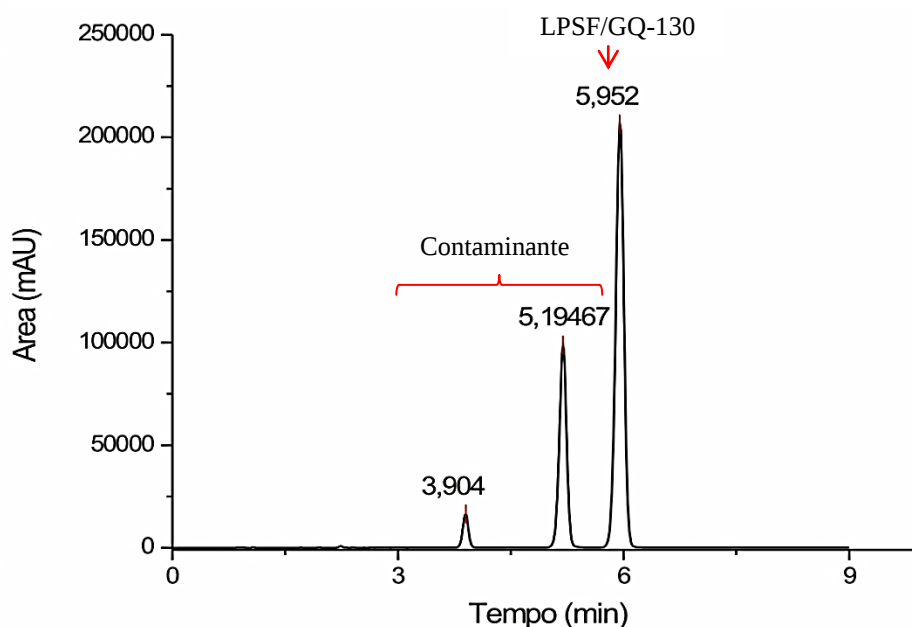
5.2.3.2 Especificidade

As áreas dos picos referentes ao LPSF/GQ-130, tanto para solução pura quanto para solução contaminada, não são estatisticamente diferentes a um nível de significância de 95% (p -valor = 0,066), sugerindo que não há pico da substância contaminante que se expressa no mesmo tempo de retenção da substância analisada (Tabela 13) o qual o método não foi capaz de separar. Adicionalmente, foi possível identificar os picos da substância contaminante em outros tempos de retenção (Figura 35). Assim, pode-se inferir que método desenvolvido atende ao quesito especificidade.

Tabela 13 – Concentrações de LPSF/GQ-130 em CLAE para amostras de concentrações conhecidas do protótipo (40 µg/mL) puro e contaminado com LPSF/GQ-16.

<i>Substância</i>	<i>Média das concentrações (µg/mL) ± dp</i>
Solução LPSF/GQ-130 (40 µg/mL) pura	38,9932 ± 0,9680
Solução LPSF/GQ-130 (40 µg/mL) contaminada com LPSF/GQ-16 (40 µg/mL)	34,3967 ± 3,2494

Figura 35 – Especificidade do método de quantificação por CLAE proposto, utilizando o LPSF/GQ-16 como agente contaminante.



5.2.3.3 Exatidão

As três amostras de LPSF/GQ-130 obtidas em diferentes concentrações (20, 40 e 60 µg/mL) apresentaram CV% de 0,0206, estando assim dentro dos parâmetros e variações determinadas para validação do método. Portanto, pode-se afirmar que o método apresenta-se exato (Tabela 14).

Tabela 14 – Concentrações reais e calculadas pelo método proposto de LPSF/GQ-130.

<i>Concentração conhecida ($\mu\text{g/mL}$)</i>	<i>Média das concentrações ($\mu\text{g/mL}$) $\pm$ dp</i>	<i>CV (%)</i>
20	19,6950 $\pm$ 0,1322	0,67
40	38,8632 $\pm$ 0,2200	0,56
60	61,0949 $\pm$ 0,3254	0,53

5.2.3.4 Precisão

Repetibilidade

Os valores das concentrações obtidas a partir de seis diferentes amostras diluídas (40 $\mu\text{g/mL}$) obtiveram p -valor $> 0,05$ (0,92), apresentando-se, assim, estatisticamente semelhantes. Deste modo, o método foi considerado aceito no quesito repetibilidade (Tabela 15).

Tabela 15 – Concentrações de LPSF/GQ-130 obtidas por CLAE para seis repetições de amostra a 40 $\mu\text{g/mL}$.

<i>Leitura</i>	<i>Concentração de LPSF/GQ-130 ($\mu\text{g/mL}$)</i>
1	38,9632
2	39,4400
3	40,3825
4	40,3825
5	38,9200
6	39,7999
Média $\pm$ dp	39,65 $\pm$ 0,65
CV%	1,6517

Precisão Intermediária

De acordo com os resultados obtidos (Tabela 16), as amostras apresentam-se estatisticamente semelhantes (p -valor = 0,085 e 0,6517 para dias e analistas, respectivamente). Assim, pode-se inferir que o método também alcançou o critério da precisão intermediária.

Tabela 16 – Resultados obtidos para precisão intermediária do método de quantificação por CLAE proposto.

<i>Amostra</i>	<i>Média das concentrações (µg/mL) ± dp</i>
F1	40,3826
F3	41,0642
G1	39,5147
G3	39,6879
Média	40,03 ± 0,7086
CV (%)	1,77

5.2.3.5 Robustez

Para verificação da robustez do método foram variadas a temperatura do forno do equipamento (24, 25 e 26°C) e o fluxo (1,9; 2,0; e 2,1 mL/min), conforme apresenta a Tabela 17. Os resultados obtidos demonstraram-se estatisticamente semelhantes para a temperatura ($p = 0,99$) e para o fluxo ($p = 0,1$).

Tabela 17 – Valores das concentrações obtidos na avaliação da robustez do método de quantificação do LPSF/GQ-130 por CLAE.

		Temperatura (°C)		
		24	25	26
Fluxo (mL.min ⁻¹)	1,9	40,3456	40,8452	41,4356
	2,0	42,7643	41,3742	41,3345
	2,1	40,3985	40,9843	40,4325

5.3 PARTE III: DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO DE DISSOLUÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA PARA O LPSF/GQ-130

Os estudos de dissolução *in vitro* constituem-se em instrumentos essenciais para avaliação das propriedades biofarmacêuticas das formas farmacêuticas sólidas de uso oral, fornecendo informações úteis tanto para a pesquisa e desenvolvimento quanto para a produção e controle de qualidade (CARDOSO, CORREA, BELLÉ, 2008). Além de diversas outras aplicações, este estudo permite avaliar novas formulações e estabelecer uma correlação *inter-lotes*, fornecendo subsídio para detectar desvios de processo e/ou

qualidade dos insumos farmacêuticos utilizados no preparo da formulação final, visando assegurar a homogeneidade de liberação do fármaco da forma farmacêutica (SILVA;VOLPATO; 2002).

Por se tratar de um protótipo a fármaco, o LPSF/GQ-130 não possui método de dissolução desenvolvido, sendo esta uma lacuna importante que deve ser preenchida para que seja possível o avanço no desenvolvimento de suas formulações. Assim, levando em consideração as diretrizes da RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010, variações na composição do meio de dissolução foram realizadas a fim de se estabelecer a condição mais adequada para análise do LPSF/GQ-130.

O desenvolvimento do método de dissolução levou em consideração três fatores críticos (pH, %LSS e volume do meio), os quais foram variados em três níveis. A realização de um planejamento fatorial completo levaria ao preparo de um grande número de amostras, inviabilizando sua execução em tempo hábil. Deste modo, optou-se por aplicar o planejamento fatorial com ponto central, que se apresenta como uma alternativa estatística para avaliação da significância dos fatores envolvidos com uma boa estimativa dos erros, contornando a necessidade de realizar um grande número de experimentos. De modo geral, para sua aplicação toma-se como um centro de planejamento um experimento em que se emprega o valor médio dos níveis de todas as variáveis, conhecido como ponto central (nível zero). Deste modo, é possível avaliar a significância dos efeitos ou coeficientes, tanto em planejamentos de triagem como em metodologias de superfície de resposta (TEÓFILO; FERREIRA, 2005).

Para tanto, foram realizadas coletas nas diferentes condições de dissolução, considerando os tempos de 30, 45, 60, 90 e 120 min. Para todos os meios testados as maiores áreas foram obtidas no último ponto de coleta, bem como os menores valores de CV%, sendo este o ponto escolhido para avaliação das áreas obtidas e aplicação da metodologia estatística explicitada acima. A Tabela 18 apresenta os valores das áreas de LPSF/GQ-130 obtidas por HPLC em cada meio de dissolução testado.

Tabela 18 – Áreas do pico de LPSF/GQ-130 obtidas após dissolução do LPSF/GQ-130 (120 min) por CLAE, em triplicatas, utilizando as condições estabelecidas no planejamento fatorial completo de Montgomery (2001).

<i>Nº experimento</i>	<i>pH</i>	<i>Volume (mL)</i>	<i>LSS (%)</i>	<i>Média das Áreas (mAU) ± dp</i>	<i>%CV</i>
1	-	+	-	10163 ± 678,7215	0,0667
2	-	-	+	12966 ± 1499,2235	0,1117
3	+	-	-	2099 ± 287,8037	0,1371
4	+	+	+	4881 ± 917,3205	0,1879
5	-	+	+	15030 ± 2470,5216	0,1644
6	+	+	-	1405 ± 1455,3765	1,0358
7	+	-	+	1686 ± 252,3707	0,1497
8	-	-	-	9839 ± 934,6566	0,0950
9	0	0	0	6077,3 ± 2264,8181	0,3726

*Concentração máxima: 10 µg/mL

Os resultados obtidos a partir da regressão linear da Equação 2 indicam que os três fatores avaliados são importantes para explicar a área do pico do LPSF/GQ-130. Conforme Tabela 19, o fator pH e %LSS apresentam os maiores efeitos na resposta, e todos são significativos considerando nível de significância de 5%.

Tabela 19 – Valores obtidos a partir da regressão linear da Equação 2 para os fatores principais e associados no desenvolvimento do método de dissolução para o LPSF/GQ-130.

	<i>Coefficientes</i>	<i>Erro padrão</i>	<i>Stat t</i>	<i>valor-P</i>	<i>95% inferiores</i>	<i>95% superiores</i>
constante	7127,37037	276,6697903	25,76129	3,05988E-16	6548,293845	7706,446895
A	-4740,875	293,4526273	-16,1555	1,48173E-12	-5355,078406	-4126,671594
B	611,125	293,4526273	2,082534	0,051047245	-3,07840638	1225,328406
C	1382,125	293,4526273	4,709874	0,000152486	767,9215936	1996,328406
AB	14,125	293,4526273	0,048134	0,96211195	-600,0784064	628,3284064
AC	-616,375	293,4526273	-2,10042	0,049272983	-1230,578406	-2,17159362
BC	703,625	293,4526273	2,397746	0,026930973	89,42159362	1317,828406
ABC	268,625	293,4526273	0,915395	0,371456733	-345,5784064	882,8284064

Legenda: A – pH; B – volume do meio (mL); C – %LSS; AB, BC, AC e ABC – fatores associados.

Conforme Tabela 19, o fator pH apresenta uma correlação negativa com a área, demonstrando que o LPSF/GQ-130 é mais solúvel no meio quanto menor for o pH utilizado. Segundo Silva e Volpato (2002), este resultado nos permite inferir que a solubilidade do LPSF/GQ-130 em água é sensível ao pH da solução, e este quesito deve ser levado em consideração quando o objetivo for obter maiores níveis de protótipo

solúvel. Adicionalmente, este resultado está em concordância com a característica química do LPSF/GQ-130, o qual possui caráter básico.

A introdução de modificadores, como tensoativos ou solventes orgânicos, também é um artifício destinado ao aumento da concentração de substâncias pouco solúveis em água. Para o LPSF/GQ-130, o fator %LSS apresenta um *p*-valor muito baixo e significativo, e o seu coeficiente denota que um alto percentual de LSS está correlacionado com uma maior área do protótipo. Segundo Silva e Volpato (2002) os mecanismos mais prováveis de atuação dos tensoativos se dá através do aumento da molhabilidade do fármaco e/ou da solubilização micelar, onde o primeiro desloca a microfase de ar da superfície do sólido, substituindo-a por uma microfase líquida (solução), reduzindo assim o ângulo de contato sólido-líquido; e o segundo decorre da formação de micelas que abrigam o fármaco insolúvel em seu interior, originando assim um meio aquoso mais homogêneo. O fator volume do meio apresentou um *p*-valor muito próximo de 5% (5,1%), e assim como o %LSS influencia positivamente na variável resposta (Tabela 19).

Tendo analisado os efeitos principais de cada fator na área do pico de LPSF/GQ-130 cabe ater-se também aos efeitos de interação desses fatores. A associação entre pH e %LSS é significativa a 5%, e de acordo com o valor do coeficiente obtido percebe-se que o efeito do pH se sobressai em relação ao efeito do %LSS na área do pico do protótipo, quando considerados simultaneamente. A interação volume do meio com %LSS mostrou-se mais significativa que a anterior ($p = 2,69\%$), ressaltando a importância da fidedignidade dos valores experimentais atribuídos a cada um dos fatores abordados. Por outro lado, não foi observada significância estatística na associação entre volume do meio e pH e entre os três fatores simultaneamente.

Como se pode observar na Tabela 20 o r^2 , que mede o quanto a variabilidade das variáveis independentes explica a variabilidade da variável dependente, é bastante alto, com valor 0,94, indicando que o modelo possui uma boa qualidade de ajuste. O valor calculado da estatística F (42,646) é significativo e cerca de 20 vezes maior em relação ao F tabelado a 5% de nível de significância ($F=2,54$). Segundo Barros Neto e colaboradores (1996), uma razão entre F calculado e tabelado (F) superior a 4 indica que o modelo apresenta boa capacidade de predição, ou seja, que pode prever com acurácia os valores da resposta (área de LPSF/GQ-130) de acordo com o nível dos fatores que se deseja utilizar. Deste modo, torna-se viável a aplicação de uma análise de superfície-resposta, que visa determinar os níveis ótimos de execução do experimento.

Tabela 20 – Análise de Variância (ANOVA) para o estudo de dissolução do LPSF/GQ-130.

<i>Fonte variação</i>	<i>SQ</i>	<i>GL</i>	<i>MQ</i>	<i>F</i>	<i>p-valor</i>
Regressão	6,17E+08	7	8813830	42,64591	2,66276E-10
Resíduo	39268187	19	2066747		
Total	6,56E+08	26			
R²	0,94016				

Uma vez que os melhores resultados do planejamento fatorial foram obtidos através da utilização do volume a 1000 mL, optou-se por realizar o experimento da matriz de Doehlert com este fator fixado nesta condição. Para tanto, foram reutilizados os valores da resposta referentes ao pH 1,2 e 6,8. Novos experimentos utilizando pH 4,0 foram realizados visando construir o ponto central desta matriz. Os níveis de fatores utilizados, assim como as áreas de LPSF/GQ-130 obtidas, estão descritos na Tabela 21.

Tabela 21 – Matriz de Doehlert empregada no desenvolvimento do método de dissolução do LPSF/GQ-130.

<i>Nº experimento</i>	<i>pH</i>	<i>LSS (%)</i>	<i>Área 1 (mAU)</i>	<i>Área 2 (mAU)</i>	<i>Área 3 (mAU)</i>
1	4,0	1,12	10271	7825	11531
2	1,2	1,0	17137	15642	12311
3	6,8	1,0	5925	4514	4204
4	4,0	0,75	7189	6210	5985
5	6,8	0,50	2906	0	1309
6	1,2	0,50	9716	10944	9829
7	4,0	0,41	4912	3384	4336

De acordo com os gráficos de superfície de resposta e de contorno (Figuras 36 e 37), a condição ótima para execução do experimento dá-se nos valores de pH=1,2 e %LSS=1,0, ambos gerando uma área média de 15030 mAU.

Figura 36 – Gráfico de Superfície Resposta do LPSF/GQ-130 frente às variáveis pH e %LSS, num volume fixo de 1000mL.

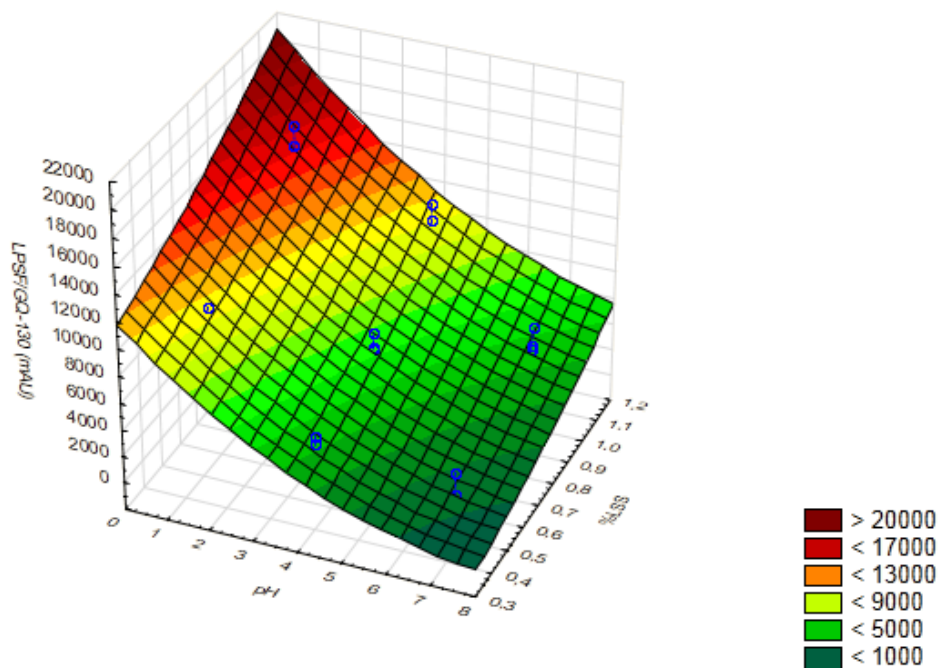
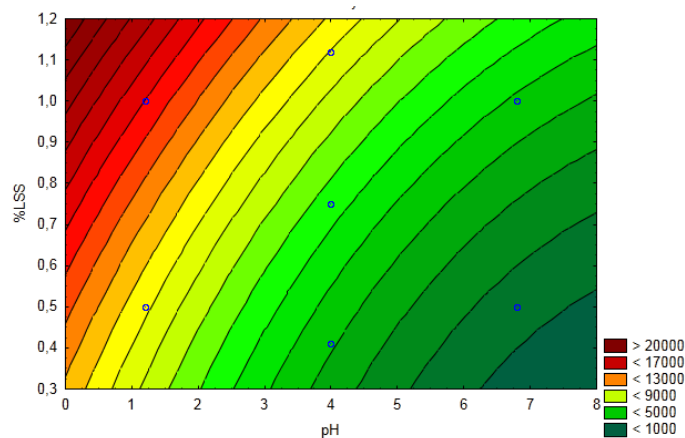
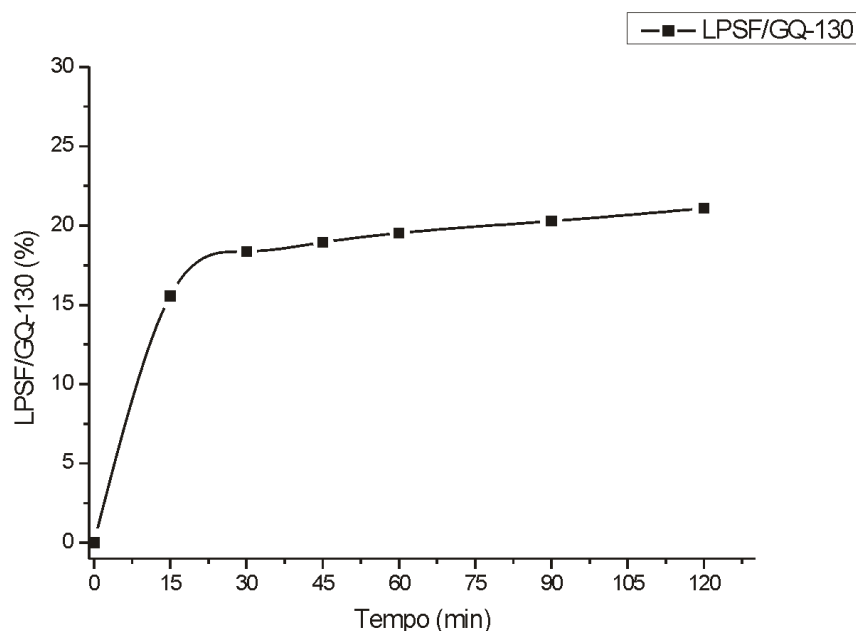


Figura 37 – Gráfico de Contorno do LPSF/GQ-130 frente as variáveis pH e %LSS, num volume fixo de 1000 mL.



Assim, foi obtido o perfil de dissolução do LPSF/GQ-130 nas condições ótimas estabelecidas pelo método desenvolvido (Figura 38).

Figura 38 – Perfil de dissolução do LPSF/GQ-130 em pH 1,2, 1% de LSS, volume 1000 mL, sob temperatura de 37,5°C e velocidade de agitação de 100 RPM.



5.4 PARTE IV: OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS A PARTIR DO LPSF/GQ-130

5.4.1 Estudos de Pré-formulação

5.4.1.1 Seleção qualitativa de candidatos à formação da matriz dos sistemas binários

Os candidatos ideais para formulação de DS são identificados de acordo com suas propriedades físico-químicas, a saber: temperatura de fusão, estabilidade térmica no estado sólido, constante de ionização; e parâmetros de solubilidade/interação (MILLER;GIL, 2012). Este último item é de notável importância, uma vez que o fármaco deverá apresentar maior solubilidade no excipiente sólido que apresente possibilidade de formação de fortes interações intermoleculares favoráveis, como ligações de hidrogênio, eletrostáticas e interações iônicas ou hidrofóbicas (VAN EERDENBRUGH; TAYLOR, 2011).

Assim, a escolha qualitativa da matriz das DS partiu de um estudo teórico dos sítios potenciais de interação entre o LPSF/GQ-130 e os excipientes candidatos. Algumas opções foram extraídas de publicações realizadas com a pioglitazona, tiazolidinadiona utilizada para o tratamento do diabetes, a qual representou objeto de estudo para obtenção de DS nos trabalhos de Chowdary e colaboradores (2012), Mishra

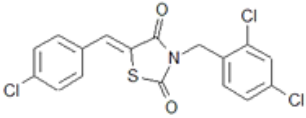
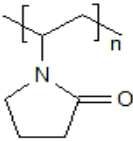
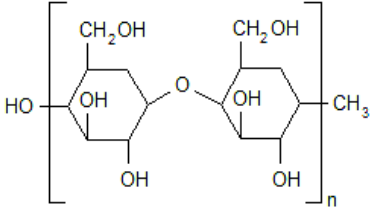
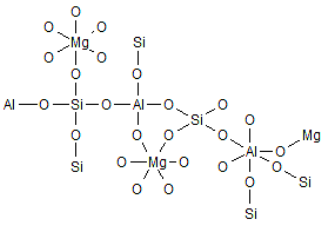
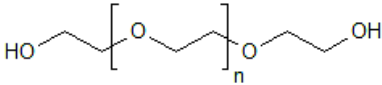
e colaboradores (2011) e Amhed (2011). Adicionalmente, Kim e colaboradores (2008) inferem que a utilização de polímeros hidrofílicos na obtenção destes sistemas frequentemente apresentam resultados promissores, principalmente quando se trata da obtenção de DS amorfas. Dentre os mais amplamente utilizados, constam os derivados de celulose, os polímeros vinílicos e os polioxietilenos (PAUDEL et al., 2012).

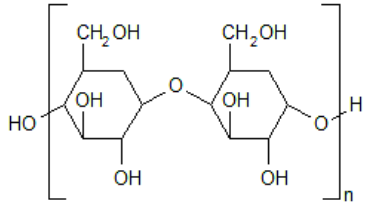
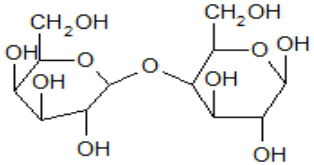
A formação de ligações de hidrogênio entre os componentes da DS é um ponto crítico no processo de escolha da matriz do sistema também por serem intensamente relacionadas ao confinamento molecular da substância ativa, inibindo assim sua recristalização (SUN; JU; LEE, 2012). Segundo Quian e colaboradores (2010), a resistência da recristalização do fármaco a partir de uma DS amorfa é maior no caso de homogeneidade molecular da mistura de fármaco-polímero na formulação final.

Diante deste cenário, foi avaliada a capacidade de formação de ligação de hidrogênio do próprio LPSF/GQ-130. Conforme imagem apresentada no Quadro 8, o protótipo apresenta a particularidade de não possuir pontos doadores de ligações de hidrogênio, o que o distancia da comparação inicialmente realizada com a pioglitazona, que possui um ponto doador de ligações de hidrogênio. Por outro lado, o LPSF/GQ-130 possui três pontos aceptores deste tipo de interação química, representados pela função diamida do anel tiazolidínico. Por este motivo, excipientes doadores de ligações de hidrogênio passam a apresentar prioridade no processo de escolha.

O quadro 8 apresenta, ainda, a avaliação realizada com os excipientes utilizados por Chowdary e colaboradores (2012), Mishra e colaboradores (2011) e Amhed (2011), bem como de polímeros selecionados de acordo com sua frequência de uso e sucesso na obtenção de DS descritas na literatura.

Quadro 8 – Avaliação teórica dos sítios potenciais de para formação de ligação de hidrogênio entre excipientes e LPSF/GQ-130.

Substância	Nº de sítios doadores	Nº de sítios aceptores	Próprio ou impróprio
 LPSF/GQ-130	00	03	---
 PVP K-30	00	02	IMPRÓPRIO
 HPMC	Vários	03	PRÓPRIO
 NEUSILIN FH2	00	Vários	IMPRÓPRIO
 PEG 6000	02	Vários	PRÓPRIO

Substância	Nº de sítios doadores	Nº de sítios aceptores	Próprio ou impróprio
 STARCH 1500	Vários	Vários	PRÓPRIO
 TABLETOSE	08	03	PRÓPRIO

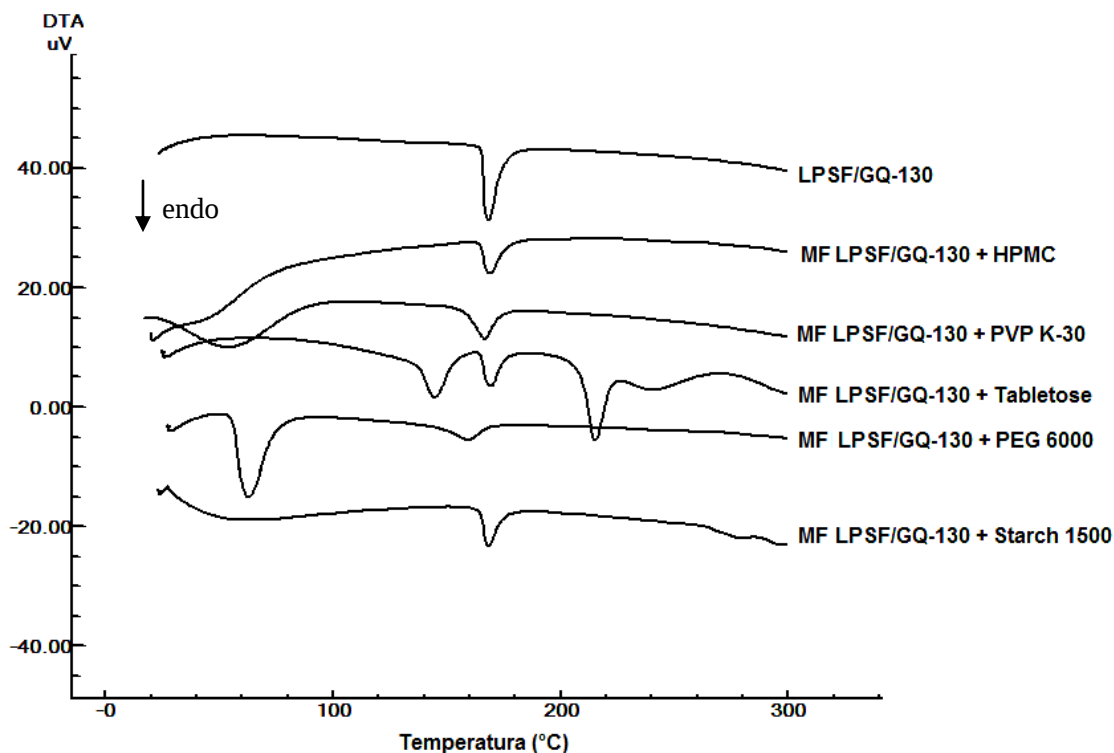
A obtenção de diferentes sistemas binários e ternários a base de LPSF/GQ-130 a partir de todos os excipientes classificados como próprios (Quadro 7) tornar-se-ia inviável em virtude do alto número de amostras a serem obtidas e, obviamente, o quantitativo necessário do protótipo apresenta-se como um fator limitante neste processo. Assim, estudos de compatibilidade térmica LPSF/GQ-130-excipientes foram conduzidos visando compreender o comportamento do protótipo frente a estas substâncias, e gerar mais um critério de seleção notadamente importante para sua escolha, onde envolve a estabilidade e segurança do produto final.

Ademais, os estudos com o polímero PVP K-30 foram continuados de modo a observar a intensidade da relação entre formação de sistemas de DS e formação de ligações de hidrogênio, uma vez que o PVP K-30 apresenta-se como um polímero extensamente utilizado na obtenção destes sistemas, conforme diversos estudos na literatura (PAUDEL, 2012).

5.4.1.2 Estudo de compatibilidade térmica do LPSF/GQ-130 frente aos excipientes candidatos à formação da matriz dos sistemas binários

A figura 39 apresenta as curvas DTA do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas (MF).

Figura 39 – Curvas DTA do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com excipientes candidatos à formação de sistemas binários de dispersão sólida, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ e fluxo de nitrogênio de $50 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$.



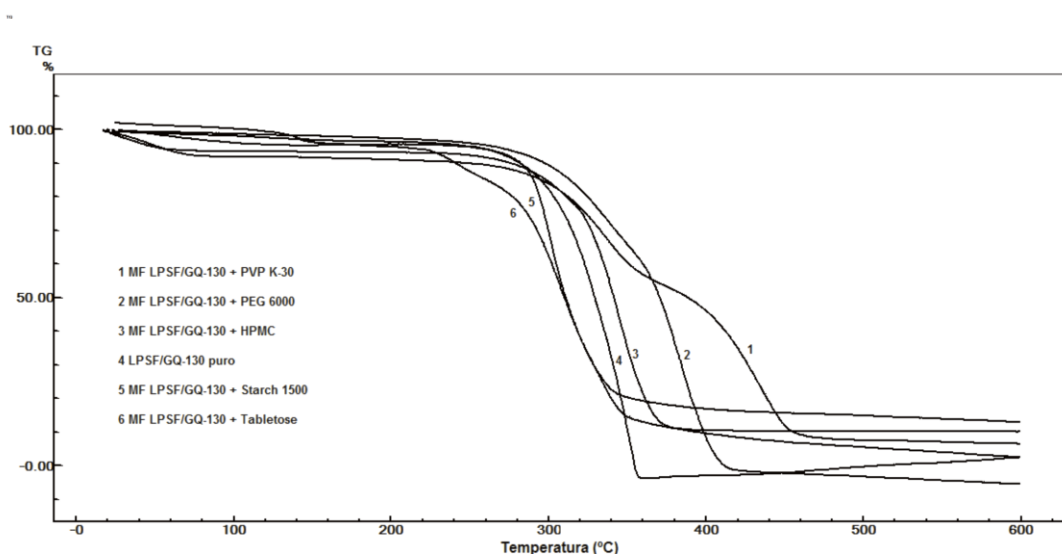
De acordo com os resultados obtidos, percebe-se que todos os excipientes provocam variações na temperatura inicial de fusão do protótipo, entretanto a maioria delas são variações insignificantes. As curvas DTA das MF com PVP K-30 e PEG 6000 demonstram considerável antecipação da fusão do LPSF/GQ-130 (Tabela 22). Este fato reflete que, na presença destes excipientes, os cristais da NEQ se fragilizam, uma vez que é necessário menor quantidade de energia para desfazer a rede cristalina (fusão), sugerindo interação entre as substâncias envolvidas. Por outro lado, fragilizar a estrutura cristalina também reflete aumento da solubilidade aquosa da substância (STULZER et al., 2008), sendo esta uma consequência benéfica para o LPSF/GQ-130 que apresenta uma baixa solubilidade em água.

Tabela 22 - Valores obtidos de T_{onsetD} e T_{onsetF} para o LPSF/GQ-130 puro e em suas misturas físicas.

<i>Amostra (proporção 1:1 quando MF)</i>	$T_{onsetF} (^{\circ}C)$	$\Delta T_{onsetF} (^{\circ}C)$	$T_{onsetD} (^{\circ}C)$	$\Delta T_{onsetD} (^{\circ}C)$
LPSF/GQ-130 puro	171,3	-	270,51	-
MF LPSF/GQ-130 + HPMC	165,45	-5,85	277,98	+ 7,48
MF LPSF/GQ-130 + PVP K-30	158,41	-12,89	307,09	+ 36,59
MF LPSF/GQ-130 + PEG 6000	149,22	-22,08	270,48	-0,02
MF LPSF/GQ-130 + Starch 1500	165,59	-5,71	279,73	+ 9,73
MF LPSF/GQ-130 + Tabletose	164,70	-6,6	273,64	+ 3,14

Assim, através da obtenção da curva TG e sua derivada (DTG) foi possível verificar se a antecipação da temperatura inicial de fusão do protótipo acarreta em antecipação da temperatura inicial de degradação ou seu retardo, permitindo-se, assim, inferir sobre a compatibilidade ou incompatibilidade térmica entre as substâncias envolvidas. De acordo os resultados obtidos (Figuras 40, Tabela 22) foi possível perceber retardo na temperatura inicial de degradação da MF LPSF/GQ-130 + PVP K-30. Neste caso, a estabilidade térmica foi prolongada, uma vez que a MF necessita de temperaturas mais altas para iniciar o processo de degradação térmica do protótipo em relação ao último isolado (SOVIZI, 2010).

Figura 40 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com excipientes candidatos à formação de sistemas binários de dispersão sólida, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ e fluxo de nitrogênio de $50\text{mL}.\text{min}^{-1}$.



Apesar da boa repercussão na estabilidade do protótipo, a literatura aponta que a solubilização total é frequentemente observada nas MF de diversos outros fármacos com o PVP K-30, como o ibuprofeno, naproxeno, captopril e cetoprofeno (TITTA et al., 2010). Para o LPSF/GQ-130, a solubilização em PVP K-30 fundido parece ser apenas parcial, relacionada à concentração de saturação do protótipo no polímero, provavelmente devido a dificuldade de formação de ligação de hidrogênio entre as substâncias. Ainda assim, este polímero foi selecionado para dar continuidade aos estudos, visando comparação entre os resultados práticos obtidos.

A curva DTA referente à MF LPSF/GQ-130 + PEG 6000 demonstra notória redução da intensidade do pico de fusão do LPSF/GQ-130. Isto pode ser atribuído à solubilização parcial do protótipo quando o polímero é fundido (STULZER et al., 2008). Por outro lado, percebe-se que o PEG 6000 manteve a temperatura inicial de degradação do protótipo, podendo-se supor que o LPSF/GQ-130 apresenta solubilidade em PEG 6000 fundido, repercutindo no incremento do perfil de dissolução da NEQ, porém não o protege termicamente.

Em relação aos componentes derivados de celulose, percebeu-se que apesar da semelhança no T_{onsetF} de LPSF/GQ-130, as MF com Starch 1500 e Tabletose tiveram o processo de degradação antecipado em relação ao LPSF/GQ-130 puro, sugerindo que esta associação reduz a estabilidade térmica do protótipo. Já a MF de LPSF/GQ-130 + HPMC parece manter a estabilidade térmica do mesmo. Adicionalmente, o HPMC é o

derivado de celulose mais utilizado na preparação de DS de fármacos pouco solúveis em água (PAUDEL et al., 2012). Deste modo, foram selecionados os polímeros PEG 6000, PVP K-30 e HPMC para prosseguir com os estudos.

5.4.1.3 Seleção qualitativa de tensoativos para obtenção de sistemas ternários

As curvas DTA do LPSF/GQ-130 em presença dos tensoativos lauril sulfato de sódio (LSS), polissorbato 80 (PLS 80) e estearato de polietilenoglicol 100 (EPEG100) são demonstradas na Figura 41. Os valores obtidos para a T_{onsetF} do LPSF/GQ-130 isolado e em associação são expressos na Tabela 23. De acordo com os resultados obtidos, percebe-se que não houve variação significativa da T_{onsetF} do protótipo em presença dos tensoativos PLS 80 e LSS. Contudo, diferentemente do PLS 80, percebe-se significativa antecipação da T_{onsetD} na MF com LSS. A partir da curva DTG obtida para esta MF, percebe-se que o LSS antecipa a degradação mistura, reduzindo a estabilidade térmica do LPSF/GQ-130 (Figura 42). Já para MF com EPEG100, uma antecipação de 18,7°C na T_{onsetF} do LPSF/GQ-130 foi observada.

Figura 41 – Curvas DTA do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com tensoativos, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50mL.min⁻¹.

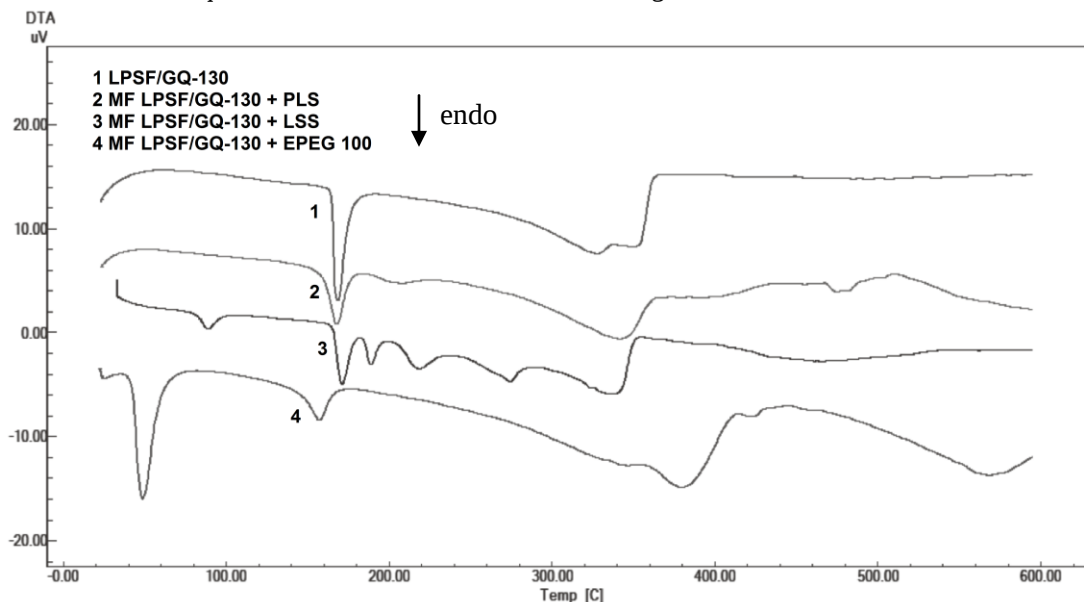
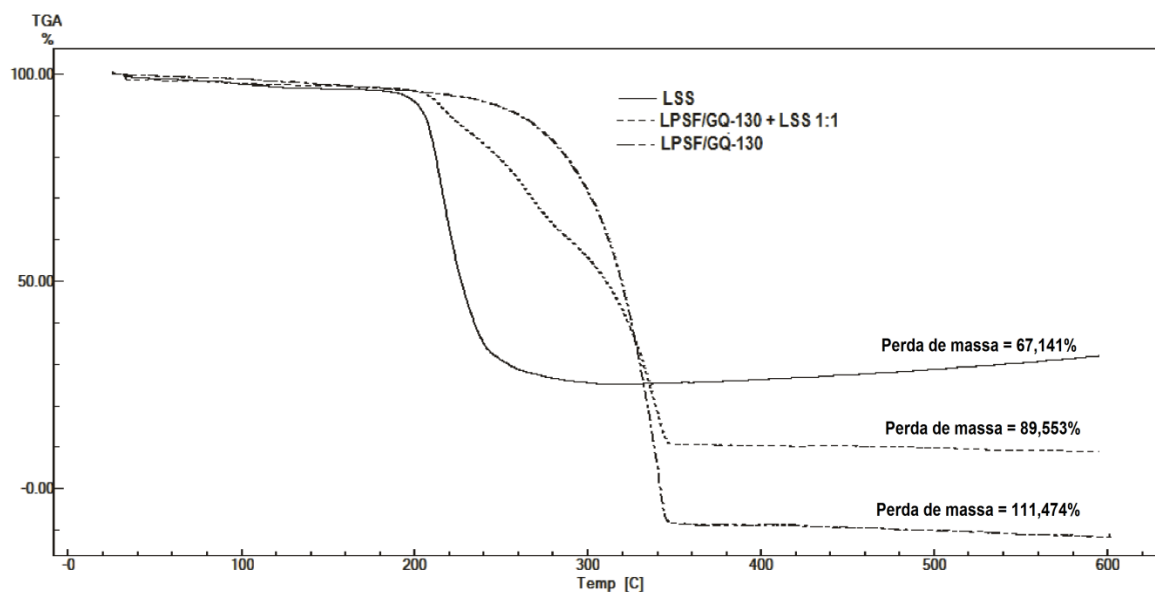


Figura 42 – Curva DTG de LPSF/GQ-130, LSS e sua MF, sob fluxo de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.



Entretanto, a T_{onsetD} do protótipo foi retardada em $28,25^\circ\text{C}$ quando na presença deste tensoativo (Tabela 23). A figura 43 demonstra que a referida MF possui maior estabilidade térmica do que o LPSF/GQ-130 isolado, podendo-se inferir que houve incremento na sua estabilidade térmica. Adicionalmente, a antecipação da temperatura inicial de fusão sugere redução da rigidez dos cristais do protótipo. Estas observações são especialmente importantes quando se trata de tensoativos, pois se espera que as vantagens observadas através da análise térmica sejam somadas ao mecanismo tradicional destes excipientes, que é a redução do ângulo da interface sólido-água, aumentando assim sua molhabilidade.

Figura 43 – Curvas TG do LPSF/GQ-130 puro e suas misturas físicas com tensoativos, na proporção 1:1, sob razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ e fluxo de nitrogênio de $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$.

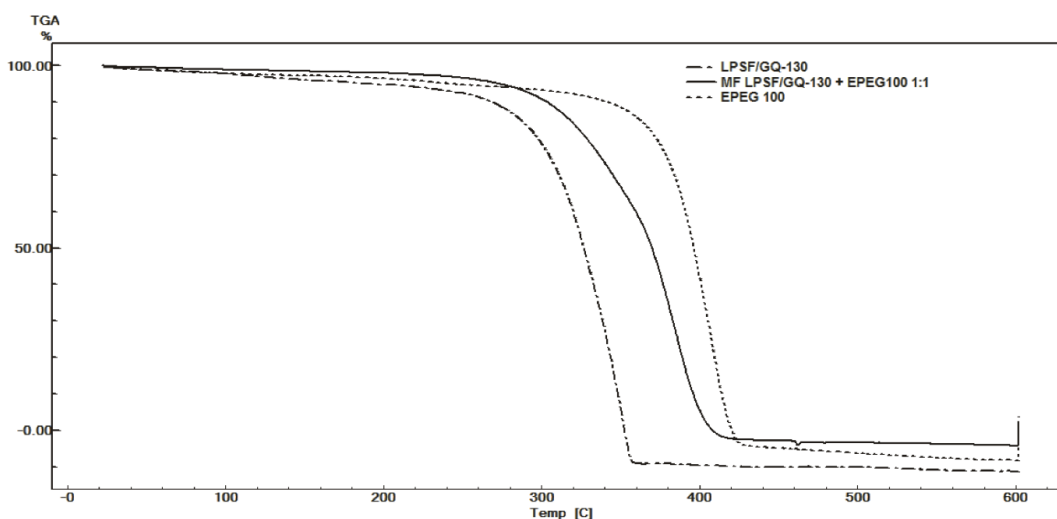


Tabela 23 – Valores de T_{onsetF} e T_{onsetD} do LPSF/GQ-130 em mistura física (1:1) com tensoativos, sob fluxo de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.

Tensoativo	$T_{onset F} (^\circ\text{C})$	$\Delta T_{onset F} (^\circ\text{C})$	$T_{onset D} (^\circ\text{C})$	$\Delta T_{onset D} (^\circ\text{C})$
LSS	165,88	+0,75	194,42	-75,98
PLS 80	161,08	-4,66	270,5	+ 0,01
EPEG 100	147,1	-18,64	298,76	+ 28,25

Legenda: atribuiu-se o sinal de “-” para os deslocamentos para esquerda e o sinal de “+” para os deslocamentos para direita.

A figura 44 apresenta o comportamento de solubilização em água ultrapura do LPSF/GQ-130 na presença dos diferentes surfactantes e em diferentes concentrações. A partir desta pode-se perceber que o protótipo apresentou desempenho similar na presença de cada um dos tensoativos estudados. Apenas nas concentrações de 0,75 e 1% foi observada diferença estatisticamente significativa entre as amostras ($p\text{-valor} < 0,05$), onde o EPEG 100 apresentou melhor desempenho. Nos demais pontos testados, as amostras apresentaram-se estatisticamente semelhantes ($p\text{-valor} > 0,05$) (Tabela 24).

Figura 44 – Diagrama de solubilidade de fases do LPSF/GQ-130 frente a diferentes concentrações dos tensoativos EPEG100, LSS e PLS80.

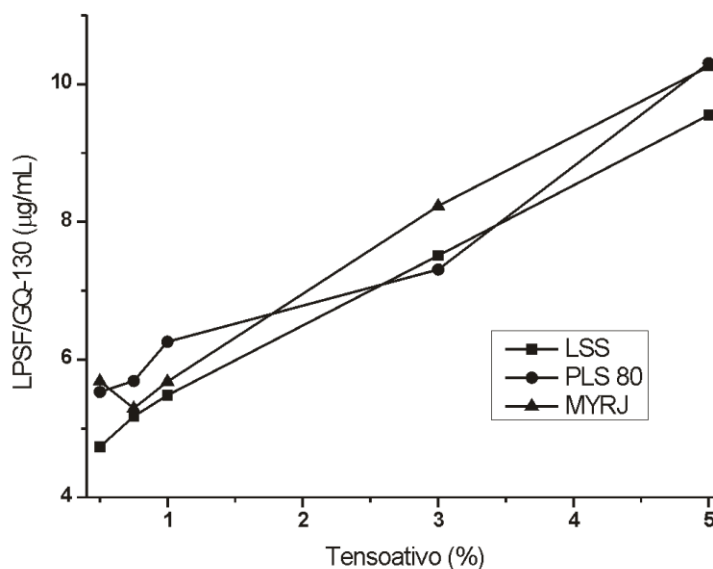


Tabela 24 – Concentrações de LPSF/GQ-130 alcançadas em água na presença de diferentes concentrações de tensoativos.

Concentração de Tensoativo (%)	Concentração de LPSF/GQ-130 (µg/mL)			p-valor
	LSS	PLS 80	EPEG100	
0,5	4,7325	5,5321	5,6870	0,10429
0,75	5,1757	5,6869	5,2879	5,2237E ⁻⁴
1	5,4817	6,2588	5,6790	2,3117E ⁻⁴
3	7,5100	7,3031	8,2318	0,23066
5	9,5467	10,3043	10,2554	0,6275

Assim, determinou-se como tensoativo de escolha para obtenção dos sistemas de DS ternários a utilização do EPEG 100, devido as suas características potencialmente benéficas apresentadas através da análise térmica, somado ao seu diferencial observado no diagrama de solubilidade de fases.

5.4.2 Desenvolvimento dos sistemas de DS binários e ternários a base de LPSF/GQ-130

5.4.2.1 Desenvolvimento e Caracterização de DS binárias

As DS binárias foram obtidas nas proporções de 1:9 de LPSF/GQ-130 em PEG 6000, HPMC e PVP K-30, através do método da evaporação do solvente. Partindo-se do princípio de que o objetivo principal da obtenção de DS é o incremento da solubilidade aquosa do fármaco inserido neste sistema, visando alcançar perfis de dissolução adequados; e que o meio de dissolução ótimo para o LPSF/GQ-130 é em pH 1,2 contendo 1% de LSS, optou-se por designar o cálculo da concentração de saturação (C_s) neste meio como critério inicial da seleção dos melhores sistemas obtidos.

Apesar de a dissolução ser mais do que a simples medida da taxa de solubilidade e ser controlado por outros fatores (como a afinidade química entre as substâncias envolvidas e o sistema farmacêutico que libera o fármaco), podendo ser mais corretamente descrito como um ensaio físico para prever a liberação do fármaco numa determinada área e quantidade e no tempo correto (MANADAS et al., 2002), este processo segue a descrição matemática de Noyes-Whitney, a qual expressa a relação da transferência de massa no processo de dissolução (Equação 5). Assim, nota-se que a taxa de dissolução ($\frac{dC}{dt}$) é diretamente proporcional a concentração de saturação da substância (C_s), respeitando a constante de proporcionalidade, que obedece uma

cinética de primeira ordem (k). A concentração do fármaco no meio no tempo “ t ” é expresso por “ C_t ”.

$$\frac{dC}{dt} = k(C_s - C_t) \quad (\text{Equação 5})$$

Deste modo, pode-se inferir que a solubilidade de um fármaco é parâmetro chave nos estudos de pré-formulação (MANADAS et al., 2002). Ainda, se o processo de dissolução ocorre em volume consideravelmente grande, de tal forma que $C_t \ll C_s$ (tipicamente menos de 10%), considera-se que a condição *sink* está mantida e, neste caso, o gradiente de concentração ($C_s - C_t$) estaria reduzido a C_s , que é uma constante particular de cada sistema em que o fármaco está inserido ou do fármaco puro.

Conforme Tabela 25 pode-se inferir que os sistemas obtidos com PVP K-30 e PEG 6000 apresentaram C_s inferior a do LPSF/GQ-130 puro, considerando o meio de dissolução utilizado. O lote HPMC01 não apresentou incremento significativo da solubilidade nestas condições (CV% 0,0099), porém, devido a diferença deste resultado em relação aos outros sistemas obtidos, optou-se por sua caracterização, visando obter informações adicionais para o direcionamento dos próximos experimentos.

Tabela 25 – Concentrações de saturação em meio de dissolução calculadas para as DS binárias obtidas através de diferentes polímeros.

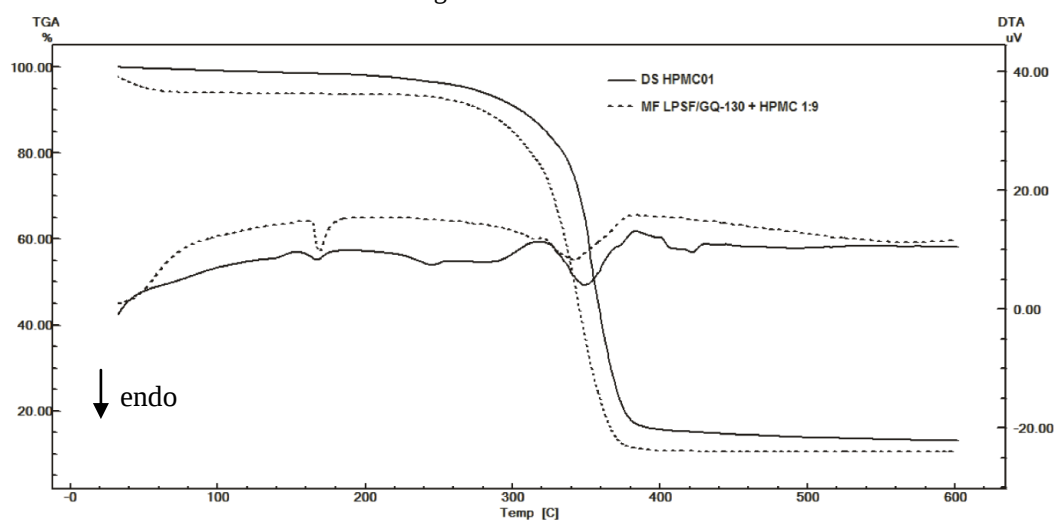
<i>Lote</i>	<i>Proporção LPSF/GQ- 130:Polímero (polímero)</i>	<i>Solvente</i>	<i>C_s (µg/mL) em pH 1,2 + LSS 1%</i>	
LPSF/GQ-130 puro (controle)	-	-	3,2168	
			<i>DS</i>	<i>MF</i>
PVP01	1:9 (PVP K-30)	Acetona/álcool etílico (65:35)	1,7450	3,5193
PVP02	1:9 (PVP K-30)	Diclorometano/ álcool etílico 25:75	1,7367	3,5193
HPMC01	1:9 (HPMC)	Diclorometano	3,2445	4,5324
PEG01	1:9 (PEG 6000)	Diclorometano	<LD do método	2,9266

MF – Mistura Física.

As curvas TG e DTA da DS binária HPMC01 e da sua MF (Figura 45) demonstram que a temperatura inicial de fusão do protótipo na DS foi antecipada em

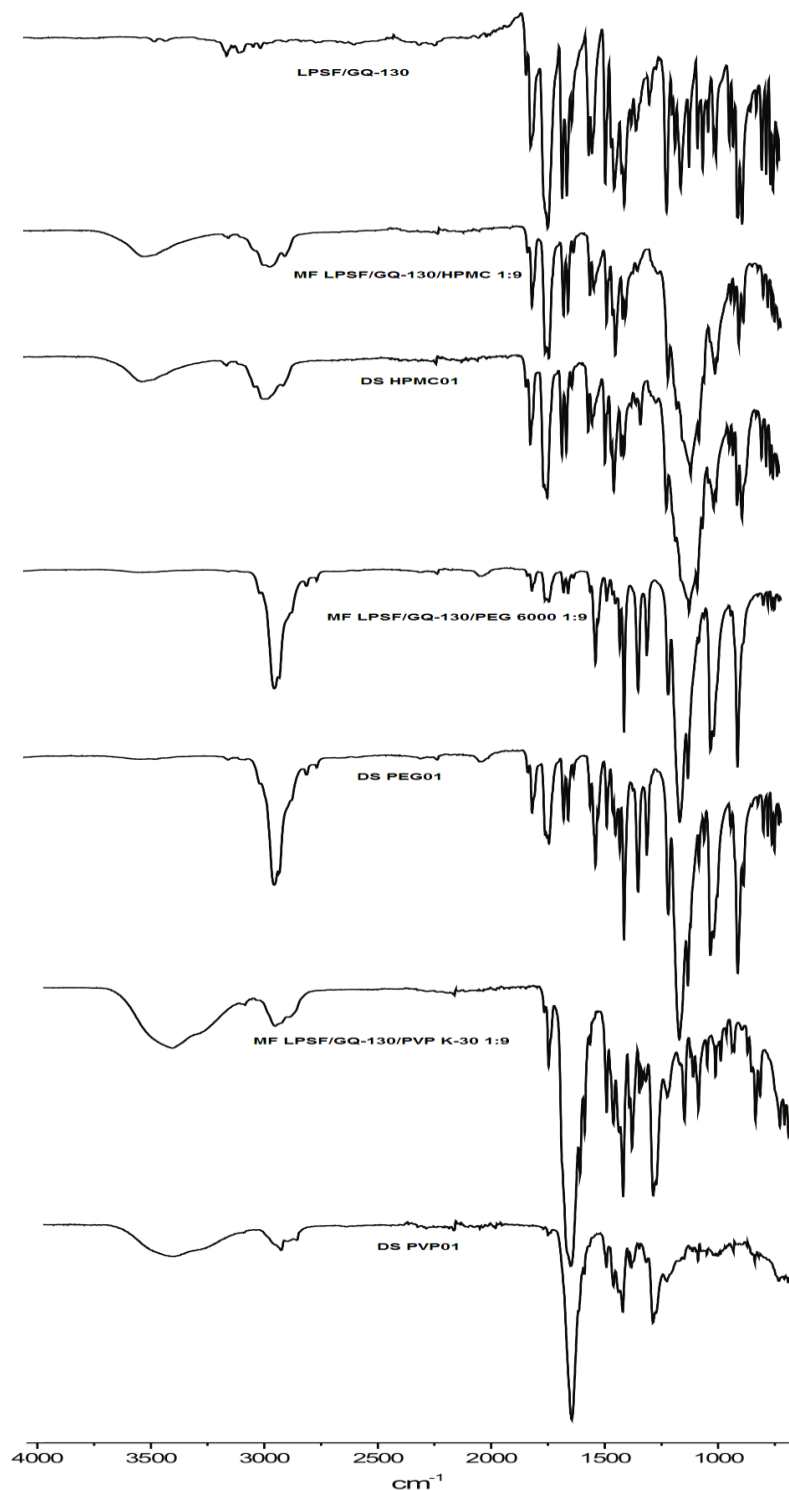
aproximadamente 5°C em relação a temperatura inicial de fusão do LPSF/GQ-130 na MF. Ademais, percebe-se redução da intensidade do evento de fusão, sugerindo que a cristalinidade do protótipo foi reduzida no sistema. Deste modo, pode-se estimar algum tipo de interação entre o protótipo e o polímero que ocorreu durante o processo de obtenção do sistema binário, que provavelmente seria intensificado após otimização do processo.

Figura 45 – Curvas TG e DTA da dispersão sólida HPMC01 e sua mistura física, sob razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ e fluxo de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹.



Através da espectrometria na região do infravermelho foi possível observar o comportamento das interações químicas dos compostos entre os sistemas obtidos (Figura 46).

Figura 46 – Espectrometria do LPSF/GQ-130, sistemas binários e misturas físicas.



No lote PVP01 não foi observado deslocamento químico da banda da carbonila, justamente porque não há presença de grupos funcionais que formem este tipo de ligação entre os dois compostos em questão. Entretanto, percebem-se alterações no espectro na faixa 1250 a 650 cm^{-1} e em aproximadamente 1750 cm^{-1} . Estes comprimentos de onda sugerem o estabelecimento de interações hidrofóbicas entre os dois anéis aromáticos do LPSF/GQ-130 com o PVP K-30.

Para o lote PEG01, nota-se que houve formação de ligação de hidrogênio tanto para a MF quanto para a DS, uma vez que a banda característica de hidroxila não se faz presente, além da redução significativa da intensidade da banda referente à carbonila do LPSF/GQ-130. Outro tipo de interação perceptível são as do tipo hidrofóbicas, pois nota-se clara redução da intensidade da banda em 1606 cm^{-1} , referente à ligação C=C presente no protótipo.

De acordo com estes resultados, pode-se inferir que as alterações observadas no estudo de estabilidade térmica entre o protótipo e os polímeros PEG 6000 e PVP K-30 são de causa química. Esta causa provavelmente interfere negativamente na solubilidade da molécula, o que repercutiu em Cs abaixo daquela observada para o LPSF/GQ-130 puro.

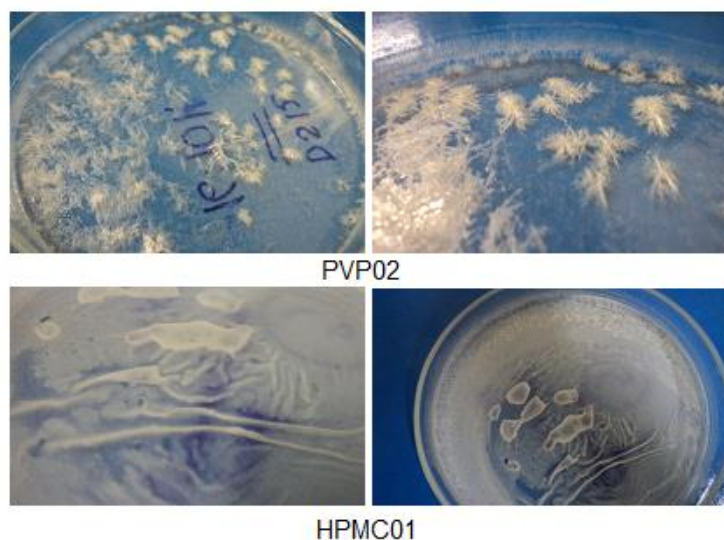
Já para o lote HPMC01, observa-se um deslocamento da frequência da banda correspondente à deformação axial de C=O ($\nu_{\text{C=O}}$) em 12 cm^{-1} no lote HPMC01, caracterizando formação de ligação de hidrogênio intermolecular fraca da hidroxila para a carbonila (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2007). Esta interação provavelmente é a responsável pela redução da T_{onsetF} do LPSF/GQ-130 e traz benefícios de solubilização aquosa para o protótipo.

A análise macroscópica das DS obtidas mostra a recristalização do protótipo no lote PVP01 (Figura 40). Assim, apesar da interação química observada na Figura 39, este resultado está em concordância com a concentração de saturação obtida para o sistema PVP01. Provavelmente a proporção de LPSF/GQ-130 utilizada no sistema foi superior àquela suportada pelo polímero para promover sua completa adsorção e/ou reflete forte instabilidade do sistema, possivelmente em decorrência do não estabelecimento de ligações representativas e da fração etanólica utilizada no solvente.

Em contraposição, o lote HPMC01 se apresentou visualmente homogêneo. A coloração branca exclui a possibilidade da formação de soluções sólidas, pois esta seria completamente límpida. Ademais, a observação do pico de fusão do LPSF/GQ-130 na

curva DTA do lote HPMC01 demonstra que existe fração cristalina do protótipo no sistema (Figura 47).

Figura 47 – Aspecto visual dos sistemas binários obtidos em PVP K-30 (PVP02) e HPMC (HPMC01), pelo método da evaporação do solvente.



Frente ao desempenho dos sistemas obtidos com o polímero HPMC, variações na sua metodologia de obtenção foram realizadas e suas C_s mensuradas, conforme apresenta a Tabela 26.

Tabela 26 – Concentrações de saturação em solução tampão pH 1,2 + LSS 1% dos lotes de DS HPMC02, HPMC03, HPMC04 e HPMC05.

<i>Lote</i>	<i>Proporção LPSF/GQ- 130:HPMC</i>	<i>Solvente</i>	<i>Cs DS em meio de dissolução</i>	<i>Cs MF em meio de dissolução</i>
HPMC01 (controle)	1:9	Diclorometano	3,2445	4,532
HPMC02	1:9	Diclorometano, com sonicação por 10'	10,5709	4,532
HPMC03	1:99	Diclorometano, com sonicação por 10'	4,4492	3,2548
HPMC04	1:1	Diclorometano, malaxagem*	3,5514	2,8957
HPMC05	3:7	Diclorometano, com sonicação por 10'	3,4309	3,5784

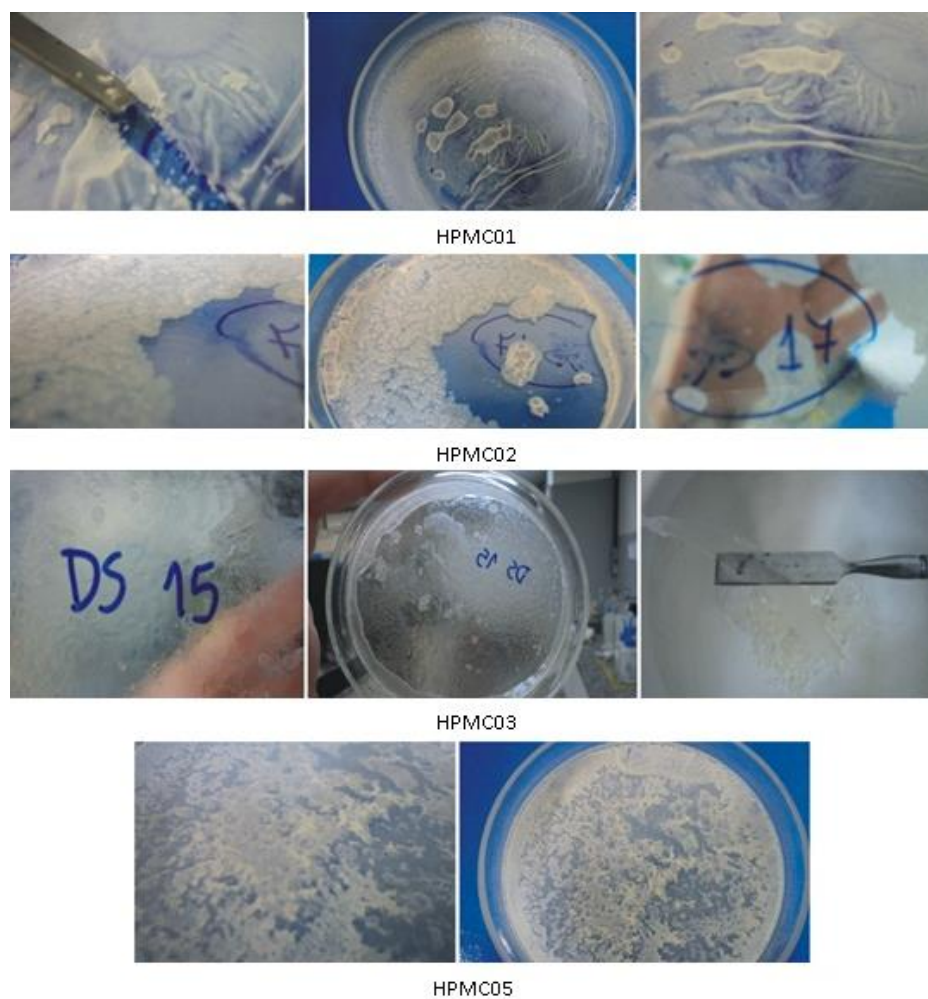
*Metodologia de CHOWDARY e colaboradores, 2012.

Os resultados obtidos apontam que a sonicação da solução/suspensão formada é de grande relevância para o alcance de C_s maiores. Como demonstra a Tabela 26, uma C_s de aproximadamente 3 vezes maior que o lote HPMC01 foi obtida através deste procedimento (lote HPMC02). Os lotes HPMC03 e HPMC05 também apresentaram

incremento da Cs em relação ao lote HPMC01, porém não tão pronunciado como ocorreu com o HPMC02.

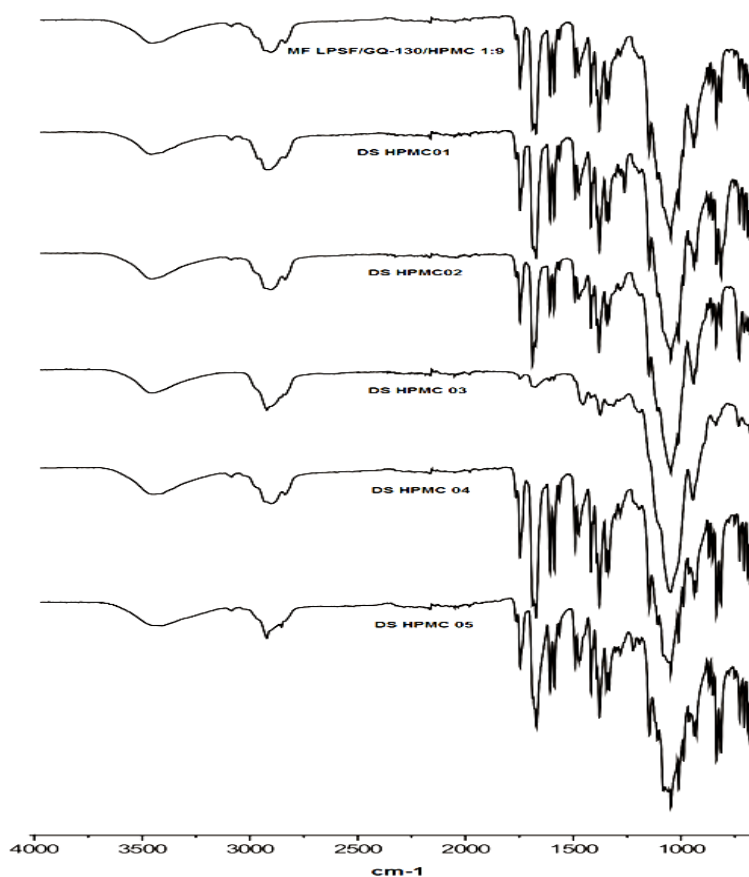
A característica visual dos lotes obtidos (Figura 48) demonstra que a sonicação (DS HPMC02) foi capaz de gerar regiões transparentes, sugestivas de solução sólida, quando comparadas as imagens do lote HPMC01 (ambos com 10% de LPSF/GQ-130). O lote HPMC03 (1% de LPSF/GQ-130) adquiriu completa transparência, sugerindo a obtenção de uma solução sólida. Já no lote HPMC05 (30% de LPSF/GQ-130) é possível detectar regiões ricas em partículas insolúveis, intensificando a coloração branca do produto. Este comportamento do sistema em relação ao incremento do aporte de LPSF/GQ-130 intensifica a interpretação de que o protótipo apresenta solubilidade em HPMC limitada, pois concentrações mais altas podem estar induzindo a recristalização do protótipo durante o processo de secagem.

Figura 48 – Aspecto visual dos lotes HPMC01, HPMC02, HPMC03 e HPMC05.



A espectrometria de IV (Figura 49) demonstra que a banda característica da ligação C=O sofreu significativa redução da sua intensidade no lote HPMC03, sugerindo intensa formação de ligações de hidrogênio entre o LPSF/GQ-130 e o polímero HPMC. A comparação entre os espectros IV de HPMC01 e HPMC02 apresenta a remoção de bandas expressas no lote HPMC01, que também não foram expressas na MF. Estas bandas podem representar interações maléficas para a solubilidade do LPSF/GQ-130, já que os lotes que não as possuem (MF e HPMC02) apresentam maiores Cs em relação aos que as possuem (HPMC01, HPMC04 e HPMC05).

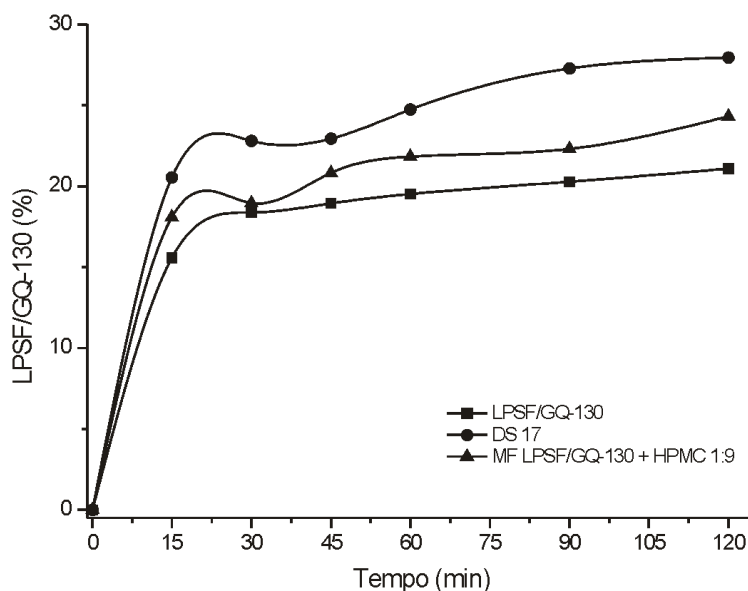
Figura 49 – Espectrometria na região do Infravermelho das Dispersões Sólidas obtidas a partir utilizando HPMC como matriz.



Diante dos resultados apresentados, foi obtido o perfil de dissolução do sistema HPMC02 (Figura 52). De acordo com a Figura 50, percebe-se que no tempo de 120 min a DS HPMC02 liberou 27% do LPSF/GQ-130 no meio, enquanto que o protótipo puro liberou 21%. Estes resultados demonstram um incremento de 28,57% na dissolução do protótipo no ponto de 120 min. A MF liberou 24,31%, o que representa um incremento de 15,76% em relação ao protótipo puro. O procedimento aplicado à obtenção da DS

repercutiu em um incremento de 11% em relação à MF. A diferença entre os resultados obtidos para a DS e sua MF é estatisticamente significativa ($p = 0,02$).

Figura 50 – Perfis de dissolução do LPSF/GQ-130 puro, DS HPMC02 e sua MF, em meio pH 1,2 + 1% LSS, a 37,5°C e sob velocidade de agitação de 100 rpm.



A partir dos perfis de dissolução de cada sistema obtido foi possível calcular o parâmetro de eficiência de dissolução (ED%). Este parâmetro, proposto por Khan e Rhodes (1975), é bastante útil quando se deseja comparar formulações e/ou produtos diferentes (PITA; PRATES; FERRAZ, 2004). Conforme Tabela 27, a ED% da DS HPMC02 apresenta destaque em relação às outras amostras.

Tabela 27 – Valores de Eficiência de Dissolução (%) para a dispersão sólida HPMC02, mistura física de LPSF/GQ-130 + HPMC (1:9) e LPSF/GQ-130 puro.

<i>Amostra</i>	<i>Slope da Reta</i>	<i>Área sob a curva</i>	<i>ED (%) em 120 min</i>
LPSF/GQ-130	18,52	2156,9438	17,97
DS HPMC02	23,83	2788,9344	23,24
MF LPSF/GQ-130 + HPMC 1:9	20,49	2393,6257	19,95

Em relação às Cs obtidas, a DS HPMC02 apresentou um incremento de 1987,3% na solubilidade em meio de dissolução pH 1,2 + LSS 1%. Já em água pura, o incremento alcançou o percentual de 7.726.912,8%. Este valor estrondosamente alto

obtido para o incremento da solubilidade do LPSF/GQ-130 em água deve-se a sua solubilidade intrínseca extremamente pequena neste solvente, não quantificável em um método cujo limite de quantificação é 0,0001 µg/mL (Tabela 27).

Tabela 28 – Concentrações de saturação em meio de dissolução e água pura da dispersão sólida HPMC02, sua MF e LPSF/GQ-130.

Lote	Concentração de Saturação (µg/mL)			
	Meio de dissolução pH 1,2 + LSS 1%		Água pura	
LPSF/GQ-130	0,4193		<LQ	
	DS	MF	DS	MF
HPMC02	10,5709	4,532	7,7270	2,41

LQ = 0,0001µg/mL

5.4.2.2 Desenvolvimento e Caracterização de DS Ternárias

As DS ternárias foram obtidas a partir de sistemas com 10% de LPSF/GQ-130 em HPMC, com percentuais de tensoativo de 1, 3 e 5% para o PLS 80 e EPEG 100. Todos os sistemas foram obtidos pelo método de evaporação do solvente, de forma idêntica a metodologia aplicada à obtenção da DS HPMC02.

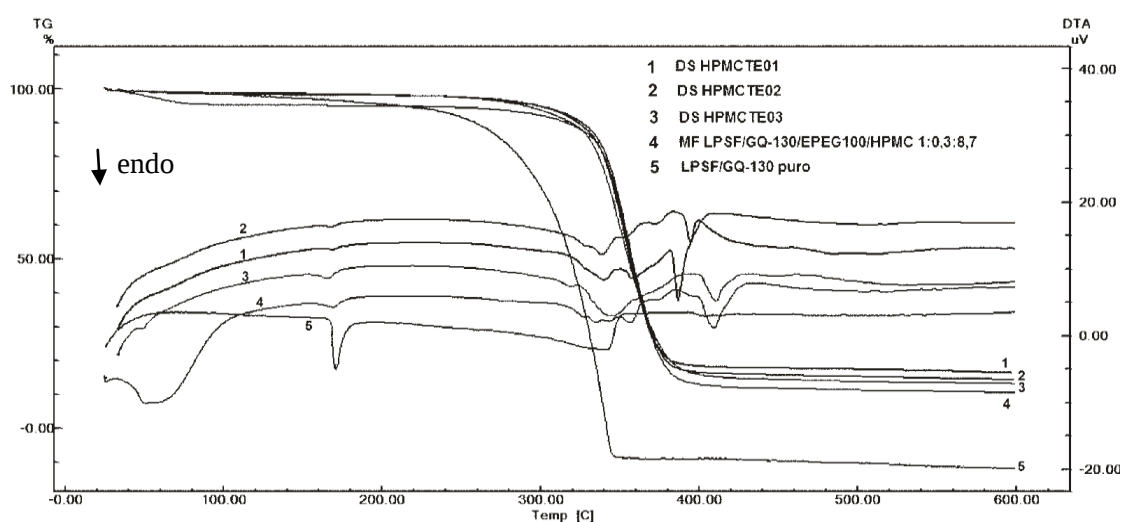
De acordo com as Cs calculadas para cada sistema ternário (Tabela 28) não foi observado ganhos significativos em relação ao LPSF/GQ-130 puro. Ainda assim, os lotes contendo EPEG 100 foram selecionados para um estudo mais profundo, em virtude dos resultados obtidos com este tensoativo na compatibilidade físico-química e o ganho relativamente superior aos lotes em que se aplicou o PLS 80.

Tabela 29 – Concentrações de saturação calculadas para as DS ternárias obtidas em HPMC contendo 10% de LPSF/GQ-130.

Lote	Tensoativo	Cs (µg/mL) em pH 1,2 + LSS 1%	
		DS	MF
LPSF/GQ-130 puro (controle)	-	3,2168	
HPMCTP01	PLS 80 (1%)	2,0901	2,88
HPMCTP02	PLS 80 (3%)	2,1542	5,35
HPMCTP03	PLS 80 (5%)	2,0509	4,82
HPMCTE01	EPEG 100 (1%)	3,8149	3,45
HPMCTE02	EPEG 100 (3%)	3,8604	4,55
HPMCTE03	EPEG 100 (5%)	3,7959	15,80

Em relação ao perfil térmico destes sistemas (Figura 51), percebe-se que, independente da concentração de EPEG 100 utilizada, o evento de fusão do protótipo praticamente desaparece. Adicionalmente, os sistemas obtidos incrementaram a estabilidade do LPSF/GQ-130. Um ponto a se destacar é que a maior concentração de EPEG 100 utilizada repercutiu em uma menor redução na intensidade do pico de fusão do protótipo. Provavelmente, este percentual excede a C_s do tensoativo no solvente utilizado para obtenção das DS (diclorometano), o que repercute na indução da recristalização do protótipo durante o processo de secagem.

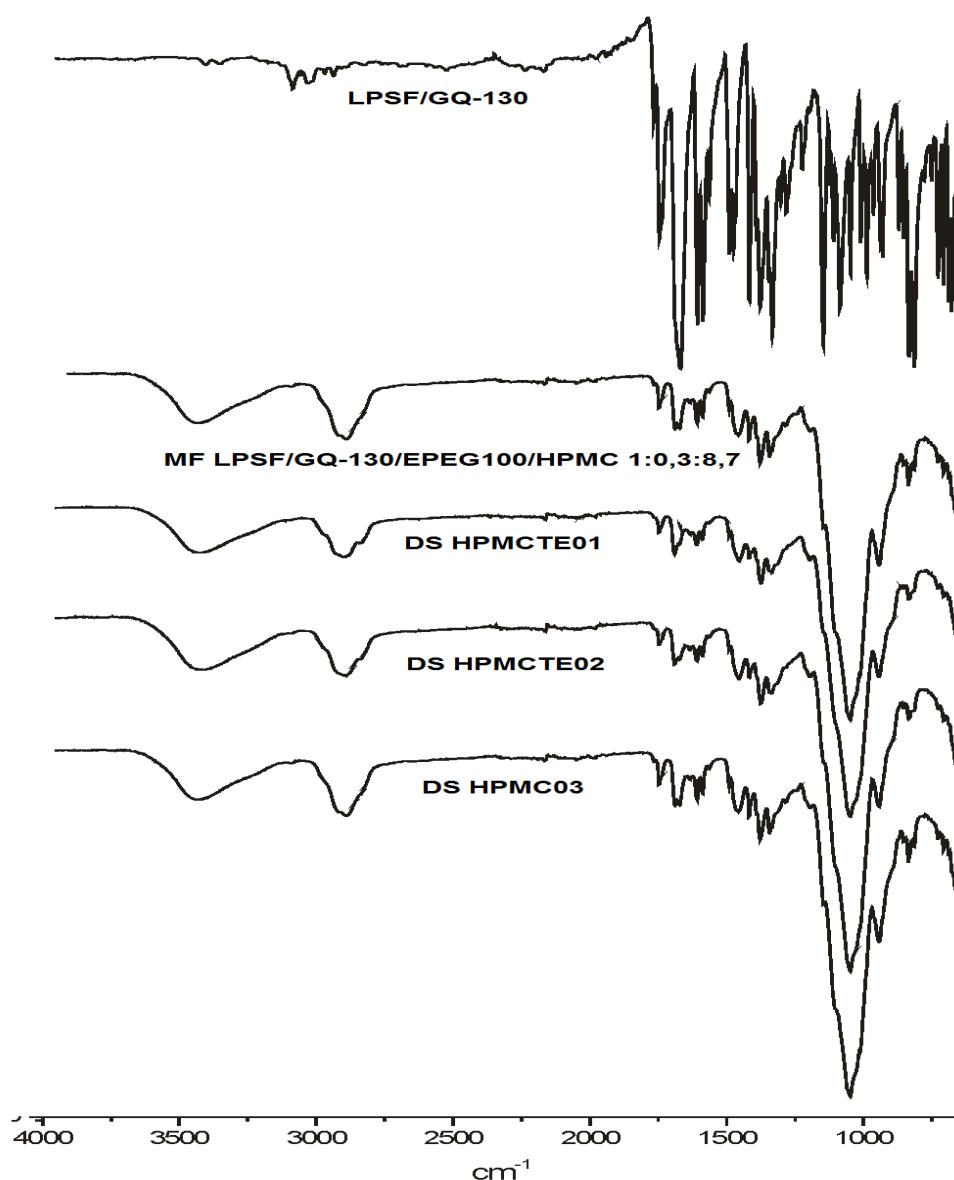
Figura 51 – Curvas TG e DTA das amostras LPSF/GQ-130, HPMCTE01, HPMCTE02, HPMCTE03 e da mistura física LPSF/GQ-130/EPEG 100/HPMC (1:0,3:8,7), sob atmosfera de nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e razão de aquecimento $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$.



Em relação à mistura física nota-se que o evento inicial, característico da perda de água do polímero HPMC, não ocorreu quando na DS.

Os espectros de IV (Figura 52) demonstram forte alteração no espectro do LPSF/GQ-130 puro. Tanto a banda da carbonila quanto a banda da amida secundária foram grosseiramente reduzidas, demonstrando que houve formação de ligação hidrogênio nestes dois sítios químicos.

Figura 52 – Espectros na região do Infravermelho do LPSF/GQ-130, suas Dispersões Sólidas ternárias (HPMCTE01, 02 e 03) e mistura física LPSF/GQ-130/EPEG 100/HPMC (1:0,3:8,7).



Entretanto, não se observa nenhuma alteração entre os resultados obtidos para as DS e para a MF. Assim, foi traçado o perfil de dissolução da DS HPMCTE02 e da sua mistura física para verificar o desempenho de ambos os sistemas. A Figura 53 esclarece que a MF alcançou percentuais de liberação mais elevados que a DS. No tempo de 120 min, as amostras apresentam-se estatisticamente diferentes entre si ($p = 4,4 \times 10^{-5}$). A

ED% da MF foi calculada em 47,45%, enquanto que o valor alcançado pela DS foi de 43,76%.

Figura 53 – Perfis de dissolução do lote HPMCTE02, sua MF e do LPSF/GQ-130, em meio de dissolução pH 1,2 + 1% LSS e temperatura 37,5°C, sob velocidade de agitação de 100 rpm.

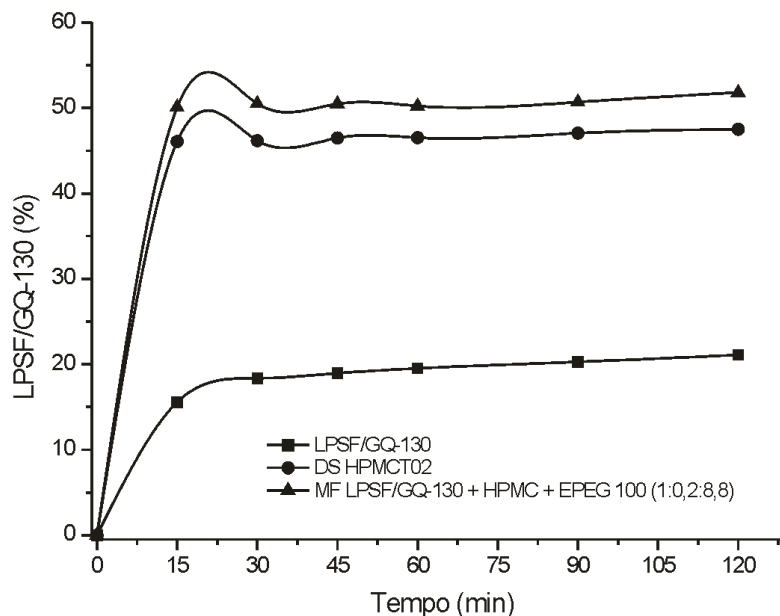


Tabela 30 – Valores de Eficiência de Dissolução (%) para a dispersão sólida HPMCTE02, mistura física de LPSF/GQ-130 + EPEG 100 + HPMC (1:0,3:8,7) e LPSF/GQ-130 puro.

<i>Amostra</i>	<i>Slope da Reta</i>	<i>Área sobre a curva</i>	<i>ED(%) em 120 min</i>
LPSF/GQ-130	18,52	2156,9438	17,97
DS HPMCTE02	44,98	5251,9907	43,77
MF LPSF/GQ-130 + EPEG 100 + HPMC (1:0,3:8,7)	48,76	5694,6340	47,45

Em relação às Cs obtidas, a DS HPMCTE02 apresentou um incremento de 821,24% na solubilidade em meio de dissolução pH 1,2 + LSS1%. Já em água pura, o incremento alcançou o percentual de 1.997.300,0%, devido à baixíssima solubilidade do protótipo em água. A MF incrementou 723,39% no meio de dissolução e 1.949.900,0% a Cs em água pura (Tabela 30).

Tabela 31 – Concentrações de saturação obtidas para a dispersão sólida ternária HPMCTE02, sua MF e o LPSF/GQ-130 em meio de dissolução e em água pura.

<i>Lote</i>	<i>Concentração de Saturação (µg/mL)</i>			
	<i>Meio de dissolução pH 1,2 + LSS 1%</i>		<i>Água pura</i>	
LPSF/GQ-130	0,4193		<LQ	
	<i>DS</i>	<i>MF</i>	<i>DS</i>	<i>MF</i>
HPMC02	3,86	3,45	1,9974	1,9544

LQ = 0,0001µg/mL

Os resultados apresentados nas DS ternárias demonstram que a utilização da *Cs* como critério de escolha para sistemas com LPSF/GQ-130 e HPMC não são indicados quando se objetiva a melhor eficiência de dissolução. Isto porque a DS binária possui *Cs* em torno de duas vezes maior que a DS ternária, porém se observa que esta última possui melhor desempenho de dissolução que a primeira. Assim, presume-se que alguns lotes de DS obtidos possam apresentar um perfil de dissolução equivalentes ou ainda superiores aos que foram expostos neste trabalho.

CONCLUSÃO

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

6. CONCLUSÃO

- A confirmação da estrutura química do LPSF/GQ-130 pode ser realizada através das técnicas de RMN (de ^1H e ^{13}C), espectrometria de absorção na região do infravermelho e espectrometria de massas (ionização negativa). Assim, esta confirmação para lotes futuros pode ser realizada apenas através da espectrometria de IV, agilizando e reduzindo os custos da operação. As outras técnicas de caracterização, que abordam características físico-químicas, demonstraram que a NEQ apresenta propriedades de fluxo inadequadas, destacando a necessidade da intervenção tecnológica para contornar este problema. Ainda, através da análise térmica, foi possível determinar sua faixa de fusão, temperatura inicial de degradação, estabilidade térmica e, sobretudo, estimar sua pureza a partir da aplicação da equação de Van't Hoff, já que o protótipo não possui padrão.

- O desenvolvimento e validação do método de doseamento do LPSF/GQ-130 foi alcançado de acordo com as especificações colocadas pela RDC 899/03. A análise estatística para o desenvolvimento do método de dissolução apresentou extrema importância, pois a partir dela foi possível detectar a melhor condição para realização deste experimento com o protótipo e avaliar a significância da interferência de cada fator testado.

- A obtenção dos sistemas de DS demonstrou que incluir a sonicação no processo de preparo repercute em ganhos significativos de solubilidade. As DS a 10% de LPSF/GQ-130 demonstraram melhor desempenho em solubilidade do que aquelas que tiveram aporte de 30%. A DS binária contendo 10% de LPSF/GQ-130 e 90% de HPMC, obtida pelo método de evaporação do solvente em diclorometano, demonstrou aumento na eficiência de dissolução e incrementos significativos na C_s do protótipo, tanto em meio de dissolução quanto em água pura. Através da curva TG e do espectro de IV foi possível detectar alterações entre a DS e a MF. Os polímeros PVP K-30 e PEG 6000 demonstraram-se inadequados no incremento da C_s do LPSF/GQ-130, quando considerado a metodologia empregada neste trabalho.

- A obtenção dos sistemas ternários de DS (HPMC + EPEG 100) demonstrou que, apesar de a DS ter demonstrado C_s ligeiramente superior à sua MF, esta última apresentou eficiência de dissolução significativamente maior do que a primeira. A caracterização térmica e a obtenção do espectro de IV demonstraram não haver

alterações entre a DS e a MF. Entretanto, ainda assim, foi possível alcançar uma eficiência de dissolução maior que a DS binária através da obtenção de uma simples MF ternária.

PERSPECTIVAS

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

7. PERSPECTIVAS

- Validar o método de dissolução desenvolvido para o LPSF/GQ-130;
- Realizar caracterização química para as DS obtidas de RMN ^1H e ^{13}C ;
- Realizar caracterização físico-química para as DS obtidas, tais como DRX e MEV;
- Desenvolver e caracterizar novos sistemas de DS obtidos por outras técnicas clássicas, tais como fusão, malaxagem, *spray-dried* e extrusão;
- Realizar estudo de estabilidade forçada do LPSF/GQ130 em comparação aos sistemas desenvolvidos;
- Avaliar, através de estudo pré-clínico, a atividade anti-inflamatória das DS.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIEIRA, A. C. Q. M. Incremento da solubilidade aquosa de um novo derivado tiazolidínico (LPSF/GQ-130) para terapias anti-inflamatórias utilizando a técnica de dispersões sólidas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A.K.; LICHTMAN, A.H.; PILLAI, I.S. **Imunologia Celular e Molecular** Tradução de FARIAS, A. S., 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier. 2008.

AHMED, S.; AHMED, Z.; BARASKAR, N.; AHMED, U.; SIDDIQUI, A. R. Dissolution rate enhancement of pioglitazone hydrochloride by surface ternary solid dispersion. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n. 10, pp. 3606-3608, 2011.

ALBUQUERQUE, J.F.C.; ROCHA FILHO, J.A.; BRANDÃO, S.S.F.; LIMA, M.C.A.; XIMENES, E.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; CHANTEGREL, J.; PERRISSIN, M.; LUU-DUC, C. Synthesis and antimicrobial activity of substituted imidazolidinediones and thioxoimidazolidinediones. **II farmaco**, v. 54, pp. 77-82, 1999.

AL-OBADI, H.; KE, P.; BROCCINI, S.; BUCKTON, G. Characterization and stability of ternary solid dispersions with PVP and PHPMA. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, pp. 20-27, 2011.

ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M.; ROLIM, L. A.; PRESMICH, G. M. A.; ROLIM-NETO, P. J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, pp.17-25, 2012.

ALVES, L.D.S. **Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento de solubilidade aquosa do antirretroviral efavirenz**. 2010. 131p. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) – Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

ANTMAN, E.M.; DEMETS, D.; LOSCALZO, J. Cyclooxygenase inhibition and cardiovascular risk. **Circulation**, v. 112, pp. 759-770, 2005.

ANTONOW, D.R.; MONTEIRO, G.A.; ARAUJO, M.C.S. Glicocorticóides: uma meta-análise. **Disc. Scientia**, v. 8, n.1, pp. 51-68, 2007.

ANVISA, 2011. Informe SNVS/Anvisa/Nuvig/GFARM nº 01, de 27 de junho de 2011. Disponível em: www.anvisa.gov.br. Acesso em: 29/02/2012.

ARAÚJO, A. A. S., CIDES, L. C. S., STORPIRTIS, S., MATOS, J. R., BRUNS, R. E. Effects of experimental conditions on the estimation of kinetic parameters of the

thermal decomposition of AZT using factorial design. **J. Therm. Anal. Cal.**, v.79, pp.6187-92, 2005.

ARAÚJO, A. A. S.; BEZERRA, M. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J. R. Determination of the melting temperature, heat of fusion, and purity analysis of different samples of zidovudine (AZT) using DSC. **Brazilian journal of pharmaceutical Science**, v. 46, n. 1, pp. 37-43, 2010.

AULTON, M.E. **Delineamentos de Formas Farmacêuticas**. 2ª edição, Porto Alegre: Artmed, 2005.

BAERTSCHI, S. W.; ALSANTE, K. M. **Stress testing: the chemistry of drug degradation**. In: *Pharmaceutical Stress Testing*. 1. ed. Informa Healthcare, 2005, pp. 51-140.

BARNES, P.J.; ADCOCK, I.M. Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. **Review literature and arts of the americas**, v. 373, pp. 1905-1917, 2009.

BARRETO, R.D.C.; PEREIRA, G.S.; COSTA, J.L.; CAVALCANTI, H.R.B.B. O Duplo Papel da Inflamação no Surgimento das Lesões Cancerígenas. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 14, n. 4, pp. 107-114, 2011.

BARROS, C.D.; AMATO, A.A.; OLIVEIRA, T.B.; IANNINI, K.B.R.; SILVA, A.L.; SILVA, T.G.; LEITE, E.S.; HERNANDES, M.Z.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; NEVES, F.A.R.; PITTA, I.R. Synthesis and anti-inflammatory activity of new arylidene-thiazolidine-2,4-diones as PPAR γ ligands. **Bioorganic and medicinal chemistry**, v.18, pp. 3805-3811, 2010.

BATLOUNI, M. Anti-inflamatórios não esteroides: efeitos cardiovasculares, cerebrovasculares e renais. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 94, n. 4, pp. 556-563, 2010.

BEE, T., RAHMAN, M. Using polymer technology to enhance bioavailability. **Pharm. Technol.**, n.1, pp. S37-s42, 2010.

BIKIARIS, D.; PAPAGEORGIOU, G. Z.; STERGIOU, A.; PAVLIDOU, E.; KARAVAS, E.; KANAZE, F.; GEORGARAKIS, M. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, v. 439, pp. 58-67, 2005.

BONHOMME-FAIVRE, L.; DEPRAETERE, P.; SAVELLI, M.P.; AMDIDOUCHE, D.; BIZI, E.; SEILLER, M.; ORBACH-ARBOUYS, S. Charcoal suspension for tumor labelling modifies macrophage activity in mice. **Life sciences**, v.6, n. 9, pp. 817-827, 2000.

BOSQUE-SENDRA, J. M.; NECHAR, M.; RODRIGUES, L. C.; MOLINA, M. F. Optimization of analytical methods by using Doehlert's design. **Analytical Proceeding Including Analytical Communications**, v. 32, 1995.

BOTTING, R. M. Cyclooxygenase: Past, present and future. A tribute to John R. Vane (1927–2004). **Journal of Thermal Biology**, v. 31, n. 1-2, pp. 208-19, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a **realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo**. Diário Oficial da União, 12 de agosto de 2010.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n 79 de 4 de Novembro de 2008. Dispõe da lista de substancias entorpecentes, psicotrópicas, precursoras e outras sob controle especial. Disponível em http://www.saude.al.gov.br/sites/default/files/rdc_79.08.pdf Acesso em 08/02/2012.

BRASIL. Resolução RE nº899 de 29 de Maio de 2003; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02/06/2003, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprova o **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. 2003.

BUCKINGHAM, R.E. Thiazolidinediones: Pleiotropic drugs with potent anti-inflammatory properties for tissue protection. **Hepatology research: the official journal of the Japan Society of Hepatology**, v. 33, n. 2, p. 167-70, 2005.

BULL, A.W. The role of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in colon cancer and inflammatory bowel disease. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v.127, n.9, pp.1121-1123, 2003.

BYUNG-MAN, K.; LEE, J.E.; JANG-HYUK, A.; TAE-HONG, J. Laser diffraction particle sizing by wet dispersion method for spray-dried infant formula. **Journal of Food Engineering**, v. 92, n.3, p. 324-330, 2008.

CARDOSO, S. G.; CORREA, G. M.; BELLÉ, L. P. Desenvolvimento e validação de método de dissolução para Deflazacorte em comprimidos e cápsulas magistrais. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 5, pp. 734-9, 2008.

CARVALHO, J. P.; SANTOS, A. S.; SA, A. S.; TEIXEIRA, C. S.; NOGUEIRA, M. S. Estabilidade de medicamentos no âmbito da farmacovigilância. **Fármacos e Medicamentos**, pp. 22-27, 2008a.

CASTELLANOS, A.; VALVERDE, J. M.; PÉREZ, A. T.; RAMOS, A.; WATSON, K. Flow regimes in fine cohesive powders. **Physical review letters**, v. 82, n. 6, pp.1156-59, 1999.

CHANEY, M.A. corticosteroids and cardiopulmonary bypass : a review of clinical investigations. **Chest**, v.121, n.3, pp.921-931, 2002.

CHARLIER, C.; MICHAUX, C. Dual inhibition of cyclooxygenase-2 (COX-2) and 5-lipoxygenase (5-LOX) as a new strategy to provide safer non-steroidal anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 38, n.7-8, pp.645-659, 2003.

CHEN, S.D.; WU, H.Y.; YANG, D.I.; LEE, S.Y.; SHAW, F.Z.; LIN, T.K.; LIOU, C.W.; CHUANG, Y. C. Effects of rosiglitazone on global ischemia-induced hippocampal injury and expression of mitochondrial uncoupling protein 2. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 351, n. 1, pp. 198-203, 2006.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of Solid Dispersion systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 9, pp. 1281-1302, 1971.

CHOKSHI, R.; SANDHU, H. K.; IYER, R. M.; SHAH, N. H.; MALICK, A.W.; ZIA, H. Characterization of physico-mechanical properties of indomethacin and polymers to assess their suitability for hot-melt extrusion process as a means to manufacture solid dispersion/solution. **J. Pharm. Sci.**, v. 94, pp. 2463– 2474, 2005.

CHOWDARY, K. P. R.; CHANDRA, U. D.; MAHESH, N.; REDDY, M. T.; GOPAIAH, V. K. Enhancement of Dissolution Rate and Formulation Development of Pioglitazone – A BCS Class II Drug. **Journal of Pharmacy Research**, v. 4, n.11, pp.3862-3863, 2011.

CHUNG, J.H.; SEO, A.Y.; CHUNG, S.W.; KIM, M.K.; LEEUWENBURGH, C.; YU, B. P.; CHUNG, H.Y. Molecular mechanism of PPAR in the regulation of age-related inflammation. **Ageing research reviews**, v. 7, n. 2, pp. 126-136, 2008.

CIDES, L.C.S.; ARAÚJO, A.A.S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J.R. Thermal behaviour, compatibility study and decompositions kinetics of Glimepiride under isothermal and nonisothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, pp. 441-45, 2006.

CLARK, R.B.; BISHOP-BAILEY, D.; ESTRADA-HERNANDEZ, T.; HLA, T.; PUDDINGTON, L.; PADULA, S.J. The Nuclear Receptor PPAR γ and Immunoregulation: PPAR γ Mediates Inhibition of Helper T Cell Responses. **J. immunol.**, v. 164, pp. 1364-1371, 2011.

CORRIGAN, O. I. Thermal analysis of spray dried products. **Thermochim. Acta**, v. 248, pp. 245–258, 1995.

COUTINHO, M. A. S.; MUZITANO, M. F.; COSTA, S. S. Flavonoides : Potenciais agentes terapêuticos para o processo inflamatório. **Revista Virtual de Química**, v. 1, n. 3, pp. 241-256, 2009.

COUTO, J.A. **Novos compostos 5-(4-metil-sulfonil-benzilideno)-Imidazolidínicos e Tiazolidínicos: síntese, elucidação estrutural e atividade anti-inflamatória.** Dissertação (Mestrado em biotecnologia de produtos bioativos) – Programa de pós-graduação em biotecnologia de produtos bioativos, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

CRAIG, D. Q. M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 231, pp. 131–144, 2002.

CROWLEY, M. M.; ZHANG, F.; REPKA, M. A.; THUMMA, S.; UPADHYE, S.B.; BATTU, S.K.; MCGINITY, J.W.; MARTIN, C. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 33, n. 9, pp. 909–926, 2007.

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. **Pharm. Res.**, v. 26, pp. 1419–1431, 2009.

CUZZOCREA, S.; BRUSCOLI, S.; MAZZON, E.; CRISAFULLI, C.; DONATO, V. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor- α Contributes to the Anti-Inflammatory Activity of Glucocorticoids. **Clinical and Experimental Medicine**, v. 73, n. 2, pp. 323-337, 2008.

DAMIANI, D.; KUPERMAN, H.; DICHTCHEKENIAN, V.; MANNA, T.D.; SETIAN, N. Corticoterapia e suas repercussões : a relação custo – benefício. **Pediatrics**, v.1, pp. 71-82, 2001.

DAYNES, R.A.; JONES, D.C. Emerging roles of PPARs in inflammation and immunity. **Nat. Rev. Immunol.**, v. 2, n. 10, pp. 748-759, 2002.

DESHMUKH, C.T. Minimizing side effects of systemic corticosteroids in children. **Indian J Dermatol Venereol Leprol**, v.73, pp. 218-221, 2007.

DHIRENDRA, K.; LEWIS, S.; UDUPA, N.; ATIN, K. Solid dispersions: a review. **Pak. J. Pharm. Sci.**, n. 22, pp. 234–246, 2009.

DINUZIO, J. C.; BROUGH, C.; HUGHEY, J. R.; MILLER, D. A.; WILLIAMS III, R. O.; MCGINITY, J. W. Fusion production of solid dispersions containing a heat-sensitive active ingredient by hot melt extrusion and Kinetisol[®] dispersing. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, pp. 340–351, 2010.

DOEHLERT, D. H. Uniform shell designs. **Applied Statistics**, v. 19, n. 3, p. 231-239, 1970. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2307/2346327> Acesso em: 30/08/2012.

DUBOIS, R. N.; ABRAMSON, S. B.; CROFFORD, L.; GUPTA, R. A.; SIMON, L. S.; VAN DE PUTTE, L. B. A.; LIPSKY, P. E. Cyclooxygenase in biology and disease. **The FASEB Journal**, v. 12, pp. 1063-1088, 1998.

DUEZ, H.; FRUCHART, J.C.; STAELS, B. PPARs in inflammation, atherosclerosis and thrombosis. **J. cardiovasc. Risk**, v. 8, n.4, pp. 187-194, 2001.

EBELL, M. H. NSAIDs vs opiates for pain in acute renal colic. **Am Fam Physician.**, v. 70, n.9, pp. 1682, 2004.

FANTUZZI, G. Adipose tissue, adipokines, and inflammation. **The Journal of allergy and clinical immunology**, v. 115, n. 5, pp. 911-919, 2005.
FARMACOPÉIA BRASILEIRA, V ed., Agência Nacional de Vigilância Sanitária: Brasília, 2010.

FARRELL, R.J.; KELLEHER, D. Mechanism of Steroid Action and Resistance in Inflammation - Glucocorticoid resistance in inflammatory bowel disease. **Journal of Endocrinology**, v. 178, pp. 339-346, 2003.

FERNANDES, A.M.; CARDOSO, F.; VALERA, P.; ANSELMO-LIMA, W.T. Mechanism of action of glucocorticoids in nasal polyposis. **Rev Bras Otorrinolaringol**, v. 74, n. 2, pp. 279-283, 2008.

FITZGERALD, G.A. Coxibs and cardiovascular disease. **N Engl J Med**, v. 351, p. 1709-1711, 2004.

FLAMMER, J. R.; ROGATSKY, I. Minireview: Glucocorticoids in autoimmunity: unexpected targets and mechanisms. **Mol Endocrinol**, v. 25, n. 7, pp. 1075-1086, 2011.

GARLAND, M. T. Polimorfismo Farmacéutico. **Cuad Méd Soc**, v. 47, pp. 191-199, 2007.

GIORDANO, F.; NOVAK, C.; MOYANO, J. R. Thermal analysis of cyclodextrins and their inclusion compounds. **Thermochimica Acta.**, v. 380, pp. 123-51, 2001.

GIRI, T. K.; KUMAR, K.; ALEXANDER, A.; AJAZUDIN; BADWAIK, H.; TRIPATHI, D. K. A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bfopcu.2012.07.002> Acesso em: 30/06/2012.

GOMES, P.; SIPEL, J.; JABLONSKI, A.; STEPPE, M. Determination of rosiglitazone in coated tablets by MEKC and HPLC methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 36, n. 4, pp. 909–913, 2004.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Tradução de: COSENDEY, C. H. A.; VASCONCELOS, M. M.; VOEUX, P.; SETÚBAL, S. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.

GRIFFIN, M.R.; YARED, A.; RAY, W.A. Nonsteroidal antiinflammatory drugs and acute renal failure in elderly persons. **Am J Epidemiol.**, v. 151, n.5, pp. 488–496, 2000.

GRISEDAL, L. C.; BELTON, P. S.; JAMIESON, M. J.; BARKER, S. A.; CRAIG, D. Q. M. An investigation into water interactions with amorphous and milled salbutamol sulphate: the development of predictive models for uptake and recrystallization. **Int. J. Pharm.**, v. 422, pp. 220–228, 2012.

GUJARATI, Damodar N. **Econometria básica**. Terceira edição. São Paulo: Makron books, 2000. 846p.

GUNS, S.; MATHOT, V.; MARTENS, J. A.; MOOTER, G. V. Upscaling of the hot-melt extrusion process: Comparison between laboratory scale and pilot scale production of solid dispersions with miconazole and Kollicoat® IR. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, pp. 674–682, 2012.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. **Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation**, v. 4, p. 117-212, 1965.

HIRASAWA, N.; OKAMOTO, H.; DANJO, K. Lactose as a Low Molecular Weight Carrier of Solid Dispersions for Carbamazepine and Ethenzamide. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 47, n.3, pp. 417-420, 1999.

HUANG, L. F.; TONG, W. Q. Impact of solid state properties on developability assessment of drug candidates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, pp. 321–334, 2004.

ICH Guideline, “Stability Testing: Photostability Testing of New Drug Substances and Products”., November 1996.

INOTAI, A.; HANKÓ, B.; MÉSZÁROS, Á. Trends in the non-steroidal anti-inflammatory drug market in six Central - Eastern European countries based on retail information y. **Parmamacoepidemiology and Drug Safety**, v.19, n.2, pp.183-190, 2010.

JANSSENS, S.; ARMAS, H. N.; D’AUTRY, W.; SCHEPDAEL, A. V.; MOOTER, G. V. Characterization of ternary solid dispersions of Itraconazole in polyethylene glycol 6000/polyvidone-vinylacetate 64 blends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, pp. 1114–1120, 2008.

JOSHI, H. N.; TEJWANI, R. W.; DAVIDOVICH, M.; SAHASRABUDHE, V. P.; JEMAL, M.; BATHALA, M. S.; VARIA, S. A.; SERAJUDDIN, A. T. M. Bioavailability enchacement of a poorly soluble drug by solid dispersion in polyethylene glycol-polysorbate 80 mixture. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, pp.251-258, 2004.

JUPPO, A. M.; BOISSIER, C.; KHOO, C. Evaluation of solid dispersion particles prepared with SEDS. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, pp. 385-401, 2003.

KHAN, K. A. Concept of dissolution efficiency. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 27, pp. 48-49, 1975.

KIM, J.S., KIM, M.S., PARK, H.J., JIN, S.J., LEE, S., HWANG, S.J., Physicochemical properties and oral bioavailability of amorphous atorvastatin hemi-calcium using spray-drying and SAS process. **Int. J. Pharm.**, v. 359, pp. 211–219, 2008.

KIM, K. T.; LEE, J. Y.; LEE, M. Y.; SONG, C. K.; CHOI, J.; KIM, D. D. Solid Dispersions as a Drug Delivery System. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 41, n. 3, pp. 125-142, 2011.

KOPF, M.; BACHMANN, M.F.; MARSLAND, B.J. Averting inflammation by targeting the cytokine environment. **Drug discovery**, v. 9, n. 9, p. 703-718, 2010.

KULKARNI, R.G.; ACHAIHAH, G.; SASTRY, G.N. Novel targets for antiinflammatory and antiarthritic agents. **Current pharmaceutical design**, v. 12, n. 19, p. 2437-54, 2006.

KUMMER, C.L.; COELHO, T.C.R.B. Antiinflamatórios não esteróides inibidores da ciclooxigenase-2 (COX-2): aspectos atuais. **Rev. Bras. Anesthesiol.**, v. 52, n.4, pp. 498-512 2002.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LAZZARONI, M.; BATTOCCHIA, A.; PORRO, G.B. COXIBs and non-selective NSAIDs in the gastroenterological setting: what should patients and physicians do? **Digestive and Liver Disease**, v. 39, pp. 589-596, 2007.

LEE, A. Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A. S. Crystal polymorphism in chemical process development. **Annu. Rev Chem Biomol Eng**, v. 2, pp. 259-280, 2011.

LEITE, L.F.C.C.; MOURÃO, R.H.V.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; HERNANDES, M.Z.; NEVES, F.A.R.; VIDAL, S.; BARBE, J.; PITTA, I.R. Synthesis, biological evaluation and molecular modeling studies of arydilene-thiazolidinediones with potencial hypoglycemic and hypolipidemic activities. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 42, pp. 1263-1271, 2007.

LEMBERGER, T.; DESVERGNE, B.; WAHLI, W. Peroxisome proliferator-activated receptors: a nuclear receptor signaling pathway in lipid physiology. **Annu. Rev. Cell. Dev. Biol.**, v. 12, pp. 335-363, 1996.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, pp. 47-60, 2000.

LI, T. Materials engineering of solid-state dosage forms. **Pharm Res**, v. 25, pp. 949-951, 2008.

LIESEN, A.P.; AQUINO, T.M.; GÓES, A.J.S.; LIMA, J.G.; FARIA, A.R.; ALVES, A.J. Métodos de obtenção, reatividade e importância biológica de 4-tiazolidinonas. **Química Nova**, v. 31, n. 2, pp. 369-376, 2008.

LIMA, A. N.; SOBRINHO, J. L. S.; CORRÊA JUNIOR, R. A.C.; ROLIM NETO, P. J. Alternative Technologies to Improve Solubility of Poorly Water Soluble Drugs. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n.5, p.789-97, 2008.

LIMA, T.S.; OLIVEIRA, J.F.; SILVA, J.C.; GALDINO, S.L.; MARIA, C.A.; PITTA, I.R. Síntese de um novo derivado tiazolidínico com potencial atividade anti-inflamatória. **Orbital Elec. J. Chem.**, v. 2, n. 1, pp. 3-4, 2010.

LLOYD, G. R.; CRAIG, D. Q. M.; SMITH, A., A calorimetric investigation into the interaction between paracetamol and polyethylene glycol 4000 in physical mixes and solid dispersions. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 48, pp.59-65, 1999.

LOWELL, S.; SHIELDS, J. **Powder surface area and porosity**. New York: John Wiley & Sons, 1979.

LÖWENBERG, M.; STAHN, C.; HOMMES, D.W.; BUTTGEREIT, F. Novel insights into mechanisms of glucocorticoid action and the development of new glucocorticoid receptor ligands. **Arthritis & Rheumatism**, v. 73, pp. 1025-1029, 2008.

LUO, Y.; YIN, W.; SIGNORE, A.P.; ZHANG, F.; HONG, Z.; WANG, S.; GRAHAM, S. H.; CHEN, J. Neuroprotection against focal ischemic brain injury by the peroxisome proliferators-activated receptor- γ agonist rosiglitazone. **J. Neurochem**, v. 97, pp. 435-448, 2006.

MAGALHÃES, L.R. Síntese e avaliação das atividades antiinflamatória e antinociceptiva de derivados 5-benzidileno-3-(fenil-benzil)-tiazolidina-2,4-diona.

Tese (Doutorado em produtos naturais e sintéticos bioativos). Pós-graduação em produtos naturais e bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, 2007.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 38, n.4, pp.375-99,2002.

MARX, N., MACH, F., SAUTY, A, LEUNG, J.H., SARAFI, M.N., RANSOHOFF, R.M., LIBBY, P., PLUTZKY, J.; LUSTER, A.D. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activators inhibit IFN-gamma-induced expression of the T cell-active CXC chemokines IP-10, Mig, and I-TAC in human endothelial cells. **Journal of immunology**, v. 164, n.12, pp.6503-6508, 2012.

MARX, N.; LIBBY, P.; PLUTZKY, J. Peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) and their role in the vessel wall: possible mediators or cardiovascular risk? **J. Cardiovasc. Risk**, v. 8, n. 4, pp. 203-210, 2001.

MELNIKOVA, I. Pain market. **Drug discovery**, v.9, n.8, pp. 589-590, 2010.

MILLER, D.A., GILL, M., 2012. Spray-drying technology. In: WILLIAMS III, R.O., WATTS, A. B.; MILLER, D. A.; GILL, M. **Formulating Poorly Water Soluble Drugs**, vol. 3.Springer:New York, pp. 363–442.

MILLER, D.A., MCCONVILLE, J.T., YANG, W., WILLIAMS III, R.O., MCGINITY, J.W. Hot-extrusion for enhanced delivery of drug particles. **J. Pharm. Sci.**, v. 96, pp. 361–376, 2006.

MISHRA, S. R.; ELLAIAH, P.; JENA, P. K.; NAYAK, B. S.; MISHRA, G. An approach for enhancement of dissolution rate of pioglitazone hcl by solid dispersion technique using PEG 6000. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v.2, n.10, 2011.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 5ª ed. New York: John Wiley & Sons. 684 p. 2001.

MORAES, L.A.; PIQUERAS, L.; BISHOP-BAILEY, D. Peroxisome proliferator-activated receptors and inflammation. **Pharmacology & therapeutics**, v.110, n.3, pp.371-385, 2006.

OLIVER, W.R.; A selective peroxisome proliferator-activated receptor delta agonists promotes reverse cholesterol transport. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v.98, n.9, p.5306-5311, 2001.

OXER, D.S. **Interação entre as vias de sinalização CD40 / CD40L e os PPARs**. Tese (Doutorado em Ciências). Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v.38, n.11, pp.1881-1886, 1965.

OZAWA, T. Thermal analysis: review and prospect. **Thermochimica Acta**, v.355, pp.35-42, 2000.

PATEL, R. P.; PATEL, D. J.; BHIMANI, D. B.; PATEL, J. K. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Tech.**, v. 15, n.3, pp. 17-25, 2008.

PAUDEL, A.; WORKU, Z. A.; MEEUS, J.; GUNS, S.; MOOTER, G. V. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.07.015> Acesso em: 30/03/2012.

PEREIRA, D.T.M. **Síntese, comprovação estrutural e atividade antiinflamatória de compostos tiazolidinônicos-3,5-disubstituídos**. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) Pós graduação em ciências biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2007.

PEREIRA, M.P.; HURTADO, O.; CÁRDENAS, A.; BOSCA, L.; CASTILLO, J.; DÁVALOS, A.; VIVANCOS, J.; SERENA, J.; LORENZO, P.; LIZASOIAN, I.; MORO, M.A. Rosiglitazone and 15-deoxy- $\Delta^{12,14}$ -prostaglandin J_2 cause potent neuroprotection after experimental stroke through noncompletely overlapping mechanisms. **J. Cereb. Blood Flow Metab.**, v. 26, n. 2, pp. 218-229, 2006.

PIRILDAR, T.; MUEZZINOĞ, L.T.; PIRILDAR, S. Sexual function in ankylosing spondylitis: a study of 65 men. **J Urol**, vol, 171, n. 4, pp. 1598-1600, 2004.

PITA, N. O. G.; PRATES, E. C.; FERRAZ, H. G. Avaliação do perfil de dissolução de comprimidos de ciprofloxacino 250 mg comercializados como similares no Brasil. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 40, n. 3, pp. 309-15, 2004

POUNTOS, I.; GEORGOULI, T.; BIRD, H.; GIANNOUDIS, P. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: prostaglandins, indications, and side effects. **International Journal of Interferon, Cytokine and Mediator Research**, v. 3, pp. 19-27, 2011a.

POUNTOS, I.; GIANNOUDIS, P.V.; JONES, E.; ENGLISH, A.; CHURCHMAN, S.; FIELD, S.; PONCHEL, F.; BIRD, H.; EMERY, P.; MCGONAGLE, D. NSAIDs inhibit in vitro MSC chondrogenesis but not osteogenesis. **J Cell Mol Med.**, v. 15, n. 3, pp. 525-534, 2011b.

QI, S.; GRYCZKE, A.; BELTON, P.; CRAIG, D. Q. M. Characterisation of solid dispersions of paracetamol and EUDRAGIT® E prepared by hot-melt extrusion using thermal, microthermal and spectroscopic analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 354, pp. 158–167, 2008.

RAMA, A.C.R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I.V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina: estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.42, n. 1, 2006.

RAO, P.N.P.; KNAUS, E.E. Evolution of Nonsteroidal Anti-Inflammatory Cyclooxygenase (COX) Inhibition and Beyond Drugs (NSAIDs). **J Pharm Pharmaceut Sci.**, v. 11, n. 2, pp. 81-110, 2008.

RAW, A. S.; FURNESS, M. S.; GILL, D. S.; ADAMS, R. C.; HOLCOMBE, F. O.; YU, X. L. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, pp. 397–414, 2004.

RAWAL, R.K.; PRABHAKAR, Y.S.; KATTI, S.B.; DE CLERCQ, E. 2-(Aryl)-3-furan-2-ylmethyl-thiazolidin-4-ones as selective HIV-RT Inhibitors. **Bioorg. Med. Chem.** v. 13, n. 24, pp. 6771 – 6776, 2005.

REPKA, M. A.; BATTU, S. K.; UPADHYE, S. B.; THUMMA, S.; CROWLEY, M. M.; ZHANG, F.; MARTIN, C.; MCGINITY, J.W. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part II. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 33, n. 10, pp. 1043–1057, 2007.

REPKA, M. A.; MAJUMDAR, S.; BATTU, S.K.; SRIRANGAM, R.; UPADHYE, S.B. Applications of hot-melt extrusion for drug delivery. **Expert Opin. Drug Del.**, v. 5, n. 12, pp. 1357–1376, 2008.

RIBEIRO, A. Q.; SEVALHO, G.; CESAR, C. C. The use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs and the occurrence of gastric lesions among patients undergoing upper endoscopy in a university hospital in Brazil. **Clinics**, São Paulo, v. 61, n. 5, 2006.

RODANTE, F.; CATALANI, G.; VECCHIO, S. Kinetic analysis of single or multi-step decomposition processes - Limits introduced by statistical analysis. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, pp. 689-713, 2002.

RODRIGUES, O.P.; CARDOSO, T.F.M.; SILVA, M.A.F.; MATOS, J.R.; Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farm. Bonaerense**, n. 24, pp. 383, 2005.

RODRIGUEZ-VITA, J.; LAWRENCE, T. The resolution of inflammation and cancer. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 21, n.1, p. 61-65, 2010.

SAERENS, L.; DIERICKX, L.; LENAIN, B.; VERVAET, C.; REMON, J. P.; BEER, T. Raman spectroscopy for the in-line polymer–drug quantification and solid state characterization during a pharmaceutical hot-melt extrusion process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 77, pp. 158–163, 2011.

SAIFEE, M.; INAMDAR, M.; DHAMECHA, D.L.; RATHI, A.A. Drug polymorphism: a review. **Int J Health Res.**, v. 2, pp. 289-306, 2009.

SALTIEL, A.R.; OLEFSKY, J. Thiazolidinediones in the treatment of insulin resistance and type II diabetes. **Diabetes**, v. 45, pp. 1661-1669, 1996.

SANTOS, I.B.V.; **Síntese e Atividades Anti-inflamatória e Antinociceptiva de Novas Tiazolidinadionas**. 2009. 96p. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

SANTOS, L.C.; UCHÔA, F.T.; MOURA, R.O.; LIMA, M.C.A.; GALDINO, S.L.; PITTA, I.R.; BAERBE, J. Synthesis and anti-inflammatory activity of new thiazolidine-2,4-diones, 4- thioxothiazolidinones and 2-thioxoimidazolidinones. **Heterocyclic Communications**, v. 11, n. 2, pp. 121-128, 2005.

SARRAGUÇA, M.C.; CRUZ, A.V.; SOARES, S.O.; AMARAL, H.R.; COSTA, P.C.; LOPES, J.A. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, pp. 484-492, 2010.

SCHIMMER, B.P.; PARKER, K.L. Adrenocorticotrophic hormone; adrenocortical steroids and their synthetic analogs; inhibitors of the synthesis and actions of adrenocortical hormones. In: GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **Pharmacological basis of therapeutics**. 11.ed. New York: McGraw-Hill; 2007. p. 1587-612.

SERAJUDDIN, A. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, pp. 1058-66, 1999.

SEYAM, R.M.; ALBAKRY, A.; GHOBISH, A.; ARIF, H.; DANDASH, K.; RASHWAN, H. Prevalence of erectile dysfunction and its correlates in Egypt: a community-based study. **Int J Impot Res**, v. 15, pp. 237-245, 2003.

SHAHAROODI, A. B. (2003). In: SINGH, M. C.; SAYYAD, A. B.; SAWANT, S. D. Review on various techniques of solubility enhancement of poorly soluble drugs with special emphasis on solid dispersion. **Journal of Pharmacy Research**, v. 3, n. 10, pp. 2494-2501, 2010.

SHIRI, R., KOSKIMÄKI, J.; HÄKKINEN, J.; TAMMELA, T.L.J.; AUVINEN, A.; HAKAMA, M. Effect of nonsteroidal anti-inflammatory drug use on the incidence of erectile dysfunction. **The Journal of urology**, v. 175, n. 5, pp. 1812-5, 2006.

SILVA, R. L.; VOLPATO, N. M. Meios de dissolução de comprimidos de nimesulida: ação dos tensoativos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n.2, pp. 163-172, 2002.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação Espectrométrica de Compostos**. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC editora. 2007. Cap.2, pp. 70-104.

SINGH, M. C.; SAYYAD, A. B.; SAWANT, S. D. Review on various techniques of solubility enhancement of poorly soluble drugs with special emphasis on solid dispersion. **Journal of Pharmacy Research**, v. 3, n. 10, pp. 2494-2501, 2010.

SINHA, S.; ALI, M.; BABOOTA, S.; ALKA, A.; KUMAR, A.; ALI, J. Solid Dispersion as an Approach for Bioavailability Enhancement of Poorly Water-Soluble Drug Ritonavir. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 2, 2010.

SOARES, M. F. L. **Desenvolvimento tecnológico de comprimido antirretroviral em associação dose fixa de zidovudina, lamivudina e efavirenz**. 2011. Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas). Pós-graduação em ciências farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

SOARES-SOBRINHO, J.L; SOARES, M.F.R.; LOPES, P.Q.; CORREIA, L.P.; SOUZA, F.S.; MACÊDO, R.O.; ROLIM-NETO, P.J. A Preformulation Study of a New Medicine for Chagas Disease Treatment: Physicochemical Characterization, Thermal Stability, and Compatibility of Benznidazole. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 3, pp. 1391-1396, 2010.

SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. **Ressonância Magnética Nuclear e Espectroscopia de Massas: Ferramentas para Determinação de Estrutura**. In: SOLOMONS, T.W.G.; FRYHLE, C.B. Química Orgânica 1. 8.ed. Rio de Janeiro: LTC, 2005. Cap. 9, pp. 366-425.

SOUZA, T.R.C.L.; MARQUES, G.S.; VIEIRA, A.C.Q.M.; FREITAS, J.C.R. **State of the art of anti-inflammatory drugs**. In: Pharmacotherapy. Croácia: InTech, 2012. Capítulo aceito para publicação.

SOVIZI MR. Investigation on decomposition kinetic of naproxen and celecoxib. **J Therm Anal Calorim.**, v.102, pp. 285-289, 2010.

STAHLY, G. P. Diversity in single- and multiple-component crystals. The search for and prevalence of polymorphs and cocrystals. **Cryst Growth Des**, v. 7, pp. 1007-1026, 2007.

STRAUS, D.S.; GLASS, C.K. Anti-inflammatory actions of PPAR ligands: new insights on cellular and molecular mechanisms. **Trends in immunology**, v. 28, n. 12, pp. 551-558, 2007.

STULZER, H. K.; RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. M.; MATOS, J. S. R.; SILVA, M. A. S. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 91, n. 1, pp. 323-28, 2008.

SUN, D. D.; JU, T. R.; LEE, P. I. Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, pp. 149–158, 2012.

SZTERNER, P.; LEGENDRE, B.; SGHAIER, M. Thermodynamic properties of polymorphic forms of theophylline. Part I: DSC, TG, X-ray study. **J Therm Anal Calorim**, v. 99, pp. 325-335, 2010.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, A. A method for preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water-soluble polymers: dispersion of beta-carotene by polyvinylpyrrolidone. **Kolloid-Z. Polym.**, v. 203, pp. 130-133, 1965.

TANAKA, K.I.; SUEMASU, S.; ISHIHARA, T.; TASAKA, Y.; ARAI, Y.; MISUSHIMA, T. Inhibition of both COX-1 and COX-2 and resulting decrease in the level of prostaglandins E2 is responsible for non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-dependent exacerbation of colitis. **European Journal of Pharmacology**, v. 603, pp. 120–132, 2009.

TAVARES, V.; HIRATA, M.H.; HIRATA, R.D.C. Receptor Ativado por Proliferadores de Peroxissoma Gama. **Arq Bras Endocrinol Metab.**, v. 51, n. 4, pp. 526 – 533, 2007.

TEIXEIRA, V.G.; COUTINHO, F.M.B.; GOMES, A.S. Principais métodos de caracterização da porosidade de resinas à base de divinilbenzeno. **Química Nova**, v. 24, pp. 808-818, 2001.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, pp. 338-50, 2005.

TIȚA, B.; MARIAN, E.; TIȚA, D.; VLASE, G.; DOCA, N.; VLASE T. Comparative kinetic study of decomposition of some diazepine derivatives under isothermal and non-isothermal conditions. **J Therm Anal Calorim.**, v.94, pp. 447-452, 2008.

TLASKALOVA-HOGENOVA, H.; TUCKOVA, L.; STEPANKOVA, R.; HUDCOVIC, T.; PALOVA-JELINKOVA, L.H.; ROSSMANN, P.; SANCHEZ, D.; CINOVA, J.; HRNCU, T.; KVEKA, N.; FROLOVA, L.; UHLIZ, H.; POWRIE, F.; BLAND, P. Involvement of innate immunity in development diseases. **Ann. N.Y. Acad. Sci.**, v. 1051, pp.787-798, 2005.

TRAN, P. H. L.; TRAN, T. T. D.; PARK, J. B.; LEE, B. J. Controlled Release Systems Containing Solid Dispersions: Strategies and Mechanisms. **Pharm Res.**, v. 28, pp. 2353–2378, 2011.

VAN EERDENBRUGH, B., TAYLOR, L.S., 2011. An ab initio polymer selection methodology to prevent crystallization in amorphous solid dispersions by application of crystal engineering principles. **Cryst. Eng. Comm.**, 13, 6171–6178.

VANE, J.R. The fight against rheumatism: from willow bark to COX-1 sparing drugs. **Journal of physiology and pharmacology**, v.51, pp. 573-586, 2000.

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, pp. 1068-75, 2007.

VOLTARELLI, J.C. Febre e inflamação. **Simpósio: Semiologia e Fisiopatologia Clínicas**, v. 27, n.1/2, pp. 1-35, 1994.

WHELTON, A. Renal aspects of treatment with conventional nonsteroidal anti-inflammatory drugs versus cyclooxygenase-2 specific inhibitors. **American Journal of Medicine**, v. 110, pp. 33-42, 2001.

WINKELMAYER, W.C.; WAIKAR, S.S.; MOGUN, H.; SOLOMON, D.H. Nonselective and cyclooxygenase-2-selective NSAIDs and acute kidney injury. **Am J Med.**, v. 121, n. 12, pp. 1092-1098, 2008.

WOODFORK, K.A.; DYKE, K. V. Agentes anti-inflamatórios e anti-reumáticos. In: CRAIG, C. R.; STITZEL, R. E. **Farmacologia Moderna com Aplicações Clínicas**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008. Cap.36, pp. 397-413.

YU, D. G.; YANG, J. M.; BRANFORD-WHITE, C.; LU, P.; ZHANG, L.; ZHU, L. Third generation solid dispersions of ferulic acid in electrospun composite nanofibers. **Pharmaceutical Nanotechnology**, v. 400, pp. 158-164, 2010.

YU, L. L.; BAI, T. C. YANG, Y. Heat capacity for the binary system of silybin and poly(vinylpyrrolidone) K30. **Thermochimica Acta**, v. 520, pp. 99–104, 2011.

ZAJC, N.; OBREZA, A.; BELE, M.; SRCIC, S. Physical properties and dissolution behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersions prepared by hot melt method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 291, pp. 51, 2005.

ZELE, T.V.; GEVAERT, P.; HOLTAPPELS, G.; BEULE, A.; WORMALD, P.J.; MAYR, S. Oral steroids and doxycycline: Two different approaches to treat nasal polyps. **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, n. 5, pp. 1069-1076, 2010.

ZHANG, J.; WU, L. B.; CHAN, H. K.; WATANABE, W. Formation, characterization, and fate of inhaled drug nanoparticles. **Adv. Drug. Deliv. Rev.**, n. 63, pp. 441–455, 2011.

ZHANG, X.; SUN, N.; WU, B.; LU, Y.; GUAN, T.; WU, W. Physical characterization of lansoprazole/PVP solid dispersion prepared by fluid-bed coating technique. **Powder Technology**, v. 182, pp. 480-5, 2008.

ZHAO, X.; SUN, G.; ZHANG, J.; STRONG, R.; SONG, W.; GONZALES, N.; GROTTA, J. C.; ARONOWSKI, J. Hematoma resolution as a target for intracerebral hemorrhage treatment: Role for peroxisome proliferator-activated receptor γ in microglia/macrophages. **Annals of Neurology**, v. 61, n. 4, pp. 352-362, 2007.

ZHENG, X.; YANG, R.; TANG, X.; ZHANG, L. Characterization of solid dispersions of nimodipine prepared by hot-melt extrusion. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 33, pp. 791–802, 2007.

ZHU, Y.; MEHTA, K.A.; MCGINITY, J.W. Influence of plasticizer level on the drug release from sustained release film coated and hot-melt extruded dosage forms. **Pharm. Dev. Tech.**, v. 11, pp. 285–294, 2006.

ANEXOS

9. ANEXOS

ANEXO A: COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO ARTIGO "PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT (LPSE/GQ-130) AND EVALUATION OF ITS THERMAL COMPATIBILITY WITH PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS" AO JOURNAL OF THERMAL ANALYSIS AND CALORIMETRY (JTAC).

30/12/12 Editorial Manager®

Journal of THERMAL ANALYSIS and CALORIMETRY

HOME • LOG OUT • HELP • REGISTER • UPDATE MY INFORMATION • JOURNAL OVERVIEW
MAIN MENU • CONTACT US • SUBMIT A MANUSCRIPT • INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

Role: Author Username: keylaramos

Submissions Being Processed for Author Keyla Emanuelle Ramos Silva, M.D.

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page

Action	Manuscript Number	Title	Initial Date Submitted	Status Date
Action Links		PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT (LPSE/GQ-130) AND EVALUATION OF ITS THERMAL COMPATIBILITY WITH PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS	30-12-2012	30-12-2012

Page: 1 of 1 (1 total submissions) Display 10 results per page

[<< Author Main Menu](#)

Fwd: JTAC: A manuscript number has been assigned to PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT (LPSE/GQ-130) AND EVALUATION OF ITS THERMAL COMPATIBILITY

Keyla Ramos <ramos.keyla@gmail.com>

Enviada em: sex 04/01/2013 19:38

Para: Amanda Quintas

----- Forwarded message -----

From: **Editorial Office** <amenyhard@mail.bme.hu>

Date: 2013/1/4

Subject: JTAC: A manuscript number has been assigned to PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT (LPSE/GQ-130) AND EVALUATION OF ITS THERMAL COMPATIBILITY WITH PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS

To: Keyla Emanuelle Ramos Silva <ramos.keyla@gmail.com>

Your submission entitled "PHYSICAL-CHEMICAL CHARACTERIZATION OF NEW ANTI-INFLAMMATORY AGENT (LPSE/GQ-130) AND EVALUATION OF ITS THERMAL COMPATIBILITY WITH PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS" has been assigned the following manuscript number: JTAC-D-13-00005.

--
Profa Dra Keyla Ramos
Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia - ICET
Universidade Federal do Amazonas - UFAM