



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

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS
(PELLETS) CONTENDO FÁRMACO ACICLOVIR**

ANDRÉ LUIZ MOREIRA DOMINGUES DE SOUSA

RECIFE
2021

ANDRÉ LUIZ MOREIRA DOMINGUES DE SOUSA

**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS
(PELLETS) CONTENDO FÁRMACO ACICLOVIR**

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

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE
2021

Catálogo na Fonte:
Elaine C Barroso, CRB-4/1728

Sousa, André Luiz Moreira Domingues de
Desenvolvimento e otimização de sistemas multiparticulados (Pellets) contendo
fármaco Aciclovir / André Luiz Moreira Domingues de Sousa – 2021.

66 f. : il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro
de Biociências. Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica,
Recife, 2021.

Inclui referências.

1. Aciclovir 2. Herpes simples 3. Farmacocinética I. Rolim Neto, Pedro José
(orient.). II. Título

615.1

CDD (22.ed)

UFPE/CB-2021-253

ANDRÉ LUIZ MOREIRA DOMINGUES DE SOUSA

**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE SISTEMAS MULTIPARTICULADOS
(PELLETS) CONTENDO FÁRMACO ACICLOVIR**

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

Aprovado em: 12/03/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dra. Mônica Felts de La Roca Soares
Universidade Federal de Pernambuco

Dra. Lidiany da Paixão Siqueira
Centro Universitário UniFavip

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo que tem me proporcionado até hoje.

À minha família, em especial ao meu pai (Joseildo), minha mãe (Gorete) e minha tia (Maria) por todo o amor, dedicação e apoio. Sem vocês, eu não seria metade do que sou hoje. Obrigado por sempre acreditarem em mim, por serem meu alicerce e inspiração para seguir lutando e conquistar meus objetivos profissionais e pessoais, mesmo quando falho em acreditar em mim mesmo. Todos estes anos de vida acadêmica não foram fáceis e eu atribuo esta conquista inteiramente a vocês.

À Natali e Lília por cada momento compartilhado e pelo suporte mútuo, desde a seleção do mestrado até a tão esperada defesa. Muito obrigado pela amizade durante todos esses anos. À Clara, Winny, Amanda, Beatriz, Luiz Fernando e Priscila pela amizade que rompeu as barreiras do Departamento de Ciências Farmacêuticas e por todo apoio e força durante todos esses anos. Sou muito grato pela amizade de vocês.

À Myla (*Mylex*) e Widson (*Widy*) pelo presente da amizade de vocês. Obrigado por todos os momentos e por todo apoio pessoal e profissional. Tenho muito orgulho de ser amigo de dois grandes cientistas que me inspiraram e continuam a me inspirar todos os dias. Sou muito grato por todas as orientações e apoios que recebi para a execução deste projeto. Mesmo quando os resultados não eram os mais favoráveis ou quando condições operacionais falhavam, vocês foram (e continuam sendo) uma fonte de luz para conseguir enxergar positividade quando, aparentemente, não havia nenhuma. Obrigado pela amizade de vocês!

Ao Prof. Pedro Rolim pela oportunidade concedida, pelos ensinamentos, orientações e paciência. Obrigado por sempre acreditar em mim e conseguir extrair o melhor de seus alunos. Tenho muito orgulho de ter pertencido à sua equipe. Também gostaria de agradecer à toda equipe do Laboratório de Tecnologia de Medicamentos.

À FACEPE, pelo financiamento deste trabalho. Ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica pela formação de mais um mestre.

RESUMO

O herpes vírus tipo 1 (HSV-1) e herpes vírus tipo 2 (HSV-2) são responsáveis por causar infecções em 60-90% da população adulta mundial, com manifestações clínicas que incluem herpes labial, genital, ocular, encefalites e doenças linfoproliferativas, onde os pacientes mais acometidos são os imunocomprometidos. O aciclovir é um fármaco análogo nucleosídeo amplamente utilizado no tratamento das infecções causadas pelo HSV-1 e HSV-2. No entanto, devido às propriedades farmacocinéticas deste fármaco, que incluem baixa biodisponibilidade oral (10-30%) e curta meia-vida plasmática, faz-se necessário uma alta frequência de administrações, as quais são acompanhadas de efeitos adversos e diminuição da adesão ao tratamento pelos pacientes. Uma forma de driblar esta problemática consiste na utilização de sistemas multiparticulados, visto que estes apresentam vantagens tecnológicas e biofarmacêuticas quando comparados com sistemas monolíticos convencionais. Dentre os sistemas multiparticulados, os pellets são as formas mais populares devido à sua morfologia esférica e propriedades mecânicas e de fluxo superiores. Uma das metodologias mais utilizadas na obtenção dos pellets é a técnica de extrusão-esferonização. No entanto, por ser um processo que envolve múltiplas etapas, variáveis experimentais podem ser otimizadas, utilizando ferramentas estatísticas de Design Experimental (DoE), para obter materiais com as características desejáveis. Com isso, o objetivo deste trabalho foi de realizar o desenvolvimento e a otimização da obtenção dos pellets, contendo o fármaco aciclovir, obtidos por extrusão-esferonização, utilizando um design experimental do tipo central composto. Para isso, os fatores definidos foram velocidade de rotação (rpm) e tempo de permanência no esferonizador (segundos), em dois níveis diferentes, guiando a obtenção de 14 lotes de bancada de pellets. O aciclovir e os excipientes foram caracterizados por meio diferentes técnicas analíticas. Os pellets obtidos foram avaliados em relação ao rendimento alcançado, teor de fármaco, distribuição de tamanho e propriedades de fluxo. Dentre os resultados obtidos, as caracterizações físico-químicas indicaram a natureza química do fármaco, excipientes e obtenção bem-sucedida de pellets. A obtenção de pellets por meio da técnica de extrusão-esferonização permitiu a obtenção de sistemas multiparticulados com propriedades de fluxo desejáveis e estreita faixa de distribuição de tamanho. A utilização da ferramenta de design experimental (DoE) do tipo central composto permitiu otimizar a obtenção dos pellets e os resultados obtidos indicaram que, para os fatores selecionados nos níveis aplicados neste estudo, tais variações apresentaram respostas estatisticamente significativas apenas na determinação do rendimento obtido pela técnica de extrusão-

esferonização. Os parâmetros operacionais de velocidade de rotação e tempo de esferonização que permitiram a obtenção de um melhor rendimento dos pellets é de 741 rpm e 132 segundos, respectivamente. Quanto ao perfil de liberação do ACV, os pellets foram capazes de modular a liberação do fármaco devido à ação dos componentes de sua matriz de excipientes, mais especificamente da celulose microcristalina. Além disso, a adição do polímero etilcelulose como agente de revestimento contribuiu, de maneira sinérgica, na modulação da liberação do princípio ativo, proporcionando um perfil de liberação mais lento do que o apresentado pelos pellets sem revestimento.

Palavras-chave: Aciclovir; Pellets; Sistemas Multiparticulados; Design Experimental; Extrusão-esferonização.

ABSTRACT

Herpes virus type 1 (HSV-1) and herpes virus type 2 (HSV-2) are responsible for causing infections in 60-90% of the adult population worldwide, with clinical manifestations that include cold sores, genital and ocular herpes, encephalitis and lymphoproliferative diseases, where the most affected patients are the immunocompromised ones. Acyclovir is a nucleoside analog drug widely used in the treatment of infections caused by HSV-1 and HSV-2. However, due to the pharmacokinetic properties of this drug, which include low oral bioavailability (10-30%) and short plasma half-life, a high frequency of administrations is necessary, which are accompanied by adverse effects and decreased patient compliance. One way to circumvent this problem is to use multiparticulate systems, since they have technological and biopharmaceutical advantages when compared to conventional monolithic systems. Pellets are the most popular forms due to their spherical morphology and mechanical and flow properties superior to other multiparticulate systems. One of the most used methodologies for obtaining pellets is the extrusion-spheronization technique. However, as it is a process that involves multiple steps, experimental variables can be optimized, using statistical tools of Experimental Design, to obtain materials with desirable characteristics. Thus, the objective of this work was to carry out the development and optimization of obtaining pellets, containing the drug acyclovir, obtained by extrusion-spheronization, using a central composite experimental design. For this, the factors defined were rotation speed (rpm) and spheronization time (seconds), in two different levels, guiding the obtaining of 14 batches of pellets. Acyclovir and excipients were characterized by different analytical techniques. The pellets obtained were evaluated for yielding, drug content, size distribution and flow properties. Among the results obtained, it was found that the obtainment process using the extrusion-spheronization technique allowed the obtaining of multiparticulate systems with desirable flow properties and a narrow size distribution range. The use of the central composite experimental design made it possible to optimize the obtaining of the pellets and the results obtained indicated that, for the factors selected in the levels applied in this study, such variations presented statistically significant responses only in determining the yield obtained by extrusion-spheronization technique. The operating parameters of rotation speed and spheronization time that allowed to obtain a better yield of the pellets are 741 rpm and 132 seconds, respectively. Regarding the release profile of the ACV, the pellets were able to modulate the release of the drug due to the action of the components of its excipient matrix, more specifically due to microcrystalline cellulose properties. In addition, the application of

the ethylcellulose as a coating agent has synergistically contributed to the release modulation of the drug, providing a slower release profile than the one presented by uncoated pellets.

Keywords: Acyclovir; Pellets; Multiparticulate Systems; Design of Experiment; Extrusion-spheronization.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura básica do HSV	17
Figura 2 - Estrutura química do nucleosídeo guanosina e do fármaco aciclovir.....	19
Figura 3 - Mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo HSV-1 e HSV-2...	21
Figura 4 - Processos da metodologia de extrusão-esferonização.	24
Figura 5 - Processo de formação das partículas esféricas (pellets) durante a esferonização	24
Figura 6 - Espectro de infravermelho do fármaco, excipientes e formulação obtida....	36
Figura 7 - Curvas de TG do ACV e Excipientes	39
Figura 8 - Curvas de DSC do ACV e excipientes	40
Figura 9 - Triplicata da curva de calibração para o ensaio de linearidade.	41
Figura 10 - Curva média do ensaio de linearidade.	42
Figura 11 - Gráfico da dispersão dos resíduos do ensaio de linearidade.....	43
Figura 12 - Espectros UV obtidos para o ensaio de seletividade.	43
Figura 13 - Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz.....	44
Figura 14 - Distribuição Granulométrica por Tamisação.....	48
Figura 15 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para rendimento dos pellets.....	51
Figura 16 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para doseamento do fármaco.	51
Figura 17 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para distribuição de tamanho.	52
Figura 18 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para propriedades de fluxo.....	52
Figura 19 - Gráfico de Otimização	54
Figura 20 - Perfil de dissolução dos pellets e do ACV puro. (a) Meio tampão fosfato pH 6,8; (b) Meio tampão ácido pH 1,2.....	56
Figura 21 - Pellets obtidos durante o estudo. (a) Pellets não-revestidos; (b) Pellets revestidos com Etilcelulose (5%).	57
Figura 22 - Perfil de dissolução dos pellets não-revestidos e dos pellets revestidos. (a) Meio tampão fosfato pH 6,8; (b) Meio tampão ácido pH 1,2.....	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Reagentes utilizados na pesquisa.	29
Tabela 2 - Lista de excipientes utilizados na formulação de pellets	31
Tabela 3 - Fatores e níveis variados na produção de lotes de pellets.	32
Tabela 4 - Solubilidade do ACV em diferentes meios.	41
Tabela 5 - Resultados estatístico ANOVA para linearidade.	42
Tabela 6 - Resultados para o ensaio de repetibilidade.....	45
Tabela 7 - Resultados para o ensaio de precisão intermediária.	45
Tabela 8 - Resultados do Teste t Student para o ensaio de exatidão.	46
Tabela 9 - Resultados obtidos para o ensaio de robustez.	47
Tabela 10 - Teor de ACV e rendimento obtido após extrusão-esferonização.....	48
Tabela 11 - Propriedades micrométricas dos pellets	50
Tabela 12 - Classificação das propriedades de fluxo de acordo com o ICC e FH	50
Tabela 13 – Área sob a curva e Eficiência de dissolução nos diferentes meios de dissolução para pellets e ACV puro.	56
Tabela 14 - Área sob a curva e Eficiência de dissolução nos diferentes meios de dissolução para pellets não-revestidos e pellets revestidos	58

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ACV	Aciclovir
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EC	Etilcelulose
FFSOs	Formas Farmacêuticas Sólidas Orais
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSV	Herpes Simplex Vírus
HSV-1	Herpes Simplex Vírus Tipo I
HSV-2	Herpes Simplex Vírus Tipo II
MCC	Celulose Microcristalina
TG	Análise Termogravimétrica

LISTA DE SÍMBOLOS

pH	Potencial hidrogeniônico
nm	Nanômetro
mL	Mililitro
mm	Milímetro
M	Molar
°C	Graus Celsius
%	Porcentagem

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
1.2 OBJETIVOS.....	16
1.2.1 Objetivo Geral	16
1.2.2 Objetivos Específicos	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	17
2.1 HERPES SIMPLES.....	17
2.2 ACICLOVIR	19
2.2.1 Propriedades Físico-Químicas.....	20
2.2.2 Mecanismo de Ação	20
2.2.3 Propriedades Farmacocinéticas	21
2.3 SISTEMAS MULTIPARTICULADOS.....	22
2.3.1 Pellets e Obtenção de Pellets por Extrusão-Esferonização	23
2.3.2 Revestimento de pellets.....	26
2.4 DESIGN EXPERIMENTAL (<i>Design of Experiment</i> – DoE).....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	29
3.1 MATERIAL	29
3.2 MÉTODOS.....	29
3.2.1 Caracterizações Físico-Químicas do ACV e Excipientes.....	29
3.2.1.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	29
3.2.1.2 Análise Térmica.....	29
3.2.1.3 Estudo de Solubilidade do Aciclovir	30
3.2.2 Desenvolvimento da formulação e obtenção de pellets por extrusão-esferonização	30
3.2.2.1 Design Experimental	31
3.2.3 Validação do método de doseamento do ACV nas formulações.....	32
3.2.4 Caracterização dos pellets	34
3.2.4.1 Determinação do teor de aciclovir nos pellets.....	34
3.2.4.2 Análise de distribuição granulométrica por tamisação.....	34
3.2.4.3 Determinação das propriedades de fluxo dos pellets.....	34
3.2.4.4 Estudo do perfil de dissolução dos pellets.....	35
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO ACICLOVIR E EXCIPIENTES....	36
4.1.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)	36
4.1.2 Análise Térmica.....	37

4.1.3 Estudo de Solubilidade do Aciclovir	40
4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO DE ACV NAS FORMULAÇÕES	41
4.2.1 Linearidade	41
4.2.2 Seletividade	43
4.2.3 Efeito matriz	44
4.2.4 Repetibilidade	44
4.2.5 Precisão intermediária	45
4.2.6 Exatidão	45
4.2.7 Robustez	46
4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PELLETS	47
4.3.1 Teor de ACV nos pellets e rendimento dos pellets obtidos.....	47
4.3.2 Análise de distribuição granulométrica por tamisação.....	48
4.3.3 Determinação das propriedades de fluxo dos pellets.....	49
4.4 DESIGN EXPERIMENTAL DO TIPO CENTRAL COMPOSTO (DoE).....	50
4.5 ESTUDO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DOS PELLETS	55
5 CONCLUSÃO.....	60
6 PERSPECTIVAS FUTURAS	62
REFERÊNCIAS	63

1 INTRODUÇÃO

O herpes vírus tipo 1 (HSV-1) e herpes vírus tipo 2 (HSV-2) são responsáveis pelo surgimento de infecções em aproximadamente 60-90% da população adulta mundial. Os sintomas desta infecção incluem herpes labial, genital e ocular, assim como casos mais graves desenvolvendo encefalites e doenças linfoproliferativas, onde os pacientes mais acometidos são os imunocomprometidos (CHAYAVICHITSILP et al., 1974; KLYSIK et al., 2018; REOLON et al., 2019; YAN et al., 2019).

O fármaco aciclovir (ACV) é um análogo nucleosídeo amplamente utilizado no tratamento de infecções por HSV-1 e HSV-2. Sua estrutura é similar à guanosina e seu mecanismo de ação, basicamente, consiste em inibir a DNA polimerase viral (KLYSIK et al., 2018). No entanto, devido às propriedades farmacocinéticas deste fármaco, como baixa biodisponibilidade oral (10-30%) e, conseqüentemente, alta frequência de administração (4 a 5 vezes por dia), é comum observar alta frequência de efeitos adversos e redução da adesão ao tratamento pelos pacientes (KLYSIK et al., 2018; LOREGIAN et al., 2001; REOLON et al., 2019; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

As problemáticas presentes na administração de Formas Farmacêuticas Sólidas Oraís (FFSOs), tais como baixa biodisponibilidade e alta frequência de administração, podem ser dribladas com a utilização de sistemas multiparticulados (CHEN et al., 2017; GAIKWAD et al., 2018). Sistemas multiparticulados são formulações nas quais o insumo farmacêutico ativo encontra-se subdividido em subunidades funcionais e independentes entre si, numa faixa de tamanho entre 0,05 e 3,0 mm de diâmetro e exibem uma série de vantagens tecnológicas e biofarmacotécnicas quando comparados com sistemas monolíticos convencionais. Estas partículas são livremente distribuídas no trato gastrointestinal, maximizando a absorção do medicamento, reduzindo as variações na concentração plasmática do fármaco, minimizando os potenciais efeitos colaterais e aumentando assim, a biodisponibilidade do insumo farmacêutico ativo (DEY; MAJUMDAR; RAO, 2008; SHAH; MEHTA; GOHEL, 2017).

Os pellets, que por definição são partículas esféricas com estreita distribuição de tamanho (100-1500 μm), apresentam maior popularidade frente aos outros sistemas multiparticulados devido à sua morfologia esférica, propriedades mecânicas superiores (habilidades elásticas e de deformação, resistência à tração) e facilidade de revestimento (CHEN et al., 2017; NEJATI et al., 2018; ŠIBANC et al., 2013).

Um dos métodos mais utilizados para obtenção de pellets é por meio da técnica de extrusão-esferonização. Por ser uma metodologia que envolve múltiplas etapas, variáveis no

processo tais como tempo de esferonização e velocidade de rotação do aparelho devem ser otimizadas com o intuito de obter rendimento adequado e materiais com características desejadas (FAROOQ et al., 2019; MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; NEJATI et al., 2018).

Devido à necessidade de otimização dos parâmetros operacionais do processo de extrusão-esferonização, ferramentas estatísticas podem ser aplicadas para determinar as condições ótimas para a realização do experimento e fornecer, de maneira precisa, detalhes mais aprofundados a respeito desses processos. O Design Experimental (do inglês *Design of Experiment – DoE*) permite realizar este tipo de operação e estudar a ação de um ou mais fatores e suas possíveis interações na resposta de um experimento (SAVIC et al., 2012).

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Realizar o desenvolvimento e otimização de sistemas multiparticulados (pellets), obtidos por extrusão-esferonização, contendo o fármaco aciclovir.

1.2.2 Objetivos Específicos

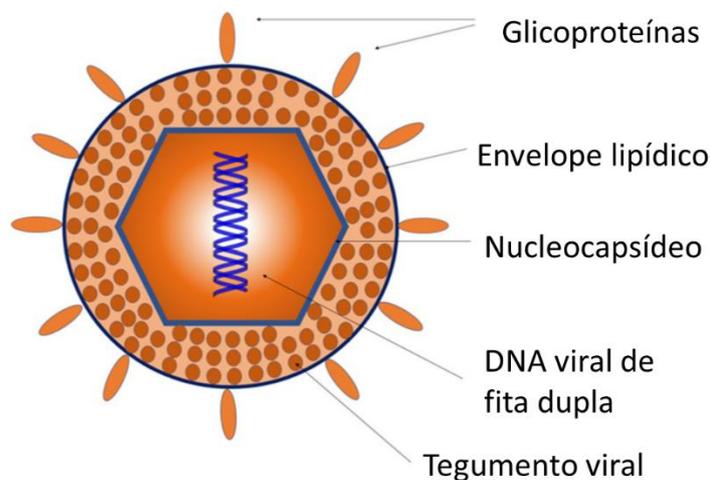
- Realizar caracterizações físico-químicas do aciclovir e excipientes através de diferentes técnicas analíticas;
- Formular pellets contendo aciclovir, obtidos através da metodologia de extrusão-esferonização, utilizando parâmetros operacionais definidos por meio de um design experimental do tipo central composto utilizando como fatores a velocidade de rotação do esferonizador e tempo de permanência no esferonizador, em dois diferentes níveis;
- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para quantificação do fármaco aciclovir através de espectrofotometria;
- Realizar a caracterização dos pellets obtidos através dos seguintes parâmetros: rendimento, teor de fármaco (doseamento), distribuição de tamanho e propriedades de fluxo;
- Realizar estudo de dissolução do aciclovir a partir da matriz de pellets revestidos e não-revestidos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 HERPES SIMPLES

O herpes simples vírus (HSV) é responsável por causar infecções de alta prevalência, com estatísticas apontando que cerca de 60-90% da população mundial adulta seja soropositiva para os dois principais tipos virais. As manifestações clínicas incluem herpes labial, genital e ocular, encefalites, infecções congênitas e doenças linfoproliferativas, onde os pacientes mais acometidos são os imunocomprometidos (CHAYAVICHITSILP et al., 1974; KLYSIK et al., 2018; REOLON et al., 2019; YAN et al., 2019). Foram descritos mais de 80 tipos de herpes vírus, dentre os quais 8 deles são capazes de desenvolver lesões em humanos (CHAYAVICHITSILP et al., 1974). O herpes vírus tipo 1 (HSV-1) e herpes vírus tipo 2 (HSV-2) são os que apresentam maior significância clínica devido à maior prevalência (WIDENER; WHITLEY, 2014). A Figura 1 ilustra a estrutura básica do HSV.

Figura 1 - Estrutura básica do HSV



Fonte: Koujah; Suryawanshi; Shukla, 2019. (ADAPTADO)

A transmissão do HSV-1 geralmente não envolve contato sexual e, em sua maior parte, é transmitido durante a infância através de superfícies mucosas ou de soluções de continuidade da pele, causando lesões nos lábios, mucosa bucal, orofaringe, face, olhos e sistema nervoso central, sendo uma das principais causas de cegueira infecciosa em países desenvolvidos e a principal causa de encefalite viral em adultos. O HSV-2, por sua vez, é transmitido por meio do contato sexual e causa lesões nos órgãos genitais embora, atualmente, o HSV-1 esteja mais frequentemente envolvido em lesões genitais primárias. Ambos os tipos

causam infecções recorrentes (BRADLEY et al., 2014; CHAYAVICHITSILP et al., 1974; TOGNARELLI et al., 2019; WIDENER; WHITLEY, 2014; YAN et al., 2019). A prevalência do HSV-2 em crianças não é comum devido à forma de transmissão deste tipo viral, porém pode ser transmitida da mãe para o feto durante a gestação ou para o neonato durante o parto, causando encefalite neonatal (CHAYAVICHITSILP et al., 1974; GARDELLA; HANDSFIELD; WHITLEY, 2008; TOGNARELLI et al., 2019).

Após contato do vírus com membranas mucosas do hospedeiro, HSV-1 e HSV-2 ligam-se às membranas plasmáticas por meio de receptores e alcançam o núcleo celular, onde realizam replicação e transcrição do material genético, caracterizando a infecção inicial. Em seguida, os vírus realizam fusão com terminais axônicos e migram sentido retrógrado pelas fibras nervosas com o objetivo de estabelecer latência nos gânglios trigêmeo e sacral. Após reativação nos gânglios, o vírus também é capaz de realizar movimentos anterógrados e infectar outros neurônios que podem inervar o cérebro ou infectar outras células próximas ao local de contato inicial no hospedeiro (KLYSIK et al., 2018; TOGNARELLI et al., 2019; WIDENER; WHITLEY, 2014; YAN et al., 2019).

Um dos fatores que contribui para a latência do vírus e, conseqüentemente, o desenvolvimento de infecções duradouras, se dá à capacidade do HSV em infectar células do sistema imune, permitindo que o vírus module e escape mecanismos antivirais do sistema imunológico humano (TOGNARELLI et al., 2019). Desta forma, o genoma viral pode se manter no estado latente no interior das células sendo capaz de expressar alguns genes. No entanto, os episódios agudos secundários são geralmente de menor intensidade e frequência devido à memória imunológica do hospedeiro (BRADY; BERNSTEIN, 2004).

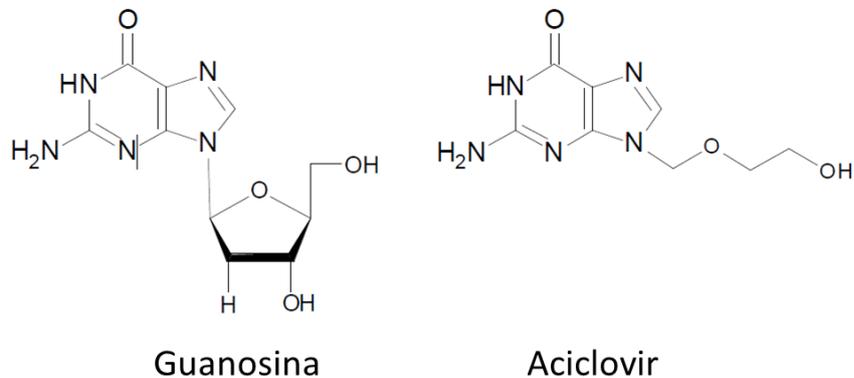
A infecção se manifesta através do aparecimento de manchas vermelhas inflamatórias e vesículas dolorosas, as quais possuem em seu interior um líquido rico em *virions*. A ruptura dessas bolhas, com a subsequente liberação dos *virions*, consiste em uma das formas de transmissão (SPEAR et al., 2006). A maioria das infecções iniciais possuem aspecto subclínico e podem não ser identificadas facilmente, além de ter caráter dependente da forma de transmissão, idade e imunocompetência do hospedeiro. As infecções recorrentes, por sua vez, apresentam manifestações clínicas mais evidentes e resultam da reativação do vírus desencadeada por fatores como estresse, menstruação, exposição à luz solar, fadiga e outros fatores imunodepressores. Após reativação, os vírus realizam o caminho de volta para as terminações nervosas na pele, causando erupções vesiculares, geralmente no local da infecção inicial (CHAYAVICHITSILP et al., 1974; KLYSIK et al., 2018; WIDENER; WHITLEY, 2014; YAN et al., 2019).

Crianças e pacientes imunocomprometidos estão sujeitos às complicações clínicas decorrentes da infecção, as quais incluem cegueira, encefalites, doenças linfoproliferativas e doenças neurodegenerativas como doença de Alzheimer (DE CHIARA et al., 2019; KLYSIK et al., 2018; YAN et al., 2019). O fim das manifestações clínicas, assim como sua reincidência, não deixa cicatrizes ou marcas nos indivíduos (SPEAR et al., 2006).

2.2 ACICLOVIR

Análogos nucleosídeos são classes farmacológicas amplamente utilizadas no tratamento de infecções pelo HSV. O fármaco aciclovir (ACV) é um exemplo clássico do mecanismo de ação de análogos nucleosídeos e apresenta eficácia e segurança comprovadas. Por ser um análogo nucleosídeo, sua estrutura é similar à guanosina, apresentando uma base guanina fixada a um anel de açúcar rompido e incompleto, conforme ilustrado na Figura 2 (KLYSIK et al., 2018).

Figura 2 - Estrutura química do nucleosídeo guanosina e do fármaco aciclovir.



Fonte: KLYSIK et al., 2018. (ADAPTADO)

Aciclovir é o pró-fármaco utilizado como tratamento de primeira escolha de infecções por HSV-1 e HSV-2, assim como outros análogos nucleosídeos. O ACV também apresenta atividade contra varicela zoster vírus, citomegalovírus e Epstein Barr vírus. Inicialmente, o ACV foi sintetizado na década de 1970 e revolucionou o desenvolvimento de fármacos no combate a infecções virais. Este fármaco é veiculado em formulações para administração ocular, tópica, oral e intravenosa (KLYSIK et al., 2018; REOLON et al., 2019; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

2.2.1 Propriedades Físico-Químicas

Sua nomenclatura pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) é 2-amino-1,9 -dihidro-9-[(2-hidroxietoxi)metil]-6H-purina-6-ona. ACV é uma molécula anfótera, com grupamentos ácidos e básicos fracos, com pK_a de 2,16-2,27 (ácido) e 9,04-9,25 (básico) a 37 °C. O coeficiente de partição (logP) em n-octanol é de -1,59 a 25 °C. Seu ponto de fusão é de 256,5 – 257 °C. (KLYSIK et al., 2018; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 6ª Edição (2019), o fármaco apresenta-se como um pó cristalino branco ou quase branco. Quanto à solubilidade, o ACV é pouco solúvel em água (0,2% em 25°C), facilmente solúvel em dimetilsulfóxido e muito pouco solúvel em álcool etílico; solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos. Uma das metodologias de identificação inclui análise no espectro de absorção no ultravioleta, na faixa de 200 nm a 350 nm, em solução a 0,0015% (p/v) em ácido clorídrico 0,1 M, com máximo de absorção em 254 nm e um ombro inclinado em torno de 274 nm (BRASIL, 2019).

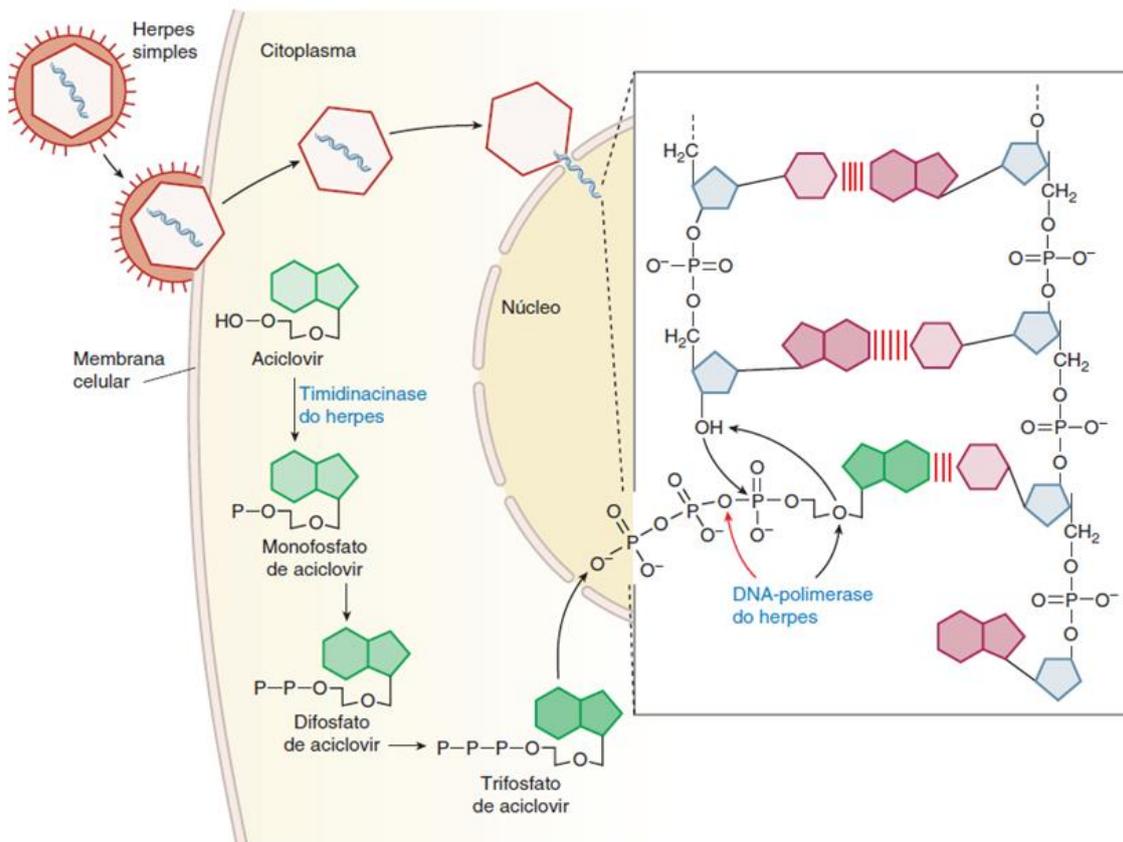
2.2.2 Mecanismo de Ação

O ACV possui ação seletiva na inibição da replicação viral e possui baixa toxicidade em células não infectadas do hospedeiro devido a um mecanismo de fosforilação sequencial do ACV, convertendo-o na forma ativa de aciclovir trifosfato (ou trifosfato de aciclovir), que ocorre apenas em células infectadas (LOREGIAN et al., 2001). A alta seletividade do ACV na inibição da replicação do DNA viral é decorrente da maior captação do princípio ativo pelas células infectadas, mecanismos de fosforilação por meio de uma timidina quinase viral e pela especificidade do aciclovir trifosfato pela DNA polimerase viral. A inibição da DNA polimerase viral pelo aciclovir trifosfato é 10 a 30 mais potente do que a inibição da DNA polimerase humana (KLYSIK et al., 2018)

A Figura 3 ilustra o mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo HSV-1 e HSV-2. A fosforilação inicial convertendo aciclovir em aciclovir monofosfato é realizada por uma enzima viral denominada timidina quinase. Em seguida, aciclovir monofosfato é convertido em aciclovir difosfato por meio da enzima celular guanilato quinase. A conversão na forma aciclovir trifosfato é realizada por outras enzimas das células do hospedeiro (LAURENCE L. BRUNTON, BRUCE A. CHABNER, 2012; LOREGIAN et al., 2001). O

ACV em sua forma não fosfatada não apresenta função farmacológica. Na forma de aciclovir trifosfato, este composto é capaz de se ligar e inativar a DNA polimerase viral por meio da formação de um complexo irreversível, competindo com o substrato natural (trifosfato de guanosina) devido à similaridade estrutural, impedindo o alongamento da cadeia de DNA e finalizando a síntese de DNA (KLYSIK et al., 2018).

Figura 3 - Mecanismo de ação do ACV em células infectadas pelo HSV-1 e HSV-2.



Fonte: Brunton; Chabner, 2012.

2.2.3 Propriedades Farmacocinéticas

ACV apresenta uma absorção gastrointestinal variável e incompleta, na qual aproximadamente 10 – 30% do fármaco torna-se biodisponível, resultando em uma alta frequência de administração diária por via oral (quatro a cinco vezes por dia). Estes baixos valores de biodisponibilidade estão relacionados às características relacionadas ao fármaco em si e não com os componentes de uma formulação ou veículos utilizados. Por apresentar comportamento hidrofílico, a absorção se dá por meio de difusão passiva e também é um processo variável, lento e incompleto. Com o aumento das doses administradas por via oral de

aciclovir, há uma redução da biodisponibilidade de 20 para 10%, visto que há limitação da área de absorção e saturação dos sistemas carreadores (KLYSIK et al., 2018; LOREGIAN et al., 2001; REOLON et al., 2019; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

O pico da concentração plasmática é alcançado entre 1,5 – 2,5h após administração oral. O fármaco é amplamente distribuído na maior parte dos tecidos incluindo cérebro, rins, pulmões, fígado, coração, músculos, baço, placenta, útero, mucosa e secreções vaginais, sêmen, saliva, humor aquoso e fluido cérebro-espinhal. A taxa de ligação às proteínas plasmáticas é de cerca de 9 – 33% independentemente da concentração do fármaco. Seu processo de metabolização inclui oxidação e hidroxilação, gerando 9-carboximetilguanina e outros metabólitos de menor importância (KLYSIK et al., 2018; LOREGIAN et al., 2001).

O fármaco inalterado é eliminado pelos rins por filtração glomerular e secreção tubular ativa, sendo a eliminação renal a principal via de retirada do aciclovir do organismo. Diante disto, quadros clínicos de insuficiência renal são responsáveis pelo aumento da concentração plasmática de aciclovir e constituem as principais toxicidades que limitam a dose do ACV por via endovenosa (KLYSIK et al., 2018; LOREGIAN et al., 2001). Efeitos adversos após administração oral ou intravenosa incluem distúrbios gastrointestinais (náusea, diarreia, constipação), irritações na pele, dor de cabeça, tontura e alguns efeitos neurotóxicos que foram descritos em raros casos (KLYSIK et al., 2018; SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

2.3 SISTEMAS MULTIPARTICULADOS

Os principais problemas associados a esquemas terapêuticos que envolvem Formas Farmacêuticas Sólidas Oraís (FFSOs), tais como baixa biodisponibilidade e alta frequência de administração, podem ser solucionados com a utilização de sistemas multiparticulados (CHEN et al., 2017; GAIKWAD et al., 2018). Sistemas multiparticulados ou formas farmacêuticas multiparticuladas são formulações nas quais o insumo farmacêutico ativo encontra-se subdividido em subunidades funcionais e independentes entre si. O tamanho das partículas deve variar entre 0,05 e 3,0 mm de diâmetro. Grânulos, pellets e microcomprimidos são exemplos de sistemas multiparticulados (DEY; MAJUMDAR; RAO, 2008; SHAH; MEHTA; GOHEL, 2017).

As principais vantagens dos sistemas multiparticulados, quando comparados com sistemas monolíticos convencionais, envolvem aspectos farmacotécnicos e biofarmacêuticos

tais como menor susceptibilidade a *dose dumping*; esvaziamento gástrico mais rápido e previsível devido à uma melhor distribuição dos componentes no trato gastrointestinal independentemente do estado alimentício do paciente; melhor biodisponibilidade, menor variação na liberação do insumo farmacêutico ativo, menor frequência de administração e melhor adesão ao tratamento pelo paciente. Além disso, há a possibilidade de veicular fármacos incompatíveis entre si ou que apresentem incompatibilidade com excipientes de uma matriz devido à uma separação física por estarem subdivididos em subunidades funcionais (CHEN et al., 2017; DUKICOTT et al., 2009; SHAH; MEHTA; GOHEL, 2017).

2.3.1 Pellets e Obtenção de Pellets por Extrusão-Esferonização

Pellets são partículas esféricas e com estreita faixa de tamanho (entre 100 e 1500 μm), o quais podem ser veiculados em uma cápsula ou comprimidos. Consistem em um dos sistemas multiparticulados mais populares devido à morfologia esférica e propriedades mecânicas (habilidades elásticas e de deformação, resistência à tração) (CHEN et al., 2017; NEJATI et al., 2018; ŠIBANC et al., 2013). Os pellets possuem, além das vantagens terapêuticas dos sistemas multiparticulados mencionadas anteriormente, melhores propriedades de fluxo, baixa friabilidade, maior resistência mecânica, estreita faixa de distribuição de tamanho, facilidade de revestimento e armazenamento (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016).

Um dos métodos mais utilizados para obtenção de pellets é a técnica de extrusão-esferonização. Esta metodologia apresenta vantagens tais como produção de pellets com morfologia adequada, baixa friabilidade, baixa higroscopicidade, propriedades de fluxo desejáveis e uniformidade de tamanho. Variáveis no processo tais como tempo de esferonização e velocidade de rotação do aparelho devem ser otimizadas com o intuito de obter rendimento adequado e materiais com características ideais (FAROOQ et al., 2019; MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; NEJATI et al., 2018).

A extrusão-esferonização, conforme ilustrado na Figura 4, consiste na obtenção de uma mistura uniforme de pós contendo fármaco e excipientes, a qual é submetida à adição de um líquido de molhagem para formar uma massa úmida e coesa com as propriedades adequadas. Em seguida, este material é submetido à uma extrusora, onde a massa é pressionada em malhas com abertura fixa para formar um extrusado de estrutura longa e cilíndrica. Por fim, o extrusado é submetido ao esferonizador, que é uma câmara cilíndrica com fundo rotatório que apresenta uma superfície frisada o qual é responsável por transformar

o extrusado longo em partículas esféricas, mais conhecidas como pellets. Por fim, os pellets são submetidos a um processo de secagem que pode ocorrer em leito fluidizado ou em estufas convencionais (DUKICOTT et al., 2009; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; SHAH; MEHTA; GOHEL, 2017).

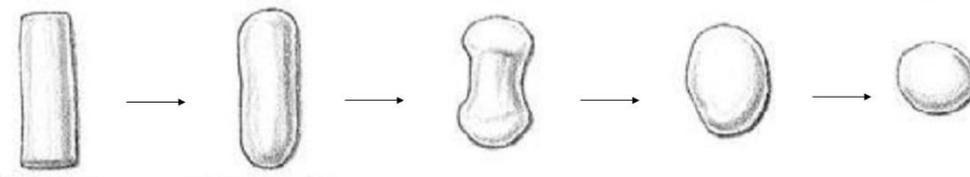
Figura 4 - Processos da metodologia de extrusão-esferonização.



Fonte: Autoria própria.

Durante o processo de esferonização, os extrusados cilíndricos são clivados em comprimentos uniformes e são gradualmente transformados em partículas esféricas. Este fenômeno de modelagem dos materiais é possibilitado devido à deformação plástica proveniente dos excipientes utilizados na formulação, proveniente da ação da fricção da placa rotatória do esferonizador, das colisões entre as partículas e das colisões com as paredes do equipamento. A Figura 5 ilustra, de maneira geral, o processo de formação das partículas esféricas (pellets) através desta metodologia (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016).

Figura 5 - Processo de formação das partículas esféricas (pellets) durante a esferonização



Fonte: Muley; Nandgupe; Poddar, 2019 (ADAPTADO).

Para a ocorrência de uma extrusão bem executada, a massa úmida formada precisa se manter homogênea durante este processo. As características que este material deve conter incluem fluidez e propriedades autolubrificantes durante a passagem da massa pelos orifícios da malha da extrusora ou granulador. De maneira geral, as propriedades do extrusado devem

ser: 1) apresentar resistência mecânica e, simultaneamente, ser frágil o suficiente para sofrer as rupturas para a formação de partículas esféricas no esferonizador; 2) possuir plasticidade suficiente para que os cilindros sejam remodelados em esferas por meio da ação da placa de fricção do esferonizador; 3) os longos extrusados cilíndricos, idealmente, não devem aderir entre si, diminuindo a agregação destas partículas durante a esferonização (BÖLCSKEI et al., 2012).

Adjuvantes de extrusão-esferonização, tais como celulose microcristalina (MCC), são necessários na obtenção dos pellets utilizando esta metodologia. A celulose microcristalina é considerada um excipiente “padrão-ouro” neste processo por contribuir para a formação das esferas, por conferir plasticidade e coesão à massa úmida e por possuir propriedades reológicas necessárias. A MCC é capaz de reter grandes volumes de água devido à alta área superficial e à alta porosidade interna. Desta forma, há um controle no fluxo de líquido na massa úmida e isto evita que haja separação de fase entre os componentes da matriz. Conseqüentemente, a utilização de celulose microcristalina permite a obtenção de pellets com boa esfericidade, baixa friabilidade e superfície uniforme e regular (BÖLCSKEI et al., 2012; TRIVEDI et al., 2007).

O uso de MCC não é recomendado para núcleos de pellets que possuem fármacos incompatíveis com este excipiente ou quando se deseja uma liberação mais rápida do princípio ativo a partir destes núcleos, visto que pellets a base de MCC não sofrem um processo de desintegração rápido ou completo. Formas para solucionar as problemáticas que envolvem a utilização de MCC no desenvolvimento de pellets incluem o uso de agentes desintegrantes como croscarmelose sódica ou a utilização de uma mistura de isopropanol e água como agentes de molhagem para a formação da massa úmida. Além disso, outros excipientes são necessários para desempenhar funções farmacotécnicas de formulação, tais como agentes agregantes, desintegrantes, diluentes, entre outros. (CHEN et al., 2017; DUKICOTT et al., 2009; MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016; NEJATI et al., 2018; PATEL et al., 2016).

Em relação ao controle das variáveis do processo, a velocidade de rotação do esferonizador, tempo de permanência dos materiais no equipamento, entre outros fatores influenciam na qualidade final dos pellets. Baixas velocidades de rotação geralmente não implicam em alterações significativas na morfologia das esferas. Altas velocidades de rotação, por sua vez, são capazes de promover uma redução no tamanho das partículas. Ainda em relação à velocidade de rotação do esferonizador, é possível avaliar diferenças nas densidades bruta e de compactação das partículas esféricas ao otimizar este parâmetro. Em relação ao

tempo de permanência no equipamento, diferenças significantes foram comprovadas ao realizar variações neste parâmetro, gerando alterações no diâmetro, distribuição do tamanho, esfericidade, densidade e rendimento (MULEY; NANDGUDE; PODDAR, 2016).

2.3.2 Revestimento de pellets

Para o desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada utilizando fármacos solúveis ou ligeiramente solúveis em soluções aquosas, uma etapa de revestimento se faz necessária para obtenção de tal perfil. O revestimento de produtos farmacêuticos baseia-se na deposição de um material na superfície de sólidos, possibilitando a obtenção de sistemas com vantagens frente às formas não revestidas. Este procedimento é capaz de aumentar a estabilidade físico-química, mascarar sabor desagradável, realizar proteção gástrica, proteger o insumo farmacêutico ativo de fatores externos e modular a liberação de fármacos. (ARAÚJO ROLIM et al., 2009; THAPA et al., 2018; ZOUBARI; ALI; DASHEVSKIY, 2019).

A utilização de polímeros na prática da tecnologia farmacêutica consiste em uma das principais estratégias para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos. Diferentes matérias poliméricas, com diferentes características físico-químicas, são amplamente utilizados para o revestimento de formas farmacêuticas sólidas, o qual permite modificar a liberação do fármaco, guiando o desenvolvimento de sistemas de liberação modificada (WASILEWSKA; WINNICKA, 2019).

Dentre os materiais poliméricos mais utilizados, destacam-se derivados da celulose, derivados acrílicos e derivados de acetato de polivinila. A liberação do fármaco a partir dos pellets revestidos depende de fatores como difusão do princípio ativo, formação de rupturas do filme polimérico, intumescimento do polímero, formação de poros e penetração da água nos núcleos do pellet (FAROOQ et al., 2019; THAPA et al., 2018; WASILEWSKA; WINNICKA, 2019).

Etilcelulose (EC) é um polímero hidrofóbico altamente utilizado por ser não-alergênico, não tóxico, insípido e por possuir boas propriedades de formação de filme na superfície de partículas sólidas. É um material que pode ser disperso em solventes orgânicos ou em meio aquoso, no qual este último vem sendo mais utilizado devido à questões ambientais relacionadas ao uso de compostos orgânicos. Devido à formação de filmes hidrofóbicos e devido ao intumescimento (*swelling*) que este material sofre em líquidos biológicos, a etilcelulose é amplamente utilizada como agente modulador da liberação de

princípios ativos, permitindo o desenvolvimento de sistemas de liberação prolongada de fármacos (AFRASIABI GAREKANI et al., 2017; FAROOQ et al., 2019; THAPA et al., 2018; WASILEWSKA; WINNICKA, 2019).

2.4 DESIGN EXPERIMENTAL (*Design of Experiment – DoE*)

O Design Experimental (do inglês *Design of Experiment – DoE*) é uma metodologia que permite o desenvolvimento, de maneira estratégica, de experimentos e procedimentos operacionais com o objetivo de fornecer informações e dados da forma mais eficiente e precisa possíveis. Por meio de descrições matemáticas, é possível determinar a relação entre os fatores experimentais que influenciam em um processo e suas respostas, sendo considerado um método poderoso e robusto para delineamento de experimentos de desempenho superior (N. POLITIS et al., 2017; RAKIĆ et al., 2014; SAVIC et al., 2012).

Diversos modelos matemáticos de designs experimentais estão descritos na literatura e a escolha do modelo adequado depende de determinados quesitos tais como: 1) número de fatores e interações a serem avaliadas; 2) complexidade do modelo a ser adotado; 3) facilidade de compreensão e implementação de cada modelo por parte do pesquisador; 4) natureza do problema; 5) restrições de custo e tempo; 6) validação estatística e eficácia de cada modelo (SAVIC et al., 2012).

As vantagens de utilizar um DoE ao invés de avaliar um fator por vez incluem: 1) melhor rendimento e estabilidade do processo; 2) aumento dos lucros; 3) aumento da capacidade do processo; 4) redução da variabilidade entre os lotes; 5) aumento da compreensão das relações entre as entradas (*inputs*) e saídas (*outputs*) dos processos; 6) aumento do ciclo de vida do produto (BURAGOHAİN; MAHANTA, 2008; SAVIC et al., 2012). O design experimental do tipo central composto (experimento central composto) consiste em um planejamento simétrico e de segunda ordem, constituído de duas partes: o fatorial 2^k , com um ou mais pontos centrais (que será executado várias vezes para dar uma estimativa interna de erro puro), e a parte axial (que permitem estimar curvas) (MATEUS; BARBIN, 2001)

De maneira geral, a aplicação de um design experimental do tipo central composto confere uma série de vantagens para o procedimento experimental tais como: diminuição do quantitativo de experimentos sem limitar a qualidade dos dados; análise simultânea de uma série de variáveis e análise de seus respectivos efeitos de maneira isolada; determinação da confiabilidade dos resultados; escolha das variáveis que alteram um procedimento operacional

com um número reduzido de experimentos; indicação dos resultados dos processos estudados por meio de modelos matemáticos (CUNICO et al., 2008).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

O insumo farmacêutico ativo ACV foi doado pela Cristália[®] (Lote 34146/2017), apresentando teor de 99,98%. A Tabela 1 lista os reagentes utilizados durante toda a pesquisa.

Tabela 1 - Reagentes utilizados na pesquisa.

Reagente	Procedência
Aciclovir	Cristália [®]
Ácido clorídrico	Isofar [®] / Alphatec [®]
Álcool Isopropílico	Vetec [®]
Celulose Microcristalina Microcel MC-200	Blanver [®]
Etilcelulose	Ethocel [®]
Glicerina	Fmaia [®]
Lactose Monohidratada	Tabletose [®] 70
Polivinilpirrolidona (PVP) K-30	IMEC [®]
Corante Azul	----

Fonte: Dados da pesquisa.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Caracterizações Físico-Químicas do ACV e Excipientes

3.2.1.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas utilizando espectrômetro IV PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de selênio. Os espectros de infravermelho foram obtidos utilizando uma média de 16 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹ em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹.

3.2.1.2 Análise Térmica

As curvas de termogravimetria (TG) foram realizadas por meio de termobalança (Shimadzu® TA-60WS), com atmosfera de nitrogênio de 100 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de 5 ± 0,5 mg para o ACV, para excipientes e para a formulação, acondicionados em cadinho de platina e analisados na faixa de temperatura de 30 a 600°C com razão de aquecimento 10 °C.min⁻¹ e com prévia calibração da termobalança utilizando um cadinho de platina vazio.

Para as análises feitas por calorimetria exploratória diferencial (DSC), uma massa de aproximadamente 2 ± 0,05 mg do ACV, para excipientes e para a formulação, adicionados a um cadinho de alumínio posteriormente selado. O ensaio ocorreu também em atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹, com razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ dentro do intervalo de 25 a 300 °C.

3.2.1.3 Estudo de Solubilidade do Aciclovir

Foi avaliada a solubilidade de equilíbrio do ACV em água ultrapurificada e em condições experimentais próximas às do trato intestinal (tampão ácido com pH 1,2 e tampão fosfato com pH 6,8).

Em triplicata, excesso do fármaco foi adicionado às soluções. As suspensões foram agitadas a 150 rpm e mantidas a temperatura 37,0 ± 1°C por 7 dias na incubadora Shaker 5L 222 – Solab, para estabelecimento do equilíbrio das amostras. Posteriormente, foram filtradas através de filtro de membrana de 0,45µm e as soluções remanescentes foram adequadamente diluídas e analisadas por espectrofotômetro Shimadzu - UV mini 1240, em 254 nm.

3.2.2 Desenvolvimento da formulação e obtenção de pellets por extrusão-esferonização

Inicialmente, a mistura de pós contendo fármaco e excipientes foi preparada utilizando 72,5% Celulose Microcristalina (Microcel MC-200, Blanver®), 24% Lactose Monohidratada (Tabletose® 70), 2,5% Aciclovir (Cristália®) e 1% PVP K-30 (IMEC®), conforme descrito na Tabela 2. Esta massa de excipientes associada ao fármaco foi projetada para totalizar 100 g antes do processamento. Após processo de mistura manual, foram adicionados, de maneira gradual, 110 mL de água destilada como líquido de molhagem até obter um material coeso para ser extrusado.

Tabela 2 - Lista de excipientes utilizados na formulação de pellets

MATERIAL	TEOR	FUNÇÃO FARMACOTÉCNICA
Celulose Microcristalina	75,5%	Agente de esferonização
Lactose Monohidratada	24%	Diluyente
Aciclovir	2,5%	Insumo Farmacêutico Ativo
PVP K-30	1%	Agente agregante

Fonte: Dados da pesquisa.

A massa obtida foi submetida ao granulador Fabbe-Primar[®] (Modelo 179.01) com uma malha no tamanho adequado. Em seguida, o extrusado foi submetido ao esferonizador Zelus[®] (Modelo ES-230), utilizando velocidade de rotação (rpm) e tempo de esferonização (segundos) determinados em design experimental, o qual será apresentado em seguida.

Para o revestimento de pellets, uma solução de revestimento foi preparada utilizando Etilcelulose (5%), glicerina (1%), álcool isopropílico (90 mL) e água destilada (quantidade suficiente para 100 mL). Em seguida, esta solução foi borrifada em spray sobre os núcleos dos pellets e secos em estufa de circulação a 60 °C por 1 hora.

3.2.2.1 Design Experimental

Os parâmetros de esferonização foram determinados através design experimental do tipo central composto, aplicando dois fatores em dois níveis diferentes, utilizando o software Minitab[®] 18.

Os fatores avaliados foram parâmetros operacionais de velocidade de rotação e tempo de esferonização, visto que são críticos no processo de obtenção dos pellets. Os valores de velocidade de rotação e tempo de esferonização foram estipulados com base em testes preliminares para verificar a viabilização do experimento. As respostas avaliadas foram: rendimento de pellets, teor de fármaco (doseamento), tamanho dos pellets (distribuição de tamanho) e propriedades de fluxo.

Embora o tipo e quantidade do líquido de molhagem também exerçam um papel crucial na formação dos pellets, durante testes preliminares, uma estreita variação no volume do líquido adicionado gerava uma massa friável e inadequada para a extrusão-esferonização ou gerava um excesso de umidade na massa, resultando esferas em escala macroscópica perdendo a caracterização de um pellet. Desta forma, o líquido de molhagem não foi estudado

com um dos fatores. Com isso, foi estabelecida a produção de 14 lotes de bancada com as variações dos fatores e níveis apresentados na Tabela 3.

Tabela 3 - Fatores e níveis variados na produção de lotes de pellets.

LOTE	Velocidade de rotação (rpm)	Tempo de esferonização (segundos)
1	600	48
2	600	90
3	600	90
4	741	90
5	600	90
6	600	132
7	459	90
8	600	90
9	700	120
10	700	60
11	500	60
12	600	90
13	600	90
14	500	120

Fonte: Dados da pesquisa.

3.2.3 Validação do método de doseamento do ACV nas formulações

Para verificar a capacidade do método utilizado em determinar concentrações de ACV nos sistemas desenvolvidos, foi realizada a validação analítica de acordo com as diretrizes descritas na RDC nº 166 de 2017. Foram avaliados parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez e efeito matriz.

Para avaliar a linearidade, curvas analíticas (n=3) de um padrão de ACV foram preparadas utilizando concentrações entre 1 e 12,5 µg/mL, partindo de uma solução estoque preparada na concentração de 100 µg/mL, utilizando o HCl 0,1 M como solvente. As respostas obtidas foram comparadas com as concentrações teóricas em um modelo de regressão linear ordinário, onde foi determinado o coeficiente de determinação (R²). A análise da variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar o coeficiente angular, intercepto e a dispersão dos resíduos.

A precisão foi avaliada através da repetibilidade e precisão intermediária. Amostras na concentração de 5 µg/mL foram preparadas em sextuplicata em um mesmo dia e com o mesmo analista para a análise da repetibilidade e uma segunda sextuplicata foi preparada em um dia diferente (após 48 h) com auxílio de um segundo analista para avaliação da precisão intermediária. As respostas analíticas foram lidas e o desvio padrão relativo (DPR%) foi calculado como resultado.

Com a finalidade de verificar o efeito da matriz na resposta analítica, foi realizada comparação entre os coeficientes angulares da curva de calibração construída com a do ACV (n=3), preparadas da mesma forma que no método de linearidade, utilizando os mesmos níveis de concentração, com a curva de calibração do fármaco na presença da matriz de excipientes. Para obtenção da solução que continha o fármaco na presença da matriz, inicialmente foi preparada uma solução estoque de ACV na concentração de 100 µg/mL, utilizando o HCl 0,1 M como solvente. Posteriormente foi adicionado os outros componentes da matriz de excipiente, o sistema foi submetido a banho ultrassônico por 10 minutos e completado o volume.

A seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência da matriz, de impurezas ou de produtos de degradação. Afim de verificar se os componentes da formulação podem causar tais interferências na análise quantitativa do fármaco, a seletividade foi comprovada através de análises espectrofotométricas realizadas por varredura (220 – 900 nm) da matriz de excipientes em comparação com a análise do fármaco nas mesmas condições de análise.

A exatidão foi avaliada de acordo com o que é preconizado pela RDC 166/2017 para Insumos Farmacêuticos em matriz complexa. A partir da utilização de uma concentração baixa (2,5 µg/mL), uma média (7,5 µg/mL) e uma alta (12,5µg/mL) de ACV, obteve-se uma curva com valores aceitos como verdadeiros. Utilizando as mesmas concentrações descritas acima, obteve-se uma curva. Tal parâmetro foi determinado a partir do percentual de recuperação do método e os resultados obtidos foram submetidos ao tratamento estatístico pelo Teste t Student.

A robustez foi verificada através das variáveis aplicadas ao método na variação do fabricante do solvente utilizado (Isopar[®] e Alphatec[®]) e alteração das soluções de trabalho (n=3) foram preparadas em concentrações baixa, média e alta, com pH 1,13, em HCl (fabricante: Isopar[®]). Foi realizada a alteração de parâmetros como o pH, que foi ajustado para o valor de 1,2. A partir do gotejamento de uma solução de NaOH 0,1M, assim como o fabricante (Alphatec[®]) do solvente utilizado. Para cada variação sofrida, foi realizada uma

leitura para as concentrações supracitadas. Para os dados gerados, foi aplicado o teste ANOVA, como tratamento estatístico.

3.2.4 Caracterização dos pellets

3.2.4.1 Determinação do teor de aciclovir nos pellets

Para determinar o conteúdo de aciclovir nos sistemas multiparticulados, os pellets foram pulverizados utilizando grau e pistilo para desestruturar o formato esférico e expor o fármaco em solução. Foram pesados 20 mg e, em seguida, dissolvidos em uma solução HCl 0,1 M em balão volumétrico de 100 mL. Em seguida, o balão foi submetido a banho ultrassônico por 10 minutos para facilitar a solubilização de componentes da matriz. A solução final foi filtrada e, em seguida, lida em espectrofotômetro Shimadzu® UV 1240 e a varredura foi obtida no intervalo de 190–900 nm utilizando a solução HCl 0,1 M para ajuste do zero. As absorvâncias foram coletadas na região de 254 nm e foram comparadas com uma curva analítica de ACV no intervalo de 1, 2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5 µg/mL. O ensaio foi realizado em triplicata e demonstrado com a média das leituras.

3.2.4.2 Análise de distribuição granulométrica por tamisação

Os pellets foram submetidos à determinação do tamanho de partícula, de acordo com a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira 6ª Edição (2019). Os materiais foram submetidos a vibrações através de um agitador de peneiras (Tamisador Bertel®), durante 10 minutos, utilizando as malhas de abertura nominal de 850 µm, 600 µm, 500 µm e 250 µm. O tamanho médio das partículas foi determinado através de histograma de distribuição do material, através de cada tamis.

$$\%Retida\ pelo\ tamis = \frac{P1}{P2} \times 100$$

Onde: P1= peso da amostra retida em cada tamis (em gramas);

P2= soma dos pesos retidos em cada tamis e no coletor (em gramas).

3.2.4.3 Determinação das propriedades de fluxo dos pellets

As propriedades de fluxo dos pellets foram determinadas através de suas características micrométricas, indicadas através do Índice de Compressibilidade de Carr (ICC), Fator de Hausner (FH), Densidade Bruta (db) e Densidade de Compactação (dc). Estes valores são indicados por meio do volume aparente inicial (V_0) e o volume final compactado (V_f) de partículas sólidas acondicionadas em uma proveta de 100 mL a qual foi submetida a 300 golpes contínuos, até que não sejam observadas alterações no volume. As propriedades de fluxo foram determinadas através da aplicação dos valores obtidos nas seguintes fórmulas:

$$(1) \text{ Índice de Compressibilidade de Carr (ICC)} = \frac{dc-db}{dc} \times 100$$

$$(2) \text{ Fator de Hausner (FH)} = \frac{dc}{db}$$

$$(3) db = \frac{m}{V_0}$$

$$(4) dc = \frac{m}{V_f}$$

3.2.4.4 Estudo do perfil de dissolução dos pellets

Para a dissolução dos pellets foram obtidas amostras dos sistemas multiparticulados relativos a 20 mg de ACV para cada amostra. Utilizou-se equipamento dissolutor Varian® (modelo VK 7010), aparato 2 (pás) na velocidade de 75 rpm, o meio de dissolução foi tampão fosfato (pH 6,8) e tampão ácido (pH 1,2), e temperatura de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Desta forma, procedeu-se com o estudo de dissolução em triplicata dos materiais supracitados, com posterior determinação da concentração de fármaco, diante de cada coleta realizada em intervalos de 3 minutos a 24 horas, com posterior filtração dos conteúdos e utilização de curva analítica para quantificação.

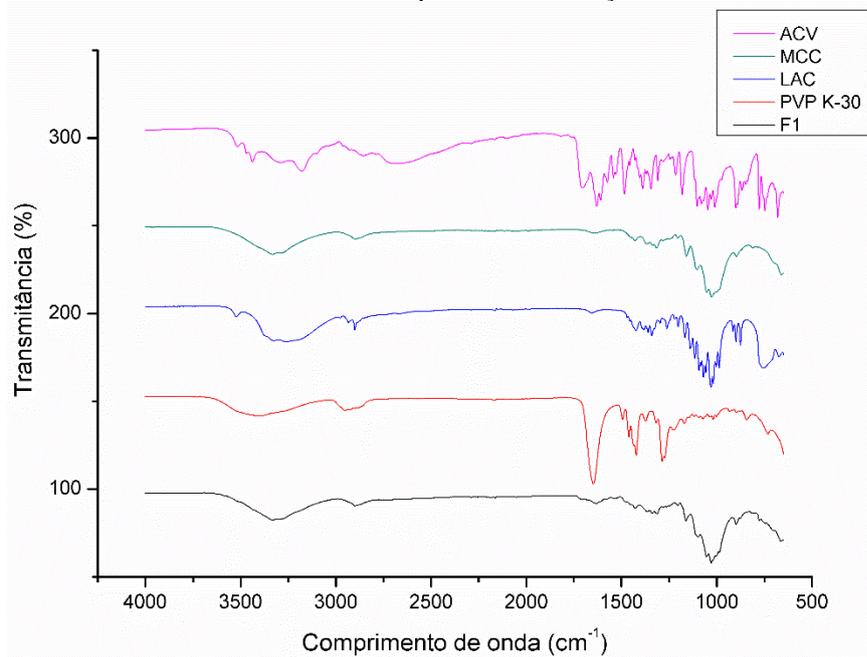
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 CARACTERIZAÇÕES FÍSICO-QUÍMICAS DO ACICLOVIR E EXCIPIENTES

4.1.1 Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As análises dos espectros de infravermelho foram realizadas para caracterizar a estrutura química dos grupos funcionais presentes em cada amostra e estão descritos na Figura 6.

Figura 6 - Espectro de infravermelho do fármaco, excipientes e formulação obtida.



Legenda: ACV: Aciclovir; MCC: Celulose microcristalina; LAC: Lactose monohidratada; PVP K-30: Polivinilpirrolidona K-30; F1: Formulação. Fonte: Dados da pesquisa.

No espectro do ACV, foram evidenciadas bandas em 3430 e 3512 cm^{-1} referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica do N-H provenientes do grupamento NH_2 ; bandas em 1709 e 1628 cm^{-1} relativas à deformação axial da ligação C=O e à deformação angular da ligação N-H da amida, respectivamente. Em 1044, 1340 e 1492 cm^{-1} , foi possível observar vibrações características do álcool primário, das ligações C-H e do grupo metileno, respectivamente. Estes dados estão de acordo com os achados na literatura (MONAJJEMZADEH et al., 2009; NAIR et al., 2014; NUGRAHANI; MUSSADAH, 2016; REOLON et al., 2019).

No espectro da celulose microcristalina (MCC), foi evidenciada uma banda em 3660-3000 cm^{-1} correspondente ao estiramento da ligação O-H; em 2980-2800 cm^{-1} , é possível

identificar uma banda correspondente à vibração de estiramento da ligação C-H; em 1632 cm^{-1} , uma banda de baixa intensidade indica água adsorvida da celulose microcristalina e do estiramento da ligação C=O; em 1031 cm^{-1} correspondente ao estiramento da função éter; e em 895 cm^{-1} correspondente à ligação β -glicosídica (ADEL et al., 2011; BENABBAS et al., 2021; PUJIASIH et al., 2018).

O espectro da lactose monohidratada (LAC) evidenciou as bandas em 3560-3000 cm^{-1} correspondente ao estiramento simétrico dos grupos OH; 2960-2860 cm^{-1} correspondente ao estiramento das ligações C-H presentes na glicose e galactose; 1700-1600 cm^{-1} correspondente ao estiramento das ligações O-H de água de cristalização ou superficial; 1490-1230 cm^{-1} correspondente à deformação angular simétrica e assimétrica fora do plano dos grupos CH, OH e CH₂; 1230-1045 cm^{-1} correspondente a vibração da ligação glicosídica; e 1040-908 cm^{-1} correspondente ao estiramento do grupo C-O (LISTIOHADI et al., 2009; LÓPEZ-PABLOS et al., 2018; MONAJJEMZADEH et al., 2009; NEP; CONWAY, 2012).

Em relação a PVP K-30, as principais bandas evidenciadas foram em 3707-3040 cm^{-1} correspondente à água superficial; 3020-2810 cm^{-1} correspondente ao estiramento dos grupos C-H; 1651 cm^{-1} correspondente ao grupo amida; e 1520-1478 cm^{-1} correspondente às vibrações assimétricas das ligações C-H; e em 1288 cm^{-1} correspondente à deformação no plano das ligações C-H, estando em concordância com os achados na literatura (RUAN et al., 2005; SUI et al., 2020; TITA et al., 2013).

No espectro da formulação (F1), é possível observar predominantemente as bandas referentes aos grupos funcionais da MCC e LAC. A ausência de bandas referentes ao ACV e PVP K-30 podem ser justificadas devido à menor proporção destes componentes na mistura (2,5% e 1%, respectivamente), sendo sobrepostos pelas bandas dos grupos funcionais dos excipientes em maior proporção. Foram evidenciadas bandas em 3660-3000 cm^{-1} , 2980-2800 cm^{-1} e em 1632 cm^{-1} provenientes da celulose microcristalina, conforme discutido anteriormente. Em relação à lactose monohidratada, foram evidenciadas bandas em 1490-1230 cm^{-1} , em 1230-1045 cm^{-1} e em 1040-908 cm^{-1} , conforme apontadas anteriormente.

4.1.2 Análise Térmica

As curvas de TG do ACV, excipientes e formulação está representada na Figura 7. A curva do TG do ACV evidenciou um evento discreto com perda de massa de 5,23 % entre 90-150 °C, referente ao teor de água presente na amostra, com perda de massa de aproximadamente 5%. A decomposição térmica do fármaco isolado foi observada em dois

eventos, o primeiro ocorreu na faixa entre 263-277,30 °C ($DTG_{pico} = 269,2$ °C) com perda de massa de 23,15%, onde há inicialmente formação da guanina, e o segundo evento ocorreu entre 465,15-492,65 °C ($DTG_{pico} = 471,9$ °C) com decaimento de massa de 16,11%. Após estes eventos, houve uma perda de massa constante, gerando um resíduo. Esses dados estão de acordo com resultados relatados na literatura para este fármaco (STULZER et al., 2007).

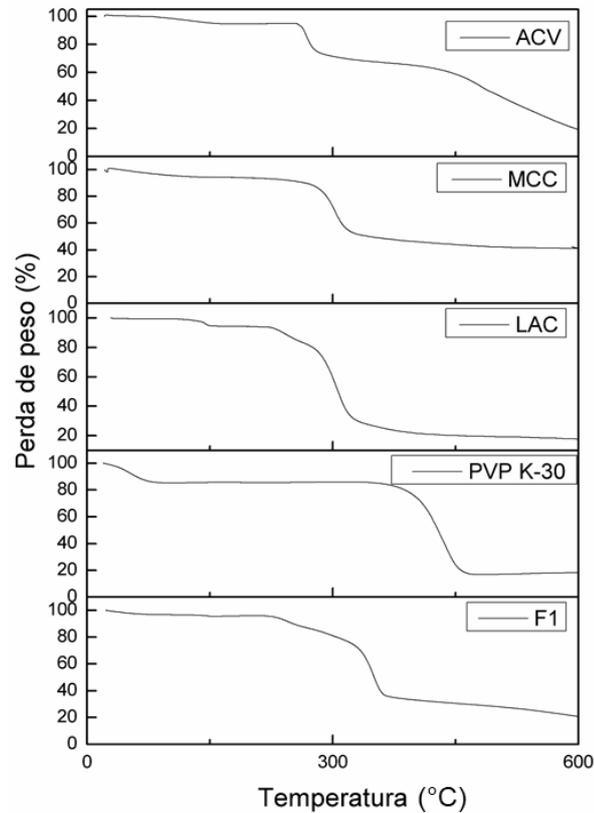
A curva de TG da MCC evidenciou um evento de perda de massa entre 36,72-79,46 °C relacionado à perda de água superficial. Um segundo evento entre 288-53-312,92 °C ($DTG_{pico} = 299,66$ °C) com perda de massa de 37,23% correspondente à decomposição da celulose microcristalina (ROUMELI et al., 2013).

A curva de TG da lactose monohidratada evidenciou três eventos. O primeiro entre 142,34-148,63 °C ($DTG_{pico} = 144,50$ °C) com perda de massa de 3% correspondente à dessorção de água de cristalização. O segundo evento entre 233,40-249,60 °C ($DTG_{pico} = 239,24$ °C) com perda de massa de 9,33% e o terceiro evento entre 289-318,50 °C ($DTG_{pico} = 301,80$ °C) com perda de massa de 52,85% correspondentes à decomposição térmica da lactose (BADAL TEJEDOR et al., 2018; LISTIOHADI et al., 2009)

A curva de TG do PVP K-30 evidenciou dois eventos de perda de massa. O primeiro, entre 39,01-68,08 °C ($DTG_{pico} = 55,87$ °C), com perda de massa de 11,98% correspondente à perda de umidade da amostra. O segundo evento entre 404,42-452,96 °C ($DTG_{pico} = 427,57$ °C), com perda de massa de 68,65% correspondente a degradação deste componente (DU et al., 2006; SUI et al., 2020; TITA et al., 2013).

A curva de TG da formulação (F1) exibiu três eventos térmicos. O primeiro entre 145,40-149,75 °C ($DTG_{pico} = 146,64$ °C) com uma perda de massa de aproximadamente 0,55%. O segundo evento entre 230,60-250,71 °C ($DTG_{pico} = 240,81$ °C) com perda de massa de 7,05%. O último evento ocorreu entre 336,85-359,10 °C ($DTG_{pico} = 346,05$ °C) com perda de massa de 42,85%. Os eventos térmicos do ACV e PVP K-30 foram sobrepostos pelos eventos dos componentes em maior proporção no sistema. No geral, não há indícios de comprometimento da estabilidade térmica da mistura.

Figura 7 - Curvas de TG do ACV e Excipientes



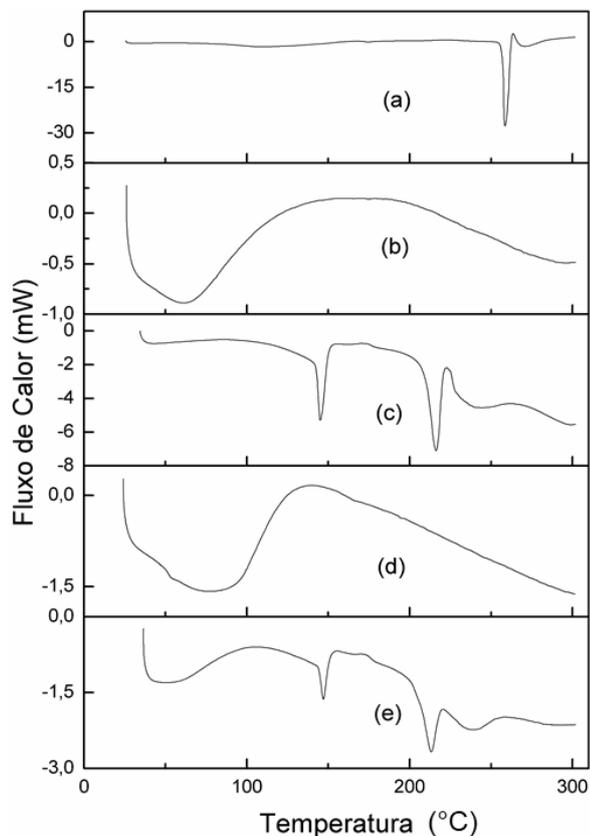
Legenda: ACV: Aciclovir; MCC: Celulose Microcristalina; LAC: Lactose Monohidratada; PVP K-30: Polivinilpirrolidona K-30; F1: Formulação. Fonte: Dados da pesquisa.

A curva de DSC do aciclovir (Figura 8a) evidenciou o ponto de fusão do fármaco em 258,69 °C ($\Delta H_{\text{fusão}} = -289,07 \text{ J.g}^{-1}$), estando de acordo com os achados da literatura (NAIR et al., 2014; STULZER et al., 2007). As curvas de DSC da celulose microcristalina (Figura 8b) evidenciaram dois picos endotérmicos, o primeiro em 60,85 °C ($\Delta H = -153,20 \text{ J.g}^{-1}$) relacionado à eliminação de água superficial e o segundo em 296,50 °C ($\Delta H = -11,11 \text{ J.g}^{-1}$) correspondente à decomposição por pirólise (LAVOR et al., 2014).

As curvas de DSC da lactose monohidratada (Figura 8c) evidencia um pico endotérmico em 145,08 °C ($\Delta H = -90,8 \text{ J.g}^{-1}$) o qual corresponde à perda de água de cristalização, seguido por um pico endotérmico em 216,20 °C ($\Delta H = -110,85 \text{ J.g}^{-1}$) correspondente à transição vítrea/transição cristalina da lactose de sua forma α para β e característico de fusão. Um terceiro pico em 243,80 °C ($\Delta H = -108,60 \text{ J.g}^{-1}$) correspondente à decomposição da amostra (LAVOR et al., 2014). A curva de DSC da PVP K-30 (Figura 8d) evidenciou um pico correspondente à dessorção de água da amostra em 76,16 °C ($\Delta H = -420,65 \text{ J.g}^{-1}$) (SUI et al., 2020).

A curva de DSC da formulação (Figura 8e) evidenciou um pico em 49,91 °C ($\Delta H = -84,21 \text{ J.g}^{-1}$) sugerindo eliminação de umidade presente na amostra. Um segundo pico em 146,93 °C ($\Delta H = -13,29 \text{ J.g}^{-1}$) e um terceiro pico observado em 213,34 °C ($\Delta H = -21,82 \text{ J.g}^{-1}$) correspondem a eventos térmicos relacionados lactose monohidratada. Por fim, o último evento ocorreu em 239 °C ($\Delta H = -20,35 \text{ J.g}^{-1}$) indica decomposição da amostra. É possível observar a ausência do pico característico da fusão do ACV, isto pode ter ocorrido devido à solubilização do aciclovir na matriz de excipientes já fundida, facilitado pelo aquecimento da técnica de DSC (TITA et al., 2013).

Figura 8 - Curvas de DSC do ACV e excipientes



Legenda: (a) Aciclovir; (b) Celulose microcristalina; (c) Lactose monohidratada; (d) PVP K-30; (e) Formulação.

Fonte: Dados da pesquisa.

4.1.3 Estudo de Solubilidade do Aciclovir

Experimentalmente, o ACV cristalino apresentou uma solubilidade aquosa relevante, cerca de $1,53 \pm 0,04 \text{ mg/mL}$ (Tabela 4). No meio ácido observou-se que esse valor aumentou em aproximadamente dez vezes, isso pode ser justificado pelo caráter anfótero da molécula,

que apresenta dois grupos ionizáveis, um pKa básico (2,3) referente a desprotonação do anel imidazólico e um pKa ácido (9,3) referente ao oxigênio ligado ao anel pirimídico. Os estudos de solubilidade permitem a determinação da concentração de fármaco a ser utilizada nos estudos de dissolução, visto que, para manter as condições *sink*, a concentração de fármaco no meio deve estar abaixo do ponto de saturação (PHILLIPS et al., 2012).

Tabela 4 - Solubilidade do ACV em diferentes meios.

Meio	Solubilidade ACV (mg/mL ± DPR)
Tampão ácido pH 1,2	15,54 ± 0,98
Água ultrapurificada	1,53 ± 0,04
Tampão fosfato pH 6,8	1,66 ± 0,07

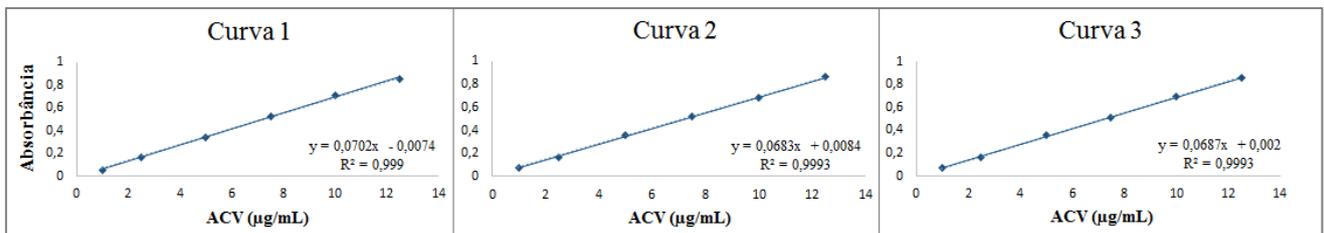
Fonte: Dados da pesquisa.

4.2 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DOSEAMENTO DE ACV NAS FORMULAÇÕES

4.2.1 Linearidade

A linearidade foi comprovada nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados. Após preparo e leitura das soluções em triplicata, obteve-se as três curvas como mostra a Figura 9.

Figura 9 - Triplicata da curva de calibração para o ensaio de linearidade.



Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados das três curvas foram tratados estatisticamente por Análise de Variância ANOVA, com nível de confiança de 95%. Foi verificado pelo valor do F calculado ser inferior ao F crítico, que não há diferenças significativas entre as três curvas, mostrando não ser necessário realizar ajustes (Tabela 5).

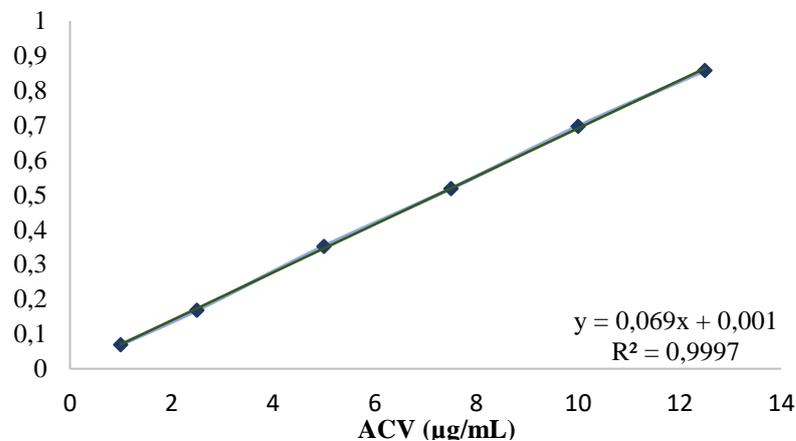
Tabela 5 - Resultados estatístico ANOVA para linearidade.

	Curva 1	Curva 2	Curva 3
Média	6,413166667	6,413833333	6,4166
Variância	19,54071377	19,54277337	19,55786995
F	0,0000010173707		
F crítico	3,68232034367324		

Fonte: Dados da pesquisa

Foi obtida a média das três curvas e os pontos das mesmas foram plotados em um único gráfico como mostra a Figura 10. Assim, foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $r = 0,999849$ e o coeficiente de determinação $r^2 = 0,9997$. O valor de r^2 indica que 99,97% da variação total relacionado à média são explicadas pela regressão. A obtenção desses resultados confirma que há uma correlação linear entre a absorbância e a concentração das amostras.

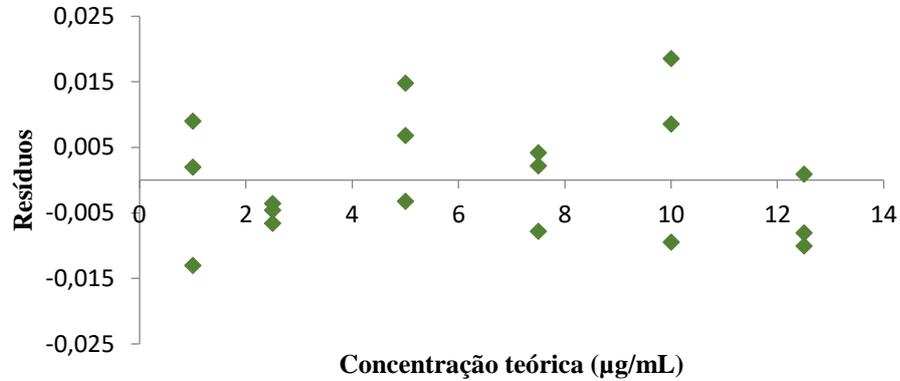
Figura 10 - Curva média do ensaio de linearidade.



Fonte: Dados da pesquisa.

Por meio da regressão linear foi possível realizar o cálculo dos resíduos da linearidade, onde demonstra os valores estimados e os dados observados e, avalia a suposição de que os erros experimentais seguem uma distribuição normal. De acordo com a Figura 11, pode-se comparar os resíduos com a distribuição normal, indicada pela reta, mostrando que os mesmos se distribuíram em torno do zero, indicando que a dispersão é aleatória e sem tendência, apresentando resultados satisfatórios.

Figura 11 - Gráfico da dispersão dos resíduos do ensaio de linearidade

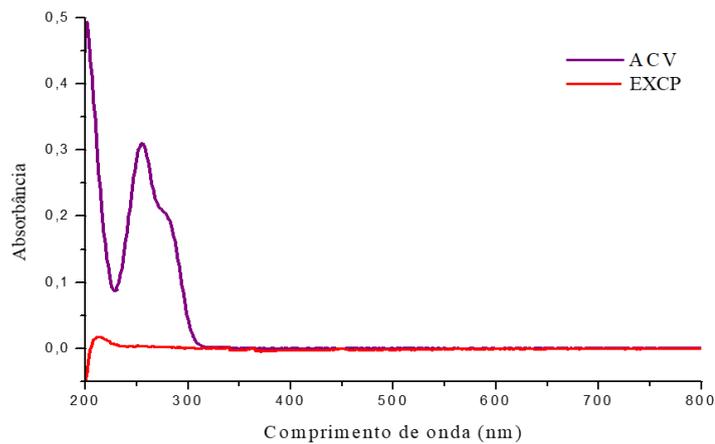


Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.2 Seletividade

A seletividade de métodos quantitativos deve ser demonstrada a partir de uma tática que comprove a pureza da resposta obtida. Sendo esta gerada, exclusivamente, pela substância de interesse. Livre da contribuição de outros constituintes, como produtos de degradação, impurezas, ou a matriz. Com o objetivo de avaliar se o método é seletivo, foram obtidos os espectros Ultravioleta (UV) (Figura 12), por varredura, do ACV e da matriz excipientes.

Figura 12 - Espectros UV obtidos para o ensaio de seletividade.

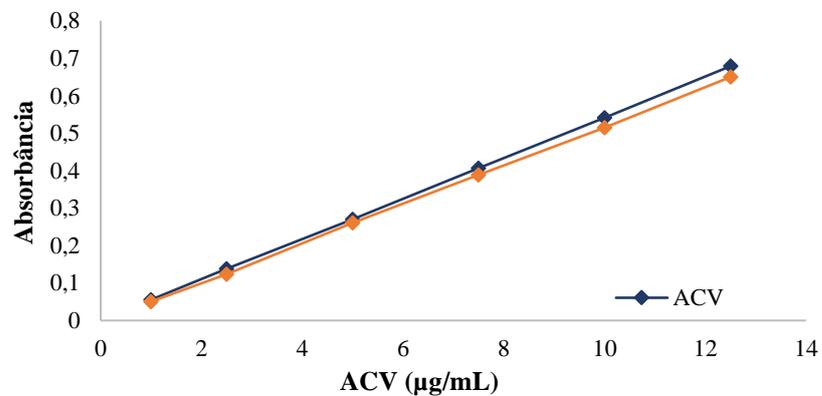


Legenda: ACV: Aciclovir; EXCP: Excipientes. Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.3 Efeito matriz

Por meio das curvas geradas a partir das soluções de ACV e matriz de excipientes, obteve-se o resultado do efeito matriz, expresso pela Figura 13. Segundo a RDC 166/2017 da ANVISA, o efeito matriz tem como tática avaliativa, o paralelismo entre as retas. Fenômeno que presta indícios de que não há influência dos compostos que formam a matriz. A aplicação de uma ferramenta estatística é necessária para garantir que as retas são paralelas entre si.

Figura 13 - Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz.



Fonte: Dados da pesquisa.

Em concordância com o preconizado, o teste ANOVA demonstrou valor próximo de 1 (0,9998). Admitindo que estatisticamente, não há diferenças entre as duas curvas, sendo considerada iguais entre si. Desse modo, é legítimo que não há interferência por parte dos constituintes da matriz, visto que o paralelismo foi demonstrado estatisticamente. A partir da verificação de que as retas são paralelas entre si, é possível comprovar que há linearidade da substância de interesse na matriz de excipientes.

4.2.4 Repetibilidade

Na repetibilidade, as seis amostras autênticas com concentração de 100%, sob as mesmas condições de teste, em um curto intervalo de tempo e preparadas pelo mesmo analista apresentaram Desvio Padrão Relativo (DPR) baixo (Tabela 6). É possível concluir que o método demonstra uma repetibilidade eficiente, sendo considerado preciso. Uma vez que, o DPR deve apresentar valores reduzidos, estando abaixo do percentual de 5%.

Tabela 6 - Resultados para o ensaio de repetibilidade.

Repetibilidade									
Amostras	1	2	3	4	5	6	Média	DP	DPR (%)
ABS	0,264	0,266	0,267	0,264	0,269	0,269	0,2665	0,002258	0,847

Fonte: Dados da pesquisa.

4.2.5 Precisão intermediária

A partir de análises que devem ser realizadas em dias diferentes, por operadores distintos, utilizando a mesma amostra, em um mesmo laboratório, a precisão intermediária é estabelecida quando há proximidade entre os resultados gerados (BRASIL, 2017). Os dados obtidos, a partir da utilização da concentração de 5,0 µg/mL, referentes a dias e analistas distintos, para a precisão intermediária, podem ser observados na Tabela 7.

Tabela 7 - Resultados para o ensaio de precisão intermediária.

Precisão Intermediária							
	1	2	3	4	5	6	Média
Analista 1	0,271	0,274	0,266	0,261	0,260	0,262	0,2656
Analista 2	0,264	0,266	0,267	0,264	0,269	0,269	0,2665

Fonte: dados da pesquisa.

A conformidade entre os resultados foi confirmada a partir do emprego do Teste t Student, que mostrou similaridade entre as médias das variâncias analisadas. Portanto, foi possível determinar que o método é preciso, com o nível de 95% de confiança visto que, em comparação com o que está descrito em literatura, o teste t demonstrou a existência de variâncias equivalentes. Não havendo, desta forma, diferenças estatísticas significativas entre o período em que as análises são realizadas e os analistas que as executam.

4.2.6 Exatidão

Com o propósito de avaliar a exatidão do método, foram obtidos os percentuais de recuperação do analito adicionado à amostra, para as três concentrações utilizadas: 2,5 µg/mL, 7,5 µg/mL e 12,5 µg/mL. O que pode ser visualizado na Tabela 8.

Tabela 8 - Resultados do Teste *t* Student para o ensaio de exatidão.

[] teórica ($\mu\text{g/mL}$)	[] média experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperação média (%)	Teste <i>t</i> Student	
			<i>t</i> calculado	<i>t</i> crítico
2,5	2,54	101,88	- 2,8092	2,7764
7,5	7,69	102,57	-5,6694	2,7764
12,5	12,59	100,75	-2,2702	2,7764

Fonte: Dados da pesquisa

Para este parâmetro, foi aplicado o Teste *t* Student, do tipo bi-caudal, com um nível de 95% de confiança. Através do teste estatístico, foi possível verificar que não há diferenças significativas entre as médias das concentrações que foram manuseadas pelo método em questão, havendo concordância entre ambas. O que pode ser demonstrado a partir da comparação entre os valores do *t* calculado, para as respectivas concentrações, com o valor do *t* tabelado, que é superior. Diante do exposto, aceita-se que o método analítico para doseamento do ACV em matriz de excipientes é exato visto que o mesmo expressa uma relação entre a concentração média, que é determinada de forma experimental, e a concentração teórica.

4.2.7 Robustez

As variáveis aplicadas ao método, de acordo com as opções descritas na resolução 166/2017 da ANVISA, foram o pH e o fabricante do solvente utilizado. As concentrações médias obtidas a partir das concentrações teóricas (2,5 $\mu\text{g/mL}$, 7,5 $\mu\text{g/mL}$ e 12,5 $\mu\text{g/mL}$) e o desvio padrão relativo podem ser observados para cada variável na Tabela 9.

De acordo com o artigo 61 da RDC 166/17 da ANVISA, os resultados da robustez devem apresentar capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. O método objetiva o doseamento contendo aciclovir em matriz complexa de excipientes. Como visto nos DPR das amostras, todas possuem baixa variabilidade intrínseca. Logo, frente ao que foi exposto, o método em desenvolvimento é considerado robusto pois demonstrou que não houve diferenças significativas entre as médias, quando exposto às variáveis.

Tabela 9 - Resultados obtidos para o ensaio de robustez.

		Robustez			
Condição		[] teórica ACV (µg/mL)	[] média calculada ACV (µg/mL)	DPR (Média)	% Recuperação
pH	1,13	2,5	2,40	0,013	96
		7,5	7,41	0,022	98,8
		12,5	12,40	0,059	99,2
	1,2	2,5	2,61	0,095	104,4
		7,5	7,63	0,024	101,7
		12,5	12,71	0,047	101,6
Fabricante	Isofar	2,5	2,61	0,020	104,4
		7,5	7,63	0,007	101,7
		12,5	12,71	0,065	101,6
	Alphatec	2,5	2,37	0,040	94,8
		7,5	7,07	0,144	94,3
		12,5	11,67	0,075	93,4

Fonte: Dados da pesquisa

4.3 CARACTERIZAÇÃO DOS PELLETS

4.3.1 Teor de ACV nos pellets e rendimento dos pellets obtidos

Com base nos dados de concentrações obtidos através da curva analítica, foi possível realizar a determinação do percentual de fármaco dos pellets obtidos. Levando em consideração a quantidade de ACV adicionada na formulação dos sistemas multiparticulados, os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 10. A determinação do teor de ACV nos sistemas multiparticulados revelou um percentual de fármaco inferior ao valor adicionado para a obtenção nos pellets. Este fato pode ser justificado devido à perda de material no momento da extrusão, visto que ocorre adesão da massa úmida nas paredes do aparelho. O rendimento obtido está dentro do esperado para este método de obtenção de acordo com os trabalhos de Silva (2019) e Aguilera (2020) (AGUILERA, 2020; SILVA, 2019).

Tabela 10 - Teor de ACV e rendimento obtido após extrusão-esferonização

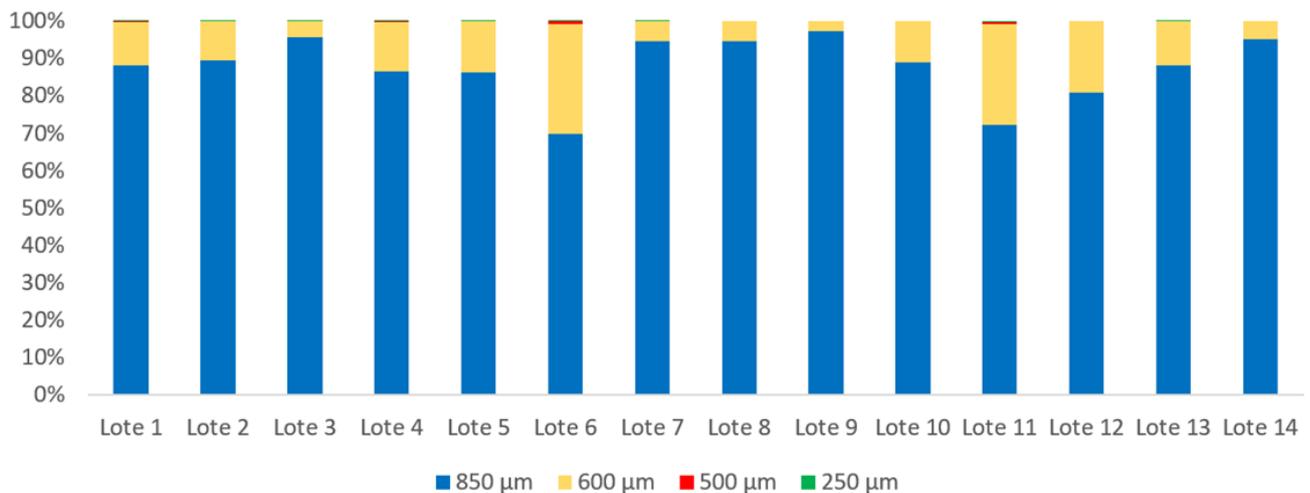
LOTE	Percentual de ACV no pellet	Rendimento (g)
1	78,49%	74,77
2	64,70%	74,85
3	77,95%	74,47
4	64,17%	75,18
5	59,88%	66,93
6	57,07%	79,40
7	57,73%	77,33
8	59,89%	72,86
9	61,88%	89,36
10	66,66%	80,79
11	57,80%	95,05
12	61,36%	88,35
13	68,04%	79,93
14	52,66%	67,84

Fonte: Dados da pesquisa.

4.3.2 Análise de distribuição granulométrica por tamisação

A distribuição granulométrica e análise de tamanho dos pellets foi realizada por meio de um conjunto de tamises com variação da abertura de malha entre 850 μm e 250 μm . O resultado desta análise está indicado na Figura 14, demonstrando a porcentagem retida em cada malha.

Figura 14 - Distribuição Granulométrica por Tamisação.



Fonte: Dados da pesquisa.

Como apontado anteriormente, o diâmetro dos pellets deve variar entre 100 e 1500 µm. Além disso, uma faixa média entre 700 e 1400 µm é geralmente utilizada como intermediário para veiculação em cápsulas ou comprimidos (PODCZECK; NEWTON, 2014). Nos lotes obtidos durante a execução deste estudo, a maior fração dos pellets apresenta tamanho superior a 850 µm e, desta forma, elegem-se para serem aplicados em formas farmacêuticas sólidas para uso oral.

4.3.3 Determinação das propriedades de fluxo dos pellets

A determinação da densidade bruta e de compactação dos pellets permite prever, de maneira geral, as características de empacotamento destes materiais. Com isso, os valores de massa e das densidades ajudam a selecionar o tamanho das cápsulas que serão preenchidas com os pellets. Além disso, estes respectivos valores são utilizados para calcular outros indicadores que se relacionam com as propriedades de fluxo das partículas (SOUSA et al., 2002; TRIVEDI et al., 2007)

O Índice de Compressibilidade de Carr (ICC) é compreendido como uma metodologia de análise que possibilita a determinação da resistência potencial dos arcos ou das pontes de um pó. Em outras palavras, o ICC está relacionado com a capacidade de empacotamento destas partículas sólidas. O Fator de Hausner (FH), por sua vez, indica o atrito entre as partículas. Desta forma, é possível demonstrar que este fator é preditivo do fluxo dos pós (AULTON, MICHAEL E.; TAYLOR, 2016). Os resultados obtidos estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11 - Propriedades micrométricas dos pellets

LOTE	dB (g/mL)	dC (g/mL)	ICC (%)	FH
1	0,569	0,618	7,92	1,08
2	0,553	0,608	9,04	1,09
3	0,568	0,607	6,42	1,06
4	0,609	0,648	6,01	1,06
5	0,554	0,584	5,13	1,05
6	0,546	0,600	9,00	1,09
7	0,584	0,630	7,30	1,07
8	0,546	0,587	6,98	1,07
9	0,590	0,656	10,06	1,11
10	0,548	0,602	8,97	1,09
11	0,508	0,570	10,87	1,12
12	0,538	0,598	10,03	1,11
13	0,570	0,607	6,09	1,06
14	0,508	0,558	8,96	1,09

Legenda: dB: densidade bruta; dC: densidade de compactação; ICC: índice de compressibilidade de Carr; FH: fator de Hausner. Fonte: Dados da pesquisa.

Para interpretação dos resultados obtidos através da determinação das propriedades micrométricas dos pellets, utilizou-se a Tabela 12 descrita na Farmacopeia Americana (USP 30, 2007).

Tabela 12 - Classificação das propriedades de fluxo de acordo com o ICC e FH

Fluxo dos pellets	ICC (%)	FH
Excelente	<10	1,00-1,11
Bom	11-15	1,12-1,18
Fraco	16-20	1,19-1,25
Mediano	21-25	1,26-1,34
Deficiente	26-31	1,35-1,45
Muito deficiente	32-37	1,46-1,59
Bastante deficiente	>38	>1,60

Legenda: ICC: Índice de Compressibilidade de Carr; FH: Fator de Hausner. Fonte: USP 30, 2007. (ADAPTADO)

Baseado nos dados acima, é possível concluir que, com exceção do Lote 11, o qual apresentou fluxo considerado bom de acordo com a USP, todos os outros lotes apresentaram propriedades de fluxo consideradas excelentes.

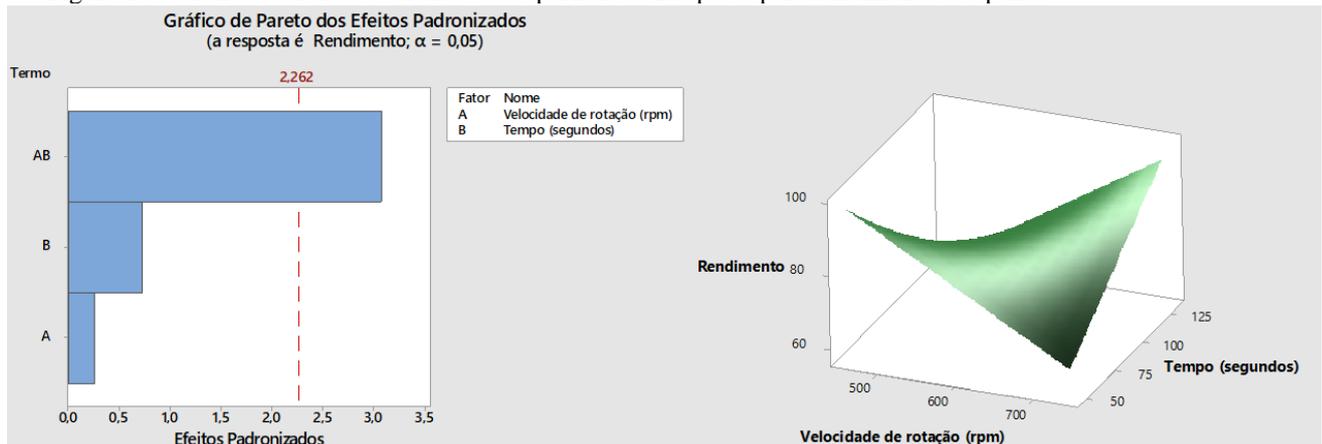
4.4 DESIGN EXPERIMENTAL DO TIPO CENTRAL COMPOSTO (DoE)

O design experimental do tipo central composto é uma eficiente ferramenta estatística por permitir analisar a influência de variáveis individuais e analisar as interações entre elas utilizando o número mínimo de experimentos possível. Visto que o processo de extrusão-esferonização envolve múltiplas etapas, este procedimento operacional precisa ter suas variáveis estudadas e as possíveis interações entre elas para obter os pellets com os atributos físicos e farmacêuticos adequados (PATEL et al., 2016; TRIVEDI et al., 2007).

O gráfico de Pareto mostra os valores absolutos dos efeitos padronizados desde o maior efeito até o menor efeito. O gráfico também estipula uma região de referência para indicar quais efeitos são estatisticamente significativos. A linha ou região de referência que permite identificar a presença ou ausência de significância estatística para os testes depende de um indicador chamado de nível de significância, o qual é representado por “ α ” (ou alfa) (WILKINSON, 2006).

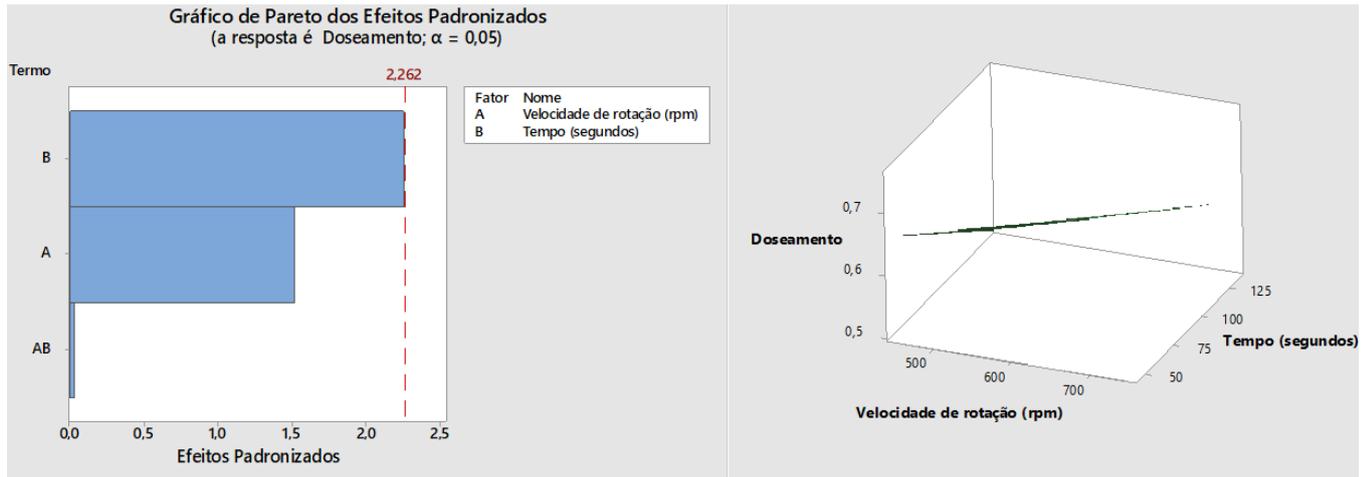
Ao analisar o gráfico, as barras que cruzam a linha de referência indicam que os fatores implicaram em respostas que apresentam significância estatística (DE BEER et al., 2006). Os gráficos de Pareto foram construídos a partir dos percentuais de recuperação dos elementos após aplicação do design experimental (DoE) e tomando-se como referência os valores determinados após análise de rendimento, doseamento, distribuição de tamanho e propriedades de fluxo. Suas representações estão, assim como os respectivos Gráficos de Superfície de Resposta, estão indicados nas Figuras 15, 16, 17 e 18.

Figura 15 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para rendimento dos pellets



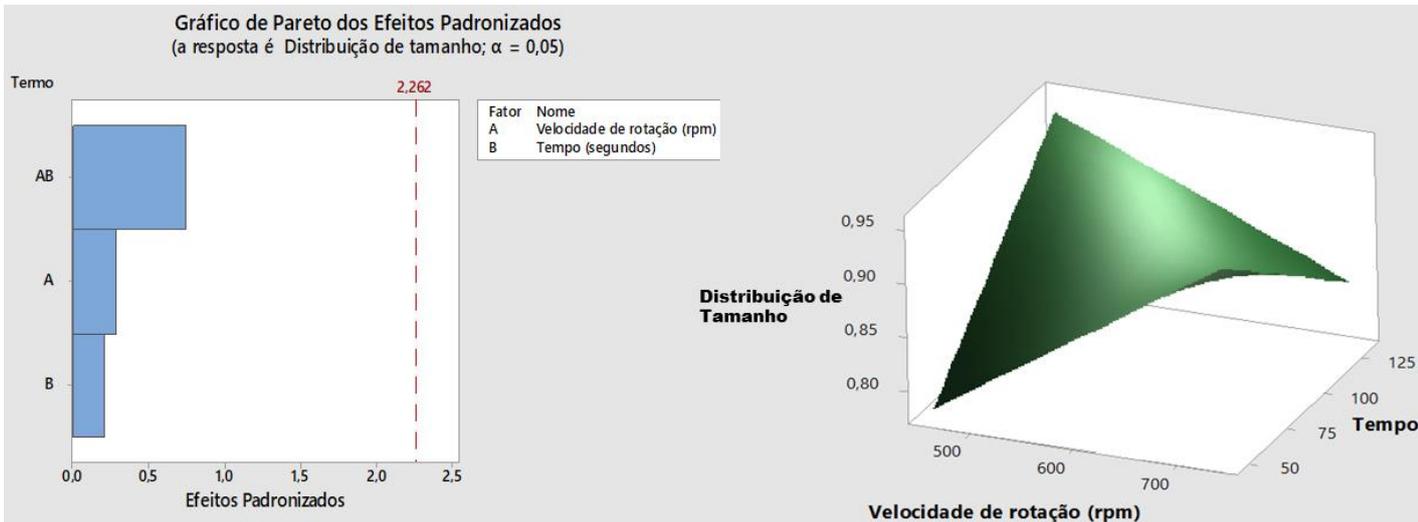
Fonte: Dados da pesquisa

Figura 16 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para doseamento do fármaco.



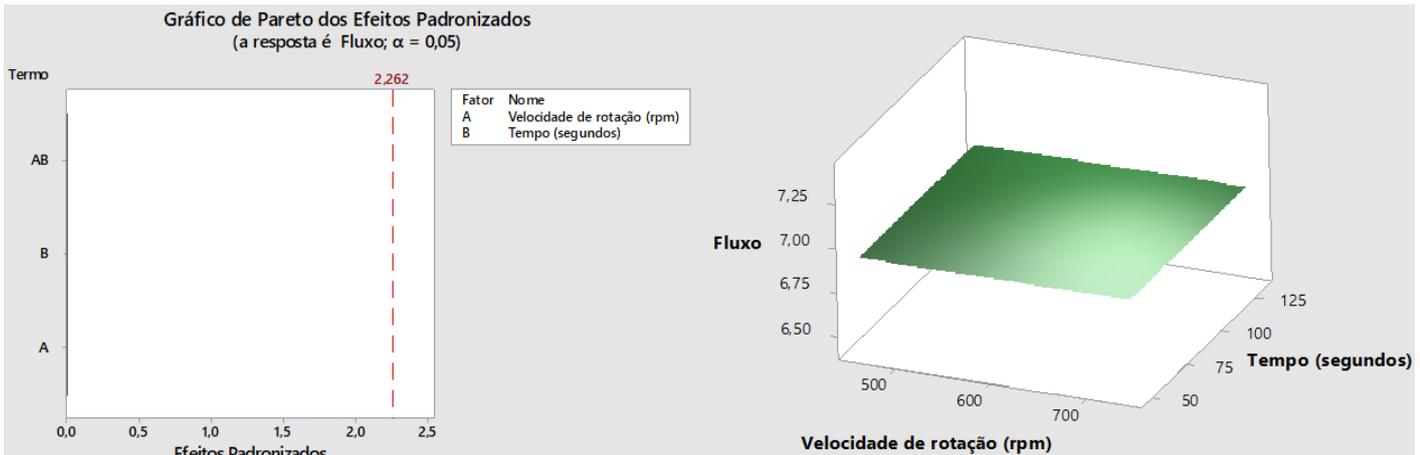
Fonte: Dados da pesquisa.

Figura 17 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para distribuição de tamanho.



Fonte: Dados da pesquisa

Figura 18 - Gráfico de Pareto e Gráfico de Superfície de Resposta para propriedades de fluxo



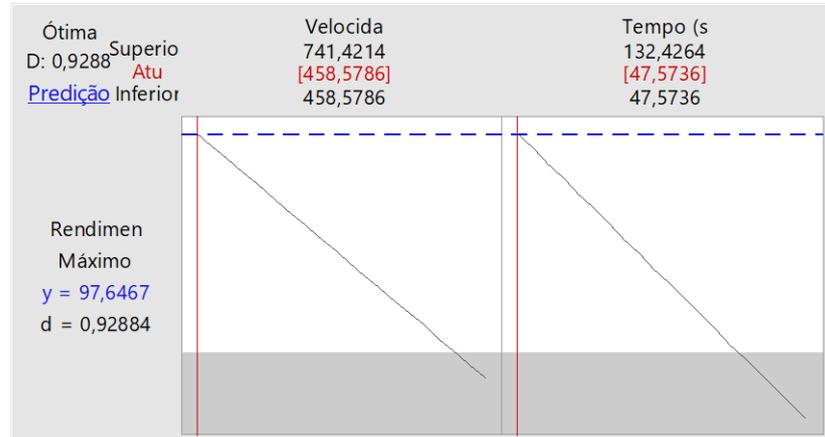
Fonte: Dados da pesquisa.

Estudos apontam que os fatores mais críticos envolvidos na obtenção de pellets incluem a velocidade de rotação e o tempo de permanência no esferonizador. Basicamente, existe a necessidade de um balanço entre esses dois parâmetros, visto que longos períodos de esferonização e alta velocidade de rotação podem influenciar, quando combinados, de maneira negativa nos atributos finais dos pellets. (CHOPRA et al., 2001; TRIVEDI et al., 2007). Após processamento de dados, foi possível constatar que os fatores estudados influenciaram de maneira estatisticamente significativa como determinantes do rendimento dos pellets, visto que a barra cruzou a linha de referência indicada no gráfico de Pareto (Figura 15). As outras respostas – doseamento, distribuição de tamanho e propriedades de fluxo – não indicaram resultados estatisticamente significativos nas propriedades estudadas dos pellets, nos níveis avaliados sob as condições de estudos aplicadas, tanto de maneira individual quanto associados já que as barras não cruzaram as linhas de referência indicadas no gráfico de Pareto (Figuras 16, 17 e 18).

Com relação ao rendimento dos pellets (Figura 15), é possível observar que os fatores isolados (velocidade de rotação e tempo de permanência no esferonizador) não são capazes de produzir respostas estatisticamente significativas. No entanto, quando avaliados em combinação, as respostas geradas apresentam significância estatística. Com base na representação do gráfico de superfície de resposta (Figura 15), maiores rendimentos são obtidos com o aumento da velocidade de rotação e aumento do tempo de permanência no equipamento. Para fins de confirmação, utilizando o software MiniTab® 18, foi gerado um gráfico de otimizador de resposta para indicar os níveis ideais para obter tais rendimentos, conforme indicado na Figura 19. Baseado nos resultados, é possível concluir que os

parâmetros ideais para obtenção de pellets com rendimento otimizado são: 741 rpm (velocidade de rotação) e 132 segundos (tempo de esferonização).

Figura 19 - Gráfico de Otimização



Fonte: Dados da pesquisa.

A ausência de resultados com significância estatística, para as outras respostas avaliadas, pode ser justificada pela faixa experimental (níveis) que foram selecionados para este trabalho. Um ponto crucial, além da definição de fatores críticos de processos operacionais, consiste em definir os níveis dentro de um espectro que definiria um experimento considerado ótimo. Geralmente, a faixa que produz os resultados que são considerados satisfatórios está próxima (adjacente), ou inserida dentro do espectro estipulado no design experimental ou completamente fora deste espectro. No entanto, definir faixas experimentais ótimas quando os pesquisadores não tem conhecimento das mesmas, pode se tornar uma tarefa que inviabilize o andamento da pesquisa em termos econômicos, estruturais e cronológicos, principalmente se o andamento da pesquisa depender de fatores externos (MATEUS; BARBIN, 2001).

Para fins de definição de qual faixa operacional utilizar no desenvolvimento deste trabalho, tomou-se como base testes prévios e parâmetros definidos por Silva (2019) na obtenção de pellets contendo o mesmo fármaco, no qual a autora utilizou a velocidade de rotação de 700 rpm e o tempo de permanência no esferonizador de 5 minutos. Os resultados obtidos indicaram uma estreita distribuição de tamanho, onde mais de 90% da fração de pellets possuía tamanho acima de 850 μm (SILVA, 2019). Embora os resultados extraídos a partir do design experimental tenham demonstrado ausência de significância estatística nas respostas obtidas, os pellets desenvolvidos neste trabalho apresentaram estreita faixa de

distribuição de tamanho e propriedades de fluxo consideradas excelentes e boas, sendo bons candidatos como alternativas às formas farmacêuticas sólidas orais já disponíveis.

Em relação aos parâmetros operacionais, além de da velocidade de rotação e tempo de esferonização, outros fatores também podem influenciar as características dos pellets. Estes parâmetros incluem: método de secagem e temperatura aplicada, velocidade da extrusão, diâmetro da malha da extrusora, tipo da placa de fricção do esferonizador e carga de material submetido a esferonização (SINHA et al., 2007; TRIVEDI et al., 2007).

Uma variedade de trabalhos também busca analisar o impacto não apenas de parâmetros operacionais, como também aspectos de formulação. Foram descritos que o teor e o tipo de diluentes utilizados na formulação afetaram diretamente a morfologia, porosidade, densidade bruta e densidade compactada dos pellets. Outros estudos apontam que o teor de celulose microcristalina, tipo e quantidade de líquido de molhagem, presença de aglutinantes e outros excipientes também são capazes de alterar as propriedades físicas dos pellets. Conseqüentemente, a realização da variação na formulação, de maneira racional, pode estar diretamente ligada com o controle de variáveis relacionadas às propriedades de fluxo e do tamanho dos pellets (CHEN et al., 2017; SOUSA et al., 2002; TRIVEDI et al., 2007; ZOUBARI; ALI; DASHEVSKIY, 2019).

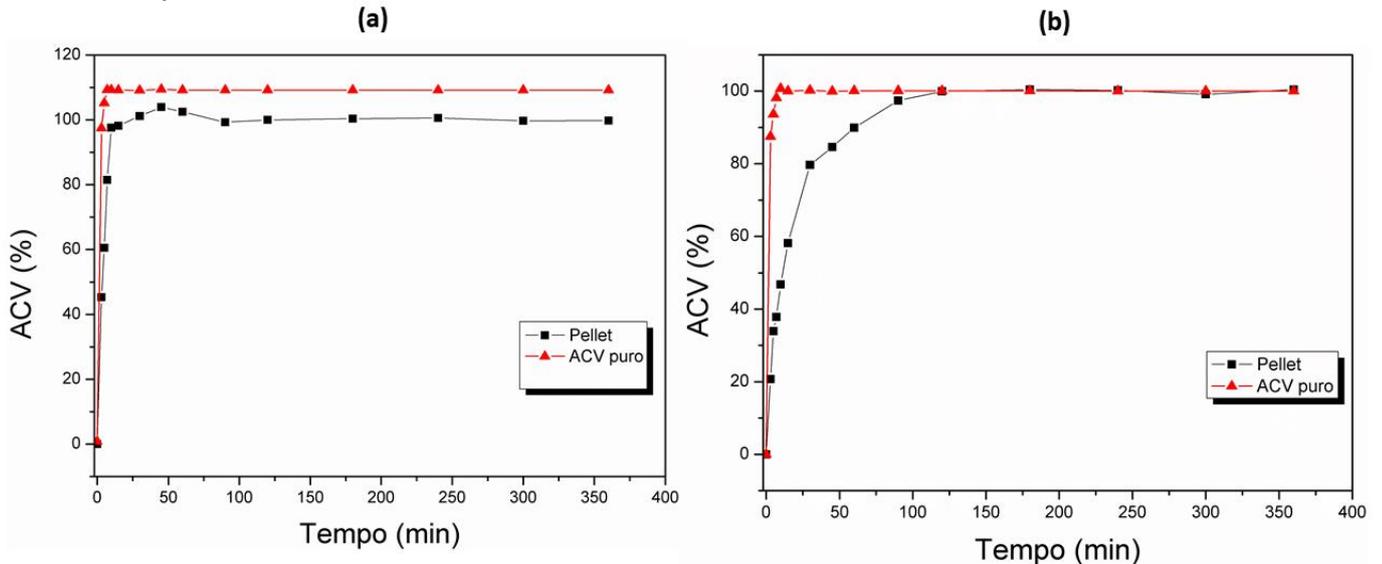
4.5 ESTUDO DO PERFIL DE DISSOLUÇÃO DOS PELLETS

Neste trabalho, foram utilizadas amostras que apresentavam quantidades equivalentes a 20 mg de ACV, nos estudos de dissolução, significando que, se completamente dissolvido num volume de 500 mL apresentariam concentrações abaixo do ponto de saturação, estabelecendo, desta forma, a condição *sink* (PHILLIPS et al., 2012). A Figura 20 indica o perfil de dissolução dos pellets e do ACV puro e a Tabela 13 indica os dados de área sob a curva e eficiência de dissolução.

Em meio tampão ácido pH 1,2, a liberação do ACV puro atingiu 100% após 7 minutos de teste; a liberação do ACV a partir da matriz de pellet, por sua vez, liberou aproximadamente 100% após 30 minutos de teste. Em meio tampão fosfato pH 6,8, aproximadamente 100% do ACV puro foi liberado após 10 minutos de teste. Em relação à liberação do fármaco a partir da matriz de pellets, aproximadamente 100% do fármaco foi liberado após 120 minutos de teste, indicando uma liberação mais lenta do princípio ativo. O perfil de liberação mais rápido observado em meio tampão ácido pH 1,2 pode ser justificado

devido à maior solubilidade do ACV neste meio, conforme indicado anteriormente no estudo de solubilidade, e por uma possível desintegração mais rápida do sistema multiparticulados em pH ácido, devido à uma possível desestruturação das redes formadas pela celulose microcristalina.

Figura 20 - Perfil de dissolução dos pellets e do ACV puro. (a) Meio tampão ácido pH 1,2; (b) Meio tampão fosfato pH 6,8



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 13 – Área sob a curva e Eficiência de dissolução nos diferentes meios de dissolução para pellets e ACV puro.

Meio Tampão Fosfato pH 6,8						Meio Tampão Ácido pH 1,2					
Pellets			ACV puro			Pellets			ACV puro		
%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)
100,39	564,84	94,14	100,01	597,02	99,50	99,77	594,98	99,16	100	596,98	99,49

Legenda: AUC: Área sob a curva; ED: Eficiência de dissolução. Fonte: Dados da pesquisa

O perfil de liberação mais lento a partir da matriz de pellet pode ser justificado pelo uso de celulose microcristalina na formulação, a qual é responsável por um processo de desintegração lento ou ausente dos pellets durante testes de dissolução. Um exemplo deste efeito foi demonstrado por Thommes e colaboradores (2009), o qual observou uma liberação incompleta após 60 horas de dissolução a partir de uma formulação contendo 80% de fármaco e apenas 20% de celulose microcristalina. Mesmo em uma matriz com alta carga de princípio

ativo, os autores sugeriram que a celulose microcristalina foi responsável por este comportamento no perfil de dissolução (DUKICOTT et al., 2009; RAJABI-SIAHBOOMI, 2017; THOMMES et al., 2009; ZHANG; JIANG; LIU, 2014).

Esta situação constituiria um problema para fármacos que apresentam baixa solubilidade aquosa ou que apresentam, por si só, um perfil de liberação lento (PATEL et al., 2016). No caso do ACV, o qual apresenta um processo de dissolução rápido e solubilidade aquosa considerável, a liberação mais lenta do fármaco a partir de pellets contendo celulose microcristalina torna-se desejável, visto que há uma modulação do perfil de dissolução deste IFA (KRISTL et al., 1996; REOLON et al., 2019).

Mesmo apresentando uma modulação na liberação do ACV, o perfil de liberação dos pellets foi comparado com o perfil de liberação do mesmo fármaco a partir de uma matriz de pellet com revestimento de etilcelulose 5%. A Figura 21 indica os dois tipos de pellets obtidos. Em seguida, a Figura 22 demonstra a comparação da dissolução entre um sistema revestido e um sistema não-revestido e a Tabela 14 indica os dados de área sob a curva e eficiência de dissolução.

Em meio tampão ácido pH 1,2, a liberação do ACV a partir da matriz de pellet revestidos foi de aproximadamente 78% após 360 minutos de teste, em comparação aos 100% atingidos após 30 minutos a partir da matriz de pellets não revestidos. Em meio tampão fosfato pH 6,8, a liberação do fármaco a partir da matriz de pellets revestidos atingiu aproximadamente 63% após 360 minutos de teste, indicando uma liberação mais lenta do aciclovir em comparação ao perfil de liberação a partir da matriz de pellets não-revestidos, o qual atingiu aproximadamente 100% após 120 minutos de teste.

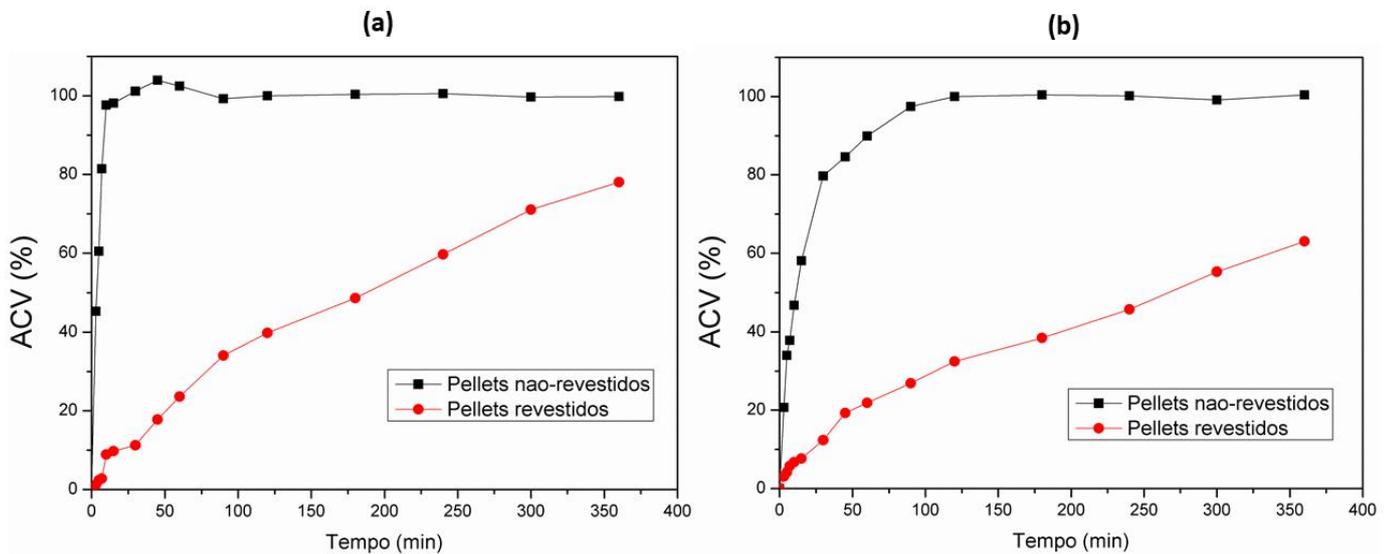
Mais uma vez, foi possível observar um perfil de liberação mais rápido do ACV em meio tampão ácido pH 1,2 quando comparado com o perfil de liberação do ACV em tampão fosfato pH 6,8. Como já sugerido anteriormente, parte da modulação da liberação do princípio ativo foi devido à ação da celulose microcristalina. A adição do polímero etilcelulose como agente de revestimento contribuiu, de maneira sinérgica, na modulação da liberação do princípio ativo, proporcionando um perfil de liberação mais lento.

Figura 21 - Pellets obtidos durante o estudo. (a) Pellets não-revestidos; (b) Pellets revestidos com Etilcelulose (5%).



Fonte: Autoria própria.

Figura 22 - Perfil de dissolução dos pellets não-revestidos e dos pellets revestidos. (a) Meio tampão ácido pH 1,2; (b) Meio tampão fosfato pH 6,8



Fonte: Dados da pesquisa.

Tabela 14 - Área sob a curva e Eficiência de dissolução nos diferentes meios de dissolução para pellets não-revestidos e pellets revestidos

Meio Tampão Fosfato pH 6,8						Meio Tampão Ácido pH 1,2					
Pellets não-revestidos			Pellets revestidos			Pellets não-revestidos			Pellets revestidos		
%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)	%ACV liberado	AUC	ED (%)
100,41	564,84	94,14	63,01	227,10	37,85	99,77	594,98	99,16	78,05	283,91	47,31

Legenda: AUC: Área sob a curva; ED: Eficiência de dissolução. Fonte: Dados da pesquisa

5 CONCLUSÃO

- As técnicas de caracterização (FTIR, TG e DSC) indicaram a natureza química do fármaco e excipientes, assim como a obtenção bem-sucedida da formulação de pellets sem apresentar incompatibilidade entre os componentes da matriz.
- O método de quantificação do ACV em matriz de excipientes por espectrofotometria, validado de acordo com a RDC 166 de 2017 da ANVISA, demonstrou-se linear, preciso, exato, seletivo e robusto para os parâmetros avaliados. Além disso, comprovado também pelo efeito matriz, a metodologia se mostrou adequada como método alternativo aos métodos por CLAE devido ao custo acessível e menor tempo de análise.
- A obtenção de pellets por meio da técnica de extrusão-esferonização permitiu a obtenção de sistemas multiparticulados com propriedades de fluxo de desejáveis e estreita faixa de distribuição de tamanho.
- A utilização da ferramenta de design experimental (DoE) do tipo central composto permitiu otimizar a obtenção dos pellets. Os resultados obtidos indicaram que, para os fatores selecionados nos níveis aplicados neste estudo, tais variações apresentaram respostas estatisticamente significativas apenas na determinação do rendimento dos pellets. Os parâmetros operacionais de velocidade de rotação e tempo de esferonização que permitem a obtenção de um melhor rendimento dos pellets é de 741 rpm e 132 segundos, respectivamente.
- Os pellets foram capazes de modular a liberação do fármaco devido à ação da celulose microcristalina. Com isso, observou-se um processo de liberação mais lento do fármaco a partir da matriz de pellets, em comparação com o perfil de liberação do fármaco puro, devido à uma desintegração lenta e/ou incompleta dos sistemas multiparticulados. Em relação aos pellets revestidos com etilcelulose, um perfil de liberação mais lento foi observado em comparação aos pellets sem revestimento, sugerindo a obtenção de sistemas multiparticulados de liberação prolongada.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

- Realizar estudos de compatibilidade entre fármaco e excipientes, abordando diferentes metodologias;
- Obtenção de forma farmacêutica final para veiculação destes pellets, havendo a possibilidade de incluir sistemas multiparticulados com diferentes perfis de liberação em uma mesma forma farmacêutica, devido às diferentes composições dos núcleos dos pellets;
- Realizar estudos de estabilidade acelerada e longa duração.

REFERÊNCIAS

- ADEL, A. M. et al. Characterization of microcrystalline cellulose prepared from lignocellulosic materials. Part II: Physicochemical properties. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, n. 2, p. 676–687, jan. 2011.
- AFRASIABI GAREKANI, H. et al. Evaluation of ethylcellulose and its pseudolatex (Surelease) in preparation of matrix pellets of theophylline using extrusion-spheronization. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, v. 20, n. 1, p. 9–16, 2017.
- ARAÚJO ROLIM, L. et al. Aplicações de revestimento em formas farmacêuticas sólidas na indústria farmacêutica Coating applications of solid pharmaceutical forms in pharmaceutical industry. **Rev. Bras. Farm. Rev. Bras. Farm**, v. 90, n. 903, p. 224–230, 2009.
- AULTON, MICHAEL E.; TAYLOR, K. M. G. **Delineamento de Formas Farmacêuticas Objetivo do delineamento**, 2016.
- BADAL TEJEDOR, M. et al. Milling induced amorphisation and recrystallization of α -lactose monohydrate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 537, n. 1–2, p. 140–147, fev. 2018.
- BENABBAS, R. et al. Development and pharmaceutical performance of a novel co-processed excipient of alginic acid and microcrystalline cellulose. **Powder Technology**, v. 378, p. 576–584, jan. 2021.
- BÖLCSKEI, É. et al. Optimization of preparation of matrix pellets containing Eudragit® NE 30D. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 90, n. 5, p. 651–657, maio 2012.
- BRADLEY, H. et al. Seroprevalence of herpes simplex virus types 1 and 2-United States, 1999-2010. **Journal of Infectious Diseases**, v. 209, n. 3, p. 325–333, 2014.
- BRADY, R. C.; BERNSTEIN, D. I. Treatment of herpes simplex virus infections. **Antiviral Research**, v. 61, n. 2, p. 73–81, fev. 2004.
- BURAGOHAİN, M.; MAHANTA, C. A novel approach for ANFIS modelling based on full factorial design. **Applied Soft Computing**, v. 8, n. 1, p. 609–625, jan. 2008.
- CHAYAVICHITSILP, P. et al. Herpes Simplex = Herpes Simplex. **Wkly. epidemiol. rec.**, v. 49, n. 42, p. 352–353, 1974.
- CHEN, T. et al. Tablets of multi-unit pellet system for controlled drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 262, p. 222–231, set. 2017.
- CHOPRA, R. et al. Preparation of Pellets of Different Shape and Their Characterization. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 6, n. 4, p. 495–503, 4 jan. 2001.
- CUNICO, M. W. M. et al. PLANEJAMENTO FATORIAL: UMA FERRAMENTA ESTATÍSTICA VALIOSA PARA A DEFINIÇÃO DE PARÂMETROS EXPERIMENTAIS EMPREGADOS NA PESQUISA CIENTÍFICA. **Visão Acadêmica**, v. 9, n. 1, 30 jun. 2008.
- DE BEER, T. R. M. et al. Raman spectroscopy as a process analytical technology tool for the understanding and the quantitative in-line monitoring of the homogenization process of a

pharmaceutical suspension. **The Analyst**, v. 131, n. 10, p. 1137, 2006.

DE CHIARA, G. et al. Recurrent herpes simplex virus-1 infection induces hallmarks of neurodegeneration and cognitive deficits in mice. **PLOS Pathogens**, v. 15, n. 3, p. e1007617, 14 mar. 2019.

DEY, N.; MAJUMDAR, S.; RAO, M. Multiparticulate Drug Delivery Systems for Controlled Release. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 7, n. 3, p. 1067–1075, 2008.

DU, Y. K. et al. Thermal decomposition behaviors of PVP coated on platinum nanoparticles. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 99, n. 1, p. 23–26, 5 jan. 2006.

DUKICOTT, A. et al. Production of pellets via extrusion–spheronisation without the incorporation of microcrystalline cellulose: A critical review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 1, p. 38–46, jan. 2009.

FAROOQ, M. et al. Development of extended release loxoprofen sodium multiparticulates using different hydrophobic polymers. **Polymer Bulletin**, v. 76, n. 5, p. 2537–2558, 5 maio 2019.

GAIKWAD, V. L. et al. Development of controlled release cellulose-pellets based multicore tablets. **European Polymer Journal**, v. 105, p. 389–397, ago. 2018.

GARDELLA, C.; HANDSFIELD, H. H.; WHITLEY, R. Neonatal Herpes—The Forgotten Perinatal Infection. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 35, n. 1, p. 22–24, jan. 2008.

KLYSIK, K. et al. Acyclovir in the Treatment of Herpes Viruses – a Review. **Current Medicinal Chemistry**, v. 25, p. 1–18, 2018.

KRISTL, A. et al. Polymorphism and pseudopolymorphism: Influencing the dissolution properties of the guanine derivative acyclovir. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 139, n. 1–2, p. 231–235, 1996.

LAURENCE L. BRUNTON, BRUCE A. CHABNER, B. C. K. **Farmacológicas da TERAPÊUTICA de Goodman Gilman**. [s.l: s.n.].

LAVOR, E. P. et al. Application of thermal analysis to the study of antituberculosis drugs–excipient compatibility. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2303–2309, 19 mar. 2014.

LISTIOHADI, Y. et al. Thermal analysis of amorphous lactose and α -lactose monohydrate. **Dairy Science and Technology**, v. 89, n. 1, p. 43–67, 17 jan. 2009.

LÓPEZ-PABLOS, A. L. et al. Preparation and Characterization of High Purity Anhydrous β -Lactose from α -Lactose Monohydrate at Mild Temperature. **International Journal of Polymer Science**, v. 2018, p. 1–10, 13 maio 2018.

LOREGIAN, A. et al. Separation methods for acyclovir and related antiviral compounds. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 764, n. 1–2, p. 289–311, nov. 2001.

MATEUS, N. B.; BARBIN, D. Viabilidade de uso do delineamento composto central
Viability of center composite design. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 23, n. 0, p. 1537–1546, 2001.

MONAJJEMZADEH, F. et al. Compatibility studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, n. 3, p. 404–413, nov. 2009.

MULEY, S.; NANDGUDE, T.; PODDAR, S. Extrusion–spheronization a promising pelletization technique: In-depth review. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 6, p. 684–699, dez. 2016.

N. POLITIS, S. et al. Design of experiments (DoE) in pharmaceutical development. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 6, p. 889–901, 3 jun. 2017.

NAIR, A. B. et al. Enhanced oral bioavailability of acyclovir by inclusion complex using hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **Drug Delivery**, v. 21, n. 7, p. 540–547, 12 nov. 2014.

NEJATI, L. et al. Investigation of using pectin and chitosan as natural excipients in pellet formulation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 120, p. 1208–1215, dez. 2018.

NEP, E. I.; CONWAY, B. R. Preformulation studies on grewia gum as a formulation excipient. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 197–205, 17 abr. 2012.

NUGRAHANI, I.; MUSSADAH, M. V. Development and validation analysis of acyclovir tablet content determination method using FTIR. **International Journal of Applied Pharmaceutics**, v. 8, n. 3, p. 43–47, 2016.

PATEL, H. et al. Dissolution rate improvement of telmisartan through modified MCC pellets using 32 full factorial design. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, n. 5, p. 579–587, set. 2016.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: Sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas/Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 43, n. 4, p. 491–502, 2007.

PHILLIPS, D. J. et al. Overcoming sink limitations in dissolution testing: a review of traditional methods and the potential utility of biphasic systems. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 64, n. 11, p. 1549–1559, nov. 2012.

PODCZECK, F.; NEWTON, J. M. Influence of the standing time of the extrudate and speed of rotation of the spheroniser plate on the properties of pellets produced by extrusion and spheronization. **Advanced Powder Technology**, v. 25, n. 2, p. 659–665, mar. 2014.

PUJIASIH, S. et al. Silylation and characterization of microcrystalline cellulose isolated from indonesian native oil palm empty fruit bunch. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 74–81,

mar. 2018.

RAJABI-SIAHBOOMI, A. R. (ED.). **Multiparticulate Drug Delivery**. New York, NY: Springer New York, 2017.

RAKIĆ, T. et al. Comparison of Full Factorial Design, Central Composite Design, and Box-Behnken Design in Chromatographic Method Development for the Determination of Fluconazole and Its Impurities. **Analytical Letters**, v. 47, n. 8, p. 1334–1347, 24 maio 2014.

REOLON, J. B. et al. Co-encapsulation of acyclovir and curcumin into microparticles improves the physicochemical characteristics and potentiates in vitro antiviral action: Influence of the polymeric composition. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 131, n. September 2018, p. 167–176, 2019.

ROUMELI, E. et al. Compatibility study betweentrandolapril and natural excipients used in solid dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2109–2115, 5 mar. 2013.

RUAN, L.-P. et al. Improving the solubility of ampelopsin by solid dispersions and inclusion complexes. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 3, p. 457–464, jul. 2005.

SAVIC, I. M. et al. From experimental design to quality by design in pharmaceutical legislation. **Accreditation and Quality Assurance**, v. 17, n. 6, p. 627–633, 4 dez. 2012.
SHAH, N.; MEHTA, T.; GOHEL, M. Formulation and Optimization of Multiparticulate Drug Delivery System Approach for High Drug Loading. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 6, p. 2157–2167, 30 ago. 2017.

ŠIBANC, R. et al. Physical properties of pharmaceutical pellets. **Chemical Engineering Science**, v. 86, p. 50–60, fev. 2013.

SINHA, V. R. et al. Influence of operational variables on properties of piroxicam pellets prepared by extrusion-spheronization: A technical note. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 1, p. 1–5, 2007.

SOUSA, J. J. et al. Factors influencing the physical characteristics of pellets obtained by extrusion-spheronization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 232, n. 1–2, p. 91–106, 2002.

SPEAR, P. G. et al. Different receptors binding to distinct interfaces on herpes simplex virus gD can trigger events leading to cell fusion and viral entry. **Virology**, v. 344, n. 1, p. 17–24, jan. 2006.

STULZER, H. K. et al. Desenvolvimento, avaliação e caracterização físico-química de micropartículas constituídas de aciclovir/quitosana desenvolvidas pela técnica de Spray-drying. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 866–871, 2007.

SUI, X. et al. The Effect of PVP Molecular Weight on Dissolution Behavior and Physicochemical Characterization of Glycyrrhetic Acid Solid Dispersions. **Advances in Polymer Technology**, v. 2020, p. 1–13, 30 out. 2020.

- SUSANTAKUMAR, P.; GAUR, A.; SHARMA, P. Comparative pharmacokinetics, safety and tolerability evaluation of acyclovir ir 800 mg tablet in healthy indian adult volunteers under fasting and non-fasting conditions. **Journal of Bioequivalence and Bioavailability**, v. 3, n. 6, p. 128–138, 2011.
- THAPA, P. et al. Effects of pharmaceutical processes on the quality of ethylcellulose coated pellets: Quality by design approach. **Powder Technology**, v. 339, p. 25–38, nov. 2018.
- THOMMES, M. et al. Improved bioavailability of darunavir by use of κ -carrageenan versus microcrystalline cellulose as pelletisation aid. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 72, n. 3, p. 614–620, ago. 2009.
- TITA, D. et al. Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 112, n. 1, p. 407–419, 22 abr. 2013.
- TOGNARELLI, E. I. et al. Herpes Simplex Virus Evasion of Early Host Antiviral Responses. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 30 abr. 2019.
- TRIVEDI, N. R. et al. Pharmaceutical approaches to preparing pelletized dosage forms using the extrusion-spheronization process. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 24, n. 1, p. 1–40, 2007.
- WASILEWSKA, K.; WINNICKA, K. Ethylcellulose—A Pharmaceutical Excipient with Multidirectional Application in Drug Dosage Forms Development. **Materials**, v. 12, n. 20, p. 3386, 17 out. 2019.
- WIDENER, R. W.; WHITLEY, R. J. **Herpes simplex virus**. 1. ed. [s.l.] Elsevier B.V., 2014. v. 123
- WILKINSON, L. Revising the Pareto Chart. **The American Statistician**, v. 60, n. 4, p. 332–334, nov. 2006.
- YAN, C. et al. Disturbed Yin–Yang balance: stress increases the susceptibility to primary and recurrent infections of herpes simplex virus type 1. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, jun. 2019.
- ZHANG, L.; JIANG, P.; LIU, J. Novel Sustained-Release of Propafenone through Pellets: Preparation and in Vitro/in Vivo Evaluation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 9, p. 15503–15511, 2 set. 2014.
- ZOUBARI, G.; ALI, R.; DASHEVSKIY, A. Water-soluble and -insoluble polymers as binders for pellet preparation by extrusion/spheronization. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, p. 1–5, fev. 2019.