



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

TESE DE DOUTORADO

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS
MICROPARTICULADOS PARA O AUMENTO DA VELOCIDADE
DE DISSOLUÇÃO DO EFAVIRENZ NA TERAPIA ANTI-HIV**

SALVANA PRISCYLLA MANSO COSTA

RECIFE

2016

SALVANA PRISCYLLA MANSO COSTA

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS
MICROPARTICULADOS PARA O AUMENTO DA VELOCIDADE
DE DISSOLUÇÃO DO EFAVIRENZ NA TERAPIA ANTI-HIV**

Tese de doutorado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2016

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Costa, Salvana Priscylla Manso

Obtenção de sistemas poliméricos microparticulados para o aumento da velocidade de dissolução do efavirenz na terapia anti-HIV/ Salvana Priscylla Manso Costa– Recife: O Autor, 2016.

150 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Biociências. Inovação Terapêutica, 2016.

Inclui referência e apêndice

1. Agentes anti-retrovirais 2. HIV (vírus) 3. AIDS I. Rolim Neto, Pedro José (orientador) II. Título

1

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2016-155



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

Recife, 26 de fevereiro de 2016.

Tese de Doutorado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 26 de fevereiro de 2016, cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

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

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA INTERNA: Profa. Dra. Ana Cristina Lima Leite
(Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Adley Antonini Neves de Lima
(Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal do Rio Grande do Norte)

Assinatura: _____

SEGUNDA EXAMINADORA EXTERNA: Profa. Dra. Keyla Emanuelle Ramos da Silva
(Instituto de Ciências Exatas e Tecnologia – Universidade Federal do Amazonas)

Assinatura: _____

TERCEIRA EXAMINADORA EXTERNA: Profa. Dra. Magaly Andreza Marques de Lyra
(Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

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

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS
MICROPARTICULADOS PARA O AUMENTO DA VELOCIDADE
DE DISSOLUÇÃO DO EFAVIRENZ NA TERAPIA ANTI-HIV**

BANCA EXAMINADORA:

Membro Externo Titular:

Prof. Dr^a. Keyla Ramos – Universidade Federal do Amazonas

Prof. Dr. Adley Antonini Neves Lima – Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Dr^a. Magaly Andreza Marques de Lyra – Estácio Recife

Membros Internos Titulares

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto - Universidade Federal de Pernambuco (Presidente)

Prof. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite - Universidade Federal de Pernambuco

Membros Suplentes

Externo: Dr^a. Larissa Araujo Rolim – Universidade Federal do Vale do São Francisco

Interno: Prof^o. Dr. Antônio Rodolfo de Farias - Universidade Federal de Pernambuco

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Maria Eduarda Lacerda de Larrazábal da Silva

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Oliane Maria Correia Magalhães

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

Prof. Dr. Maira Galdino da Rocha Pitta

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

Prof. Dr. Luiz Alberto de Lira Soares

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco – PPGIT-UFPE** pela oportunidade de realizar minha formação acadêmica.

Ao meu querido orientador, **Prof. Dr. Pedro Rolim**, pela confiança e oportunidade e aos meus queridos amigos do **Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM**. Em especial a **Larissa Rolim** por sempre agregar valor nos trabalhos científicos e em minha vida, a **Keyla Ramos**, uma pessoa mais que especial, meu anjo, uma irmã que ganhei, a **Leslie Raphael** pelo companheirismo e por fazer a vida mais leve.

Aos meus familiares pelo apoio diário e incentivo, em especial, aos meus pais **Ana Claudia Manso Costa, Salvador Ferreira Costa Neto** e a minha irmã **Betyna Manso Costa**.

Aos **Laboratório parceiros**: Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (**LAFEPE**), Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (**LUDEM/UFPE**), Departamento de Física (**DF/UFPE**), **Central Analítica do Departamento de Química Fundamental/UFPE**, **Laboratório de Gemologia do Departamento de Geologia/UFPE** e ao **laboratório Ping I. Lee Research Group** pelas colaborações realizadas no desenvolvimento deste trabalho juntamente com o **LTM**.

Aos meus companheiros de projeto, **Tarcyla de Andrade Gomes, Giovanna Christinne Rocha de Medeiros Schver e Cristovão Rodrigues da Silva** pelo empenho na execução do projeto e pela maravilhosa experiência.

RESUMO

O efavirenz (EFZ) é considerado uma das drogas anti-HIV mais utilizadas, porém é classificado como fármaco de classe II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), segundo o sistema de classificação biofarmacêutica, apresentando problemas de absorção no trato gastrointestinal e, conseqüentemente, biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica. Assim, este trabalho objetivou desenvolver sistemas microparticulados com polímeros inovadores afim de contornar estes entraves através da técnica de dispersões sólidas (DS). Para o desenvolvimento de DS com o EFZ, realizaram-se, inicialmente, estudos teóricos e práticos que permitiram selecionar o PVP-K30, o PVPVA 64 SOLUPLUS e HPMCAS como carreadores da formulação. As DS com esses polímeros foram preparadas pelo método do solvente. A análise de Difração de raios-X (DRX) mostrou que os polímeros são capazes de manter o EFZ em sua forma amorfa até uma concentração de 80% fármaco. Através dos estudos de dissolução *in vitro*, verificou-se que o sistema DS PVPVA 64 – EFZ 10% seria o mais promissor, uma vez que o mesmo foi capaz de aumentar em até seis vezes a AUC quando comparado ao fármaco isolado, além de manter os níveis de supersaturação por um período de 120 minutos. Os sistemas DS PVP-K30 – EFZ 10% e DS HPMCAS – EFZ 10% obtiveram bons resultados no estudo de dissolução *in vitro* e, assim, também foram selecionados. O método para quantificação do EFZ otimizado foi co-validado de acordo com o preconizado pela RE nº 899/03 da ANVISA e pelo ICH e demonstrou-se: linear, preciso e exato para os parâmetros avaliados. A caracterização físico-química das DS com PVP K-30 e PVPVA 64 através de técnicas calorimétricas, microscópicas e espectrofotométricas evidenciou a conversão do EFZ para o seu estado amorfo e verificou que o PVPVA 64 interage de maneira mais efetiva quando comparado ao PVP-K30. No entanto com base nos resultados preliminares do estudo de estabilidade acelerada, pode-se observar que tanto o PVP K-30 quanto o PVPVA 64 foram capazes de inibir a cristalização do fármaco, ao final de três meses de estudo. O comportamento e a estabilidade térmica do EFZ e da DS PVPVA 64 – EFZ 10% foram investigados por TG, DSC, DSC fotovisual e pirolisador acoplado a CG/MS. Foram observadas diferenças entre as curvas TG do fármaco puro e aquela do produto farmacêutico, devido à presença do polímero. Bem como, pôde-se observar que a DS promoveu uma proteção térmica ao EFZ, mostrando uma boa qualidade da formulação. Para os parâmetros cinéticos obtidos nas condições não-isotérmica e isotérmica, os valores da E_a para a DS foi igual a 101 e 132 kJ/mol, respectivamente, enquanto que os valores de E_a para o EFZ, segundo a literatura, estão entre 88 – 93 kJ/mol. A ordem da cinética de degradação da DS foi de primeira ordem, diferentemente do EFZ puro, que é de ordem zero. Além disso, através da equação de Arrhenius, pôde-se sugerir uma estabilidade de sete meses para a formulação. Os valores dos parâmetros cinéticos determinados pelos métodos isoconvencionais obtiveram valores de E_a na faixa de 88 – 95 kJ.mol⁻¹, isto indica uma boa correlação entre os métodos aplicados. Uma vez que os valores de E_a variaram de acordo com o grau de conversão (a), pode-se verificar que o processo de degradação do EFZ se faz por mecanismos do tipo contração geométrica e nucleação. Dessa forma, a partir do estudo, obteve-se DS estáveis e adequadas para superar as limitações de solubilidade do efavirenz.

Palavras-chave: Efavirenz. HIV. Dispersão sólida. PVPVA 64. Dissolução.

ABSTRACT

Efavirenz (EFV) is considered one of the most widely used anti-HIV drugs, but the drug is classified as class II (low solubility, high permeability) according to the biopharmaceutical classification system, having problems with absorption in the gastrointestinal tract and thereby inadequate bioavailability for its therapeutic action. Thus, this study aimed to overcome these barriers through the technique of solid dispersions (SD). For the development of SD with EFZ theoretical and practical studies were initially held which allowed the selection of PVP-K30, PVPVA 64, SOLUPLUS and HPMCAS as carriers of the formulation. The SD systems with these polymers were prepared by the solvent method. The analysis of X-ray diffraction (XRD) showed that the polymers are able to maintain EFZ in its amorphous form up to a concentration of 80% of drug. Through the *in vitro* dissolution studies, it was found that the SD system PVPVA 64 - EFV 10% would be the most promising since it was able to increase up to six times the AUC when compared to the drug alone, and to maintain the levels of supersaturation for a period of 120 minutes. The SD systems PVP- K30 - EFZ 10% and HPMCAS – EFZ 10% achieved good result during the *in vitro* dissolution study and, thus, it was also selected. The method for quantification of co-optimized EFZ was validated according to the criteria of the RE n° 899/03 of ANVISA and the ICH and demonstrated: linear, precise and accurate for all parameters evaluated. The physico-chemical characterization of the SD systems with PVP K-30 and PVPVA 64 through calorimetric, microscopic and spectroscopic techniques revealed the conversion of EFZ to its amorphous state and found that the PVPVA 64 interacts more effectively when compared to PVP- K30. However, based on preliminary results of the accelerated stability study, it can be seen that the PVP K-30 polymer was the most inhibitory effect crystallization of the drug after six months of study. The behavior and thermal stability of EFZ and SD PVPVA 64 - EFV 10% were investigated by TG, DSC, DSC photovisual and pyrolyzer coupled with GC/MS. Differences between the TG curves of the pure drug and the pharmaceutical product were observed due to the presence of the polymer. Also, it was observed that the SD promoted a thermal protection of EFZ, showing the good quality of the formulation. Regarding the kinetic parameters obtained for the non-isothermal and isothermal conditions, the activation energy (Ae) values of the SD were equal to 101 and 132 kJ/mol, respectively, while the Ae values for the EFV, according to literature, are between 88 - 93 kJ/mol. Besides that, a first-reaction order was found for the SD, unlike the one for the pure EFZ, which was a zero-reaction order. Furthermore, by the Arrhenius equation, it could be suggested that the formulation would remain stable for seven months. In conclusion, in this study, we obtained stable and adequate SD systems to overcome the solubility limitations of efavirenz.

Keywords: Efavirenz. HIV. Solid dispersion. PVPVA 64. Dissolution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclo de Replicação do Vírus HIV.	30
Figura 2 - Classificação dos fármacos de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).....	34
Figura 3 - Estrutura química do EFZ.....	36
Figura 4 - Equipamento <i>SiriusT3</i> [®] e seus 3 módulos. Em detalhe, o eletrodo de pH, o termômetro eletrônico, o agitador, a sonda de imersão de fibra óptica e os capilares contidos neste equipamento.....	56
Figura 5 - Média de coeficientes de extinção molar de ambas as espécies (ionizada BH ⁺ e neutra B) do EFZ em solução.	57
Figura 6 - Filmes do sistema DS EFZ – PVPVA 64 10% e DS EFZ – PVPVA 64 80%.	77
Figura 7 - Difractogramas do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.	79
Figura 8 - Perfis de dissolução do EFZ, das DS e MF com PVP K-30, PVPVA 64, SOLUPLUS e HPMCAS.....	81
Figura 9 - Os valores da concentração máxima (C _{máx}) do EFZ, das misturas físicas contendo a concentração de protótipo correspondente à dispersão sólida com melhor desempenho no estudo de dissolução <i>in vitro</i> e das dispersões sólidas nas diferentes proporções.	82
Figura 10 - Os valores da concentração máxima (C _{máx}) do EFZ, das misturas físicas contendo a concentração de protótipo correspondente à dispersão sólida com melhor desempenho no estudo de dissolução <i>in vitro</i> realizada no <i>sirius T3</i> e das dispersões sólidas nas diferentes proporções.	82
Figura 11 - A AUC e seus respectivos coeficientes de variação do EFZ, das MF contendo a concentração de fármaco correspondente à DS com melhor desempenho no estudo de dissolução <i>in vitro</i> e das DS nas diferentes proporções.	83
Figura 12 - A AUC do EFZ, das MF contendo a concentração de fármaco correspondente à DS com melhor desempenho no estudo de dissolução <i>in vitro</i> no <i>Sirius T3</i> [®] e das DS nas diferentes proporções.....	83
Figura 13 - Curvas de DSC do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.	89
Figura 14 - Fotomicrografias de Microscopia de Luz Polarizada do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.....	90

Figura 15 - Fotomicrografias de MEV do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.	93
Figura 16 - Fotomicrografias de MEV do EFZ, do carreador HPMCAS e de suas respectivas DS e MF.....	94
Figura 17 - Espectros de IV do EFZ, do PVP K-30 e de suas DS e MF.....	97
Figura 18 - Espectros de IV do EFZ, do PVPVA 64 e de suas DS e MF.	98
Figura 19 - Espectros de IV do EFZ, do HPMCAS e de suas DS e MF.	99
Figura 20 - Perfis de liberação <i>in vitro</i> em membrana de diálise do EFZ e da DS PVPVA 64 10%.....	101
Figura 21 - Espectros de DRX do EFZ e das dispersões sólidas com PVPVA 64 e PVP K-30 após armazenamento sob condições do ICH para estudo de estabilidade acelerada (~75% UR a 40°C). O tempo de mudança (T) indica o tempo de exposição às condições.	102
Figura 22 - Curvas DSC do EFZ (a), KL (b) e da DS PVPVA 64 - EFZ 10% (c) obtidos em atmosfera de dinâmica do nitrogênio (50 mL. min ⁻¹) e taxa de aquecimento de 10°C · min ⁻¹	103
Figura 23 - Curvas TG do EFZ (a), KL (b) e da DS PVP VA 64 - EFZ 10% (c) obtidos em atmosfera de dinâmica do nitrogênio (50 mL.min ⁻¹) e taxa de aquecimento de 10°C · min ⁻¹	104
Figura 24 - Pirogramas obtidos do EFZ nas temperaturas 270, 400 e 500°C mostrando os produtos de degradação do processo de decomposição térmica do fármaco.....	106
Figura 25 - Fotomicrografias do DSC-fotovisual da DS EFZ:KL 10%.....	108
Figura 26 - Curvas TG e o gráfico de Ozawa da DS PVP VA64 - EFZ 10% obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não-isotérmico.	110
Figura 27 - Massa residual G(x) em função do tempo reduzido.	110
Figura 28 - Curvas isotérmicas da DS EFZ/KL 10% em diferentes temperaturas na atmosfera de N ₂ (50 mL min ⁻¹).	112
Figura 29 - Gráfico de Arrhenius.	112
Figura 30 - Curvas de conversão experimental ($\alpha - T$) para o processo de decomposição térmica do EFZ em atmosfera de nitrogênio em diferentes razões de aquecimento.....	115

Figura 31- Curvas de conversão experimental ($\alpha - T$) para o processo de decomposição térmica do DS PVPVA 64 - EFZ 10% em atmosfera de nitrogênio em diferentes razões de aquecimento.	115
Figura 32 - Gráfico de FR, FWO e KAS utilizado o EFZ e DS PVPVA 64 – 10% ..	116
Figura 33 - Dependência da energia de ativação com o grau de conversão da reação de decomposição calculada pelos métodos do tipo “Model-Free Analysis” para EFZ e DS PVPVA 64 – 10% respectivamente.....	117
Figura 34 - Curva mestra $Z(\alpha)$ em função de α utilizada na determinação do mecanismo de decomposição para EFZ	119
Figura 35 - Curva mestra $Z(\alpha)$ em função de α utilizada na determinação do mecanismo de decomposição para DS PVPVA 64 – EFZ 10%	119
Figura 36 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade	121

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estruturas químicas do Efavirenz (EFZ) e polímeros (Soluplus, PVPVA 64 e PVP-K30) e seus potenciais grupos doadores e aceptores de hidrogênio.	76
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Programa de aquecimento para obtenção das curvas termogravimétricas isotérmicas.....	63
Tabela 2 - Modelos cinéticos para avaliação do perfil de decomposição no estado sólido.	67
Tabela 3 - Resumo das características do PVP K30, PVPVA 64, SOLUPLUS® e HPMCAS.....	74
Tabela 4 - Produtos de degradação térmica do EFZ obtidos através da pirólise CG/MS.	107
Tabela 5 - r^2 das ordens de reações da cinética de degradação obtidas pelo modelo não isotérmico.	109
Tabela 6 - Energia de ativação e parâmetros cinéticos obtidos pelos métodos não isotérmico e isotérmico.....	111
Tabela 7 - Correlação das ordens de reação da cinética de degradação isotérmica nas temperaturas 245, 250, 255, 260 e 265°C da DS PVP VA64 - EFZ 10%.	113
Tabela 8 - Comparação entre os resultados obtidos das análises realizadas com as diferentes formas de preparação de amostra e tratamento estatístico presumindo diferentes variâncias	120
Tabela 9 - Resultados obtidos para as análises do parâmetro precisão e tratamento estatístico através de coeficiente de variância e ANOVA <i>one-way</i> e ANOVA <i>two-way</i>	122
Tabela 10 - Resultados obtidos para as análises do parâmetro exatidão e tratamento estatístico teste <i>t student</i> presumindo variâncias equivalentes.	122

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS	<i>Acquired Immuno Deficiency Syndrome</i>
ANOVA	Tratamento Estatístico por Análise de Variância
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ATR	Dispositivo de Reflectância Total Atenuada
AUC	Área Sob a Curva
CD	Ciclodextrina
C _s	Solubilidade do fármaco em água
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRX	Difração de Raios-X
DS	Dispersão Sólida
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EFZ	Efavirenz
EM	Espectros de Massas
EMEA	<i>Europe the Middle East and Africa</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FD	Friedman
FWO	Flynn-Wall-Ozawa
GMS	Glicerilmonostearato
gp	Glicoproteína
HAART	<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HME	<i>Técnica Hot Melt Extrusion</i>
HPβCD	Hidroxipropil-β-ciclodextrina
HPMCAS	Hidroxipropilmetilcelulose- acetilsuccinato
IP	Inibidores da Protease

ITRNNs	Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa
ITRNs	Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa
IV	Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho
K1	Taxa de Dissolução
KAS	Kissinger-Akahira-Sunose
LAFEPE	Laboratório de Medicamentos de Pernambuco
Log P	Coefficiente de Partição
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura Física
MS	Ministério da Saúde
MX	Método de Malaxagem
M β CD	Metil- β -ciclodextrina
OMS	Organização Mundial da Saúde
PEG	Poli(etileno)glicol
PEO	Poli (óxido de etileno)
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKa	Constante de Dissociação Ácida
PPI	Polipropilenimina
PPO	Poli (óxido de propileno)
PVAc	Acetato de polivinila
PVP	Polivinilpirrolidona
RM β CD	Metil β -ciclodextrina Randomizada
RNA	Ácido Ribonucléico
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SI	<i>Sink index</i>
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana

SLN	Nanopartículas Sólidas de Lípidos
SNC	Sistema Nervoso Central
SUS	Sistema Único de Saúde
TG	Termogravimetria
TR	Transcriptase Reversa
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UNAIDS	Programa conjunto das Nações Unidas sobre AIDS
UV-vis	Ultravioleta visível
β CD	β -ciclodextrina

LISTA DE SÍMBOLOS

α	Fração de conversão
β	Razão de aquecimento
cels	Células
mm ³	Milímetro Cúbico
%	Porcentagem
US\$	Dólar
R\$	Real
°C	Graus Celsius
~	Aproximadamente
mg	Miligrama
C _{máx}	Concentração Plasmática Máxima
rpm	Rotações por Minuto
μ M	Micromolar
μ m	Micrometro
h	Hora
min	Minutos
p/p	Peso/Peso
®	Marca registrada
±	Mais ou menos
mL	Mililitro
mV	Milivolt
N ₂	Nitrogênio
g	Gramas
nm	Nanômetros
kg	Kilograma
g/mol	Gramas por mol

m	Massa
z	Carga
ng	Nanograma
cm ⁻¹	Centímetro elevado a menos um
m	Metro
r ²	Coefficiente de correlação linear
θ	Teta
°	Grau
/	Dividido por
>	Maior que
C=O	Ligação dupla entre carbono e oxigênio
C≡C	Ligação tripla entre carbonos
C-F	Ligação entre Carbono e Flúor
C-H	Ligação entre Carbono e Hidrogênio
C-O	Ligação entre Carbono e Oxigênio
N-H	Ligação entre Nitrogênio e Hidrogênio
T pico	Temperatura do pico
T onset	Temperatura Inicial
ΔH	Calor de fusão
Δm	Variação de massa
1/T	Inverso da temperatura
t	Tempo
ln	Logaritmo Neperiano
K	Kelvin
R	Constante geral dos gases
kJ	Kilojoule
J	Joule

V	Volume
T _g	Transição Vítrea
T _{iso}	Temperatura da isoterma
Q	Porcentagem de fármaco dissolvido
G(x)	Massa residual
E _a	Energia de Ativação
A	Fator de frequência
-1	Elevado a menos 1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	26
2.1 OBJETIVO GERAL.....	26
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	28
3.1 AIDS: ASPECTOS GERAIS	28
3.2 Terapia Antiretroviral	31
3.3 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (SCB): Aspectos Gerais	33
3.4 INSUMO FARMACÊUTICO: EFAVIRENZ	36
3.5 SISTEMAS BASEADOS NO MELHORAMENTO DA SOLUBILIDADE DO EFAVIRENZ.....	39
3.5.1 Dispersões sólidas	40
3.5.2 Complexos de Inclusão.....	45
3.5.3 Sistemas multicomponentes (ternários).....	46
3.5.4 Sistemas particulados (Micro/nano)	48
4 MATERIAL E MÉTODOS	52
4.1 PARTE I: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS COM O EFZ	52
4.1.1 Matérias-primas e Solventes.....	52
4.1.2 Desenvolvimento de Dispersões Sólidas (DS)	52
4.1.3 Obtenção das misturas físicas (MF)	54
4.1.4 Obtenção das Dispersões Sólidas (DS)	54
4.1.5 Escolha da Concentração do Fármaco e do Carreador	55
4.1.5.1 Difração de Raios-X (DRX).....	55
4.1.6 Seleção do Melhor Sistema de Dispersão Sólida	55
4.1.6.1 Teste de Dissolução In Vitro	55
4.1.7 Análise Físico-Química dos Sistemas Seleccionados	58
4.1.7.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	58
4.1.7.2 Microscopia de Luz Polarizada.....	58
4.1.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	58
4.1.7.4 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV)	59

4.1.8. Cinética de liberação <i>in vitro</i> pelo método de membrana de diálise	59
4.1.9. Estudo de estabilidade	59
4.2 PARTE II: CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE ESTABILIDADE TÉRMICA DO EFAVIRENZ E DA DISPERSÃO SÓLIDA COM PVPVA 64 POR ANÁLISE TÉRMICA E PIRÓLISE ACOPLADA A CG/MS	60
4.2.1 Matérias-primas e Solventes.....	60
4.2.2 Obtenção das Dispersões Sólidas (DS)	60
4.2.3 Analise Térmica.....	61
4.2.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	61
4.2.3.2 Termogravimetria (TG)	61
4.2.4 Pirólise – CG/MS	61
4.2.5 DSC foto-visual	62
4.2.6 Cinética de degradação térmica.....	62
4.2.7 Modelos matemáticos isoconvencionais empregados no estudo cinético de decomposição térmica	63
4.2.7.1 Modelos do tipo “MODEL FREE ANALYSIS”	64
4.2.7.2 Mecanismo de decomposição	66
4.3 PARTE III: Co-VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS	68
4.3.1. Matérias-Primas e reagentes	68
4.3.2 Equipamentos	68
4.3.3 Desenvolvimento do Método Analítico.....	68
4.3.4 Preparação das amostras.....	68
4.3.5 Preparação da curva-controle	69
4.3.6 Co-Validação do método analítico	69
4.3.6.1 Linearidade.....	69
4.3.6.2. Limite de detecção (LD) e Limite de quantificação (LQ)	70
4.3.6.3 Precisão.....	70
4.3.6.4 Exatidão	71
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	73
5.1 PARTE I: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS COM O EFZ	73
5.1.1 Escolha do Carreador.....	73
5.1.2 Escolha da Metodologia de Obtenção	77

5.1.3 Escolha da Concentração do Fármaco e do Carreador	78
5.1.3.1 Difração de Raios-X (DRX).....	78
5.1.4 Seleção do Melhor Sistema de Dispersão Sólida	79
5.1.4.1 Teste de Dissolução In Vitro	79
5.1.5 Análise Físico-Química dos Sistemas Selecionados	86
5.1.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	86
5.1.5.2 Microscopia de Luz Polarizada.....	89
5.1.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	91
5.1.5.4 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV)	95
5.1.5.5 Cinética de liberação in vitro por membrana de diálise.....	100
5.1.6 Solução Sólida, Suspensão Sólida Amorfa ou Suspensão Sólida Cristalina?	101
5.1.7 Estudo de estabilidade	102
5.2 PARTE II: CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE ESTABILIDADE TÉRMICA DO EFAVIRENZ E DA DISPERSÃO SÓLIDA COM PVPVA 64 POR ANÁLISE TÉRMICA E PIRÓLISE ACOPLADA A CG/MS	103
5.2.1 Caracterização térmica	103
5.2.2 Pirólise CG/MS	105
5.2.3 DSC-fotovisual	107
5.2.4 Cinética de degradação.....	108
5.2.5 Determinação da Energia de Ativação (Ea): “Model-Free Analysis”	114
5.2.6 Determinação do provável mecanismo de decomposição.....	118
5.3 PARTE III: Co-VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS	120
5.3.1 Co-validação do método analítico	120
6 CONCLUSÃO	124
7 PERSPECTIVAS	127
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	129
APÊNDICE	144

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) continua sendo um dos principais problemas de saúde pública mundial, pois nos últimos 30 anos constatou-se que já houve mais de 60 milhões de pessoas infectadas e 20 milhões de mortes por infecção pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), sendo que, dois terços desta população residem nos países localizados na África Subsaariana, onde o acesso à terapia anti-retroviral é bastante limitado (NEVES et al., 2010; PINNA; KAKALOU; ROSENBERG, 2012).

A Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART), introduzida em 1996, que combina pelo menos três medicamentos anti-retrovirais, é considerada um dos avanços mais significativos na área, já que garantiu uma grande redução nos índices de mortalidade, além de aumentar a qualidade e a expectativa de vida dos indivíduos infectados. Seus efeitos benéficos são indiscutíveis, porém vários fatores comprometem seu sucesso, como por exemplo, as limitações de algumas propriedades físico-químicas da grande maioria dos fármacos, dentre eles, o efavirenz (EFZ) (NEVES et al., 2010; SHARMA; GARG, 2010).

O EFZ é considerado uma das drogas anti-HIV mais utilizadas. É pertencente à classe dos Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (ITRNNs) e é classificado como fármaco de classe II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), segundo o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), apresentando problemas de absorção no trato gastrointestinal e conseqüentemente biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica (MADHAVI et al., 2011; SATHIGARI et al., 2009). Desta forma, o desenvolvimento de formulação por via oral para esta classe de fármacos é considerado como um dos maiores e mais freqüentes desafios para os pesquisadores da indústria farmacêutica (SHARMA, A.; JAIN, C.P., 2011).

Para solucionar estes problemas, várias tecnologias farmacêuticas como: micronização, dispersão sólida, complexo de inclusão, sistemas multicomponentes, spray drying, nanossistemas, micelas poliméricas, dentre outras, foram descritos na literatura (CHADA et al., 2012; CHIAPPETTA et al., 2011; COSTA et al., 2013; KATATA et al., 2012; SATHIGARI et al., 2012; SHARMA; GARG, 2010).

Dentre estas, dispersão sólida (DS) é considerada como uma das principais técnicas de incremento de solubilidade (TIWARE et al., 2009) e pode ser definida como um grupo de produtos sólidos que está constituído por, pelo menos, dois componentes

diferentes, geralmente, uma matriz hidrofílica e um fármaco hidrofóbico (YU et al., 2010). Enquanto que grande parte dos sistemas iniciais consistia em dispersar a droga em seu estado cristalino no interior de um determinado carreador, os sistemas atuais visam, através de processamentos moleculares, a alteração da forma cristalina da droga para o seu estado amorfo, devido a sua maior solubilidade, já que não é necessário energia para quebrar a estrutura cristalina durante o processo de dissolução (DINUNZIO et al., 2010; SHARMA; JAIN, 2011). Porém, a forma amorfa da droga frequentemente está associada com problemas de instabilidade termodinâmica, uma vez que a mesma está na sua forma metaestável e, assim, tende a se recrystalizar para uma forma termodinamicamente mais estável (BALANI et al., 2010).

A estabilidade do estado amorfo da droga é particularmente desejada para produtos farmacêuticos, uma vez que condições de stress, incluindo alta umidade relativa e elevadas temperaturas durante a produção e estocagem podem acelerar o processo de recrystalização (SUN; JU; LEE, 2012; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Para alcançar este objetivo, pesquisadores aumentam a energia de ativação necessária para o processo de recrystalização, que é conseguido através da utilização de polímeros como carreadores. Estes aumentam a transição vítrea (T_g) da mistura miscível, favorecendo a redução da mobilidade molecular do sistema, além de interagir com grupos funcionais da droga, através, principalmente, de ligações de hidrogênio (BALANI et al., 2010; DINUNZIO et al., 2010; SUN; JU; LEE, 2012).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi obter e caracterizar as DS utilizando polímeros inovadores, a fim de proporcionar vantagens relacionadas ao aumento do percentual de EFZ dissolvido quando comparado ao fármaco isolado e, conseqüentemente, otimizar sua eficácia terapêutica. Além disso, realizar o estudo do comportamento e estabilidade térmica do EFZ isolado e do sistema de DS que alcançar melhores resultados durante o estudo.

Objetivos

2 OBJETIVOS

Os objetivos que norteiam este trabalho são apresentados abaixo subdivididos em objetivo geral e específicos.

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver e caracterizar sistemas poliméricos microparticulados a base de efavirenz (EFZ), objetivando o aumento na velocidade de dissolução.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudo teórico, através da análise das propriedades dos polímeros (possibilidade de ligações de hidrogênio e temperatura de transição vítrea), e prático (miscibilidade entre o polímero e o fármaco) para a escolha dos carreadores a serem utilizados para obtenção das Dispersões Sólidas (DS);
- Obter misturas físicas (MF) e DS pela técnica do solvente, utilizando os carreadores previamente selecionados através dos estudos teórico e prático;
- Verificar, através da Difração de raios-X (DRX), o limite de concentração do EFZ que permanecerá na forma amorfa na DS;
- Selecionar as DS com melhor desempenho através de estudo de dissolução *in vitro*;
- Co-validar o método de doseamento do EFZ por espectrofotometria UV-Visível;
- Caracterizar os sistemas selecionados através de diversas técnicas analíticas;
- Realizar estudo termoanalítico da DS que apresentar o melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro*;
- Realizar estudo de estabilidade convencional das DS;
- Avaliar preliminarmente o efeito da DS na permeabilidade celular do EFZ

Revisão da Literatura

3 REVISÃO DA LITERATURA

Para o embasamento do trabalho foi realizada uma revisão da literatura sobre a AIDS, terapia antiretroviral, sistema de classificação biofarmacêutica, efavirenz e tecnologias farmacêuticas empregadas para o melhoramento da solubilidade deste fármaco.

3.1 AIDS: ASPECTOS GERAIS

O agente etiológico da *Acquired Immuno Deficiency Syndrome* (AIDS) foi identificado e relatado pela primeira vez por Luc Montagnier e colaboradores em 1983 em um paciente com linfadenopatia generalizada e persistente, que é considerada uma manifestação clínica da AIDS, e os pesquisadores o nomearam pela primeira vez de LAV. Nos anos seguintes, outros pesquisadores isolaram mais dois tipos de retrovírus, HTLV-III e ARV, e, posteriormente, em 1985, foi demonstrado que HTLV-III, ARV e LAV pertencem à mesma família de retrovírus e são notavelmente semelhantes. Em 1986, o Comitê Internacional de Taxonomia Viral renomeou os três vírus como HIV (GUPTA; JAIN, 2010).

Posteriormente descobriram-se dois tipos de HIV (1 e 2), sendo que o HIV-2 é mais prevalente no oeste da África e está associado com uma progressão mais lenta da imunodeficiência, além de ser transmitido de maneira menos eficiente (OJEWOLE et al., 2008; LEVY, 2009).

O HIV é classificado como um lentivirus da família *Retroviridae*. É observado como uma nanoestrutura biológica (em torno de 100-150nm), composta por membrana derivada do hospedeiro, nucleocapsídeo e material genético na forma de ácido ribonucleico (RNA) contendo três genes estruturais, responsáveis por codificar importantes antígenos grupo-específico (gag gene), enzimas virais essenciais como a transcriptase reversa, integrase e protease (pol gene), além de duas glicoproteínas presentes na membrana viral, gp 120 e gp 41, que possuem o papel de reconhecer o receptor CD4 e os co-receptores CCR5 ou CXCR4 presentes na membrana celular do hospedeiro e pela fusão vírus-célula, respectivamente (env gene) (NEVES et al., 2010).

As formas de contágio pelo HIV, conhecidas e com importância epidemiológica, são as relações sexuais (anal e vaginal) desprotegidas, transfusão sanguínea, seringas compartilhadas entre usuários de drogas e transmissão da mãe para o feto (transmissão vertical) no momento do parto ou amamentação (NEVES et al., 2010). De acordo com o

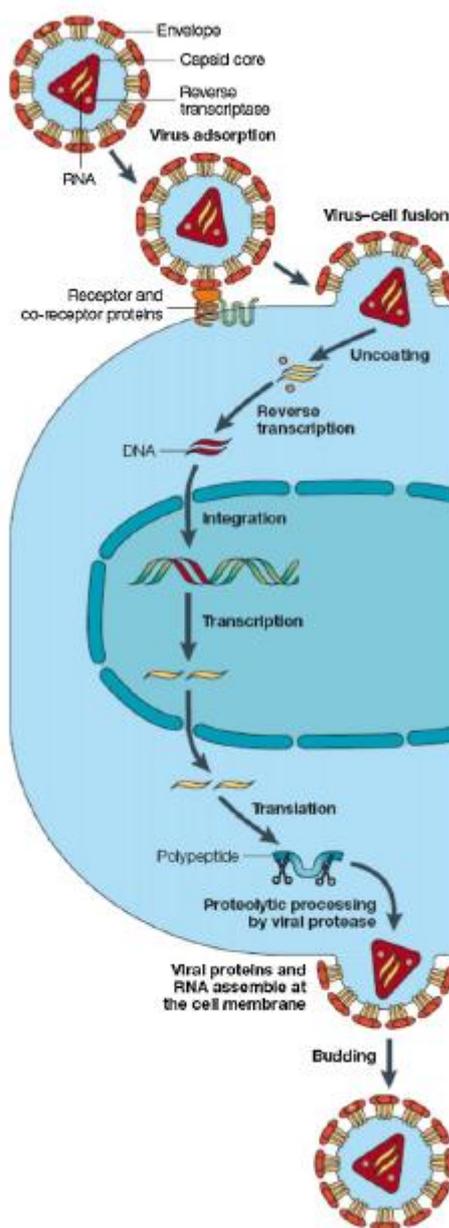
Boletim Epidemiológico do ano de 2012, publicado pelo Ministério da Saúde, entre os maiores de 13 anos de idade, a forma de transmissão mais prevalente é a sexual. Nas mulheres, 86,8% dos casos registrados em 2012 decorreram de relações heterossexuais com pessoas infectadas pelo HIV. Entre os homens, 43,5% dos casos se deram por relações heterossexuais, 24,5% por relações homossexuais e 7,7% por bissexuais. O restante ocorreu por transmissão sanguínea e vertical (BRASIL, 2012).

A infecção inicia quando o HIV se funde à membrana celular do linfócito e, em seguida, libera o conteúdo do cápsideo, contendo RNA e enzimas virais, no citoplasma da célula alvo. Posteriormente, haverá a conversão do RNA viral em ácido desoxirribonucléico (DNA) devido à ação da enzima transcriptase reversa (TR), permitindo que este seja transportado para o núcleo da célula infectada. Em seguida, ocorre atuação de uma segunda enzima do HIV, a integrase, que catalisa a incorporação do DNA viral ao material genético do hospedeiro. A partir da etapa anterior, o genoma viral será transcrito, transportado para o citoplasma, onde serão traduzidos em proteínas e poliproteínas. Posteriormente, os vírions serão montados próximo à membrana celular, na forma de partículas imaturas, podendo, desta forma, iniciar o processo de brotamento. Durante ou após este momento, as partículas virais sofrem modificação morfológica conhecida como maturação, é nesta fase final que a enzima protease atua, clivando as poliproteínas gag e gag-pol, originando enzimas e proteínas que são necessárias para a estrutura do capsídeo. Desta forma, os vírions maduros já são capazes de infectar novos linfócitos e iniciar um novo ciclo (Figura 1) (PEÇANHA; ANTUNES, 2002; SOUZA, 2005).

Após a exposição ao HIV, aproximadamente duas a três semanas, antes do aparecimento de anticorpos contra o vírus, as pessoas infectadas geralmente apresentam uma doença aguda que está associada a sintomas inespecíficos, comuns a várias infecções virais, incluindo febre, dor de garganta e mal estar (RUBIM, 2006). A próxima fase, denominada de assintomática, é caracterizada pela ocorrência da soroconversão e intensa resposta imune que contém parcialmente a replicação viral fazendo a viremia cair e os níveis de CD4⁺ aumentar, porém nunca aos níveis anteriores normais. Essa fase pode durar de 2 a 20 anos (em média 10 anos) e geralmente a contagem do CD4⁺ é maior que 350 cels/mm³. Este estado pode evoluir para a fase sintomática da doença, denominada AIDS, caracterizada pela alta redução dos linfócitos T CD4⁺, com conseqüentemente susceptibilidade do organismo às infecções oportunistas (BRASIL, 2013a).

No final de 2011, 34 milhões de pessoas, no mundo, viviam com a infecção por HIV. Neste mesmo ano, constatou-se que 1,7 milhões de pessoas morreram por AIDS e mais de 2,5 milhões, foram infectadas pelo HIV. A infecção por HIV tem uma distribuição mundial, porém, a África Subsaariana continua sendo a mais severamente afetada, sendo responsável por cerca de 70% das pessoas vivendo com HIV em todo mundo (UNAIDS, 2012).

Figura 1 - Ciclo de Replicação do Vírus HIV.



Desde o início da epidemia, em 1980, até junho de 2012, o Brasil tem 656.701 casos registrados de AIDS, de acordo com o Boletim Epidemiológico do ano de 2012. Em 2011, foram notificados 38.776 casos da doença e 12.044 óbitos e a taxa de incidência no Brasil foi de 20,2 casos por 100 mil habitantes. Embora dados epidemiológicos indiquem uma redução de cerca de 6% na taxa de incidência de casos de AIDS no Brasil como um todo, observa-se diferenças significativas entre as regiões do país. Em um período de 10 anos, 2002 a 2011, houve diminuição de 23,7, 8,3 e 5,4% nas taxas de incidência de casos de AIDS da região Sudeste, Sul e Centro-Oeste, respectivamente, enquanto que nas regiões Nordeste e Norte, houve um incremento de 49,7 e 90,8%, respectivamente (BRASIL, 2012).

3.2 Terapia Antiretroviral

O isolamento do agente etiológico da AIDS permitiu que medidas de prevenção fossem implantadas, além de favorecer o início de pesquisas por inibidores virais eficientes. O primeiro candidato, azidotimidina, foi um eficiente inibidor da TR em experimentos *in vitro*. Porém seu uso em pacientes portadores de AIDS não foi considerado eficiente (MONTAGNIER, 2010).

No ano de 1987, a zidovudina foi considerada o primeiro fármaco disponível no mercado para o tratamento da AIDS. Este sucesso inicial estimulou a avaliação da atividade anti-HIV de diversos análogos de nucleosídeos, resultando na aprovação de cinco Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídicos (ITRNs) (BÉTHUNE, 2010; PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002).

No final da década de 80, verificou-se que dois compostos, HEPT e TIBO eram potentes protótipos anti-HIV em cultura de células infectadas, já que foi observada a alta potência e especificidade destes compostos na inibição da enzima TR do HIV-1. A descoberta destes novos inibidores estimulou a busca por novos compostos com atividade semelhante. Dentre os compostos que apresentaram atividade, a nevirapina (Viramune®), delavirdina (Rescriptor®) e efavirenz (Sustiva®) foram aprovados para o tratamento da AIDS (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002).

Em meados da década de 90, principalmente entre 1996 e 1997, houve o surgimento da terapia antirretroviral de alta eficiência (HAART), conhecida como coquetel de drogas, e uma nova perspectiva e dimensão foram dadas à doença, uma vez

que esta deixou de ser considerada como doença incurável, fatal e irreversível, tornando-se uma condição crônica potencialmente controlável (BUCCIARDINI et al., 2006; FEITOSA et al., 2008).

As abordagens terapêuticas utilizadas no tratamento da infecção pelo HIV têm enfocado as proteínas do HIV que são obrigatórias para a replicação do vírus e são suficientemente diferentes daquelas da célula normal, conferindo alvos específicos (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002; RUBIN, 2006). O controle virológico e restauração da imunidade são considerados os dois principais objetivos da terapia antirretroviral. Uma vez alcançados estes objetivos, é possível retardar a progressão da doença, minimizar infecções oportunistas, neoplasias e prolongar o tempo de vida do paciente (GUPTA; JAIN, 2010).

Atualmente, há cinco classes de medicamentos antirretrovirais disponíveis no mercado: Inibidores Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (ITRNs), Inibidores Não-Nucleosídeos da Transcriptase Reversa (ITRNNs), Inibidores da Protease (IP) e, mais recentemente, os Inibidores de Entrada (antagonistas do CCR5 e inibidores de fusão) e Inibidores da Integrase. A escolha entre esta variedade de fármacos e seus regimes não é simples e está vinculada a uma série de variáveis relacionadas às suas características farmacológicas e toxicológicas, custos da terapia, estágio e progressão da doença, aparecimento de resistência e características do paciente (GUPTA; JAIN, 2010; NEVES et al., 2010; OFOTOKUN; CHUCK; HITTI, 2007).

A introdução da HAART vem contribuindo para uma dramática queda no número de mortes relacionadas ao vírus HIV e representa um padrão de terapia para o tratamento da AIDS. É uma combinação de fármacos que tem a capacidade de inibir duas etapas da replicação viral, promovendo uma diminuição em cerca de 100 vezes na velocidade de produção do vírus em comparação com as monoterapias utilizadas até o momento. O regime recomendado é constituído por dois ITRNs associado com um ITRNNs ou um IP, com o objetivo de aumentar a potência, minimizar a toxicidade e diminuir o risco de resistência (MARIER et al., 2007; MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006).

Mesmo que regimes de HAART apresentem atividade anti-HIV considerável e venha contribuindo de forma significativa para a melhoria da gestão da doença no que diz respeito a qualidade de vida do paciente, seu uso atual está associado com várias desvantagens e inconvenientes. O principal deles é que o vírus HIV persiste em estado de latência em reservatórios no organismo, tais como o sistema nervoso

central (SNC), o sistema linfático e dentro dos macrófagos, onde a maioria das drogas, nas concentrações terapêuticas requeridas, não conseguem ter acesso, além de não conseguir manter o tempo de duração necessário no local de ação. Concentrações subterapêuticas da droga e tempo de residência curto nos locais de ação, contribuem de forma significativa para a falha do tratamento, tanto para eliminar o HIV destes reservatórios quanto para o aparecimento de vírus multirresistentes a diferentes combinações de fármacos disponíveis no mercado (MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006; OJEWOLE et al., 2008).

Além disto, o tratamento proporciona importantes efeitos colaterais (vômitos, diarreias, náuseas, dores abdominais, dores de cabeça e, até mesmo, alterações da coloração da pele), que podem ser atribuídos à necessidade de altas dosagens e freqüentes administrações, que na maioria das vezes são incompatíveis com as atividades diárias dos pacientes, a fim de alcançar o efeito terapêutico desejado. Isto pode ser explicado devido à inadequada concentração da droga no local de ação, já que a maioria dos anti-retrovirais apresentam inadequadas propriedades físico-químicas e baixa biodisponibilidade. Todos estes fatores representam dificuldades para o sucesso do tratamento, visto que a não adesão ou negligência do regime terapêutico expõe o paciente aos riscos da medicação, não resultando em benefício terapêutico (MELO; BRUNI; FERREIRA, 2006; PIERI; LAURENTI, 2012).

3.3 SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (SCB): Aspectos Gerais

Testes de bioequivalência assumem papel de suma importância no desenvolvimento de produtos farmacêuticos e correspondem ao padrão aceito para assegurar o desempenho terapêutico de medicamentos que passaram por alterações em processos de fabricação, modificações de formulação e também para a aprovação de medicamentos genéricos. Esses padrões estão baseados em assegurar que tanto o produto de referência, como o produto teste, apresente o mesmo perfil de concentração plasmática pelo tempo (TAKAGI et al., 2006).

Nas últimas três décadas, testes de bioequivalência têm sido bastante utilizados, porém, recentemente, um novo padrão, aplicável a um número considerável de medicamentos, foi desenvolvido baseado na classificação de fármacos de acordo com suas propriedades biofarmacêuticas (TAKAGI et al., 2006).

Este novo padrão é denominado de Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB). Criado por Amidon e colaboradores em 1995, o SCB está baseado nos resultados de um conjunto de modelos de absorção, que foram capazes de demonstrar que a absorção de fármacos por via oral é controlada principalmente pela sua solubilidade aquosa sob condições fisiológicas e permeabilidade intestinal, além de está relacionada com sua taxa de dissolução (CRISTOFOLETTI et al., 2013). Desta forma, subdivide os fármacos em quatro classes: alta solubilidade e alta permeabilidade (Classe I), baixa solubilidade e alta permeabilidade (Classe II), alta solubilidade e baixa permeabilidade (Classe III) e, baixa solubilidade e baixa permeabilidade (Classe IV) (Figura 2) (DEZANI et al., 2013).

Figura 2 - Classificação dos fármacos de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).

	Alta solubilidade	Baixa solubilidade
Alta permeabilidade	Classe 1 Alta solubilidade Alta Permeabilidade Rápida dissolução	Classe 2 Baixa solubilidade Alta Permeabilidade
Baixa permeabilidade	Classe 3 Alta solubilidade Baixa Permeabilidade	Classe 4 Baixa solubilidade Baixa Permeabilidade

Fonte: Adaptado de BENET, 2013

Considera-se que um fármaco tem alta solubilidade quando a maior dose é solúvel em volume igual ou menor que 250 mL de meio aquoso dentro de uma faixa de pH de 1,0 a 7,5. O volume estimado de 250 mL é originado de protocolos tradicionais de estudos de bioequivalência que recomendam a administração do medicamento aos

voluntários em jejum com um copo de água (CHARKOFTAKI et al., 2009; FDA, 2000).

A permeabilidade pode ser determinada indiretamente, através da estimativa do grau de absorção da droga ou, diretamente, pela medição da taxa de transferência de massa entre a membrana intestinal humana. Desta forma, quando a extensão de absorção de um fármaco for maior ou igual a 90% da dose administrada comparada a uma dose de referência por via intravenosa, este é considerado como altamente permeável. Alternativamente, diferentes sistemas podem ser utilizados para estimar a absorção oral de fármacos em seres humanos e, conseqüentemente, classificá-los de acordo com sua permeabilidade. Tais modelos incluem membranas artificiais e cultura de células *in vitro* (PAMPA, Caco-2 e MDCK), estudos de perfusão intestinal (métodos *in situ*) e estudos *ex vivo* utilizando segmentos intestinais de animais ou seres humanos (DEZANI et al., 2013; FDA, 2000).

O objetivo do SCB é utilizar as informações dos estudos provenientes da dissolução *in vitro* para correlacionar com a dissolução *in vivo* e, conseqüentemente, evitar a exposição de humanos sadios aos fármacos candidatos aos estudos de bioequivalência, bem como reduzir os custos e tempo necessários para o desenvolvimento de medicamentos genéricos (BENET, 2012; NAIR et al., 2012). Desta forma, a classificação biofarmacêutica tem sido bastante utilizada como ferramenta de auxílio na decisão sobre a isenção de estudos de biodisponibilidade (bioisenção) para registro de medicamentos. Agências regulatórias, como o *Food Drug Administration* (FDA), *European Medicines Agency* (EMA) e a Organização Mundial de Saúde (OMS) admitem a bioisenção para fármacos de classe I, quando os mesmos apresentam velocidade de dissolução rápida. Porém, a OMS amplia a bioisenção para alguns fármacos de classe II (aqueles que apresentam propriedades ácidas fracas) e para os de classe III, enquanto que EMA amplia apenas para fármacos da classe III (KAWABATA et al., 2011).

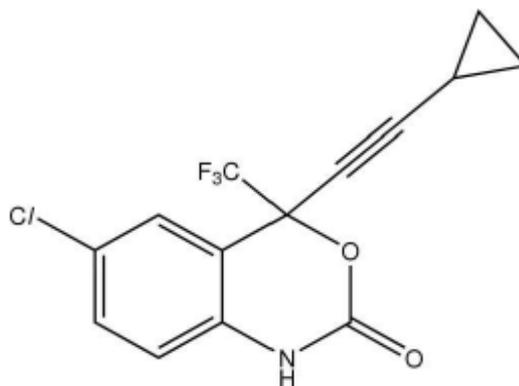
Atualmente, o conceito de SCB vai além da bioisenção de fármacos, já que o mesmo vem sendo bastante utilizado nas etapas de formulação que antecedem aos estudos clínicos (COOK et al., 2008; KU, 2008). A classificação biofarmacêutica de drogas, que futuramente podem ser candidatas a fármacos, pode fornecer uma indicação da dificuldade das etapas para o seu desenvolvimento. Para drogas classes I ou III, formulações são desenvolvidas com estratégias mais simples. No entanto, para drogas classe II ou IV é necessário que suas formulações estejam baseadas nas propriedades

físico-químicas e biofarmacêuticas, a fim de obter a biodisponibilidade necessária e reprodutível após sua administração oral (KAWABATA et al., 2011).

3.4 INSUMO FARMACÊUTICO: EFAVIRENZ

Dentre os fármacos utilizados na terapia antirretroviral, encontra-se o EFZ (Figura 3), que, segundo Madhavi et al. (2011), é um fármaco frequentemente utilizado em protocolos terapêuticos para o tratamento do HIV. Está inserido na classe dos ITRNNs, enzima responsável pela conversão do RNA viral em ácido desoxirribonucléico (DNA), permitindo que este entre e chegue ao núcleo da célula infectada, assumindo o controle dos mecanismos de replicação. (CHADA et al, 2012; GUPTA; JAIN, 2010). No que diz respeito à escolha do ITRNNs para compor o regime terapêutico, o EFZ é considerado como fármaco de primeira escolha, preferencial à nevirapina, exceto para gestantes e crianças menores de 3 anos. Essa opção está fundamentada na sua elevada potência de supressão viral, na comprovada eficácia em longo prazo e no menor risco de efeitos adversos sérios (BRASIL, 2008).

Figura 3 - Estrutura química do EFZ.



Fonte: MADHAVI et al., 2011

EFZ foi descoberto pelos pesquisadores da Merck, desenvolvido em conjunto com a DuPont e sua comercialização liberada pelo FDA em setembro de 1998 (BÉTHUNE, 2010). O Ministério da Saúde (MS) brasileiro, a fim de assegurar a viabilidade do tratamento contra o HIV/AIDS pelo Sistema Único de Saúde (SUS), decretou, em 4 de maio de 2007, o licenciamento compulsório do EFZ para uso público

não-comercial, através da assinatura do decreto 6 108/2007 (RODRIGUES; SOLER, 2009). Posteriormente, o MS passou a importar da Índia genéricos pré-qualificados pela OMS que provocou um impacto imediato de US\$ 31,5 milhões de economia para o país. Paralelamente, foi iniciado o desenvolvimento do EFZ nacional, através do Laboratório de Medicamentos de Pernambuco (LAFEPE) e Farmanguinhos que estabeleceram uma parceria com as empresas privadas Globequímica (SP), Cristália (SP) e Nortec (RJ). O laboratório indiano forneceu o medicamento até 2010 e seus estoques duraram até 2011. Desta forma, a produção passou a ser inteiramente nacional. Em maio de 2012, houve a renovação do licenciamento compulsório do EFZ por mais cinco anos e neste mesmo ano, o MS contratou 57 milhões de comprimidos do fármaco junto ao laboratório Farmanguinhos, pelo valor de R\$ 76,9 milhões, a fim de estabelecer esquemas terapêuticos para aproximadamente 104 mil pessoas no país, o que representa quase 50% das pessoas em tratamento no Brasil (BRASIL, 2013b).

O EFZ possui forma molecular $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, com massa molecular de 315,68, pKa no valor de 10,2 e um Log P de 5,4. Possui aparência de pó cristalino branco ou levemente amarelado e apresenta faixa de fusão de 136,0 °C a 141,0 °C. Apesar de ser solúvel em metanol e diclorometano, é considerado praticamente insolúvel em água e, devido a isto, exibe baixa e variável biodisponibilidade oral, sendo classificado como um fármaco de Classe II, segundo o SCB (ROEW et al., 1999; SHANKAR; CHOWDARY, 2013; VIANA et al., 2006).

O EFZ apresenta-se na forma cristalina, descrito com pelo menos cinco diferentes polimorfos por Radesca *et al* (1999) através da patente WO 99/6445, sendo o polimorfo 1 considerado o mais estável termodinamicamente, apresentando faixa de fusão entre 138° e 140°C, por essa característica deve ser o mais comumente utilizado nas formulações para uma garantia de maior estabilidade do produto farmacêutico. Segundo Chada et al., 2012, foram divulgadas mais algumas patentes e publicações, posterior a este relatório do ano de 1999, que descreveram os métodos para a preparação de novas modificações utilizando diferentes solventes e anti-solventes. Porém, segundo os autores, os aspectos termodinâmicos de vários polimorfos não foram levados em consideração, além disso, a transformação de uma forma polimórfica para outra não foi relatada, havendo, desta forma, várias lacunas que precisam ser preenchidas para completa caracterização destes polimorfos.

O EFZ é comercializado sob os nomes Stocrin e Sustiva, dependendo do país. O primeiro é fabricado pela Merck Sharp & Dohme, enquanto que o segundo é produzido

pela Bristol-Myers Squibb (EMEA, 2013). No mercado farmacêutico, o EFZ pode ser encontrado como cápsulas duras de 50, 100 e 200 mg, como comprimido revestido de 50, 200, 300 e 600 mg e, também, como formulação líquida de 30 mg.mL⁻¹. Além disso, existe uma associação do efavirenz (600 mg) com os fármacos emtricitabine (200 mg) e tenofovir disoproxil (245 mg), denominada Atripla (BÉTHUNE, 2010; EMEA, 2013).

No Brasil, encontram-se registrados na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), as seguintes apresentações farmacêuticas: solução oral de 30 mg.mL⁻¹, cápsulas gelatinosas duras de 50 e 200 mg e comprimidos revestidos de 300 e 600 mg (BRASIL, 2013c).

A dose recomendada de EFZ para adultos é de 600 mg uma vez ao dia., porém em pacientes com idade entre três e dezessete anos, a dose dependerá do peso corporal (RIBERA et al., 2011). Devido ao aparecimento relativamente rápido de cepas resistentes, o EFZ não pode ser administrado em monoterapia e, portanto, no momento da escolha dos novos agentes anti-retrovirais para serem usados em combinação, deve ser levada em consideração a possibilidade de resistência viral cruzada (FDA, 2013). Geralmente o EFZ é usado em combinação tanto com IP quanto com ITRNs (MISHRA et al., 2010).

Os efeitos adversos mais característicos do EFZ são as alterações do SNC, tais como: tontura, insônia, sonolência, dificuldade de concentração, sonhos anormais e ansiedade, que estão presentes em mais de 50% dos casos, principalmente, nas primeiras semanas de tratamento. Além disso, o tratamento com EFZ também está associado com o aparecimento de erupção cutânea e transtornos psiquiátricos (depressão grave, pensamentos suicidas, tentativa de suicídio, comportamento agressivo) (EMEA, 2013; MARZOLINI et al., 2001).

O EFZ apresenta uma biodisponibilidade oral de 40 a 45% e uma variabilidade inter e intraindividual de 54,6% e 26%, respectivamente. Diante da alta variabilidade, a monitorização terapêutica dos níveis plasmáticos de EFZ é recomendada para evitar efeitos colaterais e descontinuação do tratamento (CHIAPPETTA et al., 2011).

O aumento da absorção do EFZ é observado quando o mesmo é ingerido com alimentos, conduzindo, assim, o aumento da frequência das reações adversas. Desta forma, recomenda-se que seja administrado com o estômago vazio, preferencialmente ao deitar (FDA, 2013).

A farmacocinética do EFZ é caracterizada por uma elevada meia-vida plasmática, entre 52 a 76 horas após administração de dose única e de 40 a 55 horas após administração de doses múltiplas. Apresenta alta taxa de ligação protéica, principalmente à albumina, no entanto atinge o líquido cefalorraquidiano com concentrações em média de 0,69% (0,26 e 1,19) da concentração plasmática correspondente (EMEA, 2013).

A concentração plasmática máxima ($C_{m\acute{a}x}$) após administração oral de 600 mg é de $12,9 \pm 3,7 \mu\text{M}$, a concentração plasmática mínima é de $5,6 \pm 3,2 \mu\text{M}$ e a área sob a curva (AUC) é de $184 \pm 73 \mu\text{M/h}$. O tempo para a $C_{m\acute{a}x}$ e o estado de equilíbrio ser alcançado é de 3 - 5 horas e 6 - 10 dias, respectivamente (RIBERA et al., 2011).

A metabolização do EFZ acontece a nível hepático, principalmente, pelo citocromo P450 (CYP3A4 e 2B6) a metabólitos hidroxilados com posterior glicuronoconjugação. As principais vias de eliminação dos metabólitos inativos são a via renal (34%) e as fezes (16-61%). É considerado um forte indutor de CYP3A4, desta forma, compostos que são substratos desta isoenzima (anticoncepcionais orais, estatinas, claritromicina, itraconazol ou cetoconazol) podem ter suas concentrações plasmáticas reduzidas quando administrados concomitantemente com EFZ (EMEA, 2013; RIBERA et al., 2011).

Fármacos como terfenadina, astemizol, cisaprida, midazolam, triazolam, pimozida, bepridilo ou alcalóides do ergot (por exemplo, ergotamina, diidroergotamina, ergonovina e metilergonovina) podem sofrer inibição do seu metabolismo devido à competição do sítio da isoenzima CYP3A4 pelo EFZ, levando a efeitos adversos graves e/ou potencialmente mortais, como arritmias cardíacas, sedação prolongada ou depressão respiratória. Além disso, pode se comportar como um inibidor da isoenzima 2C9/19, aumentando os efeitos dos fármacos que são eliminados por estas vias, como por exemplo, o voriconazol (FDA, 2013).

3.5 SISTEMAS BASEADOS NO MELHORAMENTO DA SOLUBILIDADE DO EFAVIRENZ

Enfocando o aumento da biodisponibilidade de fármacos classe II, um dos desafios mais relevantes no desenvolvimento de formulações seria incorporar tecnologias oriundas das ciências dos materiais e excipientes que se comportem como incrementadores de dissolução (COSTA, 2011).

Atualmente, a tecnologia farmacêutica fornece muitas abordagens para melhoria da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis. Assim, incorporar uma matriz polimérica solúvel em água na formulação é uma abordagem básica na pesquisa em tecnologia farmacêutica em termos de aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, bem como modificações físicas normalmente aumentam a área superficial, a solubilidade e/ou a molhabilidade de partículas de pó (RUDNIC; SCHWARTZ, 2000). Essas modificações físicas são focadas na redução do tamanho de partícula ou geração de estados amorfos (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008).

Trabalhos recentes foram publicados corroborando com as ideias anteriormente citadas, empregando a utilização de tecnologias para melhoramento da solubilidade do EFZ.

3.5.1 Dispersões sólidas

O termo dispersão sólida (DS) refere-se a um produto sólido constituído por pelo menos dois componentes diferentes, em geral, uma matriz ou carreador e um fármaco hidrofóbico (SHARMA; JAIN, 2011). Em outros termos, as DS são sistemas que proporcionam um melhor desempenho de um fármaco hidrofóbico no meio de dissolução por funcionarem como uma barreira ou sistemas estabilizadores. Isso acontece porque o fármaco ou parte dele no estado amorfo - estado em que este apresenta maior solubilidade – estará presente disperso no carreador e, assim, este irá dificultar a junção das moléculas do fármaco e, conseqüentemente, sua cristalização por tempo suficiente para que grande quantidade do fármaco amorfo fique disponível para ser dissolvido no meio de dissolução (MEDEIROS, 2013).

O melhor desempenho de fármacos no meio de dissolução causado pela formação de DS está baseado na redução do tamanho de partícula do fármaco quase a nível molecular, proporcionando, desta forma, uma melhor molhabilidade e dispersibilidade pelo carreador, além da formação de uma estrutura amorfa do fármaco no carreador (SINGH; SAYYAD; SAWANT, 2010). As DS também têm sido utilizadas para aumentar a estabilidade química de fármacos em solução ou suspensão, preparar formas farmacêuticas de liberação controlada, reduzir efeitos colaterais e mascarar sabores desagradáveis (SHARMA; JAIN, 2011).

Kolhe, Chaudari e More (2013) investigaram a obtenção de DS através da técnica *hot melt extrusion* (HME) e utilizaram Copovidona e polietilenoglicol (PEG)

como polímeros, óleo de rícino e monolaurato de sorbitano como plastificantes. DS com proporção fármaco:polímero de 1:1 foi formulada e caracterizada através das técnicas: solubilidade de saturação, o efeito da temperatura sobre a preparação dos sistemas, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difração de Raios-X (DRX), Infravermelho (IV), dissolução e estudos de permeabilidade *in vitro*. Os autores verificaram através dos dados de DRX e DSC, que o processo HME permitiu a desaparecimento dos picos de EFZ, que indicam a conversão completa da forma cristalina de EFZ para a forma amorfa. Estudos de dissolução e solubilidade também mostraram um aumento na taxa de liberação dos sistemas preparados por HME.

Chowdary e Enturi (2013) avaliaram o desempenho *in vivo* e a farmacocinética das DS de EFZ utilizando citrato e fosfato de amido, como polímeros. Observou-se um aumento de 9,90 e 9,14 vezes na taxa de absorção do fármaco ao utilizar a DS EFZ:citrato de amido (1:2) e a DS EFZ:fosfato de amido (1:2), respectivamente, quando comparado com o EFZ puro. As DS de EFZ com os dois novos amidos modificados (citrato de amido e fosfato de amido) exibiram taxas significativamente superiores de absorção e biodisponibilidade do EFZ, quando comparado ao EFZ sozinho na avaliação *in vivo*.

Koh et al. (2013) aumentaram a taxa de dissolução do EFZ utilizando sistemas de DS (binários e ternários). No sistema binário foram utilizadas três proporções em peso de fármaco: polímero diferentes (1:5, 1:10 e 1:15) de EFZ, PEG 8000 e/ou PVP K30. No sistema ternário, Tween 80 foi incorporado em todas as formulações de 1:10 por adição de 10% do peso total do fármaco para se obter a relação fármaco: polímero: surfactante 1:10:1,1. A dissolução de ambos os sistemas foi notavelmente melhorada em comparação ao EFZ sozinho. Uma relação ótima fármaco: polímero (1:10) foi identificada. Incorporação de Tween 80 nessas formulações 1:10 através do método de solvente mostrou melhoria na velocidade de dissolução. Resultados das caracterizações físico-químicas sugeriram que o EFZ existia na forma amorfa em todos os sistemas de DS, fornecendo evidências do motivo da melhora na dissolução. Não foi observada diferença estatisticamente significativa ($P > 0,05$) na dissolução entre os dois métodos aplicados (fusão e solvente). Ambos os sistemas, binários e ternários, de DS mostraram uma melhora significativa na taxa de dissolução do EFZ. Formulações com apenas PVP K-30 obtiveram melhor perfil de dissolução e uma proporção fármaco:polímero 1:10 foi considerada como uma relação ideal.

Kumar, Devi e Bhikshapathi (2012) formularam e caracterizaram DS de EFZ:Kollidon 30 nas proporções 1:1 e 1:2, utilizando Neusilin como antiagregante. Estudos de dissolução indicaram que a formulação EFZ: Kollidon 30: Neusilin 1:2:2 apresentou uma dissolução significativamente superior ao fármaco puro e às MF. Estudos de DRX e de DSC mostraram que o fármaco estava na forma amorfa. A comparação da biodisponibilidade em estudos *in vivo* da formulação e do fármaco puro em ratos Wistar confirmou a quantidade mais elevada da concentração do fármaco no sangue indicando uma melhor absorção e biodisponibilidade sistêmica.

Sathigari et al. (2012) prepararam DS de EFZ, através da técnica HME, utilizando Eudragit EPO e Plasdone S-630 como polímeros. As misturas físicas entre o fármaco e o polímero foram preparadas em várias concentrações (1:1, 1:4 e 4:1), porém, através de investigação reológica foi demonstrado que a proporção 1:1 era a mais indicada para preparar as DS por diminuir suficientemente a viscosidade dos sistemas a fim de facilitar o fluxo do material fundido no processo de extrusão. Estudos de DRX e DSC confirmaram a existência do EFZ no estado amorfo nas DS. A taxa de dissolução do EFZ das DS foi substancialmente mais elevada do que a do fármaco na sua forma cristalina. Estudos de estabilidade indicaram que os sistemas permaneceram estáveis por 9 meses. Estudos de IV revelaram interações entre o EFZ e Plasdone S-630, sendo estas, particularmente, ligações de hidrogênio, o que reduziu a mobilidade molecular e impediu a cristalização durante o armazenamento. O estudo de IV das DS com Eudragit EPO não revelaram interações específicas, mas a estabilidade física da formulação pôde ser atribuída ao efeito antiplastificante do polímero sobre o fármaco.

Chowdary e Enturi (2011) prepararam, caracterizaram e avaliaram o fosfato de amido como um carreador em DS para aumentar a taxa de dissolução do EFZ. As DS foram preparadas pelo método do solvente empregando várias proporções (p/p) de fármaco: fosfato de amido, tais como 2:1 (DS-1), 1:1 (DS-2), 1:2 (DS-3), 1:3 (DS-4) e 1:9 (DS-5) e, em seguida, foram avaliadas quanto à taxa e eficiência de dissolução. Todas as DS preparadas se dissolveram rapidamente e maior quantidade de EFZ se fez presente no meio de dissolução quando em comparação com o fármaco puro. A taxa de dissolução (K1) do EFZ aumentou 13,98 e 31,37 vezes para as DS-4 e DS-5, respectivamente. A eficiência de dissolução nos primeiros 30 minutos (ED30) também foi aumentada de 10,66%, no caso do EFZ puro, para 51,13% e 71,51%, no caso dessas DS. Comprimidos de EFZ (50 mg) foram preparados empregando o EFZ sozinho e suas DS-3 e DS-4 pelo método de granulação por via úmida e, em seguida, foram avaliados.

Um aumento na K1 de 16,71 e 31,04 foi observado com as formulações de comprimidos que continham as DS-3 e DS-4, respectivamente, quando em comparação com os comprimidos simples.

Deshmukh et al. (2011) formularam e caracterizaram um comprimido de liberação imediata do EFZ utilizando Soluplus[®] como carreador em uma DS. A formulação proposta foi preparada através da técnica HME. Através de estudos de solubilidade e dissolução a DS com proporções de fármaco e polímero 1:3 foi selecionada. O lote obtido foi caracterizado através da DSC, DRX (análise da cristalinidade), IV e estudo de dissolução *in vitro*. Não houve problemas de compatibilidade e a cristalinidade do fármaco foi reduzida no comprimido preparado, dados confirmados pelos estudos de DSC e DRX. O IV confirmou a presença de interações intermoleculares entre o Soluplus[®] e o EFZ. A taxa média de dissolução dos seis comprimidos de EFZ e da formulação comercializada em 45 minutos foi 72,77% e 69,37%, respectivamente, enquanto em 120 min elas foram 90,08% e 88,24%, respectivamente. Isso mostra que os perfis de dissolução da DS e da formulação comercializada eram comparáveis. Isto pode ser devido ao Lauril Sulfato de Sódio (LSS) que atua como surfactante. Os estudos de estabilidade foram realizados e, desta forma, verificou-se que comprimido com a DS apresentou-se estável por 30 dias.

Madhavi et al. (2011) prepararam DS de EFZ:PEG 6000 pelo método do solvente nas proporções 1:1 e 1:2 (p/p). O solvente utilizado foi acetona e o método de evaporação do solvente foi o rotaevaporador. Os resultados mostraram um alargamento do pico de fusão indicando a redução da cristalinidade do fármaco nas DS, bem como uma melhora na taxa de dissolução de 16% para 70% que foi relacionada com a melhora da molhagem do fármaco devido ao microambiente formado na superfície do fármaco após a dissolução do polímero.

Srinarong et al. (2010) investigaram a aplicabilidade do Inutec[®] SP1 como carreador para obtenção de DS com vários fármacos pouco solúveis em água, incluindo o EFZ, e compararam o seu comportamento com Inulina e PVP. As DS foram preparadas por *spray-dryer* utilizando quantidades de 20 e 30% (p/p) de fármaco e, como solvente, uma mistura de água e álcool tert-butílico foi utilizada. A Microscopia eletrônica de varredura (MEV) mostrou que as amostras obtidas foram altamente porosas e apresentaram formato esférico. O DSC mostrou que os fármacos incorporados nos carreadores analisados encontravam-se totalmente ou parcialmente amorfos. Em estudos de dissolução, os comprimidos das DS obtidas com o Inutec[®] SP1

apresentaram melhor desempenho, pois cerca de 80% do fármaco dissolveu-se em menos de 30 minutos, seguidos por PVP e Inulina. Estudos de estabilidade foram realizados e verificou-se que os comprimidos foram estáveis durante 3 meses.

Yang, Grey e Doney (2010) investigaram os fatores que regem a recristalização de DS e desenvolveram um modelo de cinética capaz de prever com precisão as suas estabilidades físicas. As DS de EFZ-PVP K29/32 preparadas por *spray-dryer* em diferentes proporções (13%, 14%, 15% e 17% de polímero) foram armazenadas à temperatura e umidade relativamente controladas e os estudos de sua cinética de recristalização realizada por DSC. O teor de polímero inibiu o processo de recristalização, aumentando a energia de ativação de cristalização e diminuindo a cristalinidade de equilíbrio. Desta forma, um pequeno aumento na quantidade de PVP resultou em melhorias de estabilidade da DS.

Alves (2010) produziu DS de EFZ com o polímero PVP K-30 nas proporções 1:1, 2:1 e 4:1 (fármaco: polímero) através dos métodos de malaxagem (MX) e do solvente, sendo que o método de secagem para este último foi o rotaevaporador. As dispersões foram analisadas por MEV, DSC, DRX, IV e ensaios de dissolução. No geral, as MF em todas as proporções apresentaram desempenho superior às DS e ao EFZ no estudo de dissolução, no que diz respeito à melhora da velocidade e da quantidade de fármaco dissolvido. Dentre as DS, a que apresentou melhor desempenho no estudo de dissolução foi o sistema obtido por malaxagem na proporção de 4:1 (fármaco: polímero). Verificou-se que para as DS rotaevaporadas quanto maior a quantidade de polímero no sistema, melhor o desempenho no estudo de dissolução. O contrário aconteceu para as DS obtidas por malaxagem. A análise de DRX do estudo confirma a presença do EFZ na forma cristalina para todas as DS obtidas com exceção das DS secadas por rotaevaporador nas proporções de 1:1 e 2:1. As análises de DSC e MEV também evidenciaram a presença do EFZ na forma amorfa nesses sistemas. A análise de IV mostrou que houve interação intermolecular entre o PVP K-30 e o EFZ nas DS, principalmente ligações de hidrogênio, o que não aconteceu para as MF. Esse estudo indicou que o fator limitante da dissolução do EFZ não é a solubilidade, uma vez que, a forma amorfa do EFZ não beneficiou sua dissolução. O autor sugeriu que para as DS o PVP K-30 funcionou como um aglutinante no meio de dissolução impedindo a liberação do fármaco e, desta forma, o que contribuiu para o alto desempenho das MF foi o fato das mesmas melhorarem a molhabilidade do EFZ no meio de dissolução. Um teste de estabilidade foi realizado com a DS obtida por malaxagem 4:1 e sua respectiva

MF, analisando através de Termogravimetria (TG) e IV antes e depois de estocadas em câmara climática a 40°C e 75%UR. Nenhuma mudança foi verificada nas amostras através das técnicas analisadas após a estocagem.

3.5.2 Complexos de Inclusão

As ciclodextrinas (CDs) constituem uma nova classe de excipientes que tem se expandido exponencialmente a cada década em aplicações farmacêuticas envolvendo solubilização (ALVES et al, 2012; BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008). As CDs são carboidratos cíclicos de origem natural com estrutura espacial cônica apresentando cavidade hidrofóbica e exterior hidrofílico, o que conferem a estes açúcares cíclicos propriedades físico-químicas únicas, sendo capazes de solubilizar-se em meio aquoso e ao mesmo tempo encapsular no interior da sua cavidade moléculas hidrofóbicas, proporcionando habilidades em formar complexos de inclusão no estado líquido ou sólido (BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; SOARES-SOBRINHO et al, 2012).

Na indústria farmacêutica, as CDs têm sido particularmente usadas devido às suas propriedades complexantes, principalmente por aumentar a solubilidade e dissolução dos fármacos pouco solúveis, sua biodisponibilidade e estabilidade, bem como diminuir a irritação gástrica, dérmica ou ocular causada por determinados fármacos, diminuir ou eliminar odores ou sabores desagradáveis, prevenir interações entre diferentes fármacos ou entre fármacos e excipientes (GUEDES et al., 2008; RASHEED; KUMAR; SRAVANTHI, 2008).

A formação de complexo de inclusão entre o Efavirenz (EFZ) e derivados da β -ciclodextrina (β CD) foi estudada por Sathigari et al. (2009). Os complexos foram preparados com β -ciclodextrina (β CD), hidroxipropil β -ciclodextrina (HP β CD) e metil β -ciclodextrina randomizada (RM β CD) através das técnicas de malaxagem e liofilização. O estudo de solubilidade de fases indicou a formação dos complexos na proporção molar de 1:1. As técnicas de DSC, DRX, e estudos de MEV confirmaram a formação de complexos de EFZ-HP β CD e RM β CD obtidos por liofilização, bem como a dissolução do EFZ foi substancialmente maior para estes complexos, atingindo 55% da concentração em 30 min e 180 min, respectivamente.

3.5.3 Sistemas multicomponentes (ternários)

As DS são frequentemente utilizadas na obtenção de formas farmacêuticas sólidas, como exemplos comprimidos convencionais, onde a dureza, o tempo de desintegração e taxa de dissolução são importantes atributos de estabilidade física (LEANE et al., 2013). Assim como a complexação de fármacos com CDs, os quais são utilizados no objetivo de incrementar a solubilidade de fármacos de baixa solubilidade (RIBEIRO et al., 2005).

Frequentemente, a eficiência de complexação de CD é baixa e, conseqüentemente, uma quantidade significativamente alta de CD é exigida, sendo neste sentido inviável para o uso nas formas farmacêuticas sólidas e líquidas do agente complexante (VIEIRA, 2011).

No entanto, a solubilidade do fármaco na presença de CD pode ser dramaticamente melhorada pela adição de um terceiro componente, um polímero hidrossolúvel, resultando na formação de um complexo multicomponente fármaco-CD-polímero (RIBEIRO et al., 2003; VIEIRA, 2011).

Os polímeros são conhecidos por interagir com CD aumentando a disponibilidade de fármacos em soluções aquosas, no entanto o mecanismo pelo qual a eficiência de complexação das CD é aumentada na presença dos polímeros hidrossolúveis não está totalmente esclarecido (VALERO; CARRILLO; RODRÍGUEZ, 2003; VIEIRA, 2011). Alguns autores sugerem um mecanismo por sinergismo onde a CD é considerada como agente complexante e o polímero como agente co-complexante (LOFTSSON; FRIARINKSDOTTIR, 1998).

A utilização de DS tem sido o foco de muitos estudos, como já descrito acima, no entanto existem algumas situações que limitam seus benefícios. O principal problema com esta abordagem é que a forma amorfa é termodinamicamente instável (SHARMA; JAIN, 2011). Em certas DS, o fármaco amorfo tende a recrystalizar em armazenamento, desta maneira tais DS amorfas instáveis podem tornar-se estáveis mediante a incorporação de um terceiro polímero (AL-OBAIDI et al., 2011), também chamados de DS ternárias.

Os sistemas multicomponentes termodinamicamente são vantajosos devido à presença de fortes interações intermoleculares (ligações de hidrogênio, interações íon-íon e íon-dipolo) na estabilização do seu estado amorfo. A adição de outro polímero, CD ou excipientes funcionais (surfactantes, ácidos e bases orgânicas) na obtenção do

sistema multicomponente pode também aumentar o desempenho das DS, tais como a taxa de dissolução e/ou processabilidade (YUSHEN; SHALAEV; SMITH, 2013).

Segundo Sakurai et al. (2012), incorporando dois polímeros diferentes aumenta tanto estabilidade física do ativo como a absorção oral de fármacos pouco solúveis em água com baixa temperatura de transição vítrea, em comparação com o uso de um polímero apenas.

Os parâmetros físico-químicos como solubilidade, energia da ligação de hidrogênio, LogP, pKa e a Tg da dispersão podem ser usados como fatores termodinâmicos e cinéticos para examinar as suas influências na miscibilidade e na estabilidade física dos sistemas amorfos (TELANG; MUJUMDAR; MATHEW, 2009).

Shankar e Chowdary (2013) avaliou o aumento da taxa de solubilidade e dissolução do EFZ utilizando o sistema de multicomponentes, com a combinação da β CD juntamente com o surfactante Soluplus® e o polímero PVP K30, observando os principais efeitos individuais e combinados. O complexo do ativo com β CD mostrou um aumento de 2,14 vezes na solubilidade do EFZ, e a obtenção do sistema multicomponente da β CD com Soluplus® e PVP K30 foi significativamente maior as taxas de dissolução e eficiência de dissolução em relação à β CD sozinho.

Chadha et al. (2012) descreve o efeito do PVP na eficiência de complexação de CDs com o fármaco EFZ, pela determinação da entalpia gerada pela interação do EFZ com CDs na presença e na ausência de PVP. Na obtenção do sistema ternário 0,20% PVP foi adicionado a uma solução de EFZ e de CDs em água, a mistura foi então autoclavada a 120°C durante meia hora e posteriormente liofilizadas a -80°C. Nos resultados observa-se que os valores das constantes de estabilidade dos complexos de inclusão utilizando a M β CD, HP β CD e a β CD foram aumentados na presença do polímero PVP, destacando o maior aumento de solubilidade e taxa de dissolução para o EFZ no sistema multicomponente ternário com a M β CD.

Yogananda e Chowdary (2013) investigou a melhoria da solubilidade, taxa de dissolução e biodisponibilidade do EFZ pelo uso de CDs como a β CD e HP β CD no sistema multicomponente ternário com o surfactante solutol HS₁₅. Evidenciaram claramente que a combinação do solutol HS₁₅ com as CDs (tanto a β CD como a HP β CD) resultaram numa melhoria muito maior na taxa de solubilidade e de dissolução do EFZ do que eles sozinhos. O multicomponente β CD- solutol HS₁₅ teve um maior aumento, sendo de 54,43 vezes na solubilidade e 5,95 vezes na taxa de dissolução. Na avaliação da farmacocinética e da biodisponibilidade no estudo *in vivo* foi verificado um

aumento de 4,92 vezes na taxa de absorção e de 1,85 vezes na biodisponibilidade (AUC) quando comparado ao fármaco puro.

Chowdary e Naresh (2011) avaliaram os efeitos individuais e combinados da HP β CD, PVP K30 e do surfactante LSS no melhoramento da solubilidade do EFZ. A sua solubilidade foi marcadamente aumentada por HP β CD (2,95 vezes), PVP K30 (49 vezes) e LSS (226,96 vezes) individualmente. Enquanto que na associação da HP β CD com o PVP K30 e LSS observou-se um aumento de 4,05 e 387,63 vezes, respectivamente.

Chowdary e Devi (2012), avaliaram a possibilidade da formulação dos multicomponentes EFZ/ β CD/PVP K30 e EFZ/HP β CD/PVP K30 em comprimidos, assim como avaliou a influência das CDs (β CD e HP β CD) e do polímero PVP K30 na taxa de dissolução dos comprimidos de EFZ. Os comprimidos foram obtidos pelos métodos de granulação úmida e compressão direta contendo 50mg de EFZ e os multicomponentes foram preparados por MX. Na avaliação dos resultados, os comprimidos obtidos por compressão direta apresentaram melhores tempos de desintegração quando comparados ao método de granulação úmida, assim como as formulações utilizando β CD quando comparadas as contendo HP β CD. Porém, na avaliação da taxa de dissolução, observou-se que ambos os métodos e ambas CDs associadas ao PVP K30 demonstraram um incremento de solubilidade aos comprimidos de EFZ comparado aos comprimidos com o ativo apenas ou utilizando o PVP sozinho (CHOWDARY; DEVI, 2012).

3.5.4 Sistemas particulados (Micro/nano)

A nanotecnologia vem ganhando espaço globalmente na obtenção de novos sistemas carreadores para o melhoramento de biodisponibilidade de fármacos com baixa solubilidade aquosa. O tamanho nanométrico destes sistemas veiculares permite passagem eficiente pelas barreiras biológicas, melhorando a tolerância do tecido, a absorção e o transporte celulares, permitindo, assim, o fornecimento eficaz dos agentes terapêuticos aos sítios alvo (GUPTA; JAIN, 2010).

Madhusudhan et al. (2012) prepararam nanopartículas sólidas de lípidos de liberação controlada (SLN) com glicerilmonostearato (GMS), por método de emulsificação de solvente seguido de evaporação, considerado um método simples, confiável e reprodutível. Foi observado um tamanho de partícula de $85,55 \pm 0,8$ nm, o

potencial zeta de $-24,44 \pm (0,4)$ mV, eficiência de encapsulação de $92 \pm 9,7\%$ e a microscopia confirmou a não esfericidade das nanopartículas. Estudos de compatibilidade foram realizados usando IV e DSC. Após a formação do SLN os espectros de IV mostraram os picos de GMS e EFZ não alterados indicando que não existe qualquer interação química entre eles. A curva DSC do EFZ não mostrou o pico de fusão indicando que o EFZ não está no estado cristalino, mas está em estado amorfo, fato confirmado também pela DRX. O estudo de dissolução *in vitro* mostrou um comportamento de liberação controlada. O fármaco foi liberado cerca de 36% nas primeiras 2 horas, podendo estar relacionada a presença de EFZ livre e na superfície das nanopartículas e o prolongamento da concentração devido a uma distribuição homogênea do fármaco dentro da matriz de lipídios.

Chiappetta et al. (2010) encapsularam EFZ em micelas poliméricas dos copolímeros, poli (óxido de etileno) e poli (óxido de propileno) (PEO-PPO) lineares e ramificados. Estes são considerados polímeros em blocos amplamente investigados e aprovados pelo FDA e EMEA para utilização em produtos farmacêuticos ou dispositivos médicos. A escolha da concentração e dos polímeros foi baseada no peso molecular, equilíbrio hidrofílico-lipofílico e concentração micelar crítica. Desta maneira foi selecionada a concentração de 10% para os polímeros T1307 (polixamina) e F127 (polixamer) para a obtenção dos sistemas micelares que promoveram a melhor solubilização do EFZ. Os autores demonstraram que a solubilidade aumentou de 4 ug/ml para mais de 20 mg/ml nos sistemas micelares. Estas melhorias representam até 5365 vezes maior solubilidade. As micelas apresentaram-se com tamanhos semelhantes, cerca de 25nm, e a microscopia confirmou a morfologia esférica.

Ainda em 2010, Chiappetta et al. realizaram uma N-metilação e N-alquilação destes polímeros com o objetivo de modificar a interação fármaco-polímero e com isso modular a liberação do fármaco. Os sistemas N-metilados mostraram um aumento na liberação do fármaco de 48% em 24h em comparação com o polímero puro (36%), representando um aumento na solubilidade aquosa do fármaco de 0,004 mg / mL a aproximadamente 30 mg/ml. Estes resultados sugerem um mecanismo de liberação imediata, pois uma vez incorporado grupos N-alquil à estrutura, favorece a desmontagem das micelas e enfraquece a interação fármaco/polímero, não comprometendo significativamente a capacidade de carga de fármaco.

Chiappetta et al. (2011) avaliaram a farmacocinética oral das micelas de EFZ já previamente obtidas pelo grupo em 2010 e compararam com a formulação pediátrica

disponível (solução obtida com veículo oleoso). Os estudos indicaram que o EFZ exibe uma farmacocinética não-linear. Este comportamento foi atribuído à saturação do metabolismo, o atraso do esvaziamento gástrico e a absorção prolongada provocada pelo EFZ. Os resultados mostraram aumento significativo na taxa de absorção, como por exemplo, os valores de C_{max}, nas três diferentes doses administradas (entre 20 e 80 mg / kg), foi igual a 687, 1789 e 2657 ng/ml para o sistema oleoso e aumentou para 1145, 2856 e 7056 ng/ml, quando o sistema micelar foi administrado.

Dutta et al. (2007), a fim de promover o direcionamento de EFZ para monócitos e macrófagos, desenvolveram e caracterizaram dendrímeros a partir de polipropilenimina (PPI), bem como seus conjugados com t-Boc-glicina e manose. Verificou-se que a eficácia de encapsulação do dendrímero conjugado com manose foi igual a 47,4%, seguido pelo dendrímero-PPI (32,15%) e, por último, o dendrímero conjugado com a t-Boc-glicina (23,1%). Enquanto que o dendrímero-PPI libera o EFZ por um período de 24h, os seus conjugados conseguiram prolongar a liberação do fármaco em até 144 horas (83% e 91% para os dendrímeros conjugados a t-Boc-glicina e manose, respectivamente). Verificou-se que houve um aumento na absorção celular do EFZ quando o dendrímero conjugado com manose foi administrado, sendo 12 vezes maior do que a do fármaco livre e 5,5 vezes mais elevada do que o dendrímero-PPI conjugado com t-Boc-glicina. Curiosamente, a atividade hemolítica e citotóxica dendrímero-PPI foi muito elevada, enquanto que a citotoxicidade dos dendrímeros modificados foi considerada insignificante.

Costa et al. (2013) desenvolveram e caracterizaram sistemas coprocessados de EFZ com LSS e PVP K-30, a partir da técnica de co-micronização, em diferentes proporções, para facilitar a molhagem e, conseqüentemente, sua dissolução. Os perfis de dissolução obtidos para o sistema contendo EFZ e LSS na proporção (1:0,25) provaram ser superiores aos do co-micronizado contendo PVP. As melhorias podem ser explicadas pela hipótese de que a formação de uma camada hidrofílica na superfície do fármaco micronizado aumenta a molhabilidade do sistema formado, corroborado pelos resultados de caracterização que indicaram que não houve perda de cristalinidade e ausência de interação ao nível molecular.

Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 PARTE I: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS COM O EFZ

4.1.1 Matérias-primas e Solventes

Efavirenz (Cristália®, lote: 1289/07), (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona, doado pelo LAFEPE, com pureza estimada, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, de teor 98 %. Os polímeros utilizados foram: PVP-K30 (ISO do Brasil®, lote 05500138511V06/08), Soluplus (BASF, lote: 84414368E0), PVPVA-64 (BASF, lote: 62416609T0)®, HPMCAS (SHIN-ETSU CHEMICAL, lote: 9123308).

Também foi utilizado álcool metílico (Vetec, lote: 1103372), acetonitrila (J.T. Baker, lote: L10C70), álcool etílico absoluto (Vetec, lote: 1002744) e água purificada obtida pelo sistema de osmose reversa (Gehaka®).

4.1.2 Desenvolvimento de Dispersões Sólidas (DS)

As propriedades finais de um sistema de DS são influenciadas pelas propriedades físico-químicas tanto do fármaco quanto do polímero (SHAH et al., 2012). Desta forma, inicialmente, realizou-se a escolha do carreador a ser utilizado. Para isto, analisaram-se diferentes critérios, tais como:

- **Temperatura de transição vítrea do polímero:** polímeros que apresentam elevadas temperatura de transição vítrea (T_g) foram escolhidos, já que estes aumentam T_g da mistura miscível, favorecendo a redução da mobilidade molecular do sistema e, conseqüentemente, ao aumento da estabilidade da forma amorfa do fármaco (JANSSENS; MOOTER, 2009; TEJA et al., 2013).
- **Interação com o fármaco:** interações intra e intermoleculares do tipo ligações de hidrogênio podem impactar significativamente na estabilidade de DS amorfas (BALANI et al., 2010). Desta forma, realizou-se um estudo teórico da presença

de possíveis grupos doadores e aceptores de hidrogênio nos polímeros a serem estudados.

- **Miscibilidade entre o EFZ e o polímero:** no final do processo de produção das DS obtiveram-se filmes. Desta forma, a miscibilidade foi verificada, por inspeção visual, a partir da transparência e homogeneidade dos mesmos. Miscibilidade consiste de uma única fase homogênea em que todos os componentes são misturados a nível molecular e as propriedades das misturas são diferentes das dos compostos puros (BAIRD; TAYLOR, 2012). É considerada de extrema importância no que diz respeito à estabilidade de formulações farmacêuticas amorfas, já que a imiscibilidade pode favorecer a formação de domínios de recristalização do fármaco e, conseqüentemente, diminuir a estabilidade física da formulação (DINUNZIO et al., 2008).

A escolha do método de obtenção das DS partiu da análise de qual dos métodos é o mais consolidado na indústria e na literatura.

Posteriormente, a escolha das concentrações do fármaco e dos carreadores nas dispersões foi realizada. Procurou-se obter DS que apresentassem o fármaco na sua forma amorfa ou menos cristalina; para isto, à medida que as DS eram obtidas, as mesmas eram analisadas por difração de raios-X (DRX).

DS são mais estáveis quanto maior a quantidade de polímero presente na formulação (BAIRD; TAYLOR, 2012; JANSSENS; MOOTER, 2009). Partindo deste princípio, preparou-se, inicialmente, DS contendo 10% de fármaco e, em seguida, aumentou-se a sua concentração até que o difratograma apresentasse indícios da presença de EFZ na sua forma cristalina. A partir deste momento, não se produziria DS com concentração maior de fármaco.

A melhor formulação entre as DS obtidas foi selecionada através do teste de dissolução *in vitro*. Por fim, o sistema carreador-fármaco escolhido, em todas as proporções obtidas, foi analisado química e fisicamente através das seguintes técnicas: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Microscopia de Polarização, Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV). A análise também foi realizada com os compostos isolados e suas respectivas MF.

4.1.3 Obtenção das misturas físicas (MF)

EFZ e os polímeros (Soluplus, PVPVA 64, PVP-K30 e HPMCAS) foram precisamente pesados de forma a garantir uma proporção de 10%, 20%, 50% e 80% de fármaco (p/p). As MF foram obtidas com auxílio de gral de porcelana, pistilo e uma pequena quantidade de nitrogênio líquido, utilizando o método de diluição geométrica, de forma a garantir a homogeneidade do produto, com posterior tamisação em malha de 425 μm para uniformização do tamanho das partículas. As MF foram acondicionadas em frascos-ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador sob vácuo e umidade controlada.

4.1.4 Obtenção das Dispersões Sólidas (DS)

As DS binárias com Soluplus, PVPVA 64, PVP-K30 e HPMCAS, nas mesmas proporções utilizadas na preparação das MF, foram obtidas utilizando o método do solvente. O EFZ e os respectivos polímeros, nas devidas proporções, foram separadamente dissolvidos, sendo utilizado 2 ml de acetonitrila e 10 ml de metanol para a solubilização do EFZ e 10 ml de metanol para a solubilização do carreador. A solução contendo EFZ foi vertida na solução contendo o polímero e posteriormente a mistura foi mantida durante 15 minutos no ultrassom. A solução com o carreador e o fármaco foi vertida em um recipiente de silicone e o solvente foi removido completamente por evaporação a $60 \pm 5^\circ\text{C}$ sob pressão normal em estufa Fabbe-Primar por 4 horas.

O filme obtido com cada DS foi pulverizado com auxílio de gral de porcelana, pistilo e uma pequena quantidade de nitrogênio líquido para facilitar o processo de pulverização além de, evitar a indução da cristalização do fármaco devido ao calor. As DS resultantes foram tamisadas em malha de 425 μm , acondicionadas em frascos-ampola hermeticamente fechados e armazenadas em dessecador sob vácuo com umidade controlada.

4.1.5 Escolha da Concentração do Fármaco e do Carreador

4.1.5.1 Difração de Raios-X (DRX)

Os difratogramas do EFZ, dos polímeros, das MF e das DS foram obtidos no difratômetro SHIMADZU[®] (XRD-7000), equipado com ânodo de cobre. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo de 3-50° a uma velocidade de digitalização de 0,02° por segundo e no difratômetro Miniflex II[®] (Rigaku[®]) com intervalo de ângulo de 2-40° para as DS com o polímero HPMCAS. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de amostra.

4.1.6 Seleção do Melhor Sistema de Dispersão Sólida

4.1.6.1 Teste de Dissolução In Vitro

Os ensaios de dissolução dos compostos isolados, das MF e das DS foram realizados sob temperatura de 37± 0,5 °C, utilizando 250 ml de tampão fosfato pH 6,8 como meio de dissolução, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação 50 rpm, utilizando dissolutor Varian[®] VK 7010.

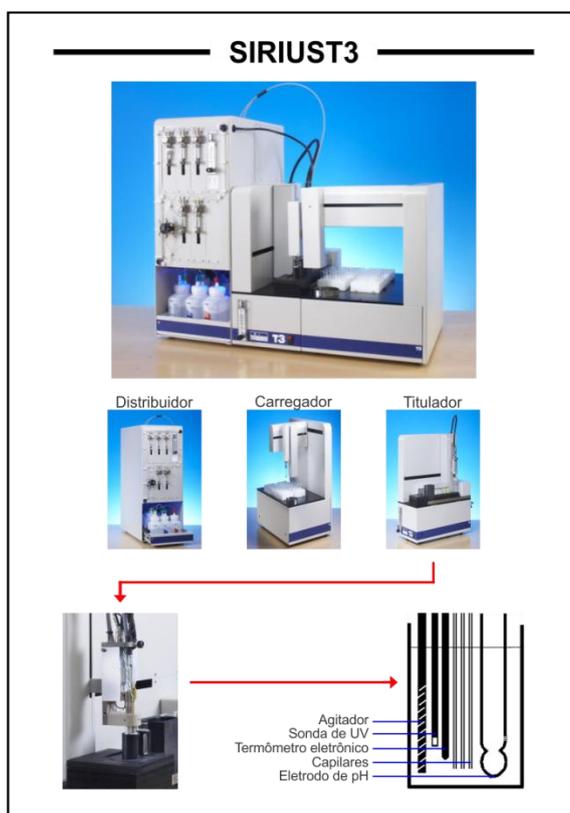
Para esse estudo, foram pesadas quantidades equivalentes a 15 mg de EFZ. Em intervalos de tempo predefinidos de 5, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 min as amostras foram coletadas, filtradas em filtro de membrana 0,45 µm e devidamente diluídas (1:10) para posterior quantificação do EFZ por espectroscopia no UV-vis a 247 nm (Modelo B582, Micronal[®]), utilizando a metodologia previamente validada (ALVES et al., 2010), com alterações. Foi efetuada a reposição do meio de dissolução com o mesmo volume de cada alíquota retirada. Todos os ensaios foram efetuados em triplicata.

Para as DS e as respectivas MF com o polímero HPMCAS utilizou-se o Sirius, uma vez que foi o equipamento disponível no laboratório Ping I. Lee Research Group, onde este projeto teve parte do trabalho desenvolvido em parceria com a Universidade de Toronto. Para isso, quantidades equivalentes a 5 mg de EFZ das DS HPMCAS – EFZ, DS PVP VA-64 EFZ 10% e suas respectivas MF foram cuidadosamente pesados e colocados em tubo de dissolução. O ensaio foi realizado à temperatura de 25°C, utilizando cerca de 15 mL do mesmo tampão fosfato pH 6,8. Em intervalos pré-determinados de 1

minuto, durante 2 horas, foi realizada a leitura da absorvância da amostra através da sonda de UV acoplada ao equipamento. O ensaio foi efetuado em triplicata. Os perfis de dissolução foram avaliados e comparados utilizando o parâmetro de área sob a curva (AUC).

Este equipamento (Figura 4) consiste de três módulos: distribuidor, titulador e carregador automático. O distribuidor comporta os reagentes (água, solventes, co-solventes e agentes titulantes). O titulador consiste de eletrodo de pH, sonda de imersão de fibra óptica UV, agitador, sensor de temperatura e capilares para adição de reagentes. Na parte frontal do titulador, encontra-se a posição da amostra, onde a temperatura é controlada por um dispositivo de *Peltier* (totalmente controlado pelo computador), e há um dispositivo de detecção de turbidez. O carregador automático possui um braço robótico que recolhe e move automaticamente os frascos com as amostras para o titulador (Sirius[®], 2013).

Figura 4: Equipamento *SiriusT3*[®] e seus 3 módulos. Em detalhe, o eletrodo de pH, o termômetro eletrônico, o agitador, a sonda de imersão de fibra óptica e os capilares contidos neste equipamento



Fonte: Figura adaptada de Sirius[®], 2013.

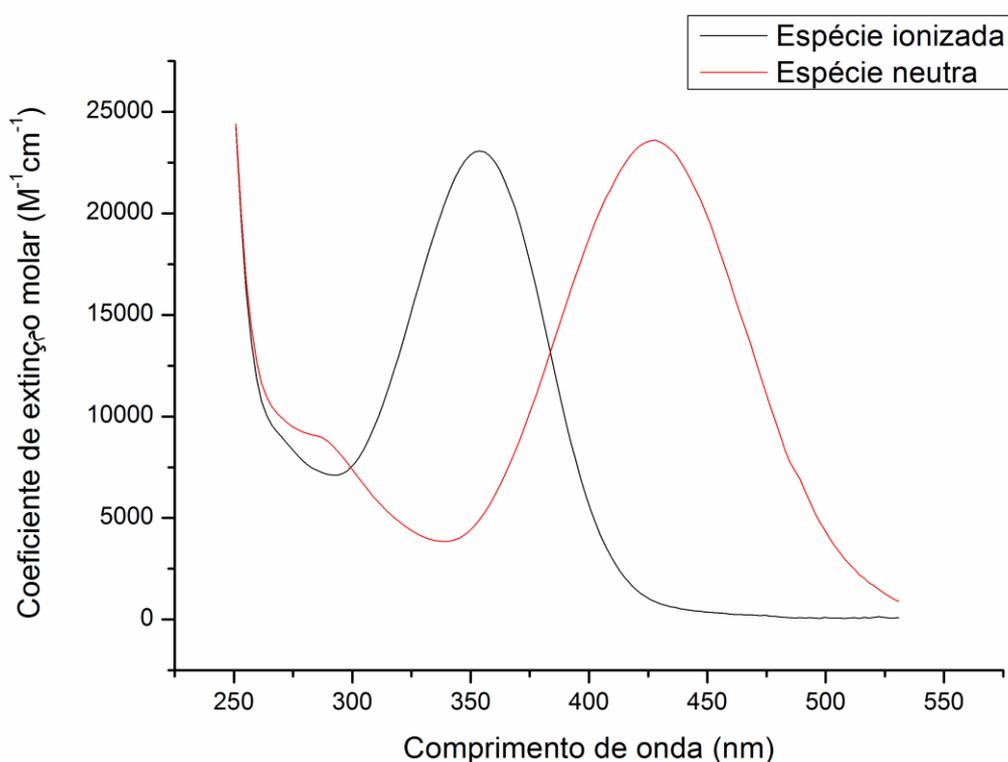
O coeficiente de extinção molar (CEM) de um composto é a magnitude da absorvância em um determinado comprimento de onda de uma concentração específica de acordo com a Lei de Beer-Lambert:

$$A = \epsilon Cl \quad (1)$$

Onde A é a absorvância, ϵ é o coeficiente de extinção molar ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), C é a concentração ($mol \cdot L^{-1}$) e l é o comprimento do trajeto da luz (cm).

A média de coeficientes de extinção molar (figura 5) pôde ser calculada através do estudo de determinação espectrofotométrica do pK_a do EFZ. De posse dessa informação, a aplicação da equação 3 pelo software *SiriusT3Control* permitiu a quantificação do composto em solução à medida que o mesmo se dissolveu durante o estudo de dissolução.

Figura 5 - Média de coeficientes de extinção molar de ambas as espécies (ionizada BH^+ e neutra B) do EFZ em solução.



4.1.7 Análise Físico-Química dos Sistemas Selecionados

4.1.7.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em Calorímetro de Varredura Setaram Labsys Evo – TG-DSC 1600°C interligado ao software Calisto Acquisition com atmosfera de argônio e razão de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura de 25-500°C e o Calorímetro de Varredura DSC Q200[®] (TA instruments[®]), interligado ao software TA60[®] versão 2.20 (TA instruments[®]) nas mesmas condições supracitadas. Utilizou-se porta amostra de alumina e massa de amostra equivalente a 10 mg ± 0,2. Índio e Zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

4.1.7.2 Microscopia de Luz Polarizada

As propriedades da luz polarizada das amostras do EFZ, dos carreadores, das MF e das DS obtidas foram avaliadas com auxílio de microscópio polarizador Olympus BX51, presente no Laboratório de Gemologia do Departamento de Geologia da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Os carreadores e todas as amostras das DS foram analisados na forma de filme a fim de facilitar a visualização de cristais do EFZ. Este e as MF não sofreram alterações, sendo visualizados na forma de pó.

A mesma ampliação foi mantida para a análise de todas as amostras. A fim de comprovar a anisotropia ou isotropia das DS, utilizou-se um filme anizotrópico como referência.

4.1.7.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras dos compostos isolados, das MF e das DS foram montadas em suporte de cobre (stub) e fixadas em fita de carbono dupla face. Devido à característica isolante dos materiais foi necessário realizar metalização sob vácuo com a deposição de uma fina camada de ouro em equipamento BAL-TEC[®] modelo SCD e, desta forma, possibilitar uma melhor condução dos elétrons, proporcionando uma melhor caracterização das amostras. A morfologia das amostras foi verificada em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol[®] JSM-5900, e um microscópio JEOL JSM-6610-LV

equipado com um detector Oxford/SDD EDS e um processador IXRF com um Metalizador SCD500. As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 15 KV.

4.1.7.4 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV)

O espectro de IV foi obtido utilizando o equipamento PerkinElmer® (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) (Miracle ATR, Pike Technologies Spectroscopic Creativity) com cristal de selênio. As amostras a serem analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR. As micrografias foram obtidas de 650 a 4000 cm^{-1} com de resolução de 4 cm^{-1} .

4.1.8. Cinética de liberação *in vitro* pelo método de membrana de diálise

A cinética de liberação do EFZ e da DS PVP VA-64 EFZ 10% foi realizada utilizando a técnica de saco de diálise (membrana de celulose 12.400 MW, Sartorius, Alemanha). Para este efeito, as condições de imersão e quantificação foram estabelecidas de acordo com os estudos de dissolução *in vitro* (item 4.1.6.1). Uma quantidade de 15 mg referente a EFZ foi transferida ao saco de diálise, que foi selado e imersa em frascos contendo 250 ml de solução tampão fosfato (pH 6,8). O sistema de liberação foi mantida sob banho maria e agitação de 100 rpm a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Alíquota de 5 ml do meio foi retirado e substituído com o mesmo volume do meio. Os resultados são expressos como a percentagem de droga liberada em função do tempo e os valores representam a média \pm desvio padrão (DP) de três repetições do ensaio (D'SOUZA, 2014; CADENA et al., 2013).

4.1.9. Estudo de estabilidade

As amostras das dispersões sólidas foram acondicionadas em câmara climática qualificada para estudo de estabilidade acelerada de acordo com as especificações do *International Conference on Harmonisation (ICH)* ($40^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C} / 75\% \text{ UR} \pm 5\% \text{ UR}$). As dispersões sólidas foram examinadas periodicamente para verificar as mudanças físicas causadas pelas condições de armazenamento e foram, também, analisadas através de difração de raios-X para determinar o início da conversão da forma amorfa para a forma cristalina do EFZ.

4.2 PARTE II: CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE ESTABILIDADE TÉRMICA DO EFAVIRENZ E DA DISPERSÃO SÓLIDA COM PVPVA 64 POR ANÁLISE TÉRMICA E PIRÓLISE ACOPLADA A CG/MS

4.2.1 Matérias-primas e Solventes

Efavirenz (Cristália®, lote: 1289/07), (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona, doado pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE), com pureza estimada, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, de teor 98 %. A matéria-prima PVPVA-64 (Kollidon, lote: 62416609T0)® foi cedida pela BASF®.

Também foram utilizados álcool metílico (Vetec, lote: 1103372), acetonitrila (J.T. Baker, lote: L10C70), álcool etílico absoluto (Vetec, lote: 1002744) e água obtida pelo sistema de osmose reversa (Gehaka®).

4.2.2 Obtenção das Dispersões Sólidas (DS)

As quantidades de EFZ (10%) e do polímero PVPVA 64 foram cuidadosamente pesadas e, nas devidas proporções, foram separadamente dissolvidos, sendo utilizado 2 ml de acetonitrila e 10 ml de metanol para a solubilização do EFZ e 10 ml de metanol para a solubilização do PVPVA 64. A solução contendo EFZ foi vertida na solução contendo o polímero e posteriormente a mistura foi mantida durante 15 minutos no ultrassom. A solução com o carreador e o fármaco foi vertida em um recipiente de silicone e o solvente foi removido completamente por evaporação a $60 \pm 5^\circ\text{C}$ sob pressão normal em estufa Fabbe-Primar por 4 horas.

O filme obtido foi pulverizado com auxílio de gral de porcelana, pistilo e uma pequena quantidade de nitrogênio líquido para facilitar o processo de pulverização além de, evitar a indução da cristalização do fármaco devido ao calor. As DS resultantes foram tamisadas em malha de 425 μm , acondicionadas em frascos-ampola hermeticamente fechados e armazenadas em dessecador sob vácuo com umidade controlada.

4.2.3 Análise Térmica

4.2.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas em Calorímetro de Varredura Setaram Labsys Evo – TG-DSC 1600°C interligado ao software Calisto Acquisition com atmosfera de argônio e razão de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura de 25-500°C. Utilizou-se porta amostra de alumina e massa de amostra equivalente a 10 mg ± 0,2. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e Zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

4.2.3.2 Termogravimetria (TG)

A caracterização termoanalítica através de TG foi realizada em triplicata por meio de termobalança, modelo TGA Q60 da marca Shimadzu®, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 1 mg (± 0.5) de EFZ, acondicionadas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 25-600 °C e razão de aquecimento de 10°C/min. Antes do início dos experimentos, foi realizada a limpeza do equipamento, obtenção do branco e a verificação da normalidade do equipamento procedendo a corrida prévia do padrão de oxalato de cálcio monoidratado, conforme norma ASTM E1582-93 (The American Society for Testing and Materials, 1993) (ARAÚJO et al., 2006; STORPITS et al., 2009; KLANCNIK et al., 2010).

4.2.4 Pirólise – CG/MS

Os estudos de pirólise foram conduzidos no pirolisador acoplado a um cromatógrafo gasoso da Universidade Federal da Paraíba (UFPB) (Shimadzu, GC/MS - QP5050A) diretamente ligado a um espectrômetro de massa usando elétrons como fonte de ionização. A amostra do EFZ no estado sólido foi colocada em um cadinho de platina e introduzida no pirolisador para cada grupo de experimento, que apresentou temperaturas isotérmicas iguais a 270, 400 e 500°C.

A fragmentação foi realizada pelo impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. O espectrômetro foi operado no modo de varredura, varrendo na faixa de 50-600 m/z. A temperatura da fonte iônica foi de 300°C. A separação dos fragmentos foi realizada utilizando um coluna capilar com fase estacionária de

fenil:dimetilpolisiloxano (5:95), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 mm de tamanho de partícula. A temperatura da coluna foi programada para uma taxa de aquecimento de $15^{\circ}\text{C min}^{-1}$ até a temperatura final de 280°C . Gás hélio foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de $1,0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. A identificação dos compostos foi realizada comparando os espectros de massa obtidos com a biblioteca Wiley/NBS (MOURA et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2011; BOER et al., 2013)

4.2.5 DSC foto-visual

Os estudos de DSC foram realizados com um calorímetro modelo DSC-50 Shimadzu numa atmosfera de nitrogênio a um fluxo de $50,0\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, a uma taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, até 500°C . O DSC foi acoplado a um sistema fotovisual envolvendo um Microscópio Olympus ligado a uma Câmera Sanyo modelo VCC-D520, uma imagem de alta resolução. As amostras (2 mg) foram colocadas num suporte de amostras em alumínio, em seguida, o mesmo foi selado hermeticamente. A temperatura e fluxo de calor do instrumento DSC foram calibrados pelo ponto de fusão e entalpia dos padrões de índio e zinco (MACÊDO; NASCIMENTO, 2001; SILVA et al., 2009).

4.2.6 Cinética de degradação térmica

A determinação dos parâmetros cinéticos por TG pode ser realizada pelos métodos isotérmico e dinâmico. A investigação cinética de degradação não isotérmica da DS PVPVA 64 – EFZ 10% foi obtida a partir dos dados de TG pela aplicação do método de Ozawa. Para a realização do experimento, amostras (~10 mg) foram colocadas em cadinhos de alumínio e aquecidas a uma faixa de temperatura entre $30\text{--}600^{\circ}\text{C}$, a taxas de aquecimento iguais a $7,5$, 10 e $15^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (N_2) com fluxo igual a $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (COSTA et al., 2013; VIANA et al., 2008).

Para o estudo cinético isotérmico, as curvas TG foram obtidas a partir do aquecimento das amostras até as temperaturas de 245 , 250 , 255 , 260 e 265°C , e mantidas em condições isotérmicas sob atmosfera de N_2 (50 mL min^{-1}) durante o tempo necessário para uma perda de massa igual a $10\% \pm 0,5$ em cadinhos de alumínio com aproximadamente 10 mg de amostras.

O procedimento de aquecimento foi realizado conforme descrito na tabela 1, visando atingir a temperatura de trabalho em menor tempo. Desta forma, a amostra foi aquecida até 200°C a uma razão de 20°C/min, posteriormente foi aquecida a uma razão de 10°C/min até 20°C abaixo da temperatura da isoterma (T_{iso}) desejada, ao atingir esta temperatura isotérmica de trabalho permaneceu por 170 min (PEREIRA, 2013).

Tabela 1 - Programa de aquecimento para obtenção das curvas termogravimétricas isotérmicas.

Razão (°C/min)	Temperatura (°C)	Tempo (min)
20	200	0
10	(T_{iso} *desejada) – 20	0
2	T_{iso}	170

Fonte: autoria própria

4.2.7 Modelos matemáticos isoconvencionais empregados no estudo cinético de decomposição térmica

Com base nos dados obtidos através das curvas TG/DTG é possível estudar o processo de decomposição térmica de um material, com a determinação da tríplice cinética das substâncias sólidas, também conhecida como a tríplice de Arrhenius. O conhecimento detalhado deste processo é importante tendo em vista que, permite o calculo dos parâmetros termodinâmicos, da estabilidade térmica no tocante ao prazo de validade do produto desenvolvido, além, de aferir quais são as condições de temperatura mais adequadas em processos de estocagem de produtos desenvolvidos.

A variação de massa em função do tempo e temperatura observada em uma análise termogravimétrica é denominada de fração de conversão de massa (KHAWAM; FLANAGAN, 2006) e pode ser determinação pela Equação (01):

$$\alpha = \frac{m_0 - m_t}{m_0 - m_f} \times 100 \quad (2)$$

Onde m_0 é a massa inicial, m_t é a massa em um determinado tempo ou temperatura de reação e m_f é a massa no final.

Em condições dinâmicas ou não-isotérmicas, a fração do processo de conversão de massa ($d\alpha/dt$) pode ser representada como uma função linear da variação de massa

em função do tempo, e independe da temperatura, podendo ser expressa pela equação 02 (BROWN, 2001):

$$d\alpha/dt = k \cdot f(\alpha) \quad (3)$$

Onde α é a fração de conversão de massa, k é a constante de proporcionalidade dada pela expressão empírica de Arrhenius, escrita sob a forma da equação (3), e $f(\alpha)$ é a função de conversão de massa que fornece informações do modo como o processo de degradação ocorre (BROWN, 2001).

$$k = A \exp - \frac{E_a}{RT} \quad (4)$$

O perfil cinético de degradação térmica, na equação 3, A representa o número de colisões totais entre as moléculas e E_a é a energia de ativação necessária para romper um mol de ligações entre os átomos das moléculas. Os parâmetros T e R são, respectivamente, a temperatura absoluta (Kelvin) e a constante dos gases ideais (8,31451 J/mol K).

Assim as equações (2) e (3) podem ser reescritas sob a forma da Equação 4:

$$\frac{d\alpha}{dT} \beta = A \left(\exp - \frac{E}{RT} \right) f(\alpha) \quad (5)$$

A partir da equação de taxa básica (4) foram desenvolvidos os diversos métodos para o estudo do perfil cinético de degradação térmica dos materiais para a obtenção dos parâmetros que capazes de descrever esse processo. Sendo que a resolução da Equação (4) pode ser realizada por meio de aproximações diferenciais ou integrais. Dentre os métodos integrais mais utilizados na estimativa de parâmetros cinéticos, destacam-se os métodos do tipo “Model Free Analysis”: como o de Friedman, de Kissinger-Akahira-Sunose e Flynn-Wall-Ozawa (JANKOVIC et al., 2008; TITA et al., 2013) .

4.2.7.1 Modelos do tipo “MODEL FREE ANALYSIS”

4.2.7.1.1 Método Kissinger-Akahira-Sunose (KAS)

Este modelo (KISSINGER, 1957; AKAHIRA, 1971) pode ser obtido através da derivatização da equação (4) com aplicação de logaritmos e rearranjada como se segue:

$$\frac{dx}{f(x)} = \frac{A}{\beta} \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) dT \quad (6)$$

Essa equação pode ser integrada a partir da condição inicial de $x = 0$ em $T = T_0$ para obter a seguinte expressão:

$$g(x) = \int_0^x \frac{dx}{f(x)} = \frac{A}{\beta} \int_{T_0}^T \exp\left(-\frac{E}{RT}\right) dT = \frac{AE}{\beta R} p\left(\frac{E}{RT}\right) \quad (7)$$

Partindo do pressuposto que A , $f(x)$ e E , são independentes da T , enquanto A e E são independente de x . O método KAS baseia-se na aproximação de Coats-Redfern e na seguinte relação:

$$\ln \frac{\beta}{T^2} = \ln \frac{AR}{Eg(x)} - \frac{E}{RT} \quad (8)$$

Dessa forma, a partir do gráfico $\ln \beta / T^2$ vs $1/T$ podemos determinar a energia de ativação através do coeficiente angular.

4.2.7.1.2 Método de Friedman (FD)

Este é um modelo isoconversional diferencial (FRIEDMAN, 1965) que pode ser obtido a partir da aplicação do logaritmo na equação (4):

$$\ln \left(\frac{dx}{dt} \right) = \ln \left(\beta \frac{dx}{dT} \right) = \ln[Af(x)] - \frac{E}{RT} \quad (9)$$

A partir desta equação pode obter os valores da energia de ativação a partir do coeficiente angular do gráfico $\ln(\beta/dx/dT)$ vs $1/T$ para o valor da constante de x .

4.2.7.1.3 Método Flynn, Wall e Ozawa (FWO)

Este método (FLYNN, WALL, 1996; OZAWA, 1965) foi proposto de forma independente por Flynn, Wall e Ozawa com o uso da a aproximação de Doyle:

$$p(x) = \exp(-0,4567 \cdot x - 2,315) \quad (10)$$

Com a integração da equação (4) podemos reorganizar a equação da seguinte forma:

$$\log \beta = \log \frac{AE_a}{Rg(\alpha)} - 2.315 - 0.4567 \frac{E_a}{RT} \quad (11)$$

Assim, quando α =constante, o gráfico $\log \beta$ vs $1/T$ obtidos a partir dos termogramas realizados em diferentes razões de aquecimentos, com a obtenção do coeficiente angular, e, assim, o cálculo da energia de ativação.

4.2.7.2 Mecanismo de decomposição

Com o valor da energia de ativação do processo já determinado, o modelo do mecanismo de decomposição pode ser determinado pelo método de Criado (CRIADO et al., 2008). Combinando a equação (1) com a equação (7) podemos obter a seguinte equação:

$$\frac{Z(x)}{Z(0.5)} = \frac{f(x)g(x)}{f(0.5)g(0.5)} = \left(\frac{T_x}{T_{0.5}}\right)^2 \frac{\left(\frac{dx}{dt}\right)_x}{\left(\frac{dx}{dt}\right)_{0.5}} \quad (12)$$

Onde 0.5 refere-se ao grau de conversão em $x = 0.5$.

O lado esquerdo da equação (11) é uma curva teórica reduzida, característico de cada um dos mecanismos de reação, enquanto que o lado direito da equação está associada com a taxa de redução e pode ser obtidos a partir de dados experimentais. Uma comparação de ambos os lados da equação (11) nos diz que o modelo cinético descreve um processo reativo experimental. A tabela 2 indica as expressões algébricas de $f(x)$ e $g(x)$ para os modelos cinéticos utilizados.

Tabela 2 - Modelos cinéticos para avaliação do perfil de decomposição no estado sólido.

Modelo	Forma Diferencial	Forma Integral
<i>Modelos de Nucleação</i>		
Lei das potências (P ₂)	$2\alpha^{1/2}$	$\alpha^{1/2}$
Lei das potências (P ₃)	$3\alpha^{2/3}$	$\alpha^{1/3}$
Lei das potências (P ₄)	$4\alpha^{3/4}$	$\alpha^{1/4}$
Nucleação e crescimento unidimensional Avrami –Erofeyev (A ₂)	$2(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{1/2}$
Nucleação e crescimento unidimensional Avrami –Erofeyev (A ₃)	$3(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{2/3}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{2/3}$
Nucleação e crescimento unidimensional Avrami –Erofeyev (A ₄)	$4(1-\alpha)[- \ln(1-\alpha)]^{3/4}$	$[- \ln(1-\alpha)]^{3/4}$
<i>Modelos de Contração Geométrica</i>		
Contração unidimensional (R ₁)	1	A
Contração de área (R ₂)	$2(1-\alpha)^{1/2}$	$1-(1-\alpha)^{1/2}$
Contração de volume (R ₃)	$3(1-\alpha)^{2/3}$	$1-(1-\alpha)^{1/3}$
<i>Modelos de Difusão</i>		
Difusão unidimensional (D ₁)	$1/(2\alpha)$	α^2
Difusão tridimensional (equação de Jander) (D ₃)	$-[1/\ln(1-\alpha)]$	$((1-\alpha)\ln(1-\alpha))+ \alpha$
Difusão tridimensional (equação de Ginstling-Brounshtein) (D ₄)	$3/[2((1-\alpha)^{-1/3} - 1)]$	$1-(2/3)\alpha - (1-\alpha)^{2/3}$
<i>Modelos de Ordem de Reação</i>		
Ordem zero (F0/R1)	1	A
Primeira ordem (F1)	$(1-\alpha)$	$-\ln(1-\alpha)$
Segunda ordem (F2)	$(1-\alpha)^2$	$[1/(1-\alpha)]-1$
Terceira ordem (F3)	$(1-\alpha)^3$	$(1/2)[(1-\alpha)^{-2}-1]$

Fonte: Adaptado de KHAWAN et al., 2006

4.3 PARTE III: Co-VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS

4.3.1. Matérias-Primas e reagentes

No desenvolvimento do método analítico foi utilizado o EFZ (Cristália®, lote: 1289/07), (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona, doado pelo LAFEPE, com pureza estimada, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, de teor 98%. Álcool etílico absoluto (Vetec, lote: 1002744) e água purificada obtida pelo sistema de osmose reversa (Gehaka®) foram utilizados como solventes para a preparação das amostras e das curvas controle. Todos os solventes empregados foram de grau analítico. Utilizaram-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Satelit®.

4.3.2 Equipamentos

Balança Analítica (Bioprecisa®, modelo FA2104N), Ultrassom 1500 (Barson®), Espectrofotômetro UV-Visível (Micronal®, modelo B-582), forma utilizados no estudo.

4.3.3 Desenvolvimento do Método Analítico

O método foi desenvolvido e validado por Alves e colaboradores (2010).

4.3.4 Preparação das amostras

Foram pesadas, em triplicata, 50 mg do EFZ e diluídos em etanol. Após sonicação durante 10 minutos, as amostras foram aferidas em balão volumétrico obtendo-se uma concentração final de 500 µg/mL. Foram retiradas alíquotas da amostra volumétrica que foram diluídas em solução tampão fosfato pH 6,8 obtendo-se a concentração final de 10µg/mL. As amostras foram lidas no comprimento de onda 247 nm.

4.3.5 Preparação da curva-controle

Foi preparada uma solução mãe de EFZ com o padrão de trabalho em etanol, com posteriores diluições volumétricas utilizando a solução tampão fosfato pH 6,8, para obtenção da curva de calibração com as concentrações de 8, 9, 10, 11 e 12 µg/mL.

4.3.6 Co-Validação do método analítico

O preparo da amostra do método validado demonstrou um impasse: a diluição é realizada com uma solução hidroalcoólica. Tal procedimento pode acarretar um maior número de erros analíticos, tendo em vista que o EFZ será quantificado em uma solução tampão fosfato pH 6,8. No intuito de contornar esse problema foi realizada uma comparação estatística (através de teste *T-student*) entre as duas formas de diluições.

Uma vez desenvolvido, o método foi co-validado seguindo parâmetros de linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção e limite de quantificação de acordo com as normas estabelecidas na *International Conference on Harmonization* (ICH Q2A e ICH Q2B) e a RE 899, de 29 de maio de 2003, da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

A confiabilidade dos parâmetros estudados pode ser observada pelo coeficiente de variação (CV%) ou desvio padrão relativo de uma série de medidas. Para os estudos realizados, foi determinado um coeficiente de variação menor que 5 % (BRASIL, 2003). Para cada parâmetro avaliado foi realizada análise estatística dos resultados obtidos, utilizando a Análise de Variância One-Way e Two-Way e teste t Student.

4.3.6.1 Linearidade

A fim de analisar a capacidade do método em demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito da amostra foi realizada a regressão linear de três curvas autênticas, utilizando ajuste dos dados pelo método dos mínimos quadrados dos pontos médios, em cinco concentrações diferentes: 8, 9, 10, 11 e 12 µg.mL⁻¹. A variação média do estudo foi realizada com intervalo de 80% a 120% da concentração média de EFZ.

4.3.6.2. Limite de detecção (LD) e Limite de quantificação (LQ)

O LD representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada com determinado limite de confiabilidade. Corresponde à concentração que produz um sinal três vezes maior que o nível de ruído médio medido com o branco ou solução controle. O LD foi calculado através da razão entre o desvio padrão dos coeficientes lineares das três curvas de calibração dos ensaios de linearidade e a média dos coeficientes angulares das respectivas curvas multiplicado por 3. Esse mesmo princípio foi utilizado para o cálculo do LQ. Entretanto, foi considerada a razão de 10 vezes a linha de base (LEITE, 1989; SWARTZ & KRULL, 1998; GREEN, 1996; ICH, 1995^b). As duas equações utilizadas estão expostas a seguir (BRASIL, 2003).

$$\text{Limite de Detecção} = \frac{3DP}{a} \quad 13$$

$$\text{Limite de Quantificação} = \frac{10DP}{a} \quad 14$$

4.3.6.3 Precisão

Tal parâmetro corresponde aos critérios de repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Neste trabalho, dois níveis foram avaliados. A repetibilidade (precisão intra-ensaio) corresponde à proximidade estatística entre os resultados de um mesmo grupo de amostras entre si foi realizada por meio do mesmo analista e mesmo equipamento. A precisão intermediária (precisão inter-ensaio) corresponde a concordância dos resultados obtidos no mesmo laboratório, porém em dias diferentes e realizados por diferentes analistas. A repetitividade foi verificada por seis determinações autênticas a 100% da concentração do teste. O mesmo foi utilizado para a precisão intermediária, porém essa foi realizada em diferentes dias por analistas diferentes (Brasil, 2003; ICH, 1995^a; ICH, 1995^b).

4.3.6.4 Exatidão

A semelhança estatística dos resultados obtidos em comparação a valores teóricos padrão foi analisada a partir de amostras de sulfato de EFZ matéria-prima nas concentrações de 50, 100 e 150% da contração de leitura ($10 \mu\text{g.mL}^{-1}$), em triplicata.

Resultados e Discussão

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 PARTE I: DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS COM O EFZ

5.1.1 Escolha do Carreador

Na preparação de DS, muitas substâncias podem ser utilizadas, porém, os polímeros hidrofílicos são os mais citados e utilizados como carreadores de substâncias sólidas para as dispersões (ALVES et al., 2012; PAUDEL et al., 2012). Vários polímeros apresentam os critérios que foram definidos para a escolha do carreador, porém, optou-se por utilizar apenas quatro candidatos neste estudo: PVP-K30, PVPVA 64 (Kollidon), Soluplus e HPMCAS.

Alves (2010) realizou estudos com DS utilizando EFZ e PVP-K30 e, assim, verificou que houve um incremento na taxa de dissolução na dispersão malaxada 4:1 (fármaco:polímero). A fim de verificar se a mudança da técnica de obtenção influenciaria nos resultados, bem como realizar comparações com os outros polímeros estudados, este polímero foi selecionado.

O PVPVA 64 é um copolímero que apresenta a combinação de cadeias de PVP (polivinilpirrolidona) e PVAc (acetato de polivinila) nas proporções 6:4, respectivamente. Por apresentar esta cadeia de PVAc, há maior propensão para realização de ligações de hidrogênio, além de apresentar menor higroscopicidade comparado ao PVP (PAUDEL et al., 2012). Segundo Albers e colaboradores (2009), a presença de água tem uma influência negativa na estabilidade das DS, já que a mesma diminui a Tg do sistema e, assim, facilita a recristalização. Devido à presença destas características, o PVPVA 64, teoricamente, possibilitaria melhores resultados quando comparados ao PVP-K30 e, desta forma, foi considerado um forte candidato na produção de DS.

Soluplus é um copolímero (composto por: polietilenoglicol, polivinilcaprolactama e acetato de polivinila) inovador desenvolvido pela BASF que apresenta tanto grupos hidrofílicos quanto hidrofóbicos, e que, desta forma, aumentam a possibilidade de formação de soluções sólidas bem como garante o incremento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em meio aquoso (HARDUNG; DJURIC; ALI, 2010; SHAH et al., 2013). Apesar de haver poucos trabalhos publicados na literatura,

ele tem se mostrado eficaz em retardar e inibir a cristalização de fármacos quando utilizado para obter DS amorfas, proporcionando aumento da taxa de dissolução, da solubilidade (SHAMMA; BASHA, 2012; LINN et al., 2012; THAKRAL et al., 2012) e da biodisponibilidade (HARDUNG; DJURIC; ALI, 2010). A presença destes fatores contribuiu para a inclusão deste polímero durante a realização deste estudo.

O HPMCAS é um polímero que apresenta uma mistura de ácido acético e ésteres de ácido monosuccínico em diferentes proporções ligados a cadeia de hidroxipropilmetilcelulose. Este material foi desenvolvido para revestimento entérico e preparação de formulações de libertação prolongada (Shin-Etsu, 2005; Ashland, 2013). Hoje, é amplamente utilizado nas tecnologias de DS. A versatilidade deste polímero em relação às questões de solubilidade é um melhor resultado no efeito de inibição da cristalização frente a um conjunto de polímeros, como por exemplo, HPMC, PVP, MAEA entre outros como mostra Curatolo e colaboradores (2009).

A Tabela 2 exibe um resumo das características de cada polímero, incluindo a Tg de cada um deles, que foi considerada um dos critérios durante a seleção dos mesmos.

Tabela 3 - Resumo das características do PVP K30, PVPVA 64, SOLUPLUS® e HPMCAS.

Carreador	Peso Molecular (g/mol)	Tg (°C)	Higroscopicidade
PVP-K30	~ 58.000*	~ 164*	40% (75% RH)+
PVPVA 64	~45.000**	~101**	< 10% (50%RH)+
Soluplus	90.000 - 140.000***	~ 70***	Não descrito
HPMCAS	18000++	117++	Não descrito

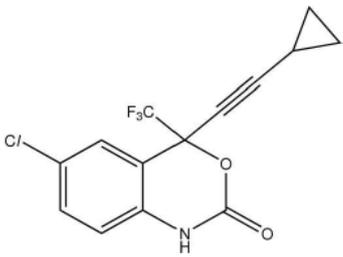
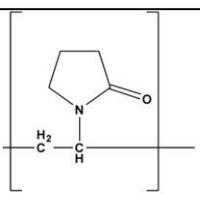
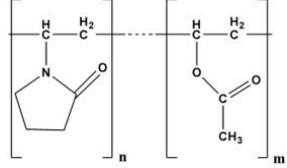
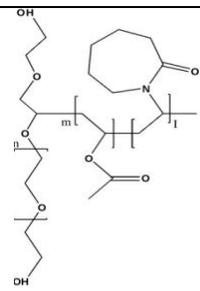
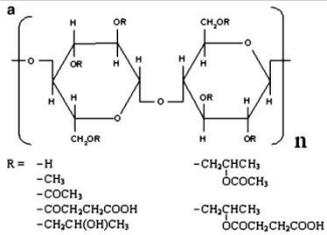
Fonte: autoria própria. Baseado nos textos de *ISP (2010); **Kolter, Karl e Gryczk (2012); ***BASF (2010); +Paudel et al. (2012); ++Al-Obaidi, Buckton (2009).

O quadro 1 exibe as estruturas químicas do EFZ e dos polímeros (PVP-K30, PVPVA 64, Soluplus e HPMCAS), bem como, seus potenciais grupos doadores e

acceptores de hidrogênio. Verifica-se que a formação de ligação de hidrogênio entre EFZ e os polímeros é possível uma vez que estes possuem grupos acceptores de hidrogênio capazes de interagir com o grupo doador de hidrogênio do fármaco.

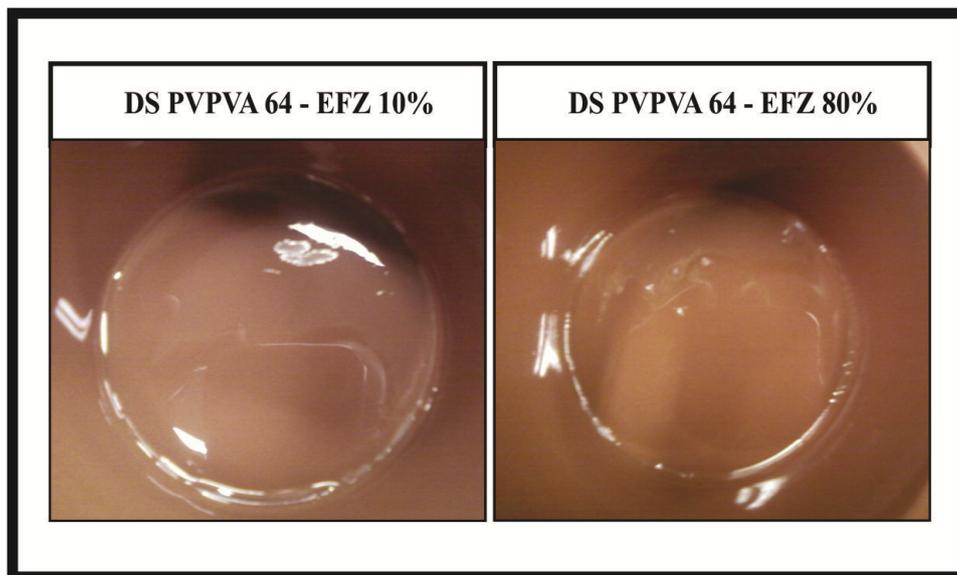
A figura 6 exibe os filmes obtidos ao final da produção das DS EFZ - PVPVA 64 10 e 80%. Verifica-se que ambos os filmes, independente da concentração utilizada, apresentavam-se homogêneos e transparentes. É interessante ressaltar que este comportamento se repetiu para os filmes das DS contendo PVP-K30, Soluplus e HPMCAS. Desta forma, pode-se afirmar que o EFZ é miscível nos quatro polímeros utilizados no estudo: PVP-K30, PVPVA 64, Soluplus e HPMCAS. Isto é de extrema importância já que os carreadores só podem atuar, de maneira eficaz, como inibidores da cristalização quando estão presente numa mesma fase que o fármaco (BAIRD; TAYLOR, 2012).

Quadro 1 - Estruturas químicas do Efavirenz (EFZ) e polímeros (Soluplus, PVPVA 64, PVP-K30 e HPMCAS) e seus potenciais grupos doadores e aceptores de hidrogênio.

Substância	Estrutura Química	Grupos doadores de hidrogênio	Grupos aceptores de hidrogênio
EFZ		N-H	C=O da função carbamato N da função carbamato O da função carbamato
PVP K-30*		-	C=O da amida cíclica N da amida cíclica
PVPVA 64 (KOLIDON) [®] +		-	C=O da amida cíclica N da amida cíclica C=O do éster O do éster
SOLUPLUS ⁺⁺		2-OH	Vários O de éter N da amida C=O da amida O do éster C=O do éster
HPMCAS ^{**}	 R = -H -CH ₃ -COCH ₃ -COCH ₂ CH ₂ COOH -CH ₂ CH(OH)CH ₃ -CH ₂ CHCH ₃ O COCH ₃ -CH ₂ CHCH ₃ O COCH ₂ CH ₂ COOH	O-H	Vários O de éter O do éster C=O de éster e ácido carboxílico

Fonte: autoria própria. Estruturas químicas baseadas nas respectivas fichas técnicas da *ISP (2010), +Kolter, Karl e Gryczke (2012), ++BASF (2010); ** Shin-Etsu (2005).

Figura 6 - Filmes do sistema DS EFZ – PVPVA 64 10% e DS EFZ – PVPVA 64 80%.



Fonte: autoria própria

5.1.2 Escolha da Metodologia de Obtenção

Vários métodos de obtenção de DS são reportados na literatura, dentre eles: o método de fusão, evaporação de solvente, fusão-solvente e malaxagem (ALVES et al., 2012; PATEL et al., 2008). Porém, do ponto de vista de produção em escala industrial é interessante ressaltar que as DS são convencionalmente preparadas pelo método de extrusão por fusão ou por evaporação de solvente (EERDENBRUGH; BAIRD; TAYLOR, 2010).

O método de evaporação de solvente consiste na solubilização simultânea do fármaco e do carreador em um determinado solvente, o qual é submetido a um processo de secagem (ALVES et al., 2012). Nesta tecnologia a decomposição de drogas ou carreadores pode ser prevenida, uma vez que, a evaporação de solvente orgânico ocorre a baixas temperaturas, desta forma, pode-se haver a utilização de substâncias termolábeis, sendo uma das principais vantagens deste método (SHARMA; JAIN, 2011; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Devido a estas características citadas acima, este método foi escolhido neste estudo.

Para evaporação do solvente, optou-se pela estufa com temperatura constante, a fim de se obter DS na forma de filmes, uma vez que esta técnica permite verificar com facilidade a miscibilidade do carreador com o fármaco, além de, evidenciar a formação

de uma solução sólida. Para a escolha do solvente, partiu-se do sistema selecionado por Alves (2010), sendo utilizado 10 mL de álcool metílico e 2 mL de acetonitrila para a solubilização do EFZ e 10 mL álcool metílico para solubilização dos polímeros. Após a obtenção dos filmes, utilizando estes solventes, verificou-se que os mesmos apresentavam-se homogêneos e transparentes e, desta forma, decidiu-se manter este mesmo sistema de solventes.

5.1.3 Escolha da Concentração do Fármaco e do Carreador

5.1.3.1 Difração de Raios-X (DRX)

A DRX é uma técnica considerada de suma importância no campo farmacêutico e, no que diz respeito às DS, é amplamente utilizada para estudar e caracterizar a cristalinidade ou o processo de amorfização dos fármacos utilizados na formulação (BAIRD; TAYLOR, 2012; SHARMA; JAIN, 2011). Os difratogramas dos compostos isolados (EFZ, PVP-K30, PVPVA 64, Soluplus e HPMCAS), de suas respectivas MF e DS, nas diferentes concentrações, encontram-se representados na figura 7.

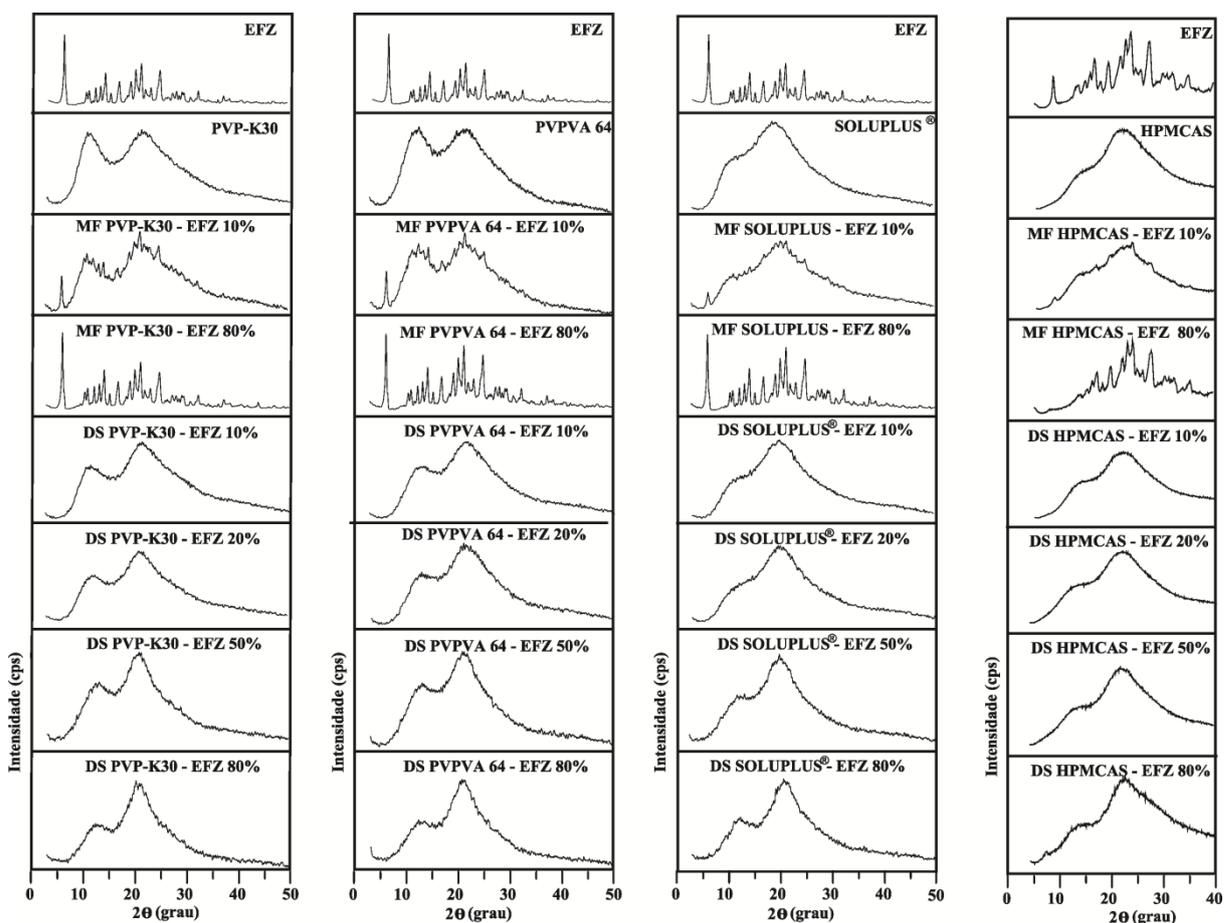
O perfil de difração do EFZ apresenta pico principal a 2θ em torno de $6,24^\circ$, além de outros picos secundários em $14,34^\circ$, $17,08^\circ$, $20,3^\circ$, $21,36^\circ$ e $25,06^\circ$, evidenciando o seu caráter cristalino, apresentando 69% de cristalinidade, calculado pelo software XRD – 6100/7000 Ver 7.0. Por outro lado, os polímeros apresentaram natureza amorfa, evidenciada pela ausência de picos em seus difratogramas.

Os difratogramas das MF revelaram a sobreposição do perfil do fármaco juntamente com o do polímero, evidenciando a presença do EFZ em sua forma cristalina. A intensidade dos picos do fármaco é menor, provavelmente, devido a sua menor proporção na amostra, uma vez que, a MF com a proporção de fármaco igual a 80%, apresentou em seu difratograma picos mais intensos quando comparado aos das MF com menores proporções.

Independente da proporção de fármaco utilizada nas DS, as mesmas apresentaram difratogramas com ausência de picos característicos do EFZ, evidenciando comportamento amorfo dos produtos formados. Desta forma, observa-se que os polímeros possibilitaram, efetivamente, a formação de DS amorfas, provavelmente devido as possíveis ligações de hidrogênio entre ele e o fármaco, corroborando com os posteriores resultados obtidos a partir da análise de IV.

Assim, DS contendo até 80% de fármaco foram obtidas utilizando os três polímeros em estudo. Apesar de os difratogramas apresentarem-se amorfos, decidiu-se não mais aumentar a concentração de fármaco por motivos de estabilidade física da formulação.

Figura 7 - Difratogramas do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.



Fonte: Autoria própria

5.1.4 Seleção do Melhor Sistema de Dispersão Sólida

5.1.4.1 Teste de Dissolução In Vitro

Os estudos de dissolução são uma importante ferramenta de controle de qualidade nas várias etapas dos processos de desenvolvimento de fármacos (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002). Estes estudos são realizados geralmente em condições *sink*, que preconiza a utilização de um volume não inferior a três vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco (FDA,1997; ROSA, 2005). No

entanto, realizar correlação *in vitro* - *in vivo* sob condição *sink* pode ser considerado um problema quando uma formulação amorfa está sendo investigada, já que a capacidade de supersaturação destes sistemas, que também pode acontecer *in vivo*, pode não ser visualizada sob estas condições (DINUNZIO et al., 2008; MEDEIROS, 2013). Corroborando com a idéia acima, Sun e colaboradores (2012) realizaram estudos de dissolução *in vitro* com DS de indometacina sob condição *non-sink* alegando que esta é capaz de permitir a visualização dos eventos de supersaturação, que comumente ocorrem no trato gastrointestinal, além de verificar as etapas de nucleação e cristalização do fármaco. Os mesmos autores sugeriram a implementação de um *Sink index* (SI) quando se estiver realizando um estudo de dissolução em condição *non-sink*, a fim de saber o quanto “*non-sink*” é o estudo ($SI = C_s V / \text{dose}$, onde C_s é a solubilidade do fármaco em água, V é o volume do meio de dissolução e a dose corresponde a quantidade do fármaco na amostra utilizada no estudo). Para a obtenção de uma condição *sink* o SI deve ser maior que 10.

Neste trabalho, amostras que apresentavam quantidades equivalentes a 15mg de EFZ foram utilizados nos estudos de dissolução, significando que, se completamente dissolvido num volume de 250 ml apresentará uma concentração igual a 60 µg/mL e SI igual a 0,15, estabelecendo, desta forma, a condição *non sink*.

Um estudo realizado pela *Sirius Analytical Instruments* (2013) mostra que os resultados do estudo de dissolução *in vitro* realizados no SiriusT3® e no equipamento USP® foram semelhantes, mas o SiriusT3® apresenta algumas vantagens como a redução significativa da quantidade de amostra necessária para executar a análise e do volume de meio de dissolução, a detecção da amostra durante o estudo de dissolução, entre outras (MEDEIROS, 2013). Para as DS e as respectivas MF com o polímero HPMCAS utilizou-se o Sirius. Nesse contexto, a utilização do SiriusT3® foi totalmente adequada, uma vez que também foi realizada a dissolução, bem como todas as caracterizações com a DS PVP VA-64 EFZ 10% para fins comparativos. Da mesma forma, apresentaram uma condição *non sink*, uma vez que as amostras utilizadas apresentavam quantidades equivalentes a 5mg de EFZ em um volume de 25 ml e SI igual a 0,045.

Os perfis de dissolução do EFZ, das DS e das MF contendo a concentração de fármaco correspondente à DS com melhor desempenho no estudo de dissolução sob condição *non-sink* estão exibidos na figura 8.

A partir deste estudo, os valores da área sob a curva (AUC) e da concentração máxima ($C_{máx}$) foram calculados e, assim, suas respectivas médias estão representadas nas figuras 9 a 12. Os valores da AUC representam a manutenção da supersaturação, que é alcançada através das interações físicas e/ou químicas entre o polímero e as moléculas do fármaco que, assim, inibem a sua precipitação e proporciona aumento dos seus níveis em solução, garantindo melhora da sua biodisponibilidade (DINUNZIO et al., 2008; SUN; JU; LEE, 2012).

Figura 5 - Perfis de dissolução do EFZ, das DS e MF com PVP K-30, PVPVA 64, SOLUPLUS e HPMCAS.

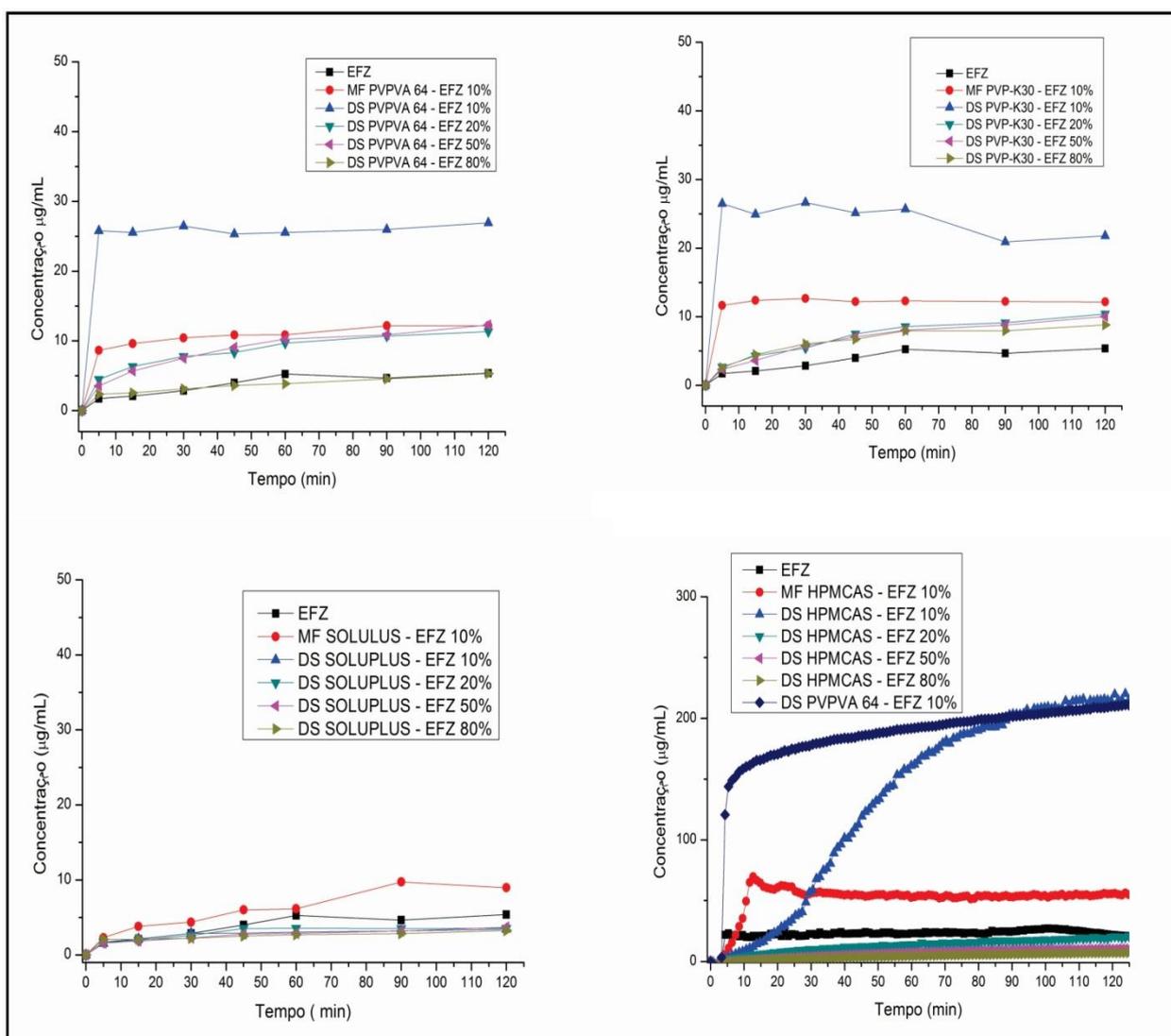
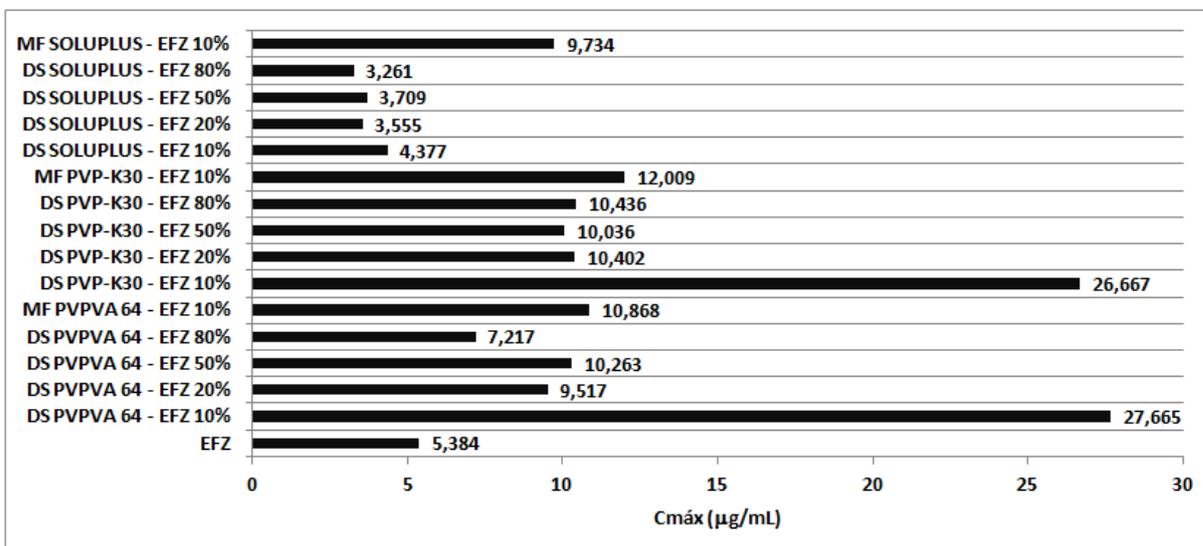
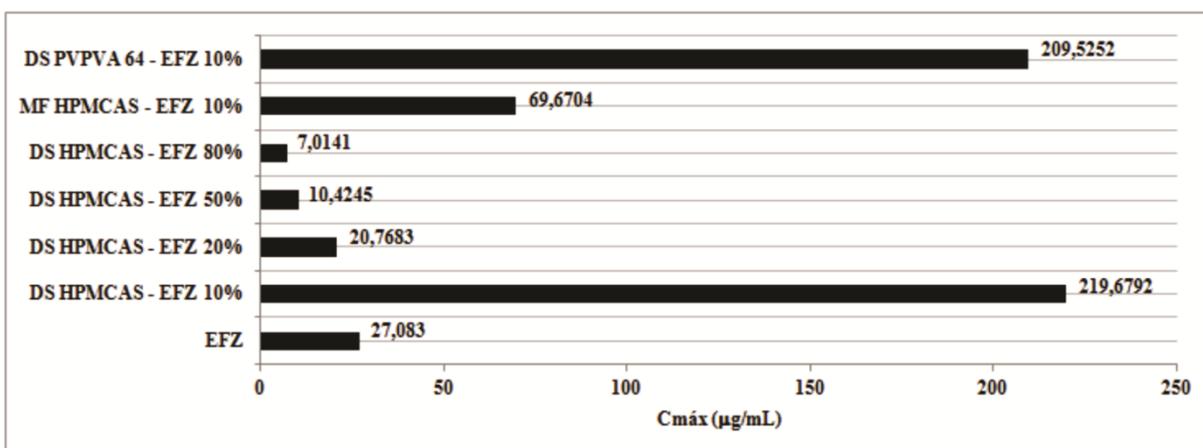


Figura 6 - Os valores da concentração máxima (C_{máx}) do EFZ, das misturas físicas contendo a concentração de protótipo correspondente à dispersão sólida com melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro* e das dispersões sólidas nas diferentes proporções.



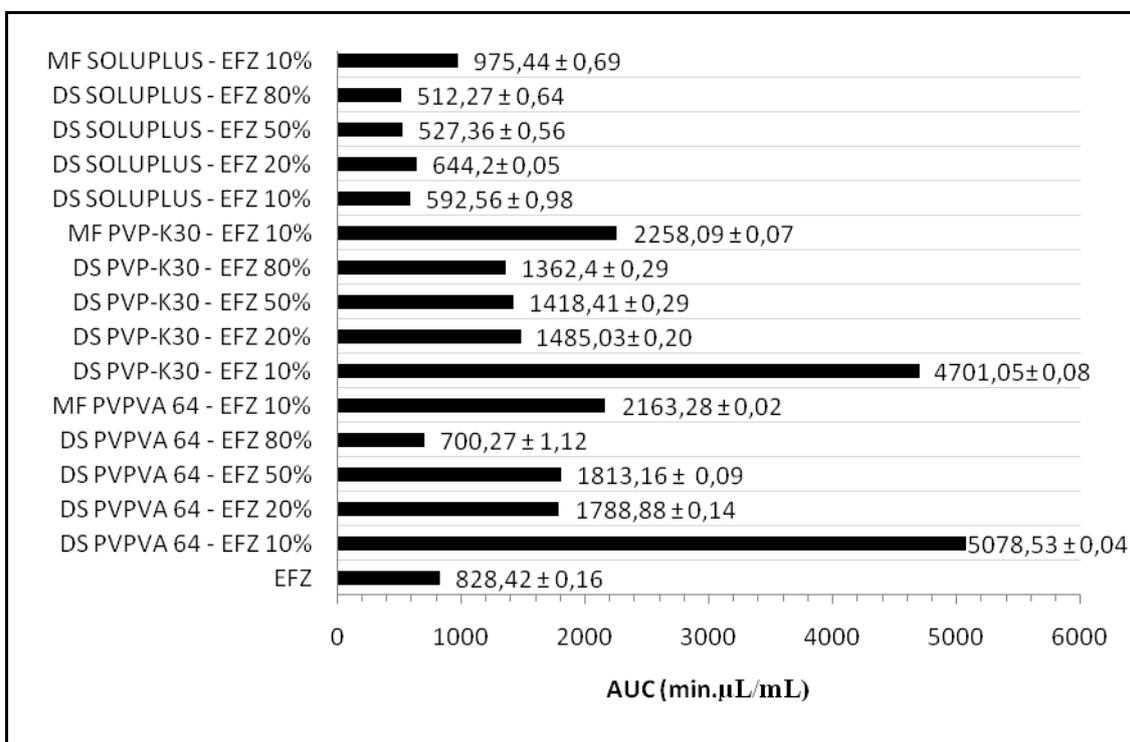
Fonte: autoria própria

Figura 7 - Os valores da concentração máxima (C_{máx}) do EFZ, das misturas físicas contendo a concentração de protótipo correspondente à dispersão sólida com melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro* realizada no *sirius T3* e das dispersões sólidas nas diferentes proporções.



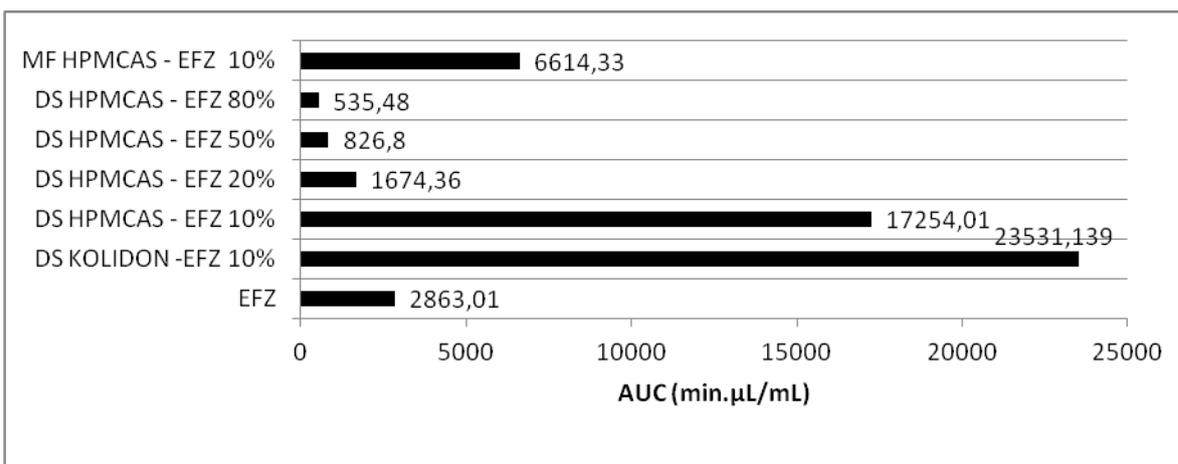
Fonte: autoria própria

Figura 8 - A AUC e seus respectivos coeficientes de variação do EFZ, das MF contendo a concentração de fármaco correspondente à DS com melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro* e das DS nas diferentes proporções.



Fonte: autoria própria

Figura 9 - A AUC do EFZ, das MF contendo a concentração de fármaco correspondente à DS com melhor desempenho no estudo de dissolução *in vitro* no Sirius T3® e das DS nas diferentes proporções.



Fonte: autoria própria

Os resultados contidos na figura 11 e 12 demonstram que a AUC de todas as MF foi superior ao do EFZ isolado, que, segundo Alves (2010), este resultado é proveniente das propriedades hidrofílicas dos polímeros que, desta forma, favorecem a diminuição da tensão superficial entre o fármaco e o meio de dissolução, bem como garante um aumento da molhabilidade do fármaco. Além disso, comparando a AUC das MF com a das DS, mantendo a mesma proporção de EFZ, observa-se que são mais baixas quando se utiliza PVP-K30, PVPVA 64 e HPMCAS, porém maior, quando o Soluplus atua como carreador.

Paralelamente, verifica-se que todas as DS obtiveram valores de AUC superior e estatisticamente significativos ao EFZ isolado, exceto para a DS PVPVA 64 – EFZ 80%, DS HPMCAS – EFZ 20, 50 e 80% e para as DS contendo Soluplus. É interessante ressaltar que não houve variações, estatisticamente significativas, quando foi alterada a concentração de fármaco nas DS tendo o Soluplus como polímero.

Estes resultados demonstram que o método de evaporação de solvente não é considerado uma boa escolha quando se utiliza o Soluplus como carreador, uma vez que suas DS tiveram resultados inferiores ao EFZ puro, bem como sua MF mostrou melhores resultados quando comparados aos das DS. Desta forma, as justificativas iniciais que foram dadas para a escolha deste polímero não foram eficazes quando se utilizou EFZ como fármaco de escolha.

A dissolução das DS HPMCAS – EFZ 20%, 50% e 80% apresentarem-se muito baixa, sugerindo drogas cristalinas. Esta discrepância em comparação com a DS HPMCAS – EFZ 10% pode ser causada por alterações do estado de agregação durante o armazenamento, devido à absorção de humidade que conduz à conversão de droga cristalina. Experimentos mais cuidadosos provavelmente teria que ser feito para confirmar esse aspecto e para manter um sistema estável. Tal hipótese será confirmada nos estudos de estabilidade.

Além disso, observa-se que quando os polímeros (PVPVA 64 e PVP K-30) estão presentes na formulação há uma liberação imediata do fármaco durante os primeiros 15 minutos o que não acontece com o EFZ isolado, já que o mesmo possui elevada hidrofobia, dificultando, assim, o contato de sua superfície com o meio de dissolução. Já o polímero HPMCAS provocou um efeito de liberação prolongada ao fármaco, o que pode também pode ser interessante a fim de reduzindo os efeitos colaterais causados pelo EFZ e sem perda da ação terapêutica.

As DS que apresentaram maiores valores de AUC foram as contendo maior quantidade de polímero (com apenas 10% de fármaco). Além disso, à medida que a quantidade de fármaco aumenta, percebe-se que estes resultados decrescem ou são estatisticamente similares. Os valores de AUC das DS, utilizando os quatro diferentes polímeros, seguem a seguinte ordem decrescente: DS PVPVA 64 – EFZ 10% > DS PVP-K30– EFZ 10% > DS HPMCAS – EFZ 10% > DS SOLUPLUS – EFZ 10%.

É interessante ressaltar que nos estudos realizados por Alves (2010), a formulação que apresentou melhores resultados foi a DS PVP-K30 - EFZ 80%, obtida através do método de malaxagem (MX). Além disso, este mesmo autor evidenciou que DS obtidas pelo método de solvente por rotaevaporação não proporcionaram incremento na quantidade de fármaco dissolvido. Porém, isto não foi verificado neste estudo, já que a DS PVP-K30 - EFZ 80% obteve desempenho inferior a todas as outras DS (10, 20 e 50% de EFZ) utilizando este mesmo polímero, bem como a todas as DS com PVPVA 64, exceto para a que continha 80% de fármaco. Estes resultados confirmam que os métodos de obtenção, técnica de secagem escolhida, bem como a escolha do polímero a ser utilizado, influenciam diretamente nas propriedades físicas das DS obtidas e, conseqüentemente, no seu desempenho durante os testes de dissolução *in vitro* (ALVES et al., 2012; JANSSENS et al., 2009).

É notório que vários fatores interferem ao mesmo tempo no comportamento das DS durante a dissolução (CRAIG, 2002; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Desta forma, o melhor desempenho das DS, comparado ao fármaco isolado, pode ser explicado, principalmente, devido à alteração da forma cristalina do EFZ para o seu estado amorfo, que não necessita de energia para quebrar a estrutura cristalina durante o processo de dissolução, reduzindo, assim, a entalpia do sistema. O aumento da molhabilidade, devido às propriedades hidrofílicas dos polímeros, bem como a redução do tamanho das partículas e, conseqüentemente, aumento da área superficial, são outros fatores que contribuem para os melhores resultados de dissolução (SHAMMA; BASHA, 2012).

Apesar de a forma amorfa apresentar uma maior solubilidade, a mesma possui alto grau de instabilidade, já que tende a precipitar para uma forma cristalina de mais baixa energia após atingir a supersaturação no meio de dissolução (MATTEUCCI et al., 2009). Desta forma, estabilidade física da forma amorfa, quando em contato com o meio de dissolução, bem como a cinética de cristalização da solução supersaturada que foi

produzida são importantes fatores durante os testes de dissolução *in vitro* (ALONZO et al., 2011).

Para que o impacto desejado sobre a biodisponibilidade seja alcançado é necessário não só atingir altos graus de supersaturação, mas também sustentá-la por um longo período de tempo, através da inibição da cristalização. A fim de alcançar estes objetivos, vários polímeros hidrofílicos têm sido empregados com sucesso, já que os mesmos estabelecem ligações intermoleculares com o fármaco, principalmente, ligações de hidrogênio, que assumem um papel de grande importância no aumento e manutenção da supersaturação (SARODE et al., 2013). Além da escolha do polímero a ser utilizado, é de extrema importância a porcentagem de fármaco presente na formulação, já que altas proporções podem favorecer a precipitação, devido à diminuição da quantidade de sítios de interação disponíveis no polímero, e, conseqüentemente, reduzir o grau de supersaturação (ALI; KOLTER, 2012).

Isto explica os diferentes desempenhos das DS, representadas pelos valores de AUC, quando se utilizou os quatro diferentes polímeros (PVP-K30, PVPVA 64, Soluplus e HPMCAS) nas diferentes proporções.

Ao comparar os resultados das duas melhores formulações, DS PVPVA 64 – EFZ 10%, DS PVP-K30 – EFZ 10%, e DS HPMCAS – EFZ 10% pode-se verificar que o polímero PVPVA 64 foi bastante eficaz, uma vez que este alcançou altos níveis de supersaturação, além de conseguir mantê-la por um período de 120 minutos, assim como a DS HPMCAS – EFZ 10% pois atingiu uma concentração 219 mg/mL em 120 min, enquanto que a DS contendo PVP-K30 apresentou uma diminuição da sua AUC após os 60 min. Estes resultados podem ser explicados devido à presença da cadeia de PVAc no polímero PVPVA 64, que promove uma maior propensão para realização de ligações de hidrogênio quando comparado ao PVP-K30, confirmando, desta forma, que interações entre fármaco e polímero são de grande importância no que diz respeito à manutenção da supersaturação, bem como inibição da cristalização.

5.1.5 Análise Físico-Química dos Sistemas Selecionados

5.1.5.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A DSC, técnica que mede o fluxo de calor de um material em função do tempo ou da temperatura, é considerada uma das técnicas de análise térmica mais comumente

utilizadas devido à sua ampla disponibilidade tanto no ambiente acadêmico quanto no industrial, bem como sua vasta aplicabilidade na análise de sistemas amorfos (BAIRD et al., 2012; SHARMA; JAIN, 2011).

Neste estudo, DSC foi utilizada para analisar a forma do fármaco (amorfa ou cristalina) nas MF e DS com PVP K-30, PVPVA 64 e HPMCAS bem como para verificar a miscibilidade entre o EFZ e os carreadores. As curvas de DSC dos compostos isolados (EFZ, PVP-K30, PVPVA 64 e HPMCAS), de suas respectivas MF e DS, nas concentrações mínima e máxima, encontram-se representados na figura 13.

O comportamento térmico do EFZ pôde ser evidenciado através de um pico endotérmico em 140°C, característico do processo de fusão da sua estrutura cristalina. O perfil térmico dos polímeros isolados não apresentou evento endotérmico característico de processo de fusão, evidenciando a natureza amorfa dos mesmos, corroborando com os resultados de DRX. Além disso, o PVP-K30 apresentou fenômeno endotérmico alargado entre 45 e 125°C, que está associado com a evaporação de água do material. Adicionalmente, é possível observar os eventos de Tg dos polímeros em, aproximadamente, 104°C, 165°C e 120°C para o PVPVA 64, PVP-K30 e HPMCAS respectivamente. Segundo Baird e colaboradores (2012), Tg é considerada a temperatura em que as propriedades dos materiais amorfos variam de líquido para sólido ou vice-versa.

O pico característico do EFZ pôde ser observado nas MF contendo 80% de fármaco, utilizando tanto o PVP-K30, PVPVA 64 e HPMCAS como polímeros. Porém na proporção de 10% o mesmo não foi observado e, assim, especula-se que o EFZ se solubilizou no polímero durante a análise por DSC (BISWAL et al., 2008), já que nas análises de DRX houve o aparecimento do pico principal do fármaco em ambas as concentrações. Paralelamente, foi observado um adiantamento do pico de fusão do fármaco, sugerindo que os carreadores foram capazes de proporcionar uma leve solubilização do EFZ presente na sua forma cristalina durante o processo de aquecimento.

Adicionalmente, as curvas de DSC das DS não apresentaram o evento endotérmico característico do processo de fusão do fármaco, sugerindo que o EFZ foi convertido para o seu estado amorfo, corroborando com os resultados de DRX e MEV (PLANINSEK; KOVACIC; VRECER, 2011).

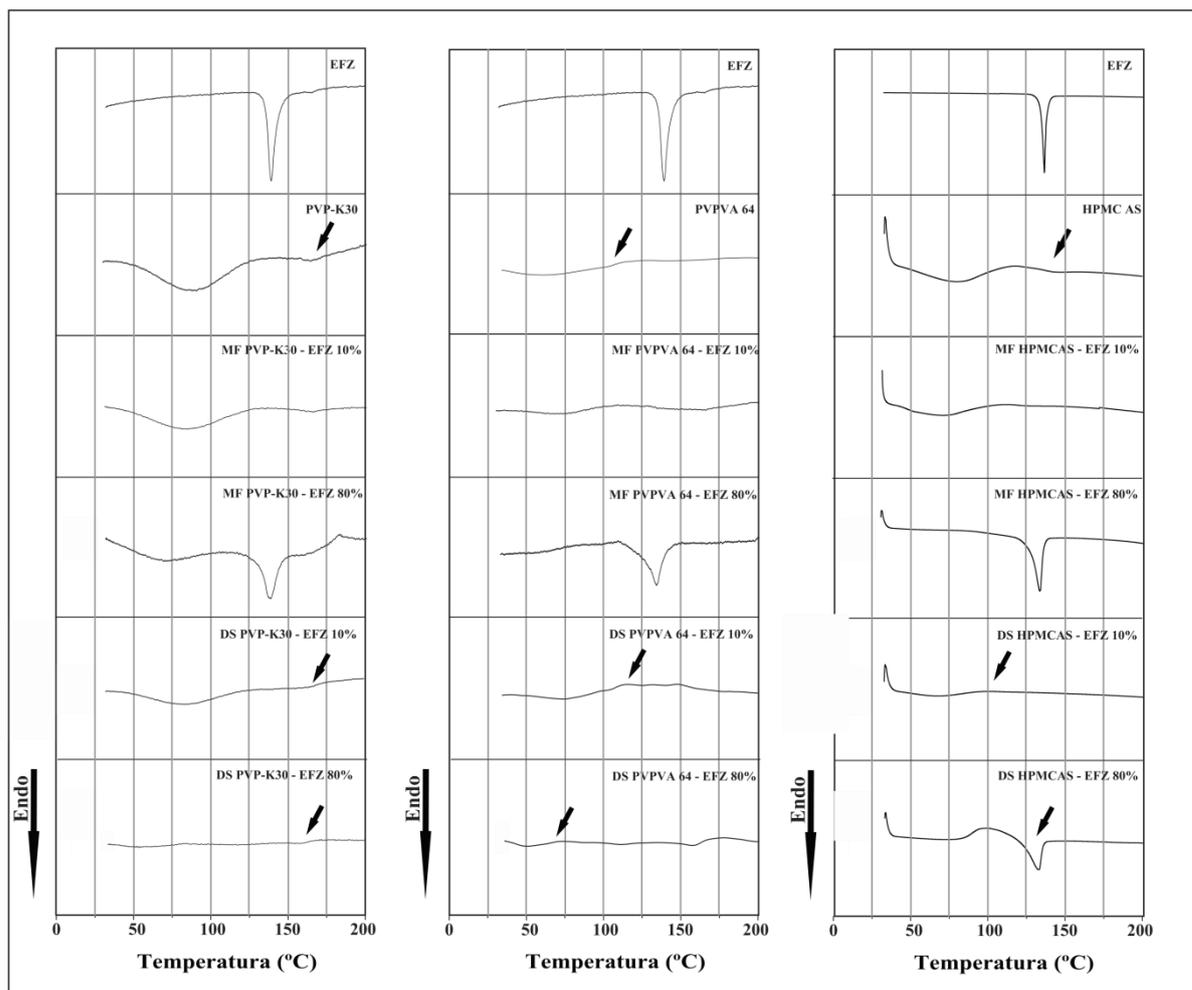
Outras informações que podem ser retiradas a partir das curvas DSC das DS é a observação da Tg, pois permite verificar a miscibilidade do fármaco com o carreador ao

determinar a quantidade de Tgs em uma curva de DSC de uma DS, uma vez que, quando este sistema contém duas fases, apresenta uma curva de DSC com duas Tgs devido à presença de duas substâncias amorfas separadas (BAIRD et al., 2012). Os eventos referentes às Tgs estão indicados através de setas na Figura 13.

Pode-se observar que as DS que exibiram apenas um evento de transição vítrea foram: DS PVP-K30 - EFZ 10%, DS PVP-K30 - EFZ 80%, DS PVPVA 64 – EFZ 10% e DS HPMCAS – EFZ 10% confirmando, desta forma, a miscibilidade entre os compostos. Nas curvas DSC da DS PVPVA 64 - EFZ 80% e DS HPMCAS – EFZ 80% há um pequeno evento endotérmico que pode ser devido à separação de fases entre a forma amorfa do fármaco e do carreador ou até mesmo decorrente do processo de fusão de pequenas quantidades de cristais presentes na formulação. De qualquer forma, isto indica uma menor miscibilidade do polímero com o EFZ, quando este se encontra nessa concentração.

Além disso, observa-se uma diminuição da Tg do sistema quando se compara com a DS PVPVA 64 – EFZ 10%, indicando o efeito plastificante do fármaco sobre o polímero, já que este se instala nas cadeias poliméricas e, assim, diminui a interação entre as moléculas do polímero. Desta forma, as cadeias tornam-se mais flexíveis, favorecendo uma diminuição na Tg do polímero e que, conseqüentemente, promoverá uma diminuição da Tg do sistema. Isto favorece ao aumento da mobilidade molecular e, conseqüente, diminuição da estabilidade física da formulação, o que pode explicar a presença deste pico endotérmico na curva DSC da DS PVPVA 64 - EFZ 80% (ALBERS et al., 2009; BAIRD et al., 2012).

Figura 10 - Curvas de DSC do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.



Fonte: autoria própria

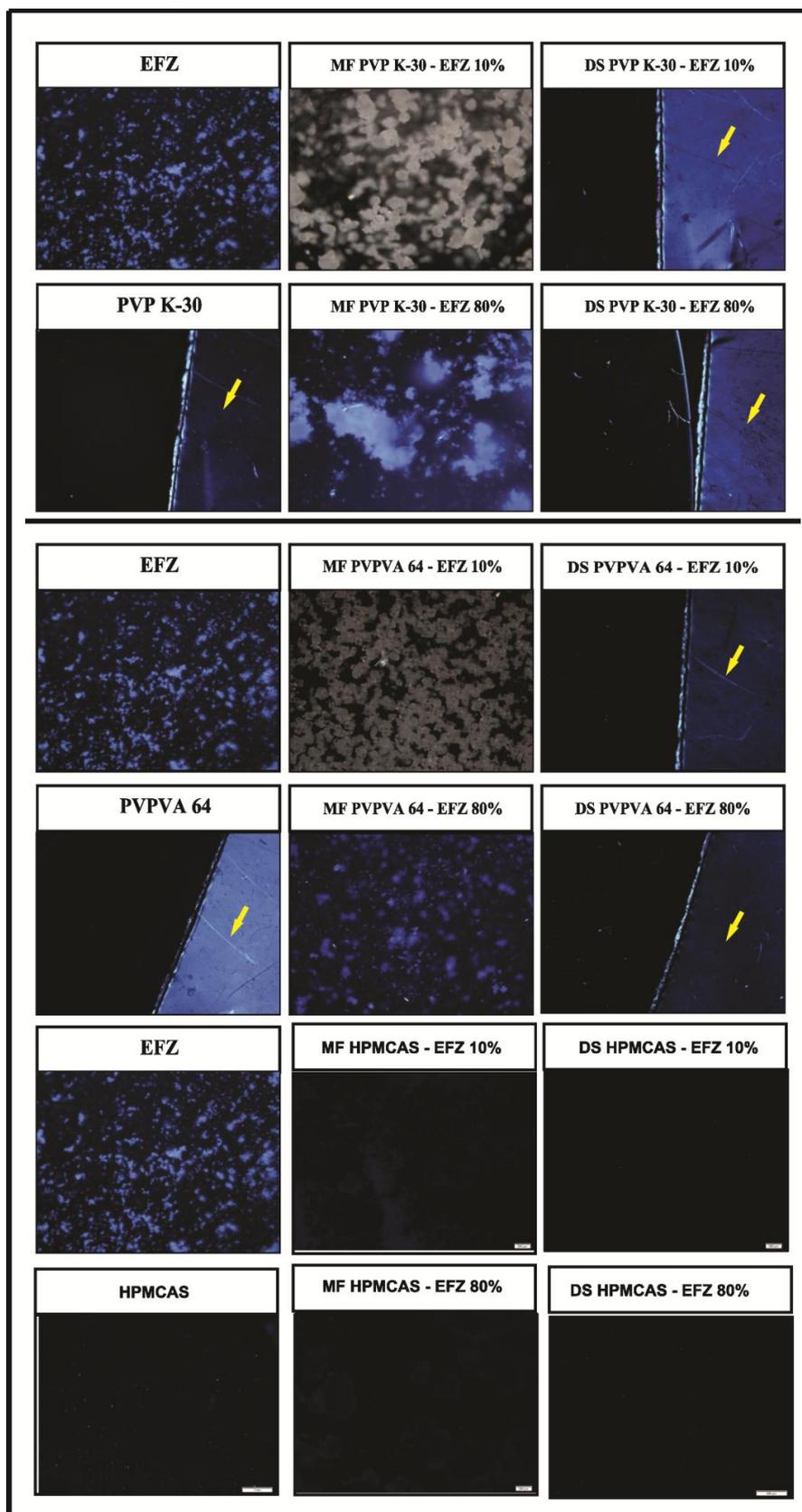
5.1.5.2 Microscopia de Luz Polarizada

A Microscopia de Luz Polarizada quando empregada em combinação com outras técnicas analíticas é considerada de suma importância no que diz respeito à detecção de cristalinidade em formulações amorfas (SHAH et al., 2013).

Esta técnica diferencia sistemas amorfos e cristalinos através da investigação da birrefringência, que consiste na propriedade que certos cristais possuem de originar raios refratados, a partir de um único raio incidente. Desta forma, materiais amorfos não apresentam esta propriedade e, assim, são denominados de substâncias isotrópicas, enquanto que, materiais cristalinos, que possuem birrefringência, são considerados anisotrópicos (BIRREFRINGÊNCIA, 2014; ONOUE et al., 2010; SHAH et al, 2013).

As fotomicrografias dos compostos isolados (EFZ, PVP-K30, PVPVA 64 e HPMCAS), de suas respectivas MF e DS, nas concentrações mínima e máxima, encontram-se representados na figura 14. O filme anisotrópico utilizado como referência está indicado por setas.

Figura 11 - Fotomicrografias de Microscopia de Luz Polarizada do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.



O EFZ, que mostrou difratograma e perfil térmico característicos de material cristalino, apresentou uma forte birrefringência, confirmando, desta forma, seu caráter anisotrópico. Este resultado não foi observado nos filmes dos polímeros isolados, caracterizando como materiais isotrópicos. Exceto para o filme do polímero HPMCAS que mostrou a presença de pequenos cristalitos, tal comportamento também foi evidenciado por Hong 2009. Devido a essa característica do fármaco e dos polímeros, é possível identificar se existem cristais do EFZ nas MF e nas DS, ao buscar detectar a ausência ou presença da birrefringência cristalina do fármaco.

As MF apresentaram significativa birrefringência, porém isto não foi observado com os filmes das DS, sugerindo, assim, a transformação do fármaco do estado cristalino para o amorfo, o que corrobora com os resultados de DRX e DSC.

5.1.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise por MEV possui uma grande importância na área farmacêutica já que pode ser utilizada para o conhecimento detalhado da microestrutura dos produtos isolados e seus binários que, desta forma, permite realizar uma correlação entre a estrutura morfológica e o tamanho das partículas com os resultados obtidos através das demais análises realizadas na investigação da formação das DS (DINUNZIO et al., 2008). As eletromicrografias dos produtos isolados e seus sistemas binários (MF e DS) estão ilustradas na figura 15 e 16.

O EFZ apresenta-se como cristais irregulares de formato ortorrômbico, enquanto que o PVP-K30 e PVPVA 64 se caracterizam por partículas esféricas de superfície lisa. O HPMCAS apresenta-se como partículas muito finas arredondadas para alongadas que variam cerca de 0,5 à 1,5 microns de diâmetro (ASHLAND, 2013).

Nas eletromicrografias das MF com o PVP-K30, PVPVA 64, e HPMCAS independentemente da porcentagem de fármaco, a estrutura cristalina do EFZ foi claramente detectável, apresentando-se de maneira isolada ou aderido na superfície do respectivo polímero, o qual permaneceu com a mesma morfologia, indicando, desta forma, que não houve interações entre o fármaco e o polímero no estado sólido.

Por outro lado, nas eletromicrografias das DS com os três polímeros, nas diferentes proporções estudadas, observou-se a presença de partículas de tamanho e morfologia irregulares, onde não foi visualizada a morfologia cristalina original do EFZ,

ocorrendo também uma extensa mudança no aspecto do polímero, não sendo possível a diferenciação entre os dois componentes.

É interessante destacar que nas DS contendo 80% do fármaco foi observado que na superfície das partículas existiam filamentos de tamanhos e espessuras heterogêneas e que, provavelmente podem ser atribuídas à forma amorfa do EFZ, pois a homogeneidade destes sistemas pode estar comprometida devido à menor quantidade de polímero. Tal análise corrobora com os resultados de DSC da DS PVPVA64 – EFZ 80%, que evidencia uma separação entre as formas amorfas do fármaco e do polímero. Desta forma, é de suma importância a análise da estabilidade destas formulações, já que, segundo Janssens e Van den Mooter (2009), para que haja o aumento da estabilidade de uma DS, é necessário que o teor de polímero na formulação seja elevado, o que, neste caso, não é observado, pois contém apenas 20% de polímero.

Portanto, a drástica mudança da forma e do aspecto das partículas, sugere a formação de uma nova fase sólida, que pode ser atribuída a uma real conversão do estado cristalino ao estado amorfo devido às possíveis interações químicas ocorridas entre o polímero e o ativo durante o processo de obtenção das DS.

Figura 12 - Fotomicrografias de MEV do EFZ, dos carreadores e de suas respectivas DS e MF.

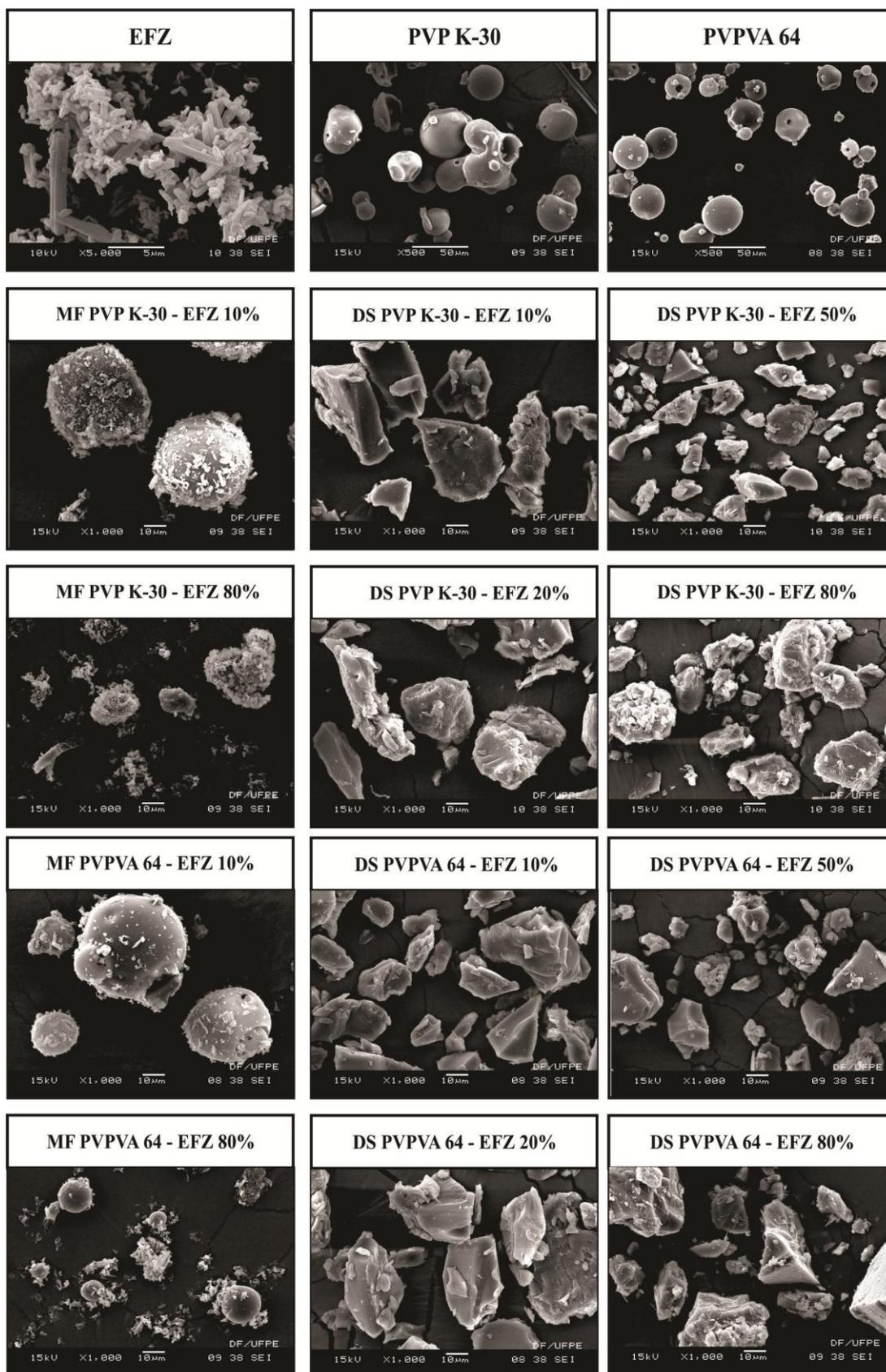
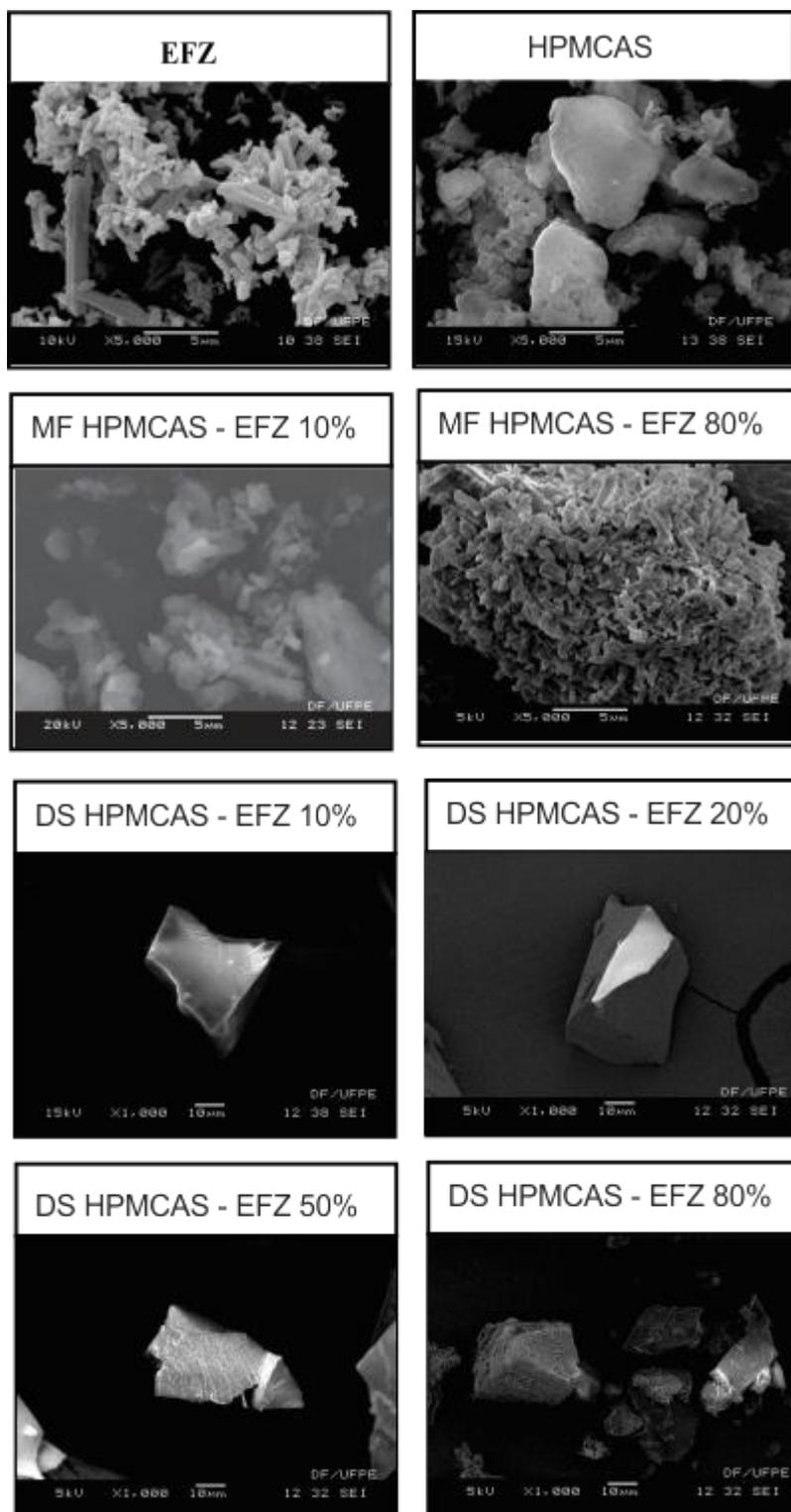


Figura 13- Fotomicrografias de MEV do EFZ, do carreador HPMCAS e de suas respectivas DS e MF.



5.1.5.4 Espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV)

A técnica de IV tem sido bastante utilizada para investigar possíveis interações entre fármaco e polímero nos sistemas de DS, já que é capaz de detectar diferenças sutis na energia vibracional entre estado amorfo e cristalino (SHAH et al., 2013; SATHIGARI et al., 2012). O estudo destas interações, principalmente ligações de hidrogênio, é de extrema importância, uma vez que estão relacionadas com a estabilidade dos sistemas de DS (BALANI et al., 2010; SUN; JU; LEE, 2012; TEJA et al., 2013) e com a compatibilidade entre o fármaco e o polímero (YU et al., 2010).

Desta forma, espectros de IV do EFZ, dos polímeros (PVPVA 64, PVP-K30 e HPMCAS), das respectivas MF e DS foram examinados (Figura 17, 18 e 19).

No espectro de IV do EFZ as bandas referentes aos possíveis grupos doadores e aceptores de hidrogênio do EFZ podem ser observadas: deformação axial de N-H em $3313,38\text{ cm}^{-1}$, além dos picos em $1743,34\text{ cm}^{-1}$ e $1240,69\text{ cm}^{-1}$, característicos da função carbamato presente na estrutura do fármaco e que seriam referentes à deformação axial da ligação C=O e C(C=O)-O, respectivamente. Adicionalmente, as seguintes bandas típicas também foram visualizadas: estiramento C≡C ($2249,72\text{ cm}^{-1}$), estiramento axial C-F ($1183,54\text{ cm}^{-1}$) e deformação angular de C-H em grupamentos cíclicos tensionados ($1494,72\text{ cm}^{-1}$), evidenciando a presença do radical ciclopropil na molécula do EFZ.

Paralelamente, no espectro do PVP-K30 foram visualizadas importantes bandas em $1644,21\text{ cm}^{-1}$ (estiramento C=O de amida cíclica) e em 1288 cm^{-1} (estiramento C-N), que são referentes aos prováveis grupos aceptores de hidrogênio do polímero. Enquanto que o espectro do PVPVA-64 apresentou uma banda em $1666,99\text{ cm}^{-1}$ (estiramento C=O da amida cíclica), além das bandas em $1731,56\text{ cm}^{-1}$ (estiramento C=O) e em $1234,22\text{ cm}^{-1}$ (deformação axial C-O), que são referentes ao grupamento éster da cadeia lateral do PVAc. Foi possível observar também no espectro do HPMCAS bandas na faixa de $2996 - 3015\text{ cm}^{-1}$ (estiramento O-H), referente ao provável grupo doador de hidrogênio, em 1738 cm^{-1} (estiramento C=O de éster) e em 1139 cm^{-1} e 1234 cm^{-1} (estiramento C-O e C-O-C de éter respectivamente), que são referentes aos grupamentos aceptores de hidrogênio do polímero.

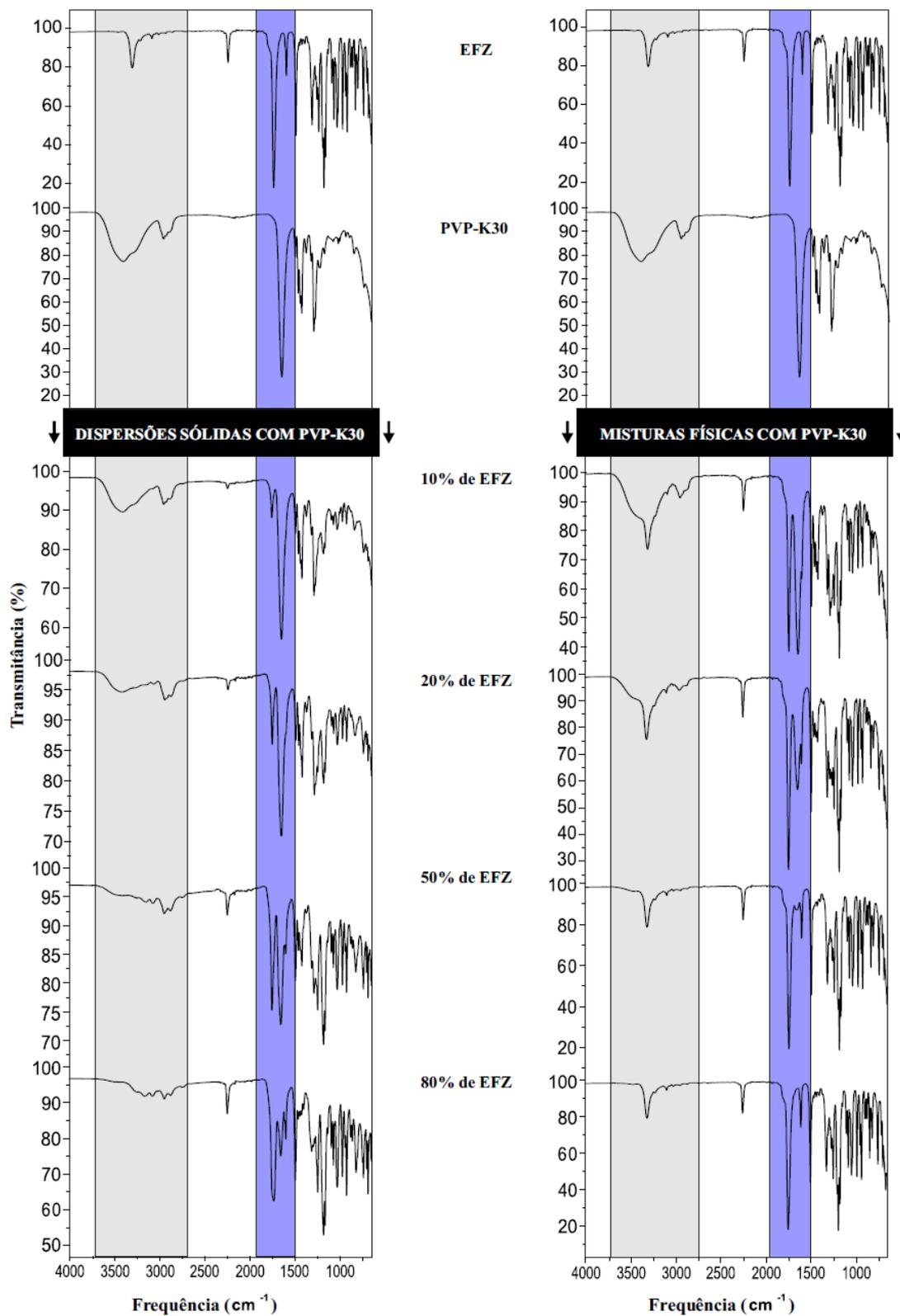
Os espectros das MF correspondem à sobreposição das bandas do EFZ e dos polímeros indicando, desta forma, que não ocorreu interação entre eles (KAEWNOPPARAT et al., 2009).

Os espectros de IV de todas as DS apresentaram completo desaparecimento da banda referente à deformação axial do grupo N-H do EFZ ($3313,38\text{ cm}^{-1}$), com exceção daquelas contendo 50 e 80% de fármaco, em que foi possível verificar esta banda em menor intensidade, indicando, desta forma, a diminuição da interação entre o EFZ e o polímero. Este resultado corrobora com o estudo de dissolução *in vitro*, que indicou performances inferiores para as DS contendo maior proporção de fármaco na formulação. No entanto, tal efeito sobre os espectros de IV para as DS contendo 50% e 80% com o HPMCAS também ocorreu o desaparecimento das bandas, porém o efeito sobre a dissolução foi o mesmo, indicando performances inferiores as DS contendo maior proporção de fármaco na formulação.

Adicionalmente, houve diminuição da intensidade da banda da carbonila de todos os polímeros ($1644,21\text{ cm}^{-1}$, $1666,99\text{ cm}^{-1}$ e 1738 cm^{-1} para o PVP-K30, PVPVA 64 e HPMCAS respectivamente), como também da carbonila pertencente ao grupamento éster do PVPVA 64 ($1731,56\text{ cm}^{-1}$), e das bandas referentes ao grupamento éter pertencente ao HPMCAS, além de serem observados pequenos deslocamentos de frequências destas bandas citadas. Isto confirma que o PVPVA 64 interage de maneira mais efetiva com o EFZ quando comparado ao PVP-K30, devido à presença destas duas carbonilas, que funcionam como grupos aceptores de hidrogênio. Isto corrobora com os resultados da dissolução *in vitro* que evidenciou resultados superiores quando o PVPVA 64 era o carreador de escolha.

Desta forma, ao comparar os espectros de IV das DS e das MF, observa-se que as mudanças que foram visualizadas não são decorrentes apenas das diferentes proporções de fármaco utilizadas, mas sim, provavelmente, da possível ocorrência de interações intermoleculares, principalmente ligações de hidrogênio, entre o grupamento N-H do EFZ com o grupamento C=O dos polímeros.

Figura 14 - Espectros de IV do EFZ, do PVP K-30 e de suas DS e MF.



Fonte: autoria própria

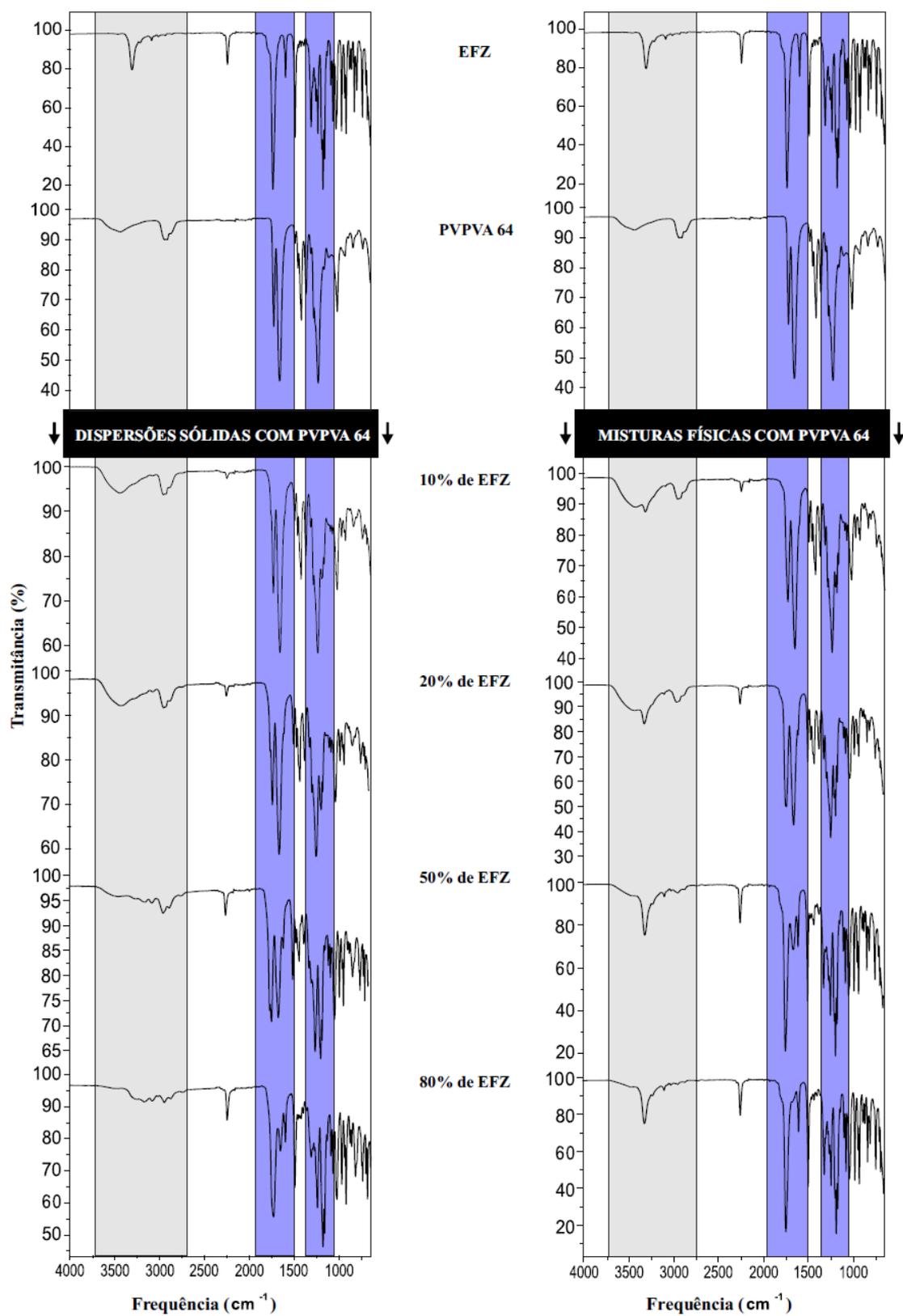
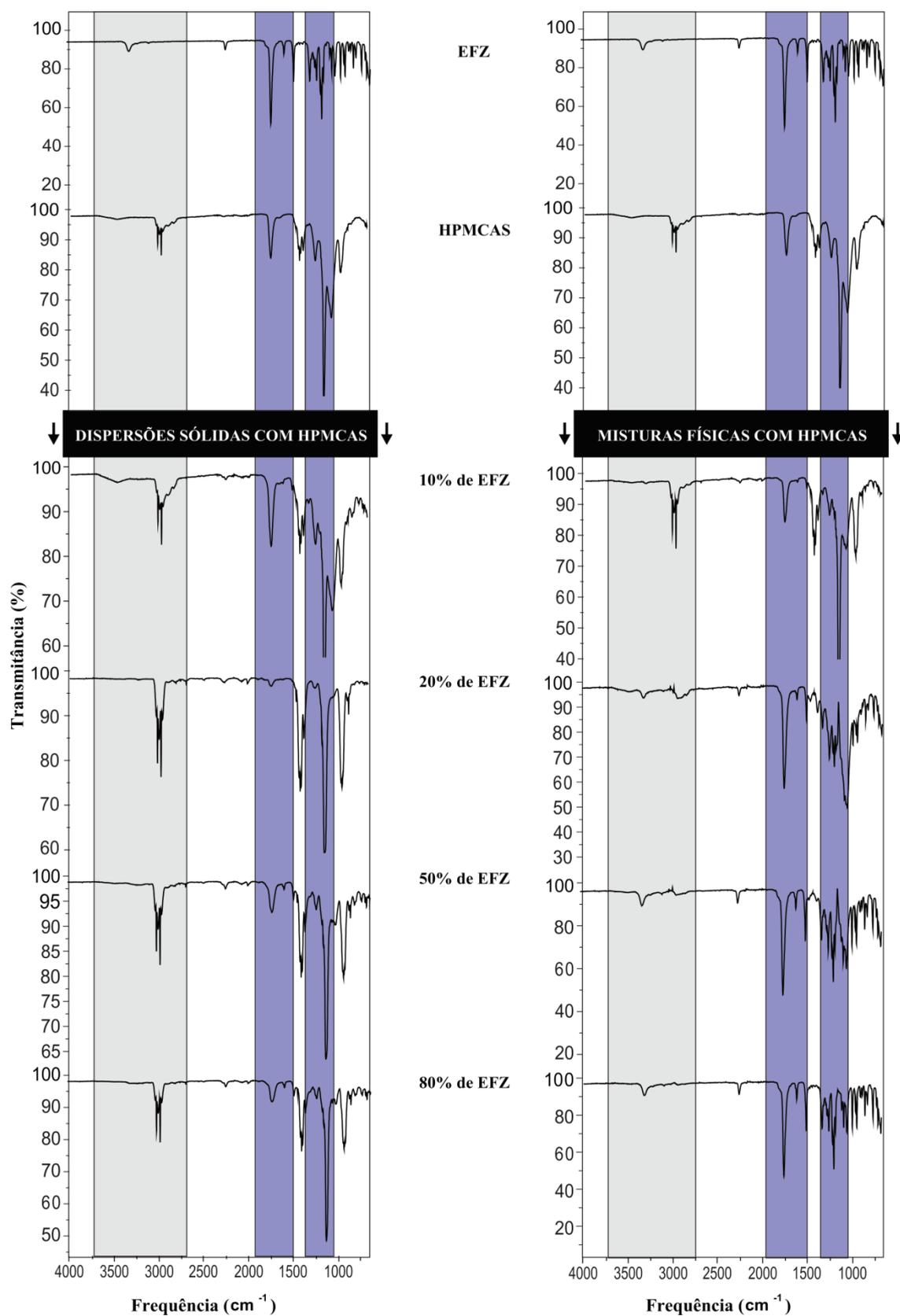
Figura 15 - Espectros de IV do EFZ, do PVPVA 64 e de suas DS e MF.

Figura 16 - Espectros de IV do EFZ, do HPMCAS e de suas DS e MF.

Fonte: autoria própria

5.1.5.5 Cinética de liberação *in vitro* por membrana de diálise

O método de diálise é o mais versátil e popular dentre todos os métodos utilizados para avaliar a liberação de sistemas de tamanho nano (D'SOUZA, 2014). Por exemplo, Gaur e colaboradores (2014) desenvolveram lipossomas (124 nm) para melhorar a solubilidade e biodisponibilidade do EFZ e utilizaram a membrana de diálise 14KDa como método para avaliar a dissolução *in vitro* dos sistemas e obteve 60,6-98,2% de liberação do fármaco em um período de tempo de 24 horas. Da mesma maneira, Makwana e colaboradores 2015 também desenvolveram lipossomas com EFZ. Neste estudo na tentativa de atingir, ou ter como alvo o sistema linfático.

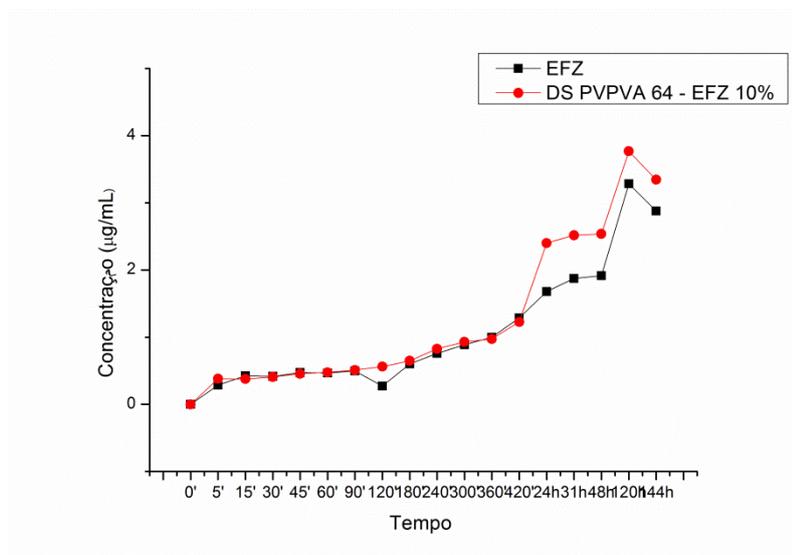
Neste método a separação física dos sistemas e o meio de liberação é conseguida pelo uso de uma membrana de diálise onde as nanopartículas difundem-se através da membrana para o exterior, onde é submetido a amostragem para análise. Tal como acontece com outros métodos, a solubilidade do fármaco é essencial para o seu transporte através da membrana de diálise, assim como é importante selecionar o tamanho do poro da membrana. Em geral, membranas de 10-14kDa são utilizadas para a liberação de pequenas moléculas, e membranas de 1 kDa são adequadas para avaliar liberação de moléculas grandes (D'SOUZA, 2014).

Desta forma foi realizado a cinética de liberação *in vitro* em membrana de diálise para a DS PVPVA 64 10%. Foi considerado uma membrana de 10KDa, assim como também foi levado em consideração o EFZ solúvel, uma vez que, o mesmo obteve através da dispersão sólida sua dissolução *in vitro* melhorada, como mostra na sessão 5.1.4.1. O experimento foi realizado com o objetivo de avaliar a passagem do EFZ por uma membrana, e desta forma avaliar de maneira preliminar a permeabilidade.

A Figura 20 mostra a liberação de 25% de EFZ da DS em 144h. Praticamente a DS teve o mesmo comportamento do EFZ puro, o que nos leva a sugerir que, uma vez o polímero intumescido forma-se uma malha bloqueando os poros da membrana dificultando a passagem do EFZ.

A incorporação de ensaio de dissolução por membrana de diálise apresentam algumas limitação quanto aos tipos de amostras ou uma solução supersaturada. Embora as membranas de diálises ofereçam uma absorção, estas membranas não são necessariamente biorrelevantes (NEWMAN, 2015). Desta forma, neste estudo se faz importante a utilização de novas alternativas de métodos de análise de permeabilidade, como por exemplo membranas celulares.

Figura 17 - Perfis de liberação *in vitro* em membrana de diálise do EFZ e da DS PVPVA 64 10%.



5.1.6 Solução Sólida, Suspensão Sólida Amorfa ou Suspensão Sólida Cristalina?

Apesar dos diferentes tipos de classificação para as DS, apenas três tipos vêm comumente sendo utilizados para incrementar a solubilidade: suspensão cristalina vítrea, suspensão amorfa vítrea e solução sólida vítrea. Os dois primeiros tipos são constituídos por duas fases, a diferença é que o fármaco está em sua forma cristalina na suspensão cristalina vítrea, enquanto que na suspensão amorfa vítrea o mesmo se encontra no seu estado amorfo. A solução sólida é considerada a formulação termodinamicamente mais estável, já que o fármaco está molecularmente disperso no polímero e, assim, apresenta apenas uma fase (KOLTER; KARL; GRYCZKE, 2012).

Desta forma, ao comparar as DS PVP-K30, PVPVA64 e HPMCAS, nas concentrações de 10 e 80%, a partir dos resultados da caracterização, observa-se que todas as DS foram consideradas como soluções sólidas, com exceção da DS PVPVA 64 – EFZ 80% e DS HPMCAS – EFZ 80%, que foram classificadas como uma suspensão sólida amorfa, uma vez que, a microscopia de polarização não revelou presença de cristais e para a DS com HPMCAS o DR-X não apresentou picos característicos do EFZ, porém nos perfis do DSC foi evidenciado um pico endotérmico, caracterizando separação de fases entre a forma amorfa dos polímeros e do EFZ.

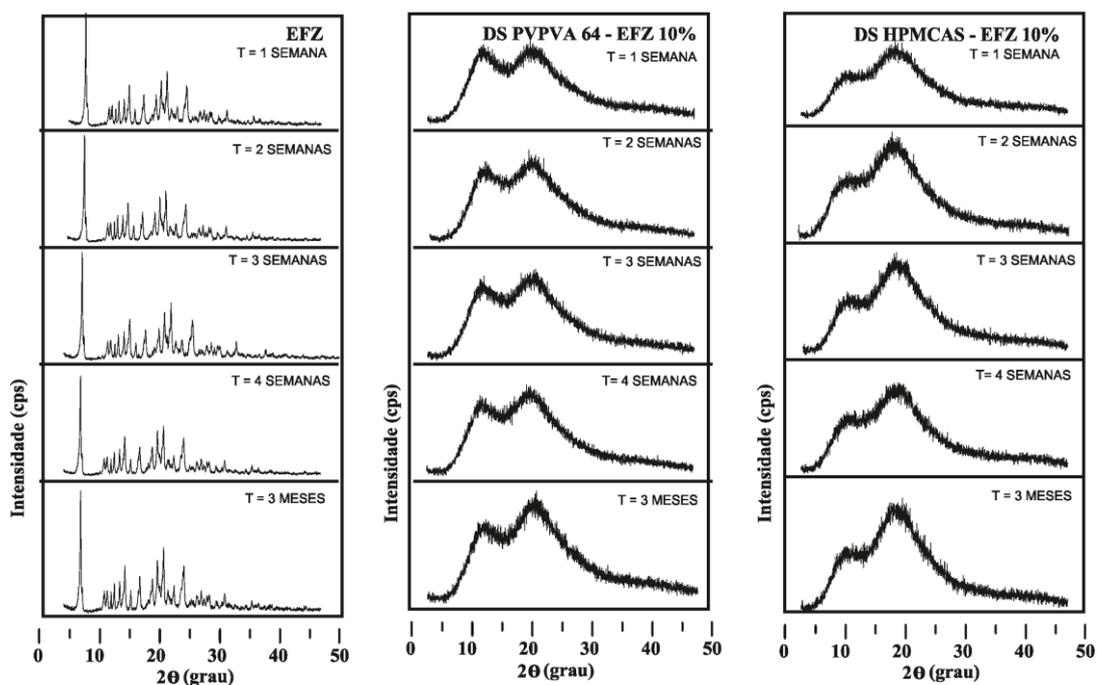
5.1.7 Estudo de estabilidade

Para o estudo de estabilidade física escolheu-se as DS que apresentaram melhor desempenho nos ensaios de dissolução. As amostras foram examinadas através de DRX após exposição às condições de armazenagem para o estudo acelerado ($40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \text{ UR} \pm 5\%$) ao longo de 3 meses. A figura 21 mostra as curvas DRX das dispersões sólidas com 10% dos polímeros PVPVA 64 e HPMCAS examinadas após o estudo ao longo das primeiras semanas do primeiro mês, segundo e terceiro mês de exposição das condições de estudo.

A transformação da forma amorfa do fármaco na cristalina é acelerada com condições como a umidade relativa alta, temperatura elevada e envelhecimento das amostras (KONNO; TAYLOR, 2006). Sendo assim, o estudo de estabilidade acelerada permite avaliar em um curto espaço de tempo qual sistema de dispersão sólida será mais eficaz em prevenir essa transformação ao longo do tempo.

Com base nos resultados preliminares do estudo de estabilidade, pode-se observar que não ocorreu transição entre a forma amorfa e cristalina do EFZ durante os três meses de estabilidade, sendo ambos os polímeros capazes de inibir a cristalização do fármaco.

Figura 18 - Espectros de DRX do EFZ e das dispersões sólidas com PVPVA 64 e PVP K-30 após armazenamento sob condições do ICH para estudo de estabilidade acelerada (~75% UR a 40°C). O tempo de mudança (T) indica o tempo de exposição às condições.

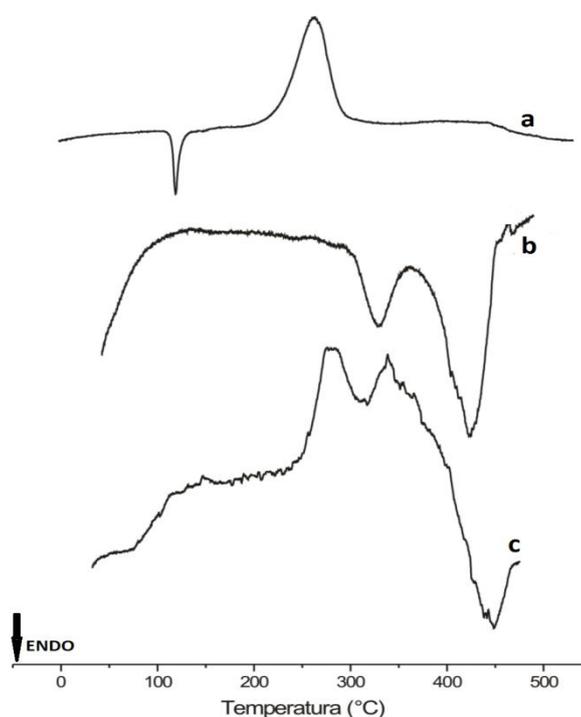


5.2 PARTE II: CARACTERIZAÇÃO E ESTUDO DE ESTABILIDADE TÉRMICA DO EFAVIRENZ E DA DISPERSÃO SÓLIDA COM PVPVA 64 POR ANÁLISE TÉRMICA E PIRÓLISE ACOPLADA A CG/MS

5.2.1 Caracterização térmica

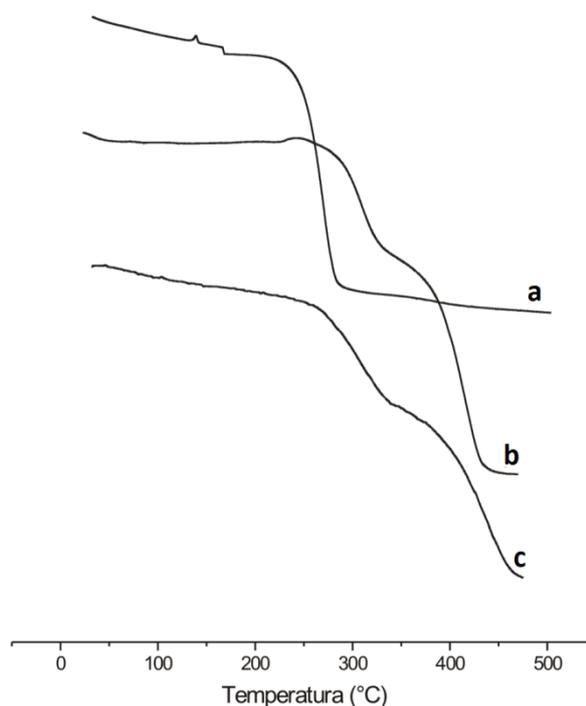
As figuras 22 e 23 representam as curvas TG e DSC do EFZ, PVPVA 64 e da DS PVPVA 64 EFZ 10%, respectivamente. A curva DSC do EFZ mostrou um pico endotérmico correspondente ao evento de fusão, ($T_{\text{pico}} = 140^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{onset}} = 138$; $\Delta H_{\text{fusão}} = -70,58 \text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$), caracterizando o fármaco na sua forma cristalina. Os eventos exotérmicos na sequência correspondem ao processo de degradação, que ocorre em uma única etapa definida, como mostra a curva TG (figura 15a), na faixa de temperaturas de 210°C até a 255°C e com perda de massa $\Delta m = 86,16\%$ (FANDARUFF et al., 2013; VIANA et al., 2008).

Figura 19 - Curvas DSC do EFZ (a), KL (b) e da DS PVPVA 64 - EFZ 10% (c) obtidos em atmosfera de dinâmica do nitrogênio ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$.



Fonte: autoria própria

Figura 20 - Curvas TG do EFZ (a), KL (b) e da DS PVP VA 64 - EFZ 10% (c) obtidos em atmosfera de dinâmica do nitrogênio ($50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$) e taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$



Fonte: autoria própria

Na figura 22b pôde-se observar a Tg do PVPVA 64 na faixa de $100 - 104^\circ\text{C}$ representada por uma leve mudança na linha de base, seguida por dois eventos endotérmicos, referentes à sua degradação, que podem ser melhor visualizados pela curva TG (Figura 23b). Tal processo ocorre em dois eventos bem definidos. O primeiro evento na faixa de temperatura entre 270°C e 350°C e o segundo entre 350°C e 450°C , mostrando ser um polímero bastante estável termicamente (KOLTER et al., 2012).

Para fins farmacêuticos, o uso da análise térmica é descrito na caracterização, determinação de pureza e de umidade, identificação de polimorfos, na avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos através de estudos de cinética de degradação térmica (OLIVEIRA, 2011). Outro grande potencial é a sua utilização na caracterização de DS, que segundo Baird e Taylor (2012) uma das principais contribuições desta técnica é a determinação da estabilidade física de uma DS, através, principalmente, da avaliação da mobilidade molecular, comportamento de cristalização e miscibilidade entre o fármaco e polímero.

Analisando a curva DSC (figura 22c) observa-se que houve desaparecimento do pico de fusão do fármaco, conforme descrito na seção 5.1.5.1. Além disso, a curva TG (figura 23c), demonstrou que a DS permaneceu termicamente estável até a temperatura

de 270°C, podendo-se sugerir que o polímero promoveu uma proteção térmica ao fármaco.

5.2.2 Pirólise CG/MS

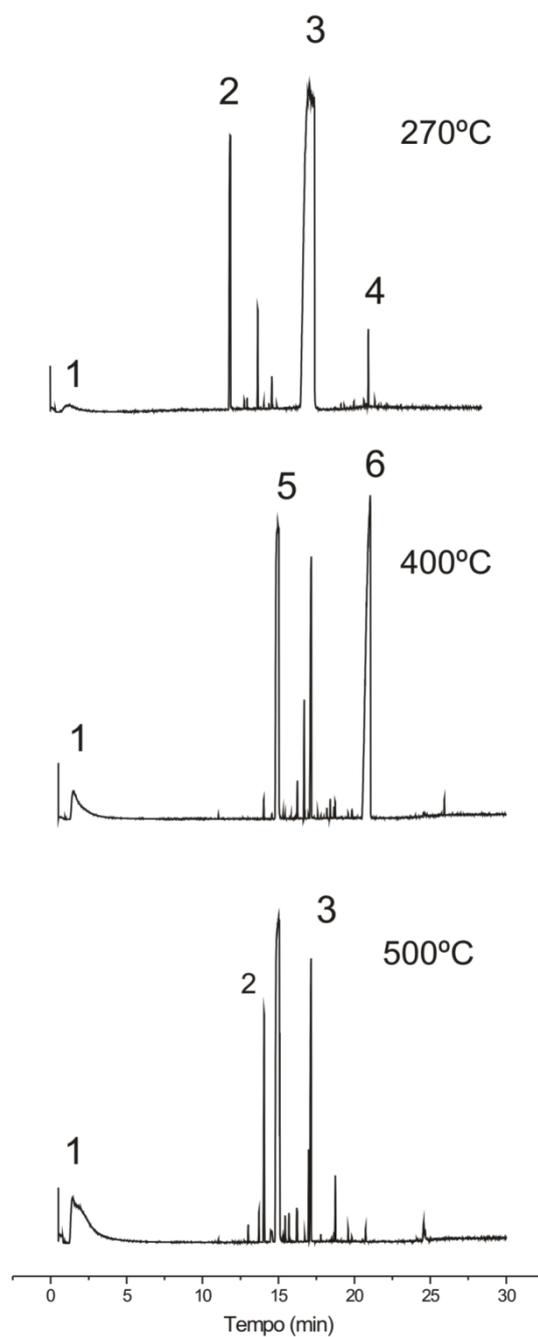
Os produtos de degradação correspondentes à fase de perda de massa do EFZ foram identificados através de pirólise acoplado a CG/MS. A Figura 24 mostra os pirogramas obtidos a temperaturas de 270, 400 e 500°C, onde foi possível identificar a fragmentação do EFZ durante a decomposição térmica.

O pico do íon molecular do EFZ não foi identificado nos espectros de massas (EM). Confirmando, desta forma, que na faixa de temperatura de 230 a 255°C a perda de massa observada na curva termogravimétrica (figura 14a), corresponde a degradação do fármaco. Esse fato significa que a partir desta temperatura não existe a presença de EFZ intacto (OLIVEIRA et al., 2011; MOURA et al., 2010).

Através do conhecimento do mecanismo de degradação do EFZ por hidrólise proposto por Maurin et al. (2002) foi possível identificar os mesmos produtos de degradação obtidos na decomposição térmica por pirólise, assim como foi possível propor outros produtos, que estão sumarizados na tabela 4.

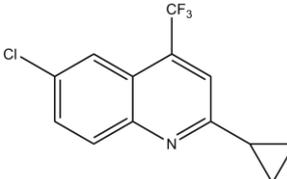
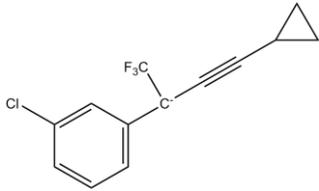
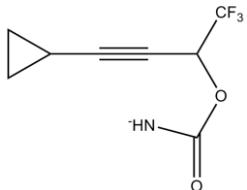
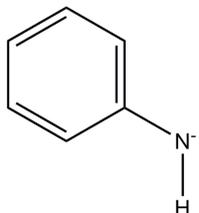
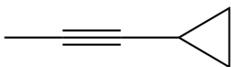
Desta maneira, é possível sugerir que a molécula do EFZ sofre fragmentação térmica em seus sítios mais propensos à quebra, uma vez que a maioria dos fragmentos observados apareceu nas diferentes temperaturas, mostrando que, possivelmente, os mesmos não sofrem fragmentações secundárias, o que torna a técnica elucidativa no que diz respeito à identificação de fragmentos de decomposição térmica.

Figura 21 - Pirogramas obtidos do EFZ nas temperaturas 270, 400 e 500°C mostrando os produtos de degradação do processo de decomposição térmica do fármaco.



Fonte: autoria própria

Tabela 4 - Produtos de degradação térmica do EFZ obtidos através da pirólise CG/MS.

Pico	m/z	Fórmula molecular	Fórmula estrutural
1	44	CO ₂	
2	270	C ₁₃ H ₉ Cl N F ₃	
3	256	C ₁₃ H ₈ ClNOF ₃	
4	207	C ₈ H ₇ O ₂ NF ₃	
5	91	C ₆ H ₆ N	
6	77	C ₆ H ₅	

Fonte: autoria própria

5.2.3 DSC-fotovisual

O DSC-fotovisual apresenta um microscópio acoplado na parte superior do equipamento, permitindo uma visualização das alterações morfológicas da amostra durante o aquecimento e/ou resfriamento (STORPITIS et al., 2009).

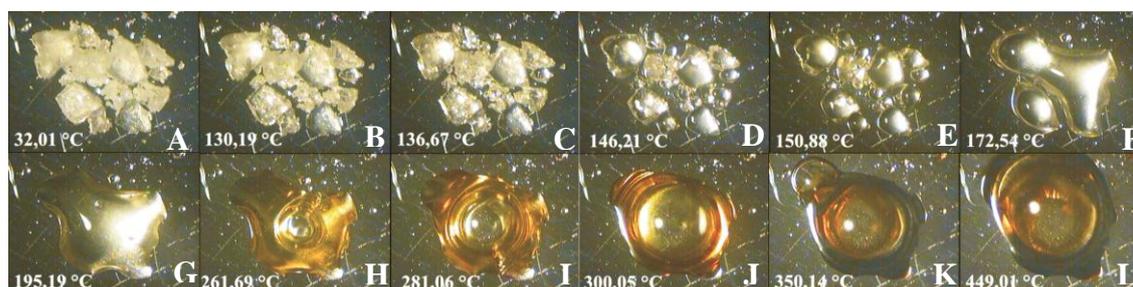
As imagens capturadas durante a análise do DSC-fotovisual da amostra DS PVPVA 64 - EFZ 10% estão ilustradas na Figura 25, mostrando ausência da forma

crystalina do EFZ na DS assim como foi revelado na seção 5.1.5.2, resultado também corroborado através da análise de DSC, uma vez que a curva não apresentou pico de fusão referente ao fármaco (MEDEIROS, 2013).

Os sólidos amorfos, como os polímeros em estudo, tem a capacidade de exibir comportamento tanto de líquido quanto de sólido a depender da temperatura do sistema. Assim, a baixas temperaturas, materiais amorfos exibem propriedades estruturais de sólidos normais, porém a uma determinada temperatura conhecida como temperatura de transição vítrea (T_g) estes materiais começam a exibir um estado viscoso. (BAIRD;TAYLOR, 2012; BEYLER; HIRSCHLER, 2002).

Desta forma, nas figuras 25d-g visualiza-se a transição do estado sólido para o viscoso do PVPVA 64. Em seguida pôde ser observada a mudança na cor do amarelo para castanho-escuro, sugerindo se tratar da degradação da DS de acordo com a curva TG (Figura 23) (MACÊDO; NASCIMENTO, 2001; MACÊDO; NASCIMENTO, 2002; SILVA et al., 2009).

Figura 22- Fotomicrografias do DSC-fotovisual da DS EFZ:KL 10%.



Fonte: autoria própria

5.2.4 Cinética de degradação

De acordo com Costa (2013), as cinéticas de degradação térmica são efetivamente utilizadas na determinação dos parâmetros cinéticos, tais como, ordem de reação, energia de ativação (E_a) e fator de frequência (A). Através dos quais é possível determinar a estabilidade térmica de fármacos e formulações farmacêuticas e até mesmo caracterizá-los. Vale ressaltar, que no estudo isotérmico existe a possibilidade de determinar o prazo de validade por extrapolação, utilizando a equação de Arrhenius.

Neste estudo foi aplicado o método de Ozawa disponível no software TASYs Shimadzu (Kinetic Analysis TG), realizado através da utilização das curvas TG não-

isotérmica. O método é baseado nos cálculos da integral a partir da equação da Arrhenius para calcular os parâmetros cinéticos no início da etapa de decomposição térmica em torno de 270- 340°C, tal etapa representa o primeiro evento de perda de massa, a qual teoricamente está relacionado com a degradação do EFZ na DS. Para aplicação deste método é necessário a obtenção de pelo menos três curvas TG em diferentes razões de aquecimento. Este trabalho utilizou 3 curvas TG nas razões de aquecimento 7,5, 10 e 15°C.mim⁻¹.

Na figura 26 são mostradas as curvas TG das DS obtidas através do método não isotérmico juntamente com o gráfico do logaritmo da razão de aquecimento em função do inverso da temperatura absoluta, após o tratamento de dados pelo método de Ozawa, enquanto que na figura 27 observa-se o gráfico da massa residual G(x) em função do tempo reduzido. A partir da plotagem do gráfico G(x) em função do tempo reduzido (min), que promove a formação de uma linha reta, pôde-se escolher o melhor mecanismo de reação através de tratamento estatístico de modelo de regressão linear, realizando a escolha do valor de coeficiente de correlação linear (r^2) o mais próximo da unidade (Tabela 5).

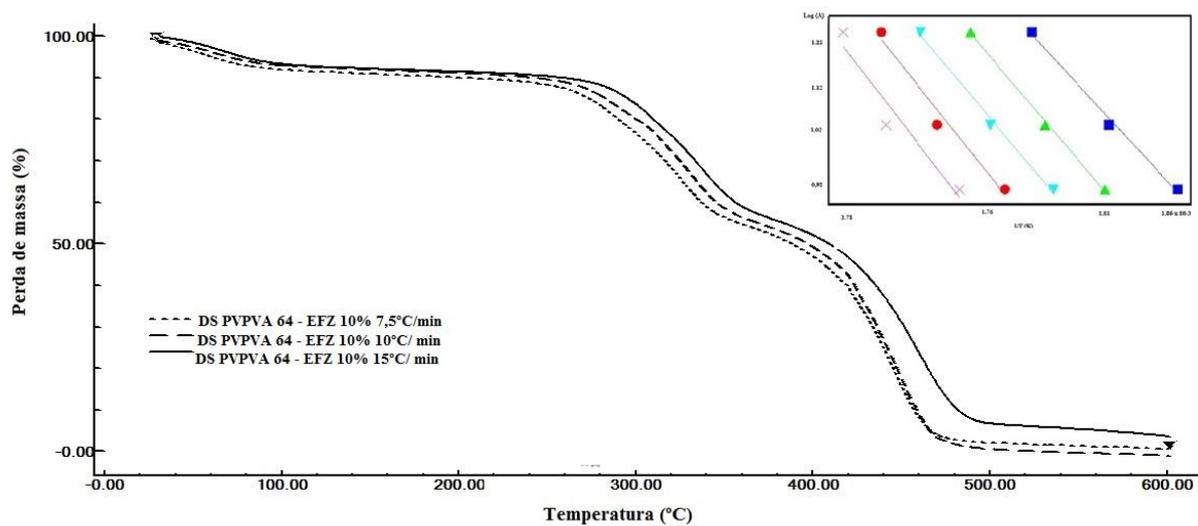
Nesse caso, o primeiro evento de degradação foi caracterizado como reação de primeira ordem (n=1) por apresentar $r^2=0,9861$, considerado mais significativo que aqueles obtidos para n=0 e n=2. Os demais parâmetros cinéticos foram mensurados a partir da escolha do melhor modelo reacional. A E_a calculada pelo método de Ozawa apresentou um valor de 101,6 kJ/mol e A de $8,724 \times 10^7 \text{min}^{-1}$ (Tabela 6). Tais parâmetros mostraram-se diferentes quando comparados com o fármaco isolado, como mostraram Fandaruff et al. (2013) e Viana et al. (2008)

Tabela 5 - r^2 das ordens de reações da cinética de degradação obtidas pelo modelo não isotérmico.

r^2	r^2	r^2
Ordem Zero	Ordem Um	Ordem Dois
0,9827	0,9861	0,7995

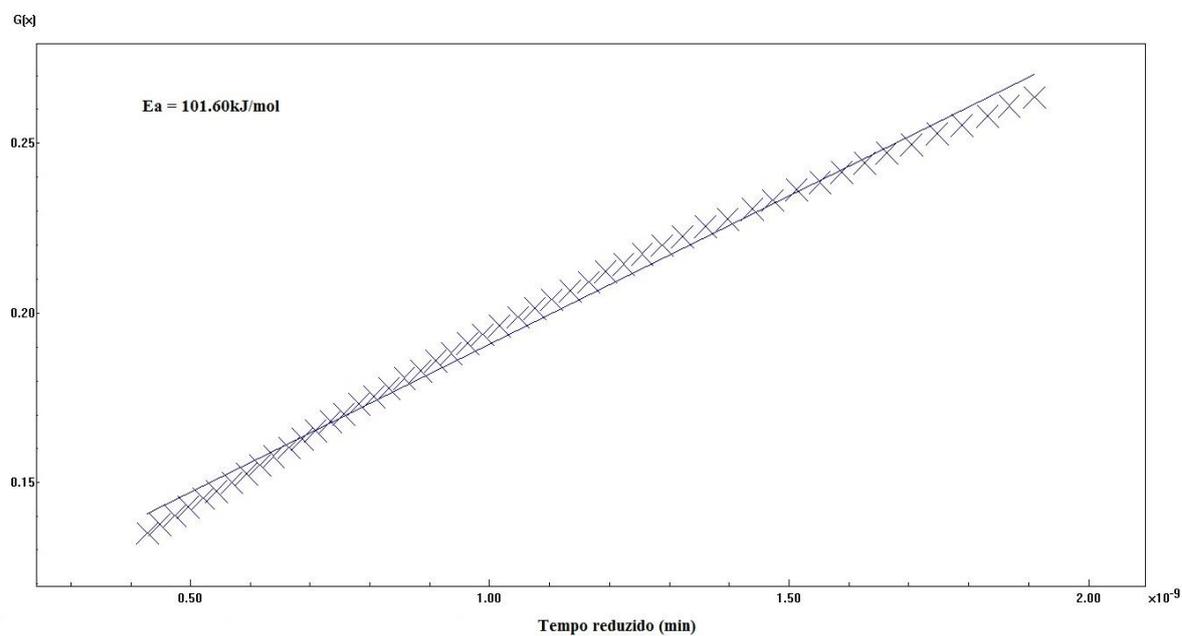
Fonte: autoria própria

Figura 23- Curvas TG e o gráfico de Ozawa da DS PVP VA64 - EFZ 10% obtido em cinco razões de aquecimento sob atmosfera dinâmica de nitrogênio no método não-isotérmico.



Fonte: autoria própria

Figura 24- Massa residual $G(x)$ em função do tempo reduzido.



Fonte: autoria própria

Ocorreu um aumento na E_a e uma diminuição do A resultando, desta forma, em um aumento na estabilidade do EFZ. Bem como a ordem de reação mudou de zero para um. O resultado sugere que a reação de degradação da DS envolve mais de uma etapa, ocorrendo através de mecanismos complexos (TITA et al., 2013).

A superposição das três curvas TG obtidas em diferentes taxas de aquecimento, são deslocadas para temperaturas mais elevadas quando as taxas de aquecimento aumentam. Uma tendência linear é demonstrada pela correlação das três curvas representada pelo o gráfico de Ozawa (FANDARUFF et al., 2013; COSTA et al., 2013; TITA et al., 2013).

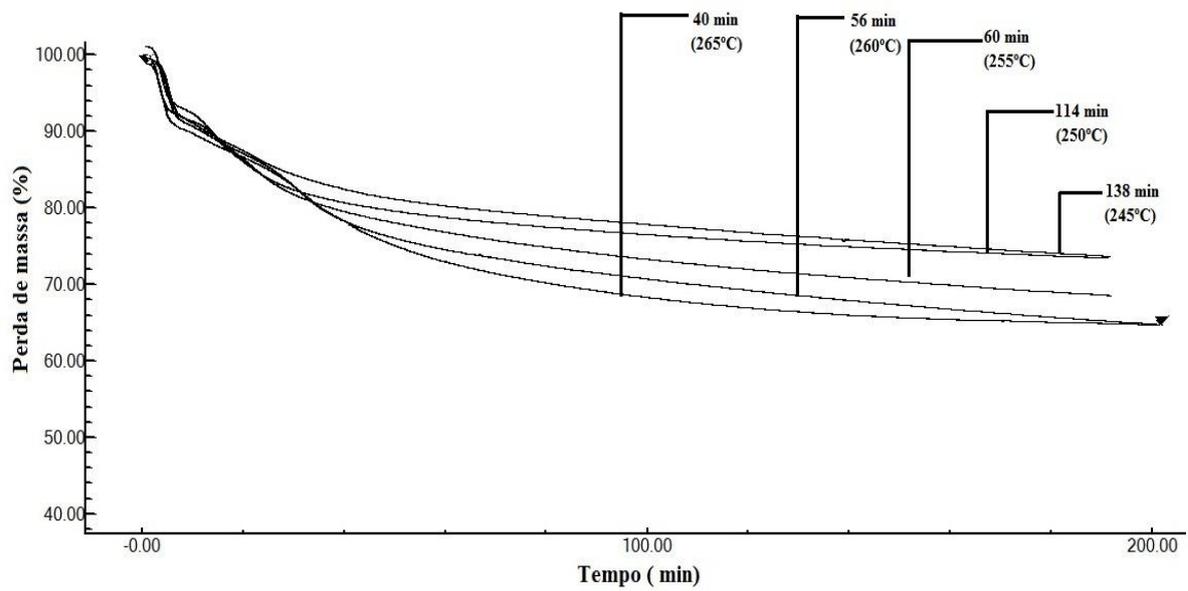
Tabela 6 - Energia de ativação e parâmetros cinéticos obtidos pelos métodos não isotérmico e isotérmico.

Amostra	Não- isotérmico				Isotérmico		
	E_a (kJ mol ⁻¹)	A (min ⁻¹)	Ordem de reação	r^2	E_a (kJ/mol ⁻¹)	Ordem de reação	r^2
EFZ*	93.24	1.67×10^8	0	-	91.58	0	0.9634
DS PVP VA 64/EFZ 10%	101,6	$8,72 \times 10^7$	1	0,9861	132,508	1	0,9669

Fonte: autoria própria. * Dados obtidos de Fandaruff et al. (2013)

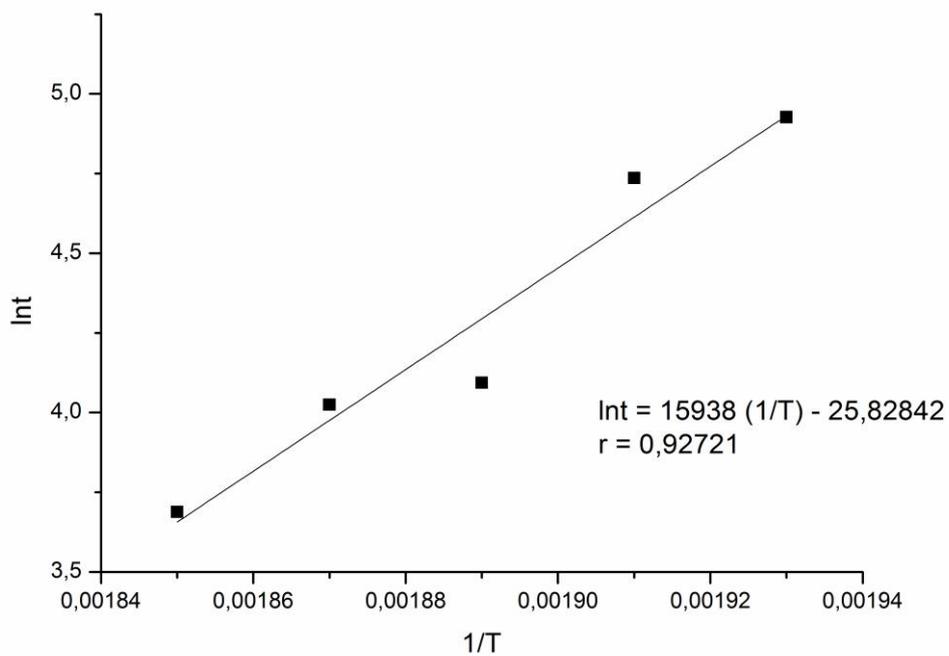
As curvas TG isotérmicas para a primeira etapa de decomposição das DS EFZ/KL 10% são mostradas na Figura 28. Estas curvas indicam a dependência da taxa de perda de massa na isotérmica com a temperatura, ou seja, quanto maior for a temperatura, menor é o tempo necessário para alcançar a mesma perda de massa. Estas curvas foram utilizadas para traçar o gráfico da $\ln t$ versus o inverso da temperatura, $1/T$ (K⁻¹), também chamado de gráfico de Arrhenius (Figura 29), onde a equação da reta foi obtida por regressão linear ($y = ax + b$), para avaliar a validade do modelo cinético, mensurar a linearidade e o r^2 (Figura 28) (COSTA et al., 2013; FANDARUFF et al., 2013;).

Figura 25- Curvas isotérmicas da DS EFZ/KL 10% em diferentes temperaturas na atmosfera de N₂ (50 mL min⁻¹).



Fonte: autoria própria

Figura 26 - Gráfico de Arrhenius.



Fonte: autoria própria

Além disso, essas curvas foram utilizadas para realizar os cálculos para determinação da ordem de reação utilizando o modelo de Arrhenius. Estes dados foram plotados e estão representados na tabela 7. A escolha da ordem de reação foi determinada a partir dos valores de r^2 , cujos valores mais próximos da unidade foi a ordem de escolha, confirmando-se a ordem um (PEREIRA, 2013).

Tabela 7 - Correlação das ordens de reação da cinética de degradação isotérmica nas temperaturas 245, 250, 255, 260 e 265°C da DS PVP VA64 - EFZ 10%.

Temperatura (°C)	r^2	r^2	r^2
	Ordem 0	Ordem 1	Ordem 2
245	0,9893	0,994	0,9919
250	0,9657	0,9739	0,97
255	0,9153	0,9831	0,978
260	0,9847	0,9922	0,9888
265	0,8806	0,9008	0,8909
Média	0,94712	0,96688	0,96392

Fonte: autoria própria

O valor da E_a para a DS PVPVA 64 – EFZ 10% foi de 132,508 kJ mol⁻¹, calculada a partir do produto do coeficiente angular da inclinação da reta com a constante geral dos gases (R) (8,314 J mol⁻¹ K⁻¹) (Tabela 6).

Calculou-se a estabilidade (em dias) com base na equação de Arrhenius, utilizando 25°C como padrão de temperatura ambiente. O resultado foi um tempo estimado de estabilidade térmica de 214 dias, ou seja, aproximadamente, 7 meses para um decaimento de 10% de massa.

Pode-se observar um aumento da E_a da DS, independentemente do método utilizado, quando se compara com o EFZ isolado, tal resultado pode sugerir uma ausência de incompatibilidade entre o polímero e o fármaco, bem como um aumento na estabilidade térmica.

As experiências combinadas utilizando condições isotérmica e não isotérmica é considerada a melhor maneira de determinar corretamente os parâmetros cinéticos (TITA et al., 2013). Neste caso, foi possível perceber uma boa aplicabilidade dos métodos, tendo em vista que o valor de r^2 , na correlação linear, foi próximo a um.

5.2.5 Determinação da Energia de Ativação (Ea): “*Model-Free Analysis*”

A importância da realização de estudos cinéticos de degradação aplicada à fármacos foi anteriormente apresentado. Tais estudos são utilizados para encontrar o modelo cinético mais provável e que forneça a melhor descrição do processo estudado, além de obter os parâmetros cinéticos (triplete cinético), como energia de Ativação, Fator de frequência e Ordem de Reação (OLIVEIRA et al., 2011).

Esses estudos de cinética de degradação por TG, geralmente são realizados através dos modelos experimentais, isotérmico e não isotérmico. A determinação dos parâmetros cinéticos para o EFZ e a DS PVPVA 64 – 10% foi realizada nos modelos isotérmico e não isotérmico aplicando-se o método de Ozawa.

Diante disso, deu-se continuidade a uma análise mais profunda da cinética, que foi realizada de acordo com as recomendações feitas pelo ICTAC 2000, nomeadamente a utilização de métodos isoconversionais.

Os métodos isoconversionais permitem a avaliação da Ea sem o conhecimento da função matemática que descreve o modelo de reação ($g(x)$). Sua hipótese básica é que o modelo de reação não é dependente, nem da temperatura nem da razão de aquecimento como Ozawa (BIANCHI et al., 2010; ORNAGHI et al., 2013).

A aplicação dos modelos do tipo “*Model-free Analysis*” foi realizada com base nas curvas TG (Figura 23a). Após o tratamento dos dados foram obtidos os gráficos do tipo *Conversão de massa / α vs Temperatura /K*. Em seguida foram calculados os valores do grau de conversão em função da razão de aquecimento (β), para os níveis conversionais (α) entre 5 a 95%. A partir desses dados foi realizada a determinação dos parâmetros cinéticos aplicando os métodos de Friedman, Flynn-Wal-Ozawa e Kissinger-Akahura-Sunoses.

As Figuras 30 e 31 mostram a relação entre α e temperatura nas diferentes razões de aquecimento (2,5, 7,5 e 15°C), e como esperado, à medida que aumenta a razão de aquecimento, as frações de conversões passam a ocorrer em temperaturas mais elevadas.

Figura 27 - Curvas de conversão experimental ($\alpha - T$) para o processo de decomposição térmica do EFZ em atmosfera de nitrogênio em diferentes razões de aquecimento.

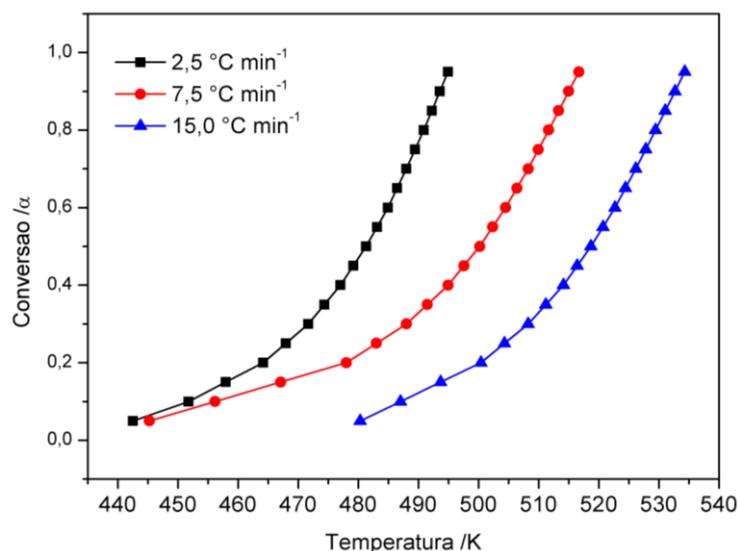
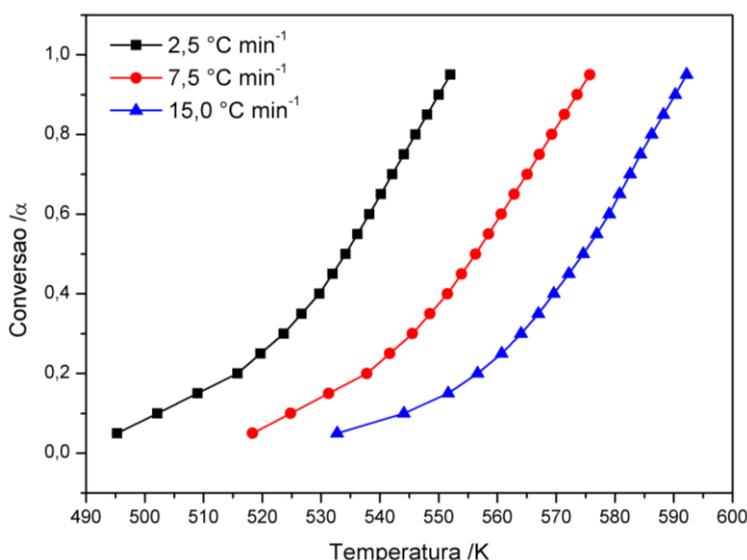


Figura 28- Curvas de conversão experimental ($\alpha - T$) para o processo de decomposição térmica do DS PVPVA 64 - EFZ 10% em atmosfera de nitrogênio em diferentes razões de aquecimento.

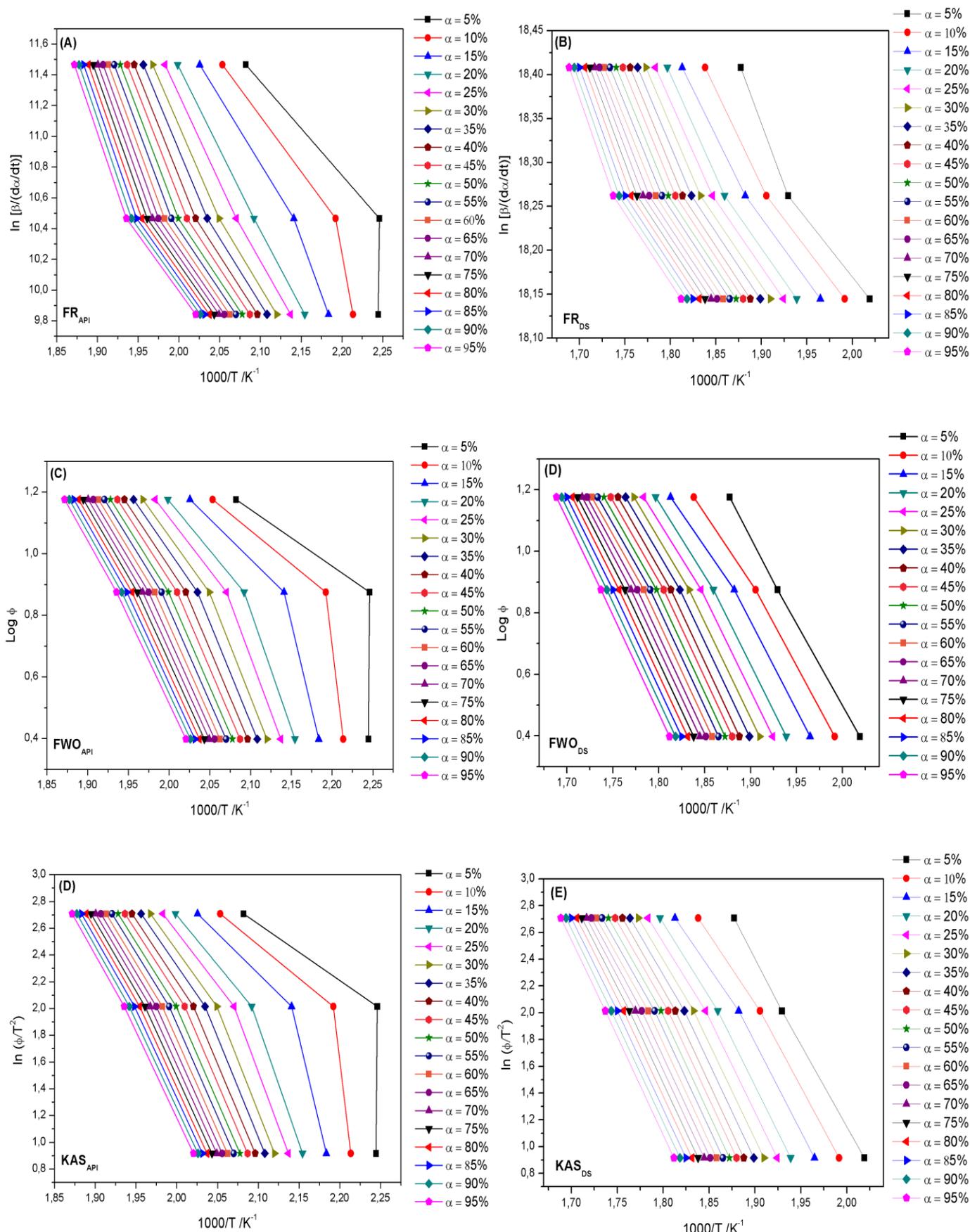


Os gráficos isoconversionais e os valores de E_a obtidos através dos modelos escolhidos para o EFZ e a DS PVPVA 64 – 10% estão representados na Figura 32 e 33 respectivamente.

Em todos os modelos apresentados, para ambas as amostras, as retas obtidas do ajuste linear apresentam um espaçamento irregular entre as curvas para as frações de 5 a 35%. O paralelismo destas retas é observado a partir de 40% de conversão de massa,

onde apresentam um comportamento cinético semelhante, indicando que provavelmente o mecanismo de reação para essas faixas de conversão é o mesmo, ou, possivelmente existe uma unificação dos mecanismos de reações múltiplas (ORNAGHI et al., 2013).

Figura 29 - Gráfico de FR, FWO e KAS utilizado o EFZ e DS PVPVA 64 – 10%

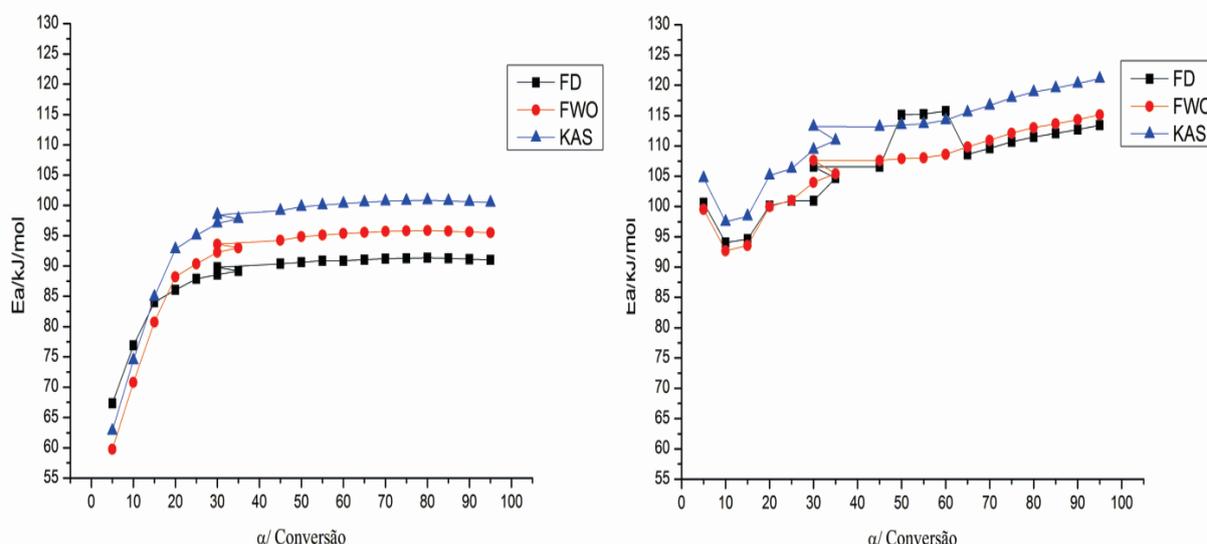


A ocorrência do não paralelismo das retas entre 5 e 35% de conversão indica que existe mudanças nos mecanismos de reação no início do processo de decomposição. Segundo Ornaghi e colaboradores (2013) esse tipo de comportamento observado sugere a ocorrência de dois modelos cinéticos de degradação térmica.

Assim, mecanismos distintos apresentam diferentes valores de energia de ativação. Dessa forma, podemos concluir que a aplicação dos modelos do tipo “model-free Analysis” foi satisfatória para as frações de 40 a 95%, uma vez que apresentaram coeficientes de correção na ordem de 0,99. Vale salientar que o comportamento da DS PVPVA 64 – EFZ 10% as frações entre 5 e 35% os coeficientes de correlação encontrado ficaram em torno de 0,78 a 0,98%.

A Figura 33 demonstra o comportamento da E_a de decomposição térmica em função do grau de conversão, calculada a partir dos métodos de FR, FWO e KAS. Ao observar o EFZ, o mesmo apresenta os menores valores de E_a , sugerindo a formação de sistemas menos estáveis. Com a elaboração da DS, demonstrou um aumento da estabilidade do sistema tendo em vista que os valores de E_a foram superiores ao determinado para o fármaco puro. Vale salientar que a energia de ativação varia com o aumento do grau de conversão, o que pode indicar uma variação nos mecanismos de decomposição do material analisado. Portanto fica evidente que a E_a necessária para que ocorra a degradação para cada fração de conversão de uma substância é diretamente proporcional a sua estabilidade térmica (BIANCHI, et al., 2010).

Figura 30– Dependência da energia de ativação com o grau de conversão da reação de decomposição calculada pelos métodos do tipo “Model-Free Analysis” para EFZ e DS PVPVA 64 – 10% respectivamente



Pode-se observar também que os valores das E_a do EFZ sofreram um aumento contínuo no processo de decomposição para as frações de 5 a 35%, variando de 60kJ/mol para 97kJ/mol. Para a faixa de conversão compreendida entre 40 e 95% os valores de E_a tiveram uma discreta variação de 98kJ/mol para 100kJ/mol. A observação do aumento agudo nos valores de E_a nas primeiras faixas de conversão e posteriormente a manutenção quase constante da E_a , é corroborada pela observação dos coeficientes de correlação e paralelismo das retas no gráfico de FWO, onde podemos sugerir que o mecanismo de decomposição do EFZ ocorre em dois modelos cinéticos de degradação térmica.

Para a DS PVPVA 64 – EFZ 10%, de acordo com a Figura 33, pode-se observar praticamente o mesmo comportamento do EFZ, sugerindo que mecanismo de decomposição segue dois modelos cinéticos de degradação térmica, evidenciado pela ascendência das retas. No entanto, é visto que ocorre uma pequena variação de E_a nos processos de decomposição para todas as frações conversão, variando entre 100kJ/mol e 120kJ/mol. Desta forma, pode-se propor que o fato de o EFZ estar veiculado em uma DS, além de melhorar a estabilidade térmica, os processos de decomposição ocorrem de forma mais uniforme, uma vez requerem pequenas variações de energia.

5.2.6 Determinação do provável mecanismo de decomposição

Foi realizada a construção das curvas mestras $Z(\alpha)$ teóricas, utilizando os diferentes modelos mostrados na Tabela 2. A curva mestra $Z(\alpha)$ experimental foi obtida através dos valores de energia de ativação calculados pelo método de FWO. A comparação entre os gráficos teóricos $g(\alpha)/g(\alpha)_{0,5}$ vs conversão α e os experimentais estão exibidos na Figuras 34 e 35.

O controle do processo de degradação térmica para o EFZ (Figura 34) faz por mecanismos do tipo contração geométrica (R_n) até valores de conversão de 0,15. Após esta etapa a degradação passa a exibir um comportamento do tipo nucleação (A_n) até o final do processo de decomposição analisado pelos mecanismos do tipo Nucleação e crescimento unidimensional Avrami –Erofeyev A_2 , A_3 e A_4 . Ao avaliar o processo de decomposição térmica da DS PVPVA 64 – EFZ 10% (Figura 34) observou-se o mesmo comportamento.

Figura 31– Curva mestra $Z(\alpha)$ em função de α utilizada na determinação do mecanismo de decomposição para EFZ

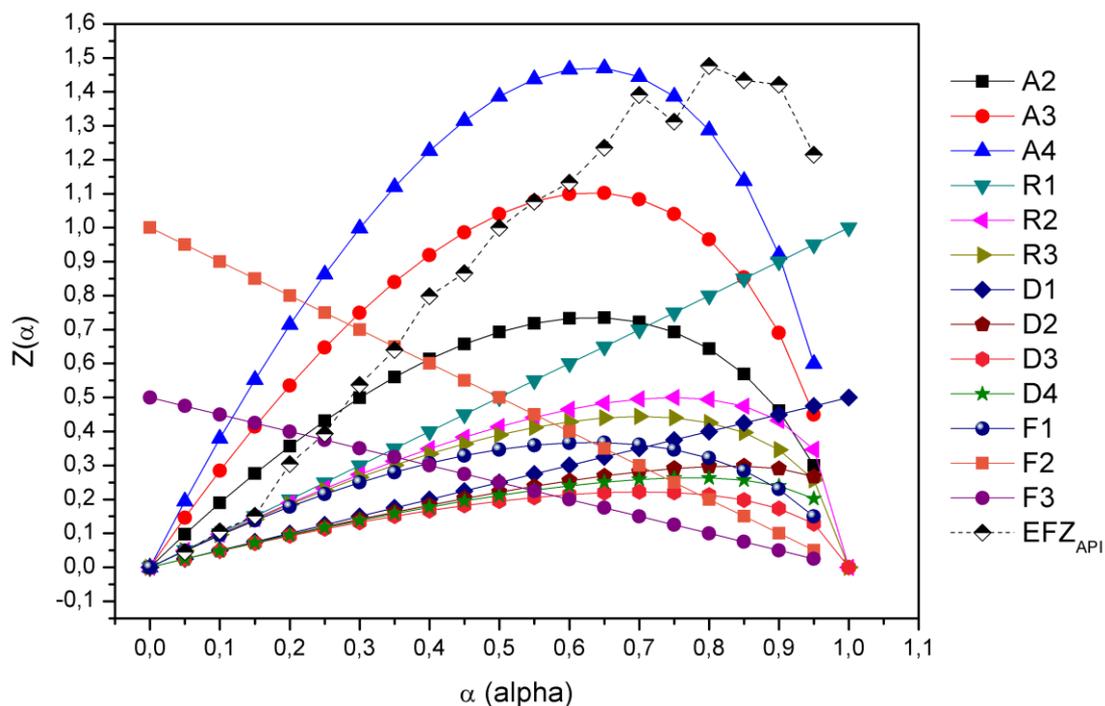
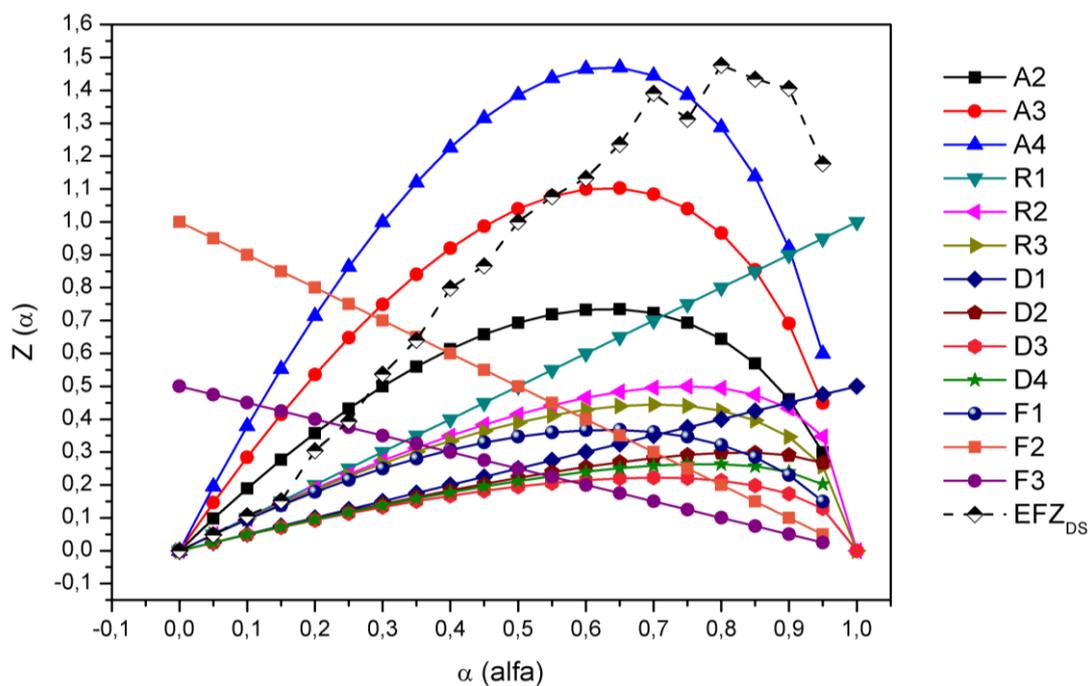


Figura 32 – Curva mestra $Z(\alpha)$ em função de α utilizada na determinação do mecanismo de decomposição para DS PVPVA 64 – EZF 10%



Diante do exposto, as principais vantagens resultantes da aplicação dos métodos Model-Free Analysis residem em vários aspectos, como a detecção de processos complexos que ocorrem durante a decomposição das amostras, a estimativa da independência do valor de E_a contra o grau de conversão (α) e, assim, indicando se o mecanismo da decomposição térmica é dependente ou independente com a modificação da temperatura. Como principal vantagem, pode-se notar que, na avaliação do triploto cinético, a utilização de métodos isoconversionais não é necessário o conhecimento do modelo de reação.

5.3 PARTE III: Co-VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS

5.3.1 Co-validação do método analítico

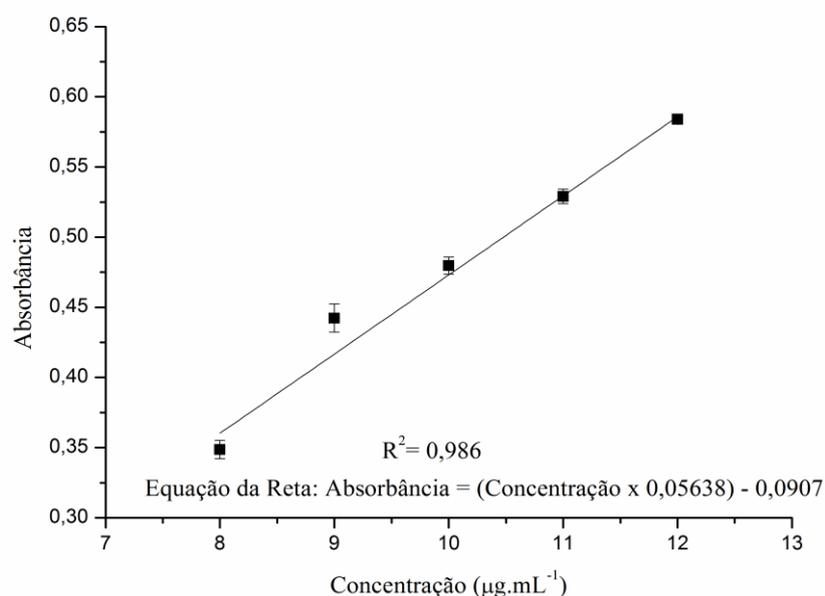
A modificação do preparo da amostra que consistia em, ao invés de promover a diluição em solução hidroalcoólica (1:1), realizar em solução tampão fosfato pH 6,8 para alcançar a concentração de leitura, demonstrou-se satisfatória. O teste *t student* foi utilizado para evidenciar se houve diferença entre as médias obtidas. . Nesse caso, a hipótese nula (H_0) deve ser aceita, uma vez que o t_{cal} foi menor que o t_{tab} com 95% de intervalo de confiança e 5 graus de liberdade (tabela 8). Isso implica em dizer que as médias obtidas são estatisticamente iguais entre si e que a diluição pode ser realizada utilizando a solução tampão pH 6,8 para o preparo da amostra.

Tabela 8 - Comparação entre os resultados obtidos das análises realizadas com as diferentes formas de preparação de amostra e tratamento estatístico presumindo diferentes variâncias

Preparo da amostra	Amostras – Concentração ($\mu\text{g/mL}$)			Média ($\mu\text{g/mL}$)	Desvio Padrão	t_{cal}	$t_{(0,95,5)}$
	1	2	3				
Diluição (Tampão)	9,82	9,90	9,78	9,83	0,003		
Diluição (hidroalcoólica)	10,67	10,72	10,84	10,84	0,004	0,00001	2,776

Os resultados dos pontos obtidos das três curvas autênticas de amostras de EFZ estão plotados na figura 36. Através da análise de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $r^2=0,986$. Esse valor indica que 98,6% da variação total em torno da média é explicada pela regressão. Assim, de fato há uma correlação linear entre as duas variáveis (absorbância e concentração), uma vez que os parâmetros estão dentro dos limites mínimos preconizados ($r^2 \geq 0,99$) (ICH, 1995^b).

Figura 33 - Gráfico de regressão linear do parâmetro linearidade



Os valores dos LD e LQ foram 0,174 e 0,58 µg.mL⁻¹, respectivamente. Tais valores indicam que o método é bastante sensível no que tange à detecção e quantificação do fármaco sem grandes interferências do equipamento.

O método mostrou-se preciso nos níveis avaliados: repetitividade e precisão intermediária. No que tange a repetitividade (tabela 10), os resultados obtidos mostraram-se satisfatórios, apresentando a média de 10,02825 ± 0,052149 µg.mL⁻¹ com coeficiente de variância de 0,520022%, sendo esse valor abaixo do limite máximo preconizado pela ANVISA (5%) (BRASIL, 2003).

Quanto à precisão intermediária (tabela 10), foi evidenciado através de tratamento estatístico por *ANOVA two-way*, que o método demonstrou-se preciso para

as análises efetuadas por analistas diferentes tanto no mesmo dia quanto em dias diferentes. Isso se deve ao fato de que os valores de F calculados foram sempre menores que os F tabelados (críticos).

Tabela 10 - Resultados obtidos para as análises do parâmetro precisão e tratamento estatístico através de coeficiente de variância e ANOVA *one-way* e ANOVA *two-way*.

Repetibilidade								
	1	2	3	4	5	6	Média ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) \pm DP	CV (%)
Amostra	9,86	10,18	10,03	10,30	10,32	10,08	10,13 \pm 0,17	1,72
Precisão Intermediária								
	Dia 1	Dia 2	ANOVA two-way: Analista	ANOVA two-way: Dia				
Analista 1	10,27	10,07	F calculado: 2,73	F calculado: 0,48				
Analista 2	10,29	9,43	F tabelado: 18,51	F tabelado: 18,51				

A exatidão do método foi avaliada comparando cada uma das concentrações teóricas e reais, através de teste *t student* presumindo variâncias equivalentes. Os resultados do parâmetro mencionado estão dispostos na tabela 11.

Tabela 11 - Resultados obtidos para as análises do parâmetro exatidão e tratamento estatístico teste *t student* presumindo variâncias equivalentes.

Concentração ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Resultados			Média ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) \pm DP	Teste <i>t student</i>
	1	2	3		
5	6,22	6,00	6,43	6,22 \pm 0,21	t calculado (bi-caudal): 0,03 t tabelado (bi-caudal): 4,30
10	10,76	10,03	10,08	10,29 \pm 0,40	t calculado (bi-caudal): 0,59 t tabelado (bi-caudal): 4,30
15	15,05	13,98	14,46	14,50 \pm 0,53	t calculado (bi-caudal): 0,50 t tabelado (bi-caudal): 4,30

Conclusões

6 CONCLUSÃO

- Através dos estudos teórico e prático foi possível selecionar os seguintes carreadores para compor a DS: PVP K-30, PVPVA 64, SOLUPLUS e HPMCAS. Ligação de hidrogênio entre o EFZ e os carreadores foi possível. Além disso, fármaco e polímero mostraram-se miscíveis entre si após a obtenção de filmes.
- Através da técnica de DRX observou-se que as DS, independentemente do polímero utilizado, apresentaram-se amorfas até uma concentração de 80% de fármaco;
- No estudo de dissolução *in vitro* as DS que apresentaram maiores valores de AUC foram as contendo maior quantidade de polímero (com apenas 10% de fármaco). Os valores de AUC das DS, utilizando os três diferentes polímeros, seguem a seguinte ordem decrescente: DS PVPVA 64 – EFZ 10% > DS HPMCAS – EFZ 10% > DS PVP-K30– EFZ 10% > DS SOLUPLUS – EFZ 10%;
- O polímero PVPVA 64 foi mais eficaz, uma vez que este alcançou melhores níveis de supersaturação, além de conseguir mantê-la por um período de 120 minutos, enquanto que a DS contendo PVP-K30 apresentou uma diminuição da sua AUC após os 60 min;
- A caracterização físico-química das DS com PVP K-30 e PVPVA 64, através de técnicas calorimétricas, microscópicas e espectrofotométricas, evidenciou a conversão do EFZ para o seu estado amorfo e verificou que o PVPVA 64 interage de maneira mais efetiva quando comparado ao PVP-K30;
- Com base nos resultados preliminares do estudo de estabilidade, pode-se observar que o PVP K-30 foi o polímero com maior capacidade inibitória da cristalização do fármaco, ao final de seis meses de estudo.
- O estudo do comportamento térmico permitiu caracterizar a DS e verificar que a cinética de degradação térmica da DS apresentou ordem igual a 1 (um) para ambos os métodos, isotérmico e não isotérmico. Os valores dos parâmetros cinéticos realizados por ambos os modelos estão de acordo, situados em uma faixa larga ($E_a = 101 - 132 \text{ kJ mol}^{-1}$). Desta maneira, pode-se sugerir um aumento na estabilidade térmica do EFZ quando o mesmo se encontra disperso na matriz polimérica em comparação com o fármaco isolado.

- Os valores das E_a obtidas pelos três métodos isoconversionais indicaram uma boa concordância entre eles e a dependência da E_a com o α mostra o fato de que o processo de decomposição do EFZ é relativamente complexo, com sucessivas reações.
- Foi possível observar uma boa correlação entre a perda de massa e a técnica de Pirólise-GC-MS. Pode-se também sugerir a formação de fragmentos iguais aos obtidos por hidrólise, bem como propor a formação de outros fragmentos. O que torna a técnica elucidativa no que diz respeito à identificação de fragmentos de decomposição térmica.
- O método para quantificação do EFZ proposto possui a vantagem de utilizar o meio de dissolução (solução tampão pH 6,8) como solução diluente e deixando-o economicamente mais viável e sustentável, diante dos conceitos da química verde.
- O método otimizado foi co-validado de acordo com o preconizado pela RE nº 899/03 da ANVISA e pelo ICH e demonstrou-se: linear, preciso e exato para os parâmetros avaliados. Além disso, a metodologia se mostrou adequada para substituir o método validado, pois não houve diferenças significativas entre os resultados obtidos pelas diferentes diluições.

Perspectivas

7 PERSPECTIVAS

- Determinar a solubilidade e permeabilidade da DS selecionada, conforme o Sistema de Classificação Biofarmacêutica.
- Realizar caracterização química por RMN ^1H e ^{13}C para as DS obtidas;
- Desenvolver e caracterizar novos sistemas de DS utilizando *spray-drying* como método de secagem;
- Realizar o estudo de estabilidade acelerada das DS
- Obtenção da forma farmacêutica com a melhor DS obtida

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKAHIRA, T.; SUNOSE, T. Method of determining activation deterioration constant of electrical insulating materials. **Sci Technol**, v. 22, p. 22–7, 1971.

ALBERS, J. et al. Mechanism of drug release from polymethacrylate-based extrudates and milled strands prepared by hot-melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, p.387–394, 2009.

ALI, S.; KOLTER, K. Challenges and Opportunities in Oral Formulation Development. **American Pharmaceutical Review - The Review of American Pharmaceutical Business & Technology**, v. 10, 2012.

AL-OBAIDI, H.; BUCKTON, G. Evaluation of Griseofulvin Binary and Ternary Solid Dispersions with HPMCAS. **AAPS PharmSciTech**, V. 10, n. 4, 2009.

AL-OBAIDIA, H. et al. Characterization and stability of ternary solid dispersions with PVP and PHPMA. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, p. 20-27, 2011.

ALONZO, D. E. et al. Dissolution and Precipitation Behavior of Amorphous Solid Dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 8, p. 3316-3331, 2011.

ALVES, L. D. S. et al. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 17-25, 2012.

ALVES, L. D. S. et al. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do efavirenz por espectrofotometria no UV-Vis. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p.1967-1972, 2010.

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

ANN NEWMAN. **Pharmaceutical Amorphous Solid Dispersions**. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey, p. 237- 239, 2015.

ARAÚJO, A. A. S. et al. Determinação dos teores de umidade e cinzas de amostras comerciais de guaraná utilizando métodos convencionais e análise térmica. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 2, p. 269-77, 2006.

ASHLAND SPECIALTY INGREDIENTS. **AquaSolve Hypromellose Acetate Succinate (HPMCAS): Versatile Pharmaceutical Polymers for Improved Solubility**, 2013.

ASHLAND. Aquasolve Hypromellose Acetato Succinate (HPMCAS). Versatile Cellulosic Enteric Coating Polymers. Global Headquarters, 2013.

BAIRD, J. A.; TAYLOR, L. S. Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 5, p. 396–421, 2012.

BALANI, P. N. et al. Influence of polymer content on stabilizing milled amorphous salbutamol sulphate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 391, p. 125–136, 2010.

BARRETO L. C. L. S.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Ciclodextrina: Importante Excipiente Farmacêutico Funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 629-636, 2008.

BASF. **Technical information**. Soluplus. 2010.

BENET, L. Z. The Role of BCS (Biopharmaceutics Classification System) and BDDCS (Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System) in Drug Development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 1, p. 34-42, 2013.

BÉTHUNE, M. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: A review of the last 20 years (1989–2009). **Antiviral Research**, v. 85, p. 75–90, 2010.

BEYLER, C.L.; HIRSCHLER, M. M. Thermal Decomposition of Polymers. In: SFPE Handbook of Fire Protection Engineering. 3^a Ed. Maryland: Bethesda, 2002, sc 1, cap. 7, p. 110-131.

BIANCHI, O. Avaliação da Degradação Não-Isotérmica de Madeira Através de Termogravimetria-TGA. **Polímeros**, 2010.

BIRREFRINGÊNCIA. In Infopédia. Porto: Porto Editora, 2003-2014. Disponível em: <[http://www.infopedia.pt/\\$birrefringencia](http://www.infopedia.pt/$birrefringencia)>. Acesso em: 13/01/2014.

BISWAL, J. et al. Enhancement of Dissolution Rate of Gliclazide Using Solid Dispersions with Polyethylene Glycol 6000. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 2, 2008.

BÖER, T. M. et al. Correlation of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC–MS in the characterization of tacrolimus. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 73, p. 18– 23, 2013.

BRASIL, Ministério da saúde - ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Lista de medicamentos de Referência**. <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 15/09/2013c.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); **Resolução RE nº 899, 29/05/2003.**

BRASIL. Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico - Aids e DST.** Brasília, DF, 2012, p. 64.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Brasil renova licenciamento compulsório do Efavirenz.** Disponível: <http://www.aids.gov.br/noticia/2012>. Acesso em: 13/07/2013b.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: manual de bolso.** Brasília, DF, 2008, p. 244.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sintomas e fases da AIDS.** Disponível: www.aids.gov.br. Acesso em: 11/06/2013a.

Brown, M. E. **Introduction to The Thernal Analysis.** Techniues and Applications.. Kluwer academic Publishers, Second Edition, 2001.

BUCCIARDINI, R. et al. ISSQoL: A new questionnaire for evaluating the quality of life of people living with HIV in the HAART era. **Quality of Life Research**, v. 15, p. 377-390, 2006.

CADENA, P. G., et al. Nanoencapsulation of quercetin and resveratrol into elastic liposomes. **Biochimica et Biophysica Acta**, n. 1828, p. 309–316, 2013.

CHADHA, R. et al. Effect of hydrophilic polymer on complexing efficiency of cyclodextrins towards efavirenz-characterization and thermodynamic parameters. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 72, p. 275-287, 2012.

CHADHA, R. et al. Effect of hydrophilic polymer on complexing efficiency of cyclodextrins towards efavirenz-characterization and thermodynamic parameters. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 72, p. 275-287, 2012.

CHARKOFTAKI, G. et al. Biopharmaceutical classification based on solubility and dissolution: a reappraisal of criteria for hypothesis models in the light of the experimental observations. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 106, p. 168-172, 2009.

CHIAPPETTA, D. A. et al. Efavirenz-loaded polymeric midelles for pediatric anti-HIV pharmacotherapy with significantly higher oral bioavailability. **Nanomed**, v. 5, n. 1, p. 11-23, 2010.

CHIAPPETTA, D. A. et al. N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antiretroviral efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, n. 1, p. 24-37, 2010.

CHIAPPETTA, D. A. et al. Oral pharmacokinetics of the anti-HIV efavirenz encapsulated within polymeric micelles. **Biomaterials**, v. 32, p. 2379-2387, 2011.

CHOWDARY, K. P. R.; NARESH, A. A Factorial on the effects of HP β Cyclodextrin, PVP K30 and SLS on the solubility and dissolution rate of efavirenz. **International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology**, v. 2, n. 4, p. 228-234, 2011.

CHOWDARY, K. P. R.; DEVI, A. G. Formulation development of efavirenz tablets employing cyclodextrin-PVP inclusion complexes. **International of Pharmaceutical Research and Development**, v. 4, n. 3, 2012.

CHOWDARY, K. P. R.; ENTURI, V. Enhancement of Dissolution Rate and Formulation Development of Efavirenz Tablets Employing Starch Phosphate a New Modified Starch. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research**, v. 3, n. 2, p. 80-83, 2011.

CHOWDARY, K. P. R.; ENTURI, V. Preclinical Pharmacokinetic Evaluation of Efavirenz Solid Dispersions in Two New Modified Starches. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v. 3, n. 4, p. 89-92, 2013.

CLERCQ, E. Anti-HIV drugs: 25 compounds approved within 25 years after the discovery of HIV. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v. 33, p. 307-320, 2009.

COOK, J.; ADDICKS, W.; WU, Y. H. Application of the Biopharmaceutical Classification System in clinical Drug Development - An Industrial View. **The AAPS Journal**, v. 10, n. 2, p. 306-310, 2008.

COSTA, M. A. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas incrementadores de dissolução de Efavirenz**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

COSTA, M. A. Efavirenz Dissolution Enhancement I: Co-Micronization. **Pharmaceutics**, v. 5, p. 1-22, 2013.

COSTA, S. P. M. et al. Thermal behavior and compatibility analysis of the new chemical entity LPSF/FZ4. **Thermochimica Acta (Print)**, v. 562, p. 29-34, 2013.

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

CRIADO, J. M.; SÁNCHEZ-JIMÉNEZ, P. E.; PÉREZ-MAQUEDA, L. A. Critical study of the isoconversional methods of kinetic analysis. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, V. 92, n.1, p. 199–203, 2008.

CRISTOFOLETTI, R. et al. A comparative analysis of biopharmaceutics classification system and biopharmaceutics drug disposition classification system: a cross-sectional survey with 500 bioequivalence studies. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 102, n. 9, p. 3136-3144, 2013.

CURATOLO, W.; NIGHTINGALE, J. A.; HERBIG SCOTT M. Utility of Hydroxypropylmethylcellulose Acetate Succinate (HPMCAS) for Initiation and Maintenance of Drug Supersaturation in the GI Milieu. *Pharmaceutical Research*, V. 26, n. 6, 2009.

D'SOUZA, S. A Review of *In Vitro* Drug Release Test Methods for Nano-Sized Dosage Forms. *Advances in Pharmaceutics*, v. 1, 2014.

DESHMUKH, V. et al. Solubility Enhancement of Efavirenz Hydrochloride by Hot Melt Technique. *Journal of Current of Pharmaceutical Research*, v. 1, n. 4, p. 320-336, 2011.

DEZANI, A. B. et al. Determination of lamivudine and zidovudine permeability using a different *ex vivo* method in Franz cells. *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, v. 64, n. 3, p. 194-202, 2013.

DINUNZIO, J. C. Applications of KinetiSol® Dispersing for the production of plasticizer free amorphous solid dispersions. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 40, p. 179-187, 2010.

DINUNZIO, J. C. et al. Amorphous compositions using concentration enhancing polymers for improved bioavailability of itraconazole. *Molecular Pharmaceutics*, v. 5, n. 6, p. 968-980, 2008.

DUTTA, T. et al. Poly (propyleneimine) dendrimer based nanocontainers for targeting of efavirenz to human monocytes/macrophages *in vitro*. *Journal of Drug Targeting*, v. 15, n. 1, p. 89-98, 2007.

EERDENBRUGH, B. V.; BAIRD, J. A.; TAYLOR, L. S. Crystallization Tendency of Active Pharmaceutical Ingredients Following Rapid Solvent Evaporation—Classification and Comparison with Crystallization Tendency from Undercooled Melts. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 99, n. 9, p. 3826-3838, 2010.

EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA). **European Public Assessment Report (EPAR) – Product information: Stocrin**. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/ema/index.jsp?curl=pages/medicines/human/medicines/000250/human_med_001066.jsp&mid=WC0b01ac058001d124. Acesso em: 02/10/2013.

FANDARUFF, C. et al. Thermal behavior and decomposition kinetics of efavirenz under isothermal and non-isothermal conditions. **J Therm Anal Calorim.**, 2013.

FEITOSA, A. C. et al. Terapia Anti-Retroviral: Fatores que Interferem na Adesão de Crianças com HIV/AIDS. **Esc. Anna Nery Rev. Enferm.**, Rio de Janeiro, v. 12, n. 3, p. 515-521, 2008.

FLYNN, J. H.; WALL, L. A. A quick direct method for determination of activation energy from thermogravimetric data. **J Polym Sci B**, v. 4, p. 323–8, 1996.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Guidance for industry: Waiver of in vivo bio-availability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a biopharmaceutics classification system**, Rockville, 2000. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070246.pdf>. Acesso em: 07/10/2013.

FOOD AND DRUG ADMINISTRATION – FDA. **Highlights of Prescribing Information – Sustiva (Efavirenz) capsules and tablets**. Disponível em: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/020972s035,021360s0231bl.pdf. Acesso em: 03/10/2013.

FOOD DRUGS ADMINISTRATION (FDA). **Guidance for Industry: Extended Release Oral Dosage Forms: Development, Evaluation, and Application of In Vitro/In Vivo Correlations**, 1997.

FRIEDMAN, H. L. New methods for evaluating kinetic parameters from thermal analysis data. **J Polym Sci**, v. 6C, p. 183–7, 1965.

GAUR, P.K.; MISHRAL, S.; BAJPAI M.; MISHRAL, A. Enhanced Oral Bioavailability of Efavirenz by Solid Lipid Nanoparticles: *In Vitro* Drug Release and Pharmacokinetics Studies. **BioMed Research International**, v. 1, 2014.

GUEDES, F. L. et al. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 89, p. 220-225, 2008.

GUPTA, U.; JAIN, N. K. Non-polymeric nano-carriers in HIV/AIDS drug delivery and targeting. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 4-5, p. 478–490, 2010.

HARDUNG, H.; DJURIC, D.; ALI, S. Combining HME & solubilization: Soluplus – the solid solution. **Drug Delivery Technology**, v. 10, n. 3, 2010.

HONG, L. **Solid molecular dispersions of itraconazole for enhanced dissolution and controlled drug delivery**. (Master of Science) - University of Toronto, 2009. **International Conference on Harmonisation (ICH)**. Validation of Analytical Procedures: Methodology, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995b.

ISP. **Pharmaceuticals. Plasdone Povidones**, Product Overview.2010.

JANKOVIC', B.; MENTUS, S.; JANKOVIC', M. A kinetic study of the thermal decomposition process of potassium metabisulfite: Estimation of distributed reactivity model. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 69, p.1923–1933, 2008.

JANSSENS, S.; MOOTER, G.V. Review: physical chemistry of solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, p. 1571–1586, 2009.

KAEWNOPPARAT, N. et al. Increased Solubility, Dissolution and Physicochemical Studies of Curcumin- Polyvinylpyrrolidone K-30 Solid Dispersions. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 55, p. 229-234, 2009.

KATATA, L. et al. Design and formulation of nano-sized spray dried efavirenz-part I: influence of formulation parameters. **Journal of Nanoparticle Research**, v. 14, 2012.

KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, p. 1-10, 2011.

KHAN, K. A. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 27 p. 48–49, 1975.

KHAWAM, A.; FLANAGAN, D. R. Solid-State Kinetic Models: Basics and Mathematical Fundamentals. **J. Phys. Chem. B**, v. 110, p. 17315-17328, 2006.

KIBBE, A. H.; ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients, American Pharmaceutical Association/**The Pharmaceutical Press**, Chicago/London, 6. nd, p. 581-585, 2009.

KISSINGER, H. E. Reaction kinetics in differential thermal analysis. **Anal Chem**, v. 29, n. 6, p. 1702–6, 1957.

KLANCNIK, G.; MEDVED, J.; MRVAR, P. Differential thermal analysis (DTA) and differential scanning calorimetry (DSC) as a method of material investigation. **RMZ – Materials and Geoenvironment**, v. 57, n. 1, p. 127–42, 2010.

KOH, P. T. et al. Formulation development and dissolution rate enhancement of efavirenz by solid dispersion systems. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 75, n. 3, p. 291-301, 2013.

KOLHE, S.; CHAUDHARI, P.; MORE, D. Dissolution Enhancement of Poorly Water Soluble Efavirenz by Hot Melt Extrusion Technique. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 5, n. 2, p. 368-381, 2013.

KOLTER, K.; KARL M.; GRYCZKE A. **Holt-Melt Extrusion with BASF Pharma Polymers: Extrusion Compendium 2nd revised and enlarged edition**. BASF SE Pharma Ingredients & Services, Ludwigshafen, Germany, 2012.

KOLTER, K.; KARL M.; GRYCZKE A. **Holt-Melt Extrusion with BASF[®] Pharma Polymers**. Extrusion Compendium. 2. nd revised and enlarged edition, 2012.

KU, M. S. Use of the Biopharmaceutical Classification System in Early Drug Development. **The AAPS Journal**, v. 10, n. 1, p. 208-212, 2008.

KUMAR, K.; DEVI, M. A.; BHIKSHAPATHI, D. V. R. N. Formulation development and in vivo evaluation of efavirenz solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 17, n. 1, p. 97-103, 2012.

LEANE, M. M. et al. Formulation and process design for a solid dosage form containing a spraydried amorphous dispersion of ibipinabant. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 18, p. 359-366, 2013.

LEVY, J. A. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. **AIDS**, v. 23, p. 147-160, 2009.

LINN, M. et al. Soluplus (R) as an effective absorption enhancer of poorly soluble drugs in vitro and in vivo. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 336-343, 2012.

LOFTSSON, T.; FRIKDRIKSDOTTIR, H. The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of β -cyclodextrin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 163, n. 1-2, p. 115-121, 1998.

MACÊDO, R. O.; NASCIMENTO, T. G. Quality control of thiabendazole pre-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system **Thermochimica Acta**, v. 392-393, p. 85-92, 2002.

MACÊDO, R. O.; NASCIMENTO, T. G. Thermal Characterization of Lapachol by Means of TG and DSC Coupled to a Photovisual System. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 64, n. 2, p. 751-6, 2001.

MADHAVI, B. B. et al. Dissolution enhancement of efavirenz by solid dispersion and PEGylation techniques. **International Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 1, n. 1, p. 29-34, 2011.

MADHUSUDHAN, G. et al. Design and Evaluation of Efavirenz loaded Solid Lipid Nanoparticles to Improve the Oral Bioavailability. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 2, n. 4, p. 84-89, 2012.

MAKWAN, V.; JAINA, R.; PATEL, K.; NIVSARKAR, M.; JOSHI, A. Solid lipid nanoparticles (SLN) of Efavirenz as lymph targeting drug delivery system: Elucidation of mechanism of uptake using chylomicron flow blocking approach. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, p. 439-446, 2015.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n.4, 2002.

MARIER, J. F. et al. Pharmacokinetics of Lamivudine, Zidovudine, and Nevirapine Administered as a Fixed-Dose Combination Formulation Versus Coadministration of the Individual Products. **The Journal of Clinical Pharmacology**, Winnipeg, v. 47, n. 11, p. 1381-1389, 2007.

MARZOLINI, C. et al. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. **AIDS**, v. 15, p. 71-75, 2001.

MATTEUCCI, M. E. et al. Highly Supersaturated Solutions from Dissolution of Amorphous Itraconazole Microparticles at pH 6.8. **Molecular Pharmaceutics**, v. 6, n. 2, p. 375-385, 2009.

MAURIN, M. B. et al. Kinetics and Mechanism of Hydrolysis of Efavirenz. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 4, p. 517-21, 2002.

MEDEIROS, G. C. R. **Determinação espectrofotométrica do pKa e desenvolvimento de dispersões sólidas da nova entidade química LPSF/FZ4: um promissor agente esquistossomicida**. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

MELO, E. B.; BRUNI, A. T.; FERREIRA, M. M. C. Inibidores da Hiv-Integrase: Potencial Abordagem Farmacológica para Tratamento da Aids. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 3, p. 555-562, 2006.

MISHRA, S. et al. Quantum chemical and experimental studies on the structure and vibrational spectra of efavirenz. **Vibrational Spectroscopy**, v. 53, p. 112-116, 2010.

MONTAGNIER, L. 25 years after HIV discovery: Prospects for cure and vaccine. **Virology**, v. 397, n. 2, p. 248-254, 2010.

MOURA, E. A. et al. Thermal characterization of the solid state and raw material fluconazole by thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS. **J Therm Anal Calorim**, v. 100, n. 1, p. 289-93, 2010.

NAIR, A. K. et al. Statistics on BCS classification of generic drug products approved between 2000 and 2011 in the USA. **The AAPS Journal**, v. 14, n. 4, p. 664-666, 2012.

NEVES, J. et al. Nanotechnology-based systems for the treatment and prevention of HIV/AIDS. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 62, n. 4-5, p. 458-477, 2010.

OFOTOKUN, I.; CHUCK, S. K.; HITTI, J. E. Antiretroviral Pharmacokinetic Profile: A Review of Sex Differences. **Gender Medicine**, v. 4, n. 2, p. 106-119, 2007.

OJEWOLE, E. et al. Exploring the use of novel drug delivery systems for antiretroviral drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 697-710, 2008.

OLIVEIRA, A. H. et al. Thermal characterization of raw material pentoxifylline using thermoanalytical techniques and Pyr-GC/MS. **J Therm Anal Calorim**, v. 106, n. 3, p. 763–766, 2011.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quim. Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-30, 2011.

ONOUE, S. et al. Formulation Design and Photochemical Studies on Nanocrystal Solid Dispersion of Curcumin With Improved Oral Bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 4, p. 1871-1881, 2010.

OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. **Bull Chem Soc Jpn**, v. 38, p. 1881-6, 1965.

PATEL, R. P. et al. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K30. **Dissolution Technologies**, v. 15, n. 3, p. 17-25, 2008.

PAUDEL, A. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 253–284, 2012.

PEÇANHA, E. P.; ANTUNES, O. A. C.; TANURI, A. Estratégias Farmacológicas para a Terapia ANTI-AIDS. **Química Nova**, São Paulo, v. 25, n. 6B, p. 1108-1116, 2002.

PEREIRA, T. M. M. Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de hormônios bioidênticos (estriol e estradiol). **Dissertação** (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

PIERI, F. M.; LAURENTI, R. HIV/AIDS: Perfil epidemiológico de adultos internados em hospital universitário. **Ciência, Cuidado e Saúde**, v. 11, p. 144-152, 2012.

PINNA, G.; KAKALOU, E.; ROSENBERG, T. Access to Affordable Highly Active Anti – Retroviral Therapy (HAART) for HIV / AIDS Patients. Where Do We Stand? **Hospital Chronicles**, Athens, v. 7, n. 3, p. 133–142, 2012.

PLANINSEK, O.; KOVACIC, B.; VRECER, F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 406, p. 41–48, 2011.

RADESCA, L.; 203 Cheltenham Road, Newark, DE 19711(US); MAURIN, M.B.; 28 Country Gates Road, Wilmington, DE 19810 (US); RABEL, S.R.; 431 Buttonwood Drive, Landenberg, PA 19350 (US); MOORE, J.R.; 39 Flinthill Drive, Newark, DE 19702 (US). **Crystalline Efavirenz**. C07D 265/18, A61K 31/535. PCT/US99/13199. WO 99/64405. 10 jun. 1999. 16 dez. 1999.

RASHEED, A.; KUMAR, C. K. A; SRAVANTHI, V. V. N. S. S. Cyclodextrins as Drug Carrier Molecule: A Review. **Scientia Pharmaceutica**, v. 76, p. 567-598, 2008.

RIBEIRO, L. S. et al. Multicomponent complex formation between vinpocetine, cyclodextrins, tartaric acid and water-soluble polymers monitored by NMR and solubility studies. **European Journal of Pharmaceutical Science**, n. 1, p. 1-13, 2005.

RIBEIRO, L. S.; FERREIRA, D. C.; VEIGA, F. J. Physicochemical investigation of the effects of water-soluble polymers on vinpocetine complexation with β -cyclodextrin and its sulfobutyl ether derivative in solution and solid state. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 20, n. 3, p. 253-266, 2003.

RIBERA, E. Características de los fármacos antirretrovirales. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, v. 29, n. 5, p. 362-391, 2011.

RODRIGUES, W.C.V.; SOLER, O. Licença compulsória do efavirenz no Brasil em 2007: contextualização. Revista **Panamericana de Salud Pública**, v. 26, n. 6, p. 553-559, 2009.

ROSA, T.C.C. **Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2005.

ROWE, S. et al. Physical chemical properties of efavirenz. **AAPS Journal**. Disponível em: http://www.aapsj.org/abstracts/AM_1999/1005.htm. Acesso em Agosto: 2013.

RUBIM, E. **Patologia: bases clinicopatológicas da medicina**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 1625 p.

RUDNIC, E. M.; SCHWARTZ, J. D. Oral solid dosage forms. In: **Remington: The Science and Practice of Pharmacy**. 20. ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 858-893.

SAKURAI, A. et al. Polymer combination increased both physical stability and oral absorption of solid dispersions containing a low glass transition temperature drug: physicochemical characterization and in vivo study. **Chem Pharm**, v. 60, p. 459,464, 2012.

SARODE, A. L. et al. Hot melt extrusion (HME) for amorphous solid dispersions: Predictive tools for processing and impact of drug-polymer interactions on

supersaturation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, p. 371-384, 2013.

SATHIGARI, S. et al. Amorphous-State Characterization of Efavirenz—Polymer Hot-Melt Extrusion Systems for Dissolution Enhancement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 9, p. 3456-3464, 2012.

SATHIGARI, S. et al. Physicochemical Characterization of Efavirenz—Cyclodextrin Inclusion Complexes. **AAPS PharmSciTech**, v.10, n.1, p. 81-87, 2009.

SATHIGARI, S. K. et al. Amorphous-State Characterization of Efavirenz—Polymer Hot-Melt Extrusion Systems for Dissolution Enhancement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 9, p. 3456-3464, 2012.

SHAH, S. et al. Melt extrusion with poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 233– 252, 2013.

SHAMMA, R. N.; BASHA, M. Soluplus: a novel polymeric solubilizer for optimization of Carvedilol solid dispersions: Formulation design and effect of method of preparation. **Powder Technology**, v. 237, p. 406-414, 2012.

SHANKAR, K. R.; CHOWDARY, K. P. R. A factorial study on enhancement of solubility and dissolution rate of efavirenz employing β -cyclodextrin, soluplus and PVPK30. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 2, n. 3, p. 578-586, 2013.

SHARMA, A.; JAIN, C. P. Solid dispersion: A promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug. **International Journal of Drug Delivery**, v. 3, p. 149-170, 2011.

SHARMA, P.; GARG, S. Pure drug and polymer based nanotechnologies for the improved solubility, stability, bioavailability and targeting of anti-HIV drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Salt Lake City, v. 62, n. 4-5, p. 491–502, 2010.

SHIN-ETSU. **Hypromellose Acetate Succinate: Shin-Etsu AQOAT**. Japan, 2005.

SILVA, R. M. F. et al. Thermal Characterization of Indinavir Sulfate using TG, DSC and DSC-PHOTOVISUAL. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, p. 965–8, 2009.

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, p. 2494-2501, 2010.

SIRIUS ANALYTICAL INSTRUMENTS. **Sirius Technical Application Notes 11**. Disponível em: <<http://www.sirius-analytical.com/downloads-uk>>. Access on Outubro 2013>. Acessado em: 10 agosto 2014.

SIRIUS. Disponível em: <<http://www.sirius-analytical.com/products/siriust3>>. Acesso em: 10 agosto 2014.

SOARES-SOBRINHO, J. L. et al. Benzimidazole drug delivery by binary and multicomponent inclusion complexes using cyclodextrins and polymers. **Carbohydrate Polymers**, v. 89, p. 323– 330, 2012.

SOUZA, M. V. N. Fuzeon, o primeiro medicamento de uma nova classe anti-HIV denominada inibidores de fusão. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 86, n. 3, p. 112-116, 2005.

SRINARONG, P. et al. Surface-Active Derivative of Inulin (Inutec R _ SP1) Is a Superior Carrier for Solid Dispersions with a High Drug Load. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2333-2342, 2011.

STORPITIS, S. et al. **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2009. p. 32-65.

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, p. 149-158, 2012.

TAKAGI, T. et al. A Provisional Biopharmaceutical Classification of the Top 200 Oral Drug Products in the United States, Great Britain, Spain, and Japan. **Molecular Pharmaceutics**, v. 3, n. 6, p. 631-643, 2006.

TEJA, S. B. et al. Drug-excipient behavior in polymeric amorphous solid dispersions. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 4, n. 3, p. 70-94, 2013.

TELANG, C.; MUJUMDAR, S.; MATHEW, M. Improved physical stability of amorphous state through acid base interactions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, p. 2149-2159, 2009.

THAKRAL, N. K. et al. Soluplus-Solubilized Citrated Camptothecin—A Potential Drug Delivery Strategy in Colon Cancer. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, n. 1, 2012.

TITA, B.; JURCA, T.; TITA, D. Thermal stability of pentoxifylline: active substance and tablets Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **J Therm Anal Calorim** (2013) 113:291–299

TITA, B.; JURCA, T.; TITA, D. Thermal stability of pentoxifylline: active substance and tablets. Part 1. Kinetic study of the active substance under non-isothermal conditions. **J Therm Anal Calorim**, v. 113, n. 1, p. 291–9, 2013.

TIWARI, R. et al. Solid Dispersions: An Overview to Modify Bioavailability of Poorly Water Soluble Drugs. **International Journal of PharmTech Research**, v.1, n. 4, p. 1338-1349, 2009.

UNITED NATIONS PROGRAMME ON HIV/AIDS (UNAIDS). **Report on the Global AIDS Epidemic**. Geneva, Switzerland, 2012, p. 108.

VALERO, M.; CARRILLO, C.; RODRÍGUEZ, L. J. Ternary naproxen: -cyclodextrin:polyethylene glycol complex formation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 265, n. 1-2, p. 141-149, 2003.

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 23/24, p. 1068-75, 2007.

VIANA, O. S. et al. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de obtenção de comprimidos revestidos de efavirenz – terapia anti-HIV. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 505-511, 2006.

VIANA, O. S. et al. Kinetic Analysis of the Thermal Decomposition of Efavirenz and Compatibility Studies with Selected Excipients. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 27, n. 2, p. 211-6, 2008.

VIEIRA, A. A. C. **Obtenção e caracterização de complexo de inclusão e sistema multicomponentes no incremento da solubilidade do efavirenz na terapia anti-hiv**. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011.

VOGT, M.; KUNATH, K.; DRESSMAN, J. B. Dissolution enhancement of fenofibrate by micronization, cogrinding and spray-drying: Comparison with commercial preparations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 68, n. 2, p. 283-288, 2008.

YANG, J.; GREY, K.; DONEY, J. An improved kinetics approach to describe the physical stability of amorphous solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 384, n. 1-2, p. 24-31, 2010.

YOGANANDA, R.; CHOWDARY, K. P. R. Enhancement of Solubility, Dissolution rate and Bioavailability of Efavirenz by Cyclodextrins and Solutol HS15 - A Factorial Study. **International Journal of Drug Development and Research**, v. 5, n. 1, p. 135-142, 2013.

YU, D. G. et al. Third generation solid dispersions of ferulic acid in electrospun composite nanofibers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 400, p. 158–164, 2010.

YUSHEN, G.; SHALAEV, E.; SMITH, S. Physical stability of pharmaceutical formulations: solid-state characterization of amorphous dispersions. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 137-144, 2013.

Apêndice

APÊNDICE

APÊNDICE A – Tabela com os valores das E_a calculados através dos métodos do tipo “Model Free Analysis”: Friedman, de Kissinger-Akahura-Sunose e Flynn-Wall-Ozawa obtidos para o EFZ e a DS

	Grau de Conversão / α									E_a kJ mol ⁻¹
	0,05	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,35	0,4	0,45	0,50
<i>EFZ_{API}</i>										
FR	67,35	76,87	84,03	86,06	87,88	88,58	89,18	89,79	90,37	90,61
FWO	59,74	70,78	80,75	88,23	90,35	92,25	92,98	93,60	94,24	94,84
KAS	62,84	74,45	84,93	92,80	95,04	97,04	97,80	98,46	99,13	99,76
<i>EFZ_{DS}</i>										
FR	100,58	94,06	94,62	100,12	100,95	100,95	104,71	106,58	106,56	115,13
FWO	99,53	92,68	93,56	99,98	101,02	103,99	105,43	107,62	107,59	107,89
KAS	104,69	97,49	98,42	105,12	106,25	109,38	110,90	113,20	113,17	113,48
	Grau de Conversão / α									E_a kJ mol ⁻¹
	0,55	0,60	0,65	0,70	0,75	0,80	0,85	0,90	0,95	M \pm SD
<i>EFZ_{API}</i>										
FR	90,86	90,86	91,03	91,20	91,28	91,36	91,24	91,12	91,00	88,44 \pm 6,73
FWO	95,10	95,36	95,54	95,71	95,79	95,87	95,75	95,63	95,50	90,42 \pm 9,77
KAS	100,03	100,30	100,49	100,67	100,76	100,84	100,72	100,58	100,45	95,14 \pm 10,28
<i>EFZ_{DS}</i>										
FR	115,25	115,77	108,59	109,60	110,66	111,48	112,07	112,69	113,43	107,18 \pm 6,73
FWO	108,03	108,61	109,84	110,92	112,10	113,02	113,66	114,35	115,15	106,58 \pm 6,62
KAS	113,62	114,24	115,54	116,67	117,92	118,88	119,56	120,28	121,12	112,10 \pm 6,92

APENDICE B: Artigo de revisão: “Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: efavirenz” publicado na Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada.



Revista de Ciências
Farmacêuticas
Básica e Aplicada

Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences

Rev Ciênc Farm Básica Apl., 2015;36(2):239-249
ISSN 1808-4532

Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz

Tarcyla de Andrade Gomes¹; Salvana Priscylla Manso Costa¹; Giovanna Christine Rocha de Medeiros¹; Cristovão Rodrigues da Silva¹; Magaly Andreza Marques de Lyra¹; Keyla Emannelle Ramos da Silva¹; Miracy Muniz de Albuquerque²; Rosali Maria Ferreira da Silva¹; Pedro José Rolim Neto^{1*}

¹ Universidade Federal de Pernambuco, (UFPE), Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Recife, PE, Brasil.

² Universidade Federal do Amazonas, (UFAM), Manaus, AM, Brasil.

RESUMO

O efavirenz (EFZ) é considerado um dos fármacos anti-HIV mais utilizados, porém, como a grande maioria dos antiretrovirais, é classificado como fármaco de classe II, segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), por apresentar baixa solubilidade e alta permeabilidade. É bem conhecido que a solubilidade aquosa de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e, assim, se faz uma das mais importantes barreiras à eficácia do medicamento. Desta forma, o aumento, através de tecnologias farmacêuticas, da dissolução aquosa e, conseqüentemente, da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água é considerado como um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento moderno de fármacos. Este trabalho tem como objetivo realizar um levantamento da literatura científica e discussão sobre as principais técnicas aplicadas no melhoramento da dissolução do EFZ, dentre elas: dispersões sólidas, complexos de inclusão, sistemas multicomponentes e sistemas particulados nos últimos 10 anos (2004 – 2014). Após levantamento bibliográfico, verificou-se maior número de publicações empregando a técnica de dispersões sólidas, provavelmente, porque a mesma é considerada uma técnica simples e de baixo custo. Desta forma, ficou claro que há grande interesse, por parte dos pesquisadores, de desenvolver métodos eficientes e econômicos que visam o melhoramento da dissolução aquosa deste fármaco e que o desenvolvimento de dispersões sólidas é, sem dúvida, uma solução interessante.

Palavras-chave: Efavirenz. Solubilidade. Dispersões Sólidas. Complexos de Inclusão. Sistemas Multicomponentes. Sistemas Particulados.

INTRODUÇÃO

A solubilidade de fármacos tem sido amplamente discutida por pesquisadores, nos últimos anos, tanto na indústria quanto na academia (Vargas et al., 2012). Isto ocorre porque, atualmente, cerca de 70% dos novos candidatos a fármacos, bem como grande quantidade de fármacos já utilizados na terapêutica, sofrem com baixa solubilidade em água e subsequentes problemas para alcançar níveis sanguíneos terapêuticamente relevantes. A grande maioria destes compostos pode ser classificada de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) em classes II e IV (Kawabata et al., 2011; Mootar et al., 2006; Tsapitz et al., 2013).

O SCB está baseado nos resultados de um conjunto de modelos de absorção, que foram capazes de demonstrar que a absorção de fármacos por via oral é controlada principalmente pela sua solubilidade aquosa sob condições fisiológicas e permeabilidade intestinal, além de está relacionada com sua taxa de dissolução (Cristofaletti et al., 2013). Desta forma, subdivide os fármacos em quatro classes: alta solubilidade e alta permeabilidade (Classe I), baixa solubilidade e alta permeabilidade (Classe II), alta solubilidade e baixa permeabilidade (Classe III) e, baixa solubilidade e baixa permeabilidade (Classe IV) (Dezani et al., 2013).

Geralmente a biodisponibilidade de fármacos classe II é limitada pela taxa de dissolução, assim, o aumento desta taxa pode ser considerado um ponto chave para o incremento da biodisponibilidade desta classe de fármacos (Tsapitz et al., 2013). Vários fatores interferem na taxa de dissolução, tais como: área de superfície, coeficiente de difusão, espessura da camada de difusão, concentração de saturação, quantidade de fármaco dissolvido e o volume do meio de dissolução. Desta forma, técnicas que interferem com estes fatores são descritas na literatura para melhorar o desempenho da dissolução de fármacos classe II, tais como: modificação cristalina (polimorfos metastáveis, formação de sal e co-cristal), redução do tamanho de partícula, formação de pró-droga,

Autor correspondente: Pedro José Rolim-Neto, Universidade Federal de Pernambuco, (UFPE), Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Recife, PE, Brasil. E-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br


INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Sistema de Gestão da Qualidade
Diretoria de Patentes

DIRPA	Tipo de Documento:	Formulário	DIRPA	Página:	3/3
	Título do Documento:	Depósito de Pedido de Patente		Código:	FQ001
				Versão:	2
				Procedimento:	DIRPA-PQ006

11. Documentos Anexados:

(Assinale e indique também o número de folhas):

(Deverá ser indicado o número total de somente uma das vias de cada documento).

	Documentos Anexados		folhas
<input checked="" type="checkbox"/>	11.1	Guia de Recolhimento da União (GRU).	01
<input type="checkbox"/>	11.2	Procuração.	
<input type="checkbox"/>	11.3	Documentos de Prioridade.	
<input type="checkbox"/>	11.4	Documento de contrato de trabalho.	
<input checked="" type="checkbox"/>	11.5	Relatório descritivo.	04
<input checked="" type="checkbox"/>	11.6	Reivindicações.	01
<input type="checkbox"/>	11.7	Desenho(s) (se houver). Sugestão de figura a ser publicada com o resumo: nº, _____ por melhor representar a invenção (sujeito à avaliação do INPI).	
<input checked="" type="checkbox"/>	11.8	Resumo.	01
<input type="checkbox"/>	11.9	Listagem de sequências em arquivo eletrônico: _____ nº de CDs ou DVDs (original e cópia).	
<input type="checkbox"/>	11.10	Código de controle alfanumérico no formato de código de barras referente às listagem de sequências.	
<input type="checkbox"/>	11.11	Listagem de sequências em formato impresso.	
<input type="checkbox"/>	11.12	Declaração relativa à Listagem de sequências.	
<input checked="" type="checkbox"/>	11.13	Outros (especificar) Anexo 1 (co-titulares), Anexo 2 (co-inventores) declaração de poderes	6

12. Total de folhas anexadas: 13 fls.
13. Declaro, sob as penas da Lei que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Recife de Janeiro de 2014

Local e Data


 Assinatura e Carimbo
Prof. Pedro Rolim
 Diretor de Inovação
 e Empreendedorismo
 DINE-PROPESQ-UFPE
 SIAPE: 2218937

APENDICE D: Certificado de análise da matéria-prima Efavirenz.

CRISTALIA PRODS. QUÍM. FARMACEUT. LTDA.
ROD. ITAPIRA-LINDOIA S/N - KM 14 Itapira-SP

**COPIA NÃO CONTROLADA
(INFORMATIVA)**

CERTIFICADO DE ANÁLISE

N.: 423.681		DCB: 03.308
PRODUTO: EFAVIRENZ MICRONIZADO		
Codigo: 18.0396	Nro. RDP: 0	Lote: 0378/11
VALIDO ATE: 07/2013 06/2013 07/2011		Data Fabr: 07/2011
TESTES	ESPECIFICACOES	RESULTADOS
DESCRIÇÃO	PO CRISTALINO BRANCO, QUASE BRANCO OU LEVEMENTE ROSADO (INTERNA)	CONFORME
ABSORÇÃO INFRAVERMELHO HPLC	CONFORME PADRAO (INTERNA)	CONFORME
DSC	TEMPO DE RETENÇÃO CONCORDANTE COM O PADRAO (INTERNA)	CONFORME
RESIDUO APOS IGNIÇÃO	CONFORME PADRAO (INTERNA)	CONFORME
METAIS PESADOS	NAO MAIS QUE 0,2% (INTERNA)	0,1 %
	NAO MAIS QUE 20 ppm (INTERNA)	< 20 ppm
CICLOHEXANO	NAO MAIS QUE 3880 ppm (INTERNA)	8 ppm
ETBE	NAO MAIS QUE 5000 ppm (INTERNA)	0 ppm
ISOPROPANOL	NAO MAIS QUE 5000 ppm (INTERNA)	0 ppm
TEOR DE AGUA (KF)	NAO MAIS QUE 1,0% (INTERNA)	0,1 %
EXCESSO ENANTIOMERICO (HPLC)	NAO MENOS QUE 99,0% ee (INTERNA)	100,0 %
IMPUREZA INDIVIDUAL	NAO MAIS QUE 0,1% (INTERNA)	0,1 %
IMPUREZA TOTAL	NAO MAIS QUE 0,65% (INTERNA)	0,13 %
TEOR (BA/ HPLC)	98,0% A 102,0% (INTERNA)	99,7 %
TAMANHO DE PARTIICULAS	d 0,9 inferior a 20 µm d 0,5 inferior a 6 µm (INTERNA)	79% < 6 MICRAS 100% < 20 MICRAS

APROVADO [X]

REPROVADO []

OBSERVACOES:

Data: 27/07/2011

plmiana 27/07/11
Supervisor C.Q.

ABertelle 27/07/11
Garantia Qualidade

Ana Paula Bertelle
Coordenadora Garantia Qualidade
Divisão Farmoquímica

