



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

**DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO INDUSTRIAL DA FORMA
FARMACÊUTICA COMPRIMIDO ASSOCIAÇÃO EM DOSE FIXA PARA
TRATAMENTO DA AIDS**

DANILO AUGUSTO FERREIRA FONTES

RECIFE

2011



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO



**DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO INDUSTRIAL DA FORMA
FARMACÊUTICA COMPRIMIDO ASSOCIAÇÃO EM DOSE FIXA PARA
TRATAMENTO DA AIDS**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas na área de concentração: Produção e Controle de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2011

Fontes, Danilo Augusto Ferreira

Desenvolvimento farmacotécnico industrial da
forma farmacêutica comprimido associação em dose
fixa para tratamento da AIDS / Danilo Augusto Ferreira
Fontes. – Recife: O Autor, 2011.

123 folhas: il., fig., ; 30 cm.

Orientador: Pedro José Rolim Neto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de
Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2011.

Inclui bibliografia e anexos.

1. AIDS. 2. Lamivudina. 3. Zidovudina. 4.

Efavirenz. 5. Comprimido. I. Rolim Neto, Pedro José.

II. Título.

615.43

CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2011-180



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

Recife, 12 de agosto de 2011.

Defesa de Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADA**, por decisão unânime, em 12 de agosto de 2011 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE ORIENTADOR E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto.

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura:

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Profa. Dra Maria do Carmo Alves de Lima.
(Deptº de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE).

Assinatura:

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

(Núcleo de Tecnologia Farmacêutica - UFPI).

Assinatura: ,

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antônio Rodolfo de Faria

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Nereide Stela Santos Magalhães

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Lima Leite

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ter me acompanhado por toda minha vida.

Aos meus pais (**Daniel e Eliana**) e irmãos (**Renata e Davi**) pelo apoio e incentivo nas minhas escolhas.

Aos meus familiares, em especial a meus avós: **vovó Ana e vovô Dodó** (*in memoriam*), pela confiança depositada em mim.

À minha namorada **Amanda Tavares**, pelo companheirismo e aprendizado durante estes anos de convivência.

Ao Professor **Pedro Rolim** pela sua amizade e oportunidade a mim concedida no Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM), que me proporcionou um imenso aprendizado. *“Continue sempre nessa sua missão de formar pessoas, não só academicamente, mas para a vida. Saiba do meu respeito e admiração por você, muito obrigado!!!”*

À equipe AIDS, **Mônica, Lariza, Alexandre e Cláudio**, além de **Larissa, Malú e Raphael**, pela força a mim prestada durante estes anos de projeto. Muito obrigado.

Aos demais companheiros do LTM, **sempre prestativos e empenhados a ajudar quem quer que seja**.

Ao **Programa e professores** da Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco (**PPGCF – UFPE**), pela contribuição na minha formação.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pela bolsa concedida e à **FINEP – Financiadora de Projetos**, pelo apoio financeiro concedido para realização deste trabalho.

E a todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigado a todos!!!

***“Em cada medicamento que alivia as dores da
humanidade, está a ciência do farmacêutico.”***

Autor desconhecido

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento tecnológico de um novo produto comprimido contendo a associação em dose fixa dos antirretrovirais zidovudina (AZT, 300 mg), lamivudina (3TC, 150 mg) e efavirenz (EFV, 300 mg), de primeira escolha no tratamento antirretroviral. O produto visa agregar novas vantagens à terapia atual, devido ao menor número de comprimidos e redução dos custos produtivos, ao modificar a posologia do EFV e ao associar este ao produto combinado contendo AZT e 3TC. Foi realizado estudo de compatibilidade fáрма-fármaco, tendo por finalidade compreender as possíveis interações no estado sólido entre os insumos farmacêuticos ativos (IFA); avaliando a possibilidade de se processá-los em um único produto, sem mecanismos de segregação dos pós. O estudo possibilitou observar que a associação destes não apresenta impedimentos físicos, desde que estes não sejam fundidos durante o processo. Observou-se também uma influência positiva no incremento do percentual dissolvido do EFV [devido a sua baixa solubilidade aquosa ($\pm 9 \mu\text{g/mL}$)], quando associado aos outros dois IFA. O desenvolvimento tecnológico do comprimido apresentou três principais entraves tecnológicos solucionados, dentre estes a dissolução do EFV, a compatibilidade da formulação e a obtenção de um comprimido com dimensões adequadas, devido ao grande aporte de fármaco. Foi realizado estudo de compatibilidade fármacos-excipiente, selecionando assim, os melhores excipientes para a formulação. O comprimido foi obtido com peso de 900 mg, sendo 750 mg de IFA e 150 mg de excipientes (celulose microcristalina, croscarmelose sódica, polivinilpirrolinona, estearato de magnésio, dióxido de silício coloidal e lauril sulfato de sódio). Todos os IFA apresentaram características inadequadas de fluxo, evidenciando a necessidade de um processo produtivo de compressão por granulação via úmida para a sua produção. Por meio do teste de dissolução desenvolvido e validado obteve-se, em 30 minutos, os valores médios de 91,5% para o 3TC, 95,0% para o AZT e 90,2% para o EFV. As condições estabelecidas para o teste de dissolução foram aparato pá com rotação a 100 rpm e 1000 mL do meio de lauril sulfato de sódio a 1% (pH 6,8) a $37^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. O doseamento do comprimido foi realizado por método analítico desenvolvido e validado utilizando coluna cromatográfica C18, fase móvel gradiente de acetonitrila e água purificada, λ 248 nm e tempo de corrida de 14 minutos. Concluí-se que a abordagem integrada da tecnologia farmacêutica proporcionou a obtenção de um novo produto farmacêutico dentro das exigências regulatórias e requisitos técnicos selecionados.

Palavras Chave: efavirenz. Lamivudina. Zidovudina. Formulação. Comprimido. Compatibilidade. Dissolução.

ABSTRACT

The present work presents the technological development of a new tablet containing the fixed dose combination (DFC) of the antiretroviral drugs AZT (300 mg), 3TC (150 mg) and EFV (300 mg), of first choice for the antiretroviral therapy. The product aims to add new benefits to current therapy, since modify the EFV dosage and associates this to the combination product of AZT and 3TC. The drug-drug compatibility study aimed to understand the possible interactions between them on solid state, evaluating the possibility to process them in a single product, without different compartments and the effect of the interaction of them with water, present on the manufacture process. This study allowed to observe that the association of these API had no physical impediments to the association, provided that they were not melted during the process. We also observed a positive influence on the EFV dissolution value, when combined to the others API. The technological development of the tablet had three main technological problems solved, among them the dissolution of the EFV, the compatibility of the formulation and obtain a tablet with a small format. The drug-excipients compatibility study has selected the best excipients for the formulation. The tablet was obtained weighing 900 mg, being 750 mg of API and 150 mg of excipients (microcrystalline cellulose, croscarmellose sodium, polivinilpirrolinona, magnesium stearate, colloidal silicon dioxide and sodium lauryl sulfate). All API had presented inadequate flow characteristics, highlighting the need for a manufacture process of compression by wet granulation. By means of dissolution test developed and validated was obtained in 30 minutes, the values of 91.5% for 3TC, 95.0% for AZT and 90.2% for EFV. The conditions for dissolution were paddle apparatus with rotation of 100 rpm and 900 mL of medium of sodium lauryl sulfate 1% (pH 6.8) at $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. The tablet assay was performed by a developed and validated method using a C18 chromatographic column, mobile phase gradient of acetonitrile and purified water, λ 248 nm and 14 minutes running time. We concluded that the pharmaceutical technology integrated approach allowed a new pharmaceutical product within the regulatory requirements and selected technical requirements.

Keywords: Efavirenz. Lamivudine. Zidovudine. Formulation. Tablet. Compatibility. Dissolution.

LISTA DE ABREVIATURAS

3TC	Lamivudina
CH ₃ CN	Acetonitrila
ADF	Associação em Dose Fixa
AIDS	Síndrome da Imunodeficiência Humana, <i>em inglês</i>
ANOVA	Análise de Variância
Anti-HIV	Contra o Vírus da Imunodeficiência Humana
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AZT	Zidovudina
C	Concentração
CGE	Eletroforese Capilar em Gel
CIEF	Eletroforese Capilar com Focalização
CITP	Isotoforese Capilar
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CM	Celulose Microcristalina
CMS	Croscarmelose Sódica
CV	Coeficiente de Variação
CZE	Eletroforese Capilar de Zona
DAD	Detector de Arranjo de Diodos
dAP	Densidades Aparente
DAS	Análise Espectrométrica Derivativa
dCP	Densidade Compada
DP	Desvio Padrão
DS	Dispersão Sólida
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
DSC-HCH	Calorimetria Diferencial Exploratória com Aquecimento, Resfriamento e Aquecimento, <i>em inglês</i>
DTA	Análise Térmica Diferencial
DTG	Termogravimetria Derivada
EC	Etilcelulose

EFV	Efavirenz
ELC	Eletroforese Capilar
EMA	Órgão Regulatório de medicamentos da Europa
EMg	Estearato de magnésio
Endo	Endotérmico
Exo	Exotérmico
FDA	Órgão Regulatório de alimentos e medicamentos dos Estados Unidos
FEO	Fluxo Eletroosmótico
FINEP	Financiadora de Estudos e Projetos
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
FTIR	Infra Vermelho com Transformada de Fourier
GAS	Glicolato de Amido Sódico
HAART	Terapia Antirretroviral de Alta Eficiência, <i>em inglês</i>
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPC	Hidroxipropilcelulose
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
ICH	Conferência Internacional de Harmonização, <i>em inglês</i>
IFA	Insumo Farmacêutico Ativo
ISSN	Número Internacional Normalizado para Publicações
ITRN	Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeo
ITRNN	Inibidores da Transcriptase Reversa não análogos de Nucleosídeo
IV	Infravermelho
LAC 70	Lactose malha 70
LAC 80	Lactose malha 80
LAPEPE	Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LSS	Lauril Sulfato de Sódio
LTM	Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos
M	Molar
MEKC	Eletroforese Capilar Micelar
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura

MO	Microscopia Óptica
MS	Ministério da Saúde
M β CD	metil- β -ciclodextrina
NVP	Neviparina
ODS	Octadecilsilano
OMS	Organização Mundial de Saúde
PD	Produto de Degradação
PEG	Polietilenoglicol
PF	Ponto de Fusão
PLS	Técnica de Regressão por Mínimos Quadrados
PLSR	Regressão por Mínimos Quadrados Parciais
PM	Peso Molecular
PVP	Polivinilpirrolidona
Q	Valor Dissolvido, em percentual
R	Rotação
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
SAP	Princípio da Atividade Espectrofotométrica
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SGS	Suco Gástrico Simulado
TG	Termogravimetria
UFPE	Universidade Federal de Pernambuco
UNAIDS	Programa Conjunto das Nações Unidas sobre AIDS
UR	Umidade Relativa
USP 33	Farmacopeia dos Estados Unidos, em inglês
UV-Vis	Ultra-Violeta Visível
V	Volume

SIGLAS E SÍMBOLOS

%	Percentual
<	Inferior a
>	Superior a
±	Mais ou menos, aproximadamente
Δ	Delta ou Variação
ΔH	Variação da energia entalpica
Δm	Variação da massa
ΔT	Variação de temperatura
®	Marca Registrada
°C	grau Celsius
cm ⁻¹	por Centímetro
g/mol	Grama por quantidade de matéria
h	Horas
J	Joules
J/g	Joule por grama
K	Kelvin
Kg	Kilograma
kHz	Kilo Hertz
KJ	Kilo Joules
L	Litro
Log P	Coeficiente de partição em octanol/água
M	Molaridade
mg	Miligrama
mg/mL	Miligrama por Mililitro
min	Minutos
mL	Mililitro
mL/min	Mililitro por Minuto
mm	Milímetro
mol	Quantidade de matéria

nm	Nanômetros
p/p	Peso/Peso
p/v	Peso/Volume
pH	Potencial Hidrogeniônico
pKa	Constante de dissociação ácida
pKb	Constante de dissociação básica
ppm	Partes por milhão
psi	Libra força por polegada quadrada
r ²	Coeficiente de correlação linear
rpm	Rotações por minuto
T onset	Temperatura inicial da reação
T _f – T _i	Intervalo da reação, em temperatura
T _g	Transição vítrea
UR	Umidade Relativa
UV	Ultravioleta
UV Vis	Ultravioleta Visível
v/v	Volume/Volume
W/m ²	Watt por Metro quadrado
β	Beta ou Razão de aquecimento
λ	Comprimento de onda
μg	Microgramas
μL	Microlitro
μL/mL	Microlitro por Mililitro
μm	Micrometro
μs	Microsegundo

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO II

Figura 1. Diagrama de fluxo para a avaliação da interação fármaco-fármaco.....	52
Figura 2. Curvas de DSC de AZT+3TC+EFV (1:1:1), sob diferentes razões de aquecimento (a) 05°C/min, (b) 10°C/min, (c) 15°C/min e (d) 20°C/min, sob atmosfera de N ₂ em fluxo de 50 mL/min.....	56
Figura 3. de DSC (a) AZT, (b) 3TC, (c) EFV, (d) AZT+3TC (1:1, p/p), (e) 3TC+EFV (1:1, p/p), (f) AZT+EFV (1:1, p/p), (g) AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p), sob β 10°C.min ⁻¹ e atmosfera de N ₂ sob fluxo 50 mL/min.....	57
Figura 4. Curvas de TG de AZT+3TC+EFV (1:1:1) sob diferentes β , sendo (a) 10°C/min, (b) 15°C/min e (c) 20°C/min, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL/min.....	59
Figura 5. Curvas de TG de (a) EFV, (b) AZT, (c) AZT+3TC+EFV (1:1:1) e (d) 3TC, sob β de 10°C/min, sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL/min.....	60
Figura 6. Espectro de IVTF-ATR dos fármacos AZT, 3TC e EFV, suas mistura binária AZT+3TC (1:1, p/p), EFV+AZT (1:1, p/p), EFV+3TC (1:1, p/p) e a mistura ternária AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p).....	71
Figura 7. Espectro de RMN ¹³ C no estado sólido de AZT, 3TC e EFV e AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p).Figura 8. Proposta de mecanismo de degradação térmica do EFV.....	73
Figura 8. Curvas de DSC-HCH de (a) AZT, (b) 3TC, (c) EFV e (d) AZT + 3TC + EFV (1:1:1, p/p/p), sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL/min.....	75
Figura 9. (a) AZT + 3TC (1:1), (b) 3TC + EFV (1:1), (c) AZT + EFV (1:1), (d) AZT + 3TC + EFV (1:1:1) , sob atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL/min.....	75
Figura 10. Cromatograma da mistura de AZT+3TC+EFV (1:1:1) após a fusão.....	77
Figura 11. Sugestão do mecanismo de formação do PD1 da mistura fundida de AZT + EFV (1:1).....	78
Figura 12. Sugestão do mecanismo de formação do PD2 da mistura fundida AZT + EFV (1:1).....	79

ARTIGO IV

Figura 1. Cubo dos efeitos para o fármaco EFV, em percentual (%), com suas diferenças.....	112
--	-----

LISTA DE TABELAS

ARTIGO II

Tabela 1. Ilustração do processo de fusão das amostras por microscopia óptica com aquecimento.....	65
Tabela 2. Valores dos eventos térmicos ocorridos no processo de fusão das amostras por DSC.....	67

ARTIGO III

Tabela 1. Lista de excipientes utilizados no estudo de pré-formulação.....	86
Tabela 2. Resultados do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente por termogravimetria.....	95
Tabela 3. Informações dos fármacos aplicáveis no desenvolvimento de um produto farmacêutico e sua avaliação.....	97
Tabela 4. Formulação selecionada para o produto.....	98
Tabela 5. Controles de qualidade realizados para o produto.....	99
Tabela 6. Perfil de dissolução comparativo.....	101

ARTIGO IV

Tabela 1. Solubilidade dos fármacos EFV, AZT e 3TC em diversos meios.....	109
Tabela 2. Especificações das variáveis e seus respectivos sinais.....	110
Tabela 3. Resultados da seleção de variáveis, em 30 minutos de dissolução.....	110
Tabela 4. Efeitos médios das variáveis isoladas e em interação para o EFV (%).....	111

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
2 OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL	19
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 JUSTIFICATIVA	20
4 CAPÍTULO I	21
4.1 DESAFIOS DE UMA ASSOCIAÇÃO EM DOSE FIXA	
4.1.1 Artigo I - Questões técnicas e desafios associados ao desenvolvimento de uma associação em dose fixa na forma sólida (<i>Artigo a ser submetido à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada; Qualis Capes para Farmácia: B5</i>)	22
5 CAPÍTULO II	48
5.1 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-FÁRMACO	
5.1.1 Artigo II - Estudo de interação fármaco-fármaco aplicado ao desenvolvimento de formulação sólida contendo a associação em dose fixa de zidovudina, lamivudina e efavirenz (<i>Artigo a ser submetido ao International Journal of Pharmaceutic; Qualis Capes para Farmácia A1</i>)	49
6 CAPÍTULO III	82
6.1 DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO	
6.1.1 Artigo III - Desenvolvimento de novo comprimido antirretroviral contendo zidovudina, lamivudina e efavirenz associados em dose fixa. <i>Artigo a ser submetido ao AAPS PharmSciTech Journal; Qualis Capes para Farmácia: B2</i>)	83
7 CAPÍTULO IV	104
7.1 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO TESTE DE DISSOLUÇÃO	
7.1.1 Artigo IV - Desenvolvimento e Validação de Teste de Dissolução para Comprimido contendo a Associação em Dose Fixa de Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz. <i>Artigo submetido ao Journal of Pharmaceutical Sciences; Qualis Capes para Farmácia: A2</i>)	105
8 CONCLUSÃO GERAL	115
9 PERSPECTIVAS	115
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	116
ANEXOS	11

1 INTRODUÇÃO

Segundo a UNIAIDS, cerca de 33,3 milhões de pessoas vivem com AIDS e a grande parte dessa população infectada reside nos países em desenvolvimento, visto que o acesso à prevenção primária e o diagnóstico são restritos e muitas vezes inexistentes. Apenas em 2009, mais 2,6 milhões de pessoas foram acometidas com a doença (UNIAIDS, 2010).

Segundo o boletim epidemiológico do Departamento de Doenças Sexualmente Transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, houveram 544.846 casos de AIDS diagnosticados e notificados durante os anos de 1980 e 2009 (BRASIL, 2010). Contudo No Brasil, estima-se que o número total da população infectada residente no Brasil seja de aproximadamente 730 mil, classificando o país como o de maior incidência de casos da América Latina (UNAIDS, 2010).

As conseqüências clínicas da infecção por esse vírus devem-se à sua capacidade em desarmar o sistema imune do hospedeiro, devido à depressão dos linfócitos que expressam, superficialmente, o antígeno CD4+ que em conjunto com alterações qualitativas e quantitativas do sistema imune leva à susceptibilidade do organismo às infecções oportunistas (GOLDMAN & BENNET, 2001).

O acesso ao tratamento anti-retroviral aos pacientes infectados pelo HIV é uma prioridade de saúde pública mundial. Tendo em vista a necessidade de viabilizar alternativas que aumentem a adesão e conseqüentemente a eficácia terapêutica, através do desenvolvimento de formas farmacêuticas que garantirão maior eficácia ao tratamento, menor custo de produção, além de acarretar uma melhora na potência, durabilidade e conveniência da terapia anti-HIV (FARIAS et al., 2006).

Desde 1996, ano da publicação da Lei 9.313, o Ministério da Saúde vem garantindo o tratamento com anti-retrovirais a todos os portadores de HIV que se enquadram nas recomendações terapêuticas vigentes no Brasil. Estas recomendações são revistas e atualizadas sempre que surgem novas drogas ou que as evidências demonstram necessidade de mudança no manejo das mesmas (BRASIL, 2007).

Atualmente, a terapia padrão é conhecida como terapia anti-retroviral de alta atividade (HAART, sigla em inglês), a qual combina pelo menos três fármacos, sendo dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou um inibidor de protease, sendo o primeiro, em

geral, de posologia mais simples facilitando a adesão ao tratamento (LAURENT et al., 2005; ROLIM-NETO et al., 2006).

A associação Zidouvidina/Lamivudina como ITRN é mantida como dupla de primeira escolha pelo Ministério da Saúde para compor o esquema anti-retroviral inicial, possuindo a vantagem de ser disponível em co-formulação, contribuindo para a comodidade posológica, é amplamente utilizada em todo mundo e apresenta menor custo comparativo dentro da classe, o que fortalece a sustentabilidade do acesso universal ao tratamento. Paralelamente dentro da classe de ITRNN, o efavirenz continua sendo preferencial à nevirapina, exceto para gestantes. Essa opção está fundamentada na sua elevada potência de supressão viral, comprovada eficácia em longo prazo e ao menor risco de efeitos adversos sérios (BRASIL, 2007).

O governo brasileiro vem sendo reconhecido, há muitos anos, como líder mundial na defesa e garantia dos direitos de indivíduos infectados por HIV/AIDS, estabelecendo o acesso aos anti-retrovirais, para o tratamento da infecção pelo HIV, como direito de todos os seus cidadãos. Mas, ao lado da distribuição, vem ganhando importância a produção nacional de medicamentos, que é apresentada como uma estratégia fundamental para a manutenção do programa de distribuição (BRASIL, 2001).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolvimento de Forma Farmacêutica Sólida (comprimido) Associação em Dose Fixa à base de Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz para tratamento da AIDS.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar estudo de compatibilidade fármaco-fármaco entre os insumos farmacêuticos ativos da formulação;
- Realizar estudo de pré-formulação dos excipientes candidatos a serem utilizados na formulação para a obtenção dos lotes de bancada;
- Realizar controles de qualidades da forma farmacêutica desenvolvida;
- Desenvolvimento e Validação de método de dissolução para o comprimido;
- Realizar o estudo de estabilidade acelerada e longa duração, segundo a RE nº 1/2005 (ANVISA).

3 JUSTIFICATIVA

Os esforços atuais focalizam na simplificação dos esquemas terapêuticos de modo a aumentar a adesão ao tratamento e o manejo dos efeitos colaterais. Para isso, vem sendo desenvolvida formulação multifármacos, denominadas dose fixa-combinada, que através da associação de fármacos combinados em uma mesma forma farmacêutica, trás como vantagens o baixo custo, maior adesão ao tratamento, menor número de comprimidos/cápsulas administrados (LANCELLOTTI & GAGLIANI, 2005).

Atualmente, cerca de 180 mil pessoas recebem seu tratamento gratuitamente pelo Sistema Único de Saúde, sendo a despesa de cerca de R\$ 1 bilhão por ano (BRASIL, 2008).

Com o desenvolvimento e a produção de um comprimido, pretende-se a administração oral de quantidades corretas dos fármacos; com suas integridades químicas protegidas de modo adequado, durante o intervalo de tempo e no local desejado. Portanto, objetiva-se do presente estudo a obtenção de comprimidos associação em dose fixa, utilizando-se de técnicas variadas, sendo adotados parâmetros farmacopêicos oficiais como padrões de qualidade.

O desenvolvimento farmacotécnico e analítico reaalizar-se-á sob os mais atuais critérios nacionais e internacionais de estabilidade, planejamento, segurança, eficácia e rastreabilidade. Além disso, os estudos serão realizados por meio da parceria do Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) e o Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) que visa a produção do novo medicamento que será distribuído pelo Ministério da Saúde.

4. Capítulo I

4.1 DESAFIOS DE UMA ASSOCIAÇÃO EM DOSE FIXA

4.1.1. Artigo I - Questões técnicas e desafios associados ao desenvolvimento de uma associação em dose fixa na forma sólida

Artigo a ser submetido à Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada
Qualis Capes para Farmácia: B5

4.1.1. Artigo I - Questões Técnicas e Desafios Associados ao Desenvolvimento de uma Associação em Dose Fixa na forma Sólida

FONTES, D.A.F.¹; SOARES, M.F.L.R.^{1,2}; ALVES, L.D.S.¹; LUZ, C.C.M.¹; MOURA, M.L.C.¹; FERRAZ, L.R.M.¹; ROLIM, L.A.¹; ROLI-NETO, P.J.¹.

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.740-521, Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Ininga, 64.049-550 Teresina – PI, Brasil

RESUMO

A associação em dose fixa (ADF) pode ser entendida como uma combinação de razão fixa de dois ou mais fármacos em uma mesma forma farmacêutica. O desenvolvimento de uma ADF está se tornando cada vez mais importante a partir de uma perspectiva de saúde pública. Tais combinações de drogas estão sendo usadas no tratamento de uma ampla gama de condições e são particularmente úteis no tratamento de HIV/AIDS, malária e tuberculose, que são consideradas o principal ameaças de doenças infecciosas no mundo de hoje . Do ponto de vista industrial, é de maior interesse a utilização de fármacos sintéticos compondo uma ADF, do que associações de drogas vegetais, devido as vantagens tecnológicas no controle de qualidade e estabilidades dos fármacos sintéticos. Há diversas dificuldades no desenvolvimento destas associações, uma vez que a maior parte da legislação atual regula o registro e a produção dos produtos monofármacos, tendo que se estabelecer novos consensos para os casos associados. Sendo assim, o presente artigo aborda assuntos relacionados ao desenvolvimento de uma ADF, enfatizando seus desafios regulatórios, mercadológicos, clínicos, farmacotécnicos e analíticos.

Palavras Chave: Associação em Dose Fixa. Legislação. Mercado. Métodos Analíticos.

INTRODUÇÃO

Desde os primórdios da história registrada, combinações de substâncias naturais com atividades terapêuticas têm sido utilizadas para tratar disfunções orgânicas. A fitoterapia, um dos segmentos da Medicina Tradicional Chinesa, é exemplo vivo desta prática. O advento tecnológico ocorrido no século XX possibilitou a manipulação de compostos químicos extraídos da natureza, transformando o arsenal terapêutico em produtos monofármacos sintéticos. Tais produtos garantem, com maior facilidade, a padronização de dosagem e a manutenção da qualidade química, além de uma maior estabilidade e, conseqüentemente, a ocorrência de menores falhas terapêuticas e efeitos adversos. Estabeleceu-se então na sociedade uma aversão e incredibilidade a tratamentos associados, correlacionado este a terapias tóxicas, excessivas e inconvenientes (CHOU, 2006).

Contudo, na última década do século passado, a sociedade retornou a procura por terapias associadas, uma vez que esta foi desmistificada, reconhecendo-se as suas inúmeras vantagens terapêuticas. Do ponto de vista industrial, é de maior interesse a utilização de fármacos sintéticos compondo uma associação em dose fixa (ADF), do que associações de drogas vegetais, devido as vantagens tecnológicas no controle de qualidade e estabilidades dos fármacos sintéticos (GAUTAM & SAHA, 2004).

A ADF pode ser entendida como uma combinação de razão fixa de dois ou mais fármacos em uma mesma forma farmacêutica (BRASIL, 2010). O desenvolvimento de ADF está se tornando cada vez mais importante a partir de uma perspectiva de saúde pública. Tais combinações de drogas estão sendo usadas no tratamento de uma ampla gama de condições e são particularmente úteis no tratamento de HIV/AIDS, malária e tuberculose, que são consideradas o principal ameaças de doenças infecciosas no mundo de hoje .

Para registro destas, devem ser seguidos regulamentos técnicos, que podem sofrer variações de acordo com o país. No Brasil, por exemplo, o órgão regulador, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), recomenda associações com no máximo três fármacos em uma mesma forma farmacêutica, ou quatro fármacos, sendo este último a cafeína. Porém pode haver exceções, como as novas associações para o combate da tuberculose, que estão sendo formuladas com quatro fármacos, seguindo novos regulamentos. Essas associações sempre visam segurança e eficácia clínica (BRASIL, 2010).

Há diversas dificuldades no desenvolvimento destas ADF, uma vez que a maior parte da legislação atual regula o registro e a produção dos produtos monofármacos, tendo que se estabelecer novos consensos para os casos associados. Diante do exposto, esta revisão busca trazer ao leitor casos de sucesso e insucesso na pesquisa e desenvolvimento de produtos multifármacos, sendo um guia para o delineamento de um produto ADF.

DESAFIOS MERCADOLÓGICOS

O desenvolvimento de produtos ADF ainda tem pouco embasamento teórico e regulatório, possuindo um custo maior de desenvolvimento devido à maior complexidade, estimulado principalmente pelo maior custo analítico do mesmo e custos com pesquisas clínicas ampliadas (GAUTAM & SAHA, 2004). Contudo, a produção industrial deste é de custo reduzido se comparado à soma dos custos decorrentes da produção individual dos medicamentos monofármacos, uma vez que se economiza em custo produtivo, pessoal e operacional, além de adjuvantes farmacotécnicos, material de embalagem, área de armazenamento, transporte e registro.

A conveniência econômica para o desenvolvimento de produtos de combinação em dose fixa pode ser difícil de determinar, devido aos desafios comerciais. Alguns destes podem ser destacados como, provar que o produto é diferenciado, que detém um benefício terapêutico, compreensão do mercado para a associação e preço de produto adequado (BEST PRACTICES, 2011).

Há países em que o acesso de medicamentos se dá por aquisição individual, portanto, preço mais elevado compromete de maneira significativa a adesão ao tratamento. Nos países em que o Estado garante a distribuição de medicamentos, como o Brasil, a preocupação com o custo dos medicamentos é crucial, pois, sendo mais alto, acaba por comprometer recursos, reduzindo o acesso universal (WANNAMACHER & HOEFLER, 2007).

Para contornar este impasse, pesquisadores da tecnologia farmacêutica vêm atuando profundamente nesse ramo de associação em dose fixa, a fim de atingirem público alvo, do qual estejam necessitando de tais medicamentos. Facilitações posológicas aumentam a eficácia terapêutica, por meio do aumento da adesão à terapia medicamentosa, além da redução de custos

na produção e tolerabilidade semelhantes a outros esquemas terapêuticos (SOARES SOBRINHO et al., 2007).

Mais de um terço de todos os medicamentos novos introduzidos em todo o mundo durante a última década foram preparações em ADF. A tendência variou de país para país. No Japão, apenas 10% dos novos produtos foram ADF, enquanto que em países europeus como a Espanha, chegou a 56%. No entanto, não há dados concretos para países subdesenvolvidos, pois há uma estimativa de produção e uso, que ainda não se destaca. Na sua maioria, estas preparações compreendem vitaminas, antitussígenos, anti-diarreicos, preparações de ferro, antiácidos, analgésicos e tônicos (PRESCRIPTION DRUG, 2010).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) listou cerca de 350 medicamentos essenciais, sendo que destes, apenas 24 estão formulados na forma de ADF. Em 2010, três anos depois, o quantitativo o qualitativo dos ADF da lista dos medicamentos essenciais da OMS não foi alterado, estabilizou. Confirmando que a produção de uma associação requer mais tempo para ser produzido, devido a procedimentos analíticos que comprovem a qualidade e a relevância do produto, e ser mais caro quando se fala em ensaios clínicos que comprovem a eficácia (RATHNAKAR et al., 2011).

Na Índia, no ano de 2007, foram listados cerca de 354 medicamentos essenciais, porém apenas cerca de 14 estavam em formulads em ADF. Essa pequena proporção em relação aos outros países é consequência de uma grande cultura de medicamentos genéricos no país, onde a produção é de larga escala e a segurança e eficácia são aceitáveis, sendo, portanto, de grande consumo. Além disso, recentemente, alguns produtos dose fixa foram retirados do mercado indiano por falta de testes clínicos necessários à comercialização. (WANNAMACHER & HOEFLER, 2007; PHARMA INFO, 2011).

Um bom exemplo para as vantagens que a produção de um novo medicamento ADF pode nos trazer, está no novo esquema terapêutico da tuberculose no Brasil. Este, produzido pela Farmanguinhos – Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), com o apoio da OMS, uniu quatro fármacos (Rifampicina, Isoniazida, Pirazinamida e etambutol) e, visa baratear o custo para o tratamento da doença, e aumentar a adesão do paciente ao tratamento. Pois reduz de seis para dois o número de comprimidos diários que devem ser tomados pelos pacientes, facilitando a adesão ao tratamento que, por ser longo (no mínimo seis meses), tem alto índice de abandono.

Segundo a OMS, nos países que passaram a usar o medicamento essa taxa de abandono que era de 8% caiu para 5%.

O projeto, realizado em parceria com laboratório indiano Lupin, vai permitir que o Brasil economize na aquisição de medicamentos contra a doença, que anualmente tem um custo de R\$ 11 milhões aos cofres públicos. O custo para cada paciente, considerando o valor total da medicação tomada nos seis meses, custava 40 dólares. Agora, com o novo medicamento ADF, quatro em um, irá custar menos de 30 dólares por paciente (BRASIL, 2011).

É muito mais difícil produzir um equivalente genérico para uma combinação em dose fixa que para um monofármaco; principalmente se o produto tiver propriedades especiais de liberação. Dessa forma, muitos fabricantes lançam mão de uma formulação ADF para assegurar sua posição no mercado farmacêutico (WANNAMACHER & HOEFLER, 2007).

DESAFIOS REGULATÓRIOS

Atualmente, não há diretrizes específicas no que diz respeito à obtenção de produtos ADF. Algumas autoridades têm desenvolvido suas próprias normas para o desenvolvimento dessa classe de medicamento. Outros, buscam informações contidas no “*Anex 5 do Expert committee on specifications for pharmaceutical preparations*” da Organização Mundial da Saúde (OMS), denominado “*International guidelines that relate directly to fixed-dose combination finished pharmaceutical products*”, que presta assessoria aos países que não têm ainda orientações para este tipo de produtos.

Tais informações são provenientes de uma reunião ocorrida em março de 2004 em Botswana, onde foi estabelecida uma conferência científica, a qual emitiu o “*Scientific and technical principles for fixed dose combination drug products*”; um projeto que oferece os principais passos para a obtenção e desenvolvimento das associações medicamentosas. Além disso, fornece as principais informações necessárias para a aprovação desses medicamentos, como: as medidas necessárias para a realização de ensaios farmacológicos e toxicológicos, comprovação de segurança e eficácia e até mesmo em relação aos testes de bioequivalência característicos para ADF (WHO, 2011).

Nos Estados Unidos, as diretrizes relacionadas à regulamentação de associações de medicamentos podem ser encontradas no site da FDA através da pesquisa com o termo “*Fixed dose combination*”, onde encontraremos diversos documentos técnicos, matérias e questionários

disponíveis para consulta.

O documento “*Current Good Manufacturing Practice for Combination Products*”, datado de setembro de 2004, “*Current Good Manufacturing Practice for Combination Products*” estabelece orientações sobre a aplicabilidade das boas práticas de fabricação para produtos combinados. Assegurando assim, que o produto não seja adulterado, possua qualidade, identidade e pureza, e esteja em conformidade com os padrões desejados para comercialização. Estas orientações não abordam métodos/técnicas de fabricação, ou recomendações nas instalações/infraestrutura de fabricação (FDA, 2004).

O documento “*Early Development Considerations for Innovative Combination Products*” datado de setembro de 2006, “*Early Development Considerations for Innovative Combination Products*” estabelece orientações sobre o desenvolvimento de produtos inovadores que combinam dispositivos, drogas e / ou produtos biológicos. Destina-se a fornecer um contexto para as discussões iniciais sobre o tipo de informação científica e técnica que possam ser necessárias para aplicações de investigação ou de marketing para estes produtos combinados.

Os conceitos também podem ser úteis para o co-desenvolvimento de dispositivos, drogas e produtos biológicos que são utilizados concomitantemente, mas que não se enquadram na definição de regulamentação de um produto combinado. (FDA, 2006).

O documento “*Fixed dose combination and co-packaged drug products for treatment of HIV*”, datado de maio de 2004 aborda apenas trabalhos envolvendo antiretrovirais utilizados na terapia anti HIV, servindo de referência para as demais classes de fármacos. Este, demonstra a participação da FDA nas fases de pesquisa e desenvolvimento com os requerentes que apresentarem propostas de combinações plausíveis, justificadas e que garantem, por exemplo, a segurança e eficácia do produto. Este documento conta com um apêndice que consiste de três anexos. O anexo A descreve o cenário da regulamentação para a aprovação de medicamentos ADF; o anexo B, lista exemplos de combinações duplas e triplas de fármacos que já dispõem de dados clínicos, revisão literária e apoio da própria FDA no que diz respeito à eficácia e segurança do produto; e por fim o anexo C, que lista as combinações consideradas não aprovadas pelo FDA.

Como exemplo, indexado ao anexo B, está um trabalho que avalia e compara a atividade e a segurança das cápsulas contendo revestimento entérico à base de didanosina, administrada uma vez por dia com estavudina e nelfinavir, com o de um esquema triplice de fármacos de

referência de zidovudina mais lamivudina e nelfinavir. No seu estudo, concluiu-se que a eficácia antiviral de um regime de combinação tripla contendo didanosina (como revestimento entérico) administrada uma vez por dia é semelhante ao de uma combinação esquema tríplice de referência (FDA, 2006b; GATHE-JR et al.; 2002).

Outra associação encontrada neste apêndice é a de Zidovudina+Lamivudina, que já é aceita pela FDA e comercializada pelo nome de Trizivir® e o Combivir® como medicamento de referência, assim, qualquer estudo que envolva essa associação e passa pela submissão da FDA pode ser indexado como base literária de referência o anexo B.

Já no Anexo C, destacam-se aquelas combinações que já foram reprovadas pela FDA, como Estavudina+Zidovudina e Didanosina+Zalcitabina, as ADF apresenta diminuição do potencial antiviral e/ou sobreposição de toxicidade (YENI et al.; 2002).

Uma vez avaliadas pela a FDA e reprovadas, ora por não cumprir com os requisitos necessários, ora por negligência da justificativa; as formulações ADF podem ser promovidas para as nações dotadas de menor recurso. A autoridade norte-americana alega que o produto pode oferecer vantagens em custo, facilitando a adesão do paciente a este tipo de terapia, desde que sejam feitos todos os testes de segurança e eficácia que garante a qualidade do medicamento.

Uma aprovação provisória para estas associações pode ser emitida pela FDA mesmo para aqueles fármacos que não são comercializadas nos Estados Unidos. Esses são submetidos a constantes revisões supervisionadas pela FDA, devendo assegurar a mesma segurança e eficácia, bem como os padrões de qualidade como estudos de bioequivalência das demais substâncias já referenciadas. (FDA, 2006b).

Assim como a FDA no Estados Unidos, outra entidade governamental trata dessas normas na Europa, a *European Medicines Agency* (EMA). A EMA apresenta guias próprios para o desenvolvimento de produtos ADF (*“Guideline on fixed combination medicinal products e Guideline on clinical development of fixed combination medicinal products”*), que é amparado em suas bases jurídicas pelos artigos 10b e 8.3 do *Directive 2001/83/EC*. Além da obrigação de entrega de relatórios que comprovem a segurança e eficácia da combinação dos medicamentos, os requerentes que desejam submeter suas propostas ao EMA devem emitir uma justificativa que contenha a razão da escolha dos medicamentos e a finalidade terapêutica proposta. O parecer da entidade é indispensável nessa fase da regulamentação (EMA, 2009).

Na Austrália, situada no continente oceânico, mesmo contendo uma agência reguladora, a *Therapeutic Goods Administration*, segue as orientações regidas pela EMEA. Apresentando em seu site, cópias idênticas dos documentos elaborados pela agência européia para as associações em dose fixa (TGA, 2004).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) dita as orientações para a elaboração de uma nova associação de medicamentos através do “*Guia para registro de novas associações em dose fixa*”.

O registro preconiza que as novas formulações tenham três fármacos ou até quatro, sendo um deles a cafeína. Os dados de segurança e eficácia devem ser obtidos a partir de estudos clínicos utilizando a própria combinação dos fármacos em ADF ou administrando isoladamente as drogas concomitantemente. Nesse último caso, são necessários estudos de bioequivalência entre as monofármacos para que os dados dos estudos clínicos possam ser extrapolados para a associação que se pretende registrar.

Assim como o guia da FDA, a ANVISA possibilita três diferentes situações em que a proposta de registro deve estar enquadrada. Dentre elas: quando os fármacos da associação já estão presentes em um regime de tratamento com o uso concomitante dos monofármacos, onde a segurança e eficácia são atestadas por dados clínicos; quando os monofármacos possuem perfil de segurança e qualidade bem estabelecidos, porém não na dose que será utilizada na associação, sendo então necessários novos estudos clínicos de Fase II e Fase III; e quando um ou mais dos ativos são substâncias novas no país, portanto se faz necessário a condução completa dos estudos clínicos e não-clínicos (BRASIL, 2010).

Porém, se a ANVISA achar necessário, poderá editar em conjunto com sociedades médicas especializadas, guias de orientação científica para o registro sanitário desses produtos, citando as associações com maior potencial de enquadramento às citações acima.

Os solicitantes ainda devem expedir uma carta de justificativa da racionalidade da nova associação. Esta deve conter informações básicas como os efeitos de sinergismo ou somação obtidos com a combinação, redução de efeitos adversos comparados os monofármacos e /ou maior eficácia.

Contudo, se o requerente de qualquer nação apresentar uma proposta a qual não se aplica a nenhuma das diretrizes publicadas nos seus respectivos guias, pode-se emitir uma justificativa e provas plausíveis de segurança e eficácia e a garantia do controle de qualidade dos novos

medicamentos ADF, desde que esses relatórios sejam submetidos à aprovação pelas autoridades locais.

O pedido de autorização de introdução no mercado de produtos ADF pode incluir: dados inteiramente originais, de revisão literária e relatórios híbridos. Este último caso é mais comum. Isso pode ser explicado pela quantidade de dados científicos contidos na literatura.

Para isso, as indústrias podem recorrer à, um projeto único que reúne as autoridades regulatórias da Europa, Japão, Estados Unidos e especialistas da indústria farmacêutica das três regiões para discutir os aspectos técnicos e científicos do registro de medicamentos.

Essa entidade tem por objetivo “*International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*” (ICH) fazer recomendações sobre as maneiras de alcançar uma maior harmonização na interpretação e aplicação das diretrizes técnicas e exigências para registro do medicamento, a fim de reduzir ou eliminar a necessidade de repetir os testes realizados durante a pesquisa e desenvolvimento de novos medicamentos. A ICH oferece diretrizes como: fatores étnicos, estudos de eficácia, ensaios clínicos e pré-clínicos (ICH, 2006).

DESAFIOS CLÍNICOS

É amplamente aceito que a maioria dos medicamentos deva ser formulada com fármacos isolados. O registro de uma associação medicamentosa se justifica quando há uma população de pacientes definida para a qual uma combinação particular de ativos em uma razão fixa de doses tenha se demonstrado ser segura e eficaz, e quando todos os princípios ativos contribuem para o efeito terapêutico (ANVISA, 2010; GAUTAM & SAHA, 2004). Além disso, a combinação de fármacos também pode produzir efeitos farmacocinéticos de tal forma que a atividade terapêutica de um fármaco pode ser potencializada ou reduzida pelo outro fármaco associado através da regulação de sua absorção, distribuição, metabolismo e excreção (JIA et al., 2009).

Neste sentido, a combinação de fármacos tem sido amplamente utilizada tanto em formas isoladas como na forma de ADF, tornando-se a principal escolha para o tratamento de doenças crônicas como hipertensão, diabetes e AIDS. Nessa fase da enfermidade, cujo tratamento exige o uso continuado de medicamentos, a ocorrência de falhas na terapia é frequente, uma vez que os

regimes de tratamento requerem um forte compromisso do paciente, que em algumas circunstâncias, precisa mudar seu estilo de vida para cumpri-las (ROCHA et al.; 2008). As causas mais comuns de falhas durante um tratamento são devido aos efeitos colaterais, reações adversas, o preço do produto, número de doses, entre outros (OIGMAN, 2006).

Dentre as vantagens de se desenvolver uma associação estão, além dos custos reduzidos na produção e logística; a eficácia, melhor adesão do paciente, simplificação posológica, devido ao menor número de comprimidos/cápsulas, evitando troca entre os medicamentos e tolerabilidade semelhantes a outros esquemas terapêuticos. A simplificação posológica é uma das mais importantes características, visto que a situação contrária é justamente o principal motivo da ineficácia de grande parte dos tratamentos (SOARES-SOBRINHO et al., 2007).

Combinações de duas ou mais drogas antirretrovirais, como aquelas enumeradas no Anexo B da FDA, não são o único tipo de ADF adequada para as combinações. Por exemplo, o Kaletra (lopinavir/ritonavir), uma ADF aprovada, é um antirretroviral combinado com um reforço metabólico, uma dose baixa de ritonavir (um inibidor do citocromo P450 3A) é usada para aumentar as concentrações plasmáticas de lopinavir, o componente responsável pela a eficácia antiviral (WHO, 2005).

No Brasil, pode-se encontrar no Formulário Terapêutico Nacional 2010, diversas formulações ADF utilizadas pelo Ministério da saúde, com suas devidas justificativas e, atuantes em diversos acometimentos de saúde. Como exemplo, na classe de anestésicos e adjuvantes encontramos Paracetamol+Codeína, na classe de Sulfonamídeos e antissépticos urinários encontramos Sulfametoxazol + trimetoprima, na classe dos Contraceptivos hormonais orais encontramos Etinilestradiol + levonorgestrel, dentre outras formulações (BRASIL, 2010b).

Destaca-se como exemplo de associações obtidas com êxito a combinação de artemisinina e lumefantrina, primeira ADF à base de artemisinina a atender os critérios de pré-qualificação da OMS para a segurança, eficácia e qualidade Organização Mundial da Saúde. Ambos artemisina e lumefantrina são antimaláricos, possuem farmacocinética complementares e diferentes modos de ação e, portanto, atividade anti-malária sinérgica. Artemisinina é rapidamente eliminada do plasma com uma meia-vida de 2-3 horas, enquanto lumefantrine é eliminado mais lentamente com uma meia-vida de 3-6 dias e oferece uma alta taxa de cura a longo prazo após um tratamento de curta duração. A combinação fornece, assim, o afastamento rápido da parasitemia e sintomas mais relacionados com a malária, juntamente com a prevenção

da recrudescência (MAKANGA & KRUDSOOD, 2009).

Outro exemplo de combinação de medicamentos de sucesso é observado na formulação de ácido acetilsalicílico e cafeína. A cafeína quando administrada simultaneamente com o ácido acetilsalicílico é capaz de potenciar os efeitos do ácido, enquanto que isolada, não possui efeito algum analgésico ou antiinflamatório. Vários autores têm demonstrado que a cafeína é capaz de potencializar os efeitos antinociceptiva de ácido acetilsalicílico ou cetoprofeno em vários modelos de dor (FERNÁNDEZ-DUENAS et al., 2008).

Esforços têm sido feitos para promover a terapêutica com ADF, no entanto, ao longo dos anos problemas como falha na biodisponibilidade, instabilidade das formulações, desenvolvimento de resistência e aumento dos efeitos tóxicos e alérgicos, devido a formulações irracionais, denegriram a imagem destas associações em algumas nações. (CAVALCANTI et al., 2009). A preocupação mais premente com ADF's irracionais, é que elas expõem os pacientes a riscos desnecessários de reações adversas a medicamentos, por exemplo: formulações pediátricas de nimesulida e paracetamol. Nimesulida sozinho é mais antipirético que o paracetamol, mais antiinflamatório que o ácido acetil salicílico, e equivalente em analgesia a qualquer um dos antiinflamatórios não esteróides isoladamente. Portanto, os pacientes podem estar sujeitos a um aumento dos efeitos hepatotóxicos devido à combinação, pois trona-se desnecessária a associação com o paracetamol (GAUTAM & SAHA, 2004).

Apesar de existirem associações irracionais no mercado, devemos também destacar que muitas outras foram feitas de forma racional e confiável, a ponto de serem inseridos aos programas de saúde pública em diversos países como um exemplo: programa de combate à HIV/AIDS e tuberculose no Brasil, associação com Lamivudina+Zidovudina e Etambutol+Rifampicina+Isoniazida+Pirazinamida respectivamente; programas contra a malária na África sub-saariana com a combinação de artesunato e amodiaquina dentre outras (BRASIL, 2010b; DNDi, 2007).

DESAFIOS TÉCNICOS E PRODUTIVOS

No Brasil, os medicamentos referências registrados como ADF incluem diferentes apresentações para terapia de doenças variadas, prevalecendo as formas farmacêuticas sólidas comprimidos e cápsulas gelatinosas duras, tendência esta observada em todo o mundo (BRASIL, 2010).

Pesquisas na área da tecnologia farmacêutica são de suma importância no desenvolvimento dessas associações. Pois, deve-se levar em consideração essencialmente a associação racional das matérias primas ativas e inertes, visando conferir compatibilidade física e química entre os mesmos.

Apesar das formas farmacêuticas sólidas apresentarem menores instabilidades químicas quando comparado às formas líquidas, devido a menores interações químicas entre fármacos e adjuvantes, as propriedades inerentes desses precisam ser considerados no desenvolvimento farmacotécnico industrial. Diante deste aspecto, durante a produção dessas formas são utilizadas diferentes estratégias que possibilitem a associação de fármacos, principalmente quando se trata de fármacos com propriedades diferenciadas de reologia, solubilidade e biodisponibilidade.

Um dos primeiros pontos a serem considerados no processo de fabricação é a técnica de produção a ser utilizada, sendo sua escolha dependente principalmente das características de compressibilidade e escoabilidade dos fármacos para a compressão (BOLHUIS & ARMSTRONG, 2006).

As máquinas compressoras de alta performance, com rendimentos de produção de 100.000 a 200.000 comprimidos/h, exigem materiais com excelentes propriedades reológicas e de compactação (JATO, 1997). Além disso, para a indústria farmacêutica, a compressão direta tem sido apontada como o procedimento de escolha para a produção de comprimidos dada a sua rapidez, simplicidade e menor custo, quando comparado aos métodos tradicionais de granulação. Por outro lado, os comprimidos elaborados por esta técnica são mais estáveis do ponto de vista físico-químico e microbiológico, uma vez que se reduz consideravelmente o número de etapas de fabricação, evitando expor os princípios ativos à umidade ou a estresse luminoso, térmico e mecânico, inerentes aos métodos de granulação (SÁ BARRETO & CUNHA-FILHO, 2009). Logo, a produção de ADF por esta técnica é preferível nos casos em que os fármacos apresentam características físicas favoráveis a este processo.

No caso da possibilidade de aplicação da compressão direta ou mesmo de outra técnica, mas que os fármacos apresentem incompatibilidade, impedindo a junção destes numa mesma fase da forma farmacêutica, pode-se optar por uma compressão multicamadas.

Apesar de todas as vantagens relacionadas à compressão direta, estima-se que menos de 20% dos materiais farmacêuticos sejam capazes de serem submetidos a este processo, devido as propriedades de fluxo, coesão ou lubrificação insatisfatórias (GOHEL & JOGANI, 2005); já que

a maioria dos fármacos possuem características elásticas, e não permanecem compactados após a compressão (PAULA & RIBEIRO, 2001).

Logo, grande parte das formas farmacêuticas sólidas atuais, principalmente os comprimidos, são obtidos por granulação via seca ou úmida, sendo esta última a mais frequentemente empregada, devido aos granulados apresentarem boas características de fluxo e coesividade (CURY, 2007). A granulação por via úmida é um processo muito difundido e que apresenta boas características, principalmente quando envolve formulações que sofrerão processos de revestimento, uma vez que fornece um granulado de melhor qualidade (GENNARO, 2004).

A granulação por via seca é empregada quando o fármaco apresenta instabilidade frente a umidade ou ao calor da operação de secagem, ou quando é excessivamente solúvel nos líquidos umectantes utilizados (SOARES & PETROVICK, 1999). Em geral, a maior vantagem desse tipo de granulação é a ausência de água ou de solventes orgânicos, sendo especialmente atrativa para fármacos susceptíveis a degradação pela ação da umidade ou temperatura, empregadas no processo de obtenção por granulação úmida. Adicionalmente, também é muito utilizada para fármacos que são muito solúveis em água (BANKER & ANDERSON, 2001; KLEINEBUDDE, 2004).

Na utilização dos processos que utilizam a granulação, o principal objetivo é de obter granulados que diminuam a segregação dos constituintes devido a diferença de tamanho e/ou densidades dos componentes; além de melhorar as propriedades de fluxo da mistura e de compactação da mistura de fármacos e adjuvantes (AULTON, 2005). Logo, os grânulos, por serem mais densos do que a mistura pulveréa, ocupam um menor volume, proporcionando a uniformidade da forma farmacêutica, sendo esta característica de fundamental importância na associação de fármacos em que seja alto o aporte de fármacos.

Uma abordagem utilizando granulação e compressão, pode ser exemplificada na produção de ADF de Zidovudina (AZT) associada a lamivudina (3TC) e a Nevirapina (NVP), nas dosagens 300 mg, 150 mg e 200 mg respectivamente. Quando os lotes foram produzidos por compressão direta, o aporte de Insumos Farmacêuticos Ativos em relação ao peso médio do comprimido limitou a ação dos excipientes, apresentando friabilidade, dureza inferior ao especificado e aderência aos punções durante o processo de compressão, ocasionando uma alta

variabilidade no peso dos comprimidos. Já por granulação via úmida, os lotes produzidos atenderam às especificações definidas previamente (LAVRA, 2006).

Quando o alto aporte dos fármacos é um fator limitante, devido a pouca flexibilidade na formulação, pela utilização restrita de adjuvantes/excipientes necessários ao processo de compressão, pode-se optar pela formulação em cápsulas.

No caso da utilização das cápsulas gelatinosas duras, utiliza-se grânulos para o enchimento destas, eliminando o fator pressão, exercido pela compressão em comprimidos, diminuindo a interação física e química entre os constituintes e consequentemente das possíveis interações indesejáveis que possam vir a ocorrer. Ainda levando em consideração esse aspecto, também é possível o desenvolvimento de grânulos produzidos separadamente contendo fármacos diferentes, que poderão ser veiculados juntos em uma única dosagem.

São necessários estudos de compatibilidade química e físico-química entre os fármacos e, desses, com os possíveis excipientes; ensaios de degradação sob condições de estresse de cada componente da associação; testes de uniformidade de conteúdo antes da compressão ou preenchimento da forma farmacêutica.

CONTROLE DE QUALIDADE E DESAFIOS ANALÍTICOS

Em geral, as metodologias citadas em compêndios oficiais para doseamento de fármacos se restringem a três métodos: volumetria por neutralização ou oxi-redução, espectrometria de ultravioleta e visível e cromatografia de alta eficiência (CLAE) com detector Ultra-Violeta Visível (UV-Vis). Contudo, para o doseamento simultâneo de fármacos, como é o caso das ADF, a literatura e alguns compêndios oficiais, como a USP 33, citam como métodos mais comuns para doseamento de tais formulações o CLAE acoplado a espectrômetro de massas ou com detector UV-Vis ou de arrazo diodo (DAD), além da eletroforese e espectroscopia no ultravioleta e infravermelho, associada à quimiometria.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

Para o doseamento simultâneo de fármacos em ADF, deve-se inicialmente avaliar as propriedades físico-químicas dos fármacos em questão, e realizar um levantamento bibliográfico sobre os principais métodos analíticos existentes para doseamento dos fármacos separadamente.

Diante desse levantamento, a é a etapa inicial no desenvolvimento do método, visto que a maioria das indústrias farmacêuticas possuem apenas cromatógrafos acoplados a escolha do detector UV-Vis ou a DAD, devido ao custo mais acessível. Porém outros detectores também podem ser utilizados e são descritos na literatura, especialmente para doseamento de multifármacos com polaridades semelhantes de difícil separação cromatográfica.

Paralelamente, as características químicas dos fármacos em associação também são determinantes para tal escolha, pois a utilização do CLAE acoplado ao DAD pode ser exemplificada em duas situações corriqueiras. A primeira trata-se de quando o detector é utilizado apenas no desenvolvimento do método, como Leal e colaboradores (2007) que desenvolveram um método capaz de dosear simultaneamente quatro fármacos utilizados no tratamento de doenças reumatológica: prednisona, ciclobenzaprina, diacereína e meloxicam, sendo utilizado apenas um comprimento de onda (230 nm) para o monitoramento, visto que os fármacos apresentaram absorvidade semelhante neste comprimento de onda. A segunda situação seria quando os fármacos não apresentam absorvidade semelhante e, portanto, o doseamento necessita ser monitorado em dois ou mais comprimentos de onda, como o descrito por Soares e colaboradores (2010) no doseamento simultâneo de fármacos antirretrovirais: lamivudina, zidovudina e efavirenz, que precisa ser monitorado em 248 e 274 nm.

Adicionalmente ao detector, outras variáveis devem ser analisadas durante o desenvolvimento de um método analítico por CLAE, como a composição da fase móvel ou sistema eluente. Os modernos sistemas de bombeamento consistem de uma ou mais bombas controladas por computador que podem ser programadas para variar a relação de componentes da fase móvel, como é exigido por uma composição da fase móvel ou sistema eluente gradiente de solventes, ou a mistura isocrática de fases móveis (ou seja, fases móveis em um fixo proporção de solventes). Estes sistemas suportam pressões de funcionamento de até 5000 psi ou superior, com taxa de entrega de até cerca de 10 mL por min.

Fármacos com polaridades distintas, como é o caso do sulfato de albuterol e o ipatrópio, utilizou-se um gradiente de uma solução tampão de fosfato de potássio monobásico acidificada (pH 4) e acetonitrila em varias proporções variando de 85:15 a 50:50 para o doseamento simultâneo destes fármacos e suas substâncias relacionadas. Nestes casos, gradientes de fase móvel são utilizados para que a composição da fase móvel varie ao decorrer da análise,

modificando assim a polaridade da mesma para eluição de fármacos com diferentes polaridades (KASAWAR & FAROOQUI, 2010).

Por outro lado, quando os fármacos são quimicamente semelhantes com relação à polaridade, o método analítico para doseamento simultâneo resulta de adaptações dos métodos para doseamento dos fármacos isolados. Como exemplo, podemos citar o doseamento do mebendazol e o tiabendazol que foram quantificados simultaneamente em CLAE-DAD com coluna C18, utilizando fase móvel de tampão fosfato de potássio monobásico $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ e metanol na proporção de 40:60 (v/v), em um fluxo de $1,0 \text{ mL.min}^{-1}$, método bem semelhante ao já descrito em compêndios oficiais para os fármacos isolados (USP, 2010).

Além das variações de composição da fase móvel e fluxo também é possível avaliar a variação da fase estacionária, bem como a alteração da viscosidade da mesma ao variar-se a temperatura de análise. A fase estacionária mais utilizada no caso de fase estacionária, bem como a alteração da viscosidade da mesma separação de fármacos quimicamente semelhantes são as colunas com enchimento octadecilsilano (ODS), também conhecidas como C18, visto seu maior poder de separação frente a moléculas pequenas, como é o caso da maioria dos fármacos (LAVRAS et al., 2008).

Para a maioria das análises farmacêuticas, a separação é alcançada pela partição dos compostos na solução de ensaio entre as fases móvel e estacionária. Sistemas constituído por fases estacionárias polares e fases móveis apolares são descritos como fase normal, enquanto o arranjo oposto, fases móveis polares e fase estacionária apolares, é chamado de cromatografia em fase reversa. Adicionalmente, cromatografia de partição é quase sempre utilizado para os compostos solúveis em hidrocarbonetos de peso molecular inferior 1000 (USP, 2010).

Em geral, para o doseamento de uma ADF, a cromatografia de fase reversa é mais utilizada, sendo a fase estacionária de partículas de 3 a 10 mm de diâmetro, mas os tamanhos podem variar até 50 mm ou mais para colunas preparativas. Enquanto que o diâmetro interno varia de 2 a 5 mm; sendo que as utilizadas para a cromatografia preparativa são de maior diâmetro. Em relação à polaridade da coluna a dependência está na polaridade dos grupos funcionais ligados, que variam de relativamente apolares, como silano octadecil, a grupos muito polares como nitrilo. Visando separações mais eficientes, as colunas também podem ser aquecidas durante a análise visando à diminuição da viscosidade da fase móvel. Contudo, raramente são utilizadas temperaturas acima de 60°C por causa da degradação potencial da fase

estacionária ou volatilidade fase móvel (USP, 2010). Comumente as temperaturas máximas utilizadas são de 40 °C.

Porém como já citado anteriormente, as condições cromatográficas dependerão essencialmente das características químicas de cada fármaco a ser doseado. Porém todas as variáveis apresentadas devem ser analisadas para manutenção dos parâmetros cromatográficos dos picos correspondente a cada fármaco ADF durante a utilização do método na rotina.

Visto a crescente necessidade de doseamento simultâneos de fármacos, os compêndios oficiais começam a inserir monografias de formas farmacêuticas ADF em seu elenco. Como exemplo, podemos citar a monografia de comprimido de zidovudina e lamivudina, em que a USP 33 descreve a metodologia analítica para doseamento simultâneo dos fármacos, sendo esta um possível método indicativo de estabilidade, pois é relatada sua capacidade em detectar e quantificar impurezas de síntese dos fármacos simultaneamente. O método descrito consiste em um gradiente complexo de três soluções eluentes, sendo uma acidificada, e um longo tempo de análise. Esses podem ser considerados problemas que são encontrados normalmente no desenvolvimento de métodos indicativos de estabilidade (USP, 2010).

Eletroforese

O termo eletroforese refere-se à migração de espécies eletricamente carregadas, quando dissolvidas ou suspensas em um eletrólito através do qual passa uma corrente elétrica. A utilização de capilares como canais de migração em eletroforese aumentaram o desempenho da separação eletroforética, comparável ao da CLAE. Este método é comumente conhecido como eletroforese capilar (ELC) (USP, 2010).

A habilidade de obter alta eficiência de separação por aplicação de diferença de potencial através de um capilar, foi introduzida em 1981, por Jorgenson e Lukacs. Por ser ecologicamente mais correta e mais econômica é a técnica de separação de mais rápida expansão em análises farmacêuticas, gradualmente se estabelece como uma técnica alternativa e de suporte para CLAE. ELC já é utilizada na rotina em análises farmacêuticas, forenses, clínicas e ambientais, mas sua utilização tornou-se mais evidente com o projeto genoma humano e o sequenciamento de proteínas (ALTRIA & ELDER, 2004). O processo de separação se dá pela aplicação da voltagem, de tal forma que cátions migram para o pólo negativo (cátodo) e ânions para o pólo positivo (ânodo), e partículas neutras não são atraídas para nenhum dos pólos (USP, 2010).

A mobilidade eletroforética de uma espécie química é em geral determinada pelo seu tamanho e número de cargas dos íons. Hipoteticamente, para separar íons com diferentes cargas e tamanhos, o menor e de maior carga sairá antes. Porém, uma desvantagem é a não separação de moléculas neutras numa mistura, sendo esta técnica utilizada somente para moléculas ionizadas (GRAEF, 2007).

Existem cinco formas de operação de ELC: Eletroforese capilar de zona (CZE) também chamada de ELC em solução livre, eletroforese capilar em gel (CGE), eletrocromatografia capilar micelar (MEKC), eletroforese capilar com focalização isoelétrica (CIEF) e isotacoforese capilar (CITP) (USP, 2010), sendo a mais comum para o doseamento simultâneo de fármacos a CZE.

O mecanismo de separação da CZE está baseado nas diferenças apresentadas pela razão carga/raio iônico, das espécies analisadas. A combinação entre a mobilidade eletroforética e a magnitude do fluxo eletro-osmótico, leva a separação das espécies eletricamente carregadas (USP, 2010), permitindo a separação de cátions e ânions na mesma corrida, mas não de espécies neutras. Pode ser utilizada para solutos solúveis e insolúveis em água. A separação é regida pela mobilidade eletroforética e pelo fluxo eletro-osmótico (FEO) (SANTORO et al., 2000).

De forma semelhante ao CLAE a eletroforese também possui uma série de variáveis a serem analisadas no desenvolvimento de um método analítico, como a diferença de potencial aplicada, mobilidade eletroforética das moléculas, o FEO e comprimento do capilar. Comparando este método ao CLAE o comprimento do capilar corresponde ao comprimento da coluna, o FEO corresponde ao fluxo da fase móvel, a mobilidade eletroforética, à polaridade da molécula e a diferença de potencial aplicada, à composição da fase móvel com sua polaridade específica (GRAEF, 2007).

Um método analítico para doseamento simultâneo da ADF de primeira escolha para o tratamento da tuberculose foi desenvolvido por CZE com as seguintes condições eletroforéticas: polaridade positiva, utilizando como eletrólito de fundo tampão fosfato 40 mmol/L a pH 9,0; capilar de sílica fundida revestido de poliimida com 64,5 cm de comprimento (56 cm efetivos) e 50 μ m de diâmetro interno; a diferença de potencial aplicada de 20 kV, equivalente a uma corrente efetiva de 50 μ A (269,5 nm), com tempo de análise de 5 min (GRAEF, 2007).

Semelhante às análises por CLAE, o método de eletroforese pode ser acoplado a diversos detectores, sendo o mais utilizado o UV-Vis.

Espectroscopia no Ultravioleta E Infravermelho associada à Quimiometria

A quimiometria é uma área que se refere à aplicação de métodos estatísticos e matemáticos, assim como aqueles baseados em lógica matemática, a problemas de origem química. Com a sofisticação crescente das técnicas instrumentais, impulsionada pela invasão de microprocessadores e microcomputadores no laboratório químico, tornaram-se necessários tratamentos de dados mais complexos do ponto de vista matemático e estatístico, a fim de relacionar os sinais obtidos (intensidades, por exemplo) com os resultados desejados (concentrações).

As análises quantitativas que eram realizadas na maioria das vezes por "via úmida" como titulação, precipitação e reações específicas, que são demoradas e muitas vezes pouco precisas, estão cada vez mais sendo substituídas por técnicas instrumentais mais sensíveis e precisas, como: Ressonância Magnética Nuclear, espectroscopia no infravermelho, espectroscopia no visível/ultravioleta, espectroscopia de massa, cromatografia, polarografia, análise por injeção em fluxo, etc., que aliam a velocidade de análise com uma boa qualidade de resultados. Nessas técnicas instrumentais não é obtida uma informação direta do resultado, mas sim uma grande quantidade de sinais (curvas, picos) que podem ser tratados para uma possível quantificação das várias espécies presentes.

Muita ênfase tem sido dada aos sistemas multivariados, nos quais se pode medir muitas variáveis simultaneamente, ao se analisar uma amostra qualquer. Nesses sistemas, a conversão da resposta instrumental no dado químico de interesse, requer a utilização de técnicas de estatística multivariada, álgebra matricial e análise numérica. Essas técnicas se constituem no momento na melhor alternativa para a interpretação de dados e para a aquisição do máximo de informação sobre o sistema. De todos os ramos da química clássica, talvez a química analítica tenha sido a mais afetada pelo desenvolvimento recente da instrumentação química associada a computadores.

De fato, a "Chemometrics Society", organização internacional dedicada ao uso e desenvolvimento de métodos em quimiometria, é composta principalmente por químicos interessados em problemas analíticos. Atualmente é muito raro se encontrar qualquer periódico respeitável sobre pesquisas em química analítica, que não traga artigos reportando dados obtidos com o auxílio de microcomputadores, ou tratados por matemática multivariada ou métodos

estatísticos, sempre com o objetivo de melhorar a qualidade dos resultados ou facilitar a sua interpretação.

Um método espectroscópico pode ser desenvolvido para o doseamento simultâneo de fármacos com o emprego de alguma técnica quimiométrica, pois técnicas espectroscópicas não são capazes de separar a mistura de fármacos das amostras, como é o caso do CLAE e eletroforese.

Silva e colaboradores em 2007, citam que dentre as técnicas de calibração multivariada pode-se citar a técnica de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). Em 1998, Spiegelman e colaboradores, demonstraram que a seleção da região espectral a ser modelada pode melhorar o desempenho dessa técnica de calibração em relação aos modelos que empregam o espectro inteiro. Regiões específicas (ou sinais infravermelhos) são selecionadas onde a colinearidade não está tão presente, gerando modelos mais robustos. Na prática, a otimização dos modelos de regressão multivariados, está baseada na identificação de subconjuntos dos dados completos (sub-regiões espectrais), que combinados ou não, minimizam os erros de predição. No PLS a calibração multivariada é realizada utilizando a informação do espectro inteiro para construir um modelo da regressão, relacionado à propriedade de interesse. Por esta razão é chamado de método full-spectrum (BORIN & POPPI, 2005). Neste trabalho o PLS foi utilizado em ambiente MATLAB[®], o qual integra computação matemática, visualização e linguagem eficiente em ambiente flexível para computação técnica.

Silva e colaboradores em 2007 demonstrou ser possível a construção de modelos de calibração multivariados, empregando dados de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier com acessório de reflexão total atenuada (FTIR-ATR), para a determinação simultânea de sulfametoxazol e trimetoprima em medicamentos comercializados no Brasil. Os resultados obtidos mostram que bons modelos podem ser obtidos tanto com os espectros por inteiro (PLS), como por determinadas regiões espectrais (iPLS) com 1/10 ou 1/25 do total das variáveis (SILVA et al., 2007).

A espectrofotometria no ultravioleta ou visível também pode ser utilizada associada a quimiometria, como Maluf e colaboradores em 2009, demonstrando foi avaliada a potencialidade da utilização das ferramentas matemáticas do princípio da aditividade espectrofotométrica (SAP), da análise espectrométrica derivativa (DSA) e da regressão por mínimos quadrados parciais (PLSR) para a determinação simultânea de paracetamol e cafeína, associadas à

espectrometria UV-Vis. Quando da aplicação do método de calibração convencional, segundo o SAP, foi observada uma significativa sobreposição dos sinais de absorção dos fármacos. Em contrapartida, a utilização da DSA ou da PLSR, como ferramentas matemáticas de calibração, combinadas à espectrometria UV-Vis, permitiram a obtenção de resultados adequados à determinação concomitante do paracetamol e da cafeína a partir do meio etanólico proposto.

CONCLUSÃO

Como vimos, a associação em dose fixa de medicamentos não é considerada uma novidade no mercado farmacêutico, mas carece de muitas informações a respeito da sua produção, regulamentação, clínica e controles analíticos. Devido a uma maior complexidade em termos de pesquisa, muitas empresas acabam por deixá-las de lado e optar pela produção de medicamentos monofármacos.

Entretanto, nos últimos anos, novas associações estão inserindo-se no mercado, proporcionando todos os benefícios que advêm desta formulação ao paciente, quando feitas de maneira racional.

REFERÊNCIAS

ALTRIA, K D; ELDER, D. Overview of the status and applications of capillary electrophoresis to the analysis of small molecules. **Journal of Chromatography A**. v.1023, p.1-4, 2004.

AULTON M. E. **Pré-formulação farmacêutica. Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 Ed. Artmed. Porto Alegre, 2005.

BANKER, G. S.; ANDERSON, N. R. Comprimidos. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa. v. 2. 2001. p.509-596.

BEST PRATICCES. **Fixed Dose Combination Products: Successful Strategies for Developing and Bringing FDC Products to Market**. Disponível em: <http://www.best-in-class.com/bestp/domrep.nsf/products/6C366F82FCA5227E85257735003631A1>>. Acessado em: 16 de jul. 2011.

BOLHUIS, G.K; ARMSTRONG, N.A. Excipients for direct compaction an update, **Pharmaceutical Development and Technology**. v. 11, p. 111-124, 2006.

BORIN, A. & POPPI, R.J. Application of mid infrared spectroscopy and iPLS for the quantification of contaminants in lubricating oil. **Vibrational Spectroscopy**. v.37, p.27-32, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia para Registro de Novas Associações em Dose Fixa**. 1ª edição, Brasília-DF. p. 20., 2010.

BRASIL. Fundação Oswaldo Cruz - FIOCRUZ. Farmanguinhos fabricará medicamentos para tuberculose. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=3734&sid=9&tpl=printerview>. Acesso em: 12 de jul. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde, 2010b. **Formulário Terapêutico Nacional/RENAME**. Textos Básicos de Saúde. 2ª edição. Brasília-DF: 2010.

CARPENTER, C.C.; COOPER, D.A.; FISCHL, M.A.; GATELL, J.M.; GAZZARD, B.G.; HAMMER, S. M.; HIRSCH, M.S.; JACOBSEN, D.M.; KATZENSTEIN, D. A.; MONTANER, J.S.; RICHMAN, D.D.; SAAG, M. S.; SCHECHTER, M.; SCHOOLEY, R.T.; THOMPSON, M.A.; VELLA, S.; YENI, P.G.; VOLBERDING, P. A. Antiretroviral therapy in adults. Updated Recommendations of the International AIDS Society-USA Panel. **Jama The Journal Of The American Medical Association**, v.288, p.222-35, 2002.

CAVALCANTI, A.C.; ALBUQUERQUE, M.M.; MEDEIROS, F.P.M.; LAVRA, Z.M.M.; SANTANA, A.K.M. Novas Formas Farmacêuticas como Alternativa para O Tratamento da Tuberculose Visando a Diminuição de Casos de Multi-Droga Resistência. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.28, n.6, p.945-948, 2009.

CHOU, T.C, Theoretical Basis, Experimental Design, and Computerized Simulation of Synergism and Antagonism in Drug Combination Studies. **Pharmacological Reviews**. v.58 n.3, p.621-68, 2006.

CURY, B.S.F.; BUENO, J.H.F.; SILVA-JÚNIOR, N.P.; CASTRO, A.D.; GREMIÃO, M.P.D. Influência das propriedades de granulados de lactose nas características físicas dos comprimidos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v. 28, n.1, p.85-92, 2007.

DNDI. Drugs for Neglected Diseases Initiative. **ASAQ, a nova combinação em dose fixa (CDF) de artesunato (AS) e amodiaquina (AQ)**. Foi o primeiro medicamento que a DNDi disponibilizou após estabelecer uma inovadora parceria com o laboratório Sanofi-Aventis, em 2007. Disponível em: <http://www.dndi.org.br/pt/novos-tratamentos.html>. Acesso em: 27 de jul. 2011.

EMA. European Medicines Agency, 2006. ICH Considerations. **General Principles to Address the Risk of Inadvertent Germline Integration of Gene Therapy Vectors**. London: 2006. Disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002679.pdf. Acesso em: 25 de Jun. 2011.

EMA. European Medicines Agency. Committee For Medicinal Products For Human Use (CHMP). **Guideline on Clinical Development of Fixed Combinations Medical Products**. London: 2009. Disponível em: <<http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/ewp/024095enfin.pdf>>. Acesso em: 23 de jun. 2011.

FDA - Food And Drug Administration. Guidance for Industry and FDA - Current Good Manufacturing Practice for Combination Products. **Current Good Manufacturing Practice for Combination Products (Draft Guidance)**. 2004. Disponível em: <<http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm126198.htm>>. Acesso em: 23 de jun. 2011.

FDA. Food And Drug Administration,. Guidance for Industry and FDA Staff. **Early Development Considerations for Innovative Combination Products**. 2006. Disponível em: <<http://www.fda.gov/RegulatoryInformation/Guidances/ucm126050.htm>>. Acesso em: 23 de jun. 2011.

FDA. Food And Drug Administration. Guidance for Industry. **Fixed Dose Combinations, Copackaged Drug Products, and Single-Entity Versions of Previously Approved Antiretrovirals for the Treatment of HIV**. 2006. Disponível em: <<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm079742.pdf>>. Acesso em: 23 de jun. 2011.

FERNÁNDEZ-DUENÑAS, V.; SÁNCHEZ, S.; PLANAS, E.; POVEDA, R. Adjuvant effect of caffeine on acetylsalicylic acid anti-nociception: Prostaglandin E₂ synthesis determination in carrageenan-induced peripheral inflammation in rat. **European Journal of Pain**. v.12, n.2, p.157–163, 2008.

GATHE-JR, J.; BADARO, R.; GRIMWOOD, A.; ABRAMS, L.; KLESCZEWSKI, K. Antiviral activity of enteric-coated didanosine, stavudine, and nelfinavir versus zidovudine plus lamivudine and nelfinavir. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**. v.31, p.399–403, 2002.

GAUTAM, C.S.; SAHA, L. Fixed dose drug combinations (FDCs): rational or irrational: a view point. **British Journal of Clinical Pharmacology**. v.65, n.5, p.795–796, 2007.

GENNARO, A.R. Remington – A Ciência e a Prática da Farmácia. 20ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.887-914, 923-932.

GOHEL, M.C.; JOGANI, P.D. A review of co-processed directly compressible excipients. **Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences**. v. 8. n. 1. p. 76-93, 2005.

GRAEF, L.E. **Desenvolvimento e validação de um método analítico quantitativo por eletroforese capilar para tuberculostáticos de primeira escolha**. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná, p. 92, 2007.

JATO, J. L. V. **Tecnologia Farmacêutica: Formas Farmacêuticas**. Editorial Sintesis.Madrid. v. 2. 1997. p. 304-346.

JIA, J.; ZHU, F.; MA, X.; CAO, Z.W.; LI, Y.X.; CHEN, Y.Z. Mechanisms of drug combinations: interaction and network perspectives. **Drug Discovery**. v.8, p.111-128, 2009.

KASAWAR, G.B.; FAROOQUI, M. Development and validation of a stability indicating RP-HPLC method for the simultaneous determination of related substances of albuterol sulfate and pratriptium bromide in nasal solution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.52, p.19-29, 2010.

KLEINEBUDDE, P. **Roll compaction/dry granulation: pharmaceutical applications**. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 58, n. 1-2 p. 317-326, 2004.

LAVRA Z. M. M. **Obtenção tecnológica de Antiretroviral dose-fixa combinada à base de Zidovudina, Lamivudina e Nevirapina**. Dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco, p. 63, 2006.

LEAL,B.L.; VASCONCELOS, P.B.; BEDOR, D.C.G.; SOUSA, C.E.M.; SANTANA, D.P. Development and analytical methodology validation for simultaneous determination to four drugs utilized in disorder rheumatics treatment. **Revista Brasileira de Farmácia**. v.88, n.1, p.33-37, 2007.

MAKANGA, M.; KRUDSOOD, S. The clinical efficacy of artemether/lumefantrine (Coartem®). **Malária Journal**. v.8, suppl.1, 2009.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

OIGMAN, W. Métodos de avaliação da adesão ao tratamento anti-hipertensivo. Evaluation models of adherence concerning antihypertensive treatment. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v.3, n.1, p.30-34, 2006.

PAULA, I.C.; RIBEIRO, J.L.D. Problemas de scaling up no desenvolvimento de produtos farmacêuticos em empresas brasileiras. v. 5, n. 3, p. 17-32, 2001.

PHARMA INFO. **Fixed dose combinations will be reduced in índia**. Disponível em: <<http://www.pharmainfo.net/sanjaypatel/fixed-dose-combinations-will-be-reduced-india>>. Acesso em: 15 de jul. 2011.

PRESCRIPTION DRUG. New Fixed Dose Combination. 2010. Disponível em:<<http://www.prescriptiondrug-info.com/Discuss/New-Fixed-Dose-Combination-203754.htm>>. Acesso em: 29 de Jul. 2011.

RATHNAKAR, U.P.; SHENOY, A.; ULLAL, S.D.; SHIVAPRAKASH, SUDHAKAR, P.; SHASTRY, R.; SHOEB, A. Prescribing patterns of fixed dose combinations in hypertension,

diabetes mellitus and dyslipidemia among patients attending a cardiology clinic in a tertiary care teaching hospital in India. **Pharmacie Globale**. v.2, n.5, 2011.

ROCHA, C.H; OLIVEIRA, A.P.S.; FERREIRA, C.; FAGGIANI, F.T.; SCHROETER, G.; SOUZA, A.C.A.; DECARLI, G.A; MORRONE, F.B.; WERLANG, M.C. Adesão à prescrição médica em idosos de Porto Alegre, RS. **Ciência & Saúde Coletiva**. v.13, p.703-710, 2008.

SÁ-BARRETO, L.C.L; CUNHA-FILHO, M.S.S. Excipientes co-processados para compressão direta de comprimidos. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 28, n2, p. 304-312, 2009.

SANTORO, M M I; PRADO, M S A; STEPPE, M; KEDOR-HAKMANN, E R M. Eletroforese capilar: teoria e aplicações na análise de medicamentos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.36, n.1, p.97-110, 2000.

SILVA, F.E.B.; SABIN, G.P.; MÜLLER, E.I.; PARISOTTO, G.; FLORES, E.M.M.; FERRÃO, M.F. Otimização De Métodos De Regressão Multivariada Para Quantificação De Sulfametoxazol E Trimetoprima Em Medicamentos. **Revista eletrônica de Engenharia de Produção e correlatas**. ISSN 1676 - 1901 / Edição especial/dezembro de 2007.

SOARES, L. A. L.; PETROVICK, P. R.. Física da compressão. **Caderno de Farmácia**. v. 15, n. 2, p. 65-79, 1999.

SOARES, M.F.L.R.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; SILVA, K.E.R.; ROLIM, L.A.; ALVES, L.D.S.; ROLIM-NETO, P.J. Simultaneous determination of antiretroviral zidovudine, lamivudine and efavirenz by RP HPLC-DAD. **Latin American Journal of Pharmacy**. v.30, n.2, p.273-80, 2011.

SOARES-SOBRINHO, J.L.; MEDEIROS, F.P.M.; DE LA ROCA, M.F; SILVA, K.E.R.; LIMA, L.N.A.; ROLIM-NETO, P.J. Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de chagas. **Revista de patologia tropical**. v.36, n.2, p.103-118, 2007.

SOARES-SOBRINHO, J.L.; MEDEIROS, F.P.M.; DE LA ROCA, M.F; SILVA, K.E.R.; LIMA, L.N.A.; ROLIM-NETO, P.J. Delineamento de alternativas terapêuticas para o tratamento da doença de chagas. **Revista de patologia tropical**. v.36, n.2, p.103-118, 2007.

SPIEGELMAN, C. H.; MCSHANE, M. J.; COTÉ, G. L.; GOETZ, M. J.; MOTAMEDI, M. & YUE Q. L. Theoretical justification of wavelength selection in PLS calibration: development of a new algorithm. **Analytical Chemistry**. v.70, p.35-44, 1998.

TGA. Therapeutic Goods Administration. **Fixed-combination products in Australian Guidelines for the Registration of Drugs**. 2004. Disponível em:<<http://www.tga.gov.au/pmeds/argpm.pdf>. > Acesso em: 10 fev. 2011.

UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION - USP. 33ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, p. 1534-1535, 2010.

WANNAMACHER, L.; HOEFER, R. Combinações em doses fixas: comentários farmacológicos, clínicos e comerciais. **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**. v. 4, n.7, 2007.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidance Compliance Regulatory Information Guidances. Technical Report Series. Anexo 5. **Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products**. n. 929, Geneva: 2005. Disponível em:<http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_929_eng.pdf>.

WHO. World Health Organization. **Fixed dose combinations (FDCs)**. 2011. Disponível em:<http://apps.who.int/prequal/info_applicants/Guidelines/info_for_applicants_guidelines_fds.htm>. Acesso em: 15 de jun. 2011.

5. Capítulo II

5.1. ESTUDO DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-FÁRMACO

5.1.1. Artigo II - Estudo de interação fármaco-fármaco aplicado ao desenvolvimento de formulação sólida contendo a associação em dose fixa de zidovudina, lamivudina e efavirenz

*Artigo a ser submetido ao International Journal of Pharmaceutic
Qualis Capes para Farmácia: A1*

5.1.1 Artigo III: Estudo de interação fármaco-fármaco aplicado ao desenvolvimento de formulação sólida contendo a associação em dose fixa de zidovudina, lamivudina e efavirenz

SOARES, M.F.L.R.^{1,2}; FONTES, D.A.F.¹; ALVES, L.S.D.¹; MUNSON, E.J.⁴; GORMAN, E.⁴; BERENDT, R.⁴; STELLA, V.J.⁴; FARIA, A.R.³; ROLIM-NETO, P.J.¹.

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.740-521, Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Ininga, 64.049-550 Teresina – PI, Brasil

³Laboratório de Síntese Orgânica Aplicada a Fármacos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.740-521, Recife – PE, Brasil.

⁴Department of Pharmaceutical Chemistry, University of Kansas (UK) – EUA

RESUMO

Com o objetivo de investigar possíveis interações fármaco-fármaco o presente trabalho teve como proposta a verificação desses eventos entre os insumos farmacêuticos ativos Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz. Foi utilizado um fluxograma de tomada de decisões afim de nortear o uso das técnicas e a abordagem a ser tomada durante o estudo. Foram utilizadas técnicas como DSC, TG, FTIR, MO, RMN entre outras. Os resultados apontam que interações físicas associadas a verdadeiras reações no estado sólido não são evidenciadas, interações físicas são observadas na mistura após atingir temperatura de fusão de um dos ativos, ocorrendo os fenômenos de missibilidade e deslocamento da faixa de fusão e decomposição. Além das interações físicas já citadas, uma interação química no estado líquido foi verificada (mistura Zidovudina-Efavirez), responsável pela formação de dois produtos de degradação. Tal estudo permitiu uma compreensão aprofundada, relativo a estabilidade de uma forma farmacêutica contendo esses três ativos.

Palavras Chave: Efavirenz. Lamivudina. Zidovudina. Estudo de compatibilidade.

INTRODUÇÃO

O estudo de interação fármaco-fármaco no estado sólido é uma etapa fundamental no desenvolvimento de formas de dosagem sólidas em associação de dose fixa (ADF). As interações ocorridas entre as moléculas dos fármacos podem ser de ordem física e/ou química, determinadas ou não como incompatibilidades. Tais interações podem alterar a estabilidade e/ou biodisponibilidade dos fármacos, influenciando a segurança e/ou eficácia clínica do produto ADF.

As reações físicas no estado sólido incluem transições polimórficas, formação de solvatos de diferentes estequiometrias; formação de formas solvatadas e não solvatadas, além de transições físicas de formas amorfas e cristalinas (BYRN; PFEIFFER; STOWELL, 1999). Dois tipos de interações químicas têm sido descritas entre fármaco-fármaco, as que correspondem as interações químicas intrínsecas da degradação dos fármacos, como hidrólise, oxidação e fotólise, mas sem grandes reações químicas covalentes; e as correspondentes à reações covalentes entre os fármacos (DAMIEN, 2004).

Para estudos de compatibilidade, o uso da calorimetria exploratória diferencial (DSC) interpreta as variações na temperatura de fusão associadas a entalpia como indicação de interação. A associação de tais resultados a algumas técnicas complementares, como espectroscopia no infravermelho (IV), microscopia óptica (MO) e ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN), evita o estabelecimento de conclusões equivocadas.

O desenvolvimento da forma sólida ADF a base dos antirretrovirais zidovudina (AZT), lamivudina (3TC) e efavirenz (EFV), almeja alcançar a viabilidade produtiva e a eficácia farmacológica, possuindo como principais desafios a dissolução do efavirenz, de baixa solubilidade aquosa e responsável por diversos casos de reprovações em estudos clínicos. Paralelamente as interações fármaco-fármaco podem alterar as proporções e/ou velocidades de dissolução e conseqüentemente, a biodisponibilidade dos fármacos quando associados em uma dada proporção, além do grande aporte de insumo farmacêutico ativos, restando limitadas alternativas para otimização de formulação e processo produtivo. O presente estudo, teve como objetivo investigar possíveis interações fármaco-fármaco, fator limitante para o desenvolvimento da forma farmacêutica ADF.

MATERIAIS E MÉTODOS

MATERIAIS

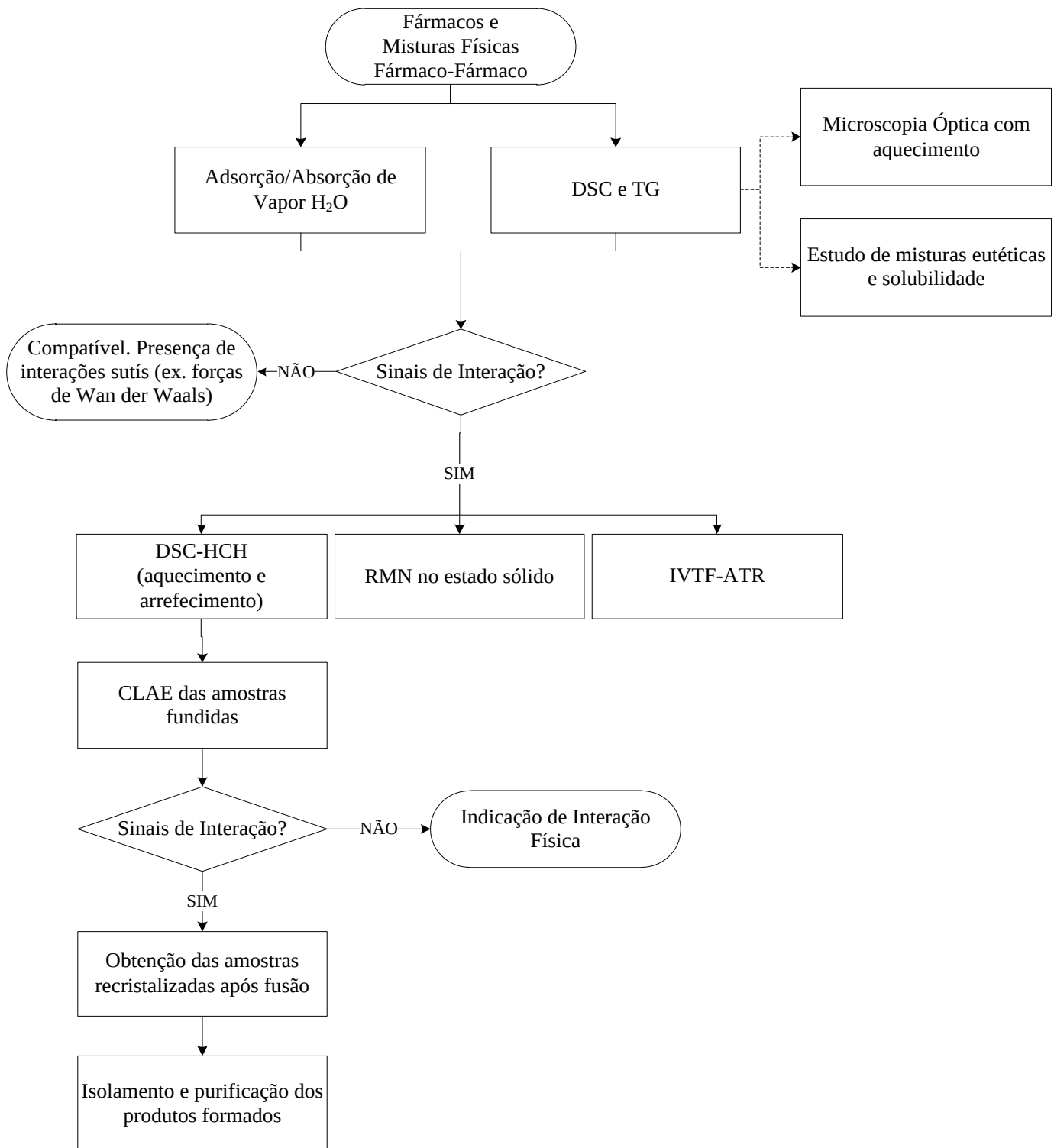
Os insumos farmacêuticos ativos foram cedidas pelo LAFEPE, Brasil, sendo: AZT (Northeast[®], lote DY070041), pureza de 97,9%; 3TC (Hangzhou[®], lote 071208), pureza de 100,0% e EFV (Cristália[®], lote 1289/07), pureza de 98,0%. Os solventes utilizados foram água purificada e acetonitrila (J.T. Baker[®] grau HPLC, lote G15C55).

Protocolo do Estudo

O diagrama de fluxo (Fig. 1) apresenta o protocolo utilizado para a avaliação da interação fármaco-fármaco. Em primeiro lugar, medidas de calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG), com investigação detalhada dos fenômenos térmicos ocorridos por meio da microscopia óptica com aquecimento (MO), somados os resultados da análise de isotermas da absorção de vapor d'água dos fármacos, misturas físicas binárias e ternária foram selecionadas para rápida interpretação. Tais resultados possibilitam a identificação do ponto eutético das misturas e correlação com a solubilidade.

A investigação das possíveis interferências responsáveis pelas alterações no perfil térmico dos compostos foi procedida por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e refletância total atenuada (FTIR-ATR) e ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN). O detalhamento do caráter da reação foi viabilizado por meio de DSC de aquecimento e resfriamento (DSC-HCH) e posterior análise do material fundido por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Figura 1 - Diagrama de fluxo para a avaliação da interação fármaco-fármaco.



Fonte: Contrução Própria

Preparação das Amostras

As misturas físicas binárias e ternária foram preparadas na proporções de 1:1 e 1:1:1 (p/p) através de agitação em Vortex (Barnstead Thermolyne Maxi Mix II, 37600, Lote 39296EJ) por 15 minutos, para as análises gerais. Já proporções variadas foram utilizadas na avaliação do ponto eutético das misturas binárias. A proporção de 1:1:1 (p/p), foi escolhida para maximizar a probabilidade de interações entre as matérias, sem neste momento correlacionar com proporções farmacológicas dos ativos [2:1:2 (p/p), de AZT, 3TC e EFV, respectivamente]. Para o detalhamento do caráter da interação entre fármacos as amostras foram fundidas em forno Baxter Vacuum Drying Oven DP-32 e logo após o processo de fusão das mesmas, estas foram recristalizadas sob banho de nitrogênio líquido. Para a análise visível do processo de fusão por MO as amostras foram preparadas sob leve pulverização em gral por 15 minutos, a fim de se aumentar a interação entre os cristais.

Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Amostras pesando 5 mg foram colocados em porta amostra hermético de alumínio aberto por meio de um furo na face superior, devido a volatilização do produto de degradação térmica, e aquecido de -40 a 200°C a $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ utilizando o calorímetro DSC Q100 com sistema de refrigeração (TA Instruments, EUA). A razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ foi selecionada após análise prévia sob 5 , 10 , 15 e $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$. Nitrogênio foi usado como gás de purga a uma taxa de fluxo de $50\text{mL}.\text{min}^{-1}$. A calibração da temperatura e do fluxo de calor foi realizada com amostras padrão de índio e zinco. As análises de aquecimento – resfriamento - aquecimento (DSC-HCH) foram realizados sob taxa de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ na seqüência -40°C a temperatura final de fusão para cada fármaco e misturas físicas, seguido de resfriamento a uma taxa de $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até -80°C e novo aquecimento da amostra a $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ até a temperatura de decomposição da amostra. Todas as amostras foram realizadas em triplicata.

Termogravimetria (TG)

Amostras pesando 8 mg foram colocadas em porta amostra de platina e aquecidas até 400°C , nas razões de aquecimento de 10 , 15 e $20^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ em termobalança TGA Heat Exchanger

Q50 (TA Instruments, EUA). Nitrogênio foi usado como gás de purga, com 60% de sua distribuição destinada à amostra e 40% à balança. As análises foram realizadas em triplicata.

Microscopia óptica com aquecimento (MO)

As características morfológicas das amostras foram analisadas utilizando um microscópio Olympus BX51 equipado com um adaptador de câmera Olympus (modelo U-TV0.5XC-2; Olympus Corporation, Tokyo, Japão) e PAXcam câmera digital (Modelo: PX-CM; MIS, Villa Park, IL, E.U.A.). As amostras foram aquecidas de 25 a 200°C a uma velocidade de 10°C.min⁻¹ utilizando uma base Linkam de aquecimento/arrefecimento com controlador (Modelos: LTS350, ci94; Linkam Scientific Instruments, Tadworth, Surrey, Inglaterra).

Estudo do ponto eutético da mistura

Variações na temperatura de fusão e entalpia evidenciadas por meio dos resultados obtidos com a DSC para diferentes proporções das misturas binárias de AZT+3TC, AZT+EFV e 3TC+EFV, que variam de 100% a 0%, identificou-se o ponto eutético de cada mistura.

Isotermas de absorção de vapor d'água

A absorção de vapor de água das amostras contendo os fármacos AZT, 3TC e EFV isolados e associados foi medida através de VIT-SA Vapor Sorption Analyzer (TA Instruments, EUA). As amostras, de aproximadamente 30 mg, foram adicionadas ao porta amostra de quartzo seco e submetidas a uma secagem inicial sob vácuo a 40°C até equilíbrio de peso, com critério de equilíbrio escolhido de 0,01% de variação de peso em 2 minutos, por no máximo 60 minutos. A amostra seca foi resfriada à temperatura experimental de 30°C e, em seguida, exposta sequencialmente por diferentes taxas de umidade relativa (UR) que variam de 0% a 90% em 5%, com critério de equilíbrio escolhido de 0,01% de variação de peso em 5 minutos, por no máximo 180 minutos.

Espectroscopia no infravermelho (FTIR-ATR)

Espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um espectrômetro Tensor-Bruker (Bruker Daltonics Inc., Alemanha), com transformada de Fourier e refletância total atenuada (Miracle ATR) e Opus Spectroscopy Software version 6. As amostras foram introduzidas

diretamente a cavidade do dispositivo de ATR e pressionadas por meio de uma prensa hidráulica com ponta giratória e pressão micrômetrica, exercendo pressão de 530 psi sobre a amostra, a fim de se conferir um íntimo contato desta com a superfície do cristal. Os resultados foram obtidos por meio da média entre as varreduras, obtidas de 4000 a 400 cm^{-1} .

Ressonância Magnética Nuclear no estado sólido (RMN)

Todos os espectros de RMN ^{13}C CP/MAS foram adquiridos em 75,4 MHz para ^{13}C usando um Chemagnetics CMX-300 e um espectrômetro da sonda Chemagnetics equipado com um módulo de lápis de giro. As amostras foram acondicionadas em rotores de 7,5 mm de zircônia usando tampas de Kel-F e girou no ângulo mágico em 5,2 kHz. Espectros foram adquiridos com faixa lateral total suppression (TOSS), a 3,0 s reciclar atraso, dissociação e um campo de cerca de 60 kHz. O pulso $1\text{H } 90^\circ$ foi de 4,5 μs , e o tempo de contato foi de 5 ms. Um total de 2048 transientes foram adquiridas para cada espectro. O tempo de defasagem para o espectro dissociação interrompido (não é mostrado) foi de 50 μs . Espectros foram externamente referenciados tetramethylsilane usando o pico metilo do hexamethylbenzene (ppm 17,35). Todos os ^{13}C CP/MAS espectros de RMN foram escalados para o maior pico em cada espectro. Os deslocamentos químicos relatados são reprodutíveis em $\pm 0,1$ ppm.

Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Após a fusão da amostra dos fármacos isolados, misturas binárias (1:1, p/p) e mistura ternária (1:1:1, p/p/p) por meio do DSC-HCH, as placas de DSC foram rompidas e, as amostras contidas no interior, solubilizadas em quantidades conhecidas de fase móvel acetonitrila:água (50:50) a fim de se obter suas quantificações por meio do método descrito por SOARES et al., (2011). O experimento foi realizado em triplicata.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

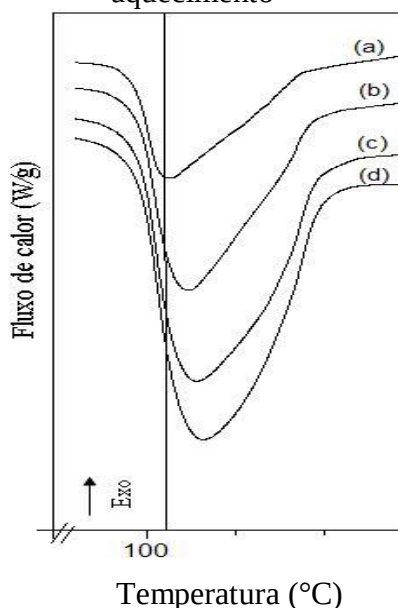
Interação Fármaco-Fármaco por Calorimetria Exploratória Diferencial

Avaliou-se o processo de fusão da mistura física dos três fármacos por meio de quatro diferentes razões de aquecimento (β), com a finalidade de se avaliar o deslocamento e/ou aumento do intervalo da reação ($T_f - T_i$) e variação do consumo de energia. A amostra apresentou o primeiro evento endotérmico, sob β de $5^\circ\text{C}/\text{min}$, em ΔT 92-103 $^\circ\text{C}$ com ΔH 52 J/g;

sob β de 10°C/min, em ΔT 92-105°C com ΔH 46 J/g; sob β de 15°C/min, em ΔT 94-106°C com ΔH 47 J/g e sob β de 20°C/min em ΔT 92-107°C com ΔH 41 J/g (Fig 2). O referencial teórico trás para fármacos isolados, conduzindo no geral, para o aumento no valor de β , um aumento nas temperaturas T_{onset} , T_{pico} e T_f , sem alterar ΔH , uma vez que a partir do início da fusão, o efeito do aumento da temperatura à custa do aumento da razão de aquecimento é minimizado devido à absorção de calor (evento endotérmico) pelo material à medida que ele funde (MATOS; MERCURI; BARROS, 2009).

Diferentemente do apresentado, a amostra contendo a mistura física de três diferentes fármacos, apresentou aumento de T_{onset} e T_{pico} gradual em concordância com o aumento de β , devido ao menor tempo para a ocorrência da interação entre as matérias sólidas, diminuindo o efeito de missibilidade dos mesmos e aumentando a faixa de fusão, contudo houve uma diminuição de ΔH a cada aumento de β , provando que a mistura não se comporta como os três fármacos isolados, pois neste caso ΔH seria independente. Com base no exposto escolheu-se β de 10°C/min para a continuação dos experimentos por ser mais usual na prática científica.

Figura 2 - Curvas de DSC de AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p), sob diferentes razões de aquecimento

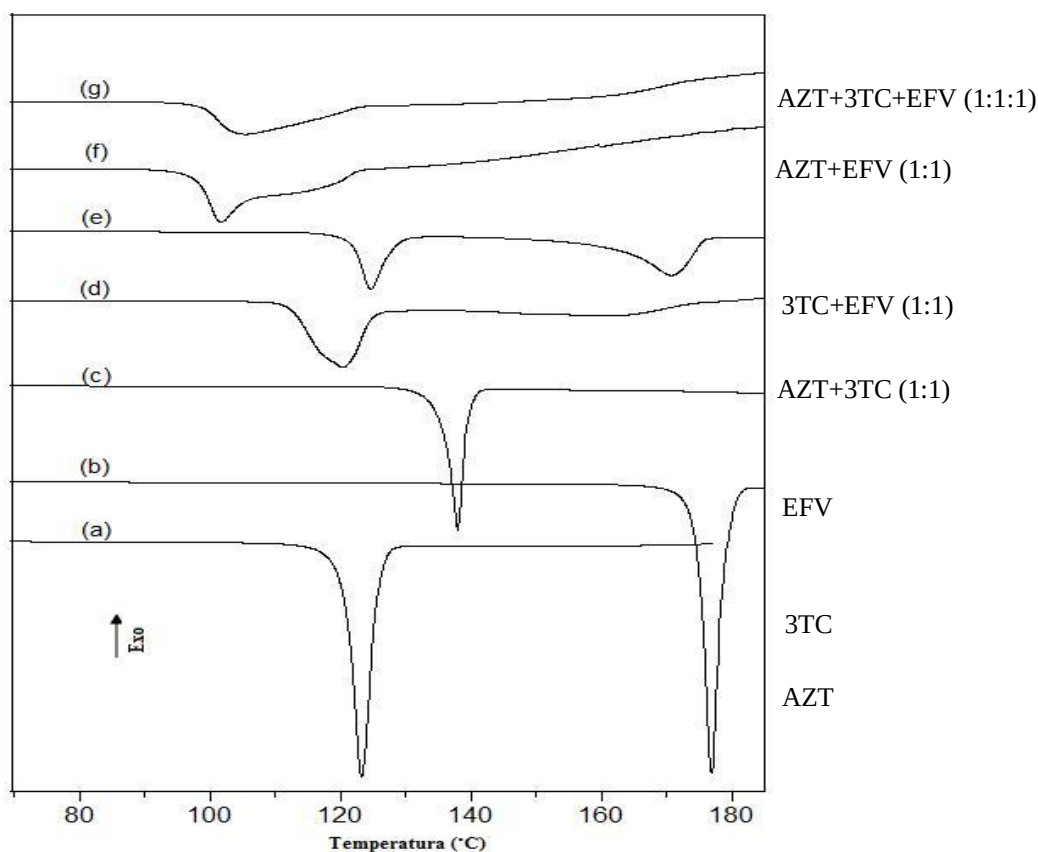


(a) 5°C/min, (b) 10°C/min, (c) 15°C/min e (d) 20°C/min.

A Figura 3 ilustra as curvas de DSC para os fármacos misturas binárias e ternária, nas quais pode-se avaliar que o(s) evento(s) endotérmico(s) característico(s) de fusão. O AZT (a)

apresentou ΔT (117-123°C) e ΔH 96 J/g, em concordância com os valores publicados anteriormente (ARAÚJO et al., 2003; ARAÚJO et al., 2005, RODRIGUES et al., 2005). O 3TC (b) apresentou ΔT (171-177°C) e ΔH 113 J/g, em concordância com os valores publicados por Harris e colaboradores (1997) para a forma polimorfica II, anidra, de provável inferior solubilidade aquosa que a forma I (PF 126°C, ΔH 114 J/g, com 1 mol de água para cada 5 moles de fármaco). O EFV (c) apresentou ΔT de 130 a 137°C e ΔH 50 J/g em concordância a forma polimorfica I de maior estabilidade térmica e provável menor solubilidade aquosa, tal fármaco, apresenta mais quatro outras formas polimórficas metaestáveis, as quais convertem-se na forma I (PF - forma II: 116°C, forma III: 108°C, forma IV: 95°C e forma V: 108°C) (RADESCA et al., 2004) e forma amorfa (DONEY, 2007).

Figura 3 - Curvas de DSC dos fármacos isolados e suas misturas binárias e ternária.



(a) AZT, (b) 3TC, (c) EFV, (d) AZT+3TC (1:1, p/p), (e) 3TC+EFV (1:1, p/p), (f) AZT+EFV (1:1, p/p), (g) AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p), sob β 10°C.min⁻¹.

A mistura binária de AZT + 3TC (1:1, p/p) (d) apresentou um primeiro evento endotérmico com ΔT_1 (110-120°C) e ΔH_1 53 J/g característico ao AZT e segundo evento

endotérmico com ΔT_2 (140-163°C) e ΔH_2 19 J/g correspondente ao 3TC. O comportamento da mistura evidencia a missibilidade dos fármacos após a fusão do AZT ocorre quase total solubilização do 3TC neste, restando apenas uma pequena parcela, representada por um pico alargado e de baixa intensidade, devido a grande variação dos pontos de fusão individuais.

A mistura binária de 3TC + EFV (1:1, p/p) (e) apresentou primeiro evento endotérmico com ΔT_1 (118-125°C) e ΔH_1 26 J/g associado ao EFV e segundo evento endotérmico com ΔT_2 (143-171°C) e ΔH_2 44 J/g correspondente ao 3TC, o comportamento da mistura evidencia uma antecipação da temperatura de fusão para o EFV, contudo o 3TC não se solubiliza em grande proporção no mesmo, devido a diferença de polaridade, ainda ocorrendo a presença de uma banda de fusão alargada referente ao 3TC.

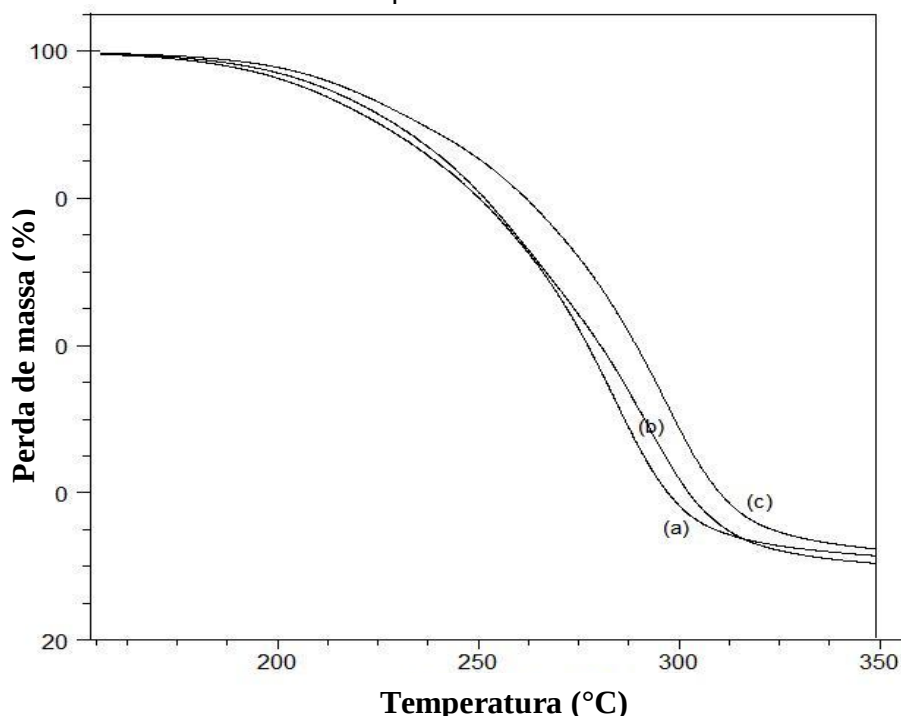
A mistura binária de AZT + EFV (1:1, p/p) (f) apresentou um ΔT de 94 a 102°C e um ΔH de 66 J/g, evidenciando uma antecipação da fusão do AZT seguida da fusão do EFV dentro de uma mesma faixa de fusão alargada, explicando a ocorrência de uma maior difusão da temperatura entre as moléculas no estado líquido, fazendo com que a fusão do EFV seja significativamente deslocada. Tal fato pode ser corroborado pela menor distância apresentada entre as faixas de fusão dos fármacos, apesar de haver uma grande diferença de polaridade entre as moléculas.

Interação Fármaco-Fármaco por Termogravimetria

Avaliou-se a decomposição térmica da mistura física dos fármacos por meio de três diferentes razões de aquecimento (β), com a finalidade de se avaliar o deslocamento da temperatura inicial da reação (T_{onset}), o aumento do intervalo de reação ($T_f - T_i$) e a possível ocorrência de novas etapas de decomposição.

A amostra apresentou da mistura de AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p), sob β de 10°C/min, uma etapa com variação de massa, sendo ΔT de 184-303°C com Δm de 62%; sob β de 15°C/min, a amostra apresentou duas reações, sendo ΔT_1 de 203-283°C com Δm_1 de 39% e ΔT_2 de 83-312°C com Δm_2 de 23%; e sob β de 20°C/min, a amostra apresentou duas reações, sendo ΔT_1 de 198-252°C com Δm_1 de 13% e ΔT_2 de 252-316°C com Δm_2 de 48% (Fig. 4). A mudança da razão de aquecimento altera a cinética das reações existentes.

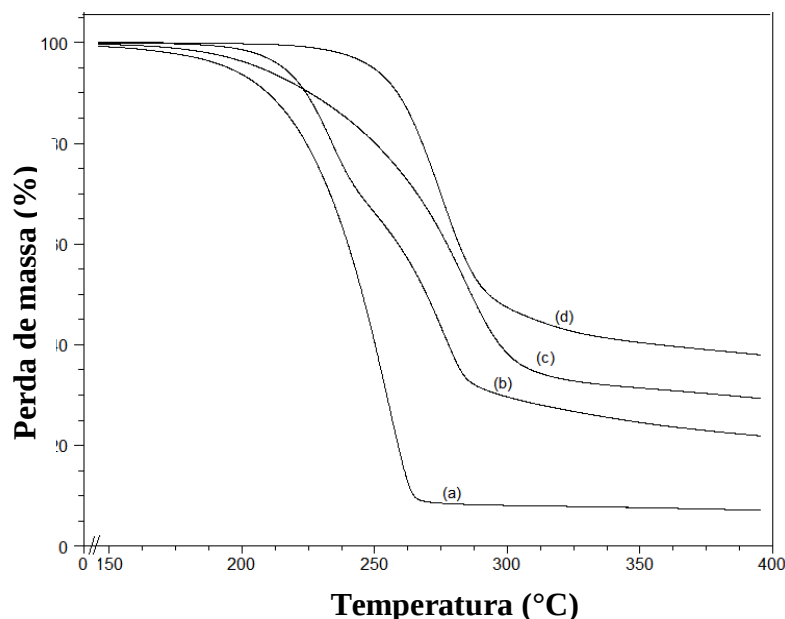
Figura 4 - Curvas de TG de AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p) sob diferentes razões de aquecimento.



(a) 10°C/min, (b) 15°C/min e (c) 20°C/min.

Logo, após a determinação dos perfis de decomposição térmica dos fármacos e das mistura ternária, observou-se as curvas de TG das mesmas, realizadas em triplicata (Fig. 5). O AZT (267,24 g/mol) apresentou, até 400°C, dois eventos com variação de massa, sendo os valores médios das triplicatas ΔT_1 204-250°C com Δm_1 31,71%, equivalente a 85 g/mol, e ΔT_2 250-284°C com Δm_2 33%, equivalente a 88,5 g/mol, restando após a temperatura de 284°C a massa equivalente a 94 g/mol, que é decomposta em uma terceira etapa à temperaturas mais altas que 400°C. Tais resultados não reproduzem totalmente os resultados publicados anteriormente, havendo variações de ΔT e Δm .

Figura 5 - Curvas de TG dos fármacos isolados e sua mistura ternária.



(a) EFV, (b) AZT, (c) AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p) e (d) 3TC, sob β de 10°C/min.

Segundo Araújo e colaboradores (2003), a primeira etapa (153-249°C) apresenta Δm_1 52% (129 g/mol), equivalente a formação da timina (126 g/mol) com liberação dos gases (N_2 + 2-furano metanol + furano metanol = 138 g/mol), a segunda etapa consequência da clivagem do grupamento azido (37 g/mol) responsável pela perda da timina e liberação dos gases (CO + CO_2 + C) (249-357°C), apresenta Δm_2 20.3% (54 g/mol), e a terceira etapa (360-650°C) apresentando Δm_3 28.2% (75 g/mol), referente a liberação de material carbonáceo.

Com base no exposto, dentro da faixa de temperatura avaliada, pode-se correlacionar a decomposição verificada com a literatura. Na primeira etapa ocorreu a liberação do composto furano metanol, 2-furano metanol e nitrogênio. Na segunda etapa houve a liberação de 88 g/mol correlacionada diretamente com perda a timina pela clivagem do grupamento azido (126 g/mol), tendo restado o azido na termobalança (37 g/mol).

O 3TC (229,3 g/mol) apresentou, até 400°C, evento com variação de massa, sendo a ΔT de 238 a 296°C com Δm de 49%, equivalente a 113 g/mol, sendo correlacionável com o seu principal produto de degradação e também precursor de síntese, a citosina (112 g/mol) (BEDSE et al., 2009), restando após a temperatura de 296°C a massa equivalente a 116 g/mol, equivalente ao 4-metiol-2-oxatolana (118 g/mol), não sendo este decomposto até 400 °C. A ausência de uma

etapa de desidratação evidencia a presença do polimorfismo não hidratado, correspondente a forma II (HARRIS et al., 1997).

O EFV (315,68 g/mol) apresentou, até 400 °C, uma reação com variação de massa, correspondente a ΔT de 198 a 265°C com Δm de 89% (278 g/mol), equivalente a liberação de um intermediário ionizado instável do amino álcool devido a atmosfera inerte da reação (287 g/mol), restando após 265°C a massa equivalente a 36 g/mol, correlacionável com carbonila (28 g/mol). A rota desidratativa descrita na literatura aponta a degradação do EFV em amino álcool e a associação deste ao gás carbônico, formando o composto quinolina (271 g/mol) (MAURIN et al., 2002; RIBEIRO et al., 2007; VIANA et al., 2008).

A mistura dos fármacos também apresentou, até 400°C, apenas uma reação com variação de massa, com valores médios de ΔT 186 a 308°C e com Δm de 63%. Neste caso observa-se que a associação dos fármacos diminui a estabilidade térmica dos mesmos, uma vez que T_{onset} do processo de decomposição da mistura é menor do que para todos os fármacos isolados. Associa-se tal fato ao deslocamento do processo de fusão da mistura, que ocorre em uma faixa de temperatura mais anômala (93-105°C), fazendo com que ocorra um longo período de contato das amostras líquidas antes do início da decomposição do sistema em 186°C.

A mistura apresenta um comportamento singular, contudo tendência ao comportamento de decomposição térmica do efavirenz, supostamente devido a menor interação deste com as outras duas moléculas de polaridade semelhantes (Fig. 5). A perda de massa do sistema de 63%, equivale a 511 g/mol, assumindo que os fármacos associados degradam-se isoladamente nos seus respectivos produtos da reação inicial, verificando-se que a Δm da decomposição da mistura engloba todos os Δm s da primeira reação de cada um dos fármacos, podendo-se supor que a degradação da mistura forma o 2-furano metanol para o AZT, a citosina para o 3TC e o intermediário ionizado do amino álcool para o EFV, obtendo-se a massa de 498 g/mol, havendo uma diferença de 14 g/mol.

Tal diferença pode ser explicada devido a pequenas variações nas integrações manuais dos decaimentos ou ao início de uma segunda etapa de decomposição isolada de um dos fármacos, sendo a massa pequena demais para ser correlacionada com a formação de um produto de degradação oriundo de incompatibilidade destes produtos quando associados no estado líquido.

Interação Fármaco-Fármaco por Microscopia Óptica com aquecimento

Uma das abordagens mais simples a se usar na busca da compreensão dos deslocamentos ocorridos no processo de fusão e diminuição destas entalpias para as misturas contendo os fármacos associados está na análise visual do processo de fusão.

Por meio das imagens obtidas, ilustradas na Tabela 1 (linhas A, B e C), pode-se observar que os três cristais estudados apresentam formas morfológicas diferenciadas e bem características, com processos de fusão bem definidos. Contudo, não podemos associar a morfologia do cristal à solubilidade do composto, uma vez que o EFV apresenta cristais na forma de agulha, com menor área superficial e mesmo assim possui devido a sua apolaridade, a menor solubilidade dentre os compostos.

É importante ressaltar que ao aquecer o sistema, desta vez sob atmosfera ambiente ao invés de inerte (N_2) em um sistema de menor precisão quanto a medição e difusão do calor adicionado ao sistema, por meio do aquecimento constante a $10^\circ C/min$, a verificação dos processos foi evidenciada a olho nú e com isso, podem ocorrer pequenas variações nas temperaturas do processo de fusão quando comparadas as temperaturas verificadas por meio do diferencial do fluxo de calor no DSC.

A mistura física de AZT + 3TC (1:1, p/p) apresentou uma maior redução do tamanho do cristal para o AZT durante a leve pulverização em gral, uma vez que morfológicamente seu cristal apresenta-se em uma forma mais retangular, proporcionando maiores pontos de quebra em relação a forma morfológica do cristal de 3TC, característico por apresentar arestas com diâmetros mais proporcionais (Tabela 1, linha D). Os cristais de AZT acomodaram-se na parte exterior dos cristais de 3TC, com fusão iniciando-se em $104^\circ C$, confirmando a antecipação deste processo, estendendo-se até $115^\circ C$, solubilizando grande parte dos cristais de 3TC, que iniciou sua transição de fase até atingir um equilíbrio (sólido e líquido eutético). O equilíbrio foi interrompido a $134^\circ C$ com a fusão do restante de 3TC do sistema, tendo tal processo finalizado em $140^\circ C$. O baixo consumo de energia para concluir a transição de fase do 3TC ($19 J/g$), confirma que grande quantidade de fármaco já havia sido transformada.

Para as misturas físicas de AZT + EFV (1:1, p/p) e 3TC + EFV (1:1, p/p), apresentou-se maior redução do tamanho do cristal para o EFV durante a leve pulverização em gral, uma vez que morfológicamente seu cristal apresenta-se em uma forma de agulha, proporcionando maiores pontos de quebra em relação as formas morfológicas dos cristais de AZT e 3TC (Tabela 1, linha

E e F). Na mistura de AZT + EFV os cristais de EFV acomodaram-se na parte exterior dos cristais de AZT, a fusão do fármaco AZT presente na mistura iniciou-se a temperatura de 100°C. O AZT fundido foi capaz de solubilizar completamente o EFV aderido externamente ao seu cristal, devido ao tamanho reduzido deste, a maior difusão da temperatura entre as moléculas no estado líquido e pela estreita distância entre as faixas de fusão dos fármacos, apesar de haver grande diferença de polaridade entre as moléculas. Paralelamente a este processo, o AZT continua a se fundir devido ao maior tamanho de partícula e ao compartilhamento do calor do sistema com o processo endotérmico do EFV (Tabela 1, linha E).

Na mistura de 3TC + EFV (1:1, p/p) os cristais de EFV acomodaram-se na parte exterior dos cristais de 3TC, iniciando sua fusão a 124°C, não sendo capaz de solubilizar completamente o 3TC aderido externamente ao cristal, devido a diferença de polaridade. Este sistema permaneceu em equilíbrio (3TC sólido + EFV líquido eutético) até fusão do 3TC em 175°C, estendendo-se até 178°C (Tabela 1, linha F).

Para a mistura ternária, evidenciou-se cristais de EFV em tamanho reduzido ao redor de cristais de AZT e 3TC. A fusão da mistura ocorre em uma única fase, contudo percebe-se a olho nú, a completa solubilização do AZT e 3TC em uma única sub-fase e posterior solubilização do EFV remanecente em uma sub-fase secundária (Tabela 1, linha G).

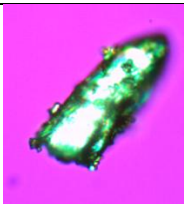
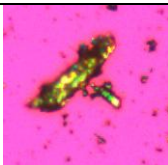
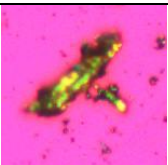
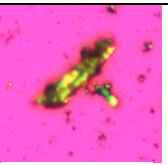
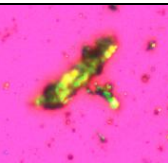
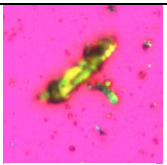
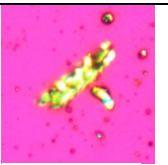
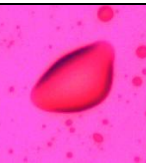
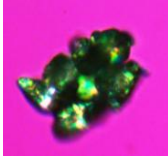
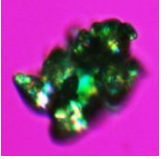
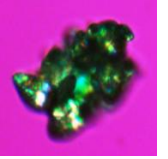
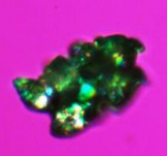
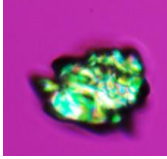
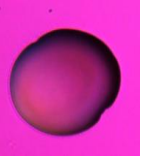
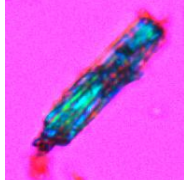
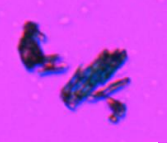
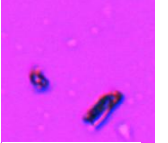
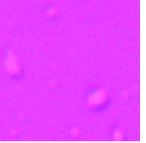
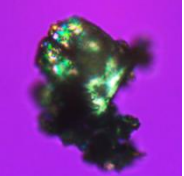
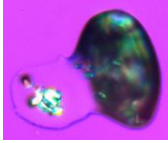
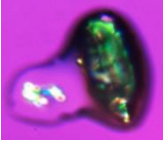
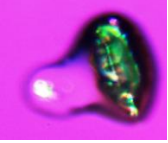
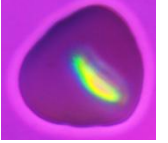
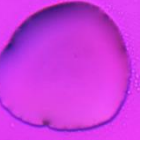
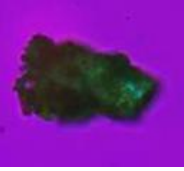
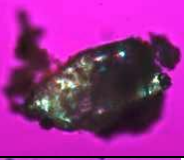
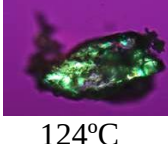
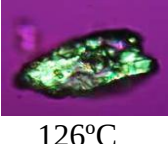
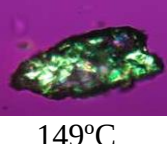
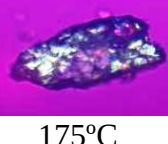
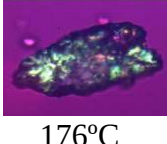
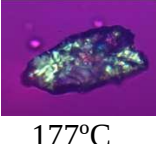
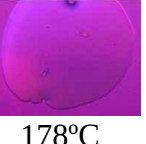
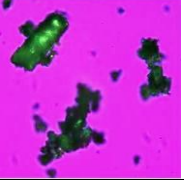
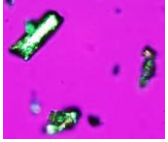
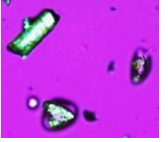
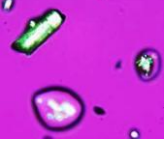
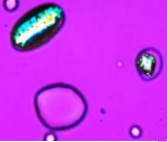
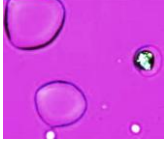
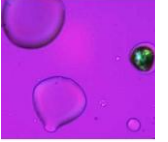
Avaliação do estudo do ponto eutético da mistura

Com base na observação da influência da mistura dos fármacos na diminuição da estabilidade térmica das misturas binárias e ternária, com antecipação da temperatura de fusão e decomposição desta e, visando correlacionar os resultados obtidos com um possível aumento da solubilidade aquosa destes compostos e minimizar o impacto relativo a baixa solubilidade do EFV em uma possível forma farmacêutica associação em dose fixa (ADF), realizou-se este estudo.

Para tal, avaliou-se por meio de DSC o processo de fusão das misturas binárias em diferentes proporções (de 0 a 100%) (Tabela 2) e a mistura ternária foi avaliada na proporção de AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p), para se maximizar as possíveis interações e na proporção de AZT+3TC+EFV (2:1:2, p/p/p), sendo esta a proporção terapêutica desta associação. A solubilidade aquosa a temperatura ambiente (25°C) do EFV (0,009 mg/mL), AZT (77 mg/mL) e 3TC (1020 mg/mL) (CAFFARO; DEZANI; SERRA, 2009). O menor ponto de fusão ocorrido

em um único processo de fusão para o sistema, definido como ponto ou proporção eutética, foi de 80:20 para AZT+3TC, de 50:50 para AZT+EFV e de 20:80 para 3TC e EFV. A mistura ternária de AZT+3TC+EFV apresentou menor ponto de fusão para a proporção terapêutica (2:1:2, p/p/p).

Tabela 1 - Ilustração do processo de fusão das amostras por microscopia óptica com aquecimento.

Amostras	Linha	25 °C	Etapas do processo de fusão: fármacos, misturas binárias (1:1) e ternária (1:1:1)						
AZT	A		 110°C	 112°C	 115°C	 117°C	 120°C	 122°C	 125°C
3TC	B		 165 °C	 167°C	 170 °C	 172°C	 175°C	 182°C	 185 °C
EFV	C		 125°C	 125°C	 126°C	 126°C	 127°C	 127°C	 128°C
AZT + 3TC	D		 104°C	 109°C	 112°C	 115°C	 134°C	 139°C	 140°C
AZT + EFV	E		 100°C	 107°C	 113°C	 115°C	 108°C	 119°C	 121°C
3TC + EFV	F		 124°C	 126°C	 149°C	 175°C	 176°C	 177°C	 178°C
AZT + 3TC + EFV	G		 102°C	 104°C	 112°C	 119°C	 122°C	 123°C	 131°C

Interação Fármaco-Fármaco por isotermas de absorção de vapor d'água

O isoterma obtido evidenciou a baixa adsorção de água pelo EFV, sendo este não hidrofílico, uma vez que sob atmosfera com 90% UR, a massa de água ganha pela amostra foi equivalente a 0,05 moles de água/amostra (Δm de 0,32%).

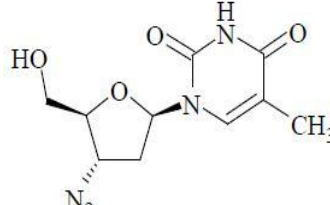
Para o AZT, o isoterma obtido apresentou até a atmosfera de 50% UR um ganho de peso da amostra crescente e positivo (Δm de 0,07%), equivalente a 0,01 moles de água/amostra, já em 55% UR o ganho de massa se manteve igual, tendendo ao equilíbrio, contudo a 60% UR, a amostra iniciou uma perda de massa, havendo a liberação da massa adsorvida pela amostra de AZT, restando na amostra uma Δm de 0,06%), já em atmosfera de 70% UR o valor final da massa adsorvida ficou negativo, evidenciando completa perda de toda a massa adsorvida e o início de um processo de decomposição do AZT. Sob atmosfera de 90% UR, identificou-se perda de massa total da amostra de -0,18%. No processo de desadsorção, ao proceder-se o decaimento da umidade, o processo de decomposição do AZT apenas continuou a ocorrer linearmente, chegando a 5% UR com variação de massa de -0,39%.

De acordo com a molécula do AZT, a massa de 0,39% é equivalente a 1 g/mol, sendo equivalente a perda de um hidrogênio (Figura 11 e 12). Poderíamos discutir que este hidrogênio perdido corresponde ao hidrogênio da imida, uma vez que a água estaria atuando como uma base fraca de Lewis e este hidrogênio seria lábil, contudo, a perda da massa correspondente ao elemento hidrogênio deveria ocorrer até atmosfera de 90% UR e posteriormente, no máximo de manter constante, mas a 90% UR a massa desprendida da amostra era inferior a 1 g/mol.

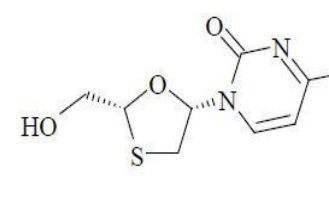
Para o 3TC a variação da massa adsorvida e desadsorvida foi menos proporcional para as UR mais baixas, mais especificamente abaixo de 35% de UR. A amostra apresentou sob 90% UR uma variação de massa de 0,10%, equivalente a 0,01 moles de água/amostra.

67

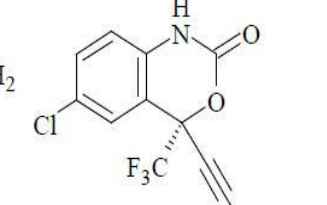
Amostra	Proporção (%)	Único Ponto de Fusão			
		P. Fusão (°C)	ΔH (J/g)	T onset (°C)	T endset (°C)
AZT:3TC	100 - 0	124,33	112,1	116,26	133,05
	80 - 20	115,01	99,42	100,37	126,34
	60 - 40				
	50 - 50				
	40 - 60				
	20 - 80				
	0 - 100	177,62	124,6	169,1	186,19
AZT:EFV	100 - 0	124,33	112,1	116,26	133,05
	80 - 20	116,42	96,56	94,66	126,61
	60 - 40	103,89	87,23	92,56	126,10
	50 - 50	101,63	75,22	92,05	123,66
	40 - 60	109,57	65,93	92,02	124,81
	20 - 80	105,18	49,88	94,36	123,66
	0 - 100	137,97	53,33	128,74	143,19
3TC:EFV	100 - 0	177,62	124,6	169,1	186,19
	80 - 20				
	60 - 40				
	50 - 50				
	40 - 60				
	20 - 80	128,57	45,80	117,41	136,54
	0 - 100	137,97	53,33	128,74	143,19
AZT:3TC:EFV	1:1:1	113,03	36,99	101,18	121,24
	2:1:2	104,33	42,18	98,62	122,33



AZT



3TC



EFV

Pontos de Fusão Distintos									
Fármaco de menor Ponto de Fusão					Fármaco de maior Ponto de Fusão				
P. Fusão (°C)	ΔH (J/g)	T onset (°C)	T endset (°C)	PA	P. Fusão (°C)	ΔH (J/g)	T onset (°C)	T endset (°C)	PA
113,06	73,36	100,04	119,63	AZT	137,96	6,566	127,75	147,81	3TC
114,95	57,53	100,38	125,0	AZT	148,61	16,52	133,36	171,16	3TC
112,77	47,48	94,19	119,36	AZT	152,5	37,75	125,80	161,23	3TC
114,72	23,13	104,39	122,31	AZT	164,73	83,16	130,62	175,19	3TC
123,88	4,885	119,97	133,32	EFV	174,02	104,3	160,01	181,63	3TC
125,27	23,87	115,52	134,39	EFV	170,72	56,81	145,07	177,87	3TC
124,62	28,90	115,80	131,17	EFV	170,81	47,65	140,80	177,6	3TC
126,46	32,73	118,11	134,12	EFV	170,64	35,63	147,19	177,34	3TC

Para a mistura binária de AZT+3TC a amostra apresentou comportamento parecido com o do fármaco 3TC. Sob atmosfera de 10 a 40% UR ocorreu um variação de massa positiva e proporcionalmente crescente, chegando a 40% UR, com uma variação da massa adsorvida pela amostra de 0,04%, havendo perda de 0,01% desta massa adsorvida anteriormente na faixa de 40-45% UR (Δm de -0,001%, equivalente a 0,04% - 0,04%), ainda não sendo negativa em relação a massa do fármaco, sendo apenas uma perda da umidade adsorvida até tal umidade.

Para a mistura binária de AZT+EFV a amostra apresentou aumento de massa até atmosfera de 40% UR, com ganho de massa de 0,02%, e em 45% UR, o ganho de massa caiu para 0,02% (queda de 0,01%), ficando nula em 50% UR e negativa a partir de 55% UR. A queda de massa da amostra foi crescente até 70% UR (decaimento total de -0,36% da massa da amostra), com ganho de massa entre 70-90%, finalizando mesmo assim em um percentual negativo de massa de -0,17% adsorvida. Ao levar em consideração a massa da amostra de AZT+EFV (582,92 g/mol), tal massa equivalente a 1 g/mol, valor idêntico a perda de massa do AZT isolado).

A mistura binária de 3TC+EFV apresentou ganho de massa, até a atmosfera de 40% UR, de 0,04%, com decaimento da massa adquirida em 60% UR, na qual a amostra anulou o ganho de massa, apresentando perda -0,06% em 70% UR, com posterior ganho de massa de 70-90% UR, atingindo a Δm de 0,17%. Correlacionando a perda de massa ao peso molecular de 3TC+EFV (544,98 g/mol), temos 0,33 g/mol. O processo de desadsorção de umidade foi uma parábola, contudo, terminou com perda de massa inicial do sistema, chegando a 5% UR com Δm -0,12%, equivalente a perda de 0,65 g/mol da amostra.

A mistura dos 3 fármacos apresentou ganho de massa apenas em 10% UR, com ganho de 0,01% da massa. De 10-90% UR o sistema perdeu massa para o ambiente com finalização em 90% UR, com -2,1% de massa, levando em consideração o peso molecular da mistura (812,22 g/mol), tem-se o equivalente a perda de 17 g/mol da mistura. Para a desadsorção de umidade a perda de massa foi quase que nula, finalizando a amostra em 10% UR com -2,33% de massa, equivalente a perda de 18,96 g/mol da amostra.

Com base nos resultados pode-se afirmar que os fármacos não são higroscópicos e não apresentam a formação de formas hidratadas, geralmente de menor solubilidade do que a forma anidra, podendo ser manipulados por granulação úmida e em ambientes com percentuais normais de umidade relativa.

Discussão das evidências de interação fármaco-fármaco

Na interpretação dos resultados apresentados até o momento pode-se afirmar a ocorrência de interações entre as misturas de fármacos analisadas, não sendo puramente sobreposições de características ou fenômenos individuais. Contudo, não é possível classificar estas interações, ou interpretar possíveis impactos destas na qualidade de um futuro produto farmacêutico.

Há evidências de miscibilidade entre os fármacos, sendo esta uma interação entre dois líquidos ou um sistema em equilíbrio, composto por um sólido e um líquido eutético, não sendo verdadeiras reações no estado sólido, contudo, não se sabe se estas interações são de carácter apenas físico, ou se são interações químicas intrínsecas da degradação dos fármacos, como hidrólise ou oxidação, mas sem grandes reações químicas covalentes; ou reações correspondentes à reações covalentes entre os fármacos.

Sem tais informações, as interações não podem ser associadas a incompatibilidades, uma vez que, como verificado na redução do ponto de fusão do sistema e possível aumento da solubilidade do mesmo, tais interações podem ser vantajosas e propositais. Dando continuidade ao estudo continuou-se os experimentos sugeridos por meio do diagrama de fluxo para a avaliação da interação fármaco-fármaco, disponível na Figura 1.

Interação Fármaco-Fármaco por Espectroscopia no Infravermelho

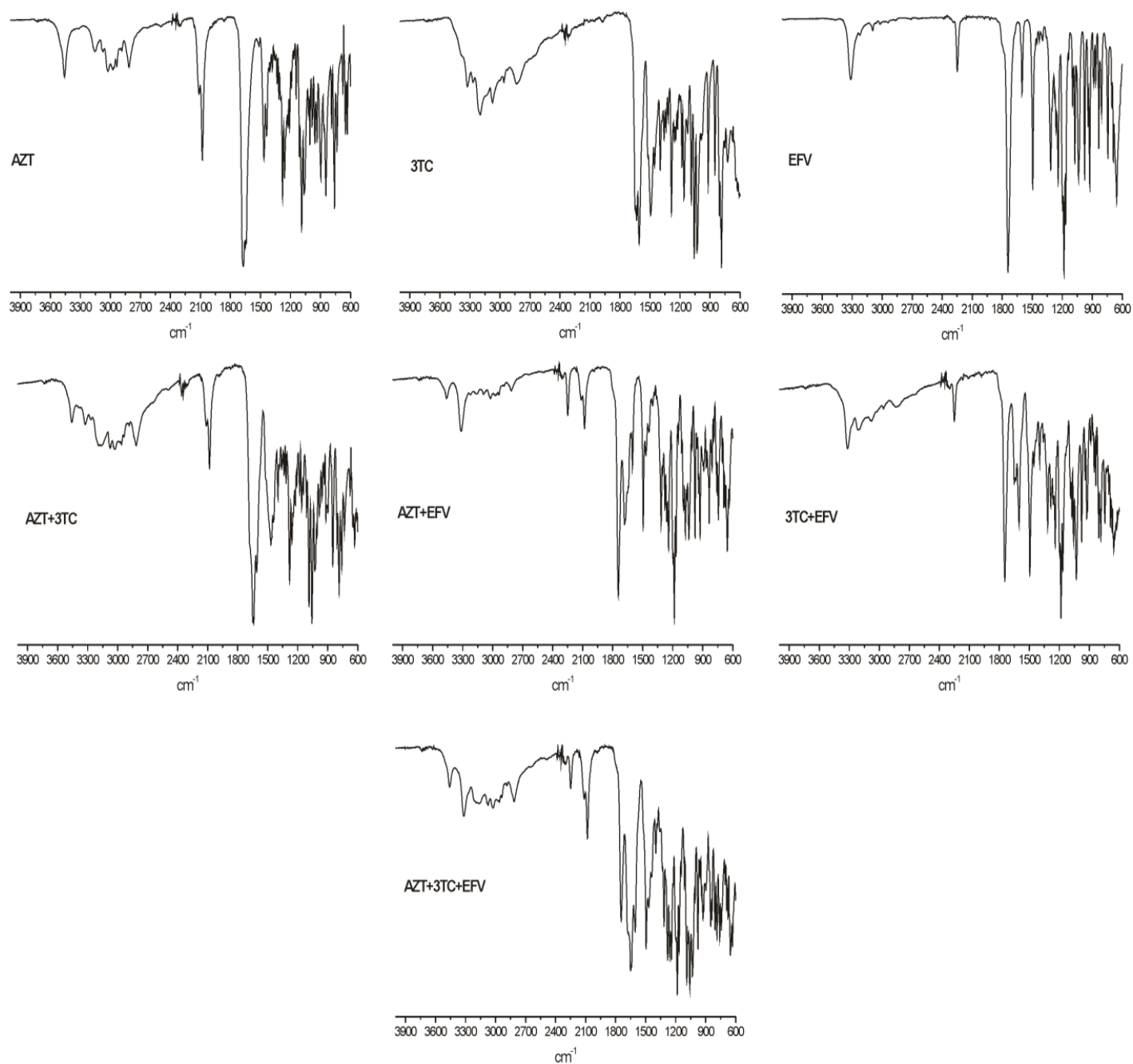
O espectro da mistura binária de AZT+3TC apresenta predominantemente as bandas características do AZT, em relação ao 3TC. Contudo as bandas referentes a carbonila (1683 e 1608 cm^{-1} , respectivamente), apresentaram alterações referentes, provavelmente, devido a interação física entre as amostras, podendo estar correlacionadas a formação de ligações de hidrogênio entre os hidrogênios e as carbonilas dos respectivos fármacos. Nos espectros das demais misturas binárias, AZT+EFV e 3TC+EFV, ocorreu a sobreposição das bandas, com prevalência do EFV.

O espectro da mistura ternária apresenta essencialmente as bandas características do EFV, que são: 3314 cm^{-1} (vibração de estiramento N-H); 2249 cm^{-1} (vibração do estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$); 1726 cm^{-1} (vibração de estiramento $\text{C}=\text{O}$); 1486 e 1606 cm^{-1} (vibração de estiramento $\text{C}=\text{C}$ do anel benzeno); 1322 e 1188 cm^{-1} (vibração de estiramento C-O). Na região de menor frequência, podemos atribuir às bandas de 1074 e 1039 cm^{-1} as vibrações de deformação C-H no plano e em 976 e 927 cm^{-1} na deformação C-H fora do plano. Devido a metodologia utilizada,

não foi possível visualizar as vibrações de estiramento de C-F e C-Cl, que se encontram nas frequências abaixo de 900 cm^{-1} (Fig. 6).

Logo pode-se inferir que, a partir do método realizado, não é possível verificar nenhuma interação química entre os fármacos fisicamente associados e submetidos a uma pressão de 530 psi, superior a todas as pressões envolvidas no processo de fabricação de uma forma farmacêutica sólida, incluindo a etapa de compressão dos pós, sendo neste caso a interação entre as matérias, a temperatura ambiente, essencialmente física.

Figura 6 - Espectro de IVTF-ATR dos fármacos AZT, 3TC e EFV isolados e suas misturas binárias e ternária¹.



Misturas binárias AZT+3TC (1:1, p/p), EFV+AZT (1:1, p/p), EFV+3TC (1:1, p/p) e a mistura ternária AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p).

¹As figuras individuais e ampliadas do espectro de IVTF-ATR encontram-se no ANEXO A.

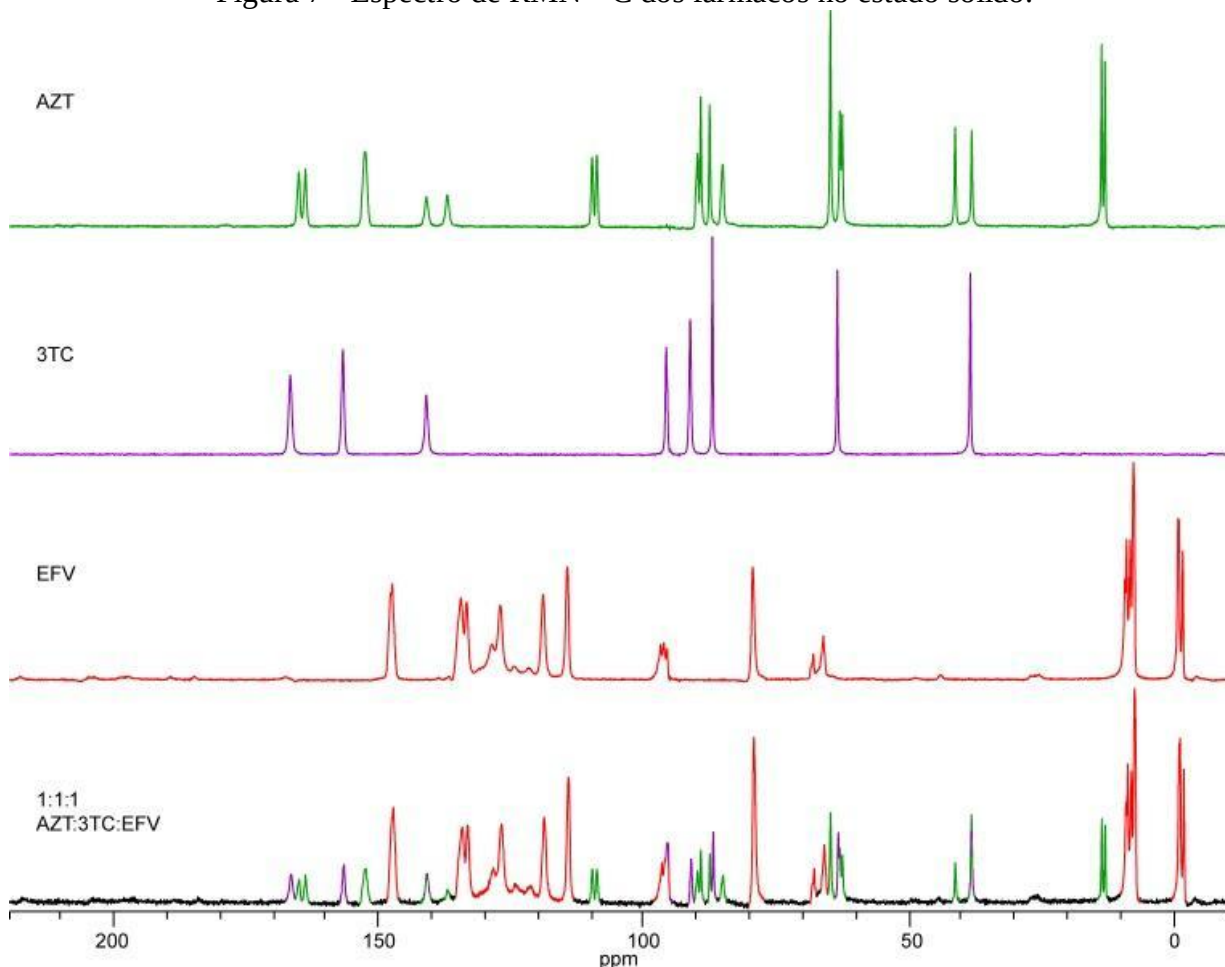
Interação Fármaco-Fármaco por RMN- C^{13} no estado sólido

Obteve-se os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Carbono¹³ (RMN C^{13}) no estado sólido. A figura 7 apresenta os respectivos espectros da Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz, isolados, assim como da mistura equimolar das três substâncias (AZT + 3TC + EFV). Percebe-se que, no espectro da mistura equimolar (AZT + 3TC + EFV), todos os sinais dos carbonos, verificados nos espectros isolados, apresentam apenas sobreposição. Não foi verificada variação nos deslocamentos químicos dos sinais e nem aparecimento de novos sinais, o que nos fornece fortes indícios de que não houve interação química ou físico-química entre as substâncias no estado sólido.

Outro aspecto relevante da análise dos espectros de RMN C^{13} foi a duplicação de sinais no espectro da Zidovudina pura (AZT). Esperava-se apenas um sinal para cada carbono, se tivéssemos apenas uma forma morfológica. Este resultado nos fornece também fortes indícios de que a Zidovudina sólida, empregada na análise, apresentava duas formas morfológicas. Tal fato não ocorre com a Lamivudina (3TC), onde o espectro da substância pura apresenta um único sinal para cada carbono, respectivamente. A utilização de RMN, no estado sólido, é uma ferramenta importante no estudo do polimorfismo de sólidos. Com relação ao EFV, o espectro de RMN C^{13} , não apresentou duplicação explícita de sinais, como no da Zidovudina, no entanto, alguns sinais, como os carbonos do anel ciclopropânico, assim como um carbono acetilênico, parecem também estar duplicados, o que nos leva a crer também na possibilidade de polimorfismo.

Uma vez que por meio dos experimentos de análise térmica realizados não se evidenciou diferentes formas polimórficas das matérias primas zidovudina e efavirenz, realizou-se novamente o DSC destas duas matérias primas isoladas aumentando a razão de aquecimento, com a finalidade de se evidenciar diferentes processos de fusão de ocorrência em temperaturas muito próximas. Contudo, a curva de DSC obtidas, evidenciaram apenas um processo de fusão para cada amostra, não sendo possível estabelecer uma correlação entre os resultados de análise térmica com os resultados do RMN no estado sólido, havendo a necessidade de se continuar a investigação de possíveis presenças de diferentes formas polimórficas das amostras.

Figura 7 - Espectro de RMN ^{13}C dos fármacos no estado sólido.



Interação por DSC Aquecimento-Resfriamento-Aquecimento

As curvas de DSC-HCH foram obtidas para se verificar o comportamento termodinâmico da amostra recristalizada e se correlacionar tais resultados com a possível transição de fase sólida. O AZT apresentou no primeiro aquecimento um evento endotérmico característica de fusão em ΔT (119-125°C) e ΔH 96 J/g, seguido de resfriamento rápido com a finalidade de congelamento da amostra e segundo aquecimento com o aparecimento de um evento característico de transição vítrea (T_g) com ΔT (35-37°C) do fármaco, com ausência de fusão, confirmando a formação de AZT liofilizado, seguido de processo exotérmico de decomposição com ΔT (184-240°C) e ΔH 1111 J/g, seguido de dois processos endotérmicos que podem ser correlacionados com o início de um segundo processo de decomposição térmica que se inicia com a absorção de energia para que ocorram rompimentos de ligações químicas e volatilização do composto químico formado (Fig. 8).

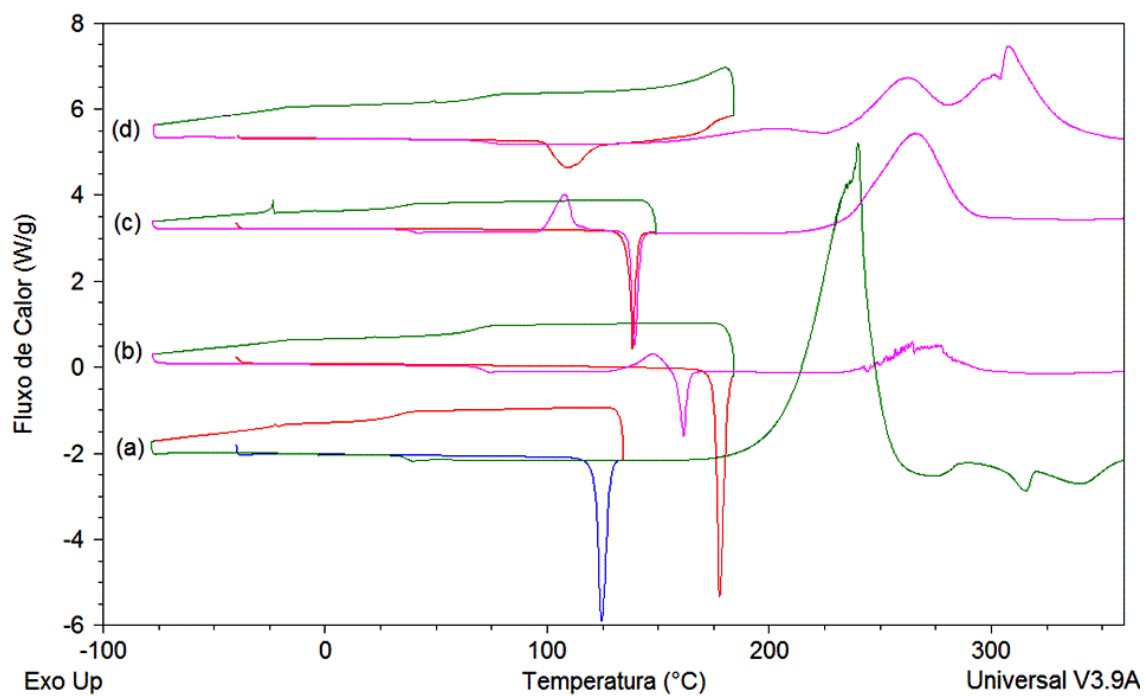
O 3TC apresentou no primeiro aquecimento um evento endotérmico característica de fusão em ΔT (176-178°C) e ΔH 117 J/g, seguido de resfriamento rápido com a finalidade de congelamento da amostra e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) com ΔT (69-70°C) do fármaco, característica de substância amorfa, com pico de exotermico de cristalização com ΔT (131-148°C) com ΔH 35 J/g, seguido imediatamente com a fusão deste, ΔT (158-161°C) e ΔH 28 J/g, não sendo este um polimorfo descrito na literatura, e posterior pico de decomposição da amostra (Fig. 8).

O EFV apresentou no primeiro aquecimento uma reação endotérmica característica de fusão em ΔT (137-138°C) e ΔH 53 J/g, seguido de resfriamento rápido com a finalidade de congelamento da amostra e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) da parcela amorfa com ΔT (38-40°C) do fármaco, pico de exotermico de cristalização com ΔT (98-107°C) com ΔH 41 J/g, seguido imediatamente com a fusão deste nas mesmas condições da primeira fusão, sendo a forma polimórfica recristalizada a mesma utilizada inicialmente, a forma polimórfica I, e posterior pico de decomposição da amostra com ΔT (234-266°C) com ΔH 386 J/g (Fig. 8).

A mistura ternária dos fármacos apresentou no primeiro aquecimento uma reação endotérmica característica de fusão em ΔT (96-108°C) e ΔH 48 J/g, seguido de resfriamento rápido com a finalidade de congelamento da amostra e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) em ΔT (71-75°C), característica a sólido amorfo, seguido de pico de exotermico de decomposição, sem a ocorrência de cristalização ou fusão (Fig. 8).

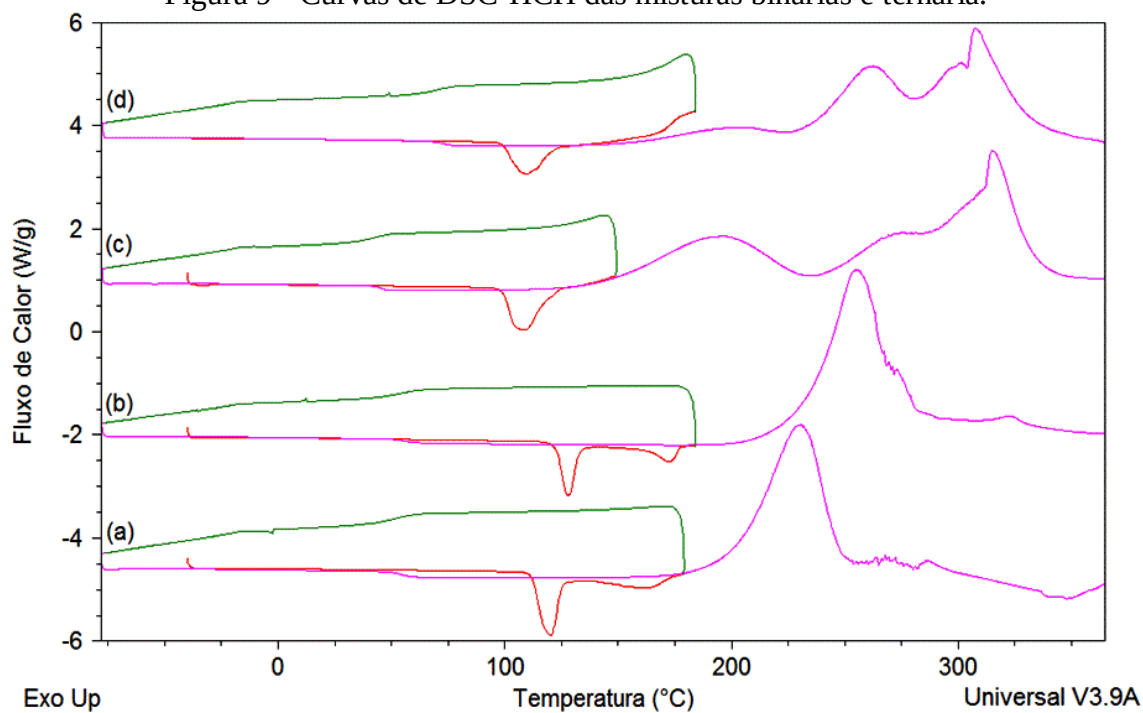
A mistura binária de AZT+3TC apresentou no primeiro aquecimento duas reações endotérmicas características da fusão de AZT e 3TC, respectivamente, nas temperaturas da apresentadas (Fig. 3), seguido de resfriamento e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) com ΔT (50-57°C) do fármaco, com ausência de cristalização ou fusão, confirmando a formação de um sólido amorfo, seguido de processo exotérmico de decomposição (Fig. 9).

Figura 8 - Curvas de DSC-HCH dos fármacos isolados e sua mistura ternária.



(a) AZT, (b) 3TC, (c) EFV e (d) AZT + 3TC + EFV (1:1:1, p/p/p).

Figura 9 - Curvas de DSC-HCH das misturas binárias e ternária.



(a) AZT + 3TC (1:1, p/p), (b) 3TC + EFV (1:1, p/p), (c) AZT + EFV (1:1, p/p), (d) AZT + 3TC + EFV (1:1:1, p/p/p).

A mistura binária de AZT+EFV apresentou no primeiro aquecimento duas reação endotérmicas características da fusão de AZT e EFV, respectivamente, nas temperaturas da apresentadas (Fig. 3), seguido de resfriamento e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) com ΔT (44-47°C) do fármaco, com ausência de cristalização ou fusão, confirmando a formação de um sólido amorfo, seguido de processo exotérmico de decomposição (Fig. 9).

A mistura binária de 3TC+EFV apresentou no primeiro aquecimento duas reação endotérmicas características da fusão de EFV e 3TC, respectivamente, nas temperaturas da apresntadas (Fig. 3), seguido de resfriamento e segundo aquecimento com o aparecimento de uma reação característica a transição vítrea (T_g) com ΔT (54-57°C) do fármaco, com ausência de cristalização ou fusão, confirmando a formação de um sólido amorfo, seguido de processo exotérmico de decomposição (Fig. 9).

Interação por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE

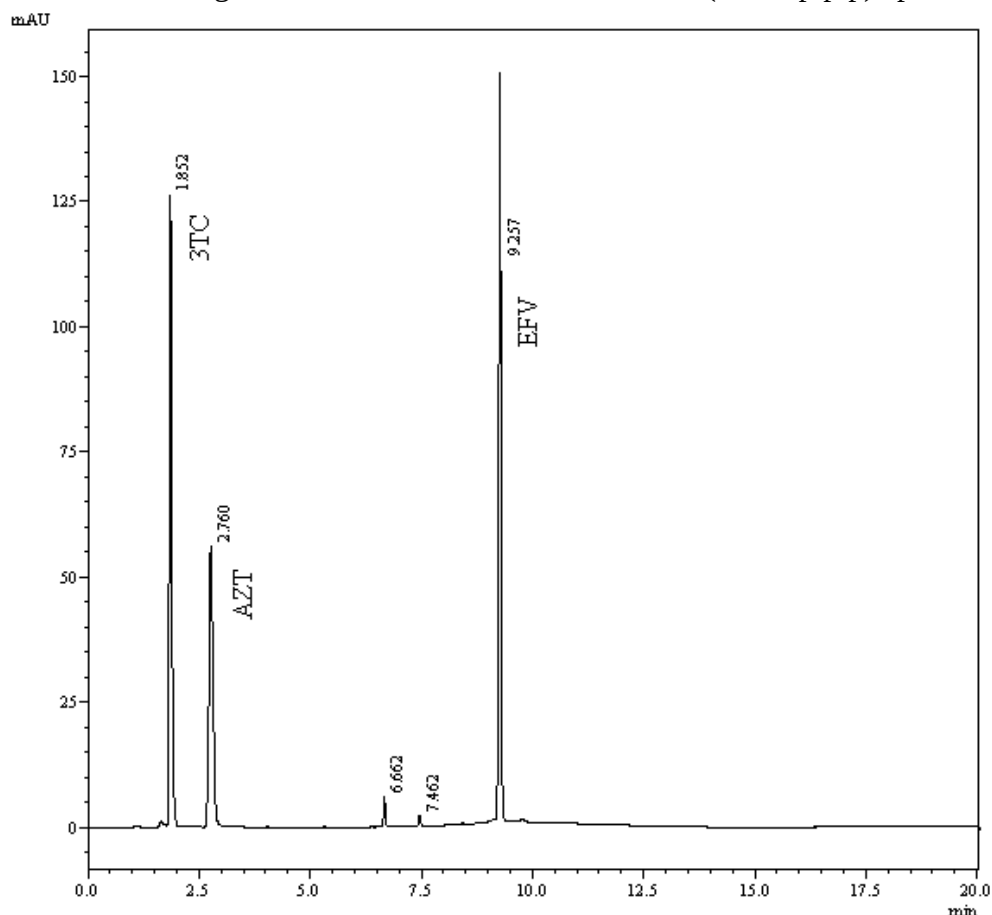
Já se comprovou anteriormente a alteração das características térmicas dos fármacos quando associados, com isso após a fusão das amostras contidas no interior dos porta amostras de DSC, as mesmas foram resfriadas e solubilizadas em fase móvel a fim de se investigar a presença de interações químicas entre os fármacos ou comprovar apenas a ocorrência de interações físicas por missibilidade das amostras.

Os fármacos fundidos isoladamente apresentaram mesmo tempo de retenção e área sobre o pico proporcional aos padrões não fundidos, evidenciando a adequada recuperação da amostra por esta técnica. Contudo, a mistura ternária apresentou após fusão cinco picos cromatográficos, sendo dois destes associados a produtos formados durante a interação da amostra no estado líquido. Os produtos formados representam 1,59% da área total dos 5 picos. Tais resultados não podem ser expressos de forma quantitativa, devido a ausência de padrões para os dois produtos formados (Fig. 10).

Ao analisar as amostras fundidas das misturas binárias evidenciou-se a formação destes dois produtos de degradação (PD1 e PD2) apenas na mistura binária de AZT + EFV (1:1, p/p), comprovando a identidade destes compostos pela análise do espectro no ultravioleta-visível obtido pelo detector de arranjos de diodo dos mesmos. Ao se correlacionar o lambda máximo dos PD1 ($\lambda=250\text{ nm}$) e PD2 ($\lambda=248\text{ nm}$) com os espectros no UV-Vis dos fármacos AZT ($\lambda=$

266 nm) e EFV ($\lambda = 246$ nm), pode-se evidenciar a semelhança destes com o espectro do EFV, apresentando estes λ máximo em comprimento de onda semelhantes ao EFV.

Figura 10 - Cromatograma da mistura de AZT+3TC+EFV (1:1:1, p/p/p) após a fusão.



Os picos formado nos tempos de retenção 6.662 e 7.462 correspondem aos produtos de degradação formados.

Ao se investigar a possível causa da formação destes dois produtos de degradação, analisa-se que provavelmente estas não ocorrerão em condições normais de temperatura e pressão no estado sólido. A formação do PD1 é plausível de ser formado nas condições de temperatura de fusão no estado líquido, uma vez que a zidovudina promove a tautomerização do efavirenz (Fig. 11).

A formação do PD2 é plausível nas condições de temperatura de fusão no estado líquido, uma vez que ocorre uma ligação covalente instável entre os dois compostos, resultante na recuperação da zidovudina e de um plausível sub-produto do efavirenz (Fig. 12).

Uma vez que a hidroxila do AZT reage com o EFV, degradando a molécula e o fármaco 3TC também possui tal grupamento, pode-se supor que esta reação ocorreria entre AZT + 3TC também, porém os resultados obtidos não evidenciam tal interação. Pode-se explicar o ocorrido uma vez que a mistura binária de AZT+EFV apresenta processo de fusão integrado, já a mistura de 3TC e EFV não apresenta fusão completa em uma única faixa de temperatura, não sendo o EFV capaz de solubilizar completamente e deslocar significativamente a temperatura de fusão do 3TC.

Figura 11 - Sugestão do mecanismo de formação do PD1 da fusão de AZT + EFV (1:1).

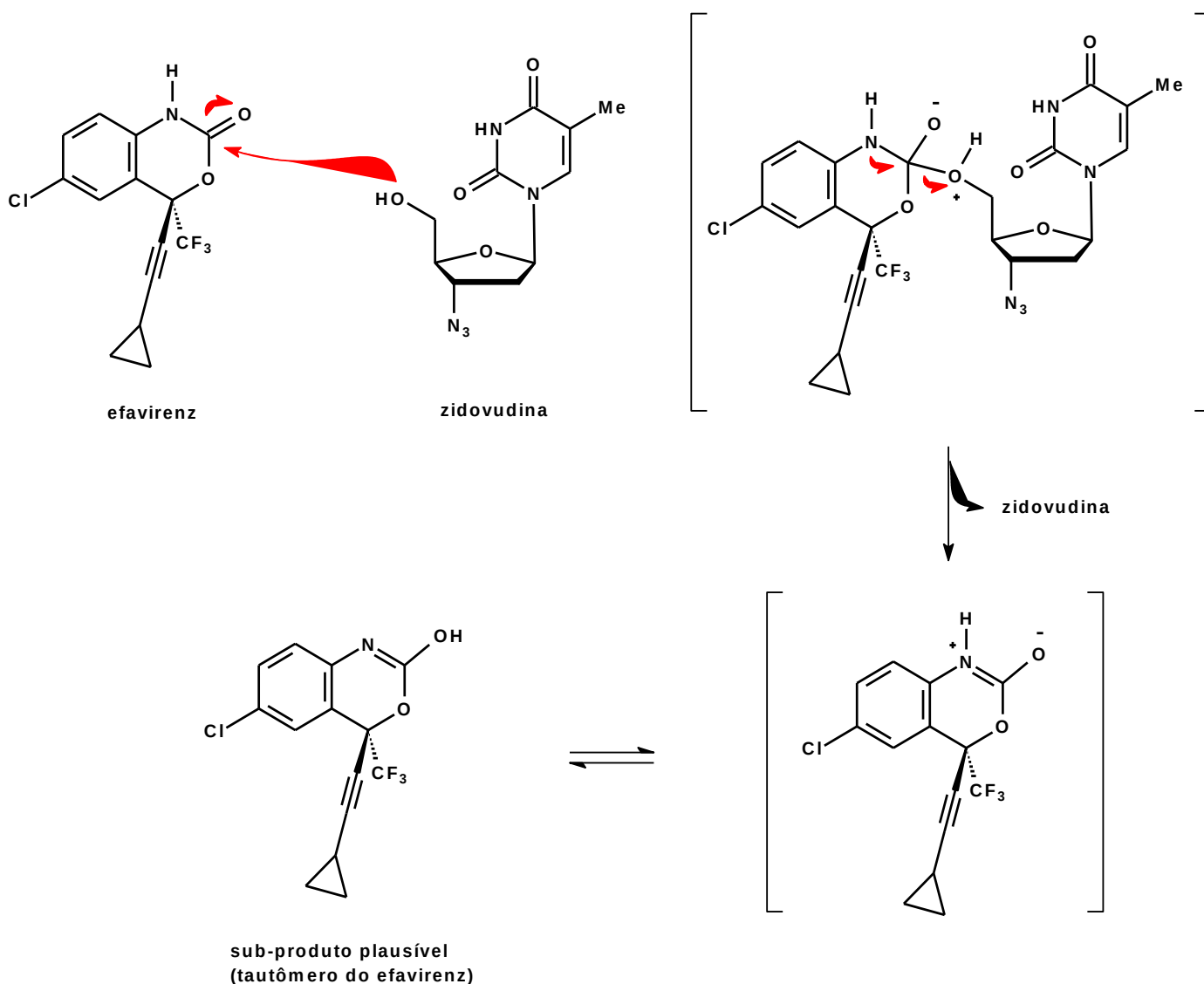
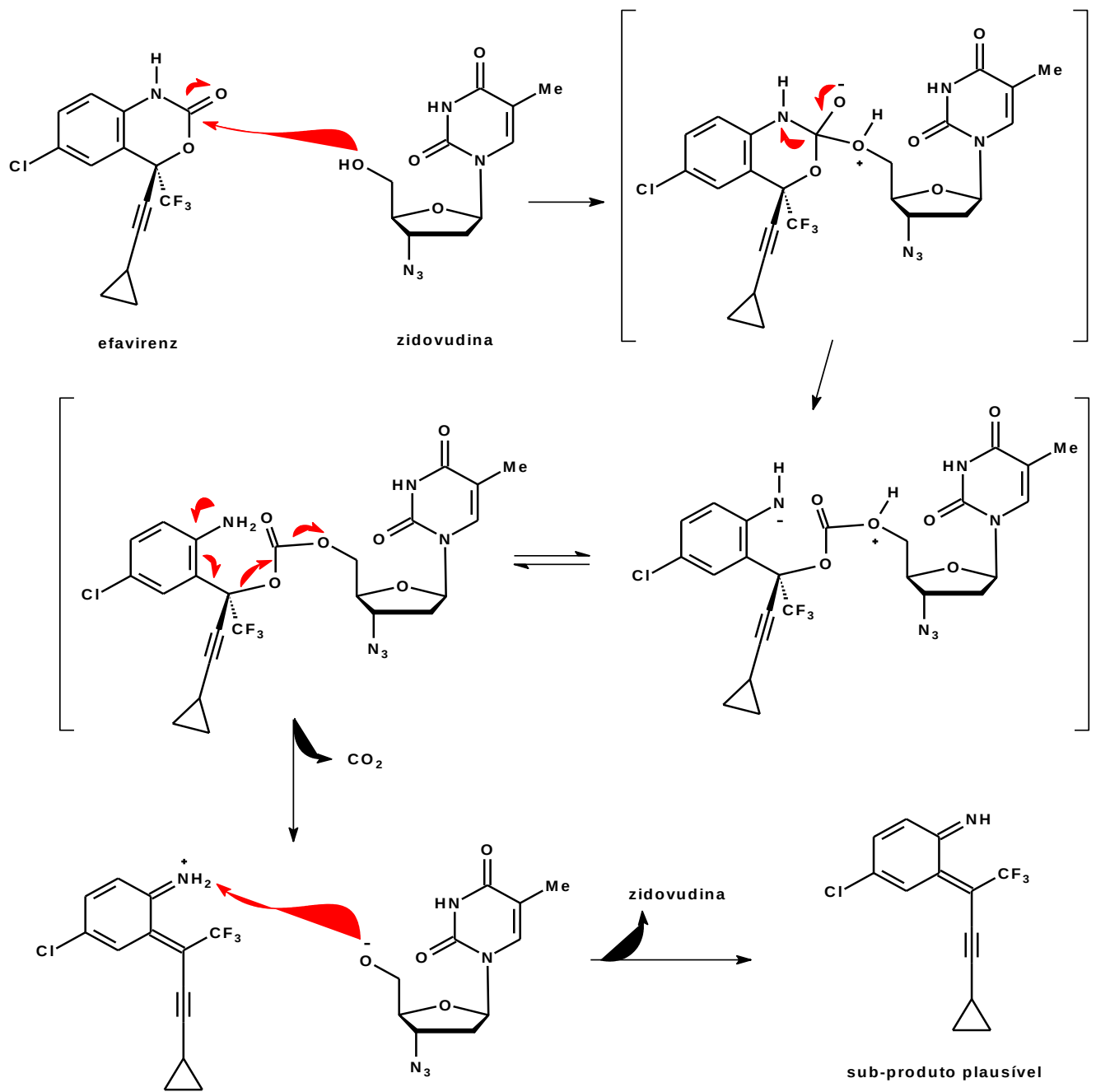


Figura 12 - Sugestão do mecanismo de formação do PD2 da fusão do AZT + EFV (1:1).



CONCLUSÕES

Interações físicas associadas a verdadeiras reações no estado sólido não são evidenciadas, interações físicas são evidenciadas na mistura após atingir a temperatura de fusão de um dos fármacos, ocorrendo os fenômenos de missibilidade e deslocamento das faixas de fusão e decomposição. Além das interações físicas uma interação química no estado líquido foi evidenciada entre a mistura binária de zidovudina e efavirenz, responsável pela formação de dois produtos de degradação (PD1 e PD2), havendo a necessidade de se realizar o isolamento e a caracterização destes.

REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, A. A. S.; CIDES, L. C. S.; STORPIRTIS, S.; MATOS, J. R.; BRUNS, R. E. Effects of Experimental Conditions on the Estimation Of Kinetic Parameters of the Thermal Decomposition of AZT Using Factorial Design. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 79, n. 2, p. 697–701, 2005.
- ARAÚJO, A. A. S.; STORPIRTIS, S.; MERCURI, L. P.; CARVALHO, F. M. S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J. R. Thermal analysis of the antiretroviral Zidovudine and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **Inter. J. Pharm.**, v. 260, n. 2, p. 303–314, 2003.
- BYRN, S. T.; PFEIFFER, R. R.; STOWELL, J. G. **Solid-State Chemistry of Drugs**. SSCI Inc: West Lafayette. 2 ed., 1999. 459 p.
- CAFFARO, A. M.; DEZANI, A. B.; SERRA, C. H. R.. **Sistema de Classificação Biofarmacêutica: estudo da solubilidade e dissolução intrínseca de antiretrovirais**. 17º Simpósio Internacional de Iniciação Científica da Universidade de São Paulo (SIICUSP). Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP, SP, 2009.
- DAMIEN, G. Compatibility of the antitumoral lapachone with different solid dosage forms excipients. **STP Pharma Pratiques**, v. 14, p. 303–310, 2004.
- BEDSE, G.; KUMAR, V.; SINGH, S. Study of forced decomposition behavior of lamivudine using LC, LC–MS/TOF and MSN. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 1, p. 55–63, 2009.
- GREGG, S.J.; SING, K.S.W. **Adsorption, Surface Area and Porosity**. Second Ed. London: Academic Press; 1982. 303 p.
- HARRIS, R. K.; YEUNG, R. R.; LAMONT, R. B.; LANCASTER, R. W.; LYNN; S. M.; STANFORTH, S. E. . ‘Polymorphism’ in a novel anti-viral agent: Lamivudine. **J. Chem. Soc., Perkin Trans.** v. 2, p. 2653-2659, 2007.

KISS, D. ZELKO, R. NOVAK, C. EHEN, Z. Application of DSC and NIRS to study the compatibility of metronidazole with different pharmaceutical excipients. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 84, p. 447–451, 2006.

MATOS, J. R.; MERCURI, L.; BARROS, G. **Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos**. In: Farmacotécnica. STORPIRTS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan., 1 ed., p. 32-65, 2009.

MAURIN, M. B.; ROWE, S. M.; BLOM, K.; PIERCE, M. E. Kinetics and Mechanism of Hydrolysis of Efavirenz. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 4, p. 517 – 521, 2002.

DONEY, J. A. **Amorphous efavirenz and the production thereof**. United States. Pat. Appl. Public. 0026073 A1, 01.02.2007.

RADESCA, L. A.; MAURIN, M. B.; RABEL, S. R.; MOORE, J. R. **Crystalline Efavirenz**. United States. Pat. Appl. Public. 6673372 B1, 06.01.2004.

PAUL, I. C.; CURTIN, D. Y. Thermally induced organic reactions in the solid state. **Acc. Chem. Res.** v. 6, p. 217-225, 1973.

RIBEIRO, J. A. A.; CAMPOS, L. M. M.; ALVES, R. J.; LAGES, G. P.; PIANETTI, G. Efavirenz related compounds preparation by hydrolysis procedure: Setting reference standards for chromatographic purity analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, v. 1, p. 298–303, 2007.

RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. F. M.; SILVA, M. A. S.; MATOS, J. R. Aplicação de técnicas termoanalíticas na caracterização, determinação da pureza e cinética de degradação da Zidovudina. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 24, n. 3, p. 383-387, 2005.

SOARES, M.F.R.; SOARES-SOBRINHO, J.L.; SILVA, K.E.R.; ROLIM-NETO, P.J. Simultaneous determination of zidovudine, lamivudine and efavirenz by reverse phase high-performance liquid chromatography-photodiode array detector (RP HPLC-DAD). **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 30, n. 2, p. 273-280, 2011.

VIANA, O.S.; ARAUJO, A.A.S.; SIMOES, R.A.; SOARES, J.L.; MATOS, C.R.S.; GRANGEIRO-JUNIOR, S.; LIMA, C.M.; ROLIM-NETO, P.J. Kinetic Analysis of the Thermal Decomposition of Efavirenz and Compatibility Studies with Selected Excipients. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 27, n. 2, p. 211-6, 2008.

ZOGRAFI, G.; VADAS, E. B.; TOMA, P. Solid-State Phase Transitions Initiated by Water Vapor Sorption of Crystalline L-660-711, a Leukotriene D4 Receptor Antagonist. **Pharm. Research**, v. 8, p. 148-155, 1991.

6. Capítulo III

6.1. DESENVOLVIMENTO FARMACOTÉCNICO

6.1.1Artigo III - Desenvolvimento de novo comprimido antirretroviral contendo zidovudina, lamivudina e efavirenz associados em dose fixa.

Artigo a ser submetido ao AAPS PharmSciTech Journal

Qualis Capes para Farmácia: B2

6.1.1. Artigo III - Desenvolvimento de novo comprimido antirretroviral contendo zidovudina, lamivudina e efavirenz associados em dose fixa

FONTES, D.A.F.¹; SOARES, M.F.L.R.^{1,2}; ALVES, L.D.S.¹; VIEIRA, A.C.C.¹; MOURA, M.L.C.¹; LUZ, C.C.M.¹; ROLIM, L.A.¹; ROLIM-NETO, P.J.¹

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.740-521, Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Ininga, 64.049-550 Teresina – PI, Brasil

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento tecnológico de um novo comprimido contendo os fármacos antirretrovirais de primeira escolha terapêutica Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz [AZT (300 mg), 3TC (150 mg) e EFV (300 mg) respectivamente] associados em dose fixa. O produto visa agregar novas vantagens à terapia atual ao modificar a posologia do EFV e associar este ao produto combinado AZT+3TC. Ao se reduzir o número de comprimidos administrados ao dia, se reduz o custo da terapia e se amplia a adesão do paciente, possibilitando maior acesso ao tratamento e redução de erros na administração. O desenvolvimento apresentou três principais entraves tecnológicos solucionados, dentre estes a dissolução do EFV, a compatibilidade da formulação e a obtenção de um comprimido com dimensões adequadas, devido dificuldades de deglutição de produtos com grandes dimensões. O estudo de compatibilidade fármaco-excipientes, selecionou os melhores excipientes para a formulação. O comprimido foi obtido com peso de 900 mg, sendo 750 mg de insumos farmacêuticos ativos e 150 mg de excipientes (celulose microcristalina, croscarmellose sódica, polivinilpirrolidona, estearato de magnésio, dióxido de silício coloidal e lauril sulfato de sódio). Os resultados dos ensaios de controle de qualidade aplicados à forma farmacêutica desenvolvida apresentaram-se de acordo com as especificações da Farmacopeia Brasileira, e na ausência destas, definidas durante o desenvolvimento do produto. Por meio do teste de dissolução desenvolvido e validado obteve-se,

em 30 minutos, os percentuais dissolvidos de 91,5% para o 3TC, 95,0% para o AZT e 90,2% para o EFV, apresentando-se em acórdância com os produtos de referência disponíveis no mercado. Concluí-se que a abordagem integrada da tecnologia farmacêutica proporcionou a obtenção de um novo produto farmacêutico dentro das exigências regulatórias vigêntes.

Palavras chave: Associação em dose fixa. Antiretrivirais. Formulação. Comprimido. Compatibilidade fármaco-excipientes.

INTRODUÇÃO

Até 1995, o tratamento antirretroviral consistiu-se principalmente em esquemas terapêuticos compostos por monodrogas ou associações binárias de fármacos, apresentando sucesso limitado. Atualmente, fármacos de diversas classes farmacológicas e mecanismos de ação em diferentes estágios de replicação viral têm sido associados. A terapia antirretroviral composta pela associação de três ou mais fármacos denomina-se de altamente ativa (HAART) (DAY, 2003).

Quando tomado de forma diligênte, tais terapias têm melhorado o prognóstico dos pacientes, retardando o aparecimento de linhagens resistentes ao vírus, assim como, retardando a progressão da infecção pelo vírus da AIDS. No entanto, a eficácia da HAART depende do paciente aderir quase perfeitamente ao tratamento, sendo a adesão enfraquecida pela complexidade dos regimes posológicos e pelos efeitos colaterais (MARIER et al., 2007).

Nesse sentido, não só a posologia combinada destes fármacos antirretrovirais se torna de interesse para a maior eficácia do tratamento, mas a associação física desses fármacos em um único produto farmacêutico, uma associação em dose fixa (ADF). Esta, oferece simplificação do regime posológico, proporcionando maior adesão do paciente ao tratamento. A fabricação nacional de produtos em ADF acarreta também na redução do custo produtivo deste medicamento, ampliando o poder de compra dos governos e garantindo o acesso universal a um número cada vez maior de pacientes (SOARES et al., 2011 a; LAVRA et al., 2008).

A HAART tem como terapia de primeira escolha a associação de dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeos (ITRNs), a zidovudina (AZT) e a lamivudina (3TC), e um fármaco inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeos (ITRNN), o efavirenz (EFV). Tais fármacos, são atualmente disponibilizados ao mercado para comercialização em dois produtos farmacêuticos, 3TC (150 mg) associado a AZT (300 mg) na

posologia de dois comprimidos ao dia e, EFV (600 mg) na posologia de um comprimido ao dia, totalizando uma administração de 3 comprimidos ao dia (WHO, 2009). O desenvolvimento do comprimido em ADF a base dos antirretrovirais zidovudina (AZT, 300 mg), lamivudina (3TC, 150 mg) e efavirenz (EFV, 300 mg), almeja alcançar segurança e eficácia clínica, além de viabilidade produtiva.

Tal desenvolvimento possui três principais desafios tecnológicos. O primeiro desafio está relacionado com a dissolução do fármaco EFV nos fluídos gastrintestinais, devido a baixa solubilidade aquosa deste ($\pm 9 \mu\text{g/mL}$) (SATHIGARI et al., 2009). Paralelamente, o segundo desafio está relacionado com as interações fármaco-fármaco e fármaco-excipiente, que podem vir a ocorrer, alterando a estabilidade do produto farmacêutico (SOARES et al., 2011 b; SOARES-SOBRINHO et al., 2010 a; JIN; MADIEH; AUGSBURGER, 2007). Por fim, o terceiro desafio está relacionado ao grande aporte de insumos farmacêuticos ativos (IFA) presentes na formulação (750 mg), que limita a adição de quantidades significantes de excipientes para otimização da formulação e do processo produtivo. Desta forma, limitou-se a trabalhar com formulações de no máximo 900 mg de peso, uma vez que também deve-se levar em consideração a adesão do paciente ao tratamento, devido a inconveniência da administração de uma forma farmacêutica sólida de grande tamanho.

Diante do exposto, o produto desenvolvido caracteriza-se como um novo medicamento, uma vez que estabelece uma nova posologia para o efavirenz. Portanto, a análise do perfil de dissolução comparativo entre o medicamento em ADF desenvolvido e os medicamentos de referência deve ser analisado caso a caso. O AZT e o 3TC apresentam medicamento de referência isolados e associados, devendo ser submetidos a estudos de bioequivalência. O EFV, por não possuir medicamento de referência no mercado, nesta nova concentração, deve ser submetido a estudos de biodisponibilidade. O produto também deve ser submetido a um estudo clínico de Fase III, para a confirmação da eficácia e segurança desta nova posologia proposta ao EFV, sendo os *endpoints* do estudo a medição da carga viral e de células T CD4⁺ (BRASIL, 2010 c; EMEA, 2009; FDA, 2006; WHO, 2005).

Neste sentido, o desenvolvimento deste produto visou avaliar a compatibilidade entre os fármacos e os excipientes, criar microambientes que favoreçam a solubilização dos fármacos, além de obter um comprimido dentro das especificações da Farmacopeia Brasileira 5^a. ed.

(BRASIL, 2010 a) e, na ausência destas, definir as novas especificações durante o desenvolvimento do produto.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Os fármacos foram cedidos pelo Laboratório Farmacêutico de Pernambuco (LAFEPE), sendo: AZT (Northeast[®], lote DY070041), com pureza de 97,9%; 3TC (Hangzhou[®], lote 071208), com pureza de 100,0% e EFV (Cristália[®], lote 1289/07), com pureza de 98,0%. Os excipientes selecionados estão listados na Tabela 1.

Tabela 1 - Lista de excipientes utilizados no estudo de pré-formulação.

Classe	Excipiente	Origem - Fornecedor
Diluyente	Amido de milho pré-gelatinizado	Colorcon - IN516910
	Celulose microcristalina 101 (Ø 50 µm) (CM)	Blanver - 326/05
	Lactose malha 70 (Ø 230 µm) (LAC 70)	Quanti Q - L0913A4033
	Lactose malha 80 (Ø 177 µm) (LAC 80)	Quanti Q - L0722A4003
Agregante	polivinilpirrolidona K-30 (PVP)	ISP - 05500138511V06
	Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)	Metrocel - 12105/10
	Hidroxipropilcelulose (tipo NF) (HPC)	Lafepe - 16345
	Etilcelulose (10 STD PR, tipo IF) (EC)	Colorcon - TH30013T01
Desagregante	Croscarmelose sódica (CMS)	Blanver - 8027/05
	Glicolato de amido sódico (GAS)	Blanver - 19191/05
Lubrificante	Estearato de magnésio (Est. Mg.)	Opção Fenix - 2009121200
Deslizante	Dióxido de silício coloidal (DSColoidal)	Degussa - 3158071326
Surfactante	Lauril sulfato de sódio (LSS)	Vetec - lote 1008436

ESTUDO DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE

Técnica de obtenção das misturas ternária e binárias

Após estudo prévio de compatibilidade fármaco-fármaco dos três fármacos de interesse, por meio de misturas binárias de AZT+3TC, 3TC+EFV e AZT+EFV (1:1, m/m) e ternária AZT+3TC+EFV (1:1:1, m/m/m), iniciou-se a investigação da compatibilidade fármaco-excipientes. Para análise, preparou-se a mistura física ternária dos fármacos AZT, 3TC e EFV (1:1:1 m/m/m), nomeada de ADF, sendo esta submetida à agitação em vortex (Barnstead Thermolyne Maxi Mix II, 37600,) durante 5 minutos. Em seguida, preparou-se as misturas físicas binárias de ADF:excipiente (1:1 m/m), para cada um dos excipientes isolados, agitando cada amostra em vortex durante 5 minutos.

Termogravimetria (TG) e Análise Térmica Diferencial (DTA)

As curvas TG e DTA foram obtidas através do aparelho DTG 60/60H Shimadzu. As condições estabelecidas foram: porta amostra de platina, peso da amostra de 3,0 mg ($\pm 10\%$), faixa de temperatura avaliada de 30 a 600°C, razão de aquecimento de 10°C/min e atmosfera dinâmica de nitrogênio sob fluxo de 50 mL/min. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de índio e zinco.

Desenvolvimento farmacotécnico do comprimido

O desenvolvimento do comprimido foi realizado por meio de testes preliminares, planificação quali-quantitativa dos IFA e excipientes selecionados, juntamente com a otimização do processo produtivo. Lotes de bancada de 300 g foram produzidos para ajuste da formulação e lotes de bancada de 2 Kg foram produzidos para ajuste do processo produtivo. O processo produtivo escolhido foi o de compressão por granulação via úmida, devido as características dos IFA envolvidos.

Os pós foram devidamente pesados em balança semi-analítica (Denver Instrument, APX-3202). A mistura dos pós foi realizada em saco plástico com mistura manual por 20 minutos. A molhagem dos pós ocorreu em malaxadeira, com a adição lenta da solução hidroalcoólica molhante. A granulação ocorreu manualmente, submetendo a massa contra a malha de 2,5 mm. A secagem dos grânulos ocorreu em estufa de ar circulante (Fabbe-Primar, 17104) a 50°C pelo tempo necessário ao grânulo atingir a umidade especificada como desejável, de 1 a 3%. A

calibração dos grânulos ocorreu manualmente, submetendo a massa contra a malha de 1,5 mm. A mistura do grânulo aos excipientes da fase externa ocorreu em saco plástico com mistura manual por 5 minutos para os excipientes de desempenho farmacotécnico (desintegrante e surfactante) e por 2 minutos adicionais, para os excipientes de desempenho produtivo (lubrificantes/deslizantes). Os comprimidos foram obtidos em compressora rotativa de 16 punções (Neuberger, MN-16) com punções circulares de aço inoxidável de 13 mm de diâmetro.

Os controles de qualidade foram realizados segundo Farmacopeia Brasileira 5^a. ed (2010), sendo estes: umidade residual do grânulo (balança de resistência, Sartorius, MA35); dureza (durômetro, Vankel, modelo K-200), peso médio (balança analítica, Shimadzu, AUX 220), friabilidade (friabilômetro, Vankel, FRI-001) e desintegração (desintegrador, Nova Ética, 301-AC). A dissolução (dissolutor, Varian, modelo VK-7000/7010/750D) foi realizada por meio de método de dissolução desenvolvido e validado e o doseamento (cromatógrafo, Shimadzu Prominence, 228/45001/32, com bomba de pressão, LC-20AT) por meio de método analítico publicado para o comprimido (SOARES et al., 2011 a).

Avaliação da liberação *in vitro* dos fármacos

O medicamento desenvolvido teve o seu perfil de dissolução comparado a dissolução de dois produtos disponíveis no mercado. Para o AZT (300 mg) e 3TC (150 mg) utilizou-se como comparação o medicamento COMBIVIR do LAFEPE (lote, 09090226), no lugar do medicamento de referência BIOVIR da Glaxosmithkline. Para o EFV, como não existe medicamento de referência na dosagem selecionada, utilizou-se, apenas como caráter informativo, o medicamento EFAVIRENZ (600 mg) da Aurobindo (lote EA0609008), genérico do medicamento de referência STOCRIN da Merck Sharp & Dohme.

Como a concentração do fármaco no meio de dissolução afeta a saturação do meio e consequentemente a forma de liberação do fármaco, 20 comprimidos do EFAVIRENZ da Aurobindo foram pulverizados e, transferido o equivalente a 300 mg do fármaco para uma cápsula de gelatina dura incolor. Esta cápsula foi acondicionada em uma âncora e a sua dissolução ocorreu simultaneamente com o COMBIVIR, na mesma cuba, simulando os três fármacos em uma mesma formulação.

O teste de dissolução foi devidamente desenvolvido e validado de acordo com a Farmacopéia Americana 33-NF 28 (USP, 2010) e, os perfis de dissolução comparativos entre o

medicamento teste e os referências, foram realizados segundo a Farmacopeia Brasileira 5^a. ed. (2010). A liberação dos fármacos do comprimido no meio de dissolução foi avaliada por 12 unidades do medicamento teste, assim como para os produtos de referência. A cinética de liberação foi avaliada por meio de 5 pontos de coleta: 15, 20, 30, 45 e 60 minutos.

O meio de dissolução selecionado foi a água adicionada de lauril sulfato de sódio (LSS) a 1% (pH 6,8), com volume de 1000 mL; pá como aparato de dissolução, com velocidade de rotação de 100 rpm, e temperatura do meio de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. No desenvolvimento do teste de dissolução realizou-se a avaliação quantitativa da solubilidade dos fármacos na faixa de pH fisiológico (1,2; 4,2 e 6,8, em $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$), pelo método de saturação do meio. Os resultados obtidos apontaram o meio com pH de 6,8 o de melhor desempenho, e eliminou outras faixas de pH, pois além de ocorrer a degradação da lamivudina em meio ácido (pH 1,2), o meio com pH 6,8 foi o único capaz de apresentar um percentual de dissolução (Q) satisfatório e constante para todos os três fármacos (BRASIL, 2010 a; BRASIL, 2010 b; SOARES-SOBRINHO et al., 2008 a).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Aspectos gerais

Considera-se a solubilidade do EFV, fármaco de classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade) de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (AMIDON et al.; 1995), o maior entrave tecnológico do desenvolvimento deste produto. Desta forma, as abordagens iniciais englobaram estratégias de melhorar a solubilidade aquosa deste, visando sua posterior formulação em um produto de ADF.

Inicialmente, projetou-se sistemas de dispersões sólidas (DS) fármaco-polímero, obtidos com os polímeros PVP K-30, PEG 4000 e 6000, em diferentes proporções, por meio de três técnicas produtivas: fusão, malaxagem e rotaevaporação. Além de DS fármaco-fármaco, utilizando os três fármacos envolvidos na formulação, por meio da técnica de fusão. Em relação aos polímeros, o PVP K-30 mostrou-se como o mais eficiente na solubilização do EFV em relação aos PEGs (LIMA et al., 2011; CASTRO et al., 2010).

Paralelamente, ao analisar-se o perfil de dissolução das DS com PVP K-30 nas proporções 1:1, 2:1 e 4:1 (EFV: PVP K-30), observou-se que a DS malaxada 4:1 obteve a taxa de dissolução mais efetiva (59%) dentre as demais e em relação ao fármaco isolado (15%), uma

vez que altas proporções de PVP proporcionaram a formação de uma malha consistente que levou a uma liberação lenta e incompleta do EFV a partir dos sistemas obtidos (ALVES, 2010). Apesar das vantagens apresentadas, a preparação prévia de um grânulo isolado de efavirenz na forma de DS pelo método de malaxagem não mostrou-se adequada em uma escala de bancada, impossibilitando a aplicação dessa técnica.

Buscou-se então a obtenção de dispersões sólidas fármaco-fármaco por meio da técnica de fusão. A mistura ternária de AZT+3TC+EFV (2:1:2, proporção terapêutica) foi fundida obtendo-se uma massa amorfa com menor ponto de fusão, 104°C, e temperatura de transição vítrea compatível com a estratégia. Esta abordagem permite a exclusão do aporte de polímero da dispersão sólida, densificando a massa, sem aumento do peso do produto final e sem a formação da malha consistente que prejudica a dissolução do EFV. Contudo, estudos evidenciaram a formação de compostos relacionados após a fusão dos mesmos, sendo esta uma reação química no estado líquido, impossibilitando tal abordagem, sem estudos químicos detalhados (SOARES, 2010).

Buscando-se uma nova alternativa a esse entrave tecnológico, avaliou-se a dissolução do EFV complexado com ciclodextrinas naturais e modificadas, assim como a obtenção de sistemas multicomponentes utilizando a ciclodextrina mais efetiva associada ao polímero PVP K-30, visando a diminuição da concentração de ciclodextrina (menor custo) e uma maior efetividade (SOARES-SOBRINHO et al., 2010 b).

Dentre as ciclodextrinas testadas, a metil- β -ciclodextrina (M β CD) proporcionou o maior incremento de solubilidade aquosa quando em solução. Ao se obter sistemas multicomponentes no estado sólido com a M β CD (20 mM) e o PVP K-30 (1%), pelo método de malaxagem, observou-se a dissolução de cerca de 75% de fármaco, mostrando-se como uma alternativa promissora (VIEIRA, 2010). Contudo, o alto aporte de excipientes utilizados também impossibilita a utilização desse sistema multicomponente no desenvolvimento do comprimido de ADF.

Apostando em uma estratégia mais simples e viável tecnologicamente, uma vez que através das técnicas citadas anteriormente observou-se que a diminuição de tamanho de partículas e da tensão superficial facilitavam a solubilização, optou-se por testar o processo de micronização do fármaco. Apesar da hipótese testada ter se mostrado verdadeira, apenas a diminuição das partículas não se mostrou significativa para o incremento da solubilidade aquosa.

Nesse caso, outros fatores estão relacionados e são prevalentes sobre esse. Como exemplo, podemos citar a alta repulção das partículas pela água, devido a sua característica hidrofóbica.

Outro aspecto importante a ser observado é de que o EFV é um ácido fraco e possui alta solubilidade em meios alcalinos. Observando-se essa característica, idealizou-se a criação de um microambiente alcalino, através da adição de bicarbonato de sódio na fase externa ao grânulo do EFV. O principal objetivo dessa estratégia seria de permitir que quando o bicarbonato entrasse em contato com o fluido estomacal ácido, possibilitasse a neutralização do mesmo, através da formação de água e dióxido de carbono, levando à elevação do pH. Consequentemente, facilitaria a dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica e aumentaria a biodisponibilidade do mesmo. Contudo, através de testes prévios, concluiu-se que a concentração de bicarbonato necessária para a viabilização dessa estratégia está acima da capacidade de veiculação em um comprimido com as dimensões pretendidas, além do desconforto de formação de gás no estômago do paciente.

Concluiu-se com tais estudos prévios, que a dissolução do EFV deveria ser otimizada por meio da adição estratégica de adjuvantes farmacotécnicos, onde os mesmos agiriam como incrementadores da dissolução, sem que houvesse um grande aumento na massa final da formulação. Ainda assim, caso esta abordagem não se demonstrasse interessante, a síntese de um pró-fármaco do EFV seria uma alternativa viável.

Estudo de compatibilidade fármaco-excipiente

Após estudo prévio de compatibilidade fármaco-fármaco com os três fármacos de interesse, pode-se comprovar que não há interações físicas associadas a verdadeiras reações no estado sólido entre os mesmos. Interações físicas são evidenciadas na mistura ternária após atingir a temperatura de fusão de um dos fármacos, ocorrendo os fenômenos de missibilidade e deslocamento das faixas de fusão e decomposição. Além das interações físicas, uma interação química no estado líquido foi evidenciada entre a mistura binária de AZT e EFV, formando compostos relacionados. Tal interação química não é impeditiva para o desenvolvimento de um produto farmacêutico sólido associado uma vez que há necessidade de fusão prévia dos fármacos para a sua ocorrência (SOARES, 2010).

A mistura ternária de AZT+3TC+EFV (1:1:1) apresentou fusão na faixa de 100 a 112°C, com o consumo de energia de 58 J/g, evidenciando uma associação dos comportamentos

individuais. Após a fusão do AZT, ocorre a miscibilidade do 3TC no AZT fundido, maior difusão da temperatura e deslocamento do ponto de fusão do EFV para uma única faixa alargada de fusão. A mistura dos três fármacos apresenta menor estabilidade térmica do que as amostras isoladas, uma vez que esta mistura não pode ser submetida a processos produtivos que envolvam temperaturas maiores que 100°C. Contudo, a mesma obteve a vantagem de apresentar uma maior solubilidade aquosa, uma vez que necessita de uma menor quantidade de energia para desorganizar o sistema supramolecular (SOARES, 2010).

Na análise dos resultados do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente por termogravimetria (Tabela 2), observou-se que para a escolha do diluente da formulação os melhores resultados foram para os compostos celulose microcristalina (CMC) e amido, respectivamente, sendo ambos selecionados para o estudo de formulação. A lactose é um açúcar redutor que reage facilmente com aminas primárias, sendo esta reação conhecida como reação de maillard (ROWE; SCHESKEY; QUINN, 2009). Dentre os três fármacos estudados, o 3TC, é o único que possui uma amina primária disponível para a ocorrência desta reação. Contudo, tal reação não foi evidenciada por meio dos resultados obtidos. Desta forma, a lactose não se apresentou como um excipiente incompatível, mas também não se apresentou vantajoso. Não houve diferenças significativas entre as lactoses de diferentes tamanhos de partículas.

O amido pré-gelatinizado é um amido que foi fisicamente modificado por meio de um aditivo químico, um surfactante. Uma parte ou todos os grânulos foram rompidos, melhorando a sua solubilidade, aumentando seu tamanho de partícula e melhorando suas propriedades de fluxo. Tipicamente, o amido pré-gelatinizado contém 5% de amilose livre, 15% de amilopectina e 80% de amido inalterado. Sua utilização se dá como diluente (5-75%) e desintegrante (5-10%) (MEDEIROS, 2006). A CMC possui características que dependem diretamente da umidade presente na celulose. Sua utilização se dá como diluente (5-75%), desintegrante (5-10%) e adsorvente (ROWE; SCHESKEY; QUINN, 2009).

Apesar do estudo de formulação ter sido realizado para ambos excipientes selecionados, pode-se adiantar que, por meio dos resultados na termogravimetria, a CMC apresentou menor percentual de água de hidratação em relação ao amido, além de proporcionar uma maior estabilidade física da mistura, por meio de um deslocamento positivo da temperatura inicial do processo de decomposição (Tabela 2).

Na seleção do agente agregante os melhores resultados foram dos compostos PVP e HPC, respectivamente. Contudo, todos os excipientes foram aprovados, uma vez que não houve prejuízo aos fármacos em nenhuma associação. Em relação ao PVP K-30, apesar deste possuir 14% de água de hidratação, seu uso na formulação se dá por meio de uma solução hidroalcoólica, não influenciando para a tomada de decisão o seu percentual de água residual. O PVP possui ampla popularidade na indústria farmacêutica devido a sua adequação capacidade de agregação, o que diminuí o custo da matéria-prima e aumenta o número de fornecedores do mesmo, justificando sua seleção para o estudo de formulação (Tabela 2) (PICKER-FREYER; DÜRIG; 2007; TURI, 1997).

Para a escolha do agente desagregante, observou-se que ambos excipientes estudados possuíam um percentual significativo de água residual ($\pm 10\%$), não sendo este um parâmetro diferenciador. Tal percentual é aceitável e esperado, uma vez que estes excipientes possuem alta afinidade por água. A CMS é um polímero reticulado da carboximetilcelulose sódica, solúvel em água, hidrofílico e altamente absorvente. O GAS é um sal sódico de éter carboximetil de amido, contendo 2,8 a 4,2% de sódio (MEDEIROS, 2006; TURI, 1997). Segundo a curva TG, a CMS foi capaz de deslocar o início da termodecomposição da mistura binária em 10°C , uma vez que a ADF inicia a sua decomposição em 189°C , e a mistura binária apresentou início em 200°C . Com base em tais resultados selecionou-se a CMS para o estudo de formulação, por ter atuado de forma mais eficaz como polímero, agregando maior estabilidade física à amostra (Tabela 2) (GOHEL et al., 2007 a; GOHEL et al., 2007 b, JIN; MADIEH; AUGSBURGER, 2007).

O EMg, agente lubrificante, reduz a adesão entre os pós e as partes metálicas da compressora. Por ser hidrofóbico, sua utilização se dá em concentração, de 0,25 a 5,0%, devendo ser utilizado na menor concentração possível (ROWE; SCHESKEY; QUINN, 2009). O DSColoidal, agente deslizante e adsorvente, melhora as propriedades de fluxo de pós, devido ao seu pequeno tamanho de partículas e grande área de superfície. É considerado um adsorvente fraco, capaz de formar ligações de hidrogênio com moléculas de água (ROWE; SCHESKEY; QUINN, 2009). Para a escolha dos lubrificantes/deslizantes observou-se que ambos os excipientes testados, EMg e DSColoidal, não apresentaram incompatibilidades com os fármacos. Tais excipientes são largamente utilizados e com isso, ambos foram selecionados para o estudo de formulação (PATEL; KAUSHAL; BANSAL, 2007).

O LSS, analisado como surfactante, foi utilizado com o objetivo de se criar um microambiente para a solubilização dos fármacos, principalmente o EFV. Adicionalmente, o LSS possui propriedades lubrificantes em formas farmacêuticas sólidas (1-2%) (ROWE; SCHESKEY; QUINN, 2009). Este excipiente não apresentou incompatibilidades físicas com os fármacos e por isso foi selecionado para o estudo de formulação (Tabela 2). A utilização do LSS deve ser moderada, uma vez que este solubiliza os lipídeos presentes no trato gastro-intestinal, podendo, de acordo com as concentrações, alterar os processos fisiológicos.

Desenvolvimento farmacotécnico do comprimido

Após a seleção dos excipientes que não apresentaram incompatibilidades com os fármacos ou melhoraram alguma propriedade dos mesmos, iniciou-se o processo de formulação do produto. As inadequadas propriedades reológicas dos fármacos, com destaque para a baixa densidade e a alta carga estática do EFZ, inviabilizam um processo produtivo por compressão direta. Desta forma, optou-se pelo processo de compressão por granulação via úmida. Adicionalmente, devido ao grande aporte de fármacos na formulação, não foi possível a utilização de excipientes multifuncionais para a correção das propriedades reológicas dos pós, que possibilitaria a viabilização da técnica por compressão direta.

Durante o processo de granulação úmida percebeu-se a necessidade de molhar a massa dos pós de forma lenta e constante. A molhagem excessiva desses durante o processo de malaxagem, causa a formação de uma resina de característica reológica plástica, que inviabiliza o processo de granulação. Este fenômeno foi anteriormente descrito durante o desenvolvimento de comprimidos do EFZ (VIANA et al.; 2006).

Apesar de ser possível a obtenção de um comprimido sem diluente, com peso final de 800 mg, sendo apenas 50 mg de excipientes, os estudos realizados demonstraram que o desenvolvimento de um comprimido de 900 mg, adicionando-se ± 100 mg, de um diluente à fase interna do grânulo, diminui significativamente a perda de doseamento do lote e a desuniformidade do mesmo (Tabela 3). Esta hipótese foi confirmada através dos controles de qualidades realizados nos lotes previamente fabricados.

Tabela 2. Resultados do estudo de compatibilidade fármaco-excipiente por termogravimetria

FÁRMACOS ISOLADOS					ADF			
	TG		DTA		TG		DTA	
	ΔT (°C)	Δm (%)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)	ΔT (°C)	Δm (%)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
AZT	198-254 254-288	37 33	Endo: 121-124 Exo: 210-237	Endo: 137 Exo: 2000	189-320	62	Endo:100-112 Exo 1: 158-197 Exo 2: 299-309	58 688 403
3TC	229-340	52	Endo: 176-179 Exo: 254-269	Endo: 185 Exo: 83				
EFV	187-274	86	Endo: 137-140 Exo: 266-277	Endo: 57 Exo: 74				
EXCIPIENTE					ADF + EXCIPIENTE			
	TG		DTA		TG		DTA	
	ΔT (°C)	Δm (%)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)	ΔT (°C)	Δm (%)	ΔT (°C)	ΔH (J/g)
DILUENTES								
AMIDO	34-100 (H ₂ O) 265-347	8 68	---	---	34-100 (H ₂ O) 253-308 308-342	3 40 18	Endo: 117-121	17
LAC 80	142-155 210-260 276-324	3 28 27	Endo1: 146-150 Endo2: 212-217	107 358	139-153 189-239 272-328	2 26 18	Endo 1: 116-123 Endo 2: 192-202 Endo 3: 212-216	16 78 358
LAC 70	140-156 221-268 270-334	3 13 49	Endo1: 145-149 Diversos	71 diversos	138-155 193-242 254-312	2 26 22	Endo 1: 111-122 diversos	17 diversos
CMC	296-379	71	Endo: 353-361	540	256-312 324-375	27 29	Endo: 227-281	112
AGREGANTES								
PVP	34-100 (H ₂ O) 366-465	14 77	Endo 1: 41-60 Endo 2: 369-376 Endo 3: 426-431	191 47 305	34-100 (H ₂ O) 258-333 396-458	8 29 26	Endo 1: 40-63 Endo 2: 115-123 Endo 3: 237-293	10 33 139
HPMC	29-100 (H ₂ O) 247-362 438-474	7 74 5	Endo: 45-55 Exo1: 299-337 Exo2: 429-460	54 1580 1470	197-305 305-381	36 39	Endo: 119-123 Exo: 175-216	14 279
HPC	310-404	88	Endo1: 284-321 Diversos	266 diversos	213-315 315-402	30 56	Endo: 118-122 diversos	10 diversos
EC	299-387	89	Endo1: 305-311 Endo2: 376-379	51 18	208-295 295-385	26 60	Endo 1: 115-122 diversos	23 diversos
DESAGREGANTES								
CMS	34-100 (H ₂ O) 258-326	10 38	Exo: 281-297	290	34-100 (H ₂ O) 200-346	5 47	Exo: 125-209 diversos	438 diversos
GAS	34-100 (H ₂ O) 236-338	10 44	Exo: 61-178	169	188-321	56	Exo: 132-200 diversos	891 diversos
LUBRIFICANTES / DESLIZANTES								
DS Coloidal	---	---	---	---	195-337	37	Endo 1: 119-123 Endo 2: 172-176 Endo 3: 244-275	8 11 69
EMg	55-100 (H ₂ O) 303-411	5 71	Endo1: 54-56 Diversos	10	249-326 359-404	44 11	Endo 1: 73-80 diversos	17 diversos
SURFACTANTE / LUBRIFICANTE								
LSS	190-221 221-240 240-253 253-270	26 29 10 5	Endo 1: 90-98 Diversos	41	203-248 276-310	35 14	Endo 1: 94-100 diversos	15 diversos

ΔT : variação de temperatura. ΔH : variação de entalpia. Δm : variação de massa. Endo: processo endotérmico. Exo: processo exotérmico.

Dentre os diluentes selecionados (amido e CMC), a CMC apresentou o melhor desempenho no processo de granulação. Após o processo de secagem e compressão, os comprimidos obtidos com tais grânulos ficaram com menor espessura, menor umidade residual e de coloração mais esbranquiçada, além de ter melhorado a dissolução dos fármacos, em relação ao comprimido obtido com o amido.

O processo de granulação dos pós através da molhagem com o agente agregante disperso em solução hidroalcoólica foi realizado em diversas concentrações de PVP (0,25; 0,5; 0,75 e 1,0%) e percentual de álcool na solução hidroalcoólica (25, 50 e 75%). O EFV apresenta por si só características de agregação, não sendo necessário mais do que 0,5% de PVP para a obtenção de um grânulo resistente e ao mesmo tempo deformável. A solução hidroalcoólica com 50% de álcool confere a massa um aumento de densidade do grânulo (devido a água) e agilidade no processo de secagem em estufa (devido ao álcool). Paralelamente, o álcool dispersa melhor o polímero PVP, possibilitando a formação de uma rede polimérica desejável.

Em relação ao processo de molhagem, a malaxadeira possibilita a obtenção de um grânulo denso, necessário para a obtenção de um comprimido com dureza desejável. Enquanto que em bateadeira planetária as características da massa formada são inadequadas para a obtenção tecnológica do comprimido, devido a baixa densificação dos pós.

Na tabela 3, descreve-se a formulação selecionada após o estudo quali-quantitativo dos excipientes e otimização do processo produtivo. Apesar das concentrações selecionadas dos lubrificantes/deslizantes estarem em concentrações altas, principalmente por se tratar de uma formulação que necessita de uma melhor dissolução, a presença destes excipientes são fundamentais para a realização do processo produtivo em larga escala. Ao se diminuir as concentrações do DSColoidal (0,5; 1,0 e 1,5%) e/ou EMg (0,5; 0,75 e 1,0%), observou-se a aderência dos grânulos nos punções, além de menor fluxo da massa granulada para compressão, impossibilitando a obtenção de comprimidos lisos e uniformes.

Neste sentido, a adição do LSS na fase externa ao grânulo se justificou como uma estratégia tecnológica que possibilita a formação de um microambiente capaz de diminuir a tensão superficial entre os fármacos e os fluídos biológicos, e ao mesmo tempo contribui como agente lubrificante de característica hidrofílica.

Tabela 3 - Informações dos fármacos aplicáveis no desenvolvimento de um produto farmacêutico e sua avaliação.

Informações	Zidovudina (AZT)	Lamivudina (3TC)	Efavirenz (EFV)
Dosagem (12 h)	300 mg	150 mg	300 mg
Medicamento Referência no Mercado	RETROVIR - Glaxosmithkline	EPIVIR - Glaxosmithkline	STOCRIN - Merck Sharp & Dohme
	AZT + 3TC - BIOVIR – Glaxosmithkline		
Classe Terapêutica	Anti-HIV. Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos Nucleosídeos (ITRN)		Anti-HIV. Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos Nucleosídeos (ITRNN)
Características	Pó cristalino branco a levemente amarelo	Pó cristalino branco a quase branco Necessita proteção contra luz	Pó cristalino branco a quase branco Não higroscópico e lipofílico
Class. Biofarmacêutica	I	I	II
Solubilidade	Levemente solúvel em água (10-50 mg/mL a 17°C), solúvel em álcool	Soluv. em água (70 mg/mL), facilmente soluv. em álcool, lev. soluv. em metanol	Praticamente insol. em água (9.2 g/mL), solúvel em etanol, metanol e diclorometano. Solubilidade H ₂ O aumenta acima de pH 9 (perda do próton da amina do carbamato)
pH-partição	Base fraca	Base fraca	Ácido fraco
Formula molecular	C ₁₀ H ₁₃ N ₅ O ₄	C ₈ H ₁₁ N ₃ O ₃ S	C ₁₄ H ₉ ClF ₃ NO ₂
Massa molecular	267.24 g/mol	229.3 g/mol	315.68 g/mol
pKa ou pKb	9.86	4,3	10.3
Log P (hidrofobicidade)	0.05	-1.4	4.18
Rotação Óptica (base anidra)	$[\alpha]_D^{25}$ (c=1.0% p/v- álcool) Faixa: +60.5°C a +63.0°C	$[\alpha]_D^{25}$ (c=1.0% p/v- metanol) Faixa: +135°C a +145°C	$[\alpha]_D^{25}$ (c=0.50% p/v- metanol) Faixa: 100°C a -89.0°C
Isomerismo	Não	Sim	Não
Ponto de Fusão	120-127°C	174-180°C	134-138°C
Polimorfismo	Há formas descritas na literatura. Não há formas descritas em Farmacopeia.	2 formas descritas em farmacopeia Forma 1: 126 °C, Forma 2: 177 °C. Selecionou-se a forma 2.	5 formas descritas em farmacop.. Selecionou-se a forma 1, mais estável termodinamicamente. Forma 1: 138 °C, Forma 2: 116 °C, Forma 3: 108 °C, Forma 4: 95 °C, Forma 5: 108°C
Perda por dessecação	Não mais que 1% p/p	Não mais que 1% p/p	Não mais que 0.5% p/p
Resíduo de Ignição	Não mais que 0.25% p/p	Não mais que 0.2% p/p	Não mais que 0.2% p/p
Metais Pesados	Não mais que 20 ppm	Não mais que 20 ppm	Não mais que 20 ppm
Biodisponibilidade Oral	Rapid. absorvido pelo TGI c metabolismo de 1ª passagem. Biodisponib. oral de aprox. 60 a 70%. As conc. plasmáticas máx. ocorrem após 1 hora. Retardo da absorção na presença de alimentos.	Rapid. absorvido após adm. oral e conc. plasmáticas máx. são atingidas em 1 h. A biodisp. oral é aprox. 80- 87%. A absorção é retardada, mas não reduzida, pela ingestão de alimentos. A biodisp. oral é de 80 a 87%.	Concentrações plasmáticas de 1,6-9,1 µM são atingidas com adm. VO, existindo uma absorção diminuída em doses mais elevadas (farmacocinética não-linear). Biodisponibilidade oral de aprox. 40% a 45%. A presença de alimentos gordurosos podem aumentar significativamente a absorção do fármaco.
Farmacocinética: Distribuição Metabolismo Excreção	Atravessa a BHE (LCR/plasma de aprox. 0,5), a placenta e é distribuído no leite materno. Ligação às p.p. de 34 a 38%. T ½ plasm. aprox. h. Inativação hepática por glicuronidação. Excreção renal na forma inalterada alterada.	Lig. às p.p. de até 36%. Atravessa a BHE, produzindo LCR /plasma de aprox. 0,5. e aproximadamente 0,12. Atravessa a placenta e é distribuído no leite materno. Baixo metabol. hepático. Excreção renal na forma inativa. por excreção renal ativa. T ½ plasm. de 5 a 7 h.	Alta lig. às p.p. (aprox. 99,5-99,75%). Conc. no LCR entre 0,26 e 1,19% (média de 0,69%) da conc. plasm. correspondente. Metabolismo hepático por hidroxilação com glucuronidação subsequente. T ½ plasm. relativamente longo (52 a 76 h). Excreção renal de 14 - 34%, sendo menos de 1 % na forma inalterada.
Propriedades Reológicas	Dens. apar. 0.42 g/mL, dens. compac. 0.67 g/mL. Ângulo e vel. de escoamento com fluxo infinito. Reologia: Índice de Hausner 0.42; Ind.de Carr 67%.	Dens.apar. 0.56 g/mL, dens.compac. 0.86 g/mL. Ângulo e vel. de escoam. com fluxo infinito. Reologia: Ind. de Hausner 0.56; Ind. de Carr 86%.	Densidade apar. 0.25 g/mL, densidade compac. 0.39 g/mL. Ângulo e vel. de escoamento com fluxo infinito. Reologia: Índice de Hausner 0.25; Índice de Carr 39%.

Os resultados dos controles de qualidade aplicados ao produto desenvolvido estão apresentados na Tabela 5, confirmando a adequação do comprimido as especificações farmacopeicas. A determinação do peso para formas farmacêuticas em dose unitária, no caso de comprimidos não revestidos com 250 mg de peso ou mais, deve ser $100,0\% \pm 5,0\%$. Para doseamento se manteve a lógica dos produtos contendo tais fármacos isolados, de 90 a 100%. Para a dissolução, uma vez que o produto associado de AZT+3TC comprimido apresenta limite farmacopeico de $Q \geq 80\%$ em 60 minutos e para EFV comprimido apresenta limite farmacopeico de $Q \geq 80\%$ em 45 minutos, estabeleceu-se o valor de Q de 80%, e o tempo de 30 minutos, para a nova formulação, de acordo com os resultados obtidos no perfil de dissolução.

Quanto à uniformidade de conteúdo, realizou-se através do doseamento dos componentes ativos de dez doses unitárias para determinar se os fármacos estão dentro dos limites especificados, devendo possuir sua uniformidade controlada para garantir maior segurança clínica do produto (BRASIL, 2010 a).

Tabela 4 - Formulação selecionada para o produto.

	Componentes	Percentual no lote (%)
Fase interna ao grânulo	EFV	33,3
	AZT	33,3
	3TC	16,7
	Celulose Microcristalina 101	10,7
	Croscarmelose Sódica	1,0
	Polivinilpirrolidona (em sol. hidroalcoólica 50:50)	0,5
Fase externa ao grânulo	Estearato de Magnésio	1,0
	Dióxido de Silício Coloidal	1,5
	Croscarmelose Sódica	1,0
	Lauril Sulfato de Sódio	1,0

Tabela 5 - Controles de qualidade realizados para o produto.

Controles de Qualidade	Especificação	Resultado
Umidade do granulado (Parâmetro Interno)	Aceita-se entre 1 e 3%	1,2%
Peso Médio (Farm. Brasileira V edição)	900 mg, aceita-se entre 855 e 945 mg ($\pm 5\%$)	897,5 mg
Dureza (Parâmetro Interno)	Aceita-se de 12 a 18 Kgf (± 2 Kgf)	15,58 Kgf
Friabilidade (Farm. Brasileira V edição)	$\leq 1,5\%$	0,07%
Desintegração (Farm. Brasileira V edição)	≤ 30 min	2,5 min
Dissolução (ANVISA – RDC 31/2010)	$Q \geq 80\%$ em 30 min	
AZT		95,0%
3TC		87,2%
EFV		90,2%
Doseamento (Parâmetro Interno)	100%, aceita-se de 90 a 110%	
AZT		99,2%
3TC		91,6%
EFV		97,1%

Avaliação da liberação in vitro dos fármacos

Pelos critério da Farmacopeia Brasileira 5^a. ed. (2010), tanto os produtos de referência como os medicamentos teste possuem liberação imediata, com dissolução muito rápida (dissolução média de 85% em 30 minutos) (Tabela 6), não sendo discriminativo aplicar os modelos matemáticos de diferença (F1) e semelhança (F2) para os perfis.

Para produtos de dissolução muito rápida, geralmente se aplica perfis de dissolução com coleta nos pontos: 5, 10, 15, 20 e 30 minutos. Sendo que no ponto de 15 minutos o valor do coeficiente de variação (CV) dos dados não deve exceder o recomendado, de 10% (BRASIL, 2010 a; BRASIL, 2010 b). No estudo conduzido, apesar de se ter escolhido pontos de coleta em tempos maiores, as quantificações realizadas no ponto de 15 minutos apresentaram CV de 4,0% (3TC), 4,7% (AZT) e 3,4% (EFV). Com base nos resultados, pode-se determinar com segurança que a especificação de $Q \geq 80\%$ em 30 minutos, é adequada para a análise do produto desenvolvido.

Dentre os fármacos o 3TC foi o que apresentou menor dissolução, contudo, este fato pode ser correlacionado com o menor valor de doseamento apresentado para o lote analisado

(Tabela 5). No ponto de coleta de 30 minutos todos os valores de dissolução dos 12 comprimidos, assim como a sua média, apresentaram-se acima dos critérios de aceitação para o teste de dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata, sendo maior ou igual a $Q + 5\%$, equivalente a 85% de fármaco dissolvido (BRASIL, 2010 a; BRASIL, 2010 b).

A análise dos perfis de dissolução comparativos foi viável apenas em meio de LSS a 1% com pH 6,8; uma vez que em pH 1,2 visualizou-se a degradação de um percentual da lamivudina, acarretando no aparecimento de picos cromatográficos relacionados, provocando a alteração dos tempos de retenção dos picos dos fármacos no cromatograma, uma vez que o método utilizado para o controle de qualidade de rotina não é seletivo para os fármacos e seus produtos de degradação simultaneamente. Além disso, houve grande variação dos resultados obtidos em meio de pH 1,2 e 4,2, apresentando altos valores de coeficientes de variação, valores estes fora dos estabelecidos como aceitáveis para processo de validação.

O produto desenvolvido foi aprovado em seu controle de qualidade (Tabela 5) e seu perfil de dissolução não difere dos perfis dos medicamentos de referência (Tabela 6). Para fins de registro, o comprimido desenvolvido apresenta-se pronto para iniciar o seu estudo de estabilidade e em seguida ser submetido a estudos de biodisponibilidade/bioequivalência, além de um Estudo Clínico de Fase III.

Tabela 6 - Perfil de dissolução comparativo.

Dissolução Tempo (min)	3TC (270 nm)		AZT (270 nm)		EFV (248 nm)	
	Ref. (%)	Teste (%)	Ref. (%)	Teste (%)	Ref. (%)	Teste (%)
15	96,9	94,1	107,3	103,0	104,7	84,2
20	95,2	93,1	105,8	101,9	110,4	88,8
30	95,1	91,5	105,6	95,0	111,7	90,2
45	92,5	90,4	103,2	97,6	107,7	97,1
60	94,7	90,3	105,4	98,0	110,2	99,7

CONCLUSÕES

O desenvolvimento do comprimido contendo os fármacos antirretrovirais associados em dose fixa, zidovudina (AZT, 300 mg), lamivudina (3TC, 150 mg) e efavirenz (EFV, 300 mg), superou todos os desafios tecnológicos apresentados. Apesar de se ter trabalhado inicialmente apenas com o EFV, buscando compreender o melhor mecanismo de se incrementar a sua solubilidade, a associação deste aos dois outros fármacos de interesse, de maior solubilidade, e a um estratégico uso dos excipientes farmacêuticos, alterou completamente a dinâmica do sistema; incrementando a dissolução do fármaco EFV. Apesar

do grande aporte de IFA (750 mg), obteve-se um comprimido com peso final de 900 mg, sem interações fármaco-fármaco e fármaco-excipiente, comprovadas por meio do estudo térmico.

REFERÊNCIAS

ALVES, L. D. S. **Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento de solubiliade aquosa do antirretroviral efavirenz**. Dissertação de Mestrado em Inovação Terapêutica. Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco. 131 p., 2010.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharm. Res.**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira** 5ª. ed., V. 1: Métodos Gerais, 524 p., 2010 a.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC Nº 31, de 11 de agosto de 2010**. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Diário Oficial da União nº154, Brasília, DF, p.36-38, 12 de agosto de 2010 b.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília. **Guia para Registro de Novas Associações em Dose Fixa**. 20 p. 2010 c.

CASTRO, S. G.; BRUNI, S. S.; LANUSSE, C. E.; ALLEMANDI, D. A.; PALMA, S. D. Improved Albendazole Dissolution Rate in Pluronic 188 Solid Dispersions. **AAPS PharmSciTech.**, v. 11, n. 4, December 2010. DOI: 10.1208/s12249-010-9517-6.

DAY, M. Patient Adherence to HAART Regimens: Challenges for Physician Assistants and Health Care Providers. **The Internet Journal of Academic Physician Assistants**, v. 3, n. 1, 2003.

EMA - EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **Guideline on Clinical Development of Fixed Combinations Medical Products** – CHMP/EWP/240/95 Rev. 1. London: 2009. Disponível em: <<http://www.ema.europa.eu/pdfs/human/ewp/024095enfin.pdf>>.

FDA - FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. **Fixed Dose Combinations, Co-Packaged Drug Products, and Single-Entity Versions of Previously Approved Antiretrovirals for the Treatment of HIV**. Maryland: 2006. Disponível em: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/>.

GOHEL, M. C.; PARIKH, R. K.; BRAHMBHATT, B. K.; SHAH, A. R. Improving the Tablet Characteristics and Dissolution Profile of Ibuprofen by Using a Novel Coprocessed Superdisintegrant: A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**; v. 8, n.1, Article 13, 2007 b.

GOHEL, M. C.; PARIKH, R. K.; BRAHMBHATT, B. K.; SHAH, A. R. Preparation and Assessment of Novel Coprocessed Superdisintegrant Consisting of Crospovidone and Sodium Starch Glycolate: A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**; v. 8, n.1, Article 9, 2007 a.

JIN, P.; MADIEH, S.; AUGSBURGER, L. L. The Solution and Solid State Stability and Excipient Compatibility of Parthenolide in Feverfew. **AAPS PharmSciTech**; v. 8, n.4, Article 105, 2007.

LAVRA, Z. M. M.; ROLIM-NETO, P. J.; SILVA, R. M. F. and M.; MORAIS, F. P.. Development and validation of an analytical method for simultaneous determination of fixed-dose combination tablets of lamivudine, zidovudine and nevirapine by high performance liquid chromatography. **Química Nova** [online], vol.31, n.5, p.969-974, 2008. [cited 2011-02-24]. ISSN 0100-4042. doi: 10.1590/S0100-40422008000500005.

LIMA, A. A. N.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, J. L.; CORRÊA-JÚNIOR, R. A. C.; LYRA, M. A. M.; SANTOS, F. L. A.; OLIVEIRA, B. G.; HERNANDES, M. Z.; ROLIM, L. A.; ROLIM-NETO, P. J. The use of solid dispersion systems in hydrophilic carriers to increase benzimidazole solubility. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. Article first published online: 6 JAN 2011. DOI: 10.1002/jps.22436. In Press.

MARIER, J. F.; DIMARCO, M.; GUILBAUD, R.; DODARD, C.; MORELLI, G.; TIPPABHOTLA, S. K.; SINGLA, A. K.; THUDI, N. R.; MONIF, T. Pharmacokinetics of Lamivudine, Zidovudine, and Nevirapine Administered as a Fixed-Dose Combination Formulation Versus Coadministration of the Individual Products. **Journal of Clinical Pharmacology**, v. 47, p.1381-1389, 2007.

MEDEIROS, A. C. D. **Desenvolvimento de Modelo Analítico para Qualificação de Excipientes**. Tese de Doutorado em Produtos Naturais e Sintéticos Bioativos. Universidade Federal da Paraíba, Paraíba, 371 p., 2006.

PATEL, S.; KAUSHAL, A. M.; BANSAL, A. K. Lubrication Potential of Magnesium Stearate Studied on Instrumented Rotary Tablet Press. **AAPS PharmSciTech**; v. 8, n.4, Article 89, 2007.

USP – UNITED STATE PHARMACOPEIA, 33-NF 28. Chapter 1092: **The Dissolution Procedure: Development and Validation**. Rockville, MD: USP; 2010.

PICKER-FREYER, K. M.; DÜRIG, T. Physical Mechanical and Tablet Formation Properties of Hydroxypropylcellulose: In Pure Form and in Mixtures. **AAPS PharmSciTech**; v.8, n.4, Article 92, 2007.

ROWE, R. C.; SCHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. (Ed.). **Handbook of Pharmaceutical Excipients**, 6 ed. Washington: Pharmaceutical Press. ISBN 0853697922, 2009, 665 p.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y-H. P.; WRIGHT, N.; PARSONS, D. L.; RANGARI, V. K.; FASINA, O; BABU, R. J. Physicochemical Characterization of efavirenz-cyclodextrin inclusion complexes; **AAPS Pharm. Sci. Tech.**, v. 10, p. 81-7, 2009.

SOARES, M. F. L. R. **Desenvolvimento e validação de métodos analíticos e estudo de compatibilidade fármaco-fármaco voltados a obtenção de produto farmacêutico dose fixa combinada para o tratamento da AIDS**. Qualificação de Doutorado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco. 137 p., 2010.

SOARES, M. F. R.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; LOPES, P. Q.; CORREIA, L. P.; SOUZA, F. S.; MACEDO, R. O.; ROLIM-NETO, P. J. Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product. **J Therm Anal Calorim**. DOI 10.1007/s10973-010-1185-y. In Press., 2011 b

SOARES, M. F. R.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, K. E. R.; ROLIM, L. A., ALVES, L. D. S.; ROLIM-NETO, P. J. Simultaneous Determination of Antiretroviral Zidovudine, Lamivudine and Efavirenz by RP HPLC-DAD. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 30, n. 2, p. 273-80, 2011 a.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; LIMA, L. N. A.; PERRELLI, D. C.; SILVA, J. L.; MEDEIROS, F. P. M.; SOARES, M. F. L. R.; ROLIM-NETO, P. J. Development and in vitro evaluation of tablets based on the antichagasic benznidazole. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, v. 44, n. 3, set. 2008 . DOI: 10.1590/S1516-93322008000300007.

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

SOARES-SOBRINHO, J. L.; SOARES, M. F. R.; ROLIM-NETO, P. J.; TORRES-LABANDEIRA, R. J. Physicochemical study of solid-state benznidazole–cyclodextrin complexes. **J Therm Anal Calorim**. DOI 10.1007/s10973-010-1186-x. In Press. Published online: 17 December 2010 b.

TURI, E.I. **Thermal Characterization of Polymeric Materials** (2nd Edn), Academic Press, New York, 1997.

VIANA, O. S.; BENIGNO JÚNIOR, J.; SILVA, R. M. F.; MEDEIROS, F. P. M.; GRANGEIRO JÚNIOR, S.; ALBUQUERQUE, M. M.; ROLIM NETO, P. J. Desenvolvimento de formulações e tecnologia de obtenção de comprimidos revestidos de efavirenz – terapia anti-HIV. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 42, n. 4, p. 505-511, 2006.

VIEIRA, A. C. C. **Obtenção e Caracterização de complexos de inclusão e sistemas multicomponentes no incremento da solubilidade do efavirnez na terapia anti-HIV**. Qualificação de Mestrado em Inovação Terapêutica. Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, p. 89, 2010.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Library Cataloguing-in-Publication Data. **Rapid advice: antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents**. 28 p. ISBN 978 92 4 159895 8. nov., 2009.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Guidance Compliance Regulatory Information Guidances. Technical Report Series. Anexo 5. **Guidelines for registration of fixed-dose combination medicinal products**. n. 929, Geneva: 2005. Disponível em: <http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_929_eng.pdf>.

7. Capítulo IV

7.1. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO TESTE DE DISSOLUÇÃO

7.1.1. Artigo IV - Desenvolvimento e Validação de Teste de Dissolução para Comprimido contendo a Associação em Dose Fixa de Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz.

Artigo submetido ao Journal of Pharmaceutical Sciences

Qualis Capes para Farmácia: A2

7.1.1. Artigo IV - Desenvolvimento e validação de teste de dissolução para comprimido contendo efavirenz, lamivudina e zidovudina associados em dose fixa

FONTES, D.A.F.¹; SOARES, M.F.L.R.^{1,2}; ALVES, L.D.S.¹; VIEIRA, A.C.C.¹; LUZ, C.C.M.¹; ROLIM, L.A.¹; ROLIM-NETO, P.J.²

¹Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco. Rua Arthur de Sá, s/n, Cidade Universitária, 50.740-521, Recife – PE, Brasil.

²Núcleo de Tecnologia Farmacêutica, Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, Ininga, 64.049-550 Teresina – PI, Brasil

RESUMO

O presente trabalho apresenta o desenvolvimento e validação de um teste de dissolução destinado ao controle de qualidade do comprimido contendo os fármacos antirretrovirais zidovudina (AZT, 300 mg), lamivudina (3TC, 150 mg) e efavirenz (EFZ, 300 mg) associados em dose fixa. Inicialmente, o meio de dissolução foi definido por meio da determinação da solubilidade e condição sink dos fármacos em diversos candidatos à meio. Para isso, adotou-se o EFZ como referência crítica devido a sua baixa solubilidade aquosa ($\pm 9 \mu\text{g/mL}$). Após a seleção da composição do meio, água purificada adicionada de lauril sulfato de sódio (LSS) (pH 6,8), realizou-se um planejamento fatorial com as variáveis de interesse: velocidade de rotação do aparato pá (75 e 100 RPM), o volume do meio (900 e 1000 mL), e a concentração do surfactante LSS (0,75 e 1,0%). Foram definidos como melhores parâmetros: meio de LSS a 1,0%, volume de 1000 mL, aparato pá na velocidade de 100 RPM, considerando a temperatura do meio de $37^\circ\text{C} \pm 0,5^\circ\text{C}$. O desenvolvimento do teste foi realizado em perfil, avaliando-se a dissolução nos tempos 15, 20, 30, 45 e 60 minutos. Contudo, os resultados evidenciaram que para o controle de qualidade de rotina do produto, a análise pontual, em 30 minutos, já se demonstra satisfatória para a dissolução dos fármacos. A validação do teste seguiu a USP 33 (2010). O teste foi considerado validado uma vez que apresentou precisão por meio da análise da repetitividade, com coeficiente de variação entre as replicatas de 2,82%, 1,32% e 2,44%, para EFZ, AZT e 3TC, respectivamente. Por meio da precisão intermediária, o método demonstrou precisão com resultados equivalentes entre dias [F calculado: EFZ (0,06), AZT (0,27) e 3TC (0,88); F crítico: 6,61] e entre analistas [F calculado: EFZ (1,04), AZT (3,28) e 3TC (0,48); F crítico: 5,05], por meio da ANOVA fator duplo. A robustez foi determinada pela comprovação da eficiência da filtração na interrupção da dissolução, não sendo crítica a utilização de filtro com porosidade de 8 μm de diâmetro em relação ao empregado usualmente de 28 μm [F tabelado: EFZ (1,53), AZT (12,40) e 3TC (3,10); F crítico: 18,51, segundo teste T Student]. O teste também demonstrou-se robusto em relação à estabilidade de 24 horas dos fármacos no meio de dissolução [F calculado: AZT (6,78), 3TC (5,32) e EFZ (4,87); F crítico:, segundo teste T Student] e à

desaeração do meio [F calculado: EFZ (2,27), AZT (3,78) e 3TC (2,54); F crítico: 18,51, segundo teste T Student]. Por fim, a análise da dissolução do comprimido desenvolvido atingiu em 30 minutos o percentual dissolvido de $91,88\% \pm 1,33$ para o EFZ, $93,39\% \pm 3,28$ para o AZT e de $98,33\% \pm 3,69$ para o 3TC.

Palavras chave: validação. Dissolução. Efavirenz. Lamivudina. Zidovudina. Planejamento Fatorial.

INTRODUÇÃO

O tratamento antirretroviral de primeira escolha para a AIDS combina dois inibidores da transcriptase reversa análogos de nucleosídeo [zidovudina (AZT) e lamivudina (3TC)] associados a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo [efavirenz (EFZ)]. Este esquema é considerado de primeira escolha, exceto para gestantes e crianças menores de três anos, onde substitui-se o EFZ por nevirapina (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009; RAJESH et al., 2010).

Tais fármacos são atualmente disponibilizados ao mercado para comercialização em dois produtos farmacêuticos, 3TC (150 mg) associado a AZT (300 mg) na posologia de dois comprimidos ao dia e EFZ (600 mg) na posologia de um comprimido ao dia, totalizando uma administração de 3 comprimidos administrados ao dia.

O presente trabalho apresenta um teste de dissolução desenvolvido para o controle de qualidade de novo produto que associa estes três fármacos em uma única forma farmacêutica, reduzindo o número de comprimidos administrados de 3 para 2 ao dia, simplificando o regime posológico e aumentando a adesão ao tratamento.

No desenvolvimento desta associação em dose fixa (ADF) deve-se levar em consideração que os fármacos apresentam características diferentes de solubilidade e biodisponibilidade, e que a formulação proposta deve alcançar a biodisponibilidade satisfatória para cada um dos fármacos. Devido a sua baixa solubilidade aquosa ($\pm 9 \mu\text{g/mL}$), o EFZ, comporta-se de forma diferenciada dos demais (SATHIGARI et al., 2009), sendo necessários ajustes específicos de formulação para a sua solubilização nos fluídos corporais, ajustes estes que ficam limitados devido ao grande aporte de insumos farmacêuticos ativos na formulação (RATHBONE; HADGRAFT; ROBERTS, 2003; KARAVAS et al., 2007).

Diante disso, o teste de dissolução desenvolvido deve ser capaz de avaliar a liberação dos fármacos *in vitro*, de forma correlacionável com as condições reais do trato gastrointestinal, *in vivo*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Os materiais utilizados foram: lauril sulfato de sódio (LSS, Vetec), polissorbato 80 (PLS 80, Vetec), ácido clorídrico (HCl, Dinâmica), cloreto de sódio (NaCl, Dinâmica), acetonitrila (CH₃CN, Carlo Erba) e água purificada (Sistema Milli-Q® *academic*, Millipore®). Papel de filtro de 8 e 28 µm (Quanty).

Os insumos farmacêuticos ativos utilizados foram: AZT (Northeast®, lote DY070041), pureza de 97,9%; 3TC (Hangzhou®, lote 071208), pureza de 100,0% e EFV (Cristália®, lote 1289/07), pureza de 98,0%.

O produto acabado utilizado foi o comprimido ADF composto pelos fármacos AZT (300 mg), 3TC (150 mg) e EFZ (300 mg) e, excipientes Celulose Microcristalina, Croscarmellose Sódica, Polivinilpirrolidona, Estearato de Magnésio, Dióxido de Silício Coloidal, Croscarmellose Sódica e Lauril Sulfato de Sódio.

Este, foi desenvolvido pelo Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos (LTM-UFPE), apresentando teor dentro das especificações ($100 \pm 5\%$).

Planejamento Fatorial

O desenvolvimento do método foi realizado através da análise da solubilidade dos fármacos em candidatos a meios, e posteriormente através de um planejamento fatorial ²³, onde variáveis são modificadas ao mesmo tempo, de forma cuidadosamente programada, através de um planejamento experimental. Desta forma, devido ao menor número de experimentos executados, dados apropriados são coletados com redução de tempo e custos (NEVES et al., 2002).

Estudo de solubilidade

O estudo de solubilidade foi realizado em triplicata, utilizando banho-maria (Dubnoff NE-2099, Nova Ética), por meio da solubilização simultânea dos três fármacos de interesse em diferentes meios de dissolução. Os candidatos previamente selecionados foram: LSS (1%; 0,75% e 0,5%); suco gástrico simulado (SGS) composto por HCl 0,1 M + NaCl 0,1 M; SGS + LSS (1%; 0,75% e 0,5%); PLS 80 (1%; 0,75% e 0,5%); HCl 0,1 M e água purificada. Em tubos de ensaio, foram adicionados os fármacos aos meios; obtendo-se um excesso equivalente a cinco comprimidos ADF em uma cuba de 1000 mL de meio. As amostras foram colocados sob agitação à $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ por 24 horas. Logo após, foram filtradas em papel filtro com porosidade de 28 µm, diluídas 10 vezes e analisadas por cromatografia

líquida de alta eficiência (CLAE) (LC-20A Prominence, Shimadzu). O pH dos candidatos a meio foi aferido através de pHmetro (Micronal, B474) antes da realização do estudo.

Desenvolvimento do Teste de Dissolução

Após a seleção da composição do meio, água purificada adicionada de lauril sulfato de sódio (LSS) (pH 6,8) à temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (BRASIL, 2010), realizou-se um planejamento fatorial com as variáveis: velocidade de rotação do aparato pá (75 e 100 RPM), volume do meio (900 e 1000 mL), e concentração do surfactante LSS (0,75 e 1,0%). Este estudo foi realizado em dissolutor (Varian, VK-7010) utilizando os comprimidos ADF e coleta em ponto único no tempo de 30 minutos. As amostras foram coletadas e filtradas em papel filtro com porosidade de 28 μm (Quanty), diluídas na proporção de (35:65) em solução de acetonitrila e água (50:50) e filtradas em filtro com membrana Millipore[®] 0,22 μm de poro, 13 mm (Millex). As amostras foram analisadas por CLAE.

Análise quantitativa dos fármacos

O método cromatográfico utilizado para a quantificação dos percentuais solubilizados foi devidamente desenvolvido e validado por SOARES e colaboradores (2011), para o controle de qualidade do produto desenvolvido. A presença do meio de dissolução juntamente ao sistema solvente (35:65), não influenciou a performance do sistema.

Validação

Após o desenvolvimento do método avaliou-se os parâmetros de precisão e robustez, durante o processo de validação, seguindo como referência a USP 33 (2010). A precisão foi determinada através dos métodos de repetitividade e precisão intermediária. A repetitividade foi determinada pela análise de amostras individuais em sextuplicata e a precisão intermediária em triplicata, ocorrendo em dois dias e executadas por dois analistas. A robustez foi determinada em triplicata a partir da variação do diâmetro dos poros do filtro de dissolução (8 e 28 μm), do meio de dissolução com e sem desaeração e, da estabilidade dos fármacos no meio de dissolução por 24 horas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo de solubilidade

Os resultados obtidos para a solubilidade dos fármacos estão presentes na Tabela 1. Apesar dos dados de solubilidade dos três terem sido analisados, um enfoque diferenciado foi atribuído ao EFZ, devido a sua baixa solubilidade aquosa ($\pm 9 \mu\text{g/mL}$). Para o AZT e o 3TC todos os meios atingiram, após 24 horas, a condição sink. A condição sink pode ser definida como uma quantidade de solvente não inferior a 3 vezes o volume de meio necessário para solubilizar a dosagem do fármaco.

Para o EFZ, os piores meios foram: água, SGS e HCl 0,1M. Para estes, após a diluição padrão das soluções, não foi possível ao menos quantificar o EFZ solubilizado, estando a concentração do fármaco abaixo do limite de quantificação do método cromatográfico. Ainda para o EFZ, os melhores meios foram: LSS a 1,0% (927,9 $\mu\text{g/mL}$) e a 0,75% (747,8 $\mu\text{g/mL}$). Portanto, optou-se por selecionar estas concentrações para um estudo mais aprofundado, agora, com a utilização do produto farmacêutico e tempos de coleta representativos do teste de dissolução (15, 20, 30, 45 e 60 minutos).

Tabela 1. Solubilidade dos fármacos EFZ, AZT e 3TC em diversos meios.

FÁRMACOS		EFZ ($\mu\text{g/mL}$)	AZT ($\mu\text{g/mL}$)	3TC ($\mu\text{g/mL}$)
Conc. da teórica de 100% da ADF em 1000 mL		300	300	150
Meios	pH	EFV	AZT	3TC
Água	5,27	---	2089,6	811,2
SGS	1,82	---	2271,2	1014,8
SGS+LSS 1,0%	1,24	546,9	2331,9	531,4
SGS+LSS 0,75%	1,80	550,6	2550,0	665,7
SGS+LSS 0,5%	1,94	449,3	2375,3	661,4
LSS 1,0%	6,8	927,9	2324,0	861,1
LSS 0,75%	6,50	747,8	2534,9	917,6
LSS 0,5%	6,37	507,3	2279,0	994,6
PLS 80. 1,0%	6,47	650,9	2352,1	896,7
PLS 80. 0,5%	6,30	584,4	2394,8	947,2
HCl 0,1 M	1,80	---	2469,3	1056,2

(---) Não foi possível quantificar pelo método utilizado.

Desenvolvimento do Método Analítico de Dissolução

Após a seleção da composição do meio de dissolução foram escolhidas algumas variáveis potencialmente relevantes para a dissolução e, atribuído às mesmas, dois sinais: um

positivo (+) e outro negativo (-), representando o maior e o menor nível da variável respectivamente, como demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2. Especificações das variáveis e seus respectivos sinais

SINAL	ROTAÇÃO	VOLUME (ML)	CONC. (% LSS)
(+)	100	1000	1,0
(-)	75	900	0,75

Atribuídos os sinais, foram realizados oito experimentos, em triplicata, modificando-se todos os níveis das variáveis, sendo possível estabelecer uma correlação simultânea entre eles. A razão para isso é que as variáveis podem se influenciar mutuamente e o valor ideal para uma delas pode depender do valor da outra. Nesta fase, os efeitos das variáveis críticas e suas interações são quantificados através dos métodos de análise de variância, os quais são usualmente aplicados aos dados gerados pelos planejamentos fatoriais (SANTANA et al., 2008; NEVES et al., 2002). Os experimentos e seus resultados estão plotados na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados da seleção de variáveis, em 30 minutos de dissolução

ROTAÇÃO	VOLUME	CONCENTRAÇÃO	EFZ±DP (%)	AZT±DP (%)	3TC±DP (%)
-	-	-	82,50 ± 2,73	82,98 ± 10,45	90,87 ± 6,27
+	-	-	94,66 ± 2,20	90,26 ± 7,32	99,59 ± 0,33
-	+	-	69,40 ± 2,04	77,31 ± 1,90	74,67 ± 2,35
+	+	-	88,48 ± 2,49	95,54 ± 2,18	101,02 ± 2,09
-	-	+	75,93 ± 1,05	77,85 ± 1,29	83,77 ± 0,40
+	-	+	93,33 ± 0,93	91,78 ± 1,23	97,24 ± 1,65
-	+	+	73,21 ± 4,08	77,68 ± 1,29	74,73 ± 1,86
+	+	+	91,88 ± 1,33	93,39 ± 3,28	98,33 ± 3,69

DP: Desvio Padrão

Na interpretação destes resultados, continuou-se estabelecendo o EFZ como referencial para a escolha dos parâmetros. A Figura 1 apresenta de forma gráfica a influência destes parâmetros na dissolução do EFZ.

Mediante os resultados dos experimentos, foram calculados os efeitos das variáveis isoladas e das interações entre si, como mostra a Tabela 4, para o fármaco EFZ. Os valores positivos do efeito da variável demonstram incremento no percentual dissolvido e valores negativos evidenciam a diminuição do percentual dissolvido, em média.

Foi empregado o teste t de Student para avaliar se os efeitos calculados são estatisticamente diferentes de zero. No nível de 95% de confiança e 16 graus de liberdade, o t

tabelado é de 2,31. Apenas é considerado estatisticamente significativo o efeito cujo valor absoluto excede intervalo de confiança (2,45) (BARROS, 2010; SANTANA et al., 2008). Os efeitos cujos valores foram menores que 2,45 não são significativos e são provenientes dos erros aleatórios que são inerentes ao processo e/ou do produto analisado.

Tabela 4. Efeitos médios das variáveis isoladas e em interação para o EFZ (%).

Variáveis	%	Significância
Rotação (R)	16,92	☑
Volume (V)	-5,77	☑
Concentração (C)	-0,12	--
R x V	1,97	--
R x C	2,75	☑
V x C	3,72	☑
R x V x C	1,32	--

☑: Valor significativo com 95% de confiança.

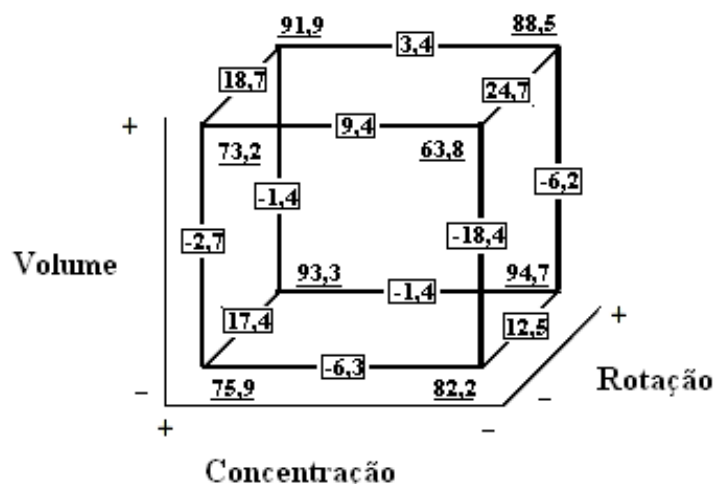
O efeito principal da rotação apresentou, em média, uma dissolução 16,95% maior para o nível (+) em relação ao nível (-), demonstrando a grande importância da rotação em seu maior nível, 100 RPM. Observa-se um efeito bem mais pronunciado (24,7%), quando a concentração encontra-se no nível (-) e o volume no nível (+). Há efeito de interação significativo entre a rotação e a concentração.

O efeito principal da concentração, em média, não demonstrou significância, contudo, em alguns casos a influência da concentração é bastante relevante. Como exemplo, quando o volume se encontra em seu nível (-), a influência da concentração é negativa, redução de 6,3 e 1,4% na dissolução, mas quando o volume está no nível (+), as influências das concentrações são significativas, aumento de 9,4 e 3,4%. Há interações significativas da concentração com as variáveis, rotação e volume.

Já o volume demonstrou que há decaimento de 5,77% do percentual dissolvido, em média, quando partimos do nível (-) para o seu nível (+). Analisando-se a figura 1 podemos visualizar os efeitos provenientes da mudança do nível (-) para o (+) do volume e, constatamos que há uma redução na dissolução em todos os casos, sendo mais pronunciado quando a concentração e a rotação estão no nível (-), redução de 18,4%.

Podemos notar também que a influência do volume é mais pronunciada quando a concentração está no nível (-), redução de 18,4 e 6,2%, e menos pronunciada quando se encontra no nível (+), redução de 2,7 e 1,4%, chegando a ser não significativa nestes últimos casos.

Figura 1. Cubo dos principais efeitos para o fármaco EFZ, em percentual (%) com suas diferenças.



Analizando os casos expostos, podemos citar como melhores parâmetros para a dissolução do novo comprimido ADF, a rotação no nível (+), 100 RPM, e a concentração no nível (+), LSS 1,0%. Já o volume, fica facultativo a sua escolha, pois nestas condições observa-se uma redução de 1,4% quando saímos do seu nível (-) para o (+), valor este, abaixo do intervalo de confiança, ou seja, não significativo.

Embora, haja esse decaimento na dissolução em relação ao aumento da concentração, o efeito médio do seu cruzamento com o aumento da rotação, produz um aumento médio de 2,75%, sendo ainda melhor optar pela concentração em seu nível (+), devido a sua capacidade de incremento quando associada ao aumento da rotação. Este fato é de extrema importância para explicarmos que uma variável pode se modular em função de outra, ou seja, ela pode ser mais ou menos pronunciada quando alteramos uma segunda.

Portanto escolhemos o nível (+) do volume, 1000 mL, como melhor parâmetro para a dissolução. Esta escolha torna-se mais respaldada, quando associamos o fato de conseguirmos obter uma condição sink para 300 mg do EFZ, em LSS 1,0% à um volume de 1000 mL, como mostra os resultados do estudo de solubilidade, tabela 1.

Assim, após os estudos realizados, foram adotadas como as melhores condição de dissolução, quando associadas, as seguintes especificações: meio de LSS a 1,0%; volume de 1000 mL e rotação a 100 RPM.

RESULTADOS DA VALIDAÇÃO

Precisão – Repetitividade

A repetitividade apresentou coeficiente de variação entre as replicatas de 2,82%, 1,32% e 2,44%, para EFZ, AZT e 3TC, respectivamente.

Precisão Intermediária

Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os resultados obtidos em diferentes dias e por meio de diferentes analistas, no nível de 95% de confiança. A comparação entre dias diferentes, apresentou um F calculado de 0,06 (EFZ), 0,27 (AZT), 0,88 (3TC) e F tabelado 6,61. Entre analistas diferentes, o F calculado foi de 1,04 (EFZ), 3,28 (AZT), 0,48 (3TC) e F tabelado 5,05.

Robustez

Todos os parâmetros foram analisados segundo teste t Student no nível de 95% de confiança. Para o parâmetro diâmetro dos poros do papel de filtro, verificou-se que não houve diferenças estatisticamente significativas entre a média das concentrações resultantes, apresentando um F calculado de 3,67 (EFZ), 0,68 (AZT) e 2,31 (3TC), frente a um F tabelado de 18,51. Adotou-se, então o papel de filtro com diâmetro de poro de 28 µm como usual para o teste, sendo este eficiente para interromper o processo de dissolução das partículas dispersas. Para o parâmetro de desaeração do meio verificou-se que não há diferenças significativas entre as médias resultantes, apresentando um F calculado de 2,27 (EFZ), 3,78 (AZT) e 2,54 (3TC), frente a um F tabelado de 18,51. Devido ao fato da desaeração não ter influenciado o resultado do percentual dissolvido, optou-se por se definir como usual a não desaeração do meio de dissolução. Para o parâmetro estabilidade da amostra por 24 horas, verificou-se que não há diferenças significativas entre as médias resultantes, apresentando um F calculado de 5,72 (EFZ), 2,78 (AZT) e 3,32 (3TC), frente a um F tabelado de 18,51. Com base neste resultado, permite-se que amostras oriundas da dissolução podem ser armazenadas em vial e lidas dentro do intervalo de 24 horas, sem prejuízo para o resultado.

CONCLUSÃO

O estudo de solubilidade dos fármacos apresentou-se uma adequada ferramenta para a seleção dos candidatos a meios de dissolução, permitindo o desenvolvimento detalhado do teste de dissolução com um menor número de meios, e consequentemente, de amostras. O

planejamento fatorial demonstrou-se uma ferramenta eficaz no planejamento do estudo, influenciando diretamente na forma de discussão dos resultados e na tomada de decisão dos melhores parâmetros. Por meio da validação, comprovou-se a adequação do teste e a segurança dos resultados, demonstrando que o método desenvolvido, adequa-se ao seu objetivo de controle de qualidade de um produto comprimido de associação em dose fixa.

REFERÊNCIAS

BARROS, B. N.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**, 4^a. Ed. Bookman: Porto Alegre, INBN 978-85-7780-652-2, 2010. 414 p.

BRASIL. **Farmacopéia Brasileira** 5^a. ed. Vol. 1: Métodos Gerais, 524 p., 2010.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para Terapia Antirretroviral em Crianças e Adolescentes Infectados pelo HIV: manual de bolso**, Brasília, DF, 2009. p.200.

FARMACOPEIA AMERICANA, USP 33-NF 28. Capítulo 1092: The Dissolution Procedure: Development and Validation . Rockville, MD: USP; 2010.

KARAVAS, E.; GEORGARAKIS, E.; SIGALAS, M. P.; AVGOUSTAKIS, K.; BIKIARIS, D. 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, n. 3, p. 334-347, 2007.

LEAL, L. B.; SILVA, M. C. T.; BEDOR, D. C. G.; PIMENTEL, M. F.; SANTANA, D. P. Desenvolvimento de teste de dissolução para o meloxicam utilizando o planejamento fatorial: estudo comparativo de produtos industrializados x produtos magistrais. **Revista Brasileira de Farmácia**. v. 89, n. 2, 2008. p. 160-163.

NEVES, C. F. C.; SCHVARTZMAN, M. M. A. M; JORDÃO, E. Técnica para seleção de variáveis aplicada à separação de gases. **Química Nova**, v. 25, n.2, p.327-329, 2002.

RAJESH, Y. V.; BALASUBRAMANIAM, J.; BINDU, K.; SRIDEVI, R.; WETHA, R.; RAO, V. U. Impact of superdisintegrants on efavirenz release from tablet formulations. **Acta Pharmaceutica**. v.60, p.185-195, 2010.

RATHBONE, M.J.; HADGRAFT, J.; ROBERTS, M. S. Drugs and the pharmaceutical sciences. **Modified-Release Drug Delivery Technology**, v.126, p.135-134, 2003.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y-H. P.; WRIGHT, N.; PARSONS, D. L.; SHARGEL, L.; KANFER, I. **Generic drug product development: solid oral dosage forms**. New York: Informa Helthcare, 2005. p. 1-29.

SOARES, M. F. R.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, K. E. R.; ROLIM, L. A., ALVES, L. D. S.; ROLIM-NETO, P. J. Simultaneous Determination of Antiretroviral Zidovudine, Lamivudine and Efavirenz by RP HPLC-DAD. **Latin American Journal Pharmacy**. 30 (2): 273-80 (2011).

8 CONCLUSÃO GERAL

- O estudo de compatibilidade fármaco-fármaco evidenciou que a associação destes em uma única forma farmacêutica não apresenta impedimentos físicos, desde que os fármacos não sejam fundidos durante o processo produtivo. Evidenciou-se também uma influência positiva na solubilidade dos mesmos, quando associados;
- O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente colaborou na escolha dos melhores excipientes para a formulação e não evidenciou incompatibilidades entre os mesmos;
- O comprimido foi obtido por compressão por granulação via úmida, gerando um produto com peso de 900 mg, sendo 750 mg de insumos farmacêuticos ativos e 150 mg de excipientes (celulose microcristalina, croscarmelose sódica, polivinilpirrolinona, estearato de magnésio, dióxido de silício coloidal e lauril sulfato de sódio);
- O teste de dissolução foi devidamente desenvolvido e validado;
- O controle de qualidade do produto apresenta um método analítico desenvolvido e validado segundo a resolução específica RE 899 (BRASIL, 2003 c), para a realização dos testes de rotina (dissolução e teor).

9 PERSPECTIVAS

- Isolar por cromatografia em coluna preparativa os dois produtos de degradação formados pela reação no estado líquido da mistura física de AZT + EFV, após processo de fusão. Caracterizar tais produtos de degradação por técnicas instrumentais, elucidando os compostos e as reações ocorridas.
- Realizar o estudo de estabilidade do produto desenvolvido no LTM: fotoestabilidade (análise nos meses: 0), estabilidade acelerada (análise nos meses: 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6) e estabilidade de longa duração (análise nos meses: 0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24, 36 e 48). Avaliando, principalmente, ao final de cada período o decaimento do doseamento dos fármacos e o incremento de produtos de degradação, por meio de método analítico indicativo de estabilidade desenvolvido e validado. Realizar a identificação e qualificação de cada um dos produtos de degradação formados, caso haja a

necessidade, após a análise dos percentuais dos produtos de degradação segundo os conceitos apresentados no Guia do ICH Q3B(R2) (ICH, 2006 b). A qualificação estabelece a segurança biológica de um produto de degradação individual ou de um perfil de degradação de um produto no limite especificado.

- Em parceria com a indústria parceira, LAFEPE, realizar e notificar à ANVISA a produção de três lotes pilotos do produto, visando a realização do estudo estabilidade formal para registro e em seguida, realizar estudos de biodisponibilidade e/ou bioequivalência para os fármacos contidos no comprimido, além de estudo clínico de fase III, necessário para a confirmação da eficácia da nova posologia proposta ao EFV e, conseqüentemente o registro do produto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRASIL. **Boletim epidemiológico AIDS – DST, versão preliminar**. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Secretaria de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde, Brasília, DF, 2010. 23 p. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/publicacao/boletimepidemiologico-2010>>. Acesso em: 25 jan. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. *Nota Informativa: Painel da OMC Questiona a Lei de Patentes Brasileira*. Brasília: **Coordenação Nacional de DST e AIDS**, MS, 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2007/2008 – Documento preliminar**. Brasília, DF, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos e adolescentes infectados pelo HIV 2007-2008**. Brasília-DF, 2008.

FARIAS, S. R. Q.; LAVRA, Z.M. ; MEDEIROS, F. P. M.; Rolim Neto, P. J.. Uma Nova Proposta Terapêutica para Tratamento da AIDS: da Monoterapia à Dose Fixa Combinada. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 87, p. 92-97, 2006.

GOLDMAN, L.; BENNET, J. C.; **Cecil tratado de medicina interna**, 21a ed., Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001.

LANCELLOTTI, F.G.; GAGLIANI, L.H.. Avaliação do perfil laboratorial, sócio demográfico e evolução clínico terapêutico dos dez pacientes vivos mais antigos em atendimento no centro de referência de AIDS Santos- SP- Brasil. **Revista UNILUS Ensino e Pesquisa**, São Paulo, v. 2, p. 23-29, 2005.

LAURENT, C.; KOUANFACK, C.; KOULLA-SHIRO, S.; NKOUÉ, N.; BOURGEOIS, A.; CALMY, A.; LACTUOCK, B.; NZEUSSEU, V.; MOUGNUTOU, R.; PEYTAVIN, G.; LIÉGEOIS, F.; NERRIENET, E.; TARDY, M.; PEETERS, M.; ANDRIEUX-MEYER, I.; ZEKENG, L.; KAZATCHKINE, M.; MPOUDI-NGOLÉ, E.; DELAPORTE, E. Effectiveness and safety of a generic fixed-dose combination of nevirapine, stavudine, and

lamivudine in HIV-1-infected adults in Cameroon: open-label multicentre trial. **The Lance**. v. 364, p. 29-34, 2005.

ROLIM NETO, P. J. ; Farias, S. R. Q. ; LAVRA, Z.M. ; MEDEIROS, F. P. M. . Uma Nova Proposta Terapêutica para Tratamento da AIDS: da Monoterapia à Dose Fixa Combinada. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, p. 92-97, 2006.

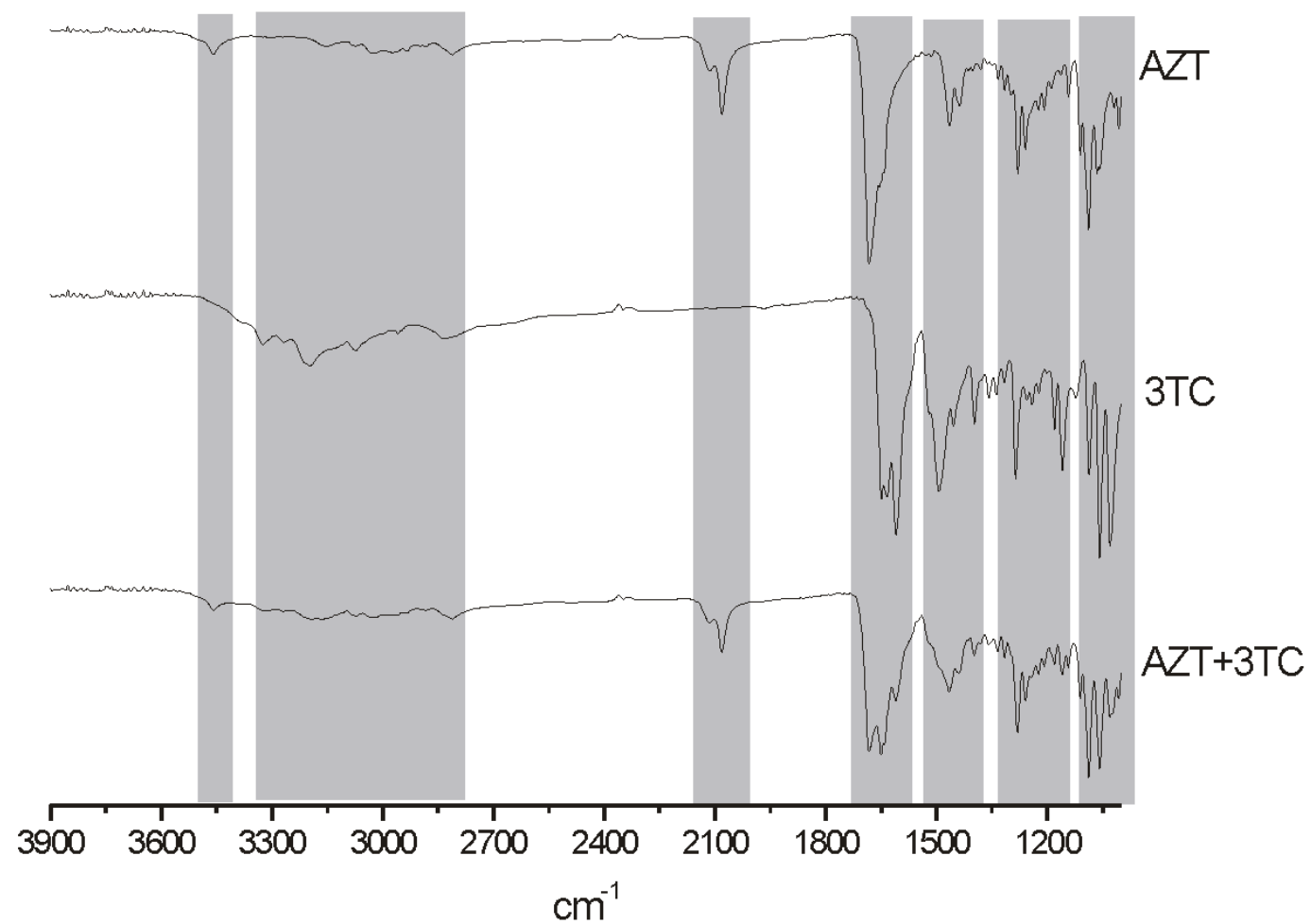
UNIAIDS, 2010. **Report on the global AIDS epidemic 2010**. Disponível em: <http://www.unaids.org/globalreport/Global_report.htm>. Acesso em: 28 de Jul. 2001.

ANEXOS

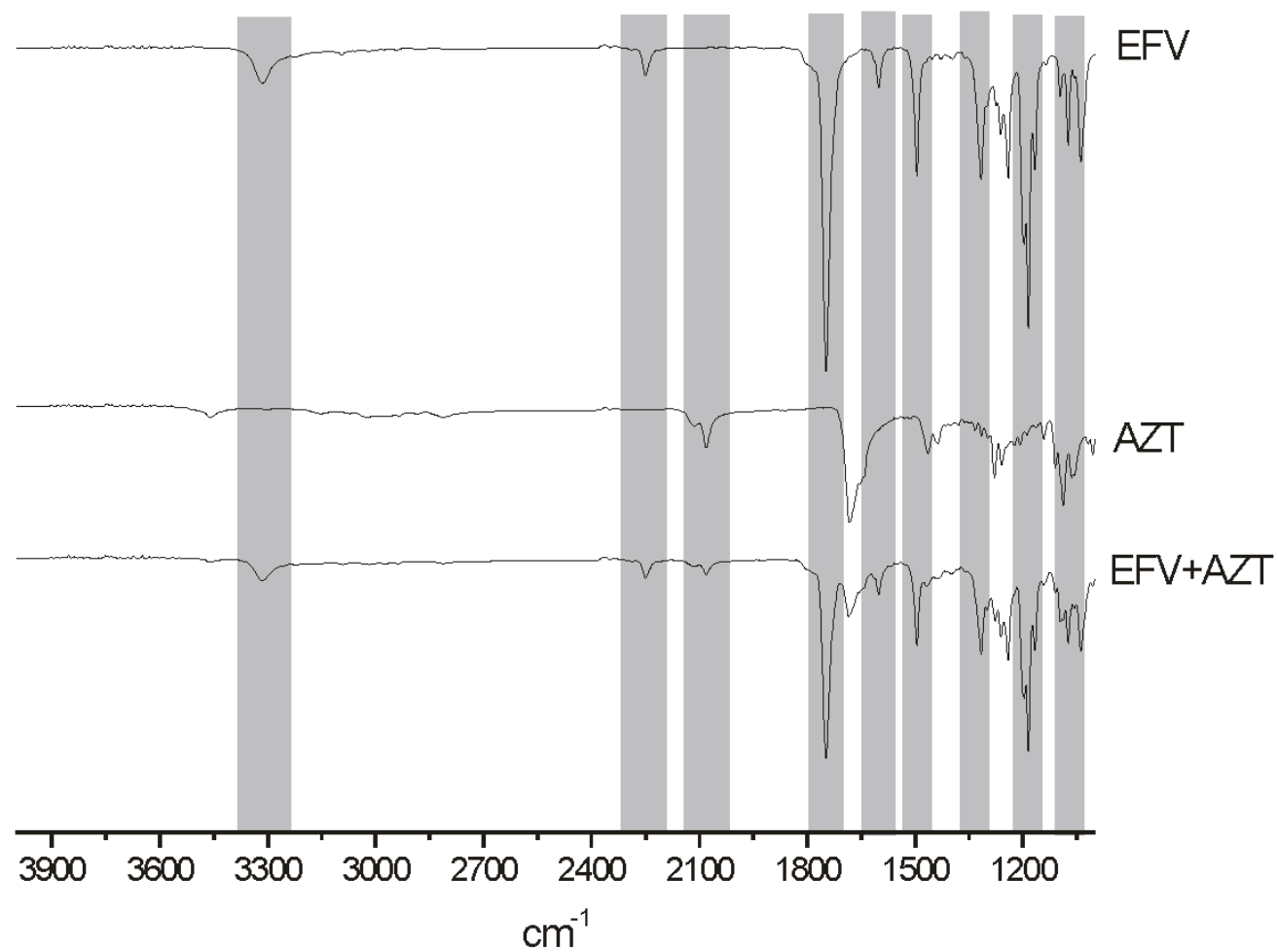
ANEXO A. Espectros IVTF-ATR dos fármacos EFZ, AZT e 3TC e suas misturas binárias e ternária.

ANEXO B. Comprovante de submissão do Artigo IV: “Desenvolvimento e Validação de Teste de Dissolução para Comprimido contendo a Associação em Dose Fixa de Zidovudina, Lamivudina e Efavirenz. Artigo submetido ao *Journal of Pharmaceutical Sciences*;

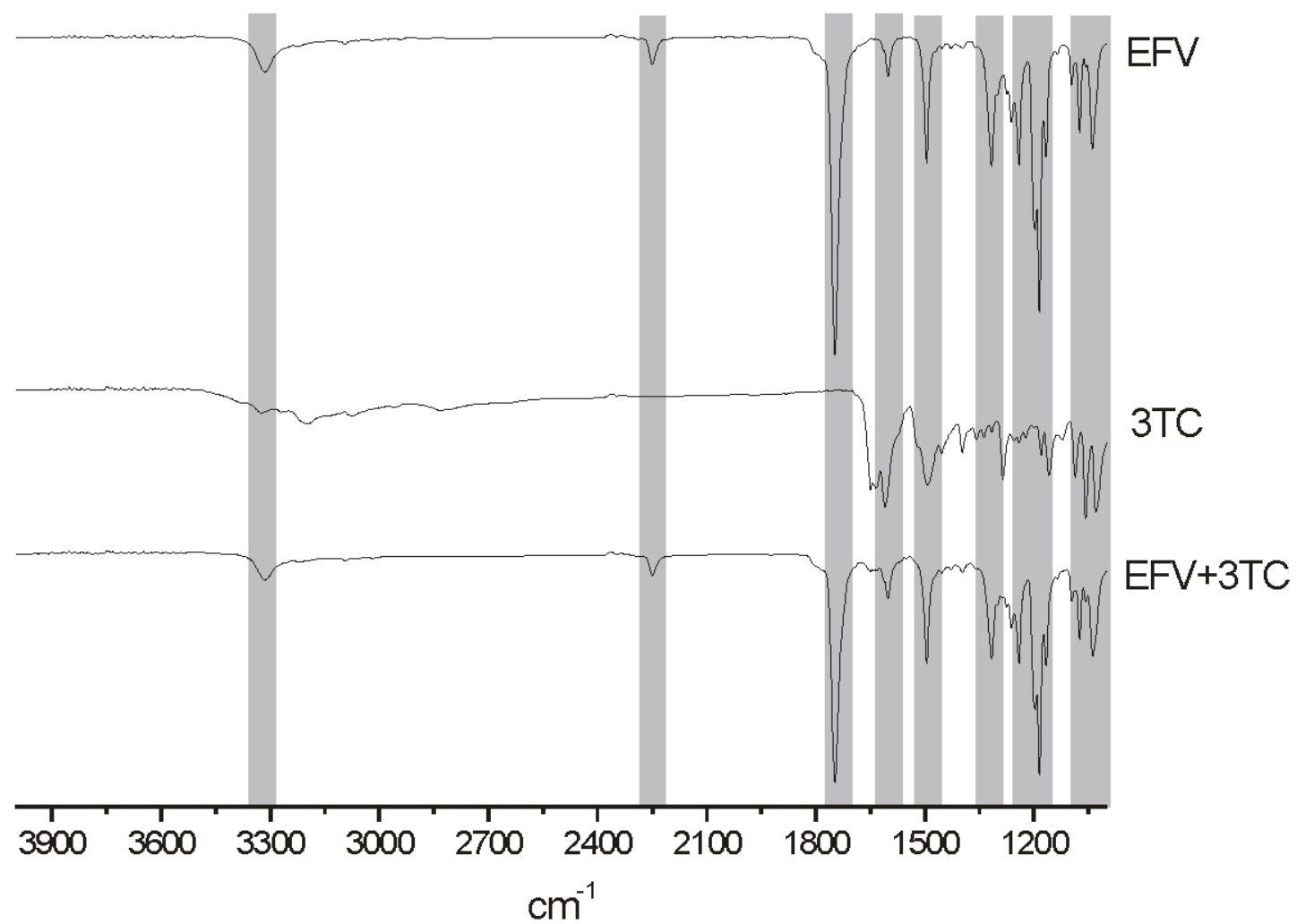
ANEXO A



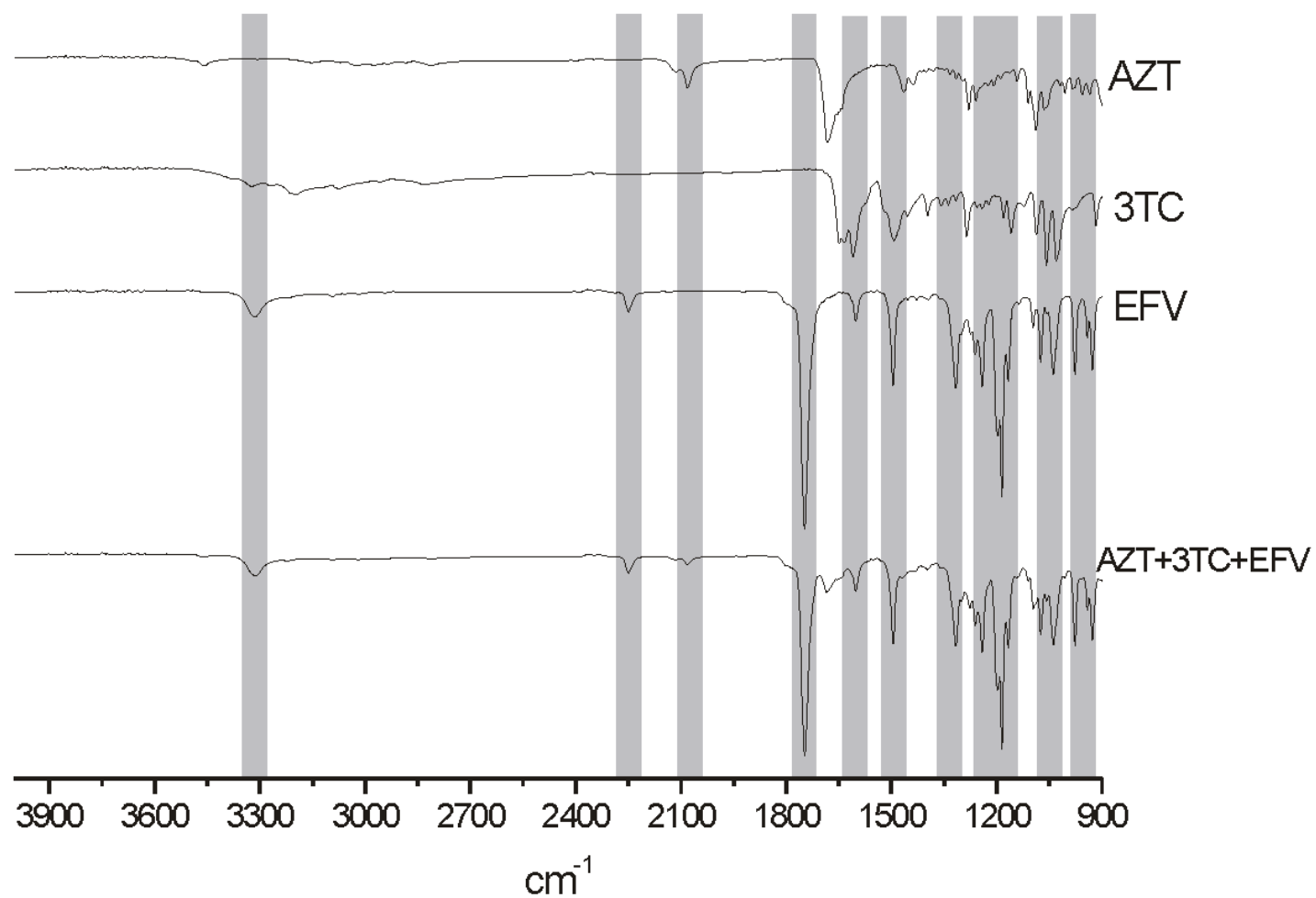
Espectro IVTFT-ATR dos fármacos AZT e 3TC e sua mistura binária AZT+3TC (1:1).



Espectro IVTFT-ATR dos fármacos EFV e AZT e sua mistura binária EFV+AZT (1:1).



Espectro IVTFT-ATR dos fármacos EFV e 3TC e sua mistura binária EFV+3TC (1:1).



Espectro IVTFT-ATR dos fármacos AZT, 3TC e EFV e sua mistura AZT+3TC+EFV (1:1:1).

ANEXO B

25-Jul-2011

Dear Dr. Rolim-Neto:

Your manuscript entitled "Development and Validation of the Dissolution Test for a Tablet Containing Efavirenz, Lamivudine and Zidovudine Associated in a Fixed Dose" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the Journal of Pharmaceutical Sciences.

Your manuscript ID is 11-633.

Please mention the above manuscript ID in all future correspondence or when calling the office for questions. If there are any changes in your street address or e-mail address, please log in to ScholarOne Manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/jpharmsci> and edit your user information as appropriate.

You can also view the status of your manuscript at any time by checking your Author Center after logging in to <http://mc.manuscriptcentral.com/jpharmsci> .

Thank you for submitting your manuscript to the Journal of Pharmaceutical Sciences.

Sincerely,

Journal of Pharmaceutical Sciences Editorial Office