



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

CAMILA BEZERRA MELO FIGUEIRÊDO

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS DISPERSOS PARA TRATAMENTO DA
DOENÇA DE CHAGAS**

Recife

2017

CAMILA BEZERRA MELO FIGUEIRÊDO

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS DISPERSOS PARA TRATAMENTO DA
DOENÇA DE CHAGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de doutora em Inovação Terapêutica.

Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Insumos Essenciais para a Saúde

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Mônica Felts de La Roca Soares

Co-Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Co-Orientador: Prof. Dr. Ping I. Lee

Recife

2017

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Figueirêdo, Camila Bezerra Melo
Obtenção de sistemas dispersos para tratamento da doença de chagas / Camila
Bezerra Melo Figueirêdo. – 2017

144 f. : il.

Orientadora: Mônica Felts de La Roca Soares.

Coorientador: Pedro José Rolim Neto.

Coorientador: Ping I. Lee.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de
Biotecnologia. Programa de Pós-graduação em Inovação terapêutica,
Recife, 2018.

Inclui referências, apêndices e anexos.

1. Chagas, Doença de. 2. Farmacologia. I. Soares, Mônica Felts de La Roca Soares (orientadora). II. Rolim Neto, Pedro José (coorientador). III. Lee, Ping I. (coorientador). III. Título.

616.9363

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 228

CAMILA BEZERRA MELO FIGUEIRÊDO

**OBTENÇÃO DE SISTEMAS DISPERSOS PARA TRATAMENTO DA
DOENÇA DE CHAGAS**

Tese apresentada ao Programa de Pós Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos parciais para obtenção do título de doutora em Inovação Terapêutica.

Aprovada em: 24/02/2017.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Beate Saegesser Santos (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Larissa Araújo Rolim (Examinadora Externa)
Universidade Federal do Vale do São Francisco

Prof. Dr. Adriano Antunes de Souza Araújo (Examinador Externo)
Universidade Federal de Sergipe

Prof. Dr. Edson Cavalcanti da Silva Filho (Examinador Externo)
Universidade Federal do Piauí

Aos meus pais, Rejanete Bezerra e Cledinaldo Figueirêdo, com amor.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente agradeço a Deus, o Senhor da minha vida, que por sua imensa bondade e misericórdia, me trouxe até a conclusão desta etapa. Obrigada, Senhor, por seu amparo e sustento! Obrigada por todas as experiências vivenciadas, pelos conhecimentos adquiridos e pelas pessoas especiais (por vezes, verdadeiros anjos) com as quais tive o privilégio de conhecer e conviver.

À minha família, Cledinaldo Figueirêdo dos Santos (pai), Rejanete Bezerra Melo Figueirêdo (mãe) e Angélica Bezerra Melo Figueirêdo (irmã) por todo o carinho, amor, apoio, incentivo e educação. Vocês foram meus primeiros professores e seus ensinamentos contribuem de forma substancial com a minha formação. Nenhum agradecimento caberá para expressar o tamanho da gratidão e a importância que vocês exercem na minha vida... À vocês, meu eterno obrigada.

À minha orientadora, Profa. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares, e ao meu co-orientador, Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto, pelo apoio e participação na execução desse projeto. Levo comigo muitas experiências adquiridas oriundas do convívio com vocês e gratidão pela acolhida em seus laboratórios (Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos e Correlatos – NCQMC e Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos – LTM). Muito obrigada pela receptividade e por participar de todo o aprendizado comigo. Graças ao apoio de vocês, encontrei subsídios para seguir com esta etapa acadêmica.

Ao meu também co-orientador, Prof. Dr. Ping I. Lee, da Universidade de Toronto (Canadá), por toda paciência, dedicação e sabedoria transmitida. Obrigada pelas tantas horas de discussão para resolver os diversos impasses oriundos desta pesquisa científica, que foram tão enriquecedores em conhecimentos para todo o grupo. Obrigada também por ser esta figura doce, carismática e simples, mesmo com a tamanha densidade de conhecimentos e experiências científicas agregadas. Do fundo do coração, minha eterna gratidão por todo o suporte e por todo o aprendizado oriundo deste convívio tão incentivador.

Aos integrantes do laboratório do Dr. Lee pela excelente recepção, apoio e troca de conhecimentos, que agregaram bastante à minha percepção como pesquisadora e minha vivência no Canadá. Em especial, agradeço à aluna de doutorado Giovanna Schver, pelo apoio e colaboração técnico-científica durante todo o período de estudos na Universidade de Toronto.

Agradeço também a todos os meus colegas que fazem parte do NCQM, especialmente a Amanda Carla Quintas de Medeiros Viera, pelo maravilhoso convívio que desfrutamos, inclusive durante a estadia em Toronto (Canadá), e também pelo suporte técnico-científico despendido neste projeto de pesquisa.

À aluna de pós-doutorado Daniela Nadvorny, pela realização das análises teóricas computacionais que fundamentaram os resultados deste trabalho e contribuíram com a publicação dos resultados alcançados.

Ao Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho, pela importante participação com suas sugestões e contribuições técnico-científicas em diversos momentos na execução desse projeto.

Aos professores participantes desta banca de defesa, pela atenção despendida na correção deste trabalho e por toda a contribuição científica.

À Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica (PPGIT), pelas condições oferecidas, que me permitiram acessar sua infra-estrutura, aprender com excelentes professores, cursar disciplinas importantes na minha formação e desfrutar de diversas oportunidades relacionadas à pesquisa, ensino e extensão. Em especial atenção, agradeço ao secretário do PPGIT, Paulo Germano de Brito, pela atenção e dedicação no serviço prestado a nós, alunos do Programa.

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

Ao programa PVE (Professor Visitante Especial) da CAPES, que pela promoção de bolsa de doutorado sanduíche, permitiu que parte fundamental deste doutorado fosse realizada na Universidade de Toronto, em parceria como grupo de pesquisadores do NCQMC e LTM.

RESUMO

Posaconazol (PCZ) e benznidazol (BNZ) possuem efeito sinérgico durante as fases aguda e crônica da doença de Chagas. No entanto, como estes compostos são pouco solúveis em água, o desenvolvimento de sistemas dispersos contendo PCZ e BNZ em conjunto tomou-se uma opção atrativa para o incremento da solubilidade aparente e da taxa de dissolução dos fármacos. Com este propósito, o presente trabalho objetivou desenvolver e avaliar os sistemas farmacêuticos denominados mistura eutética, solução sólida amorfa e dispersões sólidas (DSs) poliméricas contendo PCZ e BNZ. Os sistemas binários de mistura eutética e a solução sólida amorfa contêm unicamente PCZ e BNZ na proporção 80:20 (m/m %), respectivamente. As DSs contêm os fármacos na proporção 50:50 (m/m %) PCZ/BNZ e, adicionalmente, um carreador polimérico, sendo cada carreador investigado quanto à obtenção de DSs amorfas e quanto ao alcance de maiores taxas de dissolução dos fármacos. Quanto aos sistemas binários fármaco-fármaco, a manutenção dos padrões de difração e das frequências vibracionais na espectrofotometria de infravermelho tal qual os fármacos de origem, além de um diagrama de fases característico e de uma microestrutura lamelar alternada, provam a autenticidade da mistura eutética obtida. Em contrapartida, a presença de um halo amorfo difuso sem picos definidos no difratograma confirma a natureza amorfa da solução sólida PCZ/BNZ, a qual evidenciou mudança de cor possivelmente devido a interação do tipo π -stacking entre os anéis aromáticos dos fármacos participantes. As DSs com o copolímero de polivinilpirrolidona coacetato de vinil (PVPVA) se destacaram como as mais promissoras no incremento da taxa de dissolução dos fármacos, estando os seus componentes miscíveis até o nível de concentração de 30% dos fármacos totais. Tais DSs com PVPVA ainda tiveram seus perfis de dissolução avaliados em amostras contendo a mesma proporção da composição eutética 80:20 m/m % de PCZ/BNZ. Os três sistemas dispersos obtidos neste trabalho, especialmente as DSs com PVPVA, alcançaram aumento significativo das taxas de dissolução e solubilidade aparente dos fármacos, além de possuírem uma razão entre fármacos PCZ/BNZ 80:20 similar às doses farmacológicas de PCZ e BNZ utilizadas/testadas individualmente no tratamento da doença de Chagas, apresentando assim uma oportunidade promissora para o desenvolvimento de futuras formulações farmacêuticas contendo uma dose terapêutica ótima e cobrindo as fases aguda e crônica da doença.

Palavras-chave: Incremento da solubilidade. Mistura eutética. Solução sólida. Dispersão sólida. Posaconazol. Benznidazol.

ABSTRACT

Posaconazole (PCZ) and benznidazole (BNZ) promote synergistic effects during the acute and chronic phases of Chagas' disease. However, as these compounds are poorly soluble in water, the development of dispersed systems containing PCZ and BNZ together has become an attractive option for increasing the apparent solubility and dissolution rate of drugs. With this objective, the present work aimed to develop and evaluate the pharmaceutical systems called eutectic mixture, amorphous solid solution and solid dispersions (SDs) containing PCZ and BNZ. The binary systems of eutectic mixture and amorphous solid solution contain only PCZ and BNZ in the ratio 80:20 (w/w %), respectively. The SDs contain drugs in the ratio 50:50 (w/w %) PCZ/BNZ and, in addition, a polymeric carrier, each of which has been investigated for the achievement of amorphous SDs and for the highest drugs dissolution rate. For the drug-drug binary systems, the maintenance of the diffraction patterns and the vibrational frequencies in the infrared spectrophotometry as the original drugs, besides showing a characteristic phase diagram and an alternating lamellar microstructure, support the authenticity of the obtained eutectic mixture. In contrast, the presence of a diffuse amorphous halo without defined peaks confirms the amorphous nature of the PCZ/BNZ solid solution, which evidenced color change possibly due to π -stacking interaction between the aromatic rings of the participating drugs. The SDs with the copolymer polyvinylpyrrolidone co-vinyl acetate (PVPVA) have stood out as more promising in the improvement of drugs dissolution rate, being the components miscible up to the concentration level of 30% of the total drugs. These SDs with PVPVA still have their dissolution profiles evaluated in samples containing the same ratio drugs of the eutectic composition 80:20 w/w % PCZ/BNZ. The three dispersion systems obtained in this work, especially the SDs with PVPVA, reached a significant increase in dissolution rates and apparent solubility of the drugs, besides having a ratio drugs between PCZ/BNZ 80:20 similar to the pharmacological doses of PCZ and BNZ used/tested individually in the treatment of Chagas' disease, thus presenting an promising opportunity for the development of future pharmaceutical formulations containing therapeutic dose and covering as acute and chronic phases of the disease.

Keywords: Solubility improvement. Eutectic mixture. Solid solution. Solid dispersion. Posaconazole. Benznidazole.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Fórmula geral do benznidazol..... | 26 |
| Figura 2 - Fórmula geral do posaconazol..... | 28 |
| Quadro 1 - Termos descritivos de solubilidade e seus significados | 33 |
| Figura 3 - Esquema descrevendo os três arranjos moleculares diferentes de moléculas de fármaco dentro de uma matriz polimérica de dispersão sólida. | 37 |
| Figura 4 - Modelo esquemático que ilustra o perfil de dissolução hipotético de um fármaco existente em uma forma de alta energia (por exemplo, a forma amorfa) em relação ao tempo. | 41 |
| Figura 5 - Representação esquemática das diferentes formas no estado sólido..... | 44 |
| Figura 6 – Comportamento da mistura eutética chumbo-estanho..... | 46 |
| Figura 7 - Fotomicrografia da microscopia eletrônica de varredura de uma partícula em corte transversal da mistura eutética aspirina-paracetamol mostrando sua estrutura lamelar | 47 |
| Figura 8 - Um diagrama de fases de $T-\chi$ para uma mistura de dois líquidos mutuamente miscíveis α e β | 51 |
| Figura 9 - Comportamento térmico de combinações isoniazida (INH)-ácido succinâmico (SNA)..... | 53 |
| Figura 10 - Interações homomoleculares e heteromoleculares envolvendo o fármaco ornidazol | 57 |
| Quadro 2 - Comparação entre os sólidos multicomponentes mistura eutética, solução sólida e co-cristal. | 58 |
| Figura 11 - Fluxograma ilustrativo das etapas e métodos envolvidos na obtenção da mistura eutética e solução sólida amorfa PCZ/BNZ | 62 |
| Figura 12 - Fluxograma ilustrativo das etapas utilizadas na caracterização das DSs polímero-PCZ/BNZ..... | 68 |
| Figura 13 - DSC dos fármacos e das misturas cristalinas PCZ/BNZ em diferentes proporções, obtidos pelo método de evaporação do solvente, mostrando o comportamento do pico eutético de fusão e a fusão do componente extra presente em todas as composições PCZ/BNZ..... | 75 |
| Figura 14 - Análise termogravimétrica (TGA) do PCZ representada pela curva TGA (marcada em vermelho), demonstrando ausência de perda de massa durante o evento de fusão da impureza contida nesta matéria-prima. A curva DTA - Análise Térmica Diferencial (marcada | |

| | |
|--|----|
| pela linha roxa) revela os eventos de fusão da impureza (em 137 °C) e do fármaco (em 171 °C), bem como degradação térmica do PCZ (em 402 °C). | 75 |
| Figura 15 - Diagrama de fases binário do sistema de PCZ/BNZ exibe um padrão tipo - 'V' característico de uma mistura eutética. Os pontos <i>solidus</i> são apresentados como quadrados cheios e os pontos <i>liquidus</i> como círculos abertos..... | 77 |
| Figura 16 - DRX dos fármacos e das misturas cristalinas de PCZ/BNZ oriundas do método de evaporação do solvente mostrando boa correspondência dos picos de difração na mistura eutética 80:20 (p/p %) com aqueles oriundos dos componentes de origem, e sem qualquer alteração gradual na posição dos picos..... | 80 |
| Figura 17 - Padrões de DRX das misturas PCZ/BNZ obtidas pelo método de fusão e resfriamento e a comparação entre a cor característica dos pós resultantes | 82 |
| Figura 18 - Espectroscopia de IV experimental dos fármacos de origem, mistura eutética e solução sólida amorfa na proporção 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ..... | 84 |
| Figura 19 - Resultado teórico da espectrofotometria de absorção na região do IV do PCZ, BNZ e da mistura PCZ/BNZ..... | 86 |
| Figura 20 - Imagens Raman (50 x 50 µm) da mistura eutética. A e C - Intensidade da banda carbonila da amida (1611 cm ⁻¹) pertencente ao PCZ na eutética (cor azul); B e C - Intensidade do estiramento de C-N (1357 cm ⁻¹) do BNZ na eutética (cor vermelha); as linhas marcadas são analisadas em detalhe no espectro de Raman, abaixo das imagens Raman..... | 88 |
| Figura 21 - Estruturas moleculares dos quatro complexos formados por interação π-stacking entre anéis aromáticos de PCZ e BNZ obtidos através de modelagem molecular: complexo 1 (a), complexo 2 (b), complexo 3 (c) e complexo 4 (d)..... | 90 |
| Figura 22 - Espectro teórico de absorção UV-VIS dos fármacos originais (a) e dos quatro complexos moleculares PCZ/BNZ (b) formados por diferentes interações π-stacking..... | 90 |
| Figura 23 - Mapa do potencial eletrostático das moléculas de benznidazol (a) e posaconazol (b) em diferentes perspectivas | 91 |
| Figura 24 - Dissolução <i>in vitro</i> dos sistemas binários PCZ/BNZ expressos como mensurado nos fármacos de origem. As medições dos fármacos foram obtidas pelo método da 1 ^a derivada mensurada em 265 nm e 345 nm para PCZ e BNZ, respectivamente. Em destaque, encontra-se também representado na imagem à esquerda o perfil de dissolução do PCZ nos sistemas de 0 à 4 hr. | 93 |
| Figura 25 - Área sob a curva (AUC) oriunda da dissolução <i>in vitro</i> dos sistemas binários e dos fármacos de origem..... | 94 |

| | |
|--|-----|
| Figura 26 - Imagens de micrografias obtidas a partir do microscópio de luz polarizada dos fármacos, DSs e respectivas MFs contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 em vários níveis de concentração em relação aos polímeros. Ampliação de 10 X..... | 98 |
| Figura 27 - Comparação dos espectros de DRX dos fármacos, polímeros, DSs e respectivas MFs contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 em vários níveis de concentração em relação aos polímeros..... | 99 |
| Figura 28 - Comparação do perfil de dissolução <i>in vitro</i> dos fármacos, DSs com PVP K-30, PVP K-90, PVPVA e Eudragit E-100 (de cima para baixo) contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 em vários níveis totais de concentração em relação aos polímeros, e suas respectivas MFs com 10% dos fármacos | 103 |
| Figura 29 - Comparação dos valores de AUC _{0-24h} e seu respectivo desvio padrão oriundos das curvas de dissolução <i>in vitro</i> dos fármacos, DSs e suas correspondentes MFs | 104 |
| Figura 30 - Curvas DSC das dispersões sólidas (DSs) e das respectivas misturas-física (MFs) em função do aporte dos fármacos (PCZ e BNZ) nos sistemas. Setas indicamos eventos de fusão dos fármacos nas amostras de MF..... | 110 |
| Figura 31 - Espectro de IV dos fármacos, carreador, DSs PVPVA-fármacos 10% a 40% e suas respectivas MFs..... | 113 |
| Figura 32 - Gráfico de RMSD durante 200 ns (200.000 ps) de simulação computacional do sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (p/p %)..... | 115 |
| Figura 33 - Número e tempo de vida médio das ligações de hidrogênio ao longo dos 200 ns de simulação do sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (p/p %)..... | 115 |
| Figura 34 - Estágio inicial (A) e final (B) da simulação como sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (p/p %)..... | 117 |
| Figura 35 - Avaliação da estabilidade física por DRX das amostras de DS de PVPVA-PCZ/BNZ 10% a 30% (50:50 m/m %), armazenadas em condições aceleradas em 30 dias e 60 dias | 118 |
| Figura 36 - Perfil de dissolução <i>in vitro</i> dos fármacos cristalinos e das DSs PVPVA-fármacos nas concentrações 10% e 20%, sendo a proporção entre fármacos PCZ e BNZ 80:20 (p/p %), respectivamente..... | 119 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| Tabela 1 - Relação quantitativa de todos os componentes das dispersões sólidas polímero/fármacos PCZ/BNZ 50:50 (m/m %) utilizada no ensaio de dissolução considerando um SI de 0,03 para PCZ e 0,07 para BNZ..... | 70 |
| Tabela 2 - Principais modos vibracionais da mistura PCZ/BNZ gerados a partir das análises dos espectros de IV experimental e teórico, considerando a existência de interação do tipo π -stacking no sistema..... | 87 |
| Tabela 3 - Cálculos de AUC alcançados até 1 hr. do teste de dissolução (AUC_{0-1hr}) pelos fármacos isolados e por estes nos sistemas binários (mistura eutética e solução sólida amorfa). | 95 |
| Tabela 4 - Valores de energia eletrostática entre os fármacos e o polímero e entre os fármacos entre si no sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %) | 116 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|--|
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| AUC | Área sob a curva |
| BNZ | Benznidazol |
| BP | British Pharmacopoeia |
| DNDI | <i>Drugs Neglected Diseases initiative</i> |
| DRX | Difração de Raios X |
| DS | Dispersões sólida |
| DSA | Dispersão sólida amorfa |
| DSC | Calorimetria Exploratória Diferencial |
| DTA | Análise Térmica Diferencial |
| EMA | <i>European Medicines Agency</i> |
| FB | Farmacopeia Brasileira |
| FDA | <i>US Food and Drug Administration</i> |
| HPMC | Hidroxipropilmetilcelulose |
| HPMCAS | Hidroxipropilmetilcelulose acetato-succinato |
| IV | Infravermelho |
| LAFEPE | Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco |
| MF | Mistura física |
| NCEs | Novas entidades químicas |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| PCZ | Posaconazol |
| PEG | Poli(et)ilenoglicol |
| PF | Ponto de fusão |
| PVP | Polivinilpirrolidona |
| PVPVA | Polivinilpirrolidona co-acetato de vinil |
| SCB | Sistema de Classificação Biofarmacêutica |
| TGA | Análise Termogravimétrica |
| T _g | Temperatura de transição vítrea |
| <i>T. cruzi</i> | <i>Trypanosoma cruzi</i> |
| UR | Umidade Relativa |
| USP | <i>United States Pharmacopeia</i> |
| WO | <i>World Intellectual Property Organization</i> |

CAS *Chemical Abstracts Service*
SI Sink Index

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|---------------------------------|---|
| <i>A</i> | Área das partículas do solvato |
| cm | Centímetro |
| <i>C</i> | Concentração do fármaco na solução |
| <i>C_s</i> | Concentração de saturação do fármaco em solução |
| ° | Grau |
| °C | Grau Celcius |
| δ | Espessura da camada de difusão |
| <i>D</i> | Coefficiente de difusão do soluto |
| dw/dt | Velocidade de dissolução |
| g/mol | Grama por mol |
| hr. | Hora |
| KJ | Quilojoule |
| $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$ | Quilojoule por mol |
| Kg/s | Quilograma por segundo |
| <i>k</i> | Constante da velocidade de dissolução |
| log P | Coefficiente de partição |
| ® | Marca registrada |
| μg | Micrograma |
| μL | Micro litro |
| mL | Mililitro |
| mg | Miligrama |
| min | Minuto |
| $\mu\text{g}/\text{mL}$ | Micrograma por mililitro |
| mg/mL | Miligrama por mililitro |
| m/m | Relação massa/massa |
| m/V | Relação massa/volume |
| ns | Nanosegundo |
| N° | Número |
| pH | Potencial hidrogênico |
| % | Por cento |
| ps | Pico segundo |

| | |
|----------|--------------------------------|
| pKa | Constante de dissociação ácida |
| T | Temperatura |
| T_e | Temperatura de fusão eutética |
| T_m | Temperatura de fusão |
| US\$ | Dólar dos Estados Unidos |
| V | Volume do meio de dissolução |
| χ_e | composição eutética |
| > | Maior que |

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 20 |
| 1.1 OBJETIVOS | 22 |
| 1.1.1 Objetivo Geral | 22 |
| 1.1.2 Objetivos Específicos | 22 |
| 2 REVISÃO DA LITERATURA | 23 |
| 2.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS | 23 |
| 2.2 DOENÇA DE CHAGAS | 23 |
| 2.3 BENZNIDAZOL | 26 |
| 2.4 POSACONAZOL | 27 |
| 2.5 SOLUBILIDADE E TAXA DE DISSOLUÇÃO | 30 |
| 2.6 TÉCNICAS PARA INCREMENTO DA SOLUBILIDADE ORAL DE FÁRMACOS | 34 |
| 2.6.1 Dispersões sólidas | 35 |
| 2.6.1.1 Teste de dissolução <i>in vitro</i> sob condição <i>non-sink</i> para fármacos no estado amorfo | 40 |
| 2.6.2 Mistura eutética | 43 |
| 2.6.2.1 Desafios na caracterização de misturas eutéticas | 48 |
| 2.6.2.2 Diagrama de fases de uma mistura eutética | 50 |
| 2.6.2.3 Distinções entre mistura eutética e dispersão sólida | 53 |
| 2.6.2.4 Distinções entre mistura eutética e solução sólida cristalina | 54 |
| 2.6.2.5 Distinções entre mistura eutética e co-cristal | 56 |
| 3 MATERIAL E MÉTODOS | 59 |
| 3.1 MATERIAL | 59 |
| 3.2 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA | 59 |
| 3.2.1 Método de evaporação do solvente para obtenção de mistura eutética PCZ/BNZ | 59 |
| 3.2.2 Método de fusão e resfriamento para obtenção de solução sólida amorfa PCZ/BNZ | 60 |
| 3.2.3 Método alternativo para obtenção de mistura eutética PCZ/BNZ | 61 |
| 3.3 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO | 62 |
| 3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA | 63 |
| 3.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial | 63 |

| | |
|---|------------|
| 3.4.2 Difração de Raios-X..... | 64 |
| 3.4.3 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho..... | 65 |
| 3.4.4 Microscopia Raman Confocal..... | 65 |
| 3.4.5 Modelagem molecular..... | 65 |
| 3.4.6 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i> | 66 |
| 3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO | 67 |
| 3.5.1 Microscopia de luz polarizada | 69 |
| 3.5.2 Difração de Raios X..... | 69 |
| 3.5.3 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i> | 69 |
| 3.5.4 Solubilidade de equilíbrio dos fármacos | 71 |
| 3.5.5 Calorimetria Exploratória Diferencial..... | 71 |
| 3.5.6 Espectroscopia de Absorção da Região do Infravermelho..... | 72 |
| 3.5.7 Modelagem molecular..... | 72 |
| 3.5.8 Estudo de estabilidade acelerado | 73 |
| 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 74 |
| 4.1 SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA..... | 74 |
| 4.1.1 Calorimetria Exploratória Diferencial..... | 74 |
| 4.1.2 Difração de Raios X..... | 79 |
| 4.1.3 Espectrofotometria de Absorção da Região do Infravermelho..... | 83 |
| 4.1.4 Microscopia Raman Confocal..... | 88 |
| 4.1.5 Modelagem molecular..... | 89 |
| 4.1.6 Ensaio de Dissolução <i>in vitro</i> | 92 |
| 4.2 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO..... | 95 |
| 4.2.1 Microscopia de luz polarizada e Difração de Raios X | 95 |
| 4.2.2 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i> | 101 |
| 4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial..... | 109 |
| 4.2.4 Espectroscopia de Absorção na Região do Infravermelho..... | 111 |
| 4.2.5 Modelagem molecular..... | 114 |
| 4.2.6 Estudo de estabilidade acelerado | 117 |
| 4.2.7 Ensaio de dissolução <i>in vitro</i> da dispersão sólida de PVPVA contendo os fármacos na proporção eutética (PCZ/BNZ 80:20, m/m %)..... | 119 |
| 5 CONCLUSÃO..... | 121 |

| | |
|--|------------|
| 6 PERSPECTIVAS | 122 |
| REFERÊNCIAS | 123 |
| APÊNDICE A – ANÁLISE DE IV DA DS E MF CONTENDO EUDRAGIT E-100 COM 20 % PCZ-BNZ (50:50, M/M%) | 141 |
| APÊNDICE B – DEPÓSITO DO PEDIDO DE PATENTE NO INPI – TÍTULO DA INVENÇÃO: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS DE POSACONAZOLE BENZNIDAZOL COM INCREMENTO DA DISSOLUÇÃO | 142 |
| APÊNDICE C – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO “ENHANCEMENT OF DISSOLUTION RATE THROUGH EUTECTIC MIXTURE AND SOLID SOLUTION OF POSACONAZOLE AND BENZNIDAZOLE” NA INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS | 143 |
| APÊNDICE D – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO “ENHANCED DELIVERY OF FIXED-DOSE COMBINATION OF SYNERGISTIC ANTICHOLINERGIC AGENTS POSACONAZOLE-BENZNIDAZOLE BASED ON AMORPHOUS SOLID DISPERSIONS” NA EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES | 144 |

1 INTRODUÇÃO

A doença de Chagas é uma doença zoonótica infecciosa causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909). A terapia atual para a doença tem sido feita unicamente com o fármaco antiprotozoário benznidazol (BNZ) (DNDI, 2016 a), o qual tem promovido taxas de cura em cerca de 100 % das crianças e 60 % dos adultos diagnosticados com infecção recente pelo *T. cruzi* (DE ANDRADE et al., 1996). No entanto, durante a fase crônica da doença de Chagas, quando ocorrem danos irreversíveis do coração, esôfago e cólon dos pacientes acometidos pela doença, não existe nenhum tratamento satisfatório (SOSA-ESTANI et al., 2009). Além disso, a longa duração do tratamento e os sérios efeitos colaterais associados a utilização do BNZ reduzem a adesão ao tratamento pelos pacientes e causam interrupção temporária do tratamento em muitos casos (DA SILVA et al., 2012).

BNZ está disponível na forma farmacêutica comprimido 100 mg para adultos e 12,5 mg para recém nascidos e crianças (DNDI, 2017), tendo como principal entrave tecnológico sua pouca solubilidade em água (KASIM et al., 2004) e a biodisponibilidade oral baixa e variável (MOSQUEIRA et al., 2015). Assim, observa-se que a atividade deste fármaco é limitada pela sua baixa solubilidade em água e, portanto, a utilização de um sistema farmacêutico adequado capaz de aumentar a solubilidade aparente e a taxa de dissolução deste fármaco é altamente desejável no mercado. O aumento da biodisponibilidade desta molécula deve permitir que o fármaco alcance concentrações ótimas nos alvos terapêuticos, com maior exposição no tecido afetado e também com redução da dose requerida e do efeito toxicológico associado ao fármaco (LAMAS et al., 2006; MORILLA et al., 2005). No entanto, a ação biológica restrita de BNZ durante a fase aguda da doença de Chagas ainda é uma limitação deste fármaco (SOSA-ESTANI et al., 2009; LAMAS et al., 2006).

Posaconazol (PCZ) é conhecidamente um fármaco antifúngico, o qual tem sido investigado também contra *T. cruzi*. Sua atividade tripanocida foi avaliada *in vitro* e *in vivo* (FERRAZ, 2005). Em um modelo murino, durante a fase aguda da doença de Chagas, PCZ alcançou taxas de cura em até 90 % dos animais infectados com cepas de *T. cruzi*, enquanto apenas 76 % dos animais foram curados com BNZ. No modelo crônico da doença, as diferenças foram ainda maiores: PCZ foi associado com taxas de cura de até 60 %, enquanto nenhum dos animais tratados com BNZ foram curados (URBINA et al., 1998; MOLINA et al., 2000). Além disso, a terapia combinada de PCZ com BNZ na infecção por *T. cruzi* foi concebida como a abordagem ideal, uma vez que pode melhorar a eficácia do tratamento

antichagásico e simultaneamente diminuir a toxicidade e a probabilidade de desenvolvimento de resistência. Segundo Diniz et al. (2013), esta combinação terapêutica foi mais eficaz na redução dos níveis de parasitemia do que os fármacos administrados isoladamente, indicando atividade sinérgica entre PCZ e BNZ.

Contudo, diante do entrave da também extrema baixa solubilidade em água do PCZ e da sua promissora atividade contra *T. cruzi*, principalmente na fase crônica da doença de Chagas, para a qual não existe nenhum tratamento satisfatório disponível, seria desejável fornecer este composto em um sistema farmacêutico com o BNZ capaz de aumentar a solubilidade e biodisponibilidade de ambos os fármacos e, ao mesmo tempo, fornecer uma terapia combinada com maior ação antichagásica para as fases aguda e crônica da doença.

Embora existam diversas patentes de formulações farmacêuticas contendo PCZ e BNZ separadamente, faz-se necessário o desenvolvimento de composições farmacêuticas adequadas capazes de fornecer estes dois fármacos em conjunto com incremento da solubilidade. Dentre os sistemas capazes de promover tal incremento da solubilidade, tem-se misturas eutéticas, soluções sólidas amorfas e dispersões sólidas poliméricas. A mistura eutética é classicamente definida com base no seu ponto de fusão mais baixo comparado aos seus componentes individuais de origem. Isto ocorre graças à sua composição essencialmente heterogênea microcristalina mantida por fracas ligações interfase, que levam às suas altas funções termodinâmicas e, portanto, ao seu ponto de fusão antecipado, garantindo assim maior solubilidade (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014; CHERUKUVADA, ROW, 2014). Do contrário, no sistema de solução sólida amorfa, os dois componentes são totalmente miscíveis e solúveis, sendo a interação entre eles suficientemente elevada, o que resulta na formação de uma solução verdadeira, que é homogênea em nível molecular; por fim, apenas uma só fase amorfa está presente, sendo esta mais solúvel do que os seus fármacos cristalinos de origem (VASCONCELOS et al., 2007). Já para compor uma dispersão sólida, ao menos dois diferentes componentes devem estar presentes: geralmente um fármaco hidrofóbico e uma matriz hidrofílica (ou carreador polimérico) (SAVJANI et al., 2012), a qual é responsável por evitar a cristalização do fármaco amorfo, mantendo-o assim mais solúvel nos fluidos corporais (DEMEDEIROS, 2013).

Assim, o presente trabalho objetivou desenvolver sistemas dispersos na forma de mistura eutética, solução sólida amorfa e dispersões sólidas contendo PCZ e BNZ a fim de promover incremento da solubilidade aparente e da taxa de dissolução desses fármacos combinados.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver sistemas dispersos para incremento da solubilidade dos fármacos posaconazol (PCZ) e benznidazol (BNZ) associados, almejando uma terapia combinada para tratamento das fases aguda e crônica da doença de Chagas.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Obter sistema binário de mistura eutética fármaco-fármaco pelo método de evaporação do solvente partindo da investigação sobre diferentes composições PCZ/BNZ para construção do diagrama de fases e, por fim, caracterizar este sistema por Difração de Raios X (DRX), Espectrometria de Absorção na Região do Infravermelho (IV) (teórica e experimental), Microscopia Raman Confocal, modelagem molecular e dissolução *in vitro*.
- Obter sistema binário de solução sólida amorfa fármaco-fármaco pelo método de fusão e resfriamento partindo da avaliação de diferentes composições PCZ/BNZ por DRX e, finalmente, caracterizar este sistema amorfo por espectrometria na região do IV (teórica e experimental), modelagem molecular e dissolução *in vitro*.
- Obter sistemas de dispersões sólidas polímero-fármaco-fármaco pelo método de evaporação do solvente e caracterizá-los por meio de microscopia de luz polarizada, DRX, dissolução *in vitro*, espectrometria na região do IV, Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e modelagem molecular.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DOENÇAS NEGLIGENCIADAS

As doenças negligenciadas são aquelas causadas por agentes infecciosos ou parasitas e são consideradas endêmicas em populações de baixa renda, especialmente entre as populações pobres da África, Ásia e América Latina. Essas enfermidades também apresentam indicadores inaceitáveis e investimentos reduzidos em pesquisas, produção de medicamentos e em seu controle. As doenças tropicais, como malária, doença de Chagas, doença do sono, leishmaniose visceral, filariose linfática, dengue e esquistossomose continuam sendo algumas das principais causas de morbidade e mortalidade em todo o mundo. Estas enfermidades, conhecidas como doenças negligenciadas, incapacitam ou causam mortes (entre 500 mil e 1 milhão de óbitos anualmente) e representam uma necessidade médica importante que permanece não atendida (DECIT, 2010; FIOCRUZ, 2016 a). As medidas preventivas e o tratamento para algumas dessas moléstias são conhecidos, mas não são disponíveis universalmente nas áreas mais pobres do mundo. Em alguns casos, o tratamento é relativamente barato (FIOCRUZ, 2016 a).

Menos de 5 % do financiamento mundial em inovação foram investidos no grupo das doenças negligenciadas, ainda que mais de 500 milhões de pessoas sejam ameaçadas por estas três doenças parasitárias (ASSAD, 2017; FIOCRUZ, 2016 a). As doenças negligenciadas são um problema global de saúde pública, mas a Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) das indústrias farmacêuticas é orientada quase sempre pelo lucro, estando o setor industrial privado focado nas doenças globais para as quais medicamentos podem ser produzidos e comercializados com geração de lucros. Assim, com baixo poder aquisitivo e sem influência política, os pacientes e sistemas de saúde mais pobres não conseguem gerar o retorno financeiro exigido por estas empresas (ASSAD, 2017; FIOCRUZ, 2016 a; WERNECK et al., 2010).

2.2 DOENÇA DE CHAGAS

A doença de Chagas ou tripanossomíase americana é uma doença infecciosa zoonótica causada pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), que parasitam o sangue e o tecido dos vertebrados (CHAGAS, 1909). É assim nomeada desde que o médico brasileiro Carlos Chagas a descobriu, em 1909. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que

cerca de 5,7 milhões de pessoas estão infectadas, principalmente na América Latina, apesar da doença de Chagas já ser encontrada em outros continentes devido ao fluxo das populações (DNDI, 2016 b). A metade sul dos Estados Unidos contém ciclos enzoóticos de *T. cruzi* e infecções transmitidas por vetores têm sido relatados no Texas, Califórnia, Tennessee, Louisiana e Mississippi (STEVERDING, 2014). Segundo dados da *Drugs Neglected Diseases initiative* (DNDI), a doença de Chagas sozinha é responsável por cerca de 12 mil mortes por ano na região da América Latina e representa um custo global de US\$ 7,2 bilhões por ano (FIOCRUZ, 2016 b).

O parasita é transmitido de um hospedeiro para o outro geralmente através das fezes de insetos sugadores de sangue, popularmente conhecidos como barbeiro ou chupão, que são pertencentes à subfamília *Triatominae*, com *Triatoma infestans*, *Rhodnius prolixus* e *Panstrongylus megistus* sendo os vetores mais importantes (WHO, 2016). Estes vetores noturnos, que normalmente vivem nas rachaduras de casas mal construídas em áreas rurais ou suburbanas, não podem penetrar na pele intacta, fazendo-o então por meio de microlesões provocadas por mordidas nas áreas expostas do corpo e defecando próximo a mordida. Os parasitas entram no corpo quando a pessoa instintivamente coça a área mordida pelo vetor. Outros modos de transmissão incluem transfusão de sangue, transplante de órgãos, através do leite materno, congenitamente através da placenta e pela ingestão de alimentos e bebidas contaminados (DNDI, 2016 b).

Há duas fases durante o curso da doença de Chagas. A fase aguda se inicia 6-10 dias após a infecção e tem a duração de cerca de 4-8 semanas. Na maioria dos casos, a fase aguda é assintomática e menos de 50 % das pessoas apresentam sintomas leves, tais como lesões de pele, inchaço na pele (chagoma), inchaço púrpuro na pálpebra de um olho (conhecido como sinal de Romana), febre, dor de cabeça, gânglios linfáticos aumentados, palidez, dor muscular, dificuldade em respirar, inchaço e dor abdominal ou torácica. Miocardite aguda e encefalite aguda podem ser vistos ocasionalmente em crianças com idades entre 1-5 anos e é fatal na maioria dos casos. Anormalidades no eletrocardiograma são observados em cerca de 50 % dos casos que habitualmente desaparecem mais tarde no curso da doença. Durante esta fase, os tripanossomas circulantes no sangue são facilmente detectados (STEVERDING, 2014) e há uma tendência à evolução para as formas crônicas, caso não seja tratada precocemente com medicamento específico. Estima-se que existam aproximadamente 12 milhões de portadores da doença crônica nas Américas, sendo cerca de 2 a 3 milhões no Brasil (FIOCRUZ, 2016 b).

Eventualmente, o parasita e o hospedeiro alcançam um equilíbrio imunológico e a doença entra na fase crônica. Nesta fase, a parasitemia é grandemente reduzida e os pacientes tomam-se assintomáticos. A maioria dos pacientes (60 a 70%) permanecem em um chamado estágio crônico indeterminado (latente) para o resto de suas vidas e não desenvolvem quaisquer sintomas crônicos. O restante, entre 30 a 40%, entrará na fase crônica determinada (sintomática) da doença associada à manifestação de danos em órgãos (FIOCRUZ, 2016 b; STEVERDING, 2014). Isto acontece geralmente 10-25 anos após a infecção inicial (STEVERDING, 2014). Manifestações típicas são a dilatação do coração (cardiopatía chagásica crônica), que acometem até 30% dos pacientes, e/ou partes do aparelho digestivo (megaesôfago e megacólon), que acometem 10% dos pacientes. Anos mais tarde, a destruição progressiva do músculo cardíaco e do seu sistema nervoso pode conduzir a morte súbita ou insuficiência cardíaca (ZINGALES et al., 2012; DNDI, 2016 b).

Não existe vacina para a doença de Chagas e o controle dos vetores é o método mais eficaz de prevenção. Os principais reservatórios dos parasitas *T. cruzi* são os animais silvestres, tais como gambás, tatus, cães e ratos, e no ciclo doméstico, os reservatórios são seres humanos e mamíferos domésticos ou sinantrópicos como cães, gatos, ratos e porcos (FIOCRUZ, 2016 b).

Os tratamentos atualmente disponíveis, o benznidazol (a primeira escolha) e nifurtimox, devem ser administrados sob supervisão médica e são quase 100 % eficazes se administrados logo após a infecção. A eficácia é superior a 90 % em crianças e dados recentes tem mostrado que as taxas de resposta para adultos cronicamente infectadas são até cerca de 80 %. Em ambas as crianças e jovens, o tratamento da doença de Chagas está associada com menos efeitos adversos do que em adultos. Apesar disso, atualmente apenas cerca de 1 % das pessoas infectadas são tratadas. As desvantagens da terapia incluem longos períodos de tratamento (60-90 dias), a toxicidade dose-dependente e altas taxas de abandono dos pacientes devido a efeitos secundários. Não há atualmente nenhum tratamento aprovado para a forma crônica da doença, com envolvimento seguro e eficaz dos órgãos-alvo e os tratamentos orais para ambos os estágios da doença ainda são necessários (DNDI, 2016 b).

Uma vez que a quimioterapia corrente para a doença de Chagas é insatisfatória devido à sua eficácia limitada, particularmente na fase crônica, com efeitos secundários frequentes que podem levar à interrupção do tratamento, abordagens terapêuticas mais atuais tem visualizado a terapia combinada como ideal, uma vez que pode melhorar a eficácia do tratamento e simultaneamente diminuir a toxicidade e a probabilidade de desenvolvimento de

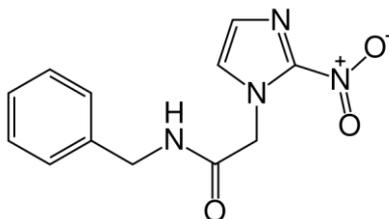
resistência. Uma das terapias combinadas mais citadas como promissoras se faz com o benznidazol associado ao anti-fúngico posaconazol (DINIZ et al., 2013).

2.3 BENZNIDAZOL

A terapia atual para a doença de Chagas na América Latina tem sido realizada com o fármaco antiprotozoário benznidazol (BNZ), o qual compõe o único medicamento comercialmente disponível fomecido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) do Brasil (DNDI, 2016 a).

Este agente antiprotozoário refere-se a um composto tendo número de registo CAS: 22994-85-0; nome CAS: N-benzil-2- (2-nitroimidazol-1-il) acetamida; Fórmula: $C_{12}H_{12}N_4O_3$; Peso molecular: 260,2 g/mol; ponto de fusão: 189 °C; o qual é representado pela estrutura molecular plana da Figura 1 (PUBCHEM, 2016 a).

Figura 1 – Fórmula geral do benznidazol.



Fonte: Adaptado de Pubchem (2016 a).

Durante a fase aguda da doença, este fármaco pode promover cura em cerca de 100 % em crianças e 60 % em adultos com infecção recente (DE ANDRADE et al., 1996). No entanto, na fase crônica, quando ocorrem danos irreversíveis no coração, esôfago e cólon, não existe nenhum tratamento satisfatório (SOSA-ESTANI et al., 2009). A longa duração do tratamento e os sérios efeitos colaterais associados a utilização do BNZ tem reduzido a adesão ao tratamento e causaram interrupção temporária do tratamento em muitos casos (DA SILVA et al., 2012).

BNZ é um fármaco pouco solúvel em água (KASIM et al., 2004) e está disponível somente sob a forma farmacêutica comprimido de 100 mg para adultos e 12,5 mg para recém-nascidos e crianças (DNDI, 2017), o qual possui baixa e variada biodisponibilidade oral (MOSQUEIRA et al., 2015).

Considerando a sua categoria como um fármaco classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) (LIMA et al., 2009) no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (AMIDON et al., 1995), em termos de desenvolvimento farmacotécnico, Lamas et al. (2006) desenvolveram soluções alcoólicas que contêm tensoativos, tais como polietilenoglicol (PEG) 400, para aumentar a solubilidade aparente do BNZ até 10 mg/mL. BNZ em lipossomas multilamelares para administração parenteral também foram desenvolvidos para modificar a biodistribuição do fármaco em ratos (MORILLA et al., 2005). A patente PI0903451-0 A2 revelou os complexos de inclusão do BNZ com ciclodextrinas, os quais promoveram uma maior solubilidade do fármaco. A complexação de BNZ com rutênio também aumentou a solubilidade do fármaco e sua atividade (patente PI0704577-8 A2) (SILVA et al., 2008). Composições farmacêuticas e veterinárias micro e nanoestruturadas contendo BNZ e todos os seus derivados nitroimidazóis foram divulgados pela WO 2015/039199 (MOSQUEIRA et al., 2015). Desde 2011, nova forma farmacêutica pediátrica contendo 12,5 mg de BNZ em comprimido facilmente dispersível (desintegráveis) mais adaptados para bebês e crianças até dois anos de idade também foi registrada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) do Brasil (DNDI, 2016 a).

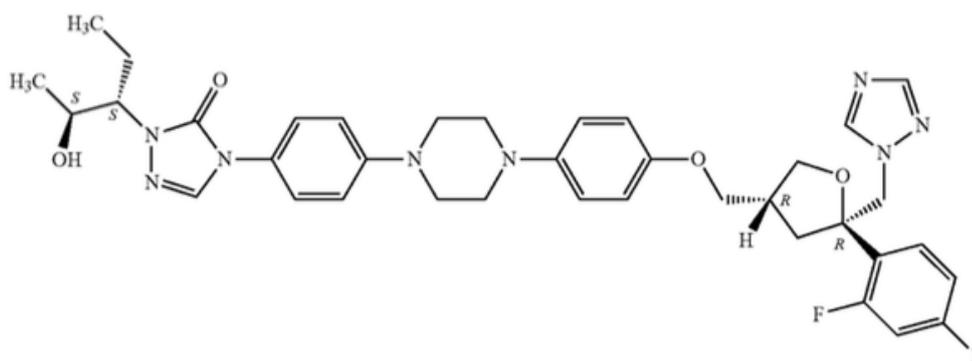
Ainda assim, a atividade do BNZ é limitada pela pouca solubilidade e elevada toxicidade e, portanto o uso de um sistema farmacêutico adequado para aumentar a solubilidade aparente e a taxa de dissolução deste fármaco é altamente desejável no mercado. O aumento da biodisponibilidade desta molécula deve permitir que o fármaco alcance seus objetivos terapêuticos em concentrações ótimas, promovendo maior exposição no local afetado (LAMAS et al., 2006; MORILLA et al., 2005). No entanto, a restrita ação biológica do BNZ durante a fase aguda da doença de Chagas ainda é uma limitação atribuída a este fármaco (SOSA-ESTANI et al., 2009; LAMAS et al., 2006).

2.4 POSACONAZOL

Posaconazol (PCZ) é um agente antifúngico triazol de segunda geração de amplo espectro atuando como inibidor da biosíntese do ergosterol. Este mecanismo é também favorável para a atividade antitripanosoma *in vitro* e *in vivo* do PCZ durante a fase aguda e crônica da doença de Chagas, visto que o ergosterol é necessário para sobrevivência, desenvolvimento e crescimento do *T. cruzi* (FERRAZ, 2005).

Este fármaco refere-se a um composto tendo número de registro CAS: 171228-49-2; nome CAS: 2,5-anhydro-1,3,4-trideoxy-2-C-(2,4-difluor-ophenyl)-4-[[4-[4-[4-[1-[(1S,2S)-1-ethyl-2-hydroxypropyl]-1,5-dihydro-5-oxo-4H-1,2,4-triazol-4-yl]phenyl]-1-piperazinyl]fenoxi] metil] -1- (1H-1,2,4-triazol-1-il) -D-threopentitol); Fórmula: $C_{37}H_{42}F_2N_8O_4$; Peso Molecular: 700,8 g/mol; ponto de fusão 170 - 172 °C; o qual é representado pela estrutura molecular plana da Figura 2 (PUBCHEM, 2016 b).

Figura 2 – Fórmula geral do posaconazol.



Fonte: Adaptado de Pubchem (2016 b).

Este fármaco demonstrou eficácia *in vitro* e *in vivo* nas fases aguda e crônica da doença, atuando como inibidor do desenvolvimento do parasita (DA SILVA et al., 2012; FERRAZ, 2005). Em um modelo murino da doença de Chagas aguda, PCZ curou até 90 % dos animais infectados com cepas sensíveis e parcialmente sensíveis de *T. cruzi*, enquanto apenas 76 % foram curados com BNZ. No modelo crônico da doença, as diferenças foram ainda maiores: PCZ foi associado com taxas de cura de até 60 %, enquanto nenhum dos animais tratados com BNZ foram curados (URBINA et al., 1998; MOLINA et al., 2000).

A atividade anti-*T. cruzi* do PCZ é menos dependente de interferon-gama e linfócitos B em relação ao BNZ (FERRAZ et al., 2007); além deste fármaco mostrar-se ativo em cepas resistentes ao BNZ e mesmo em hospedeiros imunossuprimidos (URBINA, 2002; PINAZO et al., 2010). Um estudo randomizado fase II com pacientes em fase crônica da doença demonstrou, no entanto, maiores taxas de falha na terapia com PCZ nas doses 100 mg e 400 mg comparado ao BNZ 150 mg, apesar de ambos os fármacos expressarem atividade supressiva do DNA de *T. cruzi* a partir da segunda semana de tratamento até 60 dias e da ausência de efeitos adversos graves do PCZ comparado ao BNZ (MOLINA et al., 2014).

Por isso, a terapia combinada de PCZ com BNZ sobre infecções por *T. cruzi* tem sido concebida como uma abordagem ideal, uma vez que pode melhorar a eficácia do tratamento e

simultaneamente, diminuir a toxicidade e a probabilidade de desenvolvimento de resistência. Em um modelo murino, esta combinação terapêutica foi mais eficaz na redução dos níveis de parasitemia do que os fármacos administrados isoladamente, indicando atividade sinérgica desses fármacos (DINIZ et al., 2013).

Como fármaco antifúngico, PCZ está disponível na forma de suspensão para administração oral (40 mg/mL) sob a marca registrada NOXAFIL[®], da Schering Corporation, Kenilworth, NJ. Uma composição farmacêutica compreendendo PCZ, pelo menos um agente tensoativo não iônico e um diluente foi relevado pela patente US N° 8,263,600 sob a forma de suspensão líquida. Uma solução sólida amorfa de PCZ em um polímero, a qual pode ser fornecida sob a forma de comprimidos ou cápsulas, foi revelada pela patente US N° 5,972,381. Outras composições farmacêuticas preparadas pela mistura ou granulação de PCZ com pelo menos um agente tensoativo não iônico e um diluente, as quais podem ser formuladas em cápsulas ou comprimidos foram reveladas na patente US N° 5,834,472. Outra dispersão sólida contendo PCZ e o polímero hidroxipropilmetilcelulose acetato-succinato (HPMCAS), um polímero sensível ao pH, foi relevada pela EP 2278957. Uma forma tópica de administração de PCZ, disponível como esmalte para dar acabamento de unhas, foi descrito na patente US N° 4,957,730. A suspensão farmacêutica injetável de PCZ, a qual é estável quando submetida a esterilização a vapor foi divulgada na WO (*World Intellectual Property Organization*) 2006/130177. Formulações em nanopartículas de PCZ para serem formuladas para administração parenteral estão descritas na WO 2007/143390.

PCZ se caracteriza como uma base fraca altamente lipofílica ($\log P > 3$, pK_a 3,6 e 4,6) (US 8,563,555) e pode ser parcialmente solubilizado em solução aquosa fortemente ácida com pH 1 ou inferior, onde tem solubilidade de cerca de 790 $\mu\text{g/mL}$. Em contraste, em $\text{pH} > 4$ PCZ tem solubilidade menor que 1 $\mu\text{g/mL}$ em solução aquosa (FANG et al., 2011).

Assim, solubilidade e taxa de dissolução extremamente baixa tem se mostrado um dos mais importantes desafios também para o PCZ. Em geral, estas características impedem a sua aplicação terapêutica, retardando a velocidade de absorção e, assim, o início de ação farmacológica. A melhoria da solubilidade aquosa neste caso é uma atribuição valiosa para melhorar a eficácia terapêutica deste fármaco (FULE, AMIN, 2014), principalmente considerando sua promissora atividade contra *T. cruzi* na fase crônica da doença de Chagas, na qual não existe tratamento satisfatório disponível, e sua ação sinérgica com BNZ para promoção de uma combinação terapêutica com maior ação anti-chagásica (DINIZ et al., 2013).

2.5 SOLUBILIDADE E TAXA DE DISSOLUÇÃO

Solubilidade é definida como o fenômeno da dissolução das moléculas de um soluto (a exemplo dos fármacos e proteínas) em um veículo solvente formando uma solução homogênea de um soluto em um solvente, sejam estes sólidos, líquidos ou gasosos. Esta propriedade depende fundamentalmente do tipo de solvente e é diretamente influenciada pela temperatura e pressão (FLORENCE, ATTWOOD, 2011).

A extensão da solubilidade de uma substância em um solvente específico é mensurada como *concentração de saturação*, em que a adição de mais soluto não aumenta a sua concentração na solução. Desta forma, quando a solução contém um soluto até o limite da sua solubilidade em uma dada temperatura e pressão, este sistema é chamado *saturado*. Uma vez que a solubilidade ocorre sob condições dinâmicas de equilíbrio entre o sólido e a solução que o contém, sob certas condições, a *solubilidade de equilíbrio* pode ser excedida formando a chamada solução *supersaturada*, a qual é metaestável e na qual a quantidade de fármaco fica acima do seu limite normal de solubilidade. Esta solução geralmente cristaliza quando ‘núcleos’ cristalinos são introduzidos e ocorre rápido equilíbrio (FLORENCE, ATTWOOD, 2011).

A solubilidade de equilíbrio máxima de um fármaco num dado meio determina a velocidade de solução (dissolução) do fármaco, ou seja, a velocidade na qual o fármaco se dissolve a partir do estado sólido. Quanto maior for a solubilidade, maior será a velocidade de dissolução, quando não houver envolvimento de uma reação química. Assim, o processo de dissolução consiste na transferência de moléculas ou íons de um estado sólido para uma solução, e a taxa de dissolução é a velocidade com que um composto pode dissolver-se em solução (WILLIAMS et al., 2013).

A dissolução por sua vez não é sempre um processo instantâneo, e sim consequência de determinados fatores: da taxa de solubilização (em Kg/s), que está relacionada com a solubilidade do composto (dependendo da temperatura); da área de superfície da partícula; da sua cristalinidade ou a sua falta, no caso de sólidos amorfos; e da presença do polimorfismo (WILLIAMS et al., 2013). Fundamentalmente, a taxa de dissolução depende de vários fatores. Em alguns casos, o equilíbrio de solubilidade pode levar um longo tempo para estabelecer (horas, dias, meses ou anos, dependendo da natureza do soluto e outros fatores). Na prática, isso significa que a quantidade de soluto numa solução não é meramente determinada pela sua

solubilidade termodinâmica, mas também depende da cinética de dissolução (ou precipitação) (FLORENCE, ATTWOOD, 2011).

Portanto a taxa de dissolução e a solubilidade são parâmetros que não devem ser confundidos, uma vez que eles envolvem diferentes conceitos, neste caso, cinéticos e termodinâmicos, respectivamente. A cinética de solubilização ou a taxa de dissolução, bem como a solubilidade aparente pode ser melhorada após a complexação de um fármaco com ciclodextrina, por exemplo. Este complexo pode ser utilizado no caso de fármacos com baixa solubilidade, tanto para administração por via oral quanto parenteral (GIL et al., 2004; DAVIS, BREWSTER, 2004; BREWSTER, LOFTSSON, 2007; LOFTSSON, DUCHÊNE, 2007).

De um modo geral, acredita-se que somente as substâncias na forma molecularmente dispersa, ou seja, em solução, são transportadas através da parede intestinal e absorvidas pela circulação sistêmica. E a velocidade de absorção de muitos fármacos pouco solúveis a partir do trato gastrintestinal e de outros sítios é limitada pela velocidade de dissolução do fármaco. Portanto, o tamanho de partícula de um fármaco é importante, caso a substância em questão apresente baixa solubilidade (KHADKA et al., 2014).

Para descrever o processo de solução, há uma lei que define a velocidade de solubilização de sólidos quando o processo é controlado por difusão e não envolve qualquer reação química. Esta é representada pela equação de Noyes-Whitney (Equação 1), onde $k = DA/\delta$ e os termos da equação são: dw/dt , a velocidade de incremento do montante de material em solução que se dissolveu a partir de um sólido; k , a constante da velocidade de dissolução (tempo⁻¹); C_s , a concentração de saturação do fármaco em solução na camada de difusão; e C a concentração do fármaco no corpo da solução. Ainda, A é a área das partículas do solvato expostas ao solvente, δ é a espessura da camada de difusão, e D é o coeficiente de difusão do soluto dissolvido. Desta forma, pode-se utilizar desta equação para prever o efeito de certos parâmetros sobre a velocidade de dissolução de fármacos no estado sólido (NOYES, WHITNEY, 1897).

$$\frac{dw}{dt} = k(C_s - C) \quad (\text{Equação 1})$$

Esta equação demonstra que a solubilidade é um dos fatores determinantes da velocidade de dissolução. Quando a velocidade de dissolução é menor que a velocidade de absorção, o processo de solubilização torna-se limitante. De forma geral, isto só deve ocorrer

quando o fármaco for pouco solúvel nos valores de pH dos conteúdos estomacal e intestinal. A velocidade de absorção, a rapidez com que o efeito se estabelece, e a duração da resposta terapêutica podem ser determinadas pelo tamanho da partícula para a maioria das vias de administração (FLORENCE, ATTWOOD, 2011).

O efeito da redução do tamanho de partícula sobre a velocidade de dissolução consiste na exposição de quantidades cada vez maiores de fármaco ao solvente. Partículas muito pequenas (abaixo de 1 μm , com 0,5 μm de raio) têm uma razão superfície-volume muito elevada, o que aumenta a área de superfície disponível para solvatação. Se a camada superficial apresentar energia mais alta que a do seu volume, como é o caso destas partículas pequenas, elas interagirão mais rapidamente com o solvente para produzir maior solubilidade (KHADKA et al., 2014). Williams et al. (2013) e Sun et al. (2012) reportaram que a redução no tamanho de partícula, de fato, tem efeito sobre a cinética de solubilidade da substância. Isto ocorre porque a redução no tamanho de partícula abaixo de 1 μm aumenta a pressão de solvatação e causa rompimento da interação soluto-soluto, facilitando o processo de solubilização (JUNGHANNS, MULLER, 2008).

Além da elevada importância do tamanho de partículas, outros parâmetros como a forma das moléculas para a interação entre grupos não-polares e água e as ramificações na cadeia com grupos hidrofóbicos também influenciam a solubilidade em água. Um outro parâmetro capaz de prever a solubilidade é o ponto de fusão dos sólidos, uma vez que este reflete a coesão molecular, ou seja, as forças de interação entre as moléculas no sólido. De forma geral, a solubilidade é menor para substâncias com maior ponto de fusão (forças de atração mais fortes) e com menor afinidade pela água (pobre solvatação). Desta forma, este é um parâmetro útil para prever a solubilidade dos compostos similares e pode ser usado como guia para ordenar a solubilidade de uma série de compostos intimamente relacionados (WILLIAMS et al., 2013).

Existem diversas maneiras de quantificar a solubilidade. O coeficiente de partição (Log P) é a uma maneira diferencial de mensurar a solubilidade de um composto em um solvente hidrofóbico (octanol) e em um solvente hidrofílico (água). O logaritmo desses dois valores habilitam os compostos para serem categorizados em termos de hidrofobicidade (ou hidrofobicidade) (KUJAWSKI et al., 2012).

As Farmacopeias Americana (USP-NF, 2016), Britânica (BP, 2016) e Brasileira (FB 5, 2010) classificam a solubilidade independentemente do solvente usado, fazendo-a somente em termos de quantificação e tem definido o critério como apresentado no Quadro 1. A

expressão partes refere-se à dissolução de 1 g de um sólido no número de mililitros do solvente estabelecido no número de partes.

Quadro 1 - Termos descritivos de solubilidade e seus significados.

| Termo descritivo | Parte (s) de solvente requerido por parte de soluto |
|--|--|
| Muito solúvel | Menos de 1 |
| Facilmente solúvel | De 1 a 10 |
| Solúvel | De 10 a 30 |
| Ligeiramente solúvel | De 30 a 100 |
| Pouco solúvel | De 100 a 1000 |
| Muito pouco solúvel | De 1000 a 10 000 |
| Praticamente insolúvel ou insolúvel | Mais de 10 000 |

Fonte: FB 5, 2010

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica - SCB (*Biopharmaceutics Classification System*), por sua vez, classifica os fármacos quanto a sua biodisponibilidade oral, que é determinada principalmente pela sua solubilidade e permeabilidade. Este sistema foi desenvolvido na década de 1990 por Gordon Amidon e, desde então, tem sido preconizado pelas agências reguladoras norte-americana (*US Food and Drug Administration*, FDA) e europeia (*European Medicines Agency*, EMA) para prever a absorção intestinal de fármacos (AMIDON et al., 1995). De acordo com este sistema, um fármaco é considerado altamente solúvel quando a força da maior dose é solúvel em volume igual ou menor que 250 mL de um meio aquoso cobrindo uma faixa de pH 1 a 7,5. O volume estimado de 250 mL é derivado dos típicos protocolos de estudos de bioequivalência que prescrevem administração de um medicamento em voluntários humanos alimentados utilizando um copo de água de 250 mL. Um fármaco é considerado altamente permeável quando a extensão da absorção em humanos é > 90 % da dose administrada, baseado no balanço de massa ou em comparação com uma dose intravenosa de referência (FDA, 2016).

Desta forma, o SCB classifica os fármacos em quatro classes: classe I — alta solubilidade e alta permeabilidade, classe II — baixa solubilidade e alta permeabilidade, classe III — alta solubilidade e baixa permeabilidade e classe IV — baixa solubilidade e baixa

permeabilidade. Ambos os fatores são altamente relevantes, uma vez que 85 % dos medicamentos mais vendidos nos Estados Unidos e Europa são administrados por via oral (FDA, 2016) e mais de 40 % das NCEs (novas entidades químicas) desenvolvidos na indústria farmacêutica são praticamente insolúveis em água. Estes fármacos têm absorção lenta e biodisponibilidade insuficiente e variável, além de toxicidade na mucosa gastrointestinal (SAVJANI et al., 2012).

Desta forma, qualquer fármaco para ser absorvido deve estar presente sob a forma de solução no local de absorção, o que permite com que seja atingida a concentração desejada na circulação sistêmica, alcançando assim a resposta farmacológica necessária. Fármacos pouco solúveis em água muitas vezes necessitam de doses elevadas para alcançar concentrações terapêuticas plasmáticas após administração oral (SAVJANI et al., 2012). Portanto a melhoria da solubilidade do fármaco e assim da sua biodisponibilidade oral continua sendo um dos aspectos mais desafiadores do processo de desenvolvimento de medicamentos, especialmente para sistemas de liberação de fármacos administrados por via oral. Existem numerosas abordagens disponíveis e descritas na literatura para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água. As técnicas são escolhidas com base em certos aspectos, tais como propriedades do fármaco em estudo, natureza dos excipientes a serem selecionados e da natureza da forma farmacêutica pretendida (WILLIAMS et al., 2013).

Especialmente aos fármacos classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) de acordo com o SCB, a biodisponibilidade pode ser aumentada por aumento da taxa de dissolução do fármaco nos fluidos gastrointestinais. Para os fármacos desta categoria, as etapas limitantes são a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica e sua solubilidade no fluido gástrico, e não sua absorção. Desta forma, o aumento na taxa de dissolução reflete no aumento da sua biodisponibilidade (KUMAR et al., 2011; KAWABATA et al., 2011) e mesmo um pequeno aumento na taxa de dissolução as vezes resulta em um grande aumento na biodisponibilidade (LOBENBERG, AMIDON, 2000).

2.6 TÉCNICAS PARA INCREMENTO DA SOLUBILIDADE ORAL DE FÁRMACOS

As técnicas de incremento da solubilidade aquosa de fármacos poucos solúveis em água incluem as modificações físicas e químicas.

Dentre as modificações físicas, encontram-se as técnicas de redução do tamanho de partícula como micronização e a formação de nanocristais, nanoemulsões, microemulsões e

nanosuspensões (KHADKA et al., 2014). Além destas, a modificação da forma cristalina por meio dos polimorfos, formação de co-cristais e amorfização, que pode ser alcançada através da dispersão do fármaco em carreadores durante a formação de dispersões sólidas amorfas, igualmente produzem melhoria na solubilidade de fármacos (SAVJANI et al., 2012; KHADKA et al., 2014). A dispersão de fármacos, geralmente em carreadores, também é observada através das técnicas de misturas eutéticas e soluções sólidas (WILLIAMS et al., 2013; SAVJANI et al., 2012). Estas técnicas serão tratadas com mais detalhes subsequentemente.

Quanto as modificações químicas, as mudanças de pH (para fármacos ionizáveis), complexação com ciclodextrinas, formação de sal, pró-fármacos e tampões também podem promover aumento da solubilidade aquosa dos fármacos. Outros processos utilizados com este intuito são o fluido supercrítico, o uso de adjuvantes como surfactantes, solubilizantes, co-solventes e o uso de novos excipientes (SAVJANI et al., 2012; KHADKA et al., 2014).

2.6.1 Dispersões sólidas

O interesse por dispersões sólidas tem crescido ao longo do tempo na tentativa de modificar as propriedades biofarmacêuticas de fármacos pouco solúveis ou difíceis de umedecer. O objetivo é obter um sistema no qual a cristalinidade do fármaco seja alterada ao ponto de modificar sua solubilidade e velocidade de dissolução, além de intimamente envolver o fármaco com material hidrossolúvel (FLORENCE, ATTWOOD, 2011).

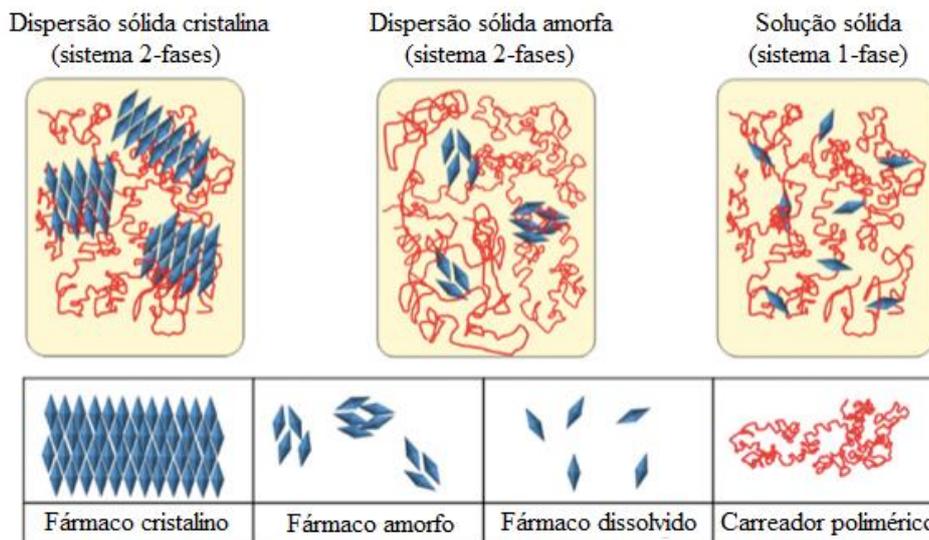
O conceito de dispersão sólida foi originalmente proposto por Sekiguchi e Obi em 1961 (SEKIGUCHI, OBI, 1961). Desde então, as dispersões sólidas representam uma ferramenta farmacêutica útil no incremento da dissolução, absorção e eficácia de fármacos em formas farmacêuticas. O termo dispersão sólida refere-se a um grupo de produtos consistindo em, ao menos, dois diferentes componentes: geralmente uma matriz hidrofílica e um fármaco hidrofóbico. Os carreadores hidrofílicos mais comumente utilizados incluem polivinilpirrolidona (Povidona, PVP), polietilenoglicóis (PEGs), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), hidroxipropilcelulose, óxido de polietileno, gelatina, carbômero, carboximetilcelulose, metilcelulose, copolímero de ácido metacrílico, copolímero de metacrilato, e sais solúveis em água, tais como sais de sódio e de amônio de ácido metacrílico e copolímeros de metacrilato, ftalato acetato de celulose, ftalato de hidroxipropilmetilcelulose e alginato de propilenoglicol (SAVJANI et al., 2012; BASF, 2008).

O carreador em uma dispersão sólida funciona como uma barreira que vai dificultar a junção das moléculas do fármaco (quando este se encontra na forma amorfa) evitando a sua cristalização. Desta forma, o carreador funciona como um estabilizador. Assim, a vantagem da maior solubilidade da forma amorfa de um composto pode ser utilizada para aumentar sua quantidade nos fluidos corporais (DEMEDEIROS, 2013).

As dispersões sólidas aumentam a dissolução dos fármacos através de vários mecanismos, incluindo a redução efetiva no tamanho de partícula, aumento da molhabilidade, aumento da solubilização e eliminação do impacto da energia de formação da estrutura cristalina por meio da estabilização do fármaco no estado amorfo mais solúvel. O mecanismo do aumento de dissolução é em grande parte ditado pela estrutura da dispersão sólida formada (GRANTSCHAROVA, GUTZOW, 1986).

As dispersões sólidas podem ser classificadas como: 1) cristalina ou suspensão cristalina vítrea; 2) amorfa ou suspensão amorfa vítrea (comumente conhecidas como dispersões sólidas amorfas – DSAs); ou 3) solução sólida amorfa (Figura 3). Nos três casos, o carreador é amorfo (vítreo). A dispersão sólida cristalina apresenta o fármaco na forma cristalina e, por isso, é constituída de duas fases. Este sistema é o mais estável, no entanto possui menor desempenho em ensaios de dissolução. Já na DSA, o fármaco encontra-se na forma amorfa, mas não está molecularmente disperso na matriz do carreador, por isso este tipo constitui duas fases e pode sofrer recristalização. Entretanto, as DSAs geralmente apresentam taxa de dissolução muito maior do que as formulações contendo o fármaco cristalino, sendo portanto preferíveis. A solução sólida amorfa também apresenta o fármaco na forma amorfa, porém neste tipo de mistura as interações entre o carreador e o fármaco são grandes resultando em completa miscibilidade dos dois componentes, formando um sistema de uma fase que é homogêneo em nível molecular. Por esse motivo, a solução sólida amorfa é mais estável do que a DSA (KOLTER et al., 2010).

Figura 3 - Esquema descrevendo os três arranjos moleculares diferentes de moléculas de fármaco dentro de uma matriz polimérica de dispersão sólida.



Fonte: Adaptado de Sun, Lee (2014).

Legenda: Partículas sólidas cristalinas do fármaco podem formar arranjos cristalinos na matriz polimérica (tipo 1, localizado à esquerda); ou podem estar presentes na forma amorfa (tipo 2, localizada no centro), que possui maior taxa de dissolução; ou podem ainda estar molecularmente dispersos, com grande área de contato na rede polimérica (tipo 3, localizado à direita), o qual garante maior taxa de dissolução que os sistemas anteriores.

Chiou e Riegelman (1971) foram os primeiros a reportar a formação de uma solução sólida amorfa de griseofulvina e ácido cítrico para aumentar as propriedades de dissolução do fármaco. A partir de então, em uma série de publicações, Goldberg, Gibaldi e Kanig (1965, 1966 a, 1966 b, 1966 c) discutiram as vantagens teóricas e práticas de soluções sólidas sobre as misturas eutéticas. A melhoria nas características de dissolução foram atribuídas aos seguintes fatores: máxima redução do tamanho de partícula do fármaco; aumento da molhabilidade do fármaco; presença do fármaco na forma de solução, ou seja, sem uma estrutura cristalina que requer energia necessária para promover dissolução do fármaco; precipitação do fármaco geralmente como polimorfo metaestável, portanto com maior solubilidade que a forma mais estável; mecanismos de solubilização via direta ou por efeito co-solvente do carreador presente na solução sólida (LEUNER, DRESSMAN, 2000).

Dentro da categoria das soluções sólidas amorfas, existem dois subtipos: 1) aqueles em que os dois materiais são miscíveis em todas as composições, tanto no estado líquido e sólido (soluções sólidas contínuas) e 2) aqueles em que a miscibilidade fármaco-carreador é observada apenas em determinadas composições (soluções sólidas descontínuas) (ALAM et al., 2012). Soluções sólidas contínuas são raras e, em geral, não são relatadas na literatura farmacêutica. Teoricamente, isto significa que a força de ligação entre os dois componentes é

mais forte do que a força de ligação entre as moléculas de cada um dos componentes individuais. Os sistemas descontínuos apresentam maior relevância farmacêutica (CHIOU, RIEGELMAN., 1971; LEUNER, DRESSMAN, 2000).

Quando fármaco e carreador são miscíveis (isto é, quando soluções sólidas amorfas são formadas), o fármaco é misturado no interior do suporte em um nível molecular, e o fármaco sob esta forma exibe a máxima área de superfície acessível para hidratação (tipo 3, à direita da Figura 3). A taxa de liberação do fármaco a partir de soluções sólidas é mais rápida do que a partir de sistemas de multifase equivalentes contendo partículas sólidas de fármaco em suspensão, independentemente do fato de o material suspenso ser amorfo (tipo 2 da Figura 3) ou cristalino (tipo 1 da Figura 3) (WILLIAM et al., 2013).

Geralmente as formulações de DSAs tendem a ser quimicamente e fisicamente menos estáveis do que o sólido cristalino correspondente. A transformação da forma amorfa para a forma cristalina na formulação DSA conduziria a uma redução da biodisponibilidade oral dos fármacos incorporados. Portanto DSA podem ser inadequadas para fármacos amorfos com baixa estabilidade (KAWABATA et al., 2011).

Diversos tipos de polímeros podem ser utilizados como carreadores em uma DSA com o intuito de promover diferentes cinéticas de liberação do fármaco amorfo, cobrindo desde os polímeros solúveis (em meios com diferentes pHs) até os insolúveis. Em condições de dissolução *non-sink*, a liberação do fármaco amorfo a partir de carreadores solúveis (tais como PVP, HPMC e HPMCAS) é regida por um mecanismo controlado pela dissolução, o que leva a um aumento inicial da supersaturação seguido por um declínio acentuado na concentração do fármaco devido à rápida nucleação e cristalização do mesmo (caracterizando o chamado perfil “spring-and-parachute”, explicado na Seção 3.6.1.1). Em contraste, a dissolução de fármacos em uma DSA a partir de carreadores insolúveis (Ex.: etilcelulose, Eudragit® RL PO, Eudragit® RL, Eudragit® RS) é mais gradual, sendo a liberação do fármaco regulada por um mecanismo de difusão controlada através do qual a supersaturação do fármaco é construída gradualmente e sustentada durante um período de tempo prolongado sem qualquer diminuição aparente (SUN, LEE, 2015 a; SUN, LEE, 2014).

Uma abordagem recomendada para a identificação da presença de várias variantes estruturais em uma única amostra de dispersão é a análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Uma mistura contendo tanto uma única fase amorfa e uma mistura bifásica amorfa exibiria uma temperatura de transição vítrea (T_g) para a fase única e dois valores de T_g diferentes para a porção bifásica. Deve-se considerar, no entanto, o risco de

sobreposição de eventos térmicos para materiais diferentes em um único sinal de DSC, por isso há necessidade de utilizar técnicas térmicas cada vez mais sensíveis, além de espectrofotometria e outros métodos analíticos complementares para facilitar a caracterização estrutural de sistemas complexos como as dispersões sólidas (MOORE, WILDFONG, 2009).

Numerosos estudos tem demonstrado o aumento acentuado da absorção oral de fármacos devido à abordagem das dispersões sólidas, a exemplo das dispersões contendo everolimus (Certican[®]/Zortress[®], NOVARTIS), ritonavir (Norvir[®], ABBOTT), etravirina (Intelence[®], TIBOTEC), liponavir/ritonavir (Kaletra[®], ABBOTT) e itraconazol (Sporanox[®], JANSSEN) (KAWABATA et al., 2011). A biodisponibilidade oral do PCZ foi aumentada em virtude da utilização de dispersão sólida com o carreador Soluplus[®] e surfactantes (FULE, AMIN, 2014). O BNZ também alcançou incremento da solubilidade mediante preparação de dispersão sólida com PEG 6000 adicionado de PVP K-30 (50:50, V/V) (LIMA et al., 2011). Várias técnicas de preparo das dispersões sólidas envolvendo fármacos hidrofóbicos vem sendo utilizadas com objetivo de aumentar a solubilidade aquosa (SAVJANI et al., 2012).

O método de fusão (ou *hot melt*) tem como vantagens ser um método direto, simples e econômico. Este método foi proposto primeiramente por Sekiguchi e Obi (1961) no preparo de dispersões sólidas em formas farmacêuticas de liberação imediata. Neste método, a mistura física do fármaco e de polímero carreador solúvel em água é aquecida diretamente até fusão dos dois componentes. A mistura fundida é então resfriada e solidificada rapidamente em um banho de gelo com vigorosa agitação. A massa final sólida é então triturada, pulverizada e tamisada, a qual pode seguir para ser comprimida junto com outros agentes que ajudam a formar comprimidos. O ponto de fusão do sistema binário é dependente da sua composição, ou seja, da seleção do carreador e a fração peso do fármaco no sistema (CHIOU, RIEGELMAN, 1971; ALAM et al., 2012; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016).

Dois requisitos importantes para a formação da dispersão sólida pelo método de fusão a quente são a miscibilidade do fármaco e do carreador na forma fundida e a estabilidade térmica de ambos, fármaco e carreador (SAVJANI et al., 2012; VO et al., 2013; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007).

Quanto ao método de solvente, Tachibana e Nakamura (1965) foram os primeiros a dissolver o fármaco e o carreador num solvente em comum e então evaporar o solvente sob vácuo para produzir uma solução sólida amorfa. Isto promoveu a formação de uma solução sólida do fármaco altamente lipofílico de β -caroteno em povidona, um polímero altamente

solúvel em água. Muitos investigadores estudaram dispersões sólidas de meloxicam, naproxeno e nimesulida utilizando técnicas de evaporação de solvente. Estes achados sugerem que as técnicas mencionadas anteriormente podem ser empregadas com sucesso no aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis em água (BLAGDEN et al., 2007; VO et al., 2013; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016).

A principal vantagem do método de evaporação de solvente é que a decomposição térmica de fármacos ou carreadores podem ser evitados por causa da baixa temperatura necessária para evaporação de solventes orgânicos. As principais desvantagens associadas ao método são o elevado custo da preparação, a dificuldade em remover completamente o solvente orgânico (aspectos regulatórios), a seleção de um solvente volátil comum capaz de dissolver fármaco e carreador (SAVJANI et al., 2012; VO et al., 2013; ALAM et al., 2012; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016).

Apesar dos potenciais benefícios, o número de dispersões sólidas comercialmente disponíveis é relativamente pequeno em virtude da instabilidade termodinâmica do fármaco na forma amorfa e das complexidades inevitáveis de assegurar a estabilidade do fármaco, de processar muitas formulações de dispersões sólidas utilizando os métodos de fabricação convencionais (tais como granulação, compressão e revestimento) e a falta de ferramentas de caracterização analítica capazes de demonstrar, com alta confiança, a similaridade entre os lotes de materiais para fornecer especificações de qualidade para aceitação e rejeição do medicamento. Para superar o entrave da estabilidade das DSA, polímeros de alto peso molecular tais como HPMC (e derivados), PVP, e os metacrilatos são capazes de atenuar os condutores de cristalização do fármaco e, por conseguinte, aumentar a estabilidade física da dispersão (WILLIAMS et al., 2013).

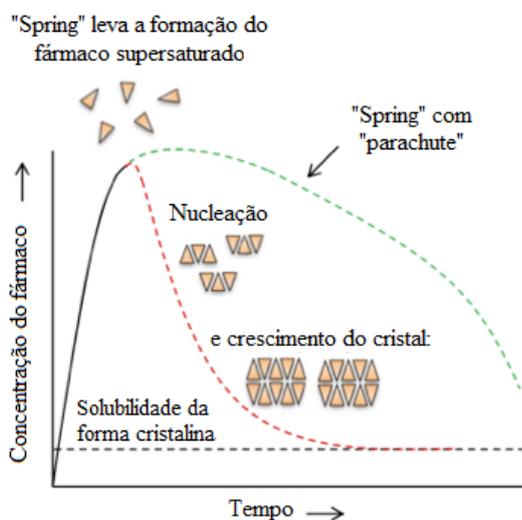
2.6.1.1 Teste de dissolução *in vitro* sob condição *non-sink* para fármacos no estado amorfo

Uma vez em estado amorfo, a dissolução de fármacos em sistemas de dispersão sólida amorfa conduz à obtenção de concentrações supersaturadas do fármaco na solução em relação à solubilidade da forma cristalina estável do fármaco no estado saturado (concentração de saturação). A obtenção de supersaturação, portanto, é benéfica no fornecimento de uma maior concentração do fármaco dissolvido e na geração de soluções de fármacos com aumento da

atividade termodinâmica. A indução de supersaturação na solução tem sido referida como a concentração "spring" e pode ocorrer em várias condições, incluindo na dissolução do fármaco amorfo a partir de uma dispersão sólida amorfa, formulações de ciclodextrinas, formulações lipídicas, co-cristais e após o esvaziamento gástrico de fármacos básicos que são solúveis no fluido gástrico ácido, mas menos solúveis no intestino (GUZMÁN et al., 2004; WARREN et al., 2010; ANBY et al., 2012).

Soluções supersaturadas proporcionam uma vantagem no que diz respeito à absorção de fármacos, mas são instáveis e predispostas à precipitação. A taxa de precipitação de fármaco a partir de soluções supersaturadas, no entanto, pode ser acentuadamente retardada pela presença de materiais (incluindo polímeros, tais como HPMC, hidroxipropilmetilcelulose acetato-succinato - HPMCAS, PVP e PEG 6000), que inibem a nucleação de cristais ou retardam o crescimento de cristais (WARREN et al., 2010; WILLIAMS et al., 2013). Esta redução da taxa de precipitação do fármaco a partir de soluções supersaturadas tem sido chamada como "parachute" e o mecanismo combinado de geração de supersaturação e a inibição de precipitação conhecido como "spring-parachute" (GUZMAN et al., 2004; GUZMAN et al., 2007), conforme mostrado na Figura 4.

Figura 4 - Modelo esquemático que ilustra o perfil de dissolução hipotético de um fármaco existente em uma forma de alta energia (por exemplo, a forma amorfa) em relação ao tempo.



Fonte: Adaptado de William et al. (2013).

Legenda: A linha preta sólida descreve a rápida dissolução de uma forma física de alta energia, tais como fármacos amorfo (a "spring") levando a supersaturação e, portanto a obtenção de altas concentrações do fármaco em excesso. A linha tracejada preta representa a solubilidade alcançada pelo fármaco no estado cristalino. A linha vermelha tracejada mostra a rápida diminuição da concentração de fármaco dissolvido em resposta a nucleação e ao crescimento do cristal. A vantagem potencial de um "parachute" (por exemplo, um inibidor da precipitação do polímero) é mostrado pela linha tracejada verde, onde períodos de supersaturação são mais sustentados, o que reflete uma taxa mais lenta de nucleação/crescimento do cristal.

Pelos motivos supracitados, os ensaios de dissolução *in vitro* com formulações amorfas como as dispersões sólidas, em que se objetiva avaliar o desempenho das formulações em desenvolvimento antes de realizar os estudos em animais, devem ser desempenhados em condição *non-sink*, a qual segundo Sun, Ju e Lee (2012), permite a visualização dos eventos de supersaturação, nucleação e cristalização do fármaco em solução, além de ser uma simulação do sistema fisiológico mais adequada do que a condição *sink* devido ao pequeno volume encontrado no trato gastrointestinal. Desta maneira, os dados oriundos de uma dissolução em condição *non-sink* são também mais correlacionáveis com o estudo *in vivo*.

A dissolução *in vitro* sob condição *sink* tem sido rotineiramente utilizada na indústria farmacêutica para avaliar a qualidade dos medicamentos lote-a-lote e também para avaliar as formulações durante a etapa de desenvolvimento, portanto antes de realizar ensaios em animais. Neste caso, em uma condição *sink* perfeita, a concentração do fármaco é mantida, pelo menos, três a cinco vezes menor que a sua solubilidade, tal como recomendado pela FDA (FDA, 1997). No entanto, correlacionar os dados obtidos de um estudo *in vitro* realizado nestas condições com os resultados de um estudo *in vivo* pode ser um problema quando uma formulação amorfa está sendo investigada. De acordo com Dinunzio et al. (2008), isso acontece porque os testes realizados sob condição *sink* negligenciam a capacidade deste tipo de formulação de supersaturar o meio de dissolução, evento que também pode acontecer *in vivo*.

Desta forma, Sun, Ju e Lee (2012) 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* de fato é o estudo. Para tanto, o cálculo do SI leva em consideração a concentração de saturação (ou solubilidade de equilíbrio) do fármaco no meio de dissolução (C_s), o volume a ser utilizado no meio de dissolução (V) e a dose do fármaco presente na formulação a ser testada; sendo assim estabelecido como $SI = C_s \cdot V / \text{dose}$. Para a obtenção de uma condição *sink*, o SI deve ser maior que 10.

A extensão deste valor do SI também afeta a forma característica de liberação do fármaco, conforme demonstrado por Van Speybroeck et al. (2010) com formulações de fenofibrato amorfo. Neste caso, sob uma condição *sink* perfeita com $SI=3,56$ não foi vista evidência direta que confirme a capacidade da formulação atingir uma solução supersaturada do fármaco; sob uma condição *non-sink* intermediária com $SI=0,538$, a supersaturação pode

ser atingida em nível mais elevado do que a solubilidade de equilíbrio do fármaco cristalino, sem entanto visualização de precipitação; já sob condições extremamente *non-sink* (com um valor de $SI=0,136$), a libertação do fármaco segue um padrão "spring-parachute" mostrando dissolução da solução supersaturada seguida da sua precipitação. Ainda segundo estes autores, a avaliação *in vivo* da extensão da biodisponibilidade oral em ratos apresentou-se diretamente relacionada em termos de área sob a curva (AUC) com o perfil de dissolução *in vitro* demonstrado pela formulação com o menor SI ($SI=0,136$), indicando portanto maior correlação *in vitro-in vivo* do sistema utilizando um menor SI.

O equipamento tradicional utilizado para realizar os estudos de dissolução *in vitro* é o da *United States Pharmacopeia* (USP), mas sua utilização apresenta a desvantagem de requerer grandes quantidades de amostras a serem inseridas no meio de dissolução (geralmente entre 250 e 950 mL). Assim, de modo correlacionável, alguns estudos, a exemplo de Van Speybroeck et al. (2010) têm realizado o teste de dissolução sob condição *non-sink* utilizando um recipiente de menor volume, que portanto demanda de menor quantidade de amostra, mantendo sob este sistema condições equiparáveis (de temperatura e rotação) às visualizadas em um aparelho de dissolução convencional.

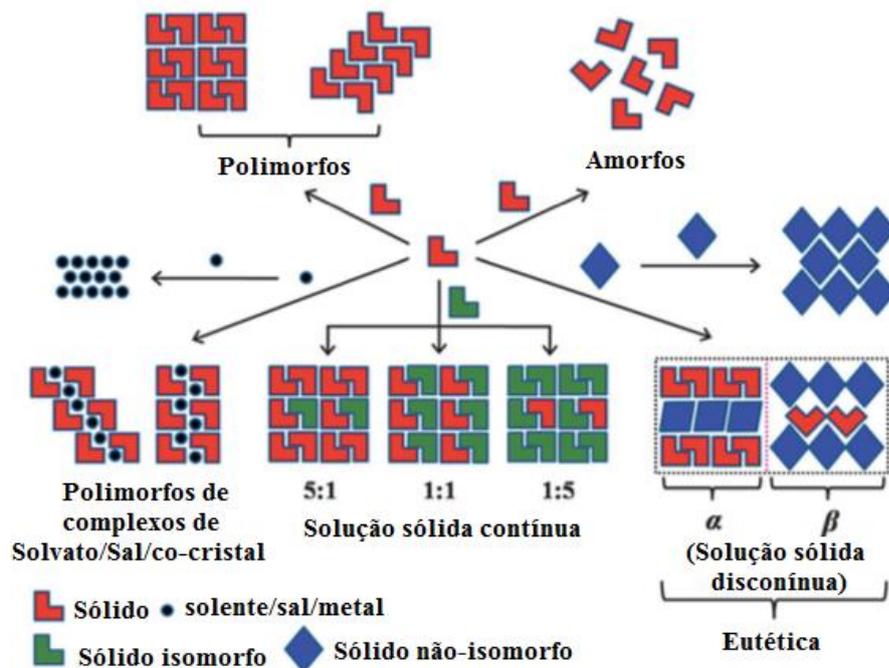
2.6.2 Mistura eutética

A palavra eutética é derivada do grego *eutectos*, que significa facilmente fundido. Misturas eutéticas são basicamente sólidos cristalinos multicomponentes, estreitamente relacionadas com soluções sólidas cristalinas (explicadas mais adiante). Classicamente, uma mistura eutética é definida como um sistema que apresenta menor ponto de fusão, comparado aos componentes individuais. Muitas definições baseadas em sua composição, no menor ponto de fusão e no diagrama de fases sólido-líquido são bem difundidos na literatura. Os sistemas inorgânicos como ligas, por exemplo, encontram-se bem documentados para misturas eutéticas e soluções sólidas (ASKELAND, FULAY, 2009). Contudo, apesar da sua longa história de uso, as misturas eutéticas orgânicas e composições eutéticas de fármacos não se encontram detalhadas quanto a sua estrutura íntima (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014). Sua definição não somente baseada em métodos térmicos, mas em termos de estrutura organizacional, microestrutura e propriedades como materiais orgânicos somente recentemente foi melhor estabelecida por Cherukuvada e Nangia (2014) e exemplificada nos

estudos de Prasad et al. (2014), Ganduri et al. (2015), Cherukuvada e Row (2014), Das et al. (2009), Gupta e Singh (2004), Singh et al. (2008) e Jain, Khomane e Bansal (2014).

O termo solução sólida tratado neste tópico refere-se essencialmente as soluções sólidas cristalinas, onde o soluto (o componente menor) se encontra organizado de forma intersticial ou substitucional no solvente (o componente maior) (CHIOU, RIEGELMAN, 1971); portanto trata-se de um sistema formado por dois componentes sólidos cristalinos, que não deve ser confundido com as soluções sólidas de origem amorfa, classificadas como um dos tipos de dispersão sólida, mencionadas no tópico anterior. Os sistemas de sólidos multicomponentes encontram-se ilustrados na Figura 5.

Figura 5 - Representação esquemática das diferentes formas no estado sólido.



Fonte: Adaptado de Cherukuvada, Nangia (2014).

Legenda: Sais e co-cristais podem também ser polimorfos, que têm estruturas cristalinas distintas. Soluções sólidas e misturas eutéticas adotam as estruturas cristalinas de seus componentes de origem, mas a primeira é homogênea em toda a estrutura de cristal, enquanto a segunda é heterogênea com interações incoerentes (linha pontilhada) magenta.

A literatura sobre misturas eutéticas com fármacos remonta ao início dos anos 1960, começando com publicações de Sekiguchi e Obi (1961) e Goldberg, Gibaldi e Kanig (1965), que prepararam misturas eutéticas de sulfatiazol-ureia e cloranfenicol-uréia, respectivamente, pelo método de fusão para melhorar a dissolução e biodisponibilidade. A explicação dada para este comportamento era que, após a dissolução da ureia, uma fina suspensão de partículas do fármaco foi exposta ao meio de dissolução (ou fluido gastrointestinal) e que

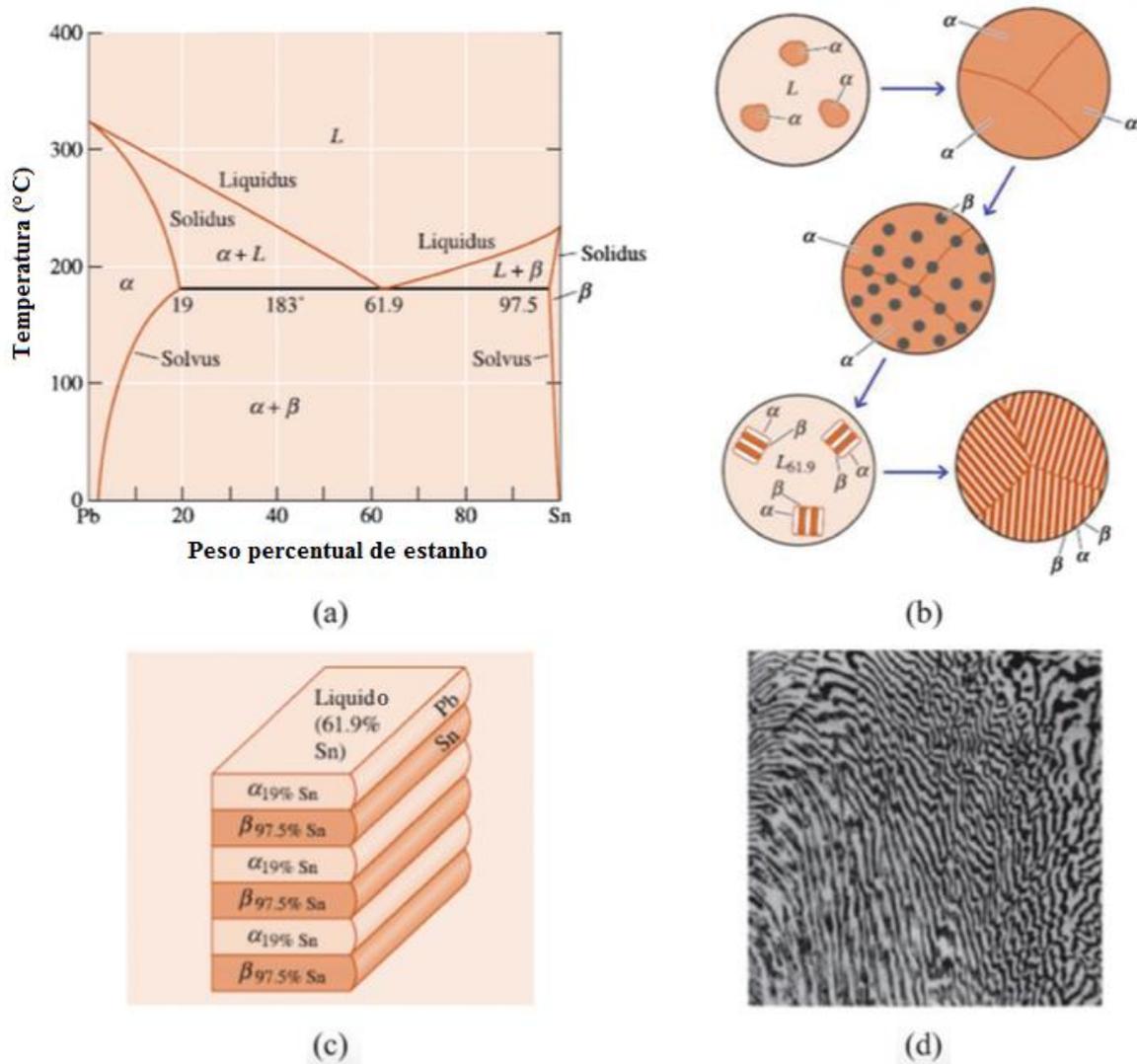
tanto o menor tamanho de partícula e a melhor molhabilidade das partículas do fármaco em suspensão contribuíram para uma taxa de dissolução mais rápida (SEKIGUCHI, OBI, 1961; GOLDBERG, GIBALDI, KANIG, 1965). Desde então, as misturas eutéticas fármaco-fármaco ganharam importância no campo das formulações farmacêuticas no contexto da terapia multidrogas para melhoria de ação anestésica local e analgésica, a exemplo da composição eutética dos anestésicos locais lidocaína e prilocaína, comercializada pelo nome EMLA[®] (AstraZeneca). Os anestésicos em questão, com pontos de fusão respectivos em 68 °C e 38 °C, portanto maior que a temperatura corporal (37 °C), quando na proporção eutética 1:1 apresentaram menor ponto de fusão (22 °C) e, portanto, penetração mais eficaz sobre a pele e rápida ação farmacológica (BROBERG, EVERS, 1985). Outras composições eutéticas envolvem a combinação destes anestésicos com tetracaína, bipuvacaína (WO Pat. 2008/073324 A1).

As misturas eutéticas são formadas quando os materiais que participam da sua composição tem incompatibilidades atômica/molecular de dimensão/forma e assimetria na estrutura cristalina. Consequentemente, estes componentes têm solubilidade limitada e não podem ajustar além de um determinado limiar na estrutura cristalina de um com o outro, uma vez que isto causará tensão e desorganização da estrutura cristalina. Tal sistema não pode formar solução sólida contínua e, ao invés disso, tende a formar mistura eutética. Assim, as misturas eutéticas são formadas por um conjunto heterogêneo de componentes individuais, cujas estruturas cristalinas são como soluções sólidas descontínuas (fase separada). Desta forma, este sistema é ainda melhor definido como um conglomerado de soluções sólidas, cujos cristais constituintes, diferentemente das soluções sólidas, são não-isomorfos, ou seja, com incompatibilidade de tamanho/forma entre os componentes (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

A microestrutura eutética então consiste de soluções sólidas unidas por fracas interações interfase (as linhas entre as fases α e β , Figuras 6b e 6c), ao longo das quais as moléculas/átomos podem se difundir e redistribuir nas soluções sólidas (ASKELAND, FULAY, 2009). A tensão inerente nos domínios das soluções sólidas (devido a acomodação dos sólidos não-isomorfos), maximizadas pelos arranjos atômicos imperfeitos e má ligação interfase (MOORE, WILDFONG, 2009) para além do domínio das fronteiras, levam às altas funções termodinâmicas, tais como energia livre, entalpia e entropia (DAS et al., 2009) da fase eutética, e portanto ao característico ponto de fusão mais baixo em relação aos

componentes individuais (Figura 6a), que é responsável pelo aumento da solubilidade desses sistemas (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Figura 6 - Comportamento da mistura eutética chumbo-estanho.



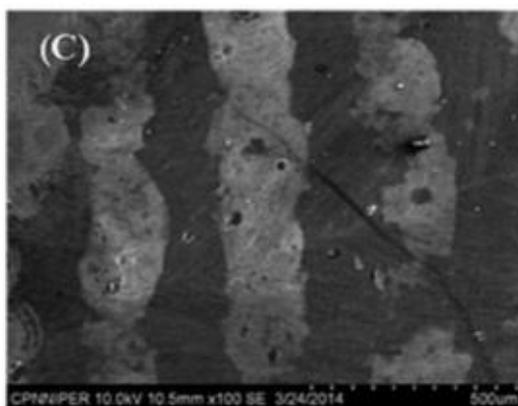
Fonte: Adaptado de Askeland, Fulay (2009).

Legenda: (a) Diagrama de fases da liga metálica Pb-Sn. A composição 61,9:38,1 de Pb-Sn exibe um característico ponto de fusão menor (183 °C) em comparação aos materiais de origem (Sn = 232 °C, Pb = 327 °C) e do que as outras composições. (b) A microestrutura da liga eutética Pb-Sn mostrando as etapas de solidificação e crescimento das soluções sólidas. (c) Arranjo lamelar do chumbo-rico em α e do estanho-rico em β na liga eutética Pb-Sn. Os átomos de chumbo do líquido preferencialmente se difundem para as placas α (com solubilidade limite de Sn de 19 %) e os átomos de estanho para as placas β (com solubilidade limite de Sn de 97,5 %). (d) Fotomicrografia da microestrutura da mistura eutética chumbo-estanho.

Portanto uma mistura eutética pode ser prevista como um conjunto de muitas/diferentes soluções sólidas, que são descontínuas. Cada solução sólida, rica em um componente em particular, forma uma estrutura lamelar (ou arranjo tipo placa), tal como demonstrado para liga metálica chumbo-estanho (Figura 6b, 6c e 6d) e para a mistura eutética

aspirina-paracetamol (Figura 7) (JAIN, KHOMANE, BANSAL, 2014). Os componentes individuais retêm suas estruturas cristalinas como soluções sólidas descontínuas (contendo somente uma quantidade limitada de soluto) e formam a estrutura cristalina eutética. Quanto mais rápida for a taxa de crescimento dos cristais, menor será o espaço interlamelar entre as fases α e β de uma mistura eutética (MOORE, WILDFONG, 2009). Assim, em termos gerais, a microestrutura eutética pode ser mais precisamente definida como “um conglomerado de soluções sólidas” ou “um conglomerado de redes estruturais de diferentes materiais, elementos ou componentes” (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Figura 7 - Fotomicrografia da microscopia eletrônica de varredura de uma partícula em corte transversal da mistura eutética aspirina-paracetamol mostrando sua estrutura lamelar.



Fonte: Adaptada de Jain, Khomane, Bansal (2014).

Para ocorrer a solidificação da mistura eutética, os componentes devem ser mutuamente miscíveis no estado líquido. Além disso, como observado, este sistema possui à nível de microestrutura uma periodicidade diferente da fase cristalina pura. Sem este elemento microestrutural, o sistema não pode ser classificado com precisão como um sólido eutético (MOORE, WILDFONG, 2009).

Além do método de fusão, as misturas eutéticas podem ser preparadas pelo método de evaporação de solvente, por compactação (acetaminofeno-propilfenazona) (BI, HWANG, MORRIS, 2003) e trituração (curcumina-hidroquinona) (GOUD et al., 2012).

Outros exemplos de misturas eutéticas desenvolvidas são as combinações de fármacos anti-tuberculose, encontradas por formar misturas eutéticas sob tratamento térmico, a exemplo da pirazinamida-isoniazida (CHERUKUVADA, NANGIA, 2012) e rifampicina-isoniazida (LAVOR et al., 2011). Uma forma eutética do analgésico ácido acetilsalicílico, preparada por mistura mecânica suave de 1 parte de aspirina com 2-3 partes de glicerina ou propilenoglicol

(m/V %) é útil como um unguento para aplicação tópica e também para aumentar o período de vida útil da aspirina, controlando a sua hidrólise (FAEGES, 1967). O fármaco anti-inflamatório ibuprofeno, que apresentou formação eutética com vários terpenos, exibiu penetração transdérmica mais rápida (STOTT, WILLIAMS, BARRY, 1998).

2.6.2.1 Desafios na caracterização de misturas eutéticas

A determinação da estrutura cristalina pela Difração de Raios X (DRX) elucidada a identidade e as interações de ligação e organização estrutural de materiais na estrutura cristalina. Contudo nem a análise por DRX nem a espectrofotometria, técnicas rotineiramente utilizadas para caracterização de outros sólidos multi-componentes, tais como sais e co-cristais, são sensíveis o suficiente para diagnosticar a formação de solução sólida/mistura eutética. Isto ocorre porque a inclusão de um segundo componente (menor) acontece substitucionalmente ou intersticialmente no componente maior (principal), e assim o arranjo molecular na estrutura do cristal é próximo das espécies que o compõe e, portanto, é largamente inalterado. Consequentemente, há pouca alteração nas linhas de DRX ou picos espectrais para soluções sólidas/mistura eutéticas em comparação com os componentes individuais. Além disso, por se tratar de um sistema cujos sólidos são de fase separada, também não é possível a avaliação de DRX de um cristal único (*single cristal*). (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Deste modo, as alterações no pico referente ao evento de fusão vistas pelos métodos térmicos (DSC, microscópio de fase quente de Kofler, ciclos calor-resfriamento-reaquecimento) passam a ser o único indicador da formação de misturas eutéticas. Com base nestes dados térmicos, o diagrama de fases elaborado mostra o grau de solubilidade sólido-sólido e a composição eutética. No entanto, a elaboração do diagrama de fases muitas vezes requer tempo para execução e quantidades significativas de amostras, não se constituindo uma medição analítica rápida. Tais dificuldades de caracterização, associada a compreensão inadequada sobre a microestrutura, podem ter causado nas indústrias farmacêuticas ligeira aversão às misturas eutéticas (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Diante da falta de informação estrutural e espectral detalhada sobre a micro/nano-estrutura das eutéticas e uma vez que não há nenhuma técnica simples e rápida (exceto os métodos térmicos) capaz de distinguir uma mistura eutética a partir de uma mistura física, as misturas eutéticas são provavelmente formadas com mais frequência do que se tem constatado

e, muitas vezes, obtidas, porém esquecidas como produtos não intencionais de co-cristalização. Adicionalmente, as misturas eutéticas relatadas até a atualidade são obtidas mais predominantemente de forma semi-empírica e de tentativa e erro do que seguindo um planejamento químico e deliberado. De fato, o planejamento deliberado de misturas eutéticas é mais sutil e difícil dada a necessidade de identificar moléculas com geometria incompatível e evitar fortes synthons heteromoleculares formadores de co-cristais, portanto trata-se de uma estratégia nova e menos estudada. Dados os motivos supracitados, perde-se uma excelente oportunidade de conhecer novas formas sólidas com vantagens físico-químicas (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Métodos teóricos vêm sendo uma ferramenta valiosa tanto para o planejamento racional de fármacos como também para acessar as estruturas moleculares e interações químicas em sistemas farmacêuticos. Neste contexto, métodos de estrutura eletrônica e dinâmica molecular incluem a análise conformacional, cálculos de propriedades, parâmetros stereoeletrônicos e físico-químicos importantes, tais como, calor de formação, energias eletrônicas, energia potencial, energias do *Highest Occupied Molecular Orbital* (HOMO) e *Lowest Unoccupied Molecular Orbital* (LUMO), energias de ionização, densidades eletrônicas atômicas e momentos de dipolo. O método de cálculo aplicado pode ser totalmente empírico, como os utilizados em mecânica molecular, semi-empíricos (parte de seus parâmetros são ajustados aos dados experimentais), ou ainda os puramente teóricos (métodos *ab initio*) (BARREIRO et al., 1997).

A modelagem molecular foi aplicada, por exemplo, para predizer o comportamento da solução sólida composta por sais diastereoméricos de efedrina e ácidos fosfóricos cíclicos, com diferentes proporções dos agentes de resolução, de forma que a diferença de energia entre essas "soluções sólidas simuladas" e as estruturas nativas foi relacionada de forma compreensível com a probabilidade de formação de solução sólida (GERVAIS et al., 2004). Outra interessante abordagem apresentada por métodos de dinâmica molecular está no estudo de predição de misturas eutéticas utilizando parâmetros tais como volume específico, coeficiente de difusão, capacidade de calor específica e energia não-ligada, conforme relatado por Liu e colaboradores (2016).

Avanços computacionais recentes na área da simulação de átomos e moléculas tem sido ferramentas valiosas também para predizer o comportamento termodinâmico (T_g, tendência à cristalização, interação fármaco-polímero, estabilidade) de dispersões sólidas amorfas que não são bem caracterizadas experimentalmente, a exemplo das dispersões

envolvendo ibuprofeno, naproxeno e PVP (BOGDANOVA et al., 2005); celecozibe e PVP (GUPTA, BANSAL, 2005; GUPTA et al., 2005); felodipino, PVP e PEG (KARAVAS et al., 2007); derivados imidazolidinas e PEG/polímeros de PVP (OLIVEIRA et al., 2010).

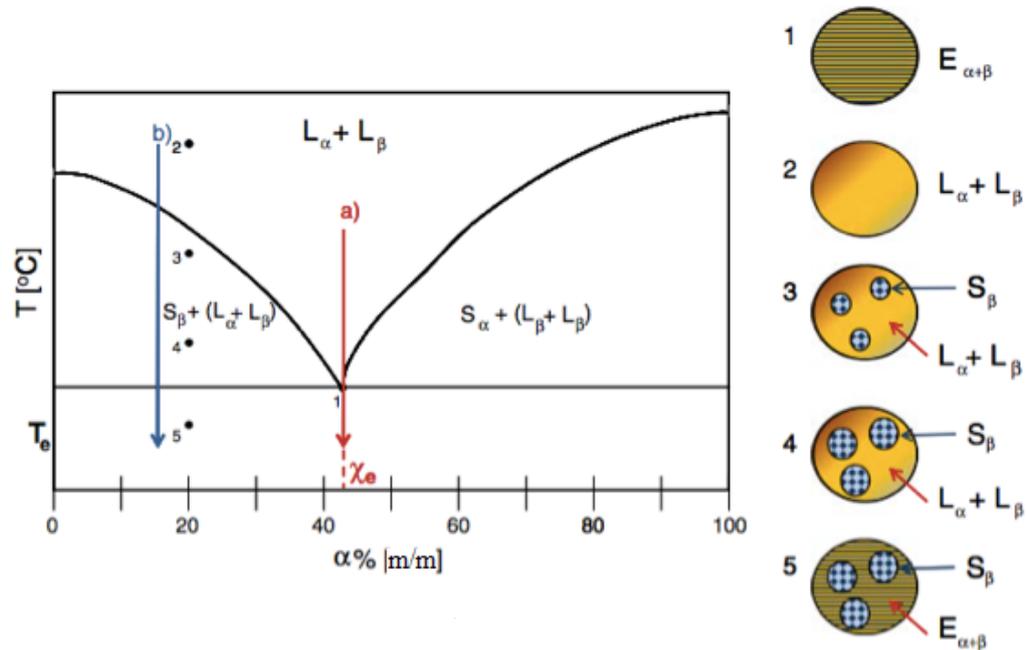
2.6.2.2 Diagrama de fases de uma mistura eutética

Um diagrama de fases podem ser utilizado para dissecar e compreender as fases distintas plausíveis para um dado sistema em função da temperatura, pressão, etc. Tradicionalmente, uma mistura eutética é caracterizada por um diagrama de fases apresentando uma composição com baixo ponto de fusão contendo duas ou mais substâncias (CHERUKUVADA, ROW, 2014).

No diagrama de fases os pontos de fusão são projetados em função da composição da mistura. Uma mistura eutética simples consiste de dois compostos que são completamente miscíveis no estado líquido, mas apenas numa extensão muito limitada no estado sólido. Assim, a composição eutética (χ_e) representa a específica fração massa/mol dos dois líquidos mutualmente miscíveis cuja co-solidificação sem prévia separação de fases resultará na formação de uma microestrutura que funde a uma temperatura menor (T_e – temperatura de fusão eutética) do que a temperatura de fusão de cada um dos componentes puros isolados (T_m). Quando a mistura eutética é resfriada, os sólidos que a compõe cristalizam simultaneamente, ao passo que quando outras composições são resfriadas, um dos componentes começa a cristalizar antes do outro (LEUNER, DRESSMAN, 2000).

Para melhor ilustrar esta característica, na Figura 8 é apresentado um típico diagrama de fases binário de temperatura em função da composição ($T-\chi$). As composições que caem para a esquerda ou para a direita da χ_e (ou seja, as composições não-eutéticas) irão resultar num produto com uma microestrutura mista, em que a fase em excesso (componente em excesso na mistura não-eutética) irá solidificar antes de resfriar abaixo da T_e (Figura 8b). Do contrário, na χ_e , o produto solidificado exibe uma microestrutura lamelar única (Figura 8a). A fim de maximizar os benefícios físico-químicos previsíveis oferecidas pela microestrutura única, um controle explícito dos parâmetros de crescimento sobre a χ_e e T_e é essencial, embora não seja facilmente estabelecida (MOORE, WILDFONG, 2009).

Figura 8 - Um diagrama de fases de T - χ para uma mistura de dois líquidos mutuamente miscíveis α e β .



Fonte: Adaptado de Moore, Wildfong (2009).

Legenda: **a)** Para χ_e , o resfriamento da mistura homogênea ao longo desta trajetória resulta na solidificação da eutética abaixo da T_e e assim, na formação da microestrutura lamelar de α e β intercalados (1). **b)** Para $\chi \neq \chi_e$, o resfriamento da mistura líquida homogênea (2) ao longo da trajetória indicada resulta na precipitação de β (3). O contínuo resfriamento permite o crescimento dos cristais de β (4). Na $T \leq T_e$, há formação de uma microestrutura mista, em que o líquido restante ($\chi = \chi_e$) solidifica formando a microestrutura eutética lamelar de α e β e o sólido em excesso refere-se aos cristais de β (5).

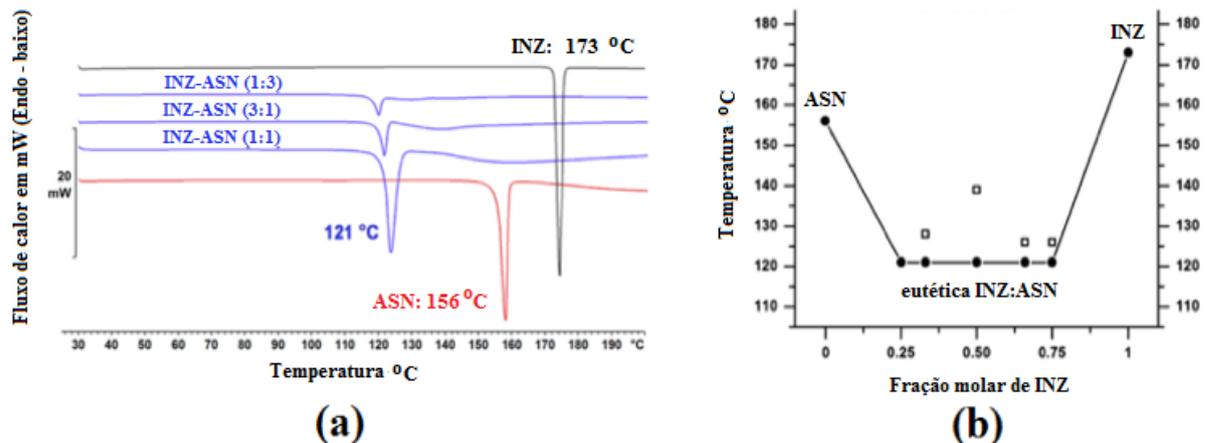
Atualmente, χ_e para sistemas binários simples é determinado empiricamente, que primeiramente requer uma avaliação da compatibilidade dos dois componentes (miscibilidade completa dos dois componentes no estado líquido e imiscibilidade no estado sólido). Na abordagem tradicional para determinação de χ_e , as amostras abrangendo toda a gama de concentrações dos dois materiais são co-solidificados, empregando o método baseado em fusão discutido acima. As amostras são submetidas a análise térmica (isto é, DSC, microscopia de fase quente, etc.) e a temperatura (s) de fusão da mistura co-solidificada é determinada e representada graficamente como uma função da composição, criando, assim, o diagrama de fase T - χ . Como estabelecido acima, é esperado que a microestrutura destas duas amostras sólidas seja bastante diferente (MOORE, WILDFONG, 2009). Os sólidos eutéticos são geralmente preparados por resfriamento rápido da mistura fundida dos dois compostos, a fim de se obter uma mistura de cristais muito finos dos dois componentes (LEUNER, DRESSMAN, 2000).

A análise térmica por construção de um diagrama de fases da temperatura em função da composição é também conhecido para determinar se uma combinação forma um co-cristal

ou uma eutética. Um diagrama de fases binário típico de uma eutética assume uma forma em ‘V’ (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014; ASKELAND, FULAY, 2009; SEATON, PARKIN, 2011; CHERUKUVADA, ROW, 2014; SEKIGUCHI, 1961; DAVIS, BREWSTER, 2004), enquanto o diagrama de um co-cristal assume uma forma ‘W’ e possui ponto de fusão intermediário comparado aos compostos de origem (MOHAMMAD, ALHALAWEH, VELAGA, 2011; CHERUKUVADA, ROW, 2014; SEKIGUCHI, 1961; DAVIS, BREWSTER, 2004). Assim, a análise térmica por meio de um diagrama de fases pode estabelecer a formação de uma mistura eutética ou um co-cristal para um dado sistema (CHERUKUVADA, ROW, 2014), porém este método é pouco utilizado por causa da complexa variedade de transições térmicas e dificuldades na interpretação das fases envolvidas. Para simplificar estas questões, na formação de uma combinação eutética somente uma única fase, que é a fase eutética, existe. Assim, um único ponto de fusão menor invariante (*solidus line*) característico da fase eutética é encontrado em todas as diferentes composições; enquanto pequenos e variantes pontos de fusão (*liquidus line*) manifestam para as composições quase eutéticas ou não-eutéticas (hipoeutéticas ou hipereutéticas) relativas aos materiais de origem em excesso (CHERUKUVADA, ROW, 2014).

Combinações em razão molar 1:1, 1:3 e 3:1 de isoniazida (INZ)-ácido succinâmico (ASN) e isoniazida-succinamida, por exemplo, foram preparadas por moagem no estado sólido e sujeitas a DSC para determinar a formação de mistura eutética. As três composições diferentes exibiram um baixo ponto de fusão comum e invariante para todas as proporções (*solidus line*), correspondente à fase eutética em cada uma das composições. A fase não-eutética da composição, a qual pode se apresentar pelo excesso de um dos componentes principais, exibiu um pico largo (*liquidus line*) acentuado dependendo da sua proporção. Neste caso, para a mistura INZ-ASN, a composição molar 1:3 (0,25 fração molar de INZ), atribuída como mistura eutética ou próximo à composição eutética, não exibiu pico *liquidus* e, em contrapartida, um único ponto de fusão eutético comum em 121 °C (Figura 9) (CHERUKUVADA, ROW, 2014). Outros sistemas eutéticos, tais como pirodoxina-ácido nicotínico, pirodoxina-isoniazida (GANDURI, CHERUKUVADA, ROW, 2015), caféina-ácido benzóico e as razões molares de ácido benzóico-omidazol (1:2), para-metil ácido benzóico-ornidazol (1:4) e para-iodo ácido benzóico-omidazol (1:4) foram igualmente construídos com base nestas mesmas premissas (CHERUKUVADA, 2016).

Figura 9 - Comportamento térmico de combinações isoniazida (INZ)-ácido succinâmico (ASN).



Fonte: Adaptado de Cherukuvada, Row (2014).

Legenda: (a) DSC das três diferentes misturas molares de INZ-ASN apresentam um baixo ponto de fusão endotérmico comum pertencente à fase eutética em cada uma das misturas. Os picos adicionais manifestados referem-se a fase líquida da mistura; (b) Diagrama de fases binário do sistema de INZ-ASN exibe um padrão característico tipo “V” de uma mistura eutética. Pontos solidus são mostrados como círculos cheios e os pontos liquidus como quadrados abertos.

2.6.2.3 Distinções entre mistura eutética e dispersão sólida

Historicamente, misturas eutéticas foram estudadas e classificadas como dispersões sólidas e ainda relacionadas com soluções sólidas na literatura farmacêutica (SEKIGUCHI, OBI, 1961; GOLDBERG, GIBALDI, KANIG, 1965; MOORE, WILDFONG, 2009; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007). Em geral, as misturas eutéticas não são tão populares como dispersões sólidas e como os mais recentes co-cristais, embora as misturas eutéticas tenham a potencial vantagem de conferir solubilidade e estabilidade aos fármacos (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Uma dispersão sólida é a dispersão de um ou mais componente em um transportador ou matriz sólida, e é preparada pelos mesmos métodos de preparação das misturas eutéticas. Além disso, uma mistura eutética e uma dispersão sólida têm uma característica comum de organização estrutural heterogênea (separação de fases) na estrutura cristalina. Dispersões sólidas têm mais aperiodicidade estrutural e funções termodinâmicas (tais como energia livre, entropia e entalpia) mais elevadas e, portanto, apresentam taxas de dissolução mais rápidas, uma propriedade utilizada para fármacos pouco solúveis em água (MOORE, WILDFONG, 2009). Estas características comuns significam que misturas eutéticas e dispersões sólidas foram frequentemente estudadas em conjunto e os termos foram sinonimamente utilizados (MOORE, WILDFONG, 2009; SEKIGUCHI, OBI, 1961; GOLDBERG, GIBALDI, KANIG,

1965; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007). Ocasionalmente, dispersões sólidas de fármacos exibem um comportamento do tipo eutético e apresentam incremento da solubilidade (MOORE, WILDFONG, 2009; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007), a exemplo do sistema fenofibrato–polietilenoglicol, comercializado sob o nome Fenoglide (DUARTE et al., 2011), que se trata da dispersão sólida eutética do fenofibrato (fármaco) na matriz de polietilenoglicol (polímero de transporte). Este sistema apresentou os atributos de cristalinidade e baixa temperatura de fusão, característicos de uma mistura eutética, e sua microestrutura eutética apresentou-se lamelar (LAW et al., 2003).

Uma mistura eutética autêntica é diferente de uma dispersão sólida em termos de organização estrutural, arranjo molecular, e ordenação local. Uma dispersão sólida pode ser amorfa ou cristalina com um grau mais elevado de aperiodicidade (DUARTE et al., 2011), mas uma mistura eutética é necessariamente cristalina e composta por soluções sólidas. Portanto, misturas eutéticas tem, em geral, as funções de estabilidade mais elevadas do que as dispersões sólidas, especialmente às amorfas (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

2.6.2.4 Distinções entre mistura eutética e solução sólida cristalina

Misturas eutéticas são sólidos cristalinos multicomponentes estreitamente relacionados às soluções sólidas. Uma solução sólida consiste num sistema multicomponente no qual a interação ocorre entre materiais que são isomorfos (estruturas cristalinas com o mesmo grupo espacial e mesmas dimensões da célula unitária e/ou quase o mesmo tipo e posição dos átomos ou grupos funcionais, ou ainda similar estrutura cristalina e valência, similar tamanho e eletronegatividade dos metais) (ASKELAND, FULAY, 2009; KITAIGORODSKY, 1984; SMITH, HASHEMI, 2006) ou isoestruturais (com mesma estrutura, mas não necessariamente as mesmas dimensões da célula unitária) (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Desta forma, quanto a estrutura organizacional, as soluções sólidas são sustentadas por interações coesivas (homo/self) fortes, que retém a estrutura cristalina do componente maior (solvente) e a inclusão do componente menor (soluto) acontece substitucionalmente ou intersticialmente na estrutura cristalina do componente maior (ASKELAND, FULAY, 2009; KITAIGORODSKY, 1984; SMITH, HASHEMI, 2006; OLIVEIRA, PETERSON, KLEIN, 2008). Assim, a solução sólida apresenta homogeneidade estrutural ao longo da estrutura (única fase). Isto acontece porque quando os materiais sob interação têm tamanho e estrutura

cristalina similares, eles podem ter solubilidade ilimitada e acomodar bem na estrutura cristalina, quer seja substitucional ou intersticial, sem perturbar a matriz da estrutura cristalina e então formar uma solução sólida contínua ou uma fase homogênea (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014; MOORE, WILDFONG, 2009).

A clássica solução sólida cristalina substitucional tem uma estrutura cristalina na qual moléculas do soluto podem substituir as moléculas do solvente na rede cristalina ou se encaixam nos interstícios entre as moléculas do solvente. Isto é somente possível quando o tamanho das moléculas do soluto difere menos de 15 % a partir das moléculas do solvente. Em soluções sólidas intersticiais, as moléculas dissolvidas ocupam o espaço intersticial entre as moléculas do solvente na rede cristalina. As moléculas do soluto devem ter um diâmetro molecular que não é maior do que 0,59 do diâmetro molecular da molécula do solvente. Além disso, o volume das moléculas soluto deve ser inferior a 20 % do solvente (LEUNER, DRESSMAN, 2000).

O típico diagrama de fases de uma solução sólida, em geral, exibe um intervalo de fusão/congelamento, e em temperatura abaixo desta o material se encontra no estado sólido, acima desta o material está líquido. Entre essas duas fases, as fases sólida e líquida coexistem. Do contrário, um típico diagrama de fases de uma mistura eutética exibe um menor ponto de fusão comparado ao ponto característico dos seus componentes e este ponto de fusão é bem definido, isto é, as temperatura das fases líquida e sólida coexistem em um único ponto e não num intervalo, como as soluções sólidas. A estrutura cristalina da célula unitária de uma solução sólida quando analisada por DRX apresenta-se similar a um dos seus componentes (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

O ácido benzóico combinado com o seu análogo estrutural, ácido 4-fluorobenzóico, exemplifica a formação de uma solução sólida, uma vez que ambos os compostos são isomorfos (hidrogênio na posição *para* é substituído por flúor isostérico) formando soluções sólidas contínuas (YAMAMOTO, TAGA, MACHIDA, 1989). O fato do ácido benzóico poder ser também combinado com outros dois análogos, ácido pentafluorobenzóico, e benzamida, para formar um co-cristal (YAMAMOTO, TAGA, MACHIDA, 1989; REDDY et al., 2007) e uma mistura eutética (SINGH et al., 2008), respectivamente, ilustram o limite estrutural que existe entre esses sistemas multicomponentes.

2.6.2.5 Distinções entre mistura eutética e co-cristal

Os co-cristais foram objeto de muitas pesquisas na década passada como novo material promissor no desenvolvimento farmacêutico. Um co-cristal é um sólido cristalino composto de dois ou mais constituintes moleculares neutros ligados através de interações não-covalentes, frequentemente ligações de hidrogênio (JONES, MOTHERWELL, TRASK, 2011). No entanto, nem todas as moléculas com grupos funcionais complementares podem se associar para formar co-cristal. Além de um co-cristal, o produto da co-cristalização pode ser uma solução sólida, uma mistura eutética ou mesmo uma simples mistura física de compostos não-reativos (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

Um co-cristal é formado quando as interações adesivas (heteromoleculares) podem superar as características de incompatibilidade de tamanho/forma dos componentes, e o empacotamento do cristal resultante é distinto dos componentes originais. Desta forma, a estrutura cristalina de um co-cristal pelo DRX e pela espectrofotometria apresenta-se diferente dos componentes individuais, formada por um único arranjo cristalino mediado por ligações de hidrogênio e interações intermoleculares. Desta forma, os co-cristais são diferentes das soluções sólidas e misturas eutéticas, as quais são marcadas por interações coesivas e relativamente fracas, exibindo portanto estreita semelhança com o padrão dos componentes puros (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014; CHERUKUVADA, 2016).

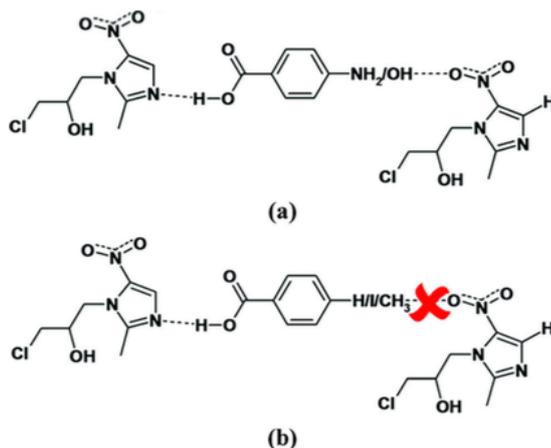
Co-cristais e os produtos eutéticos resultam de um bom equilíbrio entre interações (adesivas ou coesivas) e tamanho/forma (ajuste geométrico) dos componentes moleculares. Interações adesivas muito fortes dão um produto co-cristal, independentemente de fatores de tamanho/forma/simetria. Quando as interações coesas são fortes, mas interações auxiliares são de fracas a zero, então o resultado é uma solução sólida (forma semelhante) ou uma mistura eutética (forma incompatível). Assim, em uma combinação de materiais, quando os atributos de compatibilidade geométrica dos grupos funcionais e/ou componentes e as interações heteromoleculares viáveis são positivas, o produto resultante é um co-cristal, e se forem negativas é uma mistura eutética (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

O curcumim, por exemplo, forma co-cristal quando combinado com resorcinol (1,3-dihidroxibenzeno) (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014) e mistura eutética quando ligado a hidroquinona (GOUD et al., 2012) (1,4-isômero), sugerindo a dificuldade de prever a formação de mistura eutética ou co-cristal partindo do conhecimento dos componentes moleculares, uma vez que não existem regras ou guias estruturais quanto ao ponto em que as interações

coesivas vão dominar sobre os adesivas (para formar uma mistura eutética) e vice-versa (para formar um co-cristal) (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014).

A formação das misturas eutéticas de isoniazida-ácido succinâmico e isoniazida-succinamida ocorreram devido a dominância homomolecular (amida/dímero hidrazida) sobre interações heteromolecular (ácido/amida-hidrazida e/ou amida-piridina) (CHERUKUVADA, ROW, 2014). Em um outro exemplo, a ausência de grupo acceptor livre simples no ácido benzóico para complementar o doador de metilo da cafeína não formou co-cristal e, ao invés disso, formou uma mistura eutética cafeína-ácido benzóico com diagrama de fases característico (padrão 'V'), o que reforça a noção de não ocorrência do seu co-cristal (CHERUKUVADA, 2016). Os sistemas de mistura eutética ácido benzóico-omidazol (1:2, mol/mol), para-metil ácido benzóico-omidazol (1:4, mol/mol) e para-iodo ácido benzóico-omidazol (1:4, mol/mol) formaram misturas eutéticas com o fármaco amidazol devido a incompatibilidade entre seus grupos doadores fracamente indutivos (CH, -CH₃ e -I) e o forte grupo acceptor de nitro do amidazol para interações heteromoleculares viáveis. Do contrário, a formação de interações fortes de amina/hidroxila do para-amino ácido benzóico e para-hidroxi ácido benzóico com o grupo nitro do amidazol resultaram na formação de co-cristal (Figura 10) (PRASAD et al., 2014).

Figura 10 - Interações homomoleculares e heteromoleculares envolvendo o fármaco amidazol.



Fonte: Prasad et al. (2014).

Legenda: (a) para-amino ácido benzóico e para-hidroxi ácido benzóico formam co-cristais com amidazol devido a propagação do heterodímero imidazol-ácido carboxílico dada a presença de interações amina/nitro-hidroxil fortemente complementares. (b) ácido benzóico, para-metil ácido benzóico e para-iodo ácido benzóico faltam grupos doadores indutivos viáveis para complementar o forte grupo acceptor nitro não permitindo fazer unidades de crescimento supramoleculares além de heterodímeros imidazol-ácido finitos com amidazol e, portanto, produzindo misturas eutéticas.

Além do mais, co-cristais são relatados de modo a formar soluções sólidas cristalinas e misturas eutéticas, apesar desta discussão não ter sido tratada em nível molecular. Misturas eutéticas também foram propostas como intermediárias da formação de certos co-cristais e soluções eutéticas constantes foram notadas por serem cruciais para formação e estabilização de co-cristais em solução (GOOD, RODRÍGUEZ-HORNEDO, 2010).

Em suma, em uma mistura eutética há um conglomerado de soluções sólidas ou um conglomerado de estruturas cristalinas de diferentes materiais, elementos ou compostos, e.x. estanho-chumbo (ASKELAND, FULAY, 2009). Assim, soluções sólidas e/ou misturas eutéticas, que possuem fortes interações coesivas e interações adesivas fracas, mantêm as estruturas cristalinas originais. Os outros sólidos cristalinos multicomponentes, por exemplo sais, co-cristais, etc. têm estruturas cristalinas únicas, uma vez que eles são sustentados por interações adesivas mais fortes que dirigem as suas estruturas cristalinas únicas (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014). No Quadro 2 são apresentadas as principais características destes sólidos multicomponentes.

Quadro 2 - Comparação entre os sólidos multicomponentes mistura eutética, solução sólida e co-cristal.

| Sólido | Natureza dos componentes | Natureza das interações | Estrutura cristalina | Exemplos |
|------------------|-------------------------------|---|--|---|
| Co-cristal | Pode ser similar ou diferente | Predominantemente adesiva (heteromolecular) | Diferente dos componentes | Ácido benzoico-ácido pentafluorobenzoico (REDDY et al., 2007) Curcumin-resorcinol (CHERUKUVADA, NANGIA, 2014). |
| Solução sólida | Isomorfos | Coesiva (homomolecular) | Similar aos componentes | Ácido benzoico-4-ácido fluorobenzoico (YAMAMOTO, TAGA, MACHIDA, 1989). <i>sym</i> -Triiodofenol-triiodoresorcinol (NATH et al., 2008) |
| Mistura eutética | Pode ser similar ou diferente | Predominantemente coesiva (homomolecular) | Similar aos componentes (conjunto de soluções sólidas) | Ácido Benzoico-benzamida (SINGH et al., 2008) Curcumin-hidroquinona (GOUD et al., 2012) |

Fonte: Adaptado de Cherukuvada, Nangia (2014).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

Posaconazol (PCZ, lote nº PO-20150201-01) foi comprado da ScinoPharm Shanghai Biochemical Technology, Ltd. (China). Benznidazol (BNZ, lote nº 301045) foi gentilmente cedido pela Nortec Química (Brasil).

Quanto aos polímeros utilizados para obtenção das dispersões sólidas (DSs), a copovidona ou copolímero de vinilpirrolidona/vinilacetato (PVPVA 64; Kollidon® VA 64 Fine) e polivinilpirrolidona (Kollidon® PVP K-30 e Kollidon® PVP K-90) foram gentilmente doadas pela BASF; o poli (butil metacrilato-co-(2-dimetilaminoetil)metacrilato-co-metil metacrilato) (Eudragit® E-100) foi gentilmente cedido pela Evonik.

Todos os outros reagentes químicos foram de grau reagentes obtidos comercialmente e utilizados como recebidos.

3.2 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA

Os sistemas dispersos de mistura eutética cristalina e solução sólida amorfa, os quais utilizam unicamente os fármacos PCZ e BNZ, e portanto sem adição de qualquer excipiente, foram investigados quanto aos seguintes métodos de preparação:

3.2.1 Método de evaporação do solvente para obtenção da mistura eutética PCZ/BNZ

As misturas dos fármacos puros aqui denominadas misturas cristalinas PCZ/BNZ foram preparadas pelo método de evaporação do solvente, o qual é vastamente utilizado na literatura: Vo et al. (2013), Tachibana e Nakamura (1965), Blagden et al. (2007), Savjani et al. (2012), Alam et al. (2012), Vasconcelos, Sarmiento, Costa (2007), Janssens, Van Den Mooter (2009). Para tanto, diferentes proporções dos fármacos antichagásicos PCZ e BNZ (10:90, 20:80, 30:70, 40:60, 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10, 96:04 em massa %, respectivamente) foram misturadas e dissolvidas em quantidade suficiente de álcool etílico anidro. O solvente foi evaporado em estufa de secagem à 50 °C resultando em um pó cristalino branco/quase branco. Durante a triagem inicial, essas diferentes amostras PCZ/BNZ

foram avaliadas por DSC. As temperaturas máximas de fusão resultantes foram utilizadas para construir o diagrama de fases de todas as misturas PCZ/BNZ permitindo, desta forma, identificar a composição eutética (PCZ/BNZ, 80:20 m/m % - ver na sessão Resultados) e a temperatura eutética de fusão. A proporção 96:04 (m/m %) foi incluída neste estudo por oferecer informação adicional importante sobre a quantidade de fases presente na mistura PCZ/BNZ nesta proporção.

Neste estudo, o método de evaporação do solvente foi considerado o método principal para obtenção de mistura eutética cristalina tendo em vista sua simplicidade de execução, com menos etapas e menos variáveis a serem controladas durante o processo.

A mistura eutética obtida foi um pó branco a quase branco, cujo tamanho de partícula foi ainda mais reduzido por moagem manual e passado através de um tamis de malha 200-100 (75-150 μm). Este sistema foi ainda caracterizado por análise dos padrões característicos de Difração de Raios X (DRX), espectrofotometria de absorção na região do infravermelho (IV) (teórico computacional e experimental), Microscopia Raman Confocal, dissolução *in vitro* e modelagem molecular.

3.2.2 Método de fusão e resfriamento para obtenção da solução sólida amorfa PCZ/BNZ

Misturas amorfas PCZ/BNZ nas proporções descritas acima (Seção 4.2.1) foram preparadas pela fusão das misturas dos pós dos fármacos utilizando um banho de óleo sob uma placa de aquecimento com temperatura controlada. Este método de fusão e resfriamento encontra-se descrito em numerosos trabalhos na literatura: Vo et al. (2013), Sekiguchi e Obi (1961), Chiou e Riegelman (1971), Savjani et al. (2012), Alam et al. (2012), Vasconcelos, Sarmiento, Costa (2007), Janssens, Van Den Mooter (2009).

As misturas PCZ/BNZ foram constantemente agitadas e aquecidas até formação de um líquido fundido resultante (o qual ocorre em cerca de 138 °C) com uma mudança de cor distinta: do branco (ou quase branco) para o laranja (ou amarelo-alaranjado), colorido em diferentes tons à depender da proporção PCZ/BNZ preparada. As misturas amorfas PCZ/BNZ foram obtidas quando um líquido fundido homogêneo de cor laranja foi resfriado até temperatura ambiente para formar um pó de cor laranja. As misturas PCZ/BNZ selecionadas em determinadas proporções (10:90, 40:60, 60:40, 80:20 e 90:10, m/m %) foram então avaliadas quanto à presença de um halo no espectro de DRX, o que confirma a natureza amorfa destas misturas (solução sólida amorfa).

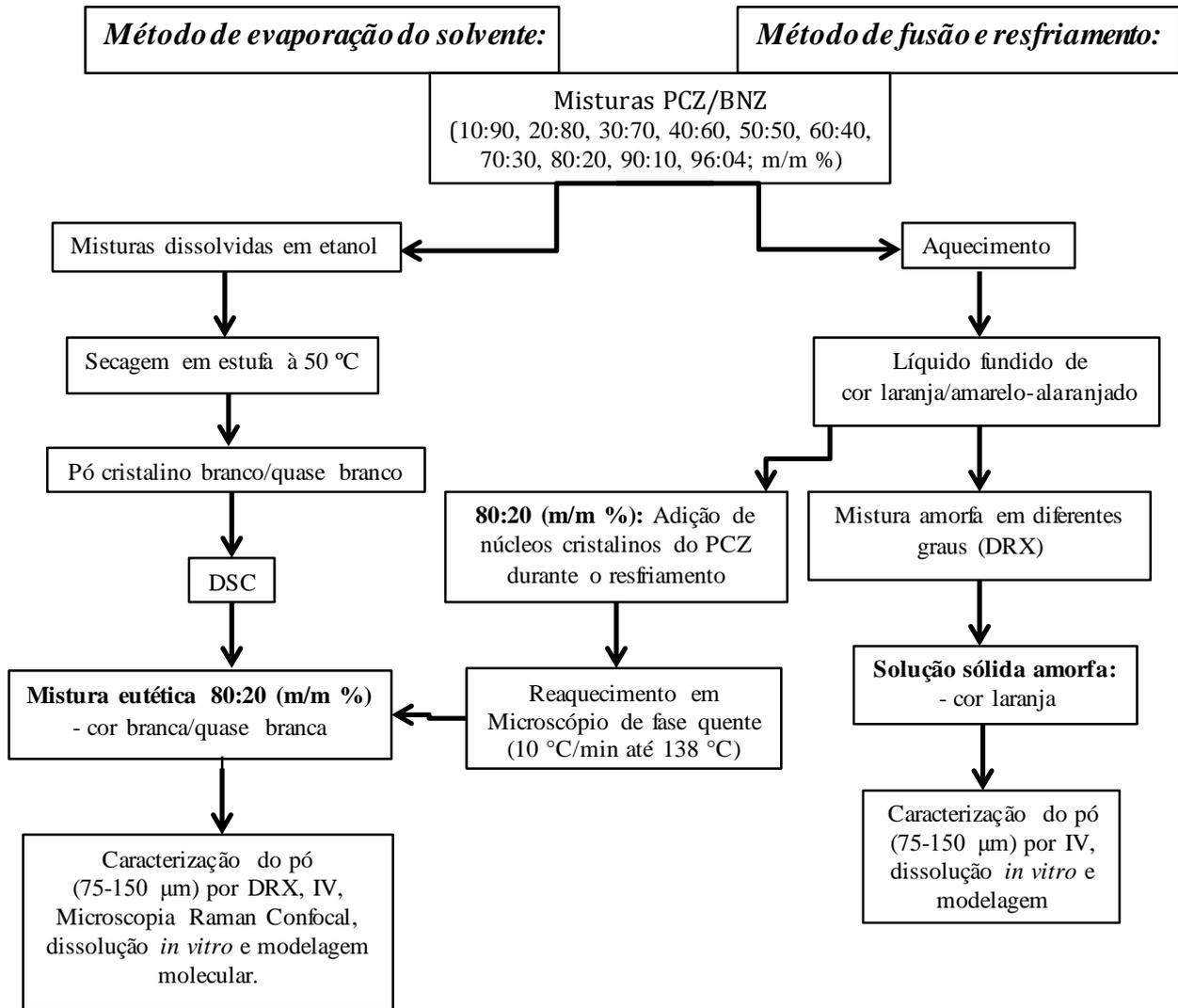
A solução sólida amorfa obtida teve seu tamanho de partícula ainda mais reduzido por moagem manual e passando através de um tamis de malha 200-100 (75-150 μm). Este sistema foi completamente caracterizado pela análise dos espectros de IV (teórico computacional e experimental), dissolução *in vitro* e modelagem molecular.

3.2.3 Método alternativo para obtenção da mistura eutética PCZ/BNZ

A mistura eutética foi alternativamente produzida partindo do método de fusão e resfriamento, inicialmente apontado aqui para preparar a solução sólida amorfa. Neste caso, a mistura amorfa PCZ/BNZ na composição eutética (PCZ/BNZ 80:20 m/m %) (obtida como determinado na Seção 4.2.2), a qual apresentou coloração laranja, foi adicionada de núcleos cristalinos do PCZ durante o processo de resfriamento a fim de induzir a cristalização do sistema inicialmente amorfo. Em seguida, a mistura foi re-aquecida até temperatura de 138 °C em um microscópio de fase quente (Instrumentos Eclipse Nikon, Japão) mantido à 10 °C/min, o que conduziu à conversão do pó amorfo de cor laranja em cristais de cor branca/quase branca. Este equipamento, também chamado microscópio hot stage (*hot stage microscopy*, HSM), permite a análise visual microscópica de todos os tipos de transições térmicas ocorrentes na amostra enquanto esta é submetida à uma programação controlada e uniforme de temperatura para aquecimento ou resfriamento. Esta etapa então resultou na formação de uma mistura eutética cristalina verdadeira a partir da mistura amorfa na mesma proporção da composição eutética PCZ/BNZ.

Uma representação esquemática para melhor elucidar os métodos de obtenção dos sistemas binários de mistura eutética e solução sólida amorfa e suas respectivas caracterizações encontra-se descrita no esquema da Figura 11.

Figura 11 - Esquema ilustrativo das etapas e métodos envolvidos na obtenção da mistura eutética e solução sólida amorfa PCZ/BNZ.



Fonte: Autoria própria.

3.3 PREPARAÇÃO DOS SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO

Para obter as dispersões sólidas (DSs), um carreador polimérico foi adicionado à mistura dos fármacos PCZ e BNZ, visando mantê-los por mais tempo no estado amorfo. Para tanto, quatro diferentes polímeros, PVP K-30, PVP K-90, PVPVA 64 e Eudragit® E-100, em diferentes níveis de proporção em relação à mistura dos fármacos PCZ/BNZ, foram selecionados. A proporção em massa entre os dois fármacos foi mantida em 50:50 (m/m %) e a relação em massa dos dois fármacos em conjunto em relação ao polímero seguiu uma ordem

crescente entre as diferentes amostras com um mesmo polímero (isto é, fármacos PCZ/BNZ 50:50 à 10 %, 20 % 30 %... e o polímero respectivamente à 90 %, 80 %, 70 % m/m...), até o aparecimento dos primeiros inícios dos fármacos no estado cristalino, tal como descrito na Seção 4.5 deste trabalho.

As DSs foram preparadas segundo o método de evaporação do solvente (VO et al., 2013; SEKIGUCHI, OBI, 1961; CHIOU, RIEGELMAN, 1971; SAVJANI et al., 2012; ALAM et al., 2012; VASCONCELOS, SARMENTO, COSTA, 2007; JANSSENS, VAN DEN MOOTER, 2009), no qual os fármacos PCZ/BNZ (50:50 m/m %) e o polímero em questão foram precisamente pesados e dissolvidos em metanol. A mistura foi deixada sob agitação magnética até solubilização completa dos componentes. As soluções polímero/fármacos foram então transferidas para uma placa de teflon e colocadas para secagem em uma estufa à 35 °C para as DSs com Eudragit® E-100 e à 70 °C com as outras DSs. O estabelecimento destas temperaturas de secagem levou em consideração as temperaturas de transição vítrea (T_g) dos polímeros escolhidos, devendo a secagem ser conduzida em temperatura inferior à T_g dos polímeros.

A partir de então, o filme formado pela DS foi analisado por microscopia de luz polarizada e, em seguida, foi triturado com grau e pistilo utilizando uma pequena quantidade de nitrogênio líquido para evitar a cristalização induzida por calor. O pó resultante teve seu tamanho de partícula ainda reduzido por trituração e passagem através de um tamis de malha 200-100 (75-150 µm).

As respectivas misturas-físicas (MFs), como materiais de referência, foram preparadas misturando os fármacos PCZ/BNZ e o polímero nas mesmas proporções das DSs.

Além da análise de microscopia de luz polarizada, os sistemas de DSs e MFs obtidos foram também caracterizados por DRX, dissolução *in vitro*, DSC, espectrofotometria de absorção na região do IV e modelagem molecular.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA

3.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

Para proceder com as análises de DSC, amostras de cerca de 4 mg foram pesadas em porta amostra de alumínio e seladas. A cápsula de alumínio para a referência foi deixada

vazio e selada da mesma forma. A referência e a amostra foram aquecidas entre 25 e 225 °C, na razão de aquecimento de 10 °C/min, em equipamento de DSC (TA Instruments 2010, Delaware, EUA) à uma atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min. O DSC foi calibrado utilizando os pontos de fusão dos padrões de Índio ($156,6 \pm 0,3$ °C) e Zinco ($419,6 \pm 0,3$ °C). A faixa de temperatura acima descrita foi escolhida em virtude desta ser suficiente para avaliar todos os possíveis eventos de fusão dos fármacos e das misturas PCZ/BNZ, sendo a máxima temperatura utilizada (225 °C) inferior à temperatura de degradação dos fármacos (233,76 °C para BNZ e 402,9 °C para o PCZ) e, portanto, sem ocorrência de perda de massa de qualquer dos componentes até 225 °C.

As máximas temperaturas de fusão (T_{peak}) reveladas pelas curvas DSC das misturas cristalinas PCZ/BNZ assim como dos fármacos individuais foram utilizadas para construir o diagrama de fases. Neste caso, foram plotadas todas as temperaturas de fusão mensuráveis em função da proporção dos componentes em massa %.

3.4.2 Difração de Raios X

Os padrões de DRX foram obtidos por meio do sistema de difração utilizando o método do pó no equipamento 600 Rigaku Miniflex (Rigaku Americas Corporation, ON, Canadá) em um intervalo 2θ na faixa de 2,1-50 °, à taxa de varredura de 2 ° por minuto. Foram analisadas as estruturas cristalinas dos fármacos individuais e estas foram comparadas com as misturas cristalinas PCZ/BNZ oriundas do método de evaporação do solvente em composições próximas à mistura eutética 80:20 m/m % (isto é, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 e 95:05, m/m % PCZ/BNZ).

Esta técnica foi também utilizada para confirmar a natureza amorfa das misturas PCZ/BNZ oriundas do método de fusão e resfriamento e para avaliar a manutenção dessa forma amorfa sob temperatura ambiente (25 °C) e em condições aceleradas de estabilidade (temperatura de 40 °C e Umidade Relativa - UR de 75 %) ao longo do tempo.

O princípio de utilização desta técnica para caracterização de sistemas amorfos e cristalinos tem sido utilizado em diversos trabalhos, incluindo Vo et al. (2013), Katariya e Patil (2013), Baghel, Cathcart, O'reilly (2016).

3.4.3 Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho

Para investigar as interações químicas existentes nos sistemas binários obtidos (mistura eutética e solução sólida amorfa), os espectros de infravermelho (IV) dos fármacos individuais e dos sistemas binários foram analisados utilizando o espectrofotômetro IR 400[®] (PerkinElmer[®]) com o dispositivo de refletância total atenuada (ATR) com cristal de seleneto de zinco. As amostras foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo do ATR. Cada resultado foi obtido a partir da média de dez verificações, de 600 a 4000 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} . A utilização desta técnica tem sido descrita em outros trabalhos, tais como Vo et al. (2013), Katariya e Patil (2013), Baghel, Cathcart e O'reilly (2016).

Também foram analisados espectros de IV teóricos computacionais adquiridos através do programa Gaussian 09 com método de cálculo B3LYP/6-31 ++ G(d, p) (DENNINGTON, KEITH, MILLAM, 2009; FRISCH et al., 2009; BECKE, 1988; BECKE, 1993).

3.4.4 Microscopia Raman Confocal

Para avaliar a microestrutura da mistura eutética PCZ/BNZ 80:20 (m/m %) e verificar a existência da estrutura lamelar alternada formada por seus componentes, a amostra em pó da mistura eutética foi colocada sobre uma lâmina de vidro e examinada através do Raman Confocal, instrumento WITec alpha300 S, equipado com laser a 532 nm (potência de 100 mW) e lente objetiva de 20x. Com tempo de integração de 0,01 segundo, foram adquiridas imagens 50 x 50 μm (100 x 100 pontos).

Os fármacos cristalinos individuais PCZ e BNZ também foram mapeados para identificação de bandas vibracionais distintivas relativas a determinados grupos funcionais nos seus espectros de Raman (VO et al., 2013; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016). Através destes dados, a organização dos fármacos na microestrutura eutética pôde ser marcada e visualizada.

3.4.5 Modelagem molecular

Com base na mudança de cor visualizada para a solução sólida amorfa PCZ/BNZ, as moléculas dos fármacos componentes foram investigadas quanto a provável presença de interações π -stacking. As moléculas de PCZ e BNZ tiveram suas geometrias inicialmente

otimizadas com o nível de cálculo DFT B3LYP/6-31 ++ G(d, p) pelo programa Gaussian 09. Em seguida, diferentes complexos moleculares foram gerados. Estes complexos bem como moléculas isoladas tiveram os seus espectros de UV-VIS teóricos calculados com o programa ZINDO incluídos no Gaussian 09. O GAP (ou banda de energia proibida) de algumas transições electrónicas foi calculado de modo a verificar a estabilidade dos complexos moleculares formados.

Adicionalmente, para investigar as interações eletrostáticas entre os fármacos, o mapa do potencial eletrostático de PCZ e BNZ foi obtido através do programa Gaussview 5.0 (DENNINGTON, KEITH, MILLAM, 2009).

3.4.6 Ensaio de dissolução *in vitro*

Considerando o estado amorfo da solução sólida amorfa, a análise de dissolução *in vitro* foi conduzida sob condição *non-sink*, uma vez que esta considera a capacidade de supersaturação da solução sólida em um meio de dissolução finito, além de ter uma simulação mais adequada do sistema fisiológico devido ao volume finito de fluido encontrado no trato gastrointestinal. Portanto esta condição permite tanto a visualização dos perfis de supersaturação cinética, como quando afetados pelos eventos de nucleação e cristalização na solução supersaturada do fármaco (SUN, JU, LEE, 2012).

Em virtude do custo oneroso da matéria-prima PCZ e da necessidade de utilizar uma elevada dose dos fármacos para manter a condição *non-sink*, todos os ensaios de dissolução foram conduzidos em um recipiente de vidro com capacidade máxima de 20 mL, dos quais 10 mL foram preenchidos com meio de dissolução (tampão de ácido clorídrico pH 1,6; USP 38), mantido à $37 \pm 0,5$ °C em uma incubadora e sob agitação magnética de 60 rpm. O meio de dissolução ácido pH 1,6 foi selecionado em virtude deste corresponder a uma condição biorrelevante ao pH estomacal (JANTRATID et al., 2009), além de favorecer a quantificação do PCZ, visto que em pHs > 4 este fármaco possui solubilidade menor que 1 µg/mL (FANG et al., 2011) e, portanto, inferior ao limite de quantificação pela análise de espectrofotometria na região do UV.

A dose de mistura eutética e solução sólida utilizada no ensaio de dissolução foi selecionada considerando a *solubilidade de equilíbrio* dos fármacos na solução tampão pH 1,6, a qual é 54,52 µg/mL para PCZ e 115,89 µg/mL para BNZ; e considerando um SI de 0,03 para PCZ e 0,28 para BNZ. Assim, a dose total de cada sistema binário inserido no meio de

dissolução foi de 20 mg, que corresponde a 16 mg de PCZ e 4 mg de BNZ, suficientes para promover uma condição *non-sink* de dissolução.

Em cada intervalo de tempo do teste de dissolução, uma alíquota de 100 μ L do meio de dissolução foi removida e, em seguida, centrifugada a 14.000 rpm durante 5 min. O sobrenadante foi removido e diluído com meio de dissolução antes de proceder com a varredura por UV de 200-600 nm, obtida através do espectrofotômetro de UV-VIS Cary 50 a uma velocidade de varredura de 60 nm/min e tempo médio de aquisição de dados de 0,1 s. Uma vez que as amostras removidas foram diluídas, as alíquotas retiradas não foram retornados ao meio de dissolução. Os perfis de dissolução dos fármacos individuais também foram traçados utilizando as mesmas doses contidas nas misturas binárias, ou seja, 16 mg de PCZ e 4 mg de BNZ. Medições em triplicata foram executadas e os valores médios com desvio padrão foram apresentados para todos os perfis de dissolução. Para a construção da curva de calibração, soluções-padrão contendo 2,5, 5, 7,5, 10 and 15 μ g/mL de PCZ/BNZ (1:1) foram preparadas dissolvendo os fármacos em acetonitrila e diluindo-os com o meio de dissolução.

O método espectroscópico UV obtido em 1ª derivada foi utilizado para medir a concentração dos fármacos em virtude da sobreposição espectral existente entre os fármacos, especialmente do BNZ (máxima absorbância em 320 nm, segundo o espectro de ordem-zero) sobre o PCZ (máxima absorbância em 250 nm, segundo o espectro de ordem-zero). Esta técnica oferece mais seletividade (separação de bandas sobrepostas) e sensibilidade (amplificação do sinal e redução do ruído) comparada à espectrofotometria convencional de ordem-zero (OWEN, 1996; SAAKOV et al., 2013). A partir de então, o BNZ passou a ser mensurado em 345 nm e o PCZ em 265 nm pela espectrofotometria em 1ª derivada.

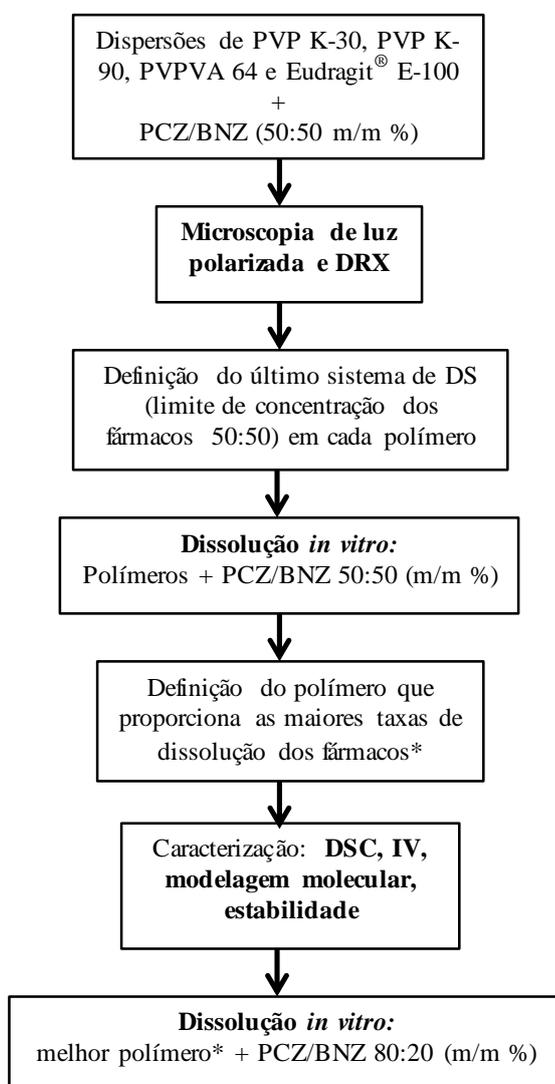
3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO

As amostras de DSs e MFs obtidas foram inicialmente analisadas por microscopia de luz polarizada e DRX a fim de detectar a máxima concentração em que PCZ/BNZ (50:50 m/m %) podem permanecer amorfos em cada carreador (PVP K-30, PVP K-90, PVPVA 64 e Eudragit® E-100), indicando assim o último sistema de DS obtido para cada tipo de polímero estudado. Estes sistemas de DSs foram então investigados no estudo de dissolução *in vitro*, que teve por finalidade eleger o carreador que proporciona as maiores taxas de dissolução e

solubilidade aparente dos fármacos. As dispersões com este selecionado polímero foram investigadas por DSC, espectrofotometria de absorção na região do IV e modelagem molecular, além de ter sua estabilidade física prevista em estudo de estabilidade sob condições aceleradas de temperatura ($\pm 40\text{ }^{\circ}\text{C}$) e umidade ($\pm 75\% \text{ UR}$). Por fim, tais melhores DSs tiveram seus perfis de dissolução investigados mudando-se a proporção entre os fármacos de 50:50 (m/m %) para a mesma da composição eutética, ou seja 80:20 m/m % PCZ/BNZ.

Uma representação esquemática para melhor elucidar as etapas de caracterização das DSs encontra-se descrita na Figura 12.

Figura 12 - Esquema ilustrativo das etapas utilizadas na caracterização das DSs polímero-PCZ/BNZ.



Fonte: Autoria própria.

3.5.1 Microscopia de luz polarizada

As propriedades da luz polarizada das amostras dos fármacos individuais (PCZ e BNZ), das DSs e das MFs foram avaliadas pelo Microscope Motic BA400[®] (Opti-tech Scientific Inc[®]) equipado com a câmara de vídeo Dinoeyepiece[®] acoplada ao Programa Dinocapture[®] 2.0. As amostras foram analisadas com aumento de 10 vezes. A análise visual do filme de DS obtido permite visualizar microscopicamente os limites quantitativos máximos nos quais PCZ/BNZ podem permanecer amorfos em cada tipo de polímero (KATARIYA, PATIL, 2013).

3.5.2 Difração de Raios X

O estado físico das amostras de DS polímero-PCZ/BNZ, das respectivas MFs nas mínimas e máximas proporções, assim como dos fármacos e dos polímeros individuais foram analisadas pelo método do pó e seguindo as mesmos parâmetros instrumentais descritos na Seção 4.4.2 - Difração de Raios X. Em conjunto com a microscopia de luz polarizada, esta análise indicou a concentração máxima na qual PCZ/BNZ podem permanecer amorfos em cada carreador, inferindo assim sobre qual seria o último sistema de DS amorfa para cada tipo de polímero (KATARIYA, PATIL, 2013; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016). A partir da definição destes limites quantitativos, as DSs foram então avaliadas quanto aos perfis de dissolução alcançados pelos fármacos.

3.5.3 Ensaio de dissolução *in vitro*

Os perfis de dissolução das DSs polímero-PCZ/BNZ foram comparados com as respectivas MFs e com os fármacos individuais cristalinos. A condição *non-sink* foi mantida durante o estudo com todas as DSs dada à capacidade de supersaturação dos fármacos no estado amorfo dentro das DSs (SUN, JU, LEE, 2012). As demais condições experimentais são as mesmas das descritas na Seção 4.4.6 - Ensaio de dissolução *in vitro*.

O ensaio de dissolução foi inicialmente realizado com todas as DSs contendo os fármacos PCZ e BNZ na razão 50:50 m/m % entre eles. Após esta triagem inicial, as DSs de melhor desempenho (maiores taxas de dissolução e solubilidade aparente) para um mesmo tipo de polímero foram avaliadas mudando-se a proporção inicial entre os fármacos de 50:50

m/m % para a mesma da composição eutética, isto é, 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ. Neste caso, a relação quantitativa total destes dois fármacos em conjunto em relação ao polímero será mantida, mudando-se apenas a proporção entre PCZ e BNZ.

Assim, para a triagem inicial de todas as DSs e, portanto, contendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %), considerou-se a fórmula $SI=C_s.V/dose$ e a *solubilidade de equilíbrio* dos fármacos no meio de dissolução (tampão pH 1,6), a qual é 54,52 µg/mL para PCZ e 115,89 µg/mL para BNZ, em um volume de dissolução constante de 10 mL. Por meio desses parâmetros, o SI encontrado para os fármacos foi mantido a um valor constante de 0,03 para PCZ e 0,07 para BNZ. A relação em massa dos componentes das dispersões em todos os níveis quantitativos encontra-se descrita na Tabela 1.

Tabela 1 – Relação quantitativa de todos os componentes das dispersões sólidas polímero/fármacos PCZ/BNZ 50:50 (m/m %) utilizada no ensaio de dissolução considerando um SI de 0,03 para PCZ e 0,07 para BNZ.

| Dose total de dispersão sólida (massa % de PCZ/BNZ) | Dose correspondente de polímero | Dose correspondente de PCZ/BNZ (50:50 m/m %) |
|--|--|---|
| 320 mg (10 % dos fármacos) | 288 mg | 32 mg (sendo 16 mg de PCZ + 16 mg de BNZ) |
| 160 mg (20 % dos fármacos) | 128 mg | 32 mg (sendo 16 mg de PCZ + 16 mg de BNZ) |
| 106,6 mg (30 % dos fármacos) | 128 mg | 32 mg (sendo 16 mg de PCZ + 16 mg de BNZ) |
| 80 mg (40 % dos fármacos) | 48 mg | 32 mg (sendo 16 mg de PCZ + 16 mg de BNZ) |
| 64 mg (50 % dos fármacos) | 32 mg | 32 mg (sendo 16 mg de PCZ + 16 mg de BNZ) |

Fonte: Autoria própria.

O ensaio para determinação da *solubilidade de equilíbrio* dos fármacos encontra-se descrito a seguir, na Seção 3.5.4 - Solubilidade de equilíbrio dos fármacos.

Diante desta avaliação inicial e do estabelecimento do melhor sistema polimérico para incremento da solubilidade dos fármacos, a avaliação das melhores DSs para um mesmo polímero passou a ser feita com a proporção eutética 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ, a qual conservou a dose do PCZ em 16 mg e a dose do BNZ foi diminuída de 16 mg para 4 mg a fim de manter a relação 80:20 entre eles, tal como a composição da mistura eutética. A partir

destes parâmetros, o SI do PCZ manteve-se em 0,03 e do BNZ foi aumentado para 0,28.

3.5.4 Solubilidade de equilíbrio dos fármacos

As medidas da solubilidade de equilíbrio do PCZ e BNZ foram conduzidas no meio de dissolução (tampão de ácido clorídrico pH 1,6; USP 38) na presença e na ausência dos polímeros de DS. Para realização deste teste, cada fármaco foi separadamente adicionado em excesso em tubos de vidro contendo 1 mL de uma solução do polímero preparada no meio de dissolução (contendo a máxima concentração do polímero utilizada na DS) e, paralelamente, os fármacos em excesso foram adicionados em tubos contendo apenas o meio de dissolução pH 1,6 sem o polímero de DS. Todos os tubos foram hermeticamente fechados e agitados numa incubadora a $37 \pm 0,5$ °C por 5 dias. O ensaio foi realizado em triplicata. Após este tempo, para medir a solubilidade de equilíbrio dos fármacos, a suspensão resultante foi centrifugada a 14000 rpm durante 5 min e, em seguida, o sobrenadante foi removido e diluído com o meio de dissolução para prosseguir com a quantificação por UV, conforme descrito no teste de dissolução (Seção 4.4.6 - Ensaio de dissolução *in vitro*). Este procedimento permitiu mensurar a *solubilidade de equilíbrio* de PCZ e BNZ no meio de dissolução pH 1,6 e também no meio pH 1,6 contendo o polímero utilizado em cada DS, possibilitando assim verificar as diferenças de solubilidade alcançadas pelos fármacos através do simples contato com os respectivos carreadores poliméricos.

Esta metodologia tem sido utilizada em outros trabalhos: Six et al. (2004), Goddeeris, Willems, Van den Mooter (2008), Nguyen e Van Den Mooter (2014).

3.5.5 Calorimetria Exploratória Diferencial

Uma vez selecionado o sistema de DS de melhor desempenho no teste de dissolução, este foi avaliado em todos os níveis quantitativos de fármacos pela análise de DSC a fim de verificar os fármacos como fase cristalina ou amorfa nas DSs e avaliar a miscibilidade dos componentes neste sistema (ALBERS et al., 2011; JANSSENS, VAN DEN MOOTER, 2009; TIWARI et al., 2009; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016). Os requisitos experimentais utilizados seguiram os mesmos dos descritos na Seção 4.4.1 - Calorimetria Exploratória Diferencial.

3.5.6 Espectrofotometria de Absorção da Região do Infravermelho

O sistema de DS com melhor desempenho no ensaio de dissolução foi ainda investigado quanto à interação química entre os fármacos (PCZ e BNZ) e o polímero por meio da comparação espectral entre os componentes de origem com as DSs e suas respectivas MFs. A análise foi conduzida seguindo os parâmetros instrumentais descritos na Seção 4.4.3 - Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho.

3.5.7 Modelagem molecular

As interações dos fármacos com o polímero também foram avaliadas do ponto de vista teórico por meio dos métodos de dinâmica molecular. Para esta elucidação, apenas uma das DSs (a de melhor desempenho no ensaio de dissolução *in vitro*) foi investigada, sendo este resultado representativo para as demais DSs como o mesmo polímero.

As estruturas das moléculas envolvidas foram geradas por meio do programa HyperChem (TM) Professional 7.51. Os arquivos de topologia necessários para os cálculos de dinâmica molecular foram obtidos através do servidor online PRODRG (SCHÜTTELKOPF, VAN AALTEN, 2004). Para a realização dos cálculos foi gerada uma caixa de simulação contendo 100 dímeros de PVPVA, 4 moléculas de PCZ e 9 de BNZ, seguindo desta forma as mesmas proporções experimentais do melhor sistema de DS (PVPVA-fármacos 10%, estando PCZ e BNZ na razão 50:50 m/m %). Inicialmente o sistema foi submetido a um processo de minimização de energia seguida da etapa de produção (dinâmica molecular). A simulação foi realizada durante 200 ns, em temperatura e pressão constante de 300 K e 1 bar, respectivamente. Para a realização dos cálculos foi utilizado o programa GROMACS 4.6.5 parametrizado com campo de força GROMOS 53A6 (BERENDSEN et al., 1995, OOSTENBRINK et al., 2005, OOSTENBRINK et al., 2004). Os resultados foram analisados através do Desvio Quadrático Médio (*Root Mean Square Deviation* - RMSD), tempo e número de ligações de hidrogênio e energia de interação entre dos fármacos entre si e com o polímero. Para a análise dos resultados foram utilizados os programas VMD (*Visual Molecular Dynamics*, Theoretical and Computational Biophysics Group, University of Illinois and Beckman Institute, Urbana, IL) e Xmgrace (HUMPHREY, DALKE, SCHULTEN, 1996).

3.5.8 Estudo de estabilidade acelerado

Como forma de avaliar a estabilidade da forma amorfa alcançada pelas DSs, um estudo de estabilidade foi conduzido sob condições de estabilidade acelerada (± 75 % de umidade relativa - UR e ± 40 °C de temperatura), de acordo com as recomendações da *International Conference on Harmonisation (ICH) (ICH Q1A R2)*, 1996). As amostras foram mantidas em um dessecador contendo solução saturada de NaCl a ± 75 % de UR e este foi mantido em uma incubadora à ± 40 °C. A cristalinidade das amostras como o parâmetro de estabilidade foi monitorada por análise de DRX.

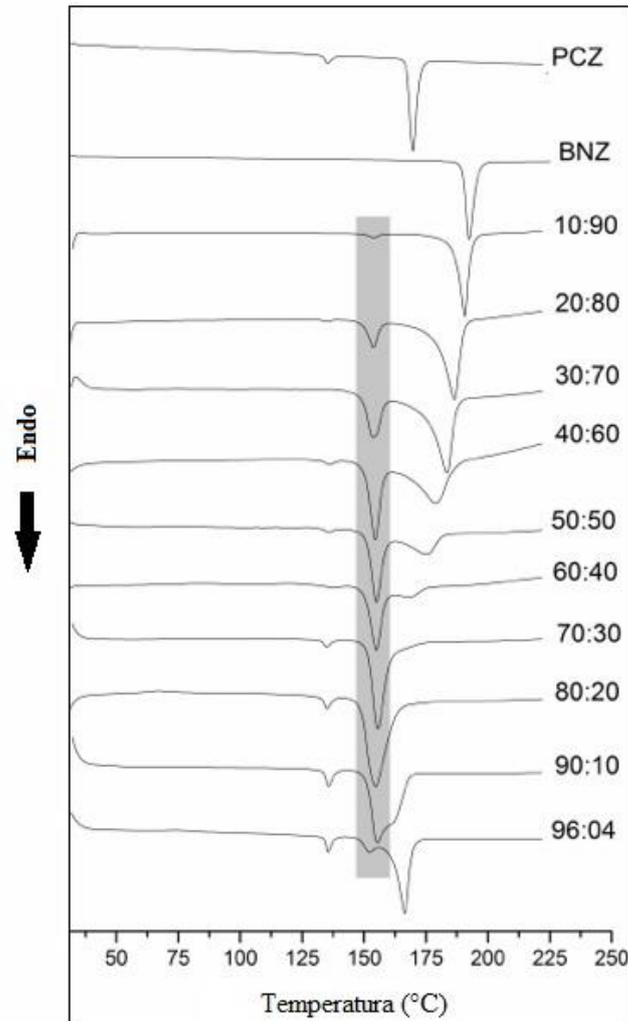
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 SISTEMAS BINÁRIOS FÁRMACO-FÁRMACO DE MISTURA EUTÉTICA E SOLUÇÃO SÓLIDA AMORFA

4.1.1 Calorimetria Exploratória Diferencial

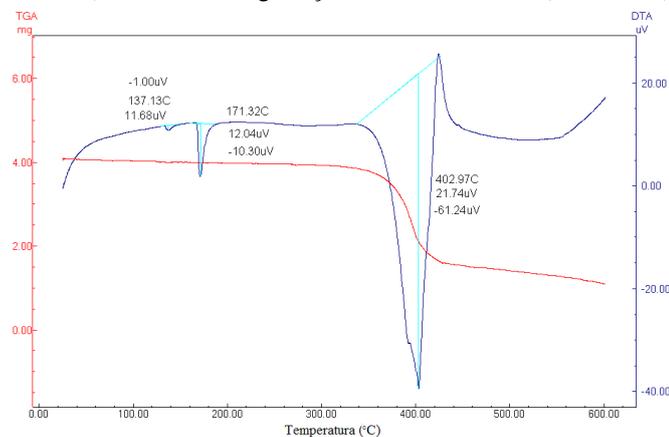
As curvas DSC das misturas cristalinas contendo todas as proporções PCZ/BNZ oriundas do método de evaporação do solvente, bem como as curvas DSC dos fármacos individuais estão ilustradas na Figura 13. O primeiro pequeno pico de fusão endotérmico em 135 °C, presente no PCZ e nas misturas com maior proporção deste fármaco, corresponde a uma impureza contida na matéria-prima PCZ, a qual corresponde à cerca de 1,9 % (teor da matéria-prima mensurado de acordo com método descrito por Garcia et al., 2012). Sobre esta impureza não foi verificado evento de perda de massa, de acordo com a análise termogravimétrica previamente realizada na matéria-prima PCZ (Figura 14), o que descarta a possibilidade desta se tratar de um produto de degradação do fármaco. Na sequência, o pico de fusão destacado pela barra cinza da Figura 13 (em torno de 154 °C) corresponde à fusão da fase eutética, a qual está presente em diferentes graus em todas as composições PCZ/BNZ. O ponto de fusão adicional subsequente refere-se à fusão do componente que está em excesso na mistura dos fármacos (componente extra, PCZ ou BNZ).

Figura 13 - DSC das amostras dos fármacos e das misturas cristalinas PCZ/BNZ em diferentes proporções obtidas pelo método de evaporação do solvente, mostrando o comportamento do ponto de fusão eutético e a fusão do componente extra presente em determinadas composições PCZ/BNZ.



Fonte: Autoria própria.

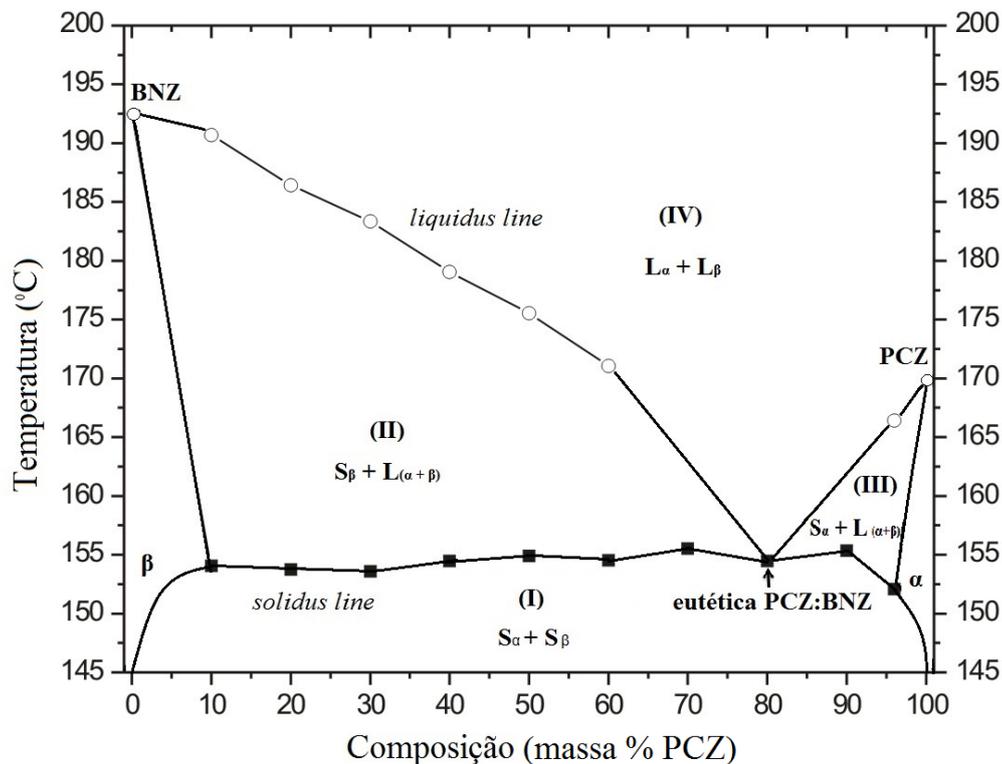
Figura 14 - Análise termogravimétrica (TGA) do PCZ representada pela curva TGA (marcada em vermelho), demonstrando ausência de perda de massa durante o evento de fusão da impureza contida nesta matéria-prima. A curva DTA - Análise Térmica Diferencial (marcada pela linha roxa) revela os eventos de fusão da impureza (em 137 °C) e do fármaco (em 171 °C), bem como degradação térmica do PCZ (em 402 °C).



Fonte: Autoria própria.

Os resultados tais como se apresentam apontam para a interpretação de um sistema eutético dada a capacidade de construir um diagrama de fases (Figura 15) a partir dos resultados de DSC. Neste caso, a fusão da fase eutética (destacada pela barra cinza da Figura 13) corresponde a um pico endotérmico de fusão antecipado, comum e invariante, compondo a *solidus line* do diagrama de fases da Figura 15 (representada pelos quadrados cheios). O ponto de fusão adicional subsequente em cada mistura PCZ/BNZ originou a chamada *liquidus line*, a qual é variável e está representada pelos círculos abertos do diagrama de fases da Figura 15. Os pontos da *liquidus line* demonstram as composições hipoeutéticas ou hipereutéticas, nas quais um dos fármacos-componente está em excesso na mistura PCZ/BNZ. Desta forma, a composição eutética é assim chamada como sendo aquela cuja composição não tem um ponto *liquidus* de fusão acima do ponto *solidus*. Para as composições 70 massa % PCZ (ou 70:30 de PCZ/BNZ, respectivamente) e 90 massa % PCZ (ou 90:10 de PCZ/BNZ, respectivamente), os pontos *liquidus* correspondentes da Figura 15 não puderam ser representados em termos numéricos uma vez o fármaco em excesso expressou-se na forma de um pequeno evento na curva DSC (Figura 13), não gerando assim um ponto de fusão com valor mensurável. Assim, de acordo com os dados apresentados, a composição eutética ocorre com PCZ/BNZ na proporção 80:20 (m/m %), representada por um único evento de fusão em 154 °C, a temperatura eutética de fusão, tal como visto nas Figuras 13 e 15.

Figura 15 - Diagrama de fases binário do sistema de PCZ/BNZ exibe um padrão tipo - 'V' característico de uma mistura eutética. Os pontos *solidus* são apresentados como quadrados cheios e os pontos *liquidus* como círculos abertos.



Fonte: Autoria própria.

Legenda: α =solução sólida cristalina fase α (com predominância de PCZ); β = solução sólida cristalina fase β (com predominância de BNZ); S_α e S_β =soluções sólidas α e β no estado sólido (região I); L_α e L_β = soluções sólidas α e β no estado líquido (região IV); $S_\beta + L_{(\alpha+\beta)}$ =coexistência de solução sólida β no estado sólido e de soluções sólidas α e β no estado líquido (região II); $S_\alpha + L_{(\alpha+\beta)}$ = co-existência de solução sólida α no estado sólido e de soluções sólidas α e β no estado líquido (região III).

Como resultado do diagrama de fases representado na Figura 14, na região I, PCZ e BNZ estão todos presentes no estado sólido cristalino; na região II, co-existe uma mistura de PCZ e BNZ no estado líquido (fase eutética, representada pelos pontos *solidus*) e um excesso de BNZ no estado sólido (representado pelos pontos *liquidus*). Na região III, a fase fundida da mistura PCZ/BNZ está no estado líquido (fase eutética - pontos *solidus*) e o PCZ em excesso está no estado sólido (pontos *liquidus*). Entre a região I e a região III e entre a região I e a região II existem domínios de soluções sólidas cristalinas fases α (predominância de PCZ) and β (predominância de BNZ). Na região IV, PCZ e BNZ estão todos no estado líquido fundido. Em contrapartida, na denominada composição eutética da mistura PCZ/BNZ foi observado apenas um único ponto de fusão eutético em 154 °C (na *solidus line*), o qual é menor do que qualquer uma das temperaturas de fusão dos fármacos cristalinos de origem (169 °C para PCZ e 192 °C para BNZ), sendo por isso chamada mistura-eutética, sobre a qual é esperada por exibir incremento na taxa de dissolução dos fármacos.

Conforme estabelecido por Cherukuvada e Nangia (2014) e melhor ilustrado por Moore e Wildfong (2009), é esperado que para uma mistura eutética a microestrutura dos dois sólidos participantes de origem seja bastante diferente. Em cada região do diagrama de fases construído (Figura 14), cada composição deve ter sua respectiva morfologia. Neste caso, na composição eutética a morfologia é exibida como uma estrutura de lamelas alternadas, sendo cada lamela formada predominantemente por um dos componentes (PCZ ou BNZ). A morfologia fora da composição eutética (isto é, composições hipoeutéticas ou hipereutéticas) exibe a mistura de uma microestrutura eutética lamelar combinada com a fase microcristalina do componente que está em excesso (PCZ ou BNZ) em diferentes amplitudes. Deste modo, em se tratando de uma mistura na composição eutética, a microestrutura na região IV, a qual é composta por dois líquidos homogêneos mutuamente miscíveis PCZ e BNZ ($L_{\alpha} + L_{\beta}$), durante o processo de resfriamento, dá lugar à uma microestrutura sólida lamelar alternada ($S_{\alpha} + S_{\beta}$) na região I. Se esta se tratar de uma composição hipoeutética, a mistura líquida homogênea dá origem à precipitação de sólidos do BNZ misturado à um líquido eutético ($S_{\beta} + L_{\alpha+\beta}$) na região II; e em se tratando de uma composição hipereutética, a mistura líquida homogênea leva à precipitação de sólidos do PCZ em excesso misturados à um líquido eutético ($S_{\alpha} + L_{\alpha+\beta}$) na região III. Nos dois últimos casos, o contínuo processo de resfriamento abaixo de 154 °C (na região I) dá origem ao crescimento dos cristais PCZ ou BNZ em excesso e o líquido eutético restante se solidifica organizando-se em uma estrutura lamelar alternada.

Com esta compreensão, toma-se evidente que o sistema PCZ/BNZ deve ser identificado como uma mistura eutética e isto é mais consistente com o entendimento de que PCZ e BNZ são sólidos não-isomorfos (estruturas cristalinas que não têm o mesmo grupo espacial, nem as mesmas dimensões da célula unitária, tendo assim incompatibilidade de tamanho/forma entre os componentes). Este é critério utilizado por Cherukuvada e Nangia (2014) para classificar os sólidos que participam de uma mistura eutética. De acordo com estes autores, enquanto a formação de soluções sólidas cristalinas requer a participação de sólidos isomorfos ou iso-estruturais, a microestrutura eutética consiste de domínios de soluções sólidas ricas em PCZ e ricas em BNZ (fases α and β , respectivamente), mantidas juntas através de fracos limites interfase ao longo dos quais as moléculas podem difundir e redistribuir nas soluções sólidas cristalinas. A tensão inerente nos domínios das soluções sólidas cristalinas (devido a acomodação dos sólidos não-isomorfos), maximizadas pelos arranjos atômicos imperfeitos e as fracas ligações interfase entre os domínios destas soluções sólidas, levam a altas mudanças termodinâmicas e, portanto, ao característico ponto de fusão

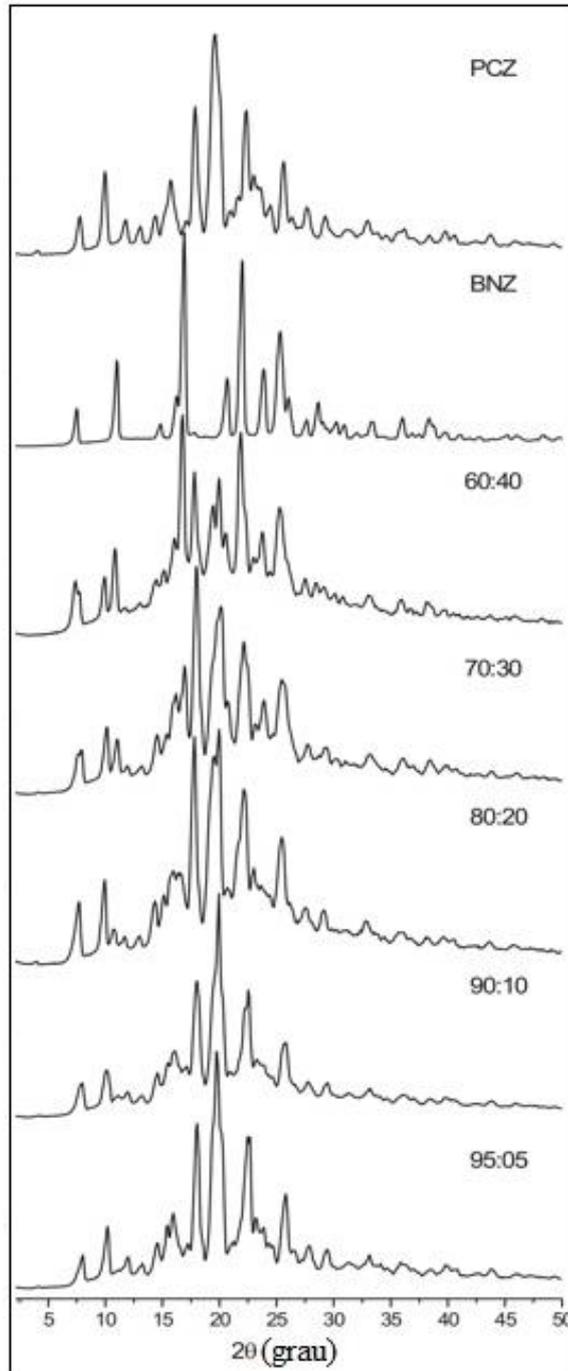
menor em relação aos componentes individuais.

Outras evidências suportam esta classificação do PCZ/BNZ como um sistema eutético. A composição eutética foi identificada como aquela que não tem ponto *liquidus* acima dela. Adicionalmente, o diagrama de fases exibe um padrão tipo - “V” formado pelos pontos *liquidus*, ao invés de um padrão do tipo - ‘W’ característico de um co-cristal (CHERUKUVADA, ROW, 2014). Além disso, os pontos de fusão que compõe a *solidus line* da Figura 14 não estão gradualmente aumentando ou diminuindo à medida que a composição PCZ/BNZ é alterada, o que caracterizaria este sistema como uma única solução sólida cristalina (DABROS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008). Estas evidências concordam com a caracterização deste sistema como uma mistura eutética.

4.1.2 Difração de Raios X

A análise de DRX foi utilizada para obter uma melhor compreensão do sistema eutético cristalino formado PCZ/BNZ 80:20 (m/m %) e para provar a autenticidade deste sistema. A proporção 95:05 (m/m %) foi introduzida nesta análise pela possibilidade de observar o comportamento difratométrico em uma faixa mais ampla da razão fármaco-fármaco. Como mostrado na Figura 16, as misturas PCZ/BNZ são predominantemente cristalinas, apesar da existência de um pequeno halo amorfo correspondente à uma pequena quantidade de mistura amorfa em cada composição.

Figura 16 - DRX dos fármacos e das misturas cristalinas de PCZ/BNZ oriundas do método de evaporação do solvente mostrando boa correspondência dos picos de difração na mistura eutética 80:20 (m/m %) com aqueles oriundos dos componentes de origem, e sem qualquer alteração gradual na posição dos picos.



Fonte: Autoria própria.

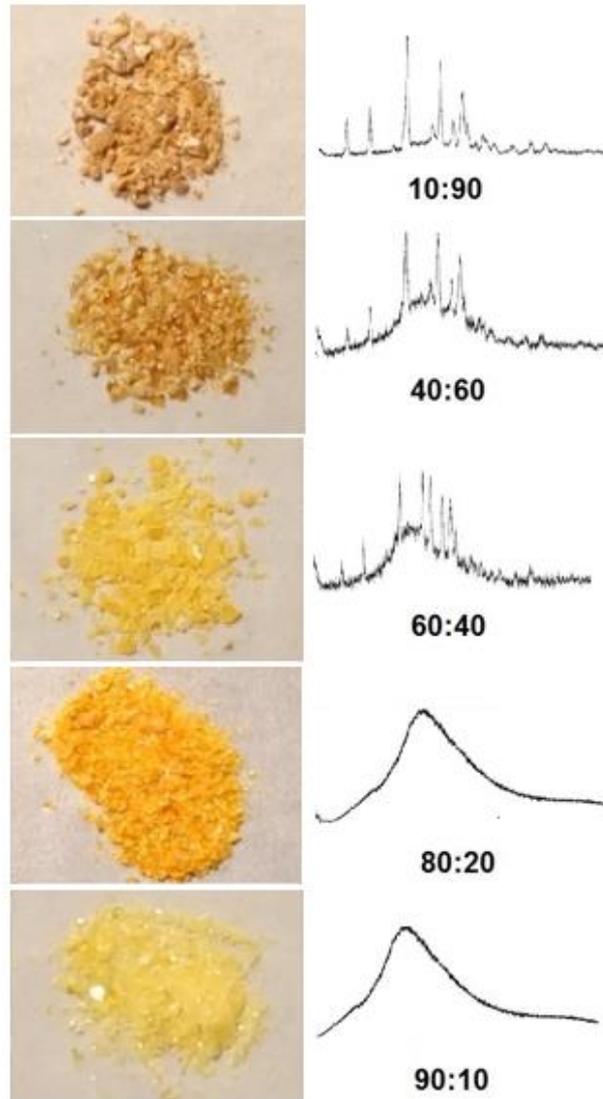
Esta técnica é rotineiramente empregada para a caracterização de co-cristais, embora não seja frequentemente útil para diagnosticar uma mistura eutética. Neste caso, como a inclusão de um componente menor acontece substitucionalmente ou intersticialmente no componente principal das soluções sólidas cristalinas α e β que compõe a mistura eutética, as

interações coesivas bem como as estruturas cristalinas dos componentes de origem permanecem inalterados em grande parte (CHERUKUVADA, ROW, 2014). Este conceito concorda com a presente análise, desde que a mistura eutética PCZ/BNZ 80:20 (m/m %), obtida pelo método de evaporação do solvente, mostra boa correspondência dos picos de difração com aqueles referentes aos componentes de origem, com predominância dos picos oriundos do PCZ (Figura 16), uma vez que este fármaco é o componente predominante na composição eutética. Assim, a presente análise exclui a possibilidade deste ser um sistema de co-cristal, uma vez que os resultados de DRX apontam para uma manutenção de todos os picos de PCZ e BNZ sem qualquer novo pico distinto.

Além disso, este sistema não pode ser classificado como uma solução sólida cristalina uma vez que não existe qualquer alteração gradual da posição dos picos em toda a faixa de composição analisada (entre 60:40 e 95:05) (DABROS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2008). Assim, o DRX aqui utilizado forneceu informações específicas e úteis sobre a estrutura da mistura eutética para diferenciar esta mistura binária a partir de outras.

Esta técnica foi também aplicada para avaliar as misturas PCZ/BNZ oriundas do método de fusão e resfriamento quanto a formação de uma solução sólida amorfa. Os padrões de DRX apresentados na Figura 17 mostram a presença de um halo característico confirmando a natureza amorfa somente das composições 80:20 e 90:10 (m/m %) PCZ/BNZ, representando assim um potencial sistema para incremento da solubilidade dos fármacos.

Figura 17 - Padrões de DRX das misturas PCZ/BNZ obtidas pelo método de fusão e resfriamento e a comparação entre a cor característica dos pós resultantes.



Fonte: Autoria própria.

A Figura 17 revela ainda um aumento da presença do domínio cristalino quando a quantidade BNZ é aumentada (por exemplo, 60:40, 40:60 e 10:90), seguido por uma mudança de cor. Tal mudança está relacionada com a mistura formada pela presença simultânea de frações cristalinas e amorfas em diferentes proporções de PCZ e BNZ. Deve-se salientar que apenas a composição 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ foi escolhida como solução sólida amorfa para dar seguimento com as demais caracterizações a fim de manter a mesma proporção que a composição eutética, que também é semelhante à dose farmacológica de PCZ e BNZ utilizados/testados separadamente no tratamento da doença de Chagas (MOLINA et al., 2014; DNDI, 2017). Também é evidente a partir da Figura 17 que a composição amorfa 80:20

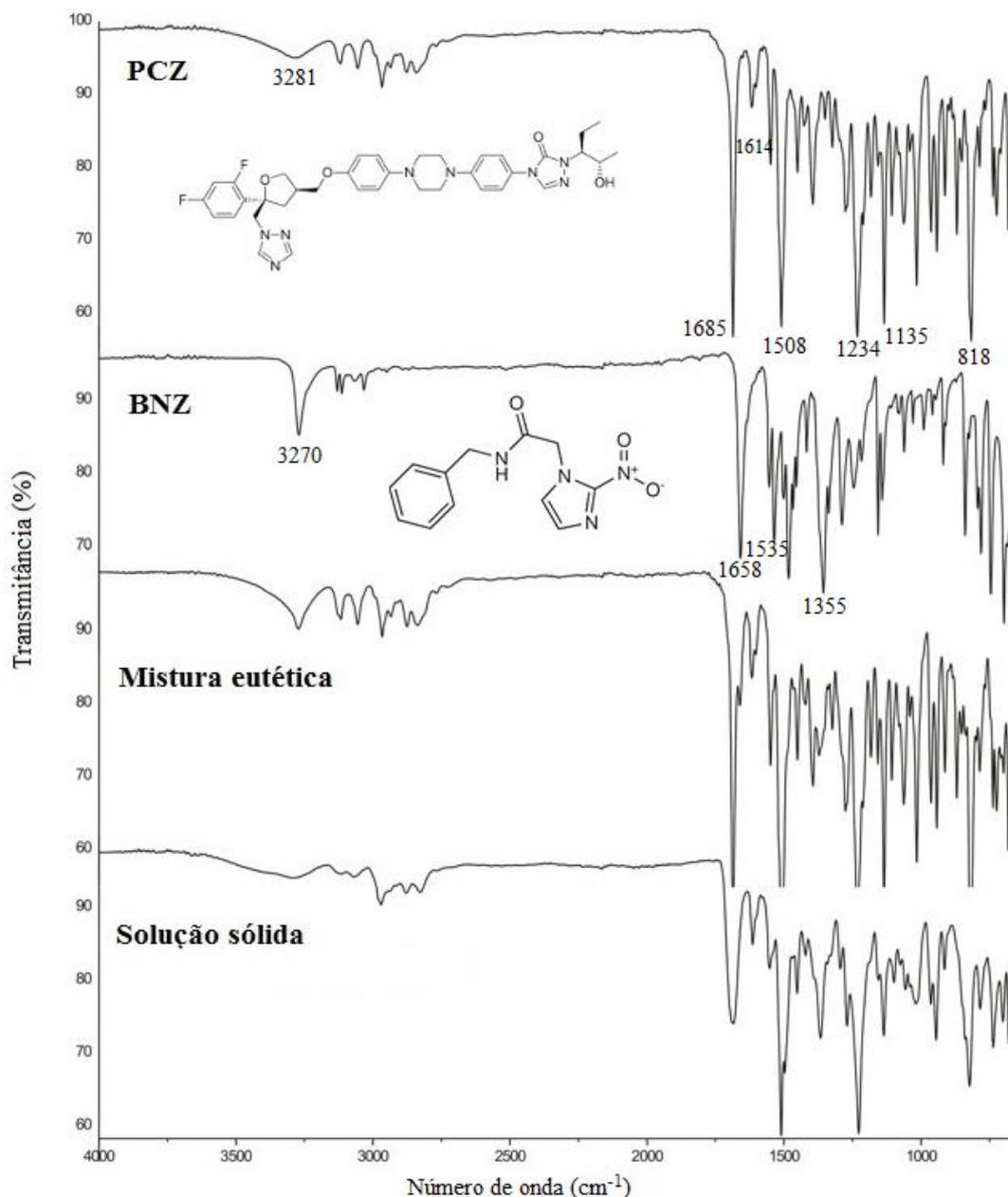
PCZ/BNZ exibe a cor mais intensa do laranja. Entretanto a composição 90:10 (m/m %) também forma uma solução sólida amorfa, caracterizada por uma cor amarelo-alaranjada. A mudança de cor observada nestas amostras amorfas da mistura PCZ/BNZ está relacionada com as interações químicas entre os dois fármacos. Este aspecto será melhor ilustrado na Seção 5.1.5.

Os resultados de estabilidade preliminares mostram que o halo amorfo da solução sólida 80:20 (m/m %) foi mantido à temperatura ambiente durante 6 meses. No entanto, em condições aceleradas de 40 °C e 75 % de UR, as amostras mostram perda da estabilidade a partir de 1 mês, além de um aumento gradual da cristalinidade: em 1 mês, 12,65 % de cristalinidade; em 45 dias, 13,95 %; e em 80 dias, 16,62 %. Deste modo, estas condições de temperatura e umidade mais elevadas parecem ser prejudiciais para a estabilidade da fase amorfa da solução sólida PCZ/BNZ. Este estudo preliminar indica que esta condição de estabilidade deve ser considerada no desenvolvimento de uma forma farmacêutica com base na solução sólida amorfa PCZ/BNZ.

4.1.3 Espectrofotometria de Absorção da Região do Infravermelho

Para avaliar as interações químicas envolvidas nas misturas binárias PCZ/BNZ descritas acima, a espectrofotometria de absorção na região do IV dos compostos dos fármacos individuais, mistura eutética e mistura amorfa na composição eutética estão representadas na Figura 18.

Figura 18 - Resultado experimental da espectrofotometria de absorção na região do IV do PCZ, BNZ, mistura eutética e solução sólida amorfa na proporção 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ .



Fonte: A autoria própria.

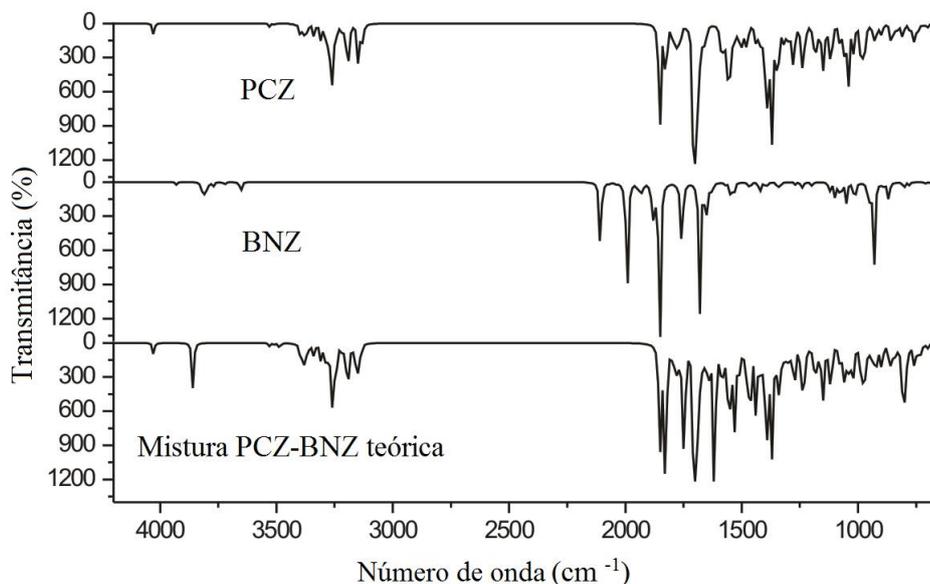
De acordo com a observação do espectro de IV do PCZ (Figura 18), certas bandas oriundas de vibrações importantes merecem destaque. A banda devido ao estiramento da ligação O-H na cadeia encontra-se em 3281 cm⁻¹. A banda intensa em 1685 cm⁻¹ refere-se ao estiramento C=O de amida. Na sequência, em 1614 cm⁻¹ ocorre deformação axial do C-F; em 1508 cm⁻¹, deformação axial de anel triazólico; em 1234 cm⁻¹, deformação axial de carbono ligado a OH; em 1135 cm⁻¹, deformação axial da ligação C-O-C e, por fim, a banda em 818 cm⁻¹ refere-se a cadeia principal (“backbone”) de hidrocarboneto da molécula.

O espectro de IV do BNZ (Figura 18) também apresenta bandas características, principalmente em relação às bandas típicas das amidas (vibração de estiramento N-H), estiramento de carbonila (banda de amida I) e deformação N-H (banda de amida II), além das vibrações devido ao grupo benzílico e imidazólico e, em particular, ao grupo nitro. A banda devido às vibrações de estiramento N-H (banda de amida II), encontra-se em 3270 cm^{-1} . A banda de estiramento da carbonila encontra-se em 1658 cm^{-1} e a deformação de N-H em 1535 cm^{-1} , característica da amida secundária. Além dessas, a banda em 1355 cm^{-1} é atribuída ao estiramento C-N. Estes dados concordam com os encontrados por Rolim (2010).

Analisando os espectros de IV dos sistemas binários apresentados na Figura 18 é verificada uma similaridade entre os espectros IV da mistura eutética e da solução sólida amorfa, que apontam para a presença predominante das bandas do PCZ em ambos os sistemas binários e nenhum aparecimento ou desaparecimento de qualquer banda, nem foi observado deslocamento significativo de bandas. Esta semelhança entre os espectros dos sistemas binários é esperada uma vez que os sistemas têm a mesma composição PCZ/BNZ 80:20 (m/m %). No entanto, a presença de uma estrutura em rede cristalina organizada na mistura eutética, em oposição a estrutura desorganizada na qual as moléculas vibram com maior grau de liberdade na solução sólida amorfa, resultou em bandas de absorção ligeiramente mais largas no espectro do sistema amorfo em comparação com a mistura eutética cristalina (Figura 18). Assim, na solução sólida amorfa, a energia IV é capturada e também distribuída entre os grupos químicos vizinhos, fazendo com que suas bandas espectrais se apresentem um pouco mais largas em relação às da mistura eutética cristalina, como visto na banda em 1685 cm^{-1} .

Devido a semelhança espectral observada entre os dois sistemas binários, apenas um espectro de IV representativo para a mistura PCZ/BNZ foi gerado na análise teórica espectral (Figura 19). Para geração deste IV teórico foi considerada apenas a presença de interações do tipo π -stacking envolvendo os fármacos, uma vez que outras possíveis interações por ligação de hidrogênio entre os grupos funcionais reativos de PCZ e BNZ não geraram bandas de IV próximas às experimentais. Deste modo, um espectro de IV teórico com as posições relativas dos picos e intensidade semelhante às experimentais para as misturas amorfa e cristalina de PCZ/BNZ (solução sólida amorfa e mistura eutética) foi obtido (ver Figura 19). Além disso, em se tratando do IV teórico, deve ser considerado que este foi gerado em condições de vácuo por uma questão de simplicidade, o que não corresponde às reais condições experimentais, assim diferenças espectrais em termos de posições das bandas (número de onda) e intensidade da transmitância envolvendo o IV experimental e teórico são esperadas.

Figura 19 - Resultado teórico da espectrofotometria de absorção na região do IV do PCZ, BNZ e da mistura PCZ/BNZ.



Fonte: Autoria própria.

A partir desta análise teórica, a razão para a sobreposição espectral das bandas de PCZ sobre às de BNZ (ver Figura 18 e Figura 19) em grande parte do espectro da mistura PCZ-BNZ se deve ao fato do PCZ ser uma molécula maior, com mais grupos químicos vibracionais e, portanto, com maior número de modos vibracionais (273 vibrações) do que o BNZ (87 vibrações), impondo-se assim sobre as bandas do BNZ na espectrofotometria de IV. Ainda assim, bandas de ambos os componentes estão presentes nos espectros, porém com menor intensidade das bandas BNZ dada a presença minoritária deste fármaco nos sistemas avaliados. Todos estes aspectos concordam com a maior similaridade espectral dos sistemas binários como PCZ.

A Tabela 2 sumariza os principais modos vibracionais presentes nos espectros de IV experimental e teórico da mistura PCZ/BNZ.

Tabela 2 - Principais modos vibracionais da mistura PCZ/BNZ gerados a partir das análises dos espectros de IV experimental e teórico, considerando a existência de interação do tipo π -stacking no sistema.

| Número de onda (cm⁻¹) no espectro experimental de IV | Número de onda (cm⁻¹) no espectro teórico de IV | Modos vibracionais |
|--|---|---------------------------------|
| 3270 | 3858 | Estiramento N-H do BNZ |
| 1685 | 1852 | Estiramento C=O do PCZ |
| 1658 | 1832 | Estiramento C=O da amida do BNZ |
| 3281 | 4040 | Estiramento O-H do PCZ |

Fonte: Autoria própria.

Estes modos vibracionais tem basicamente as mesmas frequências nas moléculas dos fármacos isolados e no complexo formado da mistura PCZ/BNZ, uma vez que estes grupos funcionais não participam de qualquer interação entre os fármacos. A maior parte das outras bandas no espectro de IV dos sistemas binários referem-se aos estiramentos C-H dos fármacos, os quais não participam de qualquer interação entre eles.

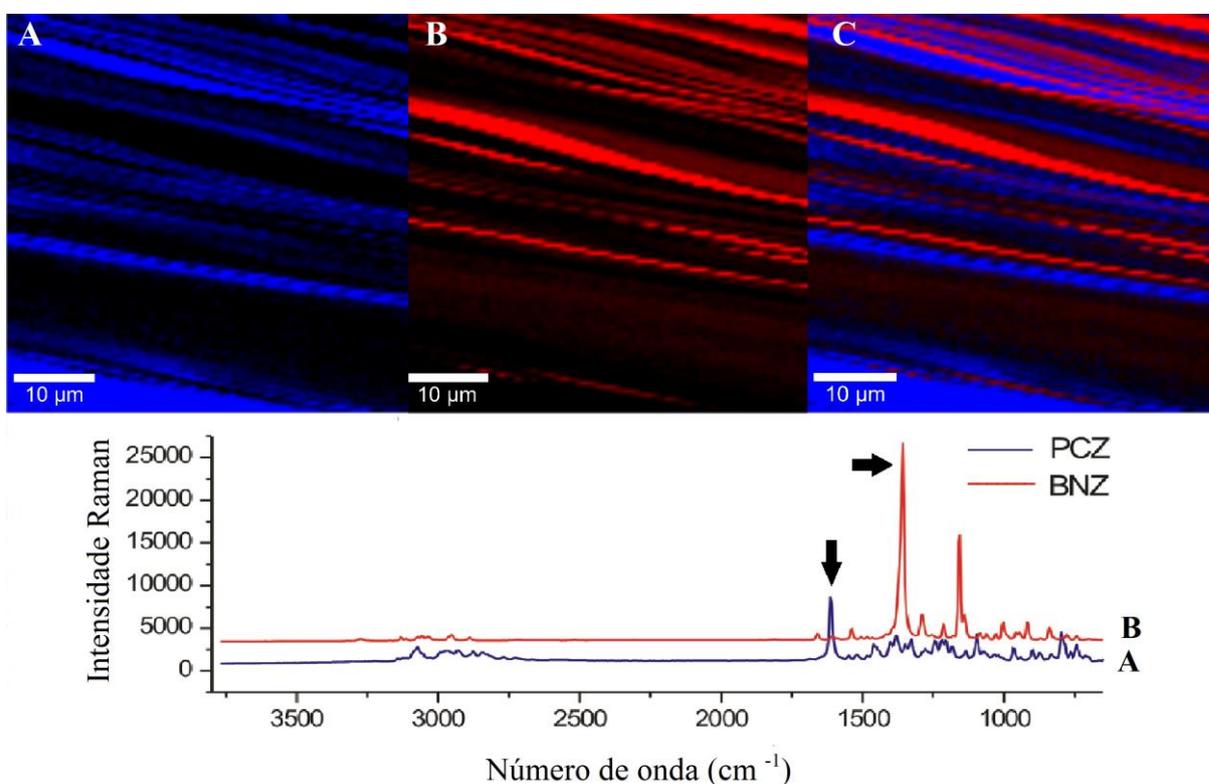
A espectrofotometria no IV para a mistura eutética, assim como a análise por DRX, mostra estreita combinação entre o sistema binário obtido e com os fármacos de origem, apoiando assim o fato de que não há nenhuma reação química entre PCZ e BNZ nem fortes interações químicas entre esses componentes, e que a microestrutura eutética resultante combina a estrutura de rede cristalina dos componentes de origem como domínios de fase separada (soluções sólidas cristalinas). Em relação à solução sólida amorfa, a espectrofotometria no IV também combina as bandas de IV dos fármacos de origem, indicando ausência de reações químicas e de fortes interações entre os componentes, apesar do fato de eles serem molecularmente dispersos formando uma solução homogênea em nível molecular estabilizada através de interações moleculares específicas.

Uma explicação detalhada sobre as interações envolvendo PCZ e BNZ nos sistemas binários de mistura eutética e mistura amorfa na composição eutética será discutida na Seção 5.1.5.

4.1.4 Microscopia Raman Confocal

O espectro de Raman dos fármacos individuais estão ilustrados na Figura 20, onde a identificação do PCZ foi mapeada pela integração da banda característica em 1611 cm^{-1} , referente a sua carbonila de amida, e a presença do BNZ foi mapeada pela banda integrada em 1357 cm^{-1} , referente ao estiramento C-N na molécula. Cada um dos fármacos exibe uma cor distintiva: PCZ em azul e BNZ em vermelho (Figura 20)

Figura 20 - Imagens Raman ($50 \times 50\ \mu\text{m}$) da mistura eutética. **A e C** - Intensidade da banda carbonila da amida (1611 cm^{-1}) pertencente ao PCZ na mistura eutética (cor azul); **B e C** - Intensidade do estiramento de C-N (1357 cm^{-1}) do BNZ na mistura eutética (cor vermelha); as linhas marcadas são analisadas em detalhe no espectro de Raman, abaixo das imagens Raman.



Fonte: Autoria própria.

Com base nas imagens mostradas na Figura 20 (A, B e C), é evidente que este sistema exibe diferentes frequências das fases cristalinas puras dos fármacos originais em nível microestrutural, onde as fases α (com predominância de PCZ) e β (com predominância de BNZ) são organizadas como fases alternadas regularmente arranjadas. De acordo com Moore e Wildfong (2009), sem este elemento microestrutural, o sistema não podem ser classificado com precisão como um sólido eutético. Assim, a visualizada presença de um arranjo estrutural

lamelar alternado na mistura eutética PCZ/BNZ 80:20 (m/m %) verifica a autenticidade deste sistema como uma verdadeira mistura eutética.

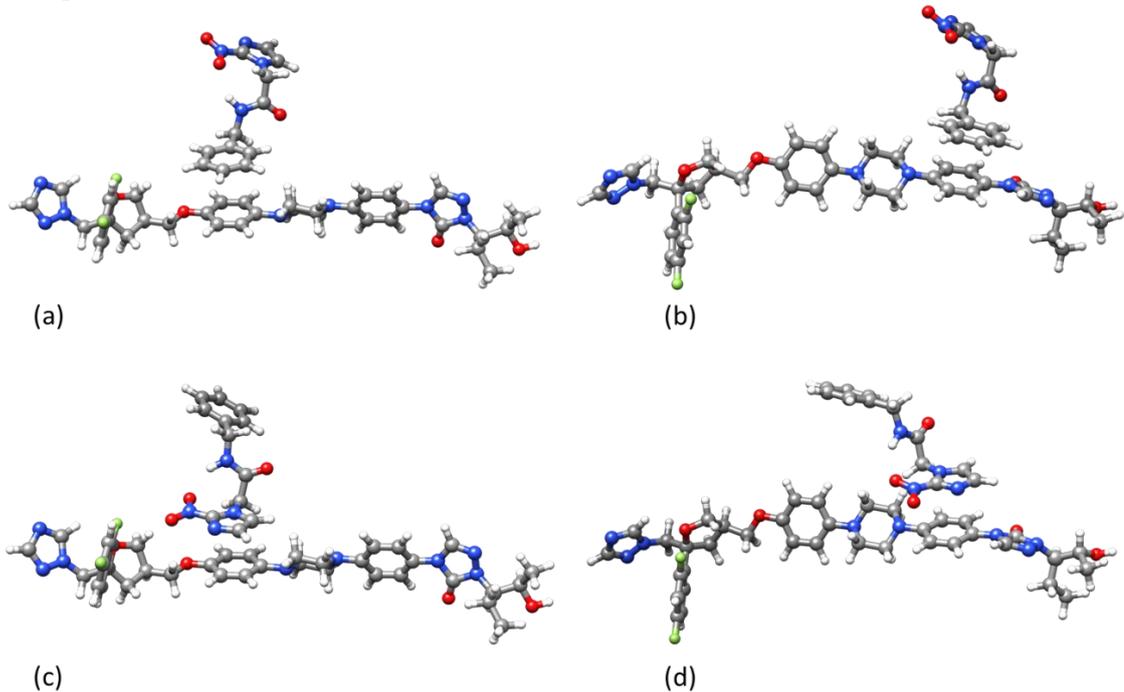
Em alguns sistemas eutéticos, as estruturas alternadas podem não estar dispostas de forma tão regular. Tais exemplos podem ser encontrados em vários outros trabalhos: Singh et al. (2008), Das et al. (2009), Gupta, Singh (2004), Jain, Khomane, Bansal (2014).

4.1.5 Modelagem molecular

Para compreender as interações químicas envolvendo a solução sólida amorfa, a observação da mudança de cor, não relacionada à degradação térmica do sistema, uma vez que esta ocorre acima de 230 °C, foi então atribuída a possível interação π -stacking entre os fármacos. Este tipo de interação refere-se a uma atração não-covalente entre os anéis aromáticos das moléculas dos fármacos, uma vez que estes contêm ligações π , as quais tem comprimento em torno de 1,54 pm entre a ligação C-C. *Stacking* em tradução livre significa empilhamento e envolve duas moléculas, onde uma é receptora de elétrons e a outra é doadora de elétrons, sendo assim chamados os complexos de transferência de carga envolvendo a combinação de um dador particular com muitos receptores diferentes, ou vice-versa (KUMAR, GUJRATI, WILSON, 2010). Devido a este fenômeno, pode ocorrer uma transição eletrônica ou transferência de carga entre as moléculas envolvidas e, conseqüentemente, novas bandas na região do ultravioleta visível (UV-VIS) podem surgir, as quais podem ser identificadas pelo aparecimento da cor laranja na solução sólida amorfa obtida (ver Figura 17).

Para elucidar as transições eletrônicas na região do UV-VIS responsáveis pela presença da cor do sistema, quatro complexos envolvendo diferentes possibilidades de interação π -stacking entre PCZ e BNZ foram gerados para simular as possíveis configurações formadas a partir deste processo (Figura 21 a-d).

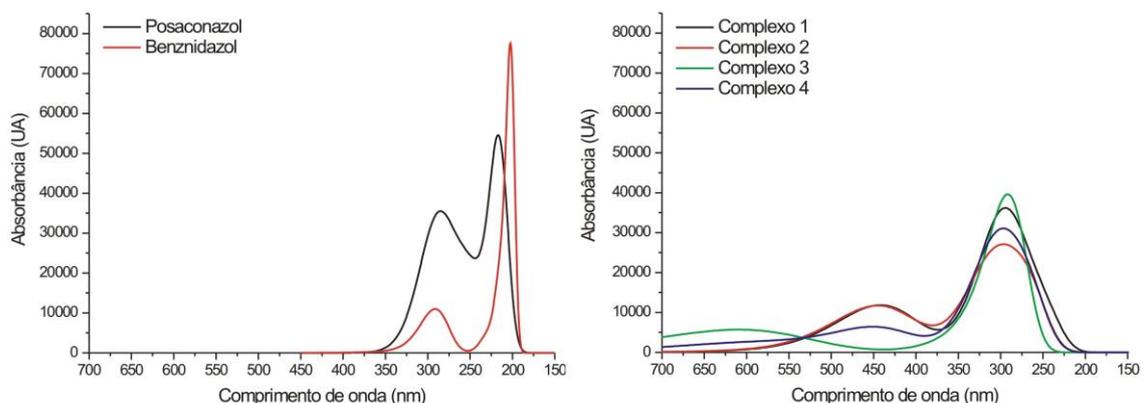
Figura 21 - Estruturas moleculares dos quatro complexos formados por interação π -stacking entre anéis aromáticos de PCZ e BNZ obtidos através de modelagem molecular: complexo 1 (a), complexo 2 (b), complexo 3 (c) e complexo 4 (d).



Fonte: Autoria própria.

Os espectros teóricos no UV-VIS para PCZ isolado mostram duas bandas no UV próximo com máximos em: 217 nm e 290 nm; enquanto o BNZ mostra duas bandas com máximos em 215 nm e 290 nm. No entanto, com a formação dos quatro complexos mostrados na Figura 21, novas bandas podem ser observadas, principalmente na região do Visível (400-750 nm), o que pode explicar a alteração de cor do sistema, passando do branco/quase branco para o laranja (Figura 22).

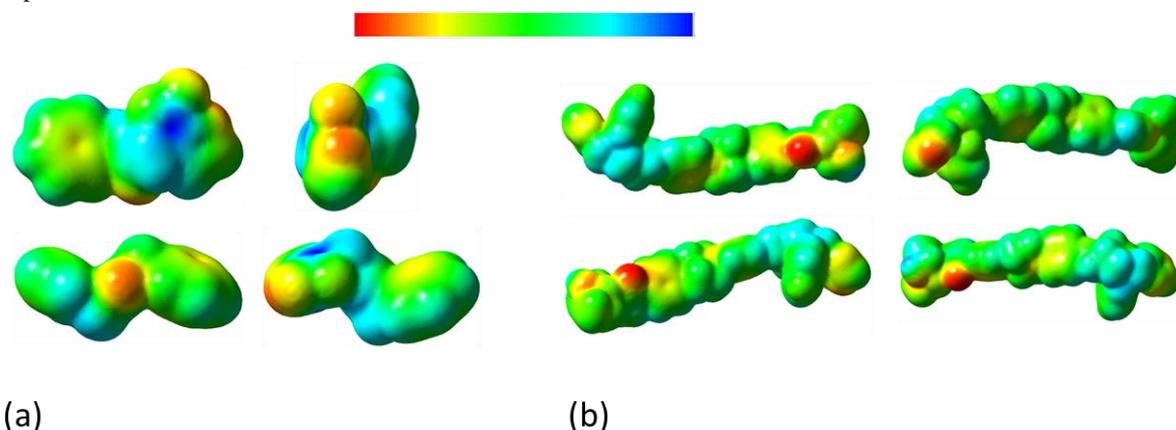
Figura 22 - Espectro teórico de absorção UV-VIS dos fármacos originais (a esquerda) e dos quatro complexos moleculares PCZ/BNZ (a direita) formados por diferentes interações π -stacking.



Fonte: Autoria própria.

Em se tratando da mistura eutética, a fim de investigar o tipo majoritário de interação neste sistema, foi primeiramente analisado o tempo de meia vida das ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais de PCZ e BNZ possíveis de interagir. No entanto, como os valores observados foram muito baixo (próximos a zero), isto conduziu a possibilidade de considerar a existência de importante de interação eletrostática no sistema eutético. A avaliação desta teoria foi acompanhada através da geração de mapas de potenciais eletrostáticos para ambos os fármacos (Figura 23).

Figura 23 - Mapa do potencial eletrostático das moléculas de benznidazol (a) e posaconazol (b) em diferentes perspectivas.



Fonte: Autoria própria

A barra colorida da Figura 23 indica a intensidade da densidade de carga, desde a mais negativo (vermelha) para a carga mais positiva (azul). O resultado do mapa de potencial eletrostático mostra que ambos os fármacos têm regiões de carga mais negativa e regiões de carga mais positiva. Aparentemente o BNZ exibe mais carga positiva (região azul) devido à presença do nitrogênio no anel imidazólico desta molécula. O PCZ tem mais região de carga negativa do que o BNZ devido à presença do grupo carbonila nesta molécula. Assim, este resultado indica a possibilidade de interação eletrostática entre as regiões de carga negativa do PCZ e as regiões de carga positiva do BNZ na mistura eutética e, certamente também na solução sólida amorfa, uma vez que esta simulação computacional considera apenas a estrutura das moléculas dos fármacos, independentemente do arranjo estrutural existente e das proporções quantitativas entre eles.

Esta perspectiva está de acordo com a formação da mistura eutética, isto é, com seu arranjo cristalino, o qual é mantido por estas interações eletrostáticas, diferentemente da

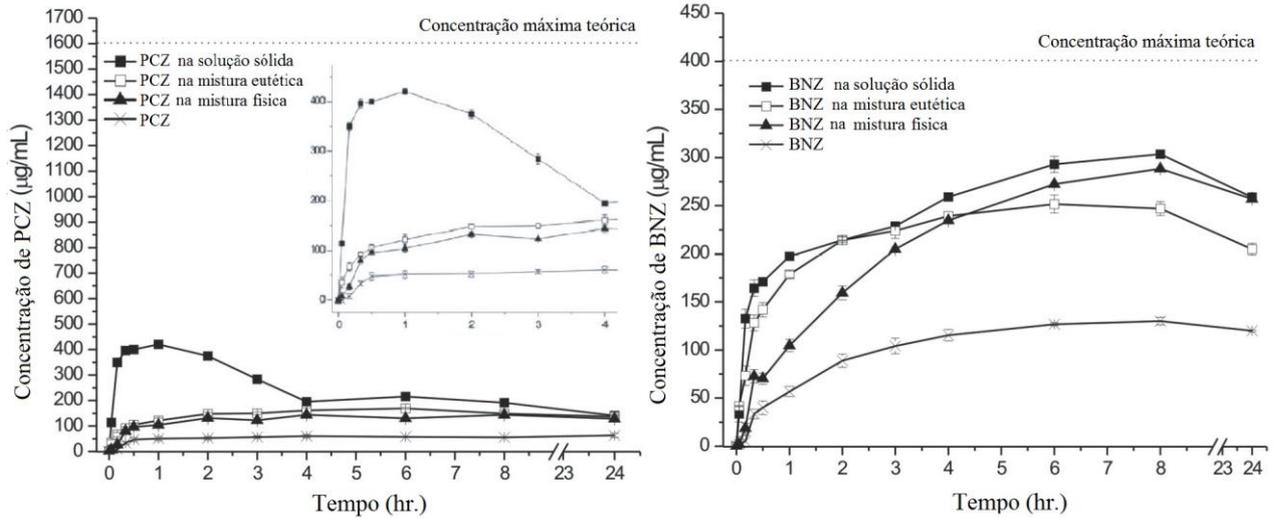
solução sólida amorfa, formada principalmente por interação π -stacking como discutido acima. Em outras palavras, por causa da microestrutura cristalina lamelar formada a partir das fases cristalinas α e β dispostas de forma alternada na mistura eutética, a única superfície de contato entre estas regiões cristalinas está presente entre os cristais de α e β . E, uma vez que os cristais α são realmente a fase cristalina PCZ contendo uma pequena quantidade de BNZ dissolvido, e os cristais β correspondem a fase cristalina BNZ contendo uma pequena quantidade de PCZ dissolvido, a mobilidade neste sistema é limitada, o que provavelmente vai impedir a ocorrência de suficiente interação π -stacking entre os fármacos. Isto explica e confirma que a mistura eutética cristalina não deve ter coloração ou ao menos deve ter a mesma cor que os cristais dos fármacos de origem, PCZ e BNZ.

De acordo com as explicações oferecidas pela modelagem molecular, π -stacking deve ser responsável pela observada cor laranja na solução sólida amorfa e, além desta, outros tipos de interações envolvendo interações eletrostáticas estão ocorrendo em paralelo neste sistema. No entanto, para a mistura eutética, com base na descrição geral de Chenukuvada e Nangia (2014), a microestrutura cristalina lamelar alternada de PCZ e BNZ deve estar sendo mantida por fracas interações eletrostáticas.

4.1.6 Ensaio de Dissolução *in vitro*

A fim de quantificar a dissolução *in vitro* dos fármacos nos sistemas binários, foi utilizado o método UV-Vis da 1ª derivada com os comprimentos de onda de 345 nm para quantificar BNZ e 265 nm para quantificar PCZ. A partir de então, a quantidade de cada fármaco dissolvido no sistema foi mensurada e expressa em suas respectivas curvas de dissolução, representados separadamente na Figura 24.

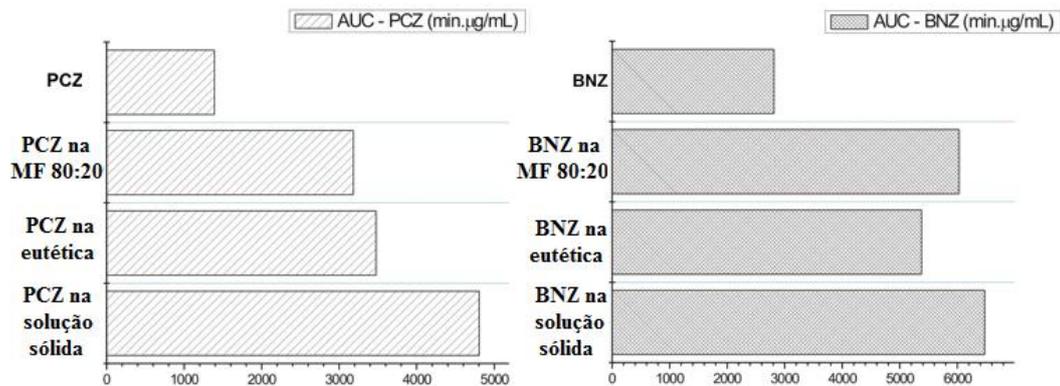
Figura 24 - Dissolução *in vitro* dos sistemas binários PCZ/BNZ expressos como mensurado nos fármacos de origem. As medições dos fármacos foram obtidas pelo método da 1ª derivada mensurada em 265 nm e 345 nm para PCZ e BNZ, respectivamente. Em destaque, encontra-se também representado na imagem à esquerda o perfil de dissolução do PCZ nos sistemas de 0 à 4 hr.



Fonte: Autoria própria.

A análise do perfil de dissolução da mistura eutética, representada pelos quadrados abertos na Figura 24, mostra um incremento na taxa de dissolução para este sistema comparado aos fármacos isolados, uma vez que este é composto por uma estrutura microcristalina lamelar, a qual geralmente dissolve os fármacos mais rápido em relação a sua mistura física (MF) na mesma proporção (80:20 de PCZ/BNZ), representada pelos triângulos cheios na Figura 24. Em relação à área sob a curva da dissolução concentração-tempo ($AUC_{0-24 \text{ hr.}}$), a taxa de dissolução mais rápida do sistema eutético levou a uma maior $AUC_{0-24 \text{ hr.}}$ em relação a dissolução do PCZ, mas não para a dissolução do BNZ comparado à correspondente MF (Figura 25). Ainda assim, em ambos os casos, a $AUC_{0-24 \text{ hr.}}$ da mistura eutética e da MF são próximos, portanto, a melhoria substancial da mistura eutética se deve às taxas de dissolução mais rápidas alcançadas para PCZ e BNZ durante as primeiras horas de dissolução.

Figura 25 - Área sob a curva (AUC) oriunda da dissolução *in vitro* dos sistemas binários e dos fármacos de origem.



Fonte: Autoria própria

A solução sólida amorfa, representado pelos quadrados cheios na Figura 24, apresenta uma taxa de dissolução significativamente maior em comparação com os fármacos de origem, com a mistura eutética e com a MF. Uma vez que a solução sólida amorfa aqui estudada contém a mesma composição eutética e é um sistema amorfo homogêneo em nível molecular, o qual se dissolve mais rapidamente do que um sistema cristalino, este apresenta um típico perfil de dissolução “spring-and-parachute”, no qual ocorre a supersaturação dos fármacos seguida da inibição da sua precipitação abrupta, característico dos sistemas de dispersão sólida baseados em carreadores solúveis (GUZMAN et al., 2004; GUZMAN et al., 2007). Este aumento de solubilidade aparente da solução sólida amorfa reflete-se também em termos da sua correspondente $AUC_{0-24 \text{ hr}}$. (Figura 25).

O aumento substancial na taxa de dissolução inicial alcançada pelos sistemas pode ainda ser melhor visualizado comparando os perfis de dissolução através das respectivas AUC até 1 hr. de dissolução ($AUC_{0-1 \text{ hr.}}$), conforme apresentado na Tabela 3.

Tabela 3. Cálculos de AUC alcançados até 1 hr. do teste de dissolução (AUC_{0-1hr}) pelos fármacos isolados e por estes nos sistemas binários (mistura eutética e solução sólida amorfa).

| Sistema | AUC_{0-1hr} (min.µg/mL) |
|--------------------------------|---|
| PCZ | 35,13 |
| PCZ na MF | 75,74 |
| PCZ na mistura eutética | 93,26 |
| PCZ na solução sólida | 363,51 |
| BNZ | 34,03 |
| BNZ na MF | 64,57 |
| BNZ na mistura eutética | 127,17 |
| BNZ na solução sólida | 155,31 |

Fonte: Autoria própria

De acordo com os resultados de dissolução e AUC alcançados pelos sistemas binários fármaco-fármaco *versus* fármaco isolados, os sistemas aqui desenvolvidos promoveram aumento substancial da taxa de dissolução e a solubilidade aparente de PCZ e BNZ em conjunto e, portanto, devem ser ainda mais adequados para as avaliações de atividade *in vivo* a fim de estabelecer o seu potencial impacto em promover a eficácia no tratamento da doença de Chagas. Além do aumento da taxa de dissolução obtida, a proporção de fármacos encontrada na mistura eutética e na solução sólida amorfa correspondente é semelhante às doses farmacológica de PCZ e BNZ usados separadamente no tratamento da doença de Chagas. Um considera o PCZ na dose 400 mg relatado por Molina et al. (2014), e BNZ nos comprimidos comerciais na dose usual de 100 mg, o que representa uma proporção desejável de 80:20 (ou 4: 1) de PCZ/BNZ, respectivamente, como investigado neste estudo.

4.2 SISTEMAS DE DISPERSÕES SÓLIDAS POLÍMERO-FÁRMACO-FÁRMACO

4.2.1 Microscopia de luz polarizada e Difração de Raios X

Para compor as DSs deste trabalho, os polímeros solúveis em água (hidrofílicos) PVP K-30, PVP K-90 e PVPVA foram previamente selecionados uma vez que a liberação imediata destes fármacos foi desejada e estes polímeros exibem elevada Tg (PVP K-30: Tg = 164 °C, PVP K-90: Tg = 174 °C, PVPVA: Tg = 101 °C) (BASF, 2008). A elevada solubilidade em

água destes carreadores incrementa a molhabilidade dos fármacos quando a DS é dispersa em água (VO et al., 2013) e a alta Tg promove redução da mobilidade molecular dos fármacos e aumento da estabilidade física da DS (VAN DUONG, VAN DEN MOOTER, 2016; BAGHEL, CATHCART, O'REILLY, 2016). Além disso, uma vez que o PCZ pode ser parcialmente solubilizado em uma solução aquosa fortemente ácida, ao contrário do que ocorre em $\text{pH} > 4$ quando sua solubilidade é menor que $1 \mu\text{g/mL}$ (FANG et al., 2011), o polímero solúvel em meio gástrico até $\text{pH} 5,0$, o polieletrólito catiônico Eudragit[®] E-100, também foi escolhido como carreador de DS, apesar de sua baixa Tg ($45 \text{ }^\circ\text{C}$) (EVONIK, 2015; LEUNER, DRESSMAN, 2000).

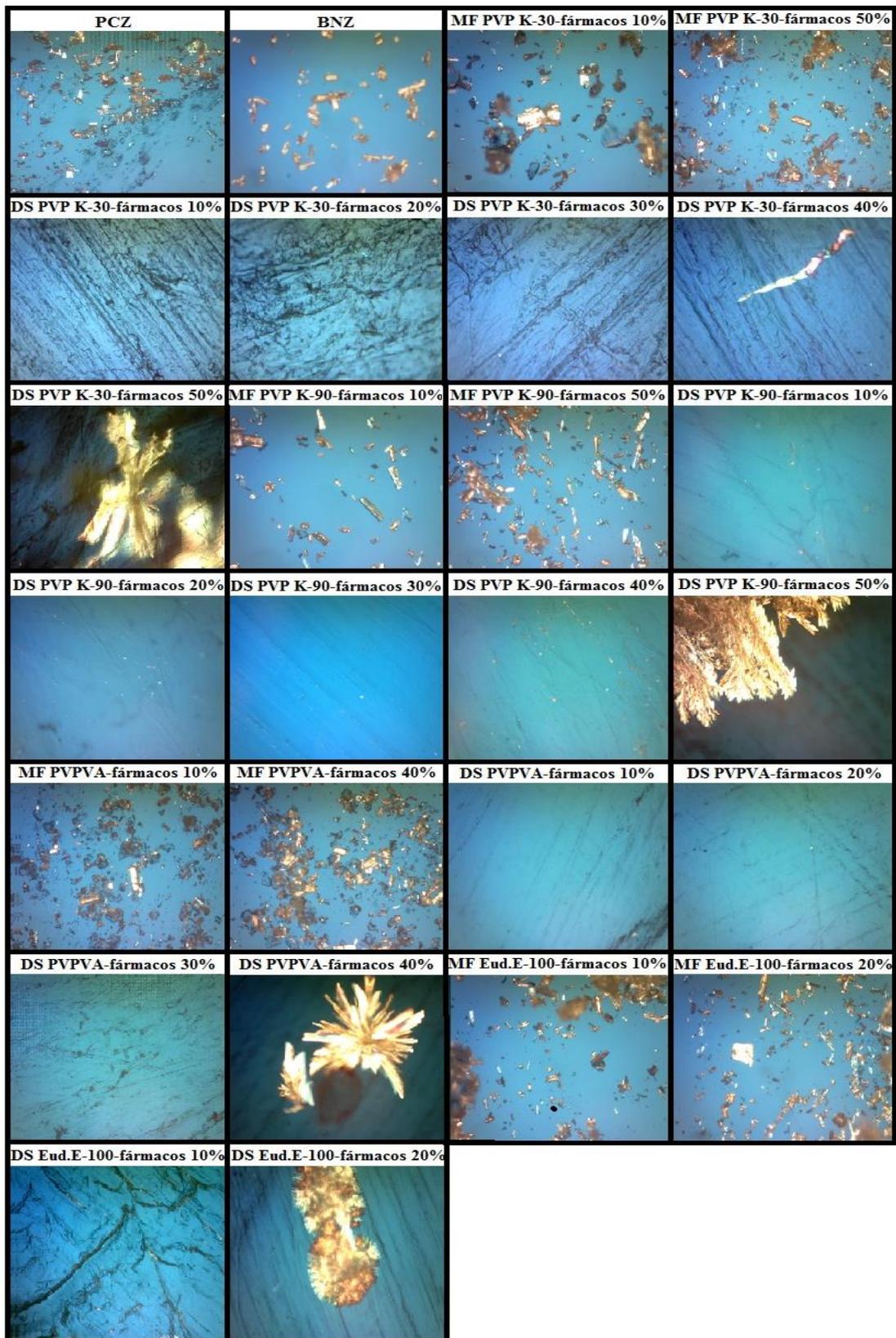
Considerou-se também o peso molecular (PM) destes polímeros: PVP K-30 - 54.000 g/mol , PVP K-90 - $1.300.000 \text{ g/mol}$, PVPVA - 45.000 g/mol (BASF, 2008) e Eudragit[®] E-100 - 47.000 g/mol (EVONIK, 2015). Este aspecto é crítico uma vez que quanto maior o PM, mais lenta é a liberação dos fármacos no meio de dissolução e também menor é a mobilidade do fármaco no polímero e, conseqüentemente, menor a tendência para iniciar a recristalização dos fármacos na DS (VAN DUONG, VAN DEN MOOTER, 2016; JANSSENS et al., 2008).

Além disso, uma vez que em cada DS existe um nível limiar de quantidade de fármaco no suporte de polímero acima do qual a transição amorfa para cristalina tende a ocorrer afetando assim a estabilidade física da DS (SUN, JU, LEE, 2012), as amostras de DSs foram preparadas contendo uma razão de combinação PCZ/BCZ de 50:50 (m/m %), compondo uma quantidade total em peso em relação ao polímero na DS de 10-50%. As DSs obtidas foram analisadas por microscopia de luz polarizada e DRX a fim de determinar a concentração limite ou limiar de concentração dos fármacos abaixo da qual os fármacos podem ser mantidos no estado amorfo.

A obtenção das DSs pelo método por evaporação do solvente utilizado neste estudo é favorável à formação de um filme contendo o polímero e os fármacos. A formação de um filme transparente e homogêneo indica miscibilidade entre os componentes e esta característica pode afetar muito a tendência de cristalização dos fármacos. Neste caso, o carreador pode atuar como um inibidor eficaz da cristalização quando está na mesma fase do fármaco (RUMONDOR et al., 2009; IVANISEVIC, 2010). Assim, os filmes das DSs preparadas pelo método de evaporação de solvente permitiram a visualização por microscopia de luz polarizada dos cristais dos fármacos na DS como uma função da quantidade dos fármacos em cada carreador. Estas imagens correspondentes às amostras de DSs, MFs e fármacos estão representadas na Figura 26. Pode ser visto claramente que o PCZ e o BNZ

crystalinos, individualmente ou em combinação, mostram a birrefringência cristalina típica, enquanto o polímero amorfo não possui tal birrefringência. Assim, a presença de fármacos cristalinos pode ser diferenciada dos polímeros na DS e MF através esta técnica.

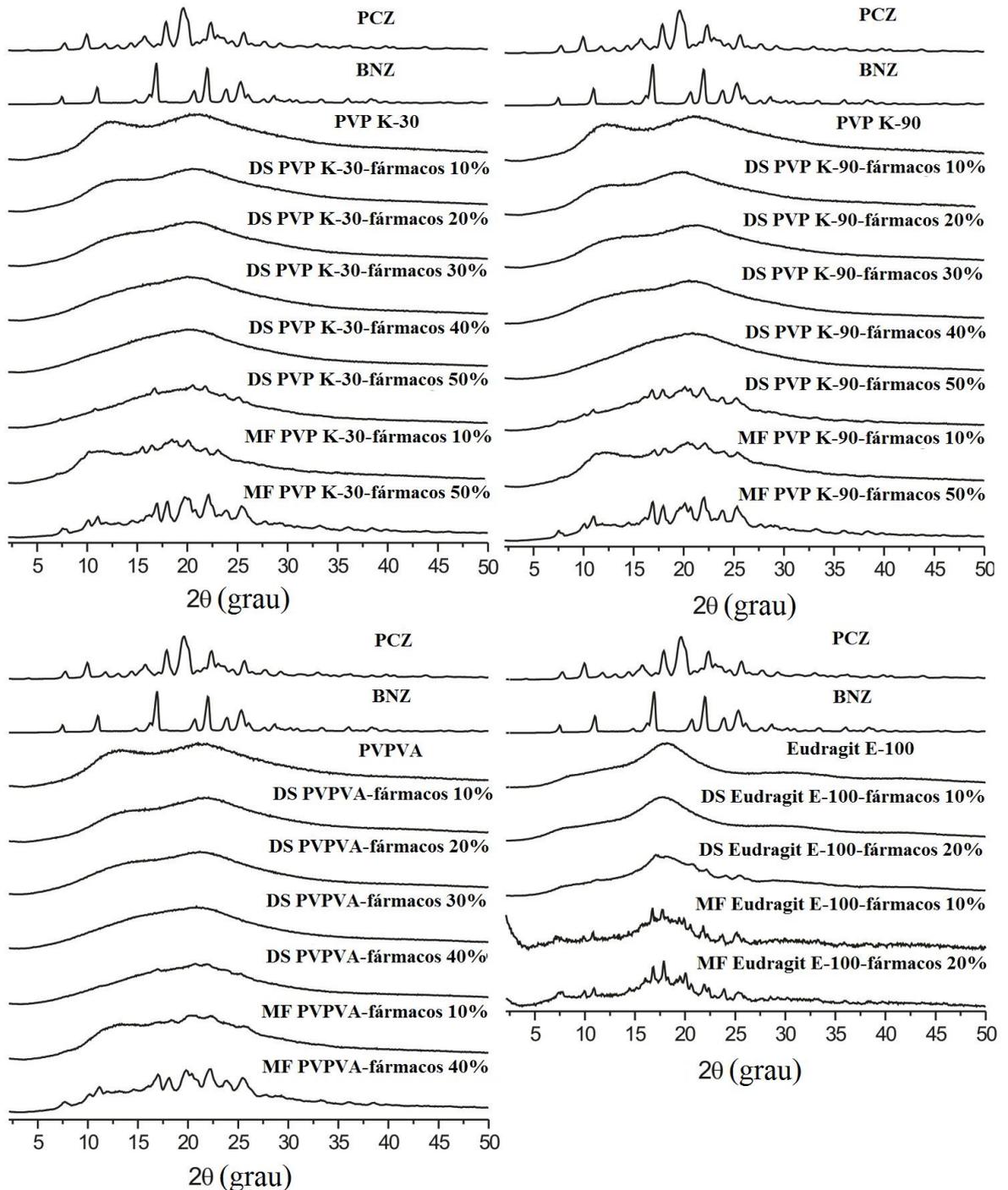
Figura 26 - Imagens de micrografias obtidas a partir do microscópio de luz polarizada dos fármacos, DSs e respectivas MFs contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 (m/m %) em vários níveis de concentração em relação aos polímeros. Ampliação de 10 X.



Fonte: Autoria própria.

A natureza cristalina dos fármacos PCZ e BNZ é também representada pela análise de DRX na Figura 27, mostrando os picos característicos sobre a faixa 2-teta com intensidade variável.

Figura 27 - Comparação dos gráficos de DRX dos fármacos, polímeros, DSs e respectivas MFs contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 (m/m %) em vários níveis de concentração em relação aos polímeros.



Fonte: Autoria própria.

Os cristais dos fármacos também puderam ser claramente visualizados nas amostras das MFs de todas as concentrações de fármacos (somente a menor e a maior concentração de fármacos encontram-se representadas) e nas correspondentes amostras de DS com maior nível de concentração de PCZ/BNZ (Figura 26). Os fármacos cristalinos na MF também foram vistos por DRX (Figura 27), que apresenta uma sobreposição do padrão de difração dos três compostos (PCZ, BNZ e polímero) e maior intensidade dos picos nas amostras com maior nível quantitativo de PCZ/BNZ.

Como apresentado nas micrografias polarizadas da Figura 26, as DS de PVP K-30-fármacos 10% a 30%, PVPVA-fármacos 10% a 30% e Eudragit[®] E100-fármacos 10% não demonstraram nenhuma birrefringência cristalina indicando a existência de um sistema miscível com PCZ e BNZ molecularmente dispersos nos carreadores poliméricos. Em contrapartida, as DSs de PVP K-30-fármacos 50%, PVP K-90-fármacos 50%, PVPVA-fármacos 40% e Eudragit[®] E100-fármacos 20% mostram a presença dos fármacos cristalinos sob a microscopia de luz polarizada (Figura 26) e nos espectros de DRX (Figura 27). Observa-se que a um nível intermediário de 40% de concentração dos fármacos em PVP K-30, há uma birrefringência muito limitada sugerindo a existência de apenas alguns cristais, enquanto a área majoritária da amostra está isenta de qualquer fármaco cristalizado (Figura 26).

É interessante notar que alguns cristais muito pequenos parecem estar dispersamente distribuídos nas amostras de DSs de PVP K-90 com fármacos entre 10% a 40%, mas não em amostras de DSs semelhantes baseadas em PVP K-30 (Figura 26). Neste caso, os resultados de DRX correspondentes da Figura 27 mostram apenas um halo amorfo para todas estas DSs, indicando que a cristalinidade nas DSs com base em PVP K-90 é muito provavelmente abaixo do limite de detecção típico de 5-10% de cristalinidade pela técnica de DRX (LEUNER, DRESSMAN, 2000).

Os resultados também revelam um característico halo amorfo sem picos cristalinos dos fármacos no difratograma de DRX para as DSs de PVP K-30 preparadas à 10%, 20%, 30% e 40% PCZ/BNZ; de PVPVA à 10%, 20% e 30% PCZ/BNZ; de Eudragit[®] E-100 à 10% de PCZ/BNZ (Figura 27). Este resultado indica a formação de DS amorfa, isto é, os compostos antichágicos PCZ e BNZ estão acima de 90% no estado amorfo na matriz polimérica (SAVJANI et al., 2012). Nesta análise, como também visualizado pela microscopia polarizada, o limite de concentração máximo dos fármacos amorfos é em torno de até 40% nas DSs com PVP K-30 e PVP K-90, em torno de 30% com PVPVA e em torno

de 10% com Eudragit[®] E-100, indicando uma maior habilidade dos polímeros neutros solúveis em água (PVP K-30, PVP K-90 e PVPVA) em formar uma possível solução sólida polimérica, mantendo assim os fármacos no estado amorfo em maior nível quantitativo, comparado ao polímero catiônico Eudragit[®] E-100.

É conhecido que o aumento na concentração do polímero em uma DS provoque um atraso na recristalização do fármaco dissolvido devido ao aumento na barreira cinética, impedindo assim a separação de fases entre o fármaco e o polímero (JANSSENS, VAN DEN MOOTER, 2009). Assim, ambas as técnicas de microscopia de luz polarizada e DRX aqui aplicadas dão limites similares de quantidade de fármacos PCZ/BCZ para manter as DS amorfas nos polímeros selecionados, apresentando a microscopia de luz polarizada maior sensibilidade na detecção do aparecimento dos primeiros cristais dos fármacos em um sistema de DS.

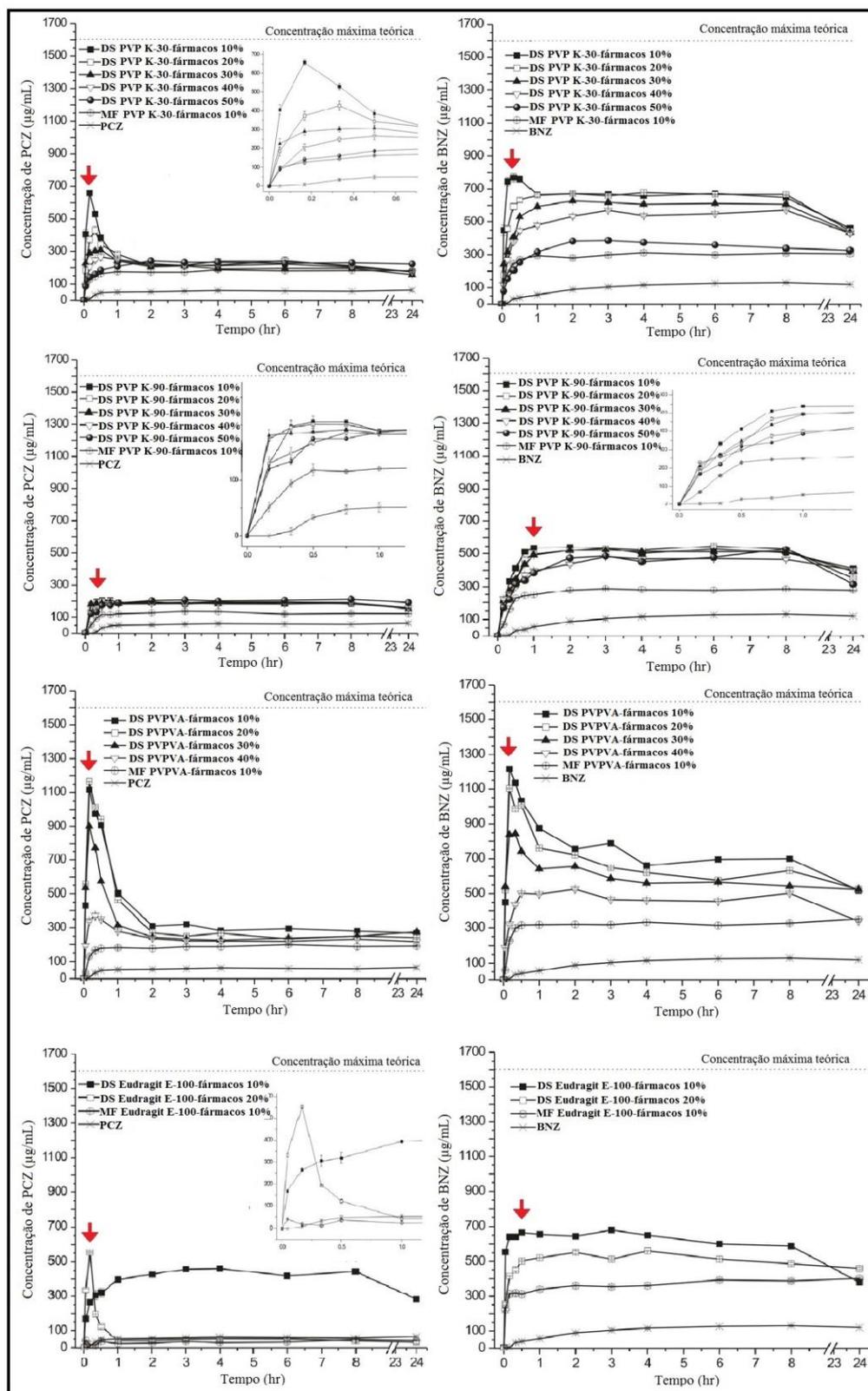
4.2.2 Ensaio de dissolução *in vitro*

Para comparar o perfil de dissolução das DSs obtidas e sabendo-se que a maioria delas está no estado amorfo, os ensaios de dissolução *in vitro* foram conduzidos em condição *non-sink*, uma vez que esta leva em consideração a capacidade de supersaturação da DS em um volume limitado do meio de dissolução, permitindo assim visualizar os eventos de supersaturação, nucleação e cristalização durante a dissolução do fármaco. Tais condições de dissolução geralmente ocorrem sob um volume finito do trato gastrointestinal (SUN et al., 2012). Adicionalmente, em uma condição *non-sink*, as taxas de dissolução e os níveis de supersaturação obtidos a partir de uma DS amorfa foram relatados como sendo mais elevados com carreadores solúveis em água (hidrofilicos) em comparação com os sistemas contendo carreadores insolúveis em água (hidrofóbicos) (SUN, LEE, 2015 a). Entretanto, o sistema com maior taxa de dissolução não irá necessariamente mostrar o melhor desempenho *in vivo*, uma vez que a rápida geração de uma solução supersaturada pode gerar uma força motriz capaz de induzir a rápida cristalização do fármaco; deste modo, a dissolução sob condição *non-sink* é essencial para permitir uma comparação racional entre os diferentes carreadores poliméricos de uma DS (AUGUSTIJNS et al., 2012; NEWMAN et al., 2012; SUN, LEE, 2015 b).

Para quantificar a concentração dos fármacos durante a dissolução *in vitro*, foi utilizado o método UV-Vis da primeira derivada com um comprimento de onda de 345 nm

para a medição de BNZ e 265 nm para PCZ. A partir de então, a quantidade de cada fármaco dissolvido no sistema foi mensurada e expressa em suas respectivas curvas de dissolução (PCZ e BNZ). Os perfis de dissolução dos fármacos individuais, DSs e MFs em diferentes níveis concentrações dos fármacos totais estão representados na Figura 28.

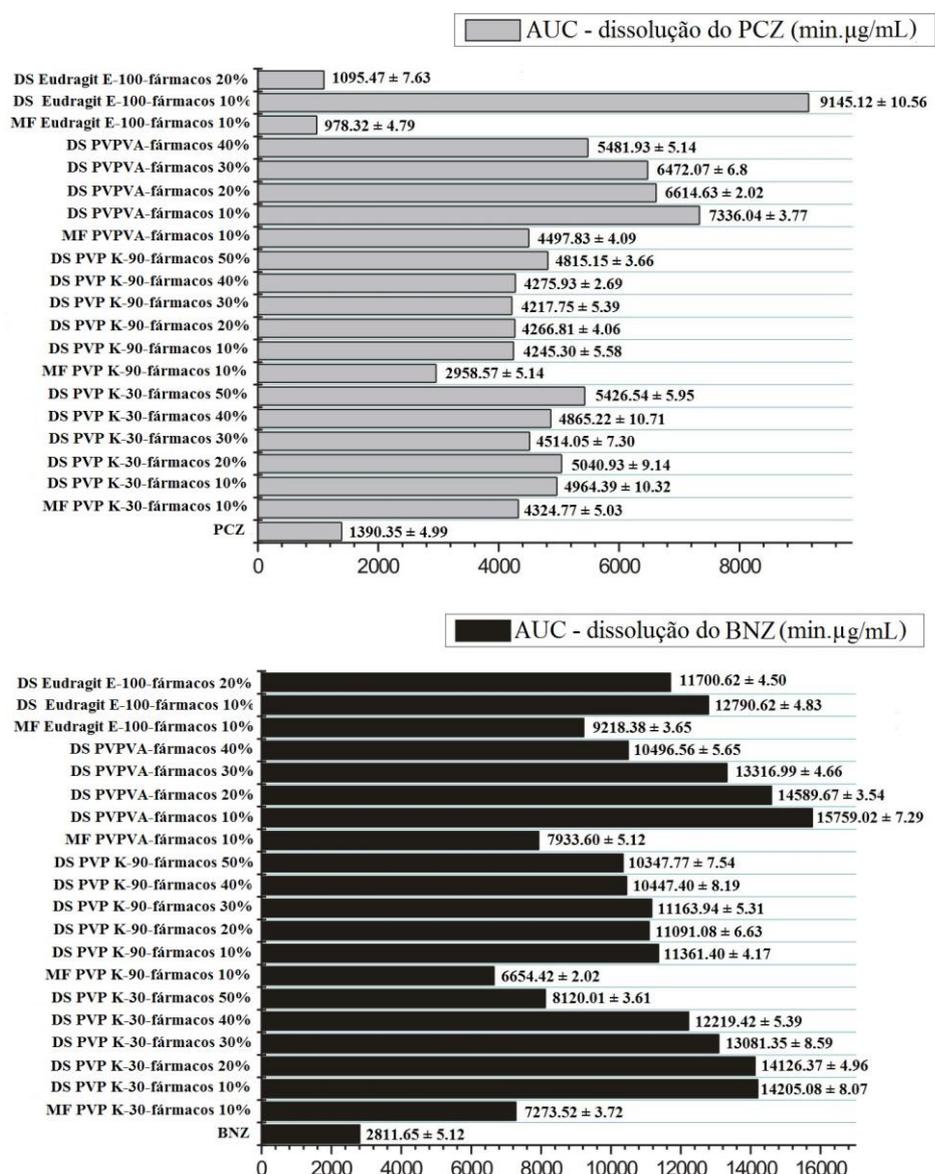
Figura 28 - Comparação do perfil de dissolução *in vitro* dos fármacos, DSs com PVP K-30, PVP K-90, PVPVA e Eudragit E-100 (de cima para baixo) contendo a combinação PCZ/BNZ 50:50 em vários níveis totais de concentração em relação aos polímeros, e suas respectivas MFs com 10% dos fármacos.



Fonte: Autoria própria.

Com base no perfil de dissolução da Figura 28, a fim de permitir uma classificação relativa ao desempenho global *in vitro* das diferentes formulações, foi calculada a AUC_{0-24h} (Figura 29). A AUC é um indicativo da manutenção supersaturação (DINUNZIO et al., 2008; MILLER et al., 2008) e tem sido utilizada como uma substituta para a biodisponibilidade (BROUWERS, BREWSTER, AUGUSTIJNS, 2009; LEE et al., 2011; HAN, LEE, 2017). Assim, quanto maior o valor da AUC, melhor o desempenho da amostra nos testes de dissolução *in vitro*.

Figura 29 - Comparação dos valores de AUC_{0-24h} e seu respectivo desvio padrão oriundos das curvas de dissolução *in vitro* dos fármacos, DSs e suas correspondentes MFs.



Fonte: Autoria própria.

Com referência ao perfil de dissolução da Figura 28 e à AUC_{0-24h} calculada da Figura 29, todas as DSs obtiveram aumento da taxa de dissolução dos fármacos e uma AUC_{0-24h} mais elevada comparada aos fármacos isolados e à respectiva MF, mesmo contendo 10% dos fármacos. Outros níveis de concentração dos fármacos totais na MF não foram avaliados uma vez que este menor nível já possui os fármacos nas suas formas cristalinas, portanto com menor dissolução em relação às DSs.

Os sistemas de DSs rapidamente dissolvem os fármacos, alcançando a supersaturação ($C_{m\acute{a}x}$) em menos de 1 h, como indicado pela seta vermelha mostrada na Figura 28. Este aumento inicial na supersaturação do fármaco é seguido pelo declínio da sua supersaturação devido à precipitação induzida pela supersaturação, a qual ocorre antes do fármaco alcançar uma concentração quase estável/platô, onde se estabelece a sua solubilidade de equilíbrio, a qual é geralmente superior a sua concentração de saturação. Dependendo do polímero utilizado, tal precipitação pode ser retardada em graus diferentes. Verifica-se também que, em geral, quanto maior o aporte de fármaco (ou menor o teor de polímero) no sistema de SD, menor é o seu desempenho no ensaio de dissolução (ou seja, menor a taxa de dissolução inicial do fármaco e menor a AUC). Em outras palavras, a DS com a menor quantidade de fármaco (isto é, 10%) exhibe o alcance mais rápido da supersaturação (Figura 28) com uma maior AUC (Figura 29). Como consequência, as amostras de SD com 20%, 30%, 40% e 50% de fármaco podem mostrar um declínio progressivo no desempenho de dissolução comparando com a SD com 10% dos fármacos. Esta correlação é verdadeira para todas as DSs obtidas considerando a mensuração do BNZ, mas não para as DSs com PVP K-30 e com PVP K-90 em termos de quantificação do PCZ. Isto provavelmente ocorreu em virtude da grande proximidade entre os perfis de dissolução alcançados após precipitação do PCZ nestas DSs, possibilitando assim que variações muito pequenas nos platôs atingidos pelo PCZ (variando em torno de 200 $\mu\text{g/mL}$) determinassem estas diferenças.

Além disso, quando o fármaco está presente em uma quantidade menor no sistema, sua dissolução é dominada pelo comportamento da dissolução do carreador (CORRIGAN, 1985). A partir deste entendimento, o processo de dissolução de PCZ e BNZ pode ser feito observando as propriedades dos polímeros participantes da DS. Assim, é razoável que as diferenças no perfil de dissolução das DSs com PVP K-30 e PVP K-90 estejam relacionadas com as diferenças de peso molecular destes polímeros. As DSs com PVP K-30 conseguiram uma supersaturação muito maior de PCZ e BNZ em comparação com as DSs de PVP K-90, portanto a viscosidade mais elevada do PVP K-90 (3.310-5.195 mPa.s para PVP K-90 *versus*

1.201-1.281 mPa.s para PVP K-30) contribuíram para a menor taxa de dissolução e para a liberação mais lenta dos fármacos nestas DSs (SHAH et al., 1995; LEUNER, DRESSMAN, 2000). De acordo com Craig (2002), para um fármaco ser liberado no meio de dissolução, este precisa primeiro ser liberado da camada de polímero e, por conseguinte, a viscosidade da camada pode ser elevada de tal modo que a difusão do fármaco será muito lenta.

Além disso, as DSs obtidas com PVP K-90 apresentam perfis de dissolução dos fármacos e valores AUC_{0-24h} muito similares em todas as proporções polímero/fármacos. A microscopia de luz polarizada (Figura 26) previamente apontou similaridades quanto a presença de pequenos cristais dos fármacos nestas amostras contendo 10% a 40% de PCZ/BNZ. Assim, a liberação lenta proporcionada pela alta viscosidade do PVP K-90 foi determinante para repercutir na menor taxa de dissolução de PCZ e BNZ, sendo este fator determinante frente ao quantitativo total dos fármacos adicionado nas DSs.

Com o Eudragit[®] E-100, a DS com 20% de fármacos apresentou um comportamento diferente em se tratando do perfil de dissolução de PCZ, o qual revelou uma supersaturação rápida do fármaco seguida da sua rápida cristalização, ao contrário da DS com 10% dos fármacos e ao contrário dos perfis de dissolução do BNZ nestas DSs. Adicionalmente, a solubilidade de equilíbrio encontrada para o PCZ em meio contendo este polímero foi muito baixa (em torno de zero). Sabendo-se que o Eudragit[®] E-100 é um copolímero catiônico à base de metacrilato de dimetilaminoetilo, metacrilato de butil e metacrilato de metil (2:1:1) (EVONIK, 2015) e que, portanto, a porção mais reativa deste polímero é a amina básica doadora de elétrons (QUINTEROS et al., 2008; ALBERS et al., 2011), há grande tendência à ocorrência de interação eletrostática entre os grupos amino protonados de Eudragit[®] E-100 e o grupo carbonil do PCZ, corroborada pelo deslocamento da banda de IV da carbonila de 1685 cm^{-1} para 1661 cm^{-1} (Apêndice A) na amostra de DS com 20% dos fármacos. Devido a esta basicidade, estudos anteriores têm igualmente demonstrado interação entre este polímero com fármacos ácidos, tais como ácido salicílico, ácido benzóico, mesalamina, diclofenaco sódico, indometacina e furosemida (QUINTEROS et al., 2008); assim como incompatibilidades entre os grupos de amônio de polímeros do grupo Eudragit[®] com a porção carboxílica de uma série de fármacos (Ex.: ibuprofeno, diflunisal, flubiprofeno e piroxicam) afetando significativamente os perfis de liberação desses fármacos (PIGNATELLO et al., 2001; PIGNATELLO et al., 2002). Desta forma, uma vez que a interação envolvendo este polímero e o PCZ afetou o perfil de liberação deste fármaco, as DSs com este copolímero não foram prosseguidas neste trabalho.

Os piores desempenhos de DSs foram obtidos para os sistemas com maior concentração dos fármacos (DS PVP K-30-fármacos 50%, DS PVP K-90-fármacos 50%, DS PVPVA-fármacos 40% e DS-Eudragit® E-100-fármacos 20%), uma vez que eles já mostraram a forma cristalina de PCZ e BNZ, tal como apresentado pela microscopia de luz polarizada (Figura 26) e DRX (Figura 27).

O melhor desempenho de uma DS é devido à maior solubilidade aquosa da forma amorfa do fármaco disperso numa matriz de polímero, o que pode gerar uma solução momentaneamente supersaturada (VAN DUONG, VAN DEN MOOTER, 2016). No entanto, os diferentes desempenhos de cada polímero, representados pelos valores de AUC_{0-24h} , resultam das diferentes capacidades para inibir a transição da forma amorfa para a forma cristalina de PCZ e BNZ no meio de dissolução. E, como demonstrado pelas DSs deste trabalho, a geração de uma supersaturação crítica dos fármacos foi seguida por uma inerente força motriz termodinâmica para a nucleação deles. A partir de 1h do teste de dissolução ou mesmo um pouco antes, a supersaturação crítica alcançada pela forma amorfa dos fármacos deu lugar à precipitação destes até alcançar a sua solubilidade de equilíbrio no meio de dissolução, a qual é mantida durante 24 hr. Durante estes eventos, normalmente vistos por polímeros solúveis em água, a água pode induzir a cristalização de um fármaco à medida que entra em contato com o mesmo, resultando no decaimento do desempenho de uma dispersão durante o ensaio de dissolução (SUN, JU, LEE, 2012). Em outras palavras, este decaimento está provavelmente relacionado com a transição da forma amorfa para as formas cristalinas dos fármacos, que é mais estável e menos solúvel, precipitando em solução (SATO, TAYLOR, 2015). Ainda assim, embora tal solubilidade cinética elevada dos fármacos possa ser o resultado da formação de um polimorfo metaestável com maior solubilidade aquosa durante a precipitação, como no caso da indometacina (SUN, LEE, 2013), é menos provável que seja o motivo presente no PCZ e BNZ pelas seguintes razões: (1) A Figura 28 mostra que, em quase todas as amostras de DS, a concentração dos fármacos na fase de supersaturação cai para o mesmo nível da amostra de MF, que é maior do que a concentração de saturação do fármaco cristalino devido ao efeito de melhoria da solubilidade do fármaco através do simples contato com o polímero dissolvido; e (2) mesmo que tenham sido produzidos polimorfismos metaestáveis, pode não haver diferenças significativas na solubilidade entre diferentes polimorfismos relatados para BNZ (HONORATO et al., 2014).

Para demonstrar a capacidade do polímero em modificar a solubilidade dos fármacos, visto a maior parte dos valores de AUC das MFs na Figura 28 obtiveram melhores resultados

em relação aos fármacos isolados, foi verificado aumento da solubilidade de equilíbrio de PCZ e BNZ no meio de dissolução contendo cada polímero. No caso do PCZ, sua solubilidade em meio contendo apenas solução tampão pH 1,6, sem polímero, é de 54,52 $\mu\text{g/mL}$ e foi alterada nos meios contendo polímeros para: 113,62 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVP K-30; 50,97 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVP K-90; 124,53 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVPVA; e 0 em Eudragit[®] E-100 (devido à interação polímero-PCZ já discutida). Para BNZ, a sua solubilidade foi menos alterada, passando de 115,89 $\mu\text{g/mL}$ em solução tampão de pH 1,6, sem polímero, para 149,67 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVP K-30; 129,55 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVP K-90; 165,91 $\mu\text{g/mL}$ em meio com PVPVA; e 145,93 $\mu\text{g/mL}$ em meio com Eudragit[®] E-100. Portanto, a tensão interfacial e a molhabilidade de PCZ e BNZ são provavelmente modificadas pelo contato do polímero hidrofílico, promovendo, em geral, o aumento da solubilidade dos fármacos.

Assim, a fim de selecionar as DSs mais promissoras de acordo com a taxa de dissolução de PCZ e BNZ em conjunto, os sistemas contendo PVPVA obtiveram os melhores resultados em comparação como sistema com PVP K-30, seguido por PVP K-90.

A copovidona PVPVA é um copolímero randomizado formado por vinilpirrolidona-acetato de vinil na proporção 6:4 (BASF, 2008), que consiste em monômeros hidrofóbicos e hidrofílicos, ambos miscíveis no carreador fundido (ALBERS et al., 2011). Este copolímero melhorou o perfil de dissolução de fármacos pouco solúveis em água em DSs de muitos estudos anteriores. Knopp et al. (2016) revelou que o monômero hidrofílico vinilpirrolidona (VP) é responsável pela geração de supersaturação do fármaco (aumento da dissolução), enquanto o monômero hidrofóbico acetato de vinil (VA) é responsável pela estabilização da solução supersaturada (inibição da cristalização) e que esta constituição teve influência significativa no perfil de dissolução e no desempenho *in vivo* do celecoxibe. A presença do grupo funcional carbonil no PVPVA, que forma ligações de hidrogênio com fármacos contendo grupos fenólicos OH, como o paracetamol, com grupos ácidos de naproxeno e celecoxibe, e com grupos alcoólicos de etofinila; e, adicionalmente, a presença de forças de van der Waals, são responsáveis pela grande miscibilidade vista entre este polímero e os fármacos (ALBERS et al., 2011). Com cetonazol, o PVPVA promoveu o efeito “spring-parachute” durante o ensaio de dissolução, sendo portanto responsável pela inicial liberação controlada deste fármaco, seguida da sua precipitação (KANNAUJIA et al., 2011).

As diferenças e contribuições monoméricas do PVPVA também são visualizadas neste trabalho, uma vez que as DSs com PVPVA atingiram as maiores AUC_{0-24h} e C_{max} do que as

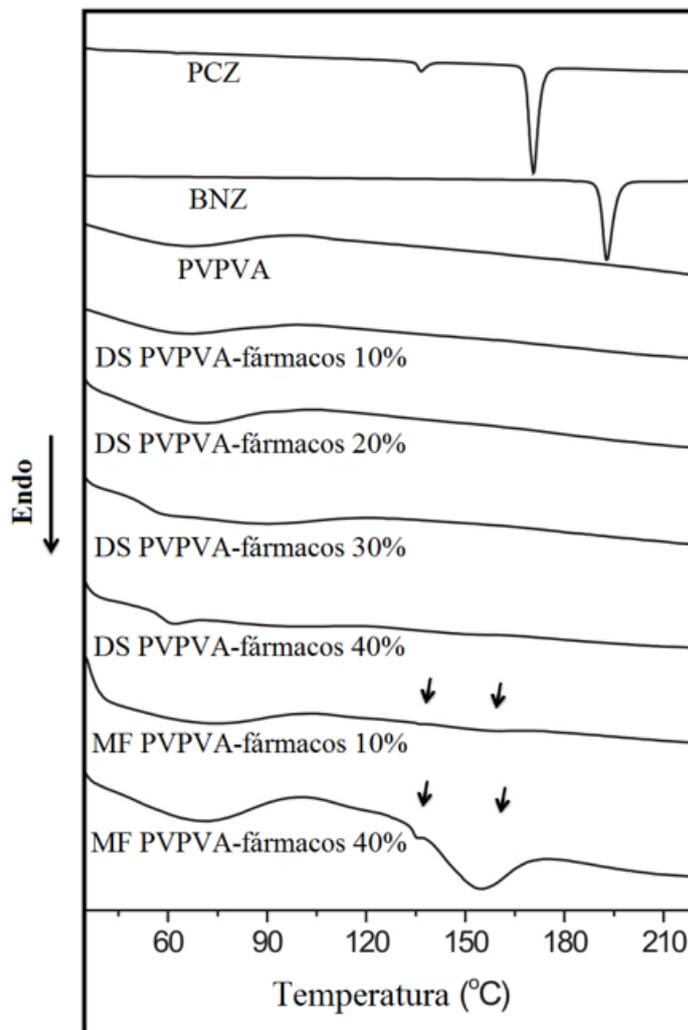
formulações contendo apenas o homopolímero PVP puro (PVP K-30 e PVP K-90). Neste caso, a inclusão do monômero de VA no copolímero de PVPVA pode aumentar o desempenho global de uma DS e diminuir a variabilidade na biodisponibilidade significativamente devido à sua capacidade para inibir a cristalização dos fármacos (KNOPP et al., 2016).

A partir destes resultados, os sistemas de dispersão com PVPVA foram os mais eficazes na promoção da supersaturação e inibição da recristalização de PCZ e BNZ, desta forma apenas estas DSs, eleitas como as de melhor performance de dissolução, foram investigadas quanto as suas características físico-químicas por DSC, IV, modelagem molecular e avaliação preliminar da estabilidade física.

4.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial

A análise por DSC foi utilizada nesse estudo para verificar a forma dos fármacos (amorfa ou cristalina) nas DSs com PVPVA, bem como para checar a miscibilidade entre esses componentes. As curvas DSC dos fármacos e do PVPVA isolados, assim como das DSs e das respectivas MFs nos seus níveis quantitativos máximo e mínimo dos fármacos utilizados nas DSs estão apresentados na Figura 30.

Figura 30 - Curvas DSC das dispersões sólidas (DSs) e das respectivas misturas-física (MFs) em função do aporte dos fármacos (PCZ e BNZ) nos sistemas. Setas indicam os eventos de fusão dos fármacos nas amostras de MF.



Fonte: Autoria própria.

Na Figura 30, o comportamento cristalino dos fármacos é verificado pelo pico característico de fusão de suas formas cristalinas: 169,81 °C para PCZ e 192,2 °C para BNZ. Tal como comentado e mostrado anteriormente, a curva DSC do PCZ também apresenta um primeiro pico de fusão endotérmico pequeno em torno de 135 °C referente a uma impureza deste fármaco. O comportamento cristalino dos fármacos também foi visto na curva DSC da MF de 40% de PCZ/BNZ (50:50) com PVPVA, exibindo um ponto de fusão menor referente à impureza do PCZ (seta a esquerda na respectiva curva DSC da Figura 30) e um ponto de fusão majoritário largo em torno de 154 °C (segunda seta da respectiva curva DSC da Figura 30) referente à fusão da fase eutética PCZ/BNZ 50:50 (m/m %). Estes dois eventos são vistos de forma muito discreta, com menor intensidade, também na curva DSC da amostra da MF

com 10% PCZ/BNZ.

A curva DSC do PVPVA exibe um evento endotérmico largo entre 37 °C e 96 °C (Figura 30) relacionado à evaporação da água residual. Este evento é comumente detectado nas análises de DSC do PVPVA, uma vez que este é um polímero bastante higroscópico (VAN DUONG, VAN DEN MOOTER, 2016). Este mesmo evento também foi encontrado nas amostras de DS e MF, sugerindo-se que a água presente no polímero é proveniente da absorção de umidade do meio ambiente e não do processo de secagem do solvente orgânico durante a preparação da DS. A Tg do PVPVA, que geralmente é apresentada em torno de 101 °C (BASF, 2008), parece então ter sido sobreposta pelo evento de evaporação da água nas curvas DSC do PVPVA e de todas as amostras de DS e MF.

Partindo desta observação, não é possível confirmar estas DSs como sistemas de solução sólida contendo somente uma fase. No entanto, estes resultados concordam com a formação de ao menos dispersão sólida amorfa (DSA) de PCZ e BNZ em PVPVA, como sugerido pelos resultados anteriores de microscopia de luz polarizada (Figura 26) e DRX (Figura 27), que confirmam o limiar de concentração dos fármacos PCZ/BNZ (50:50) de até 30%, abaixo do qual PCZ e BNZ são no mínimo amorfos em PVPVA. Assim, pode-se inferir que as formulações de PVPVA com PCZ/BNZ (50:50) entre 10% e 30% são completamente amorfas; portanto proporcionando maior solubilidade aparente e taxa de dissolução para esta combinação de fármacos com o polímero PVPVA nas amostras de DS, como evidenciado nos resultados de dissolução *in vitro* (Figura 28).

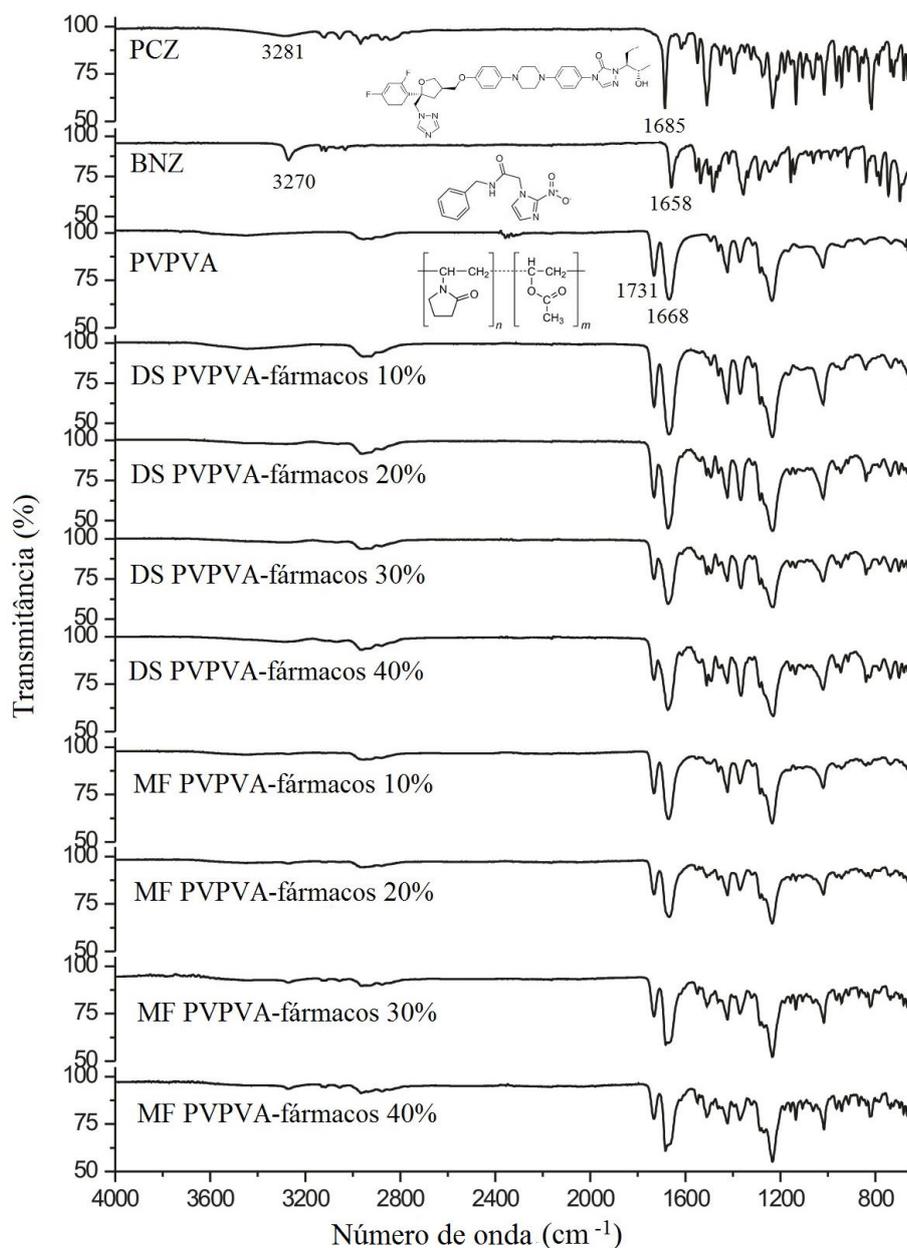
4.2.4 Espectrofotometria de Absorção na Região do Infravermelho

A espectrofotometria de absorção no IV foi utilizada para investigar as interações físico-químicas entre o polímero e os fármacos em toda a faixa de 10% a 40% nas DSs e MFs. Uma vez que as interações por meio de ligação de hidrogênio são majoritárias para estabelecer sistemas de DSs (SUN, JU, LEE, 2012), os compostos contendo doadores de hidrogênio podem interagir com polímeros contendo aceptores de hidrogênio ou vice-versa e, se estas interações diferirem em força, ocorrem mudanças na posição ou na forma das bandas no espectro de IV dos grupos funcionais envolvidos em interações específicas (KESTUR, TAYLOR, 2010). Assim, é importante verificar a existência de interações intermoleculares entre fármacos e polímeros, uma vez que estas podem afetar a taxa de dissolução do fármaco, as propriedades físicas e a estabilidade da DS (KARAVAS et al., 2007; KONNO, TAYLOR,

2006).

Os espectros de IV dos fármacos, do polímero e dos sistemas estão expostos na Figura 31. O espectro do PVPVA está de acordo com as especificações descritas pela BASF (2008), sendo as bandas a 1731, 1235 e 1020 cm^{-1} diferenciáveis em relação ao polímero PVP K-30. Esta molécula (Figura 31) tem apenas grupos aceptores de hidrogênio, incluindo o "C=O" proveniente do estiramento da amida cíclica (lactama) do monômero de PVP (em 1668 cm^{-1}) e do grupo éster oriundo do monômero de VA (em 1731 cm^{-1}), gerando uma dependência por grupos químicos dadores de hidrogênio a partir dos fármacos. A molécula de BNZ (Figura 31) tem um grupo aceptor de hidrogênio, o "C=O", que exibe estiramento em 1658 cm^{-1} (banda de amida I) e um grupo doador de hidrogênio correspondente ao "N-H" com vibração de estiramento em 3270 cm^{-1} (banda de amida II). A molécula de PCZ (Figura 31) também possui um grupo aceptor de hidrogênio, o "C=O", cujo estiramento ocorre em 1685 cm^{-1} , além de um grupo dador de hidrogênio, o "O-H", mostrando estiramento em 3281 cm^{-1} . Assim, as interações químicas envolvendo estes componentes devem incluir estes grupos químicos.

Figura 31 - Espectro de IV dos fármacos, carreador, DSs PVPVA-fármacos 10% a 40% e suas respectivas MFs.



Fonte: Autoria própria.

As bandas vibracionais relacionadas com as possíveis ligações de hidrogênio envolvendo os fármacos e polímero foram mantidas em todos os espectros de IV das DSs e MFs em todos os níveis de concentração dos fármacos, mostrando assim o envolvimento não significativo destes grupos químicos por ligação de hidrogênio. Além disso, existe predominância das bandas de PVPVA nos espectros de IV das DSs e MFs, provavelmente devido à maior quantidade de polímero presente nas amostras e à ausência de interação química.

Como a presença e a força das interações intermoleculares são verificadas pelas mudanças nos espectros de IV, pode-se inferir que não há interação molecular envolvendo os fármacos PCZ e BNZ e o polímero PVPVA, apesar da existência de grupos aceptores de hidrogênio na molécula do polímero e de grupos doadores e aceptores de hidrogênio em ambos os fármacos.

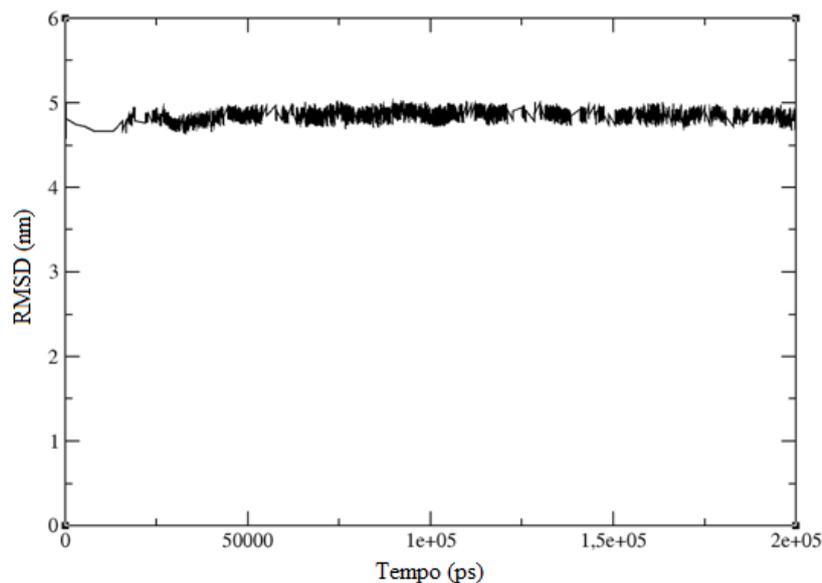
A partir deste resultado e diante da comprovada formação de DSs amorfas na faixa de 10% a 30% de PCZ/BNZ por meio das técnicas de caracterização anteriores, a ligação de hidrogênio não mostrou ser significativa para justificar a interação polímero-fármaco nestes sistemas amorfos. Assim, outros tipos de interação existentes entre os componentes deste sistema explicam a cristalização tardia dos fármacos e à elevada AUC_{0-24h} observada nos ensaios de dissolução *in vitro*.

Polímeros sem interação por ligação de hidrogênio também têm sido usados para obtenção de dispersões sólidas estáveis, nas quais as interações dispersivas (forças de Van der Waals) e polares (polar ou dipolo-induzido) podem desempenhar um papel maior na estabilidade de DSA (PAGE, MAURER, WYTTENBACH, 2016) e onde a ligação de hidrogênio é apenas um dos fatores que determina a magnitude dos parâmetros de solubilidade e estabilidade. Além disso, o PVPVA é um dos polímeros solúveis em água mais comuns para aplicações em DS, cujas estabilidades não são previsíveis e vem sendo investigadas por meio da análise dos espectros de IV, Raman, entre outros (VAN DUONG, VAN DEN MOOTER, 2016).

4.2.5 Modelagem molecular

Para elucidar as interações químicas existentes nestes sistemas de DSs com PVPVA, a análise teórica foi realizada com a dispersão contendo 10% dos fármacos na mesma proporção experimental PCZ/BNZ 50:50 m/m %. O RMSD foi calculado para estimar a estabilidade do sistema ao longo da simulação, assim o gráfico de RMSD (Figura 32) mostra que a simulação atinge um estado estável em torno dos 50.000 ps, mantendo-se em equilíbrio em torno de 4.4 nm até o final.

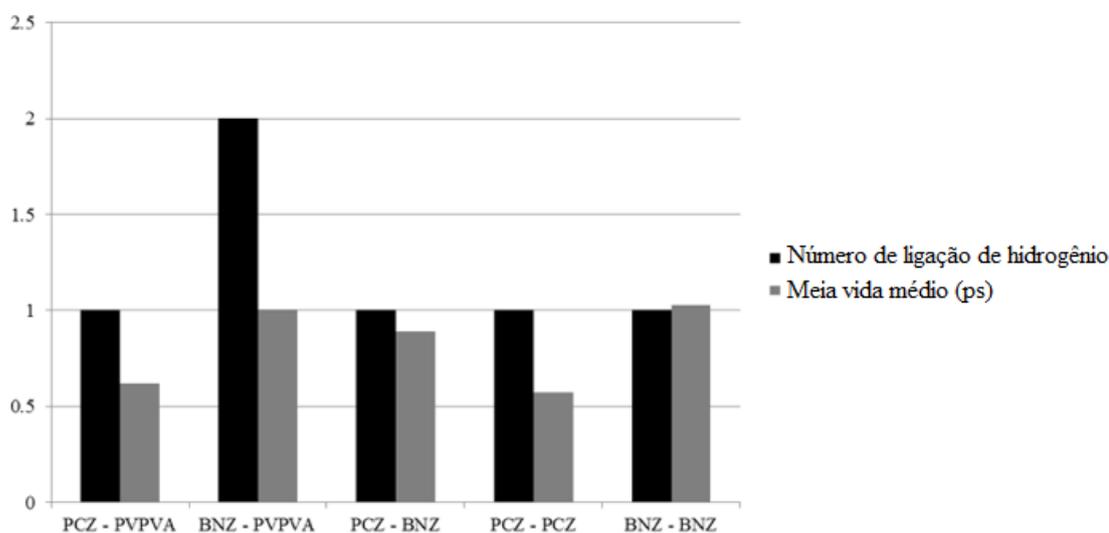
Figura 32 - Gráfico de RMSD durante 200 ns (200.000 ps) de simulação computacional do sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %).



Fonte: Autoria própria.

Como mostrado anteriormente, a análise experimental pela espectroscopia de absorção no IV não verificou a presença de ligações de hidrogênio entre o polímero e os fármacos (Figura 31) e a ausência deste tipo de ligação também pode ser verificada pela análise teórica de dinâmica molecular (Figura 33).

Figura 33 - Número e meia vida médio das ligações de hidrogênio ao longo dos 200 ns de simulação do sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %).



Fonte: Autoria própria.

Os resultados dos cálculos de ligações de hidrogênio da Figura 33 não apresentam valores significativos, visto os valores reduzidos deste parâmetro tanto em número quanto em tempo de meia vida médio (valores em torno de 1.0). Este resultado levou à investigação em torno de possíveis interações eletrostáticas presentes no sistema, computadas através dos métodos teóricos, como mostrado na Tabela 4.

Tabela 4 - Valores de energia eletrostática entre os fármacos e o polímero e entre os fármacos entre si no sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %)

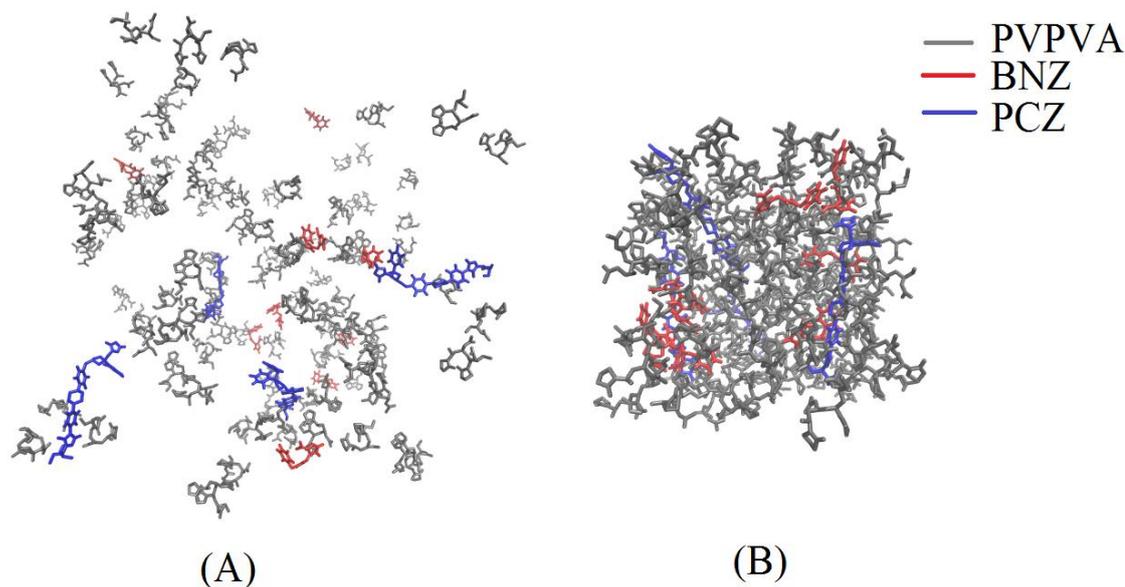
| Grupos | Energia eletrostática (Kcal.mol ⁻¹) |
|--|---|
| PCZ/BNZ- Polímero (PCZ-PVPVA + BNZ-PVPVA) | -3359.6 |
| PCZ - BNZ | -136.7 |
| PCZ - PCZ | 545.62 |
| BNZ - BNZ | -5.545 |

Fonte: Autoria própria.

Com base nos resultados da Tabela 4, a interação dos dois fármacos com o polímero é a que mais favorece o abaixamento da energia total do sistema (valores mais negativos), tendendo mais à estabilidade do sistema. Assim, o elemento principal responsável pelo abaixamento da energia de interação eletrostática do sistema é a interação eletrostática PCZ/BNZ-polímero, a qual é 25 vezes mais negativa comparada aos dois fármacos entre si e 605 vezes mais negativa que a interação do BNZ com ele mesmo (BNZ-BNZ). A interpretação desses dados portanto sugere que mesmo diante da ausência de ligações de hidrogênio no sistema, há uma maior tendência do PVPVA interagir preferencialmente com PCZ e BNZ por meio de interação eletrostática, visto também sua maior proporção em relação aos fármacos.

Além disso, os sistemas simulados foram verificados visualmente (Figura 34), notando-se assim que ao final da simulação de 200 ns os fármacos se mantiveram totalmente envolvidos pela malha polimérica.

Figura 34 - Estágio inicial (A) e final (B) da simulação com o sistema de DS PVPVA-fármacos 10%, sendo PCZ/BNZ 50:50 (m/m %).



Fonte: Autoria própria.

A ocorrência das interações eletrostáticas polímero-fármacos levantadas por esta análise teórica, bem como o estado final de envolvimento dos fármacos na malha polimérica, também se aplicam às DS de PVPVA com os demais níveis quantitativos de fármacos (20%, 30%, 40%).

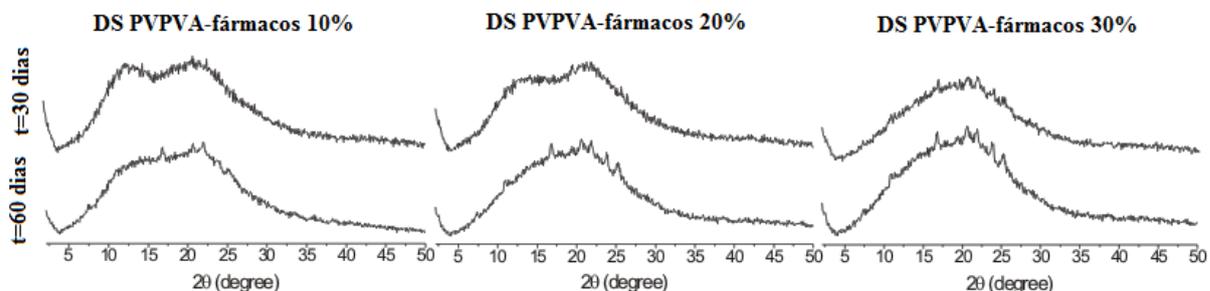
Outras experiências tem utilizado as ferramentas de predição *in silico*, como as obtidas através do software Gaussian 09, para entender características termodinâmicas tais como a Tg, tendência à cristalização, interações fármaco-polímero e estabilidade de outros sistemas de dispersões sólidas amorfas, a exemplo do ibuprofeno, naproxeno e PVP (BOGDANOVA et al., 2005); celecozibe e PVP (GUPTA, BANSAL, 2005; GUPTA et al., 2005); felodipino, PVP e PEG (KARAVAS, GEORGARAKIS, 2007); derivados imidazolidinas e PEG/polímeros de PVP (OLIVEIRA et al., 2010).

4.2.6 Estudo de estabilidade acelerado

A fim de avaliar as repercussões do polímero PVPVA na manutenção da forma amorfa dos fármacos PCZ e BNZ, as amostras totalmente amorfas das DSs com este polímero (10%, 20% e 30% dos fármacos) foram armazenadas em condições aceleradas de temperatura e umidade e sua estabilidade foi monitorada através da ocorrência de picos cristalinos dos

fármacos por DRX. Os resultados da análise por DRX são representados na Figura 35.

Figura 35 - Avaliação da estabilidade física por DRX das amostras de DS de PVPVA-PCZ/BNZ 10% a 30% (50:50 m/m %), armazenadas em condições aceleradas em 30 dias e 60 dias.



Fonte: Autoria própria.

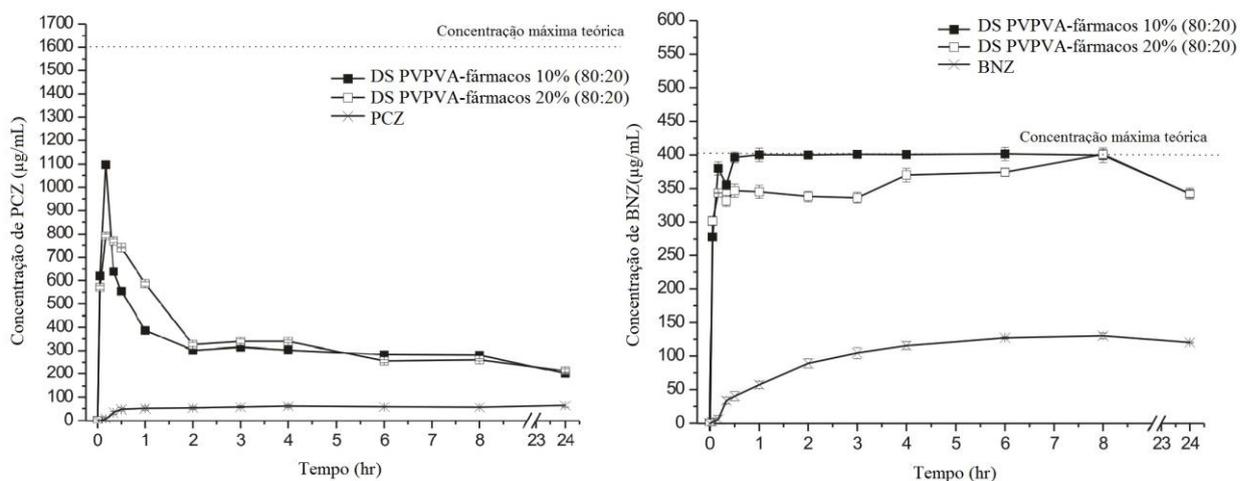
A partir dos resultados da Figura 35, é notável que tal condição de armazenamento propiciou o início da cristalização dos fármacos nas DSs, uma vez que o halo amorfo deu lugar ao aparecimento de picos cristalinos dos fármacos após 60 dias de estocagem sob ± 40 °C e $\pm 75\%$ UR. A DS com PVPVA-fármacos 30% foi mais propícia a esta tendência, iniciando a cristalização em menos tempo (30 dias). Segundo Guo, Shalaev, Smith (2013), em condições de umidade elevada, algumas DSs polimérica amorfas podem perder sua miscibilidade e formar fases amorfas separadas ricas em fármaco e ricas em polímero, seguida pela cristalização dos fármacos. Assim, a evidência de um processo de recristalização numa DS pode conduzir à redução na taxa de dissolução e, conseqüentemente, à biodisponibilidade reduzida.

No entanto, o PVPVA é um polímero farmacologicamente aceitável, utilizado como uma abordagem para superar problemas de instabilidade com fármacos amorfos e formar DS miscíveis, em oposição às misturas fase-separada de dois ou mais componentes (SERAJUDDIN, 1999). De acordo com Rask et al. (2016), o PVPVA é melhor do que a PVP em termos de estabilidade física devido a diminuição global da higroscopicidade neste polímero. Contudo, de acordo com os resultados supracitados, as condições de estresse de temperatura e umidade utilizadas neste experimento mostraram ser prejudiciais para a estabilidade da DS amorfa de PVPVA-PCZ/BNZ, tendendo a comprometer a melhoria na solubilidade dos fármacos. Assim, este resultado preliminar indica que esta condição de estabilidade deve ser considerada no âmbito do desenvolvimento de uma forma farmacêutica com esta DS.

4.2.7 Ensaio de dissolução *in vitro* da dispersão sólida de PVPVA contendo os fármacos na proporção eutética (PCZ/BNZ 80:20, m/m %)

Por fim, mediante os resultados apresentados neste trabalho, uma vez que as DSs de PVPVA com 10% e 20% dos fármacos foram as DSs mais promissoras em termos de incremento da solubilidade aparente dos fármacos, a proporção entre os fármacos PCZ e BNZ foi alterada de 50:50 (m/m %) para 80:20 (m/m %) a fim de verificar o desempenho da dissolução destas DSs utilizando a composição eutética dos fármacos (Figura 36). A razão para esta escolha leva em consideração a composição eutética 80:20 (m/m %) PCZ/BNZ encontrada e discutida anteriormente, a qual também representa a dose farmacológica na qual estes fármacos vêm sendo utilizados/estudados separadamente no tratamento da doença de Chagas.

Figura 36 - Perfil de dissolução *in vitro* dos fármacos cristalinos e das DSs PVPVA-fármacos nas concentrações 10% e 20%, sendo a proporção entre fármacos PCZ e BNZ 80:20 (m/m %), respectivamente.



Fonte: Autoria própria.

Como mostrado na Figura 36, as tendências dos eventos de supersaturação e recristalização dos fármacos foram mantidas para a DS com PVPVA na proporção PCZ/BNZ 80:20 (m/m %). Estes eventos foram confirmados considerando o perfil de dissolução do PCZ (à esquerda da Figura 36), ao contrário do perfil de dissolução de BNZ (à direita da Figura 36). A diferença verificada no comportamento na dissolução do BNZ justifica-se pela adequação da dose deste fármaco utilizada na DS. Neste caso, como a dose de BNZ foi reduzida de 16 mg para 4 mg a fim de manter a proporção 80:20 entre os fármacos na DS (sendo 16 mg de PCZ e 4 mg de BNZ), o SI do BNZ aumentou de 0,07 para 0,28, passando a

sua dissolução de uma condição *non-sink* para *sink* tomando-a, portanto, incapaz de evidenciar os eventos de supersaturação e recristalização do BNZ inicialmente amorfo no sistema.

De acordo com os perfis de dissolução da Figura 36, verificou-se também uma estreita similaridade entre as DSs de PVPVA com 10% e 20% PCZ/BNZ (80:20), visualizada também pela proximidade entre os valores de $AUC_{0-24\text{ hr}}$. [6565,42 (\pm 5,02) para DS com 10% e 6701,97 (\pm 7,57) para 20%] considerando a quantificação do PCZ.

A partir destes resultados, a supersaturação provocada pela DS com PVPVA comprovou sua eficácia na promoção da supersaturação e inibição da recristalização de PCZ e BNZ, também utilizando uma outra proporção entre os fármacos, a composição eutética. Deste modo, o presente sistema disperso apresenta-se como uma grande oportunidade para atingir a dose terapêutica ótima dos fármacos para o tratamento das fases aguda e crônica da doença de Chagas.

5 CONCLUSÃO

O presente trabalho obteve sistemas farmacêuticos dispersos na forma de mistura eutética, solução sólida amorfa e dispersões sólidas poliméricas contendo os fármacos posaconazol (PCZ) e benznidazol (BNZ), os quais demonstraram incremento significativo da solubilidade aparente e da taxa de dissolução dos fármacos, consistindo portanto de sistemas dispersos promissores enquanto candidatos à terapia anti-chagásica.

O sistema de mistura eutética fármaco-fármaco obtido foi revelado por possuir uma composição eutética próxima à dose farmacológica dos fármacos PCZ e BNZ utilizados/estudados isoladamente na terapia anti-chagásica. Além disso, este sistema provou sua autenticidade por meio da apresentação de um típico diagrama de fases característico, com estrutura cristalina semelhante aos fármacos de origem, ausência de fortes interações químicas entre eles e, principalmente, por revelar uma microestrutura cristalina lamelar alternada PCZ/BNZ, provavelmente mantida por fracas interações eletrostáticas.

A solução sólida fármaco-fármaco teve sua natureza amorfa comprovada exatamente na composição mais próxima da "composição eutética", seguida por uma inesperada mudança de coloração no pó final, a qual foi atribuída a presença majoritária de interações do tipo π -stacking, sugerida por meio da modelagem molecular.

Dentre as dispersões sólidas polímero-fármaco-fármaco avaliadas, os sistemas obtidos com o co-polímero PVPVA obtiveram as maiores taxas de dissolução e solubilidade aparente de PCZ e BNZ, cujos componentes estão comprovadamente no estado amorfo. Este resultado encontra-se pautado na importante contribuição dos monômeros hidrofóbicos e hidrofílicos do PVPVA, estando os componentes desta DS provavelmente mantidos por interação eletrostática.

Comparando-se os três sistemas dispersos contendo os anti-chagásicos PCZ e BNZ oriundos deste trabalho, a DS com PVPVA promoveu as maiores taxas de dissolução e solubilidade aparente dos fármacos, sendo este, portanto, o sistema mais próspero na promoção da solubilidade dos fármacos pouco solúveis em água.

6 PERSPECTIVAS

- Realizar ensaios de atividade tripanocida *in vivo* com todos os sistemas dispersos obtidos, a fim de avaliar a ação anti-chagásica em modelos agudos e crônicos da doença;
- Realizar estudo de farmacocinética para avaliação do perfil *in vivo* alcançado pelos sistemas dispersos.

REFERÊNCIAS

ALAM, M. A.; Ali, R.; Al-Jenoobi, F. I.; Al-Mohizea, A. M. Solid dispersions: a strategy for poorly aqueous soluble drugs and technology updates. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 9, n. 11, p. 1419-1440, 2012.

ALBERS, J.; MATTHEÉ, K.; KNOP, K.; KLEINEBUDDE, P. Evaluation of Predictive Models for Stable Solid Solution Formation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 2, p. 667-680, 2011.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P. et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutics Drug Classification: The Correlation of *In Vitro* Drug Product Dissolution and *In Vivo* Bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ANBY, M. U.; WILLIAMS, H. D.; MCINTOSH, M. et al. Lipid digestion as a trigger for supersaturation: evaluation of the impact of supersaturation stabilization on the in vitro and in vivo performance of self-emulsifying drug delivery systems. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, p. 2063–2079, 2012.

ASSAD, A. Doenças negligenciadas estão nos países pobres e em desenvolvimento. Notícias do Brasil. Disponível em: <<http://cienciaecultura.bvs.br/pdf/cic/v62n1/a03v62n1.pdf>>. Acesso em: 19 mar. 2017

ASKELAND, D. R.; FULAY, P. P. **Essentials of Materials Science and Engineering**. Cengage Learning, 2 ed., 2009.

AUGUSTIJNS, P., BREWSTER, M.E. Supersaturating drug delivery systems: fast is not necessarily good enough. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 1, p. 7–9, 2012.

BAGHEL, S.; CATHCART, H.; O'REILLY, N. J. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1-18, 2016.

BARREIRO, E. J.; RODRIGUES, C. R.; ALBUQUERQUE, M. G. et al. Modelagem molecular: uma ferramenta para o planejamento racional de fármacos em química medicinal. **Química Nova**, v. 20, n. 1, 1997.

BASF. Kollidon® Polyvinylpyrrolidone excipients for pharmaceutical industry. Pharma Ingredients & Services 67056 Ludwigshafen, Germany. 9th edition, 2008.

BECKE, A. D. Density-functional exchange-energy approximation with correct asymptotic behavior. **Physical Review A**, v. 38, n. 6, 3100 p., 1988.

BECKE, A. D. Density-functional thermochemistry. *III. The role of exact exchange*. **The Journal of Chemical Physics**, v. 98, n. 7, 5648 p., 1993.

BERENDSEN, H.J.C., VAN DER SPOEL, D., VAN DRUNEN, R. GROMACS: A message-passing parallel molecular dynamics implementation. **Computer Physics Communications**, v. 91, p. 43–56, 1995.

BI, M.; HWANG, S. J.; MORRIS, K. R. Mechanism of eutectic formation upon compaction and its effects on tablet properties. **Thermochimica Acta**, v. 404, p. 213–226, 2003.

BLAGDEN, N.; DE MATAS, M.; GAVAN, P. T. et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 617–630, 2007.

BOGDANOVA, S.; PAJEVA, I.; NIKOLOVA, P.; TSAKOVSKA, I.; MULLER, B. Interactions of poly(vinylpyrrolidone) with ibuprofen and naproxen: experimental and modeling studies. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 5, p. 806-815, 2005.

BOHN, M.; DITTMAR, W.; PEIL, H. G.; FUTTERER, E.; KRAEMER, K. **Antimycotic nail varnish**. Patent n° US 4957730 A. 18 set. 1990.

BP - British Pharmacopoeia, 2016.

BREWSTER, M. E.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 645–666, 2007.

BROBERG, B. F. J.; EVERS, H. C. A. **Local anesthetic mixture for topical application and method for obtaining local anesthesia**. Patente n° US 4529601; também publicada como: CA 1118350A, CA 1118350A 1, DE2861326D1, EP0002425A 1, EP0002425B1, US4562060. 16 jul. 1985.

BROUWERS, J., BREWSTER, M.E., AUGUSTIJNS, P. Supersaturating Drug Delivery

Systems: The Answer to Solubility-Limited Oral Bioavailability. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 8, 2009.

CHAGAS, C. Nova espécie mórbida do homem produzida por um trypanosoma (Trypanosoma cruzi). Nota prévia. **Brasil Médico**, v. 230, n. 161, p. 161, 1909.

CHERUKUVADA, S.; NANGIA, A. Eutectics as improved pharmaceutical materials: design, properties and characterization. **Chemical Communications**, v. 50, n. 906, p. 906-923, 2014.

CHERUKUVADA, S.; ROW, T. N. G. Comprehending the Formation of Eutectics and Cocrystals in Terms of Design and Their Structural Interrelationships. **Crystal Growth & Design**, vol. 14, p. 4187-4198, 2014.

CHERUKUVADA, S. On the issues of resolving a low melting combination as a definite eutectic or an elusive cocrystal: A critical evaluation. **Journal of Chemical Sciences**, v. 128, n. 4, p. 487-499, 2016.

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 60, n. 9, p. 1281-1302, 1971.

CORRIGAN, O.I. Mechanisms of dissolution of fast release solid dispersions. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 11, p. 697-724, 1985.

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

DABROS, M.; EMERY, P. R.; THALLADI, V. R. A Supramolecular Approach to Organic Alloys: Cocrystals and Three- and Four-Component Solid Solutions of 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]octane and 4-X-Phenols (X = Cl, CH₃, Br). **Angewandte Chemie International Edition in English**, v. 46, p. 4132-4135, 2007.

DAS, S. S.; SINGH, N. P.; AGRAWAL, T. et al. Studies of Solidification Behavior and Molecular Interaction in Benzoic Acid-o-Chloro Benzoic Acid Eutectic System. **Molecular Crystals and Liquid Crystals**, v. 5101, p. 107-124, 2009.

DA SILVA, F. C.; FERREIRA, S. B.; DA ROCHA, D. R. et al. Chagas Disease: Challenges in Developing New Trypanocidal Lead Compounds. **Revista Virtual de Química**, v. 4, n. 1, p. 46-72, 2012.

DAVIS, M. E.; BREWSTER, M. E. Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 3, p. 1023–1035, 2004.

DE ANDRADE, A. L. S. S.; ZICKER, F.; DE OLIVEIRA, R. M. et al. Randomised trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. **The lancet**, v. 348, p. 1407–1413, 1996.

DECIT - Departamento de Ciência e Tecnologia do Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Revista de Saúde Pública**, v. 44, n. 1, p. 200-202, 2010.

DE MEDEIROS, G. C. R. **Determinação espectrofotométrica do pKa e desenvolvimento de dispersões sólidas da nova entidade química LPSF/FZA: um promissor agente esquistossomicida**. 2013. 144 f. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Pernambuco, Recife-PE, 2013.

DENTON, M. M.; ROGERS, J. A. **Topical eutectic anesthetic composition for oral or dermal tissue**. Patent nº WO 2008073324 A1; também publicada como: US20080146672. 19 jun. 2008.

DENNINGTON, R.; KEITH, T.; MILLAM, J. **GaussView, Version 5**. Semichem Inc., Shawnee Mission, KS, 2009.

DINIZ, L. F.; URBINA, J. A.; DE ANDRADE, I. M. et al. Benznidazole and Posaconazole in Experimental Chagas Disease: Positive Interaction in Concomitant and Sequential Treatments. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, Issue 8, e2367, p. 1-8, 2013.

DINUNZIO, J.C., MILLER, D.A., YANG, W. et al. Amorphous compositions using concentration enhancing polymers for improved bioavailability of itraconazole. **Molecular Pharmaceutics**, n. 5, p. 968–980, 2008.

DNDI – Drugs Neglected Diseases initiative. New Child-Adapted Chagas Disease Treatment Approved for Registration. Disponível em: <<http://www.DNDI.org/2011/media-centre/press-releases/paedbenz/>>. Acesso em: 5 jul. 2016 a.

DNDI – Drugs for Neglected Diseases initiative. About Chagas disease - Disease background. Disponível em: <<http://www.DNDI.org/diseases-projects/chagas/chagas-disease-background/>>. Acesso em: 03 out. 2016 b.

DNDI – Drugs Neglected Diseases *initiative*. Benznidazol Pediátrico. Disponível em: <<http://www.DNDIal.org/pt/tratamentos/benznidazol-pediatico.html>>. Acesso em: 30 jan. 2017.

DUARTE, I.; TEMTEM, M.; GIL, M. et al. Overcoming poor bioavailability through amorphous solid dispersion. **Industrial. Pharmacy**, v. 30, p. 4-6, 2011.

EVONIK - Evonik Nutrition & Care GmbH. Technical informations EUDRAGIT® E 100, EUDRAGIT® E PO and EUDRAGIT®. 2015

FAEGES, M. **Stable suspensions of acetyl salicylic acid**. Patente nº: US3316150 A. 25 abr. 1967.

FANG, L. Y.; HARRIS, D.; WAN, J. **Oral pharmaceutical compositions in a solid dispersion comprising preferably posaconazole and HPMCAS**. Patente nº EP 2278957 A2; também publicado como: CA2720851A1, US2011034478 A1, WO2009129301A2, WO2009129301A3, JP2011516613 A. 02 fev. 2011.

FB – Farmacopeia Brasileira. Métodos Gerais, 5 ed., v. 1, 2010.

FDA – U. S. Food and Drug Administration. The Biopharmaceutics Classification System (BCS) Guidance. Disponível em: <<http://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CDER/ucm128219.htm>>. Acesso em: 16 ago. 2016.

FDA - U. S. Food and Drug Administration. “FDA: Guidance for Industry: Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms”, 1997, p 17.

FERRAZ, M. L. **Influência de citocinas e células do sistema imune na atividade do inibidor da biossíntese de ergosterol (posaconazol) na infecção experimental pelo Trypanosoma cruzi**. 2005. 105 p. Dissertação de Mestrado - Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte-MG, 2005.

FERRAZ, M. L.; GAZZINELLI, R. T.; ALVES, R. O. et al. The anti-*Trypanosoma cruzi* activity of posaconazole in a murine model of acute chagas' disease is less dependent on gamma interferon than that of benznidazole. **Antimicrobial agents and chemotherapy**, v. 51, n. 14, p. 1359–1364, 2007.

FIOCRUZ - Fundação Carlos Chagas. Doenças Negligenciadas. Disponível em: <<http://agencia.fiocruz.br/doen%C3%A7as-negligenciadas>>. Acesso em: 03 out. 2016 a.

FIOCRUZ – Fundação Carlos Chagas. Doença de Chagas: Fiocruz na vanguarda do estudo da enfermidade. Disponível em: <<http://agencia.fiocruz.br/doenca-de-chagas-fiocruz-na-vanguarda-do-estudo-da-enfermidade>>. Acesso em: 03 out. 2016 b.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. *Princípios Físico Químicos em Farmácia*. 2 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2011. 690 p.

FRANCO, D. W.; DA SILVA, J. S.; DA SILVA, J. J. N. **Processo de obtenção de um composto transportador de benznidazol a base de rutênio**. Patente nº PI0704577-8 A8. 12 mai. 2009.

FRISCH, M. J.; TRUCKS, G. W.; SCHLEGEL, H. B. et al. **Gaussian 09, Revision D.01.**, 2009.

FULE, R.; AMIN, P. Hot Melt Extruded Amorphous Solid Dispersion of Posaconazole with Improved Bioavailability: Investigating Drug-Polymer Miscibility with Advanced Characterisation. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-16, 2014.

GARCIA, C. V.; COSTA, G. R; MENDES, A. S. L. Stability-Indicating HPLC Method for Posaconazole Bulk Assay. **Scientia Pharmaceutica**, v. 80, p. 317–327, 2012.

GANDURI, R., CHERUKUVADA, S., ROW, T. N. G. Multicomponent Adducts of Pyridoxine: An Evaluation of the Formation of Eutectics and Molecular Salts. **Crystal Growth & Design**, v. 15, p. 3474–3480, 2015.

GERVAIS, C., Grimbergen, R. F. P., Markovits, I., Ariaans, G. J. A., Kaptein, B., Bruggink, A., Broxterman, Q. B. Prediction of solid solution formation in a family of diastereomeric salts. A molecular modeling study. **Journal of the American Chemical Society**, v. 126, p. 655-662, 2004.

GIL, A.; CHAMA YOU, A.; LEVERD, E. et al. Evolution of the interaction of a new chemical entity, eflucimibe, with gamma-cyclodextrin during kneading process. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 23, n. 2, p.123–129, 2004.

GODDEERIS, C.; WILLEMS, T.; VAN DEN MOOTER, G. Formulation of fast disintegrating tablets of ternary solid dispersions consisting of TPGS 1000 and HPMC 2910

or PVPVA 64 to improve the dissolution of the anti-HIV drug UC 781. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 34, p. 293–302, 2008.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures I. Theoretical considerations and discussion of the literature. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, p. 1145-1148, 1965.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures II. Experimental evaluation of a eutectic mixture: urea-acetaminophen system, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, p. 482-487, 1966 a.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures III. Experimental evaluation of griseofulvin-succinic acid solid solution, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, p. 487-492, 1966 b.

GOLDBERG, A. H.; GIBALDI, M.; KANIG, J. L. et al. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures IV. Chloramphenicol-urea system, **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 55, p. 581-583, 1966 c.

GOOD, D. J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. Cocrystal Eutectic Constants and Prediction of Solubility Behavior. **Crystal Growth & Design**, v. 10, n.3, p. 1028-1032, 2010.

GOUD, N. R.; SURESH, K.; SANPHUI, P. et al. Fast dissolving eutectic compositions of curcumin. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 439, p. 63-72, 2012.

GRANTSCHAROVA, E.; GUTZOW, I. Vapor-pressure, solubility and affinity of undercooled melts and glasses. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 81, p. 99–127, 1986.

GUO, Y., 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.

GUPTA, R. K.; SINGH, R. A. Thermochemical and microstructural studies on binary organic eutectics and complexes. **Journal of Crystal Growth**, v. 267, p. 340–347, 2004.

GUPTA, P.; BANSAL, A.K. Molecular interactions in celecoxib-PVP-meglumine amorphous system. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, n. 3, p. 303-310, 2005.

GUPTA, P.; THILAGAVATHI, R.; CHAKRABORTI, A. K.; BANSAL, A. K. Role of molecular interaction in stability of celecoxib-PVP amorphous systems. **Molecular Pharmaceutics**, v. 2, n. 5, p. 384-391, 2005.

GUZMÁN, H. R.; TAWA, M.; ZHANG, Z. et al. A “spring and parachute” approach to designing solid celecoxib formulations having enhanced oral absorption (Abstract). **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech T2189**, 2004.

GUZMÁN, H. R.; TAWA, M.; ZHANG, Z. et al. Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 2686-2702, 2007.

HAN, Y. R.; LEE, P. I. Effect of Extent of Supersaturation on the Evolution of Kinetic Solubility Profiles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 206–220, 2017.

HUMPHREY, W.; DALKE, A.; SCHULTEN, K. VMD: visual molecular dynamics. **Journal of molecular graphics**, v. 14, n. 1, p. 33-38, 27-28l, 1996.

International Conference on Harmonization, ICH Q1A (R2): Stability testing of news drugs substance and products. Step 5, 1996.

IVANISEVIC, I. Physical stability studies of miscible amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 99, p. 4005–4012, 2010.

JAIN, H.; KHOMANE, K. S.; BANSAL, A. K. Implication of microstructure on the mechanical behaviour of an aspirin–paracetamol eutectic mixture. **CrystEngComm**, v. 16, p. 8471–8478, 2014.

JANSSENS, S., VAN DEN MOOTER, G. Review: physical chemistry of solid dispersions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 12, p. 1571-1586, 2009.

JANSSENS, S., DENIVELLE, S., ROMBAUT, P. et al. Influence of polyethylene glycol chain length on compatibility and release characteristics of ternary solid dispersions of itraconazole in polyethylene glycol/hydroxypropylmethylcellulose 2910 E5 blends. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 35, n. 3, p. 203-210, 2008.

JANTRATID, E., MAIO, V. D., RONDA, E., MATTAVELLI, V., VERTZONI, M., DRESSMAN, J. B. Application of biorelevant dissolution tests to the prediction of in vivo performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, p. 434–441, 2009.

JENKINS, S.; LIVERSIDGE, G. **Nanoparticulate posaconazole formulations**. Patent n° WO 2007143390 A1, também publicado como: CA2653504A1, CN101495096A, EP2040675A1, EP2343053A1, US20070281011. 13 dez. 2007.

JONES, W.; MOTHERWELL, W. D.; TRASK, A. V. Pharmaceutical Cocrystals: An Emerging Approach to Physical Property Enhancement. **MRS Bulletin**, v. 31, p. 875-879, 2011.

JUNGHANNS, J. A.; MULLER, R. H. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. **International Journal of Nanomedicine**, v. 3, p. 295-309, 2008.

KANNAUJIA P, LAU G, HG W, et al. Nanoparticle formation and growth during in vitro dissolution of ketoconazole solid dispersion. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, p. 2876-2885, 2011.

KARAVAS, E., GEORGARAKIS, M.P., SIGALAS, K. et al. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug–polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, p. 334-347, 2007.

KATARIYA, V.R.; PATIL, S. B. Recent Breakthroughs in Solid Dispersion: A Review. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, v. 2, n. 4, p. 1-15, 2013.

KASIM, N. A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C. et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular Pharmaceutics**, v. 1, n. 1, p. 85-96, 2004.

KAWABATA, Y.; WADA, K.; NAKATANI, M. 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.

KHADKA, P.; RO, J.; KIM, H. et al. Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. **Asian journal of pharmaceutical sciences**, v. 9, p. 304-316, 2014.

KESTUR, US, TAYLOR, L.S. Role of polymer chemistry in influencing crystal growth rates from amorphous felodipine. **CrystEngComm**, v. 12, p. 2390-2397, 2010.

KITAIGORODSKY, A. I. **Mixed Crystals**. Springer series in solid-state-sciences. Berlin-Heidelberg-New York-Tokyo: Springer-verlag 1984.

KOLTER, K.; KARL, M.; NALAWADE, S. et al. **Hot-Melt Extrusion with BASF Pharma Polymers, Extrusion Compendium 2nd Revised and Enlarged Edition**. BASF SE Pharma Ingredients & Services, Ludwigshafen, Alemanha, 2010.

KNOPP, M.M., NGUYEN, J.H., MU, H. et al. Influence of Copolymer Composition on In Vitro and In Vivo Performance of Celecoxib-PVP/VA Amorphous Solid Dispersions. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. 2016. DOI: 10.1208/s 12248-016-9865-6

KONNO, H., TAYLOR, L. S. Influence of different polymers on the crystallization tendency of molecularly dispersed amorphous felodipine. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 95, p. 2692-2705, 2006.

KUJAWSKI, J.; POPIELARSKA, H.; MYKA, A. et al. The log P Parameter as a Molecular Descriptor in the Computer-aided Drug Design – an Overview. **Computational Methods In Science And Technology**, v. 18, n. 2, p. 81-88, 2012.

KUMAR, A.; SAHOO, S.K.; PADHEE, K. et al. Review on solubility enhancement techniques for hydrophobic drugs. **Pharmacie Globale**, v. 3, n. 3, p. 1–7, 2011.

KUMAR, N. S. S.; GUJRATI, M. D.; WILSON, J. N. Evidence of preferential π -stacking: a study of intermolecular and intramolecular charge transfer complexes. **Chemical Communications**, v. 46, p. 5464–5466, 2010.

KUNDL, J.W.; KUNDL, A.P.; KUNDL, A. H. et al. **Pharmaceutical compositions containing a crystalline form of posaconazole**. Patent n° US 8563555 B2. 22 out. 2013.

LAMAS, M. C.; VILLAGGI, L.; NOCITO, I. et al. Development of parenteral formulations and evaluation of the biological activity of the trypanocide drug Benznidazole. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 307, p. 239–243, 2006.

LAVOR, E. P.; FREIRE, F. D.; ARAGÃO, C. F. S. et al. Application of thermal analysis to

the study of anti-tuberculosis drug compatibility. Part 1. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, p. 207–212, 2011.

LAW, D.; WANG, W.; SCHMITT, E. A. et al. Properties of rapidly dissolving eutectic mixtures of poly(ethylene glycol) and fenofibrate: the eutectic microstructure. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n.3, p. 505-515, 2003.

LEE, T.W., HUI, N.A.B.H., KURTULIK, P. Oral delivery of poorly soluble compounds by supersaturated systems. **Therapeutic Delivery**, v.2, n. 6, p. 685-690, 2011.

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

LIU, N., ZEMAN, S., SHU, Y., WU, Z., WANG, B., YIN, S. Comparative study of melting points of 3,4-bis(3-nitrofurazan-4-yl)furoxan (DNTF)/1,3,3-trinitroazetidine (TNAZ) eutectic compositions using molecular dynamic simulations. **RSC Advances**, v. 6, p. 59141-59149, 2016.

LIMA, A. A. N.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; DA SILVA, J. L. et al. Development of dissolution method for benznidazole tablets. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2196-2199, 2009.

LIMA, A. A. N.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, J. L. et al. The use of solid dispersion systems in hydrophilic carriers to increase benznidazole solubility. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 6, p. 2443–2451, 2011.

LOBENBERG, R.; AMIDON, G.L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n.1, p. 3-12, 2000.

LOFTSSON, T.; DUCHÊNE, D. Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, p. 1–11, 2007.

MILLER, D.A.; DINUNZIO, J.C.; YANG, W. et al. Targeted intestinal delivery of supersaturated itraconazole for improved oral absorption. **Pharmaceutical Research**, v. 25, p. 1450-1459, 2008.

MOHAMMAD, M. A.; ALHALA WEH, A.; VELAGA, S. P. Hansen solubility parameter as

a tool to predict cocrystal formation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 407, n.1, p. 63-71, 2011.

MOLINA, J.; MARTINS-FILHO, O.; BRENER, Z. et al. Activities of the triazole derivative SCH 56592 (posaconazole) against drug-resistant strains of the protozoan parasite *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi* in immunocompetent and immunosuppressed murine hosts. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 44, p. 150-155, 2000.

MOLINA, I.; PRAT, J. G. I.; SALVADOR, F. et al. Randomized Trial of Posaconazole and Benznidazole for Chronic Chagas' Disease. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 20, 2014.

MOORE, M. D.; WILDFONG, P. L. D. J. Aqueous Solubility Enhancement Through Engineering of Binary Solid Composites: Pharmaceutical Applications. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 4, p. 36-49, 2009.

MORILLA, M. J.; PRIETO, M. J.; ROMERO, E. L. Benznidazole vs benznidazole in multilamellar liposomes: how different they interact with blood components? **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 213-219, 2005.

MOSQUEIRA, V. C. F.; OLIVEIRA, L. T. CASTANHEIRA, R. G. **Micro- and nanostructured pharmaceutical and veterinary compositions, containing benznidazole and derivatives thereof, which form micro- and nanostructures in the gastrointestinal tract, and biological uses thereof**. Patent nº WO 2015/039199; também publicado como: BR2014/000304. 26 mar. 2015.

NEWMAN, A., KNIPP, G., ZOGRAFI, G. Assessing the performance of amorphous solid dispersions. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 101, n. 4, p. 1355–1377, 2012.

NGUYEN, D.N.; VAN DEN MOOTER, G. The fate of ritonavir in the presence of darunavir. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 475, p. e214–e226, 2014.

NOYES, A.A.; WHITNEY, W.R. The rate of solution of solid substances in their own solutions. **Journal of the American Chemical Society**, v. 19, p. 930–934, 1897.

OLIVEIRA, M. A.; PETERSON, M. L.; KLEIN, D. Continuously Substituted Solid Solutions of Organic Co-Crystals. **Crystal Growth and Design**, v. 8, n. 12, p. 4487-4493, 2008.

OLIVEIRA, B.G.; LIMA, M.C.A.; PITTA, I.R.; GALDINO, S.L.; HERNANDES, M.Z. A

FIGUEIRÊDO, C. B. M. Obtenção de sistemas dispersos para tratamento da doença de Chagas. Tese de doutorado.

theoretical study of red-shifting and blue-shifting hydrogen bonds occurring between imidazolidine derivatives and PEG/PVP polymers. **Journal of molecular modeling**, v. 16, n. 1, p. 119-127, 2010.

OOSTENBRINK, C., SOARES, T.A., VAN DER VEGT, N.F. et al Validation of the 53A6 GROMOS force field. **European Biophysics Journal.**, v. 34, n. 4, p. 273-284, 2005.

OOSTENBRINK, C., VILLA, A., MARK, A.E. et al. A biomolecular force field based on the free enthalpy of hydration and solvation: the GROMOS force-field parameter sets 53A5 and 53A6. **Journal of Computational Chemistry**, v. 25, n.13, p. 1656-1676, 2004.

OWEN, T. **Fundamentals of UV-visible spectroscopy, A Primer**. Hewlett-Packard Company, Nº publicação 12-5965-5123E, Alemanha, 1996.

PAGE, S., MAURER, R., WYTTENBACH, N. Structure development approach for amorphous systems, in: Williams III, R.O., Watts, A.B., Miller, D.A. (Eds.), **Formulating Poorly Water Soluble Drugs. Press Room - American Association of Pharmaceutical Scientists**, p. 329-382, 2016.

PIGNATELLO, R., FERRO, M., GUIDI, G.D. et al. Preparation, characterization and photosensitivity studies of solid dispersions of diflunisal and Eudragit RS100 and RL100. **Int. International Journal of Pharmaceutics**, v. 218, n. 1-2, p. 27-42, 2001.

PIGNATELLO, R, FERRO, M., PUGLISI, G. Preparation of solid dispersions of nonsteroidal anti-inflammatory drugs with acrylic polymers and studies on mechanisms of drug-polymer interactions. **AAPS PharmSciTech**, v. 3, n. 2, p. 1-11, 2002.

PINAZO, M. J.; ESPINOSA, G.; GÁLLEGO, M. et al. Case Report: Successful Treatment with Posaconazole of a Patient with Chronic Chagas Disease and Systemic Lupus Erythematosus. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, vol. 82, n. 4, p. 583-587, 2010.

PRASAD, K. D.; CHERUKUVADA, S.; STEPHEN, L. D. et al. Effect of inductive effect on the formation of cocrystals and eutectics. **CrystEngComm**, v. 16, p. 9930-9938, 2014.

PUBCHEM. Benznidazole. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/benznidazole>>. Acesso em: 04 out. 2016 a.

PUBCHEM. Posaconazole. Disponível em:
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/468595>>. Acesso em: 04 out. 2016 b.

QUINTEROS, D.A., RIGO, V.R., KAIRUZ, A.F.J. et al. Interaction between a cationic polymethacrylate (Eudragit E100) and anionic drugs. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 33, p. 72-79, 2008.

RASK, M.B., KNOPP, M.M., OLESEN, N.E. et al. Influence of PVP/VA copolymer composition on drug-polymer solubility. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 31, n. 85, p. 10-17, 2016.

REDDY, L. S.; BHATT, P. M.; BANERJEE, R. et al. Variable-Temperature Powder X-ray Diffraction of Aromatic Carboxylic Acid and Carboxamide Cocrystals. **Chemistry an Asian Journal**, v. 2, p. 505-513, 2007.

ROLIM, L. A. **Estudo da degradação do fármaco benznidazol utilizado no combate a doença de chagas por hidrólise, oxidação, fotólise e termodegradação**. 2010. 134 p. Dissertação de mestrado - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010.

RUMONDOR, A.C.F., MARSAC, P.J., STANFORD, L.A. et al. Phase behavior of poly(vinylpyrrolidone) containing amorphous solid dispersions in the presence of moisture. **Molecular Pharmaceutics**, v. 6, p. 1492–1505, 2009.

SAAKOV, V. S., DRAPKIN, V. Z.; KRIVCHENKO, A. I. et al. **Chapter 2: Basis of derivative spectrophotometry**, XVI, 360 p., Hardcover. ISBN 978-3-7091-1006-5, 2013.

SANGEKAR, S. A.; LEE, P. I.; VADINO, W. A. et al. **Solid solution of an antifungal agent with enhanced bioavailability**. Patente nº US005972381A. 26 out. 1999.

SATO, T., TAYLOR, L.S. Chiral discrimination by a cellulose polymer: differential crystallization inhibition of enantiomers in amorphous dispersions. **CrystEngComm**, v. 17, n. 27, p. 5046-5053, 2015.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **International Scholarly Research Notices: Pharmaceutics**, v. 2012, 2012.

SCHÜTTELKOPF, A. W.; VAN AALTEN, D. M. PRODRG: a tool for high-throughput
FIGUEIRÊDO, C. B. M. Obtenção de sistemas dispersos para tratamento da doença de Chagas. Tese de doutorado.

crystallography of protein-ligand complexes. **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 60, p. 1355–13563, 2004.

SEATON, C. C.; PARKIN, A. Making Benzamide Cocystals with Benzoic Acids: The Influence of Chemical Structure. **Crystal Growth & Design**, v. 11, n. 5, p. 1502-1511, 2011.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixtures I. A comparison of the behavior of eutectic mixtures of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 9, n. 11, p. 866-872, 1961.

SERAJUDDIN, A.T. Solid dispersion of poorly water soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 88, n. 10, p. 1058–1066, 1999.

SHAH, J.C., CHEN, J.R., CHOW, D. Preformulation study of etoposide: II. Increased solubility and dissolution rate by solid–solid dispersions. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 113, p. 103-111, 1995.

SHARPE, S.; SEQUEIRA, J.; HARRIS, D. et al. **Antifungal composition with enhanced bioavailability**. Patent n° US 8263600 B2, também publicado como: WO2002080678A1, CA2443089A1, CA2443089C, CN1499930A, CN100415234C, EP1372394A1, EP2090165A2, EP2090165A3, US20030055067, US20110244004, JP2008120836 A. 11 set. 2012.

SILVA, J. J. N.; PAVANELLI, W. R. ; GUTIERREZ, F. R. S. et al. Complexation of the anti-Trypanosoma cruzi Drug Benznidazole Improves Solubility and Efficacy. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 51, p. 4104–4114, 2008.

SINGH, N. B.; DAS, S. S; SINGH, N. P. et al. Computer simulation, thermodynamic and microstructural studies of benzamide–benzoic acid eutectic system. **Journal of Crystal Growth**, v. 310, p. 2878-2884, 2008.

SMITH, W. F.; HASHEMI, J. **Foundations of Materials Science and Engineering**. 4 ed. New York: McGraw-Hill, 2006.

SIX, K.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.; VAN DEN MOOTER, G. Increased Physical Stability and Improved Dissolution Properties of Itraconazole, a Class II Drug, by Solid Dispersions that Combine Fast- and Slow-Dissolving Polymers. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 1, 2004.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; LABANDEIRA, J. T. et al. **Processo para obtenção de complexos de inclusão de benznidazol com derivados de ciclodextrinas**. Patenten° PI0903451-0 A2. 27 mai. 2011.

SOSA-ESTANI, S.; VIOTTI, R.; SEGURA, E. L. Therapy, diagnosis and prognosis of chronic Chagas disease: insight gained in Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.104 (Suppl. I), p. 167-180, 2009.

STEVERDING, D. The history of Chagas disease. **Parasites & Vectors**, v. 7, n. 317, p. 1-8, 2014.

STOTT, P. W.; WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Transdermal delivery from eutectic systems: enhanced permeation of a model drug, ibuprofen. **Journal of Controlled Release**, v. 50, n.1-3, p. 297-308, 1998.

SUN, J.; WANG, F.; SUI, Y. et al. Effect of particle size on solubility, dissolution rate, and oral bioavailability: evaluation using coenzyme Q(10) as naked nanocrystals. **International Journal of Nanomedicine**, v. 7, p. 5733-5744, 2012.

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.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Evolution of Supersaturation of Amorphous Pharmaceuticals: The Effect of Rate of Supersaturation Generation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, p. 4330–4346, 2013.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Crosslinked hydrogels—a promising class of insoluble solid molecular dispersion carriers for enhancing the delivery of poorly soluble drugs. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 4, n. 1, p. 26-36, 2014.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Probing the mechanisms of drug release from amorphous solid dispersions in medium-soluble and medium-insoluble carriers. **Journal of Controlled Release**, v. 211, p. 85–93, 2015 a.

SUN, D. D.; LEE, P.I. Haste makes waste: The interplay between dissolution and precipitation of supersaturating formulations. **American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**, v. 17, n. 6, p. 1317-1326, 2015 b.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, A. A method for preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water-soluble polymers: dispersion of β -carotene by polyvinylpyrrolidone. **Colloid and Polymer Science**, v. 203, n. 2, p. 130–133, 1965.

TIWARI, R.; TIWARI, G.; SRIVASTAVA, B.; RAI, A. K. 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.

URBINA, J. A. Chemotherapy of Chagas disease. **Current Pharmaceutical Design**, v. 9, p. 287-295, 2002.

URBINA, J. A.; PAYARES, G.; CONTRERAS, L. M. et al. Antiproliferative effects and mechanism of action of SCH 56592 against *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*: *in vitro* and *in vivo* studies. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 42, p. 1771-1777, 1998.

USP–NF – United States Pharmacopeia e Formulário Nacional (NF), USP 38-NF 34, 2016.

VAN SPEYBROECK, M.; MELLAERTS, R.; MOLS, R. et al. Enhanced absorption of the poorly soluble drug fenofibrate by tuning its release rate from ordered mesoporous silica. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 5, p. 623–630, 2010.

VASCONCELOS, T.; SARMENTO, B.; COSTA, P. Solid dispersions as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discovery Today**, v. 12, n. 23/24, p.1068-1075, 2007.

VAN DUONG, T.; VANDEN MOOTER, G. The role of the carrier in the formulation of pharmaceutical solid dispersions. Part II: amorphous carriers. **Expert Opinion on Drug Delivery**, v. 13, n. 12, p. 1681-1694, 2016. DOI: 10.1080/17425247.2016.1198769.

VO, C. L. N.; PARK, C.; LEE, B. J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, p. 799–813, 2013.

WARREN, D. B.; BENAMEUR, H.; PORTER, C. J. H. et al. Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: a mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, v.18, p. 704–731, 2010.

WERNECK, G. L.; HASSELMANN, M. H.; GOUVÊA, T. G. Panorama dos estudos sobre

nutrição e doenças negligenciadas no Brasil. **Revista Ciência & Saúde Coletiva**, v. 16, n 2. p. 39-62, 2010.

WHO - World Health Organization. Chagas disease (American trypanosomiasis). Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>. Acesso em: 03 out. 2016.

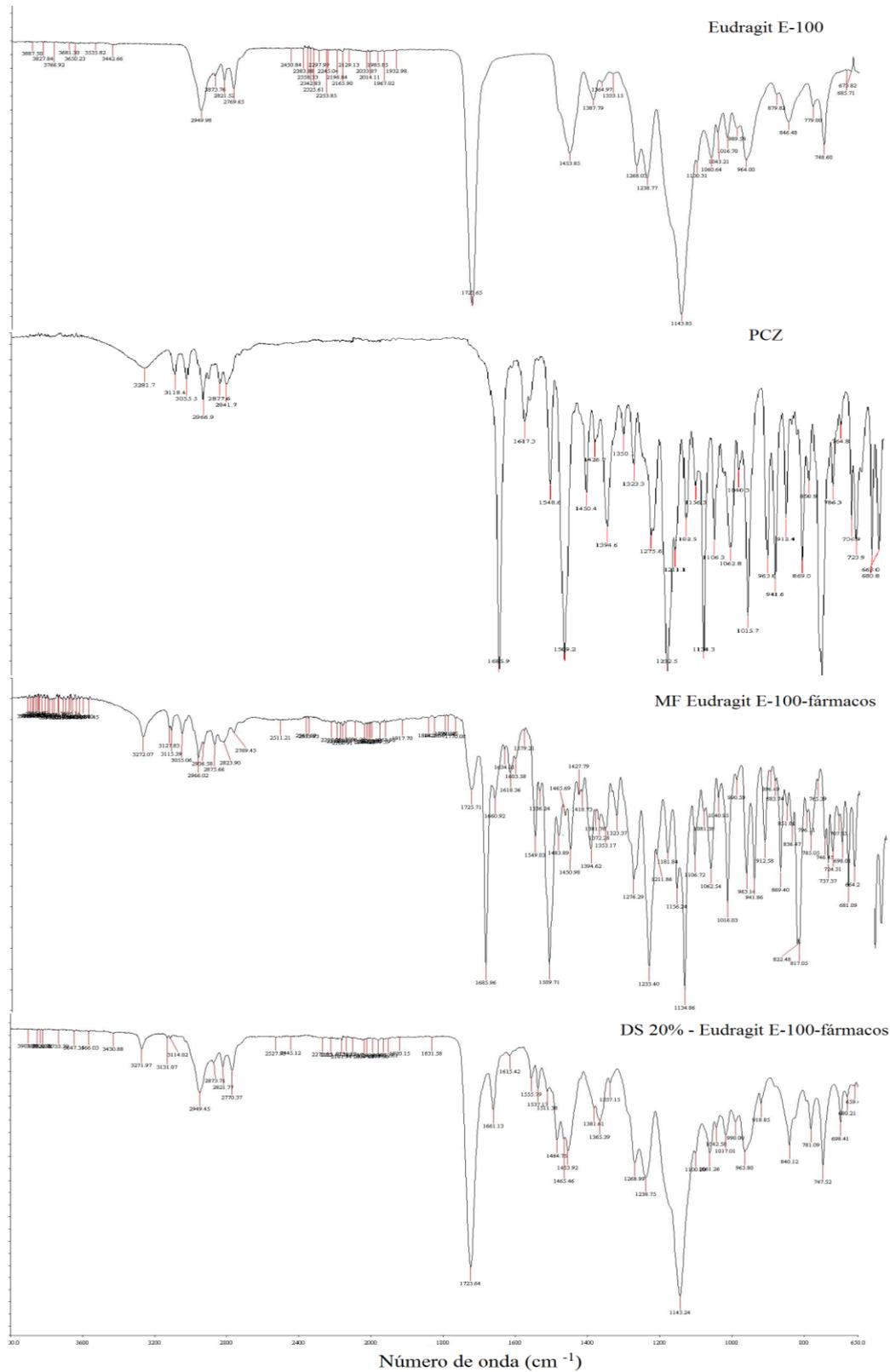
WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A. et al. **Strategies to Address Low Drug Solubility in Discovery and Development**. Livro online disponível em: <<http://pharmrev.aspetjournals.org/>. *Pharmacological Reviews*, v. 65, p. 315–499, 2013>. Acesso em: 18 Agosto 2016.

WITCHEY-LAKSHMANAN, L.; UGWU, S.; SANDWEISS, V. et al. **Particulate-stabilized injectable pharmaceutical compositions of posaconazole**. Patente n° WO 2006130177 A1, também publicada como: US20060009469. 7 dez. 2006.

YAMAMOTO, N.; TAGA, T.; MACHIDA, K. Structure of mixed crystals of benzoic acid and p-fluorobenzoic acid, and their energy evaluation by empirical potential functions. **Acta Crystallographica Section B: Structural Science, crystal engineering and materials**, v. 45, p. 162-167, 1989.

ZINGALES, B.; MILES, M. A.; CAMPBELL, D. A. et al. The revised *Trypanosoma cruzi* subspecies nomenclature: rationale, epidemiological relevance and research applications. **Infection, Genetics and Evolution**, v.12, p. 240–253, 2012.

APÊNDICE A – ANÁLISE DE IV DA DS E MF CONTENDO EUDRAGIT E-100 COM 20 % PCZ-BNZ (50:50, m/m %)



APÊNDICE B – DEPÓSITO DO PEDIDO DE PATENTE NO INPI – TÍTULO DA INVENÇÃO: COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS DE POSACONAZOL E BENZNIDAZOL COM INCREMENTO DA DISSOLUÇÃO



Pedido nacional de Invenção, Modelo de Utilidade, Certificado de Adição de Invenção e entrada na fase nacional do PCT

Número do Processo: BR 10 2016 023800 5

Dados do Depositante (71)

Depositante 1 de 1

Nome ou Razão Social: Universidade Federal de Pernambuco

Tipo de Pessoa: Pessoa Jurídica

CPF/CNPJ: 24134488000108

Nacionalidade: Brasileira

Endereço: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária

Cidade: Recife

Estado: PE

CEP: 50670-901

País: Brasil

Telefone: (81)2126 8959

Fax: (81)2126 8959

Email: patentes_dine.propesq@ufpe.br

**PETICIONAMENTO
ELETRÔNICO**

Esta solicitação foi enviada pelo sistema Peticionamento Eletrônico em 13/10/2016 às 12:24, Petição 870160059332

APÊNDICE C – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO “ENHANCEMENT OF DISSOLUTION RATE THROUGH EUTECTIC MIXTURE AND SOLID SOLUTION OF POSACONAZOLE AND BENZNIDAZOLE” NA INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS

International Journal of Pharmaceutics 525 (2017) 32–42



Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ijpharm



Research paper

Enhancement of dissolution rate through eutectic mixture and solid solution of posaconazole and benznidazole



Camila Bezerra Melo Figueirêdo^a, Daniela Nadvorný^b,
Amanda Carla Quintas de Medeiros Vieira^a, José Lamartine Soares Sobrinho^b,
Pedro José Rolim Neto^b, Ping I. Lee^c, Monica Felts de La Roca Soares^{b,*}

^a CAPES Scholarship Holder, PVE Program, CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasília, DF 70040-020, Brazil

^b Department of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Arthur de Sá, SN, Cidade Universitária, Recife, PE 50740-52, Brazil

^c Department of Pharmaceutical Sciences, Leslie Dan Faculty of Pharmacy, University of Toronto, 144 College Street, Toronto, Ontario M5S 3M2, Canada

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 November 2016
Received in revised form 6 April 2017
Accepted 8 April 2017
Available online 12 April 2017

Chemical compounds:

Posaconazole (PubChem CID: 468595)
Benznidazole (PubChem CID: 31593)
Ethyl alcohol (PubChem CID: 702)
Acetonitrile (PubChem CID: 6342)

Keywords:

Trypanosoma cruzi
Chagas disease
Eutectic system
Amorphous solid solution
Apparent solubility

ABSTRACT

Benznidazole (BNZ), the only commercialized antichagasic drug, and the antifungal compound posaconazole (PCZ) have shown synergistic action in the therapy of Chagas disease, however both active pharmaceutical ingredients (APIs) exhibit low aqueous solubility potentially limiting their bioavailability and therapeutic efficacy. In this paper, we report for the first time the formation of a eutectic mixture as well as an amorphous solid solution of PCZ and BNZ (at the same characteristic ratio of 80:20 wt%), which provided enhanced solubility and dissolution rate for both APIs. This eutectic system was characterized by DSC and the melting points obtained were used for the construction of a phase diagram. The preservation of the characteristic PXRD patterns and the IR spectra of the parent APIs, and the visualization of a characteristic eutectic lamellar crystalline microstructure using Confocal Raman Microscopy confirm this system as a true eutectic mixture. The PXRD result also confirms the amorphous nature of the prepared solid solution. Theoretical chemical analyses indicate the predominance of π -stacking interactions in the amorphous solid solution, whereas an electrostatic interaction between the APIs is responsible for maintaining the alternating lamellar crystalline microstructure in the eutectic mixture. Both the eutectic mixture and the amorphous solid solution happen to have a characteristic PCZ to BNZ ratio similar to that of their pharmacological doses for treating Chagas disease, thus providing a unique therapeutic combination dose with enhanced apparent solubility and dissolution rate.

© 2017 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Chagas disease or American trypanosomiasis is a zoonotic infectious disease caused by the protozoan flagellate *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1909). The current therapy for Chagas disease relies on the active pharmaceutical ingredient (API) with antiprotozoal activity benznidazole (BNZ) (DNDi, 2016).

During the acute phase of the disease, BNZ can promote healing in approximately 100% of children and 60% of adults (De Andrade et al., 1996). However, in the chronic phase, when irreversible damages to the heart, esophagus and colon have occurred, there is no satisfactory treatment (Sosa-Estani et al., 2009). Typically, the

treatment period is over, 30–60 days in the acute phase and more than 5 months in the chronic phase. The long duration of treatment and the serious side effects associated with the use of BNZ have reduced patient compliance and caused temporary discontinuation in many cases.

BNZ is a poorly soluble API (solubility in water: 0.4 mg/mL) (Kasim et al., 2004), available only in a tablet dosage form of 100 mg for adults and 12.5 mg for children and newborn (DNDi, 2017), which has low and variable oral bioavailability (Mosqueira et al., 2015). Thus, it is observed that the activity of this API is limited by its low solubility in water and the use of a suitable pharmaceutical system to enhance the apparent solubility and dissolution rate of the API would be highly desirable. The increased bioavailability of this molecule should allow the API to achieve optimal concentrations at therapeutic targets with greater exposure in the affected tissue, thereby also decreasing the

* Corresponding author.

E-mail address: mfslr@ufpe@gmail.com (M.F. de La Roca Soares).

APÊNDICE D – PUBLICAÇÃO DO ARTIGO “ENHANCED DELIVERY OF FIXED-DOSE COMBINATION OF SYNERGISTIC ANTICHAGASIC AGENTS POSACONAZOLE-BENZNIDAZOLE BASED ON AMORPHOUS SOLID DISPERSIONS” NA EUROPEAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES

European Journal of Pharmaceutical Sciences 119 (2018) 208–216



Contents lists available at ScienceDirect

European Journal of Pharmaceutical Sciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ejps



Enhanced delivery of fixed-dose combination of synergistic antichagasic agents posaconazole-benznidazole based on amorphous solid dispersions

Camila Bezerra Melo Figueirêdo^a, Daniela Nadvorný^b,
Amanda Carla Quintas de Medeiros Vieira^b, Giovanna Christinne Rocha de Medeiros Schver^c,
José Lamartine Soares Sobrinho^b, Pedro José Rolim Neto^b, Ping I. Lee^c,
Monica Felts de La Roca Soares^{b,*}

^a CAPES scholarship holder, PVE Program, CAPES Foundation, Ministry of Education of Brazil, Brasília, DF 70040-020, Brazil

^b Department of Pharmaceutical Sciences, Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Professor Arthur de Sá, SN – Cidade Universitária, Recife, PE 50740-52, Brazil

^c Department of Pharmaceutical Sciences, Leslie Dan Faculty of Pharmacy, University of Toronto, 144 College Street, Toronto, Ontario M5S 3M2, Canada

ARTICLE INFO

Keywords:

Trypanosoma cruzi
Chagas disease
Amorphous solid dispersion
Apparent solubility
Dissolution rate
Fixed-dose combination

Chemical compounds:

Posaconazole (PubChem CID: 468595)
Benznidazole (PubChem CID: 31593)
Vinylpyrrolidone - vinyl acetate copolymer - PVPVA (PubChem CID: 270882)
Polyvinylpyrrolidone - PVP (PubChem CID: 6917)

ABSTRACT

Posaconazole (PCZ) and benznidazole (BNZ) are known to show synergistic effect in treating the acute and chronic phases of Chagas disease, a neglected parasitic disease. However, as both compounds are poorly water soluble, the development of amorphous solid dispersions (ASDs) of a PCZ/BNZ fixed-dose combination in a water-soluble polymer becomes an attractive option to increase their apparent solubility and dissolution rate, potentially improving their oral bioavailability. The initial approach was to explore solvent evaporated solid dispersion (SD) systems for a PCZ/BNZ 50:50 (wt%) combination at several total drug loading levels (from SD with 10% to 50% drug loading) in water-soluble carriers, including polyvinylpyrrolidone (PVP K-30) and vinylpyrrolidone-vinyl acetate copolymer (PVPVA 64). Based on comparison of non-sink *in vitro* dissolution performance, ASD systems based on PVPVA was identified as the most effective carrier for a 50:50 (w/w %) fixed-dose combination of PCZ/BNZ to increase their apparent solubility and dissolution rate, mainly at 10% drug loading, which shows more expressive values of area under the curve (AUC) (7336.04 ± 3.77 min.µL/mL for PCZ and 15,795.02 ± 7.29 min.µL/mL for BNZ). Further characterization with polarized microscopy, powder X-ray diffraction, and thermal analysis reveals that there exists a threshold drug loading level at about 30% PCZ/BNZ, below which ASDs are obtained and above which a certain degree of crystallinity tends to result. Moreover, infrared spectroscopic analysis reveals the lack of hydrogen bonding interactions between the drugs (PCZ and BNZ) and the polymer (PVPVA) in the ASD, this is also confirmed through molecular dynamics simulations. The molecular modeling results further show that even in the absence of meaningful hydrogen bonding interactions, there is a greater tendency for PVPVA to interact preferentially with PCZ and BNZ through electrostatic interactions thereby contributing to the stability of the system. Thus, the present SD system has the advantage of presenting a fixed-dose combination of two synergistic antichagasic agents PCZ and BNZ together in amorphous form stabilized in the PVPVA matrix with enhanced dissolution, potentially improving their bioavailability and therapeutic activity in treating Chagas disease.

1. Introduction

Chagas disease or American trypanosomiasis is a neglected disease, which is caused by the parasite *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) affecting about 6 to 7 million people worldwide mostly in Latin America. The current therapy for the Chagas disease has been relying on the anti-protozoal drug benznidazole (BNZ), the only commercially available medicine supplied by the Pernambuco State Pharmaceutical Laboratory (LAFEPE) of Brazil (DNDI, 2016). This drug is effective only during the

acute phase of the disease (De Andrade et al., 1996), but its serious side effects have reduced patient compliance to treatment and caused temporary discontinuation of treatment in many cases (Da Silva et al., 2012). In addition, BNZ is poorly water-soluble drug with an aqueous solubility of 0.4 mg/mL (Kasim et al., 2004) and a variable oral bioavailability. Thus, the development of a suitable pharmaceutical system to enhance the apparent solubility and dissolution rate of the drug becomes highly desirable in providing more effective therapy. The increased bioavailability should allow this drug to achieve more optimal

* Corresponding author.

E-mail address: mf.felst@gmail.com (M.F.L.R. Soares).

<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.04.024>

Received 9 January 2018; Received in revised form 26 March 2018; Accepted 17 April 2018
Available online 19 April 2018

0925-2067/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.