



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

ALANE RAFAELA DE CARVALHO AMARAL

**DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS DE CLOFAZIMINA: DA OBTENÇÃO AOS  
PERFIS DE DISSOLUÇÃO**

Recife

2024

ALANE RAFAELA DE CARVALHO AMARAL

**DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS DE CLOFAZMINA: DA OBTENÇÃO AOS  
PERFIS DE DISSOLUÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas. Área de concentração: Fármacos e Medicamentos.

**Orientador:**

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho  
Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco  
Recife, Brasil

**Coorientador:**

Prof. Dr. Lucas José de Alencar Danda  
Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco  
Recife, Brasil

Recife

2024

ALANE RAFAELA DE CARVALHO AMARAL

**DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS DE CLOFAZIMINA: DA OBTENÇÃO AOS  
PERFIS DE DISSOLUÇÃO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestra em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em 05/08/2024.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho (Presidente)  
Universidade Federal de Pernambuco

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Salvana Priscylla Manso Costa (Examinadora Externa)  
Universidade Federal de Alagoas

---

Dr.<sup>a</sup> Lariza Darlene Santos Alves (Examinadora Externa)  
Universidade Federal de Pernambuco

Catálogo de Publicação na Fonte. UFPE - Biblioteca Central

Amaral, Alane Rafaela de Carvalho.

Dispersões sólidas amorfas de clofazimina: da obtenção aos perfis de dissolução / Alane Rafaela de Carvalho Amaral. - Recife, 2024.

85f.: il.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2024.

Orientação: José Lamartine Soares-Sobrinho.

Coorientação: Lucas José de Alencar Danda.

Inclui referências.

1. Clofazimina; 2. Dispersão sólida amorfa; 3. Evaporação de solventes; 4. Fusão; 5. Supersaturação. I. Soares-Sobrinho, José Lamartine. II. Danda, Lucas José de Alencar. III. Título.

UFPE-Biblioteca Central

Às mulheres e mães da minha infância, Adriana, Maria e Ângela, que com amor e resiliência guiaram os primeiros passos da minha jornada; aos meus queridos irmãos, Emanuela, Emanuel, Mário e Matheus; ao meu tio Adriano, sinônimo de alegria e permanência viva; e a Lucas, meu companheiro, que compartilha comigo o amor pela ciência, os sonhos e as conquistas.

## AGRADECIMENTOS

No método científico, conviver com o erro é comum. Reconhecer essa possibilidade desde o início é aprender, pouco a pouco, a lidar com as incertezas. A trajetória científica torna-se bonita quando somos tomados pela imaginação do muito que ainda há por ser descoberto. Mas, o caminho até a evidência e a descoberta é longo, repleto de hipóteses, experimentos e aprimoramento do método científico — um processo de aprendizado que passa, inevitavelmente, pelos erros. Certa vez, li que as margens de erro que acompanham os resultados apresentados em artigos científicos são um lembrete de que nenhum conhecimento é absoluto; que a ciência reconhece que cientistas, como todo mundo, são falíveis, que cometemos erros, que somos movidos pelos mesmos preconceitos que todos os outros. Aqui, argumentos de autoridade não nos cabe. Alegações devem ser demonstradas. E é por isso que eu acho tão bonito o exercício de buscar a verdade, assumindo, antes de tudo, a possibilidade de estar errado. Afinal, a ciência avança sem nenhuma obrigação de corresponder às nossas expectativas. Este trabalho faz parte da minha história de amor e respeito pela ciência, da minha tentativa em compartilhar e contribuir com a comunidade científica, do meu processo em fazer as pazes com o erro. Ao longo dessa história que ainda se escreve, gostaria de agradecer aos que dividem comigo esta travessia. À minha família amada. À Lucas Danda, pela parceria na vida e na academia. Aos amigos, em especial a Azael Francisco. À Heloísa Casé e Emanuela Carvalho, pela oportunidade de ensinar e transmitir aquilo que aprendi até aqui. Aos professores José Lamartine e Mônica Felts, pela confiança e espaço cedido, no NCQMC, ao início da minha carreira. Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. À Universidade Federal de Pernambuco. A todos que me inspiram e partilham comigo a admiração e o respeito pela pesquisa.

*“O real não está na chegada nem na saída: ele se dispõe pra gente é no meio da travessia.”*

*(Guimarães Rosa, Grande Sertão: Veredas, 1956).*

## RESUMO

As doenças tropicais negligenciadas representam um grande desafio de saúde pública, especialmente em países em desenvolvimento como o Brasil. Entre essas doenças, a hanseníase se destaca pelo impacto histórico, social e econômico, além do estigma associado aos pacientes. A clofazimina (CLF), um dos fármacos usados no tratamento da hanseníase, enfrenta desafios como baixa solubilidade em água, biodisponibilidade limitada e efeitos adversos, incluindo pigmentação da pele e desconfortos gastrointestinais. As dispersões sólidas amorfas (DSAs) são uma estratégia eficaz para solubilizar fármacos com baixa solubilidade em água. Nessa abordagem, o fármaco é disperso molecularmente em uma matriz polimérica na forma amorfa, o que aumenta sua solubilidade e taxa de dissolução. Essa tecnologia representa uma alternativa promissora para otimizar a eficácia e a segurança dos tratamentos. Este estudo investiga a eficácia de diferentes métodos de obtenção de DSA contendo CLF, bem como a capacidade de amorfização em diferentes *drug loadings*, e avalia seus perfis de dissolução sob diferentes condições de pH. Os métodos de evaporação de solventes e *quench-cooling* foram explorados, para DSAs preparadas com os polímeros hidroxipropilmetilcelulose-ftalato (HPMCP) e Soluplus®. Os sistemas resultantes (HPMCP-CLF ou SLP-CLF) foram caracterizados quanto à solubilidade, estado amorfo e perfis de dissolução. A análise espectroscópica de infravermelho e de difração de raios-X confirmou a dispersão amorfa de CLF na matriz polimérica, enquanto os ensaios de dissolução demonstraram um aumento significativo na solubilidade da CLF. Para as DSAs obtidas pelo método *quench-cooling* em pH 1,2, os sistemas de HPMCP com 10% e 50% de *drug loading* apresentaram  $C_{\text{máx}}$  de 22,9 e 21,9  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. No pH 6,8, os mesmos sistemas mostraram  $C_{\text{máx}}$  de 191,7 e 89,9  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente. As DSAs de Soluplus com 10% e 30% apresentaram  $C_{\text{máx}}$  de 30,8 e 28,4  $\mu\text{g/mL}$  em pH 1,2, e 102,9  $\mu\text{g/mL}$  e 119,7  $\mu\text{g/mL}$  em pH 6,8. Já para as DSAs obtidas por evaporação de solventes, em pH 1,2, os sistemas de HPMCP com 10% e 50% apresentaram  $C_{\text{máx}}$  de 12,7 e 35  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, enquanto o sistema baseado em SLP apresentou  $C_{\text{máx}}$  de 21,6  $\mu\text{g/mL}$ . Em pH 6,8, os sistemas de HPMCP com 10% e 50% apresentaram  $C_{\text{máx}}$  de 124,9 e 103,2  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, e o sistema de SLP apresentou  $C_{\text{máx}}$  de 60,1  $\mu\text{g/mL}$ . Os resultados destacam que as dispersões obtidas pelo método *quench-cooling* apresentaram maior eficiência na amorfização do fármaco, permitindo a incorporação de *drug loadings* mais elevados em comparação ao método de evaporação de solventes. Além disso, o HPMCP mostrou-se o polímero mais eficaz na interação com o fármaco, alcançando também os maiores níveis de *drug loading*. Por outro lado, embora o SLP não apresente interações moleculares significativas com a CLF, os sistemas preparados com esse polímero exibiram, de modo geral, um excelente desempenho na dissolução. Em alguns casos, foram alcançadas concentrações até 100 vezes superiores à concentração de saturação ( $C_s$ ) da CLF em pH 1,2 e 300 vezes superiores à  $C_s$  em pH 6,8.

**Palavras-chave:** clofazimina; dispersão sólida amorfa; evaporação de solventes; fusão; supersaturação.

## ABSTRACT

Neglected tropical diseases represent a significant public health challenge, particularly in developing countries such as Brazil. Among these diseases, leprosy stands out due to its historical, social, and economic impact, as well as the stigma associated with affected patients. Clofazimine (CLF), one of the drugs used in the treatment of leprosy, faces challenges such as low water solubility, limited bioavailability, and adverse effects, including skin pigmentation and gastrointestinal discomfort. Amorphous solid dispersions (ASDs) are an effective strategy for solubilizing poorly water-soluble drugs. In this approach, the drug is molecularly dispersed within a polymeric matrix in an amorphous form, enhancing its solubility and dissolution rate. This technology represents a promising alternative to optimize the efficacy and safety of treatments. This study investigates the efficacy of different methods for obtaining ASDs containing CLF, as well as their amorphization capacity at different drug loadings, and evaluates their dissolution profiles under varying pH conditions. The solvent evaporation and quench-cooling methods were explored for ASDs prepared with the polymers hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) and Soluplus®. The resulting systems (HPMCP-CLF or SLP-CLF) were characterized in terms of solubility, amorphous state, and dissolution profiles. Infrared spectroscopy and X-ray diffraction analyses confirmed the amorphous dispersion of CLF within the polymeric matrix, while dissolution assays demonstrated a significant increase in CLF solubility. For ASDs obtained via the quench-cooling method at pH 1.2, HPMCP systems with 10% and 50% drug loading exhibited C<sub>max</sub> values of 22.9 and 21.9 µg/mL, respectively. At pH 6.8, the same systems presented C<sub>max</sub> values of 191.7 and 89.9 µg/mL, respectively. Soluplus-based ASDs with 10% and 30% drug loading exhibited C<sub>max</sub> values of 30.8 and 28.4 µg/mL at pH 1.2, and 102.9 µg/mL and 119.7 µg/mL at pH 6.8, respectively. For ASDs obtained via the solvent evaporation method at pH 1.2, HPMCP systems with 10% and 50% drug loading showed C<sub>max</sub> values of 12.7 and 35 µg/mL, respectively, while the Soluplus-based system exhibited a C<sub>max</sub> of 21.6 µg/mL. At pH 6.8, HPMCP systems with 10% and 50% drug loading presented C<sub>max</sub> values of 124.9 and 103.2 µg/mL, respectively, while the Soluplus-based system reached a C<sub>max</sub> of 60.1 µg/mL. The results highlight that dispersions obtained via the quench-cooling method demonstrated higher efficiency in drug amorphization, enabling the incorporation of higher drug loadings compared to the solvent evaporation method. Furthermore, HPMCP proved to be the most effective polymer in interacting with the drug, also achieving the highest drug loading levels. On the other hand, although SLP did not exhibit significant molecular interactions with CLF, the systems prepared with this polymer generally demonstrated excellent dissolution performance. In some cases, concentrations up to 100 times higher than CLF's saturation concentration (C<sub>s</sub>) at pH 1.2 and 300 times higher than C<sub>s</sub> at pH 6.8 were achieved.

**Keywords:** clofazimine; amorphous solid dispersion; solvent evaporation; melting; supersaturation.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1</b> – Distribuição global das DTNs. ....	18
<b>Figura 2</b> – Estados brasileiros com maior número de casos novos de hanseníase. ....	25
<b>Figura 3</b> – Esquema terapêutico para o tratamento adulto da hanseníase. ....	28
<b>Figura 4</b> – Estrutura química da dapsona. ....	30
<b>Figura 5</b> – Estrutura química da clofazimina. ....	32
<b>Figura 6</b> – Estrutura química da rifampicina. ....	34
<b>Figura 7</b> – Classes biofarmacêuticas ordenadas pelos critérios de solubilidade e permeabilidade. ....	37
<b>Figura 8</b> – Organizações de uma dispersão sólida amorfa. ....	40
<b>Figura 9</b> – Perfis de dissolução de fenofibrato, sob condição non-sink, liberado de sílica mesoporosa ordenada insolúvel com tamanhos de partículas decrescentes (FFB:SBA-15 A < FFB:SBA-15 B < FFB:MCM-41). ....	46
<b>Figura 10</b> – Geração de supersaturação via dissolução de fármaco amorfo, a partir de dispersão sólida, ao longo do tempo. A linha preta sólida representa a rápida dissolução e supersaturação. A linha vermelha tracejada indica a rápida queda na concentração devido à nucleação e crescimento de cristais. O "paraquedas" é ilustrado pela linha verde tracejada, mostrando períodos de supersaturação mais longos com nucleação/crescimento de cristais mais lentos. ....	47
<b>Figura 11</b> – Procedimento de evaporação de solventes para o preparo de dispersões sólidas amorfas de SLP ou HPMCP carregadas com clofazimina. ....	54
<b>Figura 12</b> – Procedimento de obtenção de dispersões sólidas amorfas de HPMCP e clofazimina pelo método <i>quench-cooling</i> . ....	55
<b>Figura 13</b> – Esquema de determinação da solubilidade da CLF através do método <i>shake-flask</i> . ....	57
<b>Figura 14</b> – Espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier de clofazimina, Soluplus® e dispersões sólidas obtidas por <i>quench-cooling</i> . ....	63
<b>Figura 15</b> – Espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier de clofazimina, HPMCP e dispersões sólidas obtidas por <i>quench-cooling</i> . ....	64
<b>Figura 16</b> – Mudança de cor observada durante a preparação das DSAs de CLF com os polímeros HPMCP e Soluplus. A: DSA com HPMCP mostra uma transição de cor de vermelho para preto em <i>drug loadings</i> de 10% e 50%, indicando	

<p>uma interação específica entre a CLF e os grupos carboxílicos do HPMCP. B: DSA com SLP, com as mesmas cargas de fármaco, não apresenta alteração na cor, reforçando a ausência da interação específica observada com o HPMCP.....</p>	65
<b>Figura 17</b> – Imagens de microscopia ótica de luz polarizada das dispersões de HPMCP-CLF e SLP-CLF obtidas pelo método de evaporação de solventes. ....	66
<b>Figura 18</b> – Análises de PDRX das DSAs obtidas por <i>quench-cooling</i> .....	67
<b>Figura 19</b> – Análises de PDRX das DSAs obtidas por evaporação de solventes.....	68
<b>Figura 20</b> – A: Solubilidade em equilíbrio de clofazimina em diferentes pHs determinada experimentalmente. B: Cromatograma típico de CLF injetada a 1 µg/mL. ....	69
<b>Figura 21</b> – Espécies ionizada (A) molecular (B) de clofazimina em meio aquoso.....	70
<b>Figura 22</b> – Solubilidade de clofazimina em solventes orgânicos determinada pelo método <i>shake-flask</i> .....	71
<b>Figura 23</b> – Perfis de solubilidade cinética de CLF liberada a partir de DSAs preparadas por <i>quench-cooling</i> .....	73
<b>Figura 24</b> – Perfis de solubilidade cinética de CLF liberada a partir de DSAs preparadas por <i>quench-cooling</i> .....	75

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	– Carga das DTNs no Brasil proporcional ao total da América Latina. ....	19
<b>Tabela 2</b>	– Exemplos de produtos baseados em DSAs aprovados pelo FDA. ....	44
<b>Tabela 3</b>	– Propriedades físico-químicas dos materiais empregados no estudo. ....	49
<b>Tabela 4</b>	– Análise das lacunas científicas de trabalhos envolvendo dispersões sólidas amorphas de clofazimina disponíveis na literatura. ....	50
<b>Tabela 5</b>	– Descrição da obtenção das dispersões. ....	53
<b>Tabela 6</b>	– Solubilidade de clofazimina em tampões aquosos determinada pelo método <i>shake-flask</i> . ....	70

## LISTA DE QUADROS

- Quadro 1** – Descrição do desenho experimental dos ensaios de dissolução sob condição *non-sink* das dispersões obtidas pelo método de evaporação de solventes. .... 59
- Quadro 2** – Descrição do desenho experimental dos ensaios de dissolução sob condição *non-sink* das dispersões obtidas pelo método *quench-cooling*. .... 59
- Quadro 3** – Dados experimentais das dissoluções realizadas com DSAs obtidas através do método de fusão. .... 72
- Quadro 4** – Dados experimentais das dissoluções realizadas com DSAs obtidas através do método de evaporação de solventes. .... 74

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>15</b>
1.1	OBJETIVOS.....	16
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>16</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>17</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO .....</b>	<b>18</b>
2.1	DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS .....	18
2.2	HANSENÍASE: UMA BREVE HISTÓRIA.....	19
2.3	HANSENÍASE: FISIOPATOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA.....	22
<b>2.3.1</b>	<b>Fisiopatologia .....</b>	<b>23</b>
<b>2.3.2</b>	<b>Epidemiologia .....</b>	<b>24</b>
2.4	HANSENÍASE: TRATAMENTO .....	26
<b>2.4.1</b>	<b>Dapsona .....</b>	<b>30</b>
<b>2.4.2</b>	<b>Clofazimina .....</b>	<b>31</b>
<b>2.4.3</b>	<b>Rifampicina.....</b>	<b>33</b>
<b>2.4.4</b>	<b>Desafios associados ao tratamento.....</b>	<b>34</b>
2.5	Fármacos de baixa solubilidade e o Sistema de Classificação Biofarmacêutico .....	35
<b>2.5.1</b>	<b>Fármacos de baixa solubilidade .....</b>	<b>35</b>
<b>2.5.2</b>	<b>Sistema de Classificação Biofarmacêutico .....</b>	<b>37</b>
2.6	Dispersões Sólidas Amorfas.....	38
<b>2.6.1</b>	<b>Métodos de obtenção de dispersões sólidas amorfas.....</b>	<b>40</b>
<b>2.6.2</b>	<b>Ensaio de dissolução de dispersões sólidas amorfas: a condição <i>non-sink</i>.....</b>	<b>44</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>49</b>
3.1	MATERIAIS .....	49
3.2	SELEÇÃO DOS FÁRMACOS E POLÍMEROS UTILIZADOS .....	49
<b>3.2.1</b>	<b>Clofazimina .....</b>	<b>50</b>
<b>3.2.2</b>	<b>HPMCP .....</b>	<b>52</b>
<b>3.2.3</b>	<b>Soluplus .....</b>	<b>52</b>
3.3	OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS .....	53
<b>3.3.1</b>	<b>Método de evaporação de solventes .....</b>	<b>53</b>
<b>3.3.2</b>	<b>Método <i>quench-cooling</i> .....</b>	<b>54</b>
3.4	CARACTERIZAÇÕES DO ESTADO SÓLIDO .....	55

3.4.1	<b>Microscopia de luz polarizada.....</b>	<b>55</b>
3.4.2	<b>Difratometria de Raios-X .....</b>	<b>55</b>
3.4.3	<b>Espectroscopia do Infravermelho com transformada de Fourier .....</b>	<b>56</b>
3.5	<b>DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO .....</b>	<b>56</b>
3.5.1	<b>Determinação de clofazimina por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo diodos .....</b>	<b>57</b>
3.6	<b>ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO SOB CONDIÇÃO <i>NON-SINK</i> .....</b>	<b>58</b>
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>61</b>
4.1	<b>OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS.....</b>	<b>61</b>
4.2	<b>DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE CLOFAZIMINA EM EQUILÍBRIO .....</b>	<b>68</b>
4.2.1	<b>Clofazimina em tampões aquosos: seleção dos meios de dissolução do estudo ..</b>	<b>68</b>
4.2.2	<b>Clofazimina em solventes orgânicos: seleção do solvente para método de evaporação .....</b>	<b>71</b>
4.3	<b>ENSAIO DE DISSOLUÇÃO SOB CONDIÇÃO NON-SINK .....</b>	<b>72</b>
5	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>78</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>79</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) representam um conjunto significativo de desafios de saúde pública, especialmente em países em desenvolvimento, como o Brasil, onde a desigualdade social e a falta de infraestrutura básica exacerbam a disseminação dessas enfermidades. Entre as DTNs, a hanseníase destaca-se devido ao seu impacto histórico, social e econômico, e à estigmatização dos pacientes afetados. A hanseníase, por muito tempo conhecida como “lepra”, é causada pelo bacilo *Mycobacterium leprae* e caracteriza-se por lesões na pele e nos nervos periféricos, podendo levar a deformidades físicas e incapacidades permanentes se não tratada adequadamente (White; Franco-Paredes, 2015).

Historicamente, a hanseníase tem sido uma das doenças mais estigmatizadas, com implicações sociais que resultaram em exclusão e discriminação dos pacientes. Apesar dos avanços no tratamento e na compreensão da doença, o estigma associado à hanseníase ainda persiste, dificultando o diagnóstico precoce e o tratamento eficaz. No Brasil, a hanseníase continua a ser um problema de saúde pública significativo, com milhares de novos casos diagnosticados a cada ano, principalmente em regiões mais pobres e com acesso limitado aos serviços de saúde (Ministério da Saúde, 2017).

No contexto do tratamento da hanseníase, a poliquimioterapia (PQT), composta pelos fármacos clofazimina (CLF), dapsona (DAP) e rifampicina (RIF), tem sido a abordagem recomendada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) desde 1982 (Organização Mundial da Saúde, 2004). A PQT tem demonstrado eficácia na redução da carga bacteriana e na interrupção da transmissão da doença. Dentre esses medicamentos, a CLF é a que mais se destaca por desafios relacionados à sua baixa solubilidade em água e aos efeitos colaterais adversos, como a descoloração da pele e secreções. A solubilidade limitada da CLF compromete sua biodisponibilidade oral, exigindo estratégias inovadoras para melhorar sua dissolução e eficácia terapêutica (Schaad-Lanyi *et al.*, 1987).

A baixa solubilidade de fármacos em água é um desafio comum no desenvolvimento de medicamentos, especialmente aqueles destinados à administração oral. A CLF, por ser altamente lipofílica, possui uma solubilidade aquosa extremamente baixa, o que limita sua absorção no trato gastrointestinal (TGI) e, conseqüentemente, sua eficácia terapêutica. Diversas abordagens têm sido exploradas para melhorar a solubilidade de fármacos hidrofóbicos, incluindo a utilização de sistemas de liberação modificados e a incorporação em matrizes poliméricas.

As dispersões sólidas amorfas (DSAs) emergem como uma solução promissora para contornar os problemas de solubilidade de fármacos hidrofóbicos como a CLF. As DSAs são sistemas nos quais o fármaco está disperso em uma matriz polimérica na forma amorfa, proporcionando uma maior taxa de dissolução e, conseqüentemente, uma melhor absorção no TGI. A forma amorfa do fármaco possui uma energia livre maior comparada à forma cristalina, resultando em uma solubilidade aumentada. Além disso, a matriz polimérica pode estabilizar a forma amorfa do fármaco, prevenindo sua recristalização e mantendo sua alta solubilidade ao longo do tempo (Hancock; Parks, 2000a).

A obtenção de DSAs pode ser realizada por diversos métodos, como a evaporação de solventes e o *quench-cooling*, cada um com suas vantagens e limitações. A escolha do método de obtenção influencia diretamente as propriedades físicas e químicas da dispersão sólida, bem como sua eficácia terapêutica. Métodos como a evaporação de solventes, na maioria dos casos, permitem a obtenção de DSAs com boas propriedades de dissolução, enquanto técnicas como o *quench-cooling* permitem uma distribuição homogênea do fármaco em sua forma amorfa na matriz polimérica, refletindo em maior solubilidade.

Esta dissertação tem como objetivo investigar a eficácia de diferentes métodos de obtenção de DSAs contendo CLF, bem como a capacidade de amorfização em diferentes *drug loadings*, e avaliar seus perfis de dissolução sob diferentes condições de pH. A pesquisa visa ampliar o entendimento sobre o desenvolvimento de DSAs de CLF, contribuindo para a melhoria das terapias disponíveis para a hanseníase. Além disso, a caracterização físico-química das DSAs e a análise dos perfis de solubilidade cinética fornecerão insights valiosos sobre a interação entre o fármaco e os polímeros utilizados, bem como sobre a estabilidade do sistema amorfo. A investigação desses sistemas tem potencial contribuição para o desenvolvimento de novos tratamentos mais eficazes para a hanseníase. Ao explorar métodos inovadores para melhorar a solubilidade e, posteriormente, a biodisponibilidade da CLF, esta pesquisa pode ampliar a compreensão acerca da aplicação das DSAs de CLF como alternativa ao tratamento da hanseníase, doença que continua a ser um grande desafio para a saúde global.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Investigar a eficácia de diferentes métodos de obtenção de dispersões sólidas amorfas contendo clofazimina e avaliar seus perfis de dissolução sob diferentes condições de pH, com

o intuito de ampliar o entendimento sobre o desenvolvimento de dispersões sólidas amorfas de clofazimina.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

1. Avaliar a eficácia dos métodos de *quench-cooling* e evaporação de solventes na obtenção de DSAs de CLF, considerando a miscibilidade do fármaco com os polímeros HPMCP e Soluplus.
2. Caracterizar as DSAs obtidas por meio de análises de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), microscopia de luz polarizada e difração de raios-X (PDRX) para identificar interações específicas entre CLF e os polímeros, bem como a amorfização no estado sólido.
3. Determinar a solubilidade de equilíbrio do fármaco nos meios de dissolução e em diferentes solventes orgânicos.
4. Realizar ensaio de dissolução sob condição *non-sink* dos sistemas obtidos e determinar os parâmetros de dissolução ( $C_{máx}$ ,  $T_{máx}$  e AUC) das DSAs, bem como evidenciar o perfil de solubilidade cinética do fármaco a partir das DSAs, sob condições de pH 1,2 e 6,8 para comparar a eficácia dos métodos de obtenção em diferentes ambientes (ácido e básico).
5. Identificar a influência da carga de fármaco nas DSAs e sua relação com a liberação do fármaco em diferentes condições de pH.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

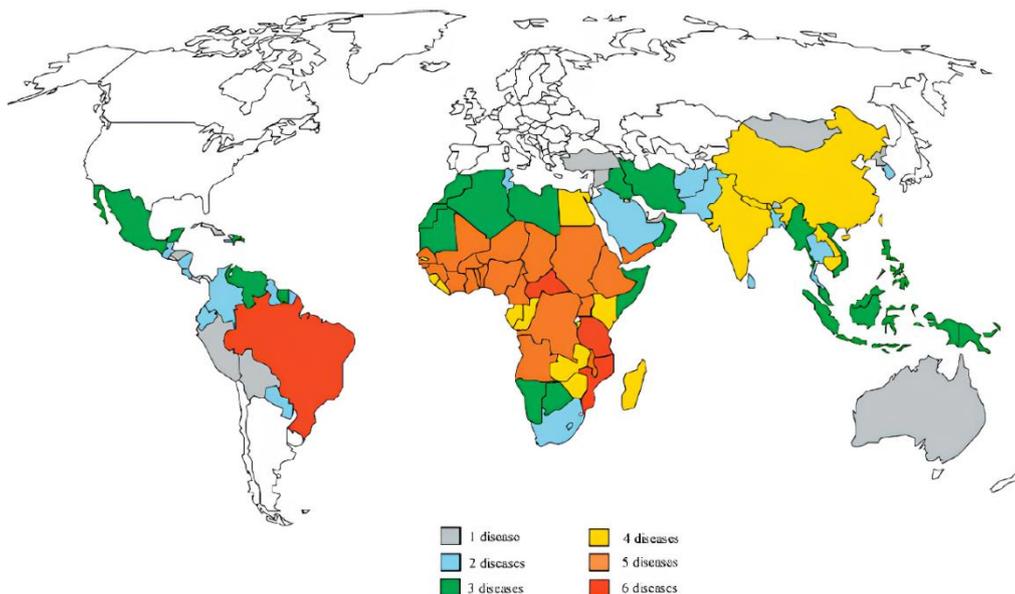
### 2.1 DOENÇAS TROPICAIS NEGLIGENCIADAS

*"Hoje, a nação do Brasil lidera o Hemisfério Ocidental em termos do número de seus cidadãos vivendo com doenças tropicais negligenciadas. Essas doenças continuam a aprisionar os '20 milhões mais pobres' do Brasil na extrema pobreza".*

(Hotez & Fujiwara, 2014).

As doenças tropicais negligenciadas (DTNs) são um subconjunto de doenças infecciosas, que compartilham de aspectos importantes. Um deles, é o fato de predominarem nos trópicos, onde países menos desenvolvidos estão mais concentrados, tendo em vista que muitas das DTNs são em parte atribuíveis ao acesso inadequado à água potável, saneamento e moradia. Outro aspecto em comum às DTNs é a negligência sofrida por financiadores, pesquisadores e governantes (Feasey *et al.*, 2010). Segundo dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), 1,59 bilhão de pessoas, em 149 países, estão infectadas com uma ou mais dessas doenças, o que representa aproximadamente 20% da população mundial (Organização Mundial da Saúde, 2022). A maioria dos casos estão concentrados no continente africano (Figura 1).

**Figura 1** – Distribuição global das DTNs.



**Fonte:** Extraído de (Molyneux; Hotez; Fenwick, 2005).

As doenças negligenciadas resultam do subdesenvolvimento e prevalecem entre pessoas em condições de pobreza. Elas contribuem significativamente para a manutenção da

desigualdade social e das iniquidades em saúde, representando um entrave ao desenvolvimento econômico e social dos países afetados. Exemplos de doenças negligenciadas incluem dengue, doença de Chagas, esquistossomose, hanseníase, leishmaniose, malária e tuberculose.

O Brasil concentra a maior parte das DTNs na América Latina e Caribe (ALC) (Hotez; Fujiwara, 2014). A esquistossomose, leishmaniose visceral, leptospirose e hanseníase são responsáveis, cada uma, por aproximadamente 90% da carga de doença na ALC, considerando os anos de vida perdidos ajustados por incapacidade (DALYs) (Tabela 1) (Hotez; Fujiwara, 2014). As populações de maior risco incluem aquelas que vivem em áreas empobrecidas do Centro-Oeste, do Nordeste, da região Amazônica, e as populações indígenas (Gadelha; Pereira; Santos, 2019).

**Tabela 1** – Carga das DTNs no Brasil proporcional ao total da América Latina.

<b>Doença</b>	<b>DALYs (%ALC)</b>
Esquistossomose	96%
Leishmaniose visceral	93%
Leptospirose	92%
Hanseníase	86%
Dengue	40%
Leishmaniose cutânea	39%
Malária	36%
Doença de Chagas	25%
Helmintos intestinais	24%
Filariose linfática	13%
Oncocercose	2%

**Fonte:** Adaptado de Hotez e Fujiwara (2014).

Nesse cenário, é essencial adotar estratégias de prevenção, campanhas de conscientização e de investimentos em pesquisa e desenvolvimento (P&D) para novas soluções e tecnologias de controle, como fármacos, diagnósticos e vacinas. Essas iniciativas devem ser destacadas como prioritárias pelas instituições acadêmicas e do setor produtivo em saúde do Brasil, sendo coordenadas de modo a transformar descobertas científicas em inovações por meio de um esforço de desenvolvimento translacional e de produtos.

## 2.2 HANSENÍASE: UMA BREVE HISTÓRIA

*“O leproso, que tem ferida, vestirá roupas rasgadas, andarà descabelado, cobrirá o lábio superior e clamará: impuro, impuro. Enquanto a ferida estiver nele, estará impuro; ele estará impuro; viverá só, pois sua habitação será fora da cidade.”*

(Bíblia, Levítico 13; 45-46).

A hanseníase, popularmente conhecida como "lepra", é uma doença milenar que carrega uma conotação pejorativa, principalmente devido à sua associação aos castigos divinos aplicados aos pecadores. Esta condição de impureza (*Tzara'ath*, do hebreu) foi traduzida por “lepra”, um termo associado à abominação e à deformidade, que contribuiu para o estereótipo que resultou na exclusão e em problemas psicossociais das pessoas com hanseníase ao longo da história (Brasil. Ministério da Saúde, 2002).

Por ser uma doença muito antiga, existem diversas interpretações sobre sua origem. Alguns autores defendem que a hanseníase é originária da Ásia (Eidt, 2004), enquanto outros defendem que a África pode ser considerada o continente onde a hanseníase teve sua origem (Kurniawati, 2017). A teoria de que a lepra foi introduzida na Europa pelos Hebreus após a diáspora é outro exemplo das diversas narrativas que cercam a origem e disseminação da doença.

Nas Américas, acredita-se que a hanseníase tenha chegado com os colonizadores espanhóis e portugueses e que o maior fator de expansão da hanseníase no continente foi o tráfico de escravos (Vladmir; Opromolla, 2000). No Brasil, os primeiros casos da doença foram registrados em 1600, no Rio de Janeiro. Anos mais tarde, foi criado o primeiro lazareto, um local destinado a abrigar pessoas com hanseníase, também conhecidas como lazarentos (Kurniawati, 2017).

Após a chegada da doença em vários pontos da costa brasileira, a infecção teria seguido o avanço da colonização rumo ao interior do país, tornando-se um problema de saúde pública generalizado (Bechelli; Rotberg; Maurano, 1950). Anos depois, a luta contra a hanseníase envolveu, primeiramente, a descrença da ideia de hereditariedade e a ênfase no contágio, levando à proposta de confinamento compulsório dos doentes em lazaretos como medida de profilaxia. Figuras proeminentes, como Oswaldo Cruz, defenderam a necessidade de controle do doente como fonte de propagação da doença. Isso culminou em iniciativas como o confinamento dos hansenianos em ilhas e o estabelecimento de medidas de desinfecção domiciliar para combater a doença (Queiroz; Puntel, 1997).

O crescimento da doença pelo país foi acompanhado pelo medo do contágio, da incurabilidade, do peso do estigma associado e da severidade social imposta aos portadores da doença. Em alguns estados do Brasil, existiam leis que proibiam a passagem dos hansenianos, sob pena de internação (Bechelli; Rotberg; Maurano, 1950).

Apesar de não haver nenhuma lei no Brasil para a aplicação de medidas sistemáticas de segregação aos hansenianos, as pessoas com hanseníase enfrentavam restrições em diversas partes do país: eram proibidos de lavar roupas em locais públicos, de entrar em cidades, padarias, ou de tocar em alimentos expostos. Também não podiam exercer profissões que envolvessem manuseio de alimentos ou roupas, especialmente a de açougueiros, a exemplo da lei de 1848 em Minas Gerais. Eram impedidos de comer, dormir ou casar com pessoas saudáveis, e após sua morte, suas casas, móveis e roupas eram queimados, enquanto seus filhos saudáveis eram cuidados pela comunidade ou levados para orfanatos, onde, também, sofriam com os estigmas associados à doença (Queiroz; Puntel, 1997).

A endemia provocada pela hanseníase já existia há cerca de três séculos no Brasil, mas pouco havia sido feito para conter sua disseminação (Bechelli; Rotberg; Maurano, 1950). Foi no século XX que surgiram as principais medidas legislativas para controle da doença no Brasil: a lei de isolamento obrigatório no Rio de Janeiro em 1756, o regulamento de 1787 para o hospital da Bahia, o isolamento obrigatório no Pará em 1838, a proibição de certas profissões para portadores da doença em 1848, e a criação de hospitais-colônias em Sabará em 1883. Durante esse período, vale destacar que a dificuldade em caracterizar devidamente a causa da doença abriu espaço para o surgimento de mitos e crenças populares acerca da hanseníase. Foi apenas em 1873, que o médico norueguês, Gerhard Armauer Hansen, identificou bacilo causador da doença (*Mycobacterium leprae*) conhecida como “lepra”, a qual teve seu nome trocado para hanseníase em homenagem ao seu descobridor (Eidt, 2004).

Em 1912, o sanitarista Emílio Ribas, durante o I Congresso Sul-Americano de Dermatologia e Sifilografia em 1912, destacou a importância de medidas para o combate à hanseníase, como a notificação compulsória, o tratamento rigoroso e o "isolamento humanitário" em hospitais-colônias que, além de abrigar os doentes, deveriam trabalhar na profilaxia, incluindo o afastamento de filhos recém-nascidos saudáveis dos pais doentes e assistência em educandários. A ideia era a efetivação de uma ação conjunta do Estado, municípios e comunidade para resolver a questão da hanseníase no país, com destaque para o envolvimento dos médicos sanitaristas Oswaldo Cruz no Rio de Janeiro e Alfredo da Matta no Amazonas (Eidt, 2004).

Na década de 1940, as sulfonas foram introduzidas ao tratamento da hanseníase e o controle da doença passou a ser realizado sem necessidade de segregação dos pacientes. Em 1954, o internamento compulsório de pessoas acometidas pela hanseníase foi abolido por lei no Brasil e o tratamento passou a ser ambulatorial (Nogueira *et al.*, 1995). Apesar do direito a sair das instituições de longa permanência, implementado por lei, muitos doentes optaram por permanecer nos "leprosários" devido à falta de alternativas para reintegração na sociedade e ao sustento limitado (Monteiro, 1987; Oliveira *et al.*, 2014)

Nessa época, foram realizadas grandes mudanças nas políticas de controle e tratamento da doença, incluindo a mudança do nome de lepra para hanseníase, a fim de reduzir o estigma e promover a conscientização sobre a doença, enfatizando que é curável, de baixa contagiosidade e contra a qual a maioria da população tem defesas imunológicas naturais (Eidt, 2004).

É necessário compreender a história da hanseníase, desde sua origem até os dias atuais, especialmente no contexto brasileiro, uma vez que o país é o segundo mais afetado no mundo pela doença (Vladimir; Opromolla, 2000). Além das políticas de saúde, é fundamental disseminar informações sobre a doença e os fatores que contribuem para o seu controle, a fim de combater o estereótipo associado à hanseníase. Este conhecimento permite uma compreensão profunda das experiências e necessidades dos pacientes com hanseníase, que frequentemente enfrentam discriminação e preconceito. Evidencia-se, assim, a importância de não apenas oferecer um tratamento que abranja os aspectos fisiopatológicos da doença, mas também os psicossociais, promovendo uma abordagem mais humanizada e eficaz no cuidado à saúde de pessoas negligenciadas ao longo da história.

### 2.3 HANSENÍASE: FISIOPATOLOGIA E EPIDEMIOLOGIA

*"A hanseníase não provoca apenas lesões nos nervos e na pele. Ela é incapacitante, também, do ponto de vista moral e psicológico."*

(José Augusto Nery)

### 2.3.1 Fisiopatologia

A hanseníase é uma doença infecciosa causada pelo *Mycobacterium leprae* (*M. leprae*), um bacilo intracelular que pode ser encontrado isoladamente ou em aglomerados no citoplasma de macrófagos. A transmissão ocorre através do contato direto e prolongado com pacientes multibacilíferos sem tratamento, sendo as mucosas das vias aéreas superiores, principalmente a nasal, as principais portas de entrada. A doença é de evolução crônica, afetando, principalmente, os nervos periféricos, a pele, mucosas, ossos e articulações, o trato respiratório superior, e os olhos. As manifestações clínicas dependem da resposta imunológica da pessoa infectada e podem ocorrer após um longo período de incubação, de 2 a 7 anos. Em todo o caso, o diagnóstico e atendimento médico precoce são fundamentais para conter a evolução da doença, prevenindo, assim, danos aos nervos e deformidades nos membros (Virmond; Grzybowski; Virmond, 2015).

Existem várias classificações para a hanseníase, baseadas em um ou mais critérios clínicos, como as lesões cutâneas, incluindo número, características, extensão, definição das margens e simetria; bacteriológico, referente à presença ou ausência do *M. leprae*; imunológico, pela imunorreatividade ao teste de Mitsuda; e histopatológico, relativo aos aspectos microscópicos das lesões (Yonemoto *et al.*, 2022).

A OMS lançou uma classificação para simplificar o diagnóstico e o tratamento dos pacientes, baseada no número de lesões: sendo paucibacilares (PB) a forma mais simples da doença, aqueles com até 5 lesões de pele, e multibacilares (MB), a forma mais grave, aqueles com mais de 5 lesões de pele. Quando a baciloscopia está disponível e o resultado é positivo, independentemente do número de lesões, o caso é considerado MB (Azulay, 2022).

O diagnóstico da hanseníase envolve um exame clínico minucioso que começa com uma anamnese detalhada, buscando identificar sinais dermatoneurológicos característicos da doença e investigar a história epidemiológica do paciente. A avaliação dermatológica é crucial para detectar as lesões na pele que frequentemente apresentam alterações de sensibilidade. A avaliação neurológica visa detectar neurites, paralisias e outras deformidades, destacando a importância da vigilância constante para prevenir e tratar possíveis incapacidades físicas causadas pelo comprometimento dos nervos periféricos. A baciloscopia, embora complementar, não é determinante para o diagnóstico inicial, que é eminentemente clínico, permitindo o início imediato do tratamento, crucial para o controle da doença e prevenção de suas complicações (Freitas *et al.*, 2015).

Apesar das diretrizes consolidadas para diagnóstico e tratamento da hanseníase, as respostas imunológicas observadas durante a doença às vezes são empregadas para complementar o diagnóstico clínico. Um método molecular rápido utilizando a técnica de reação em cadeia da polimerase, conhecida do inglês pela sigla PCR, tem sido utilizada para detectar o DNA do *M. leprae*, o que auxilia no diagnóstico da doença (Hungria *et al.*, 2017).

### 2.3.2 Epidemiologia

A hanseníase pode atingir pessoas de todas as idades, sendo menos frequente em crianças, e de ambos os sexos. No entanto, há uma incidência maior nos homens do que nas mulheres. Quando o hospedeiro apresenta resistência ao bacilo, caracterizam-se os casos PB, que abrigam um pequeno número de bacilos no organismo, insuficiente para infectar outras pessoas. Já nos casos em que o bacilo se multiplica, quando o hospedeiro não apresenta resistência ao bacilo, há maiores riscos de contaminação. Estes são os casos MB, que contribuem para o aumento dos casos da doença. Porém, a pessoa infectada, quando submetida ao tratamento quimioterápico, ela deixa de ser transmissora da doença, pois as primeiras doses da medicação matam os bacilos, torna-os incapazes de infectar outras pessoas (Ministério Da Saúde, 2017).

Essa enfermidade configura uma grave questão de saúde pública, afetando diversos países ao redor do mundo, especialmente os menos desenvolvidos. Entre os fatores relevantes aos níveis endêmicos da doença, os determinantes sociais, como as desigualdades estruturais que afetam a saúde em geral e a imunidade, além das condições precárias de vida e saúde das populações acometidas. Outro fator relacionado é o elevado número de pessoas convivendo em um mesmo ambiente, favorecendo a proliferação da doença (White; Franco-Paredes, 2015).

Em um estudo realizado em cinco ilhas da Indonésia, foi observado que domicílios com mais de sete pessoas apresentaram uma incidência significativamente maior da doença em comparação com aqueles que tinham quatro pessoas ou menos (Bakker *et al.*, 2006). No estado do Pará, Brasil, onde a densidade populacional média nos domicílios é alta (cerca de 4,1 pessoas por domicílio), foi constatado que mais da metade das pessoas afetadas pela hanseníase residia em domicílios onde duas ou mais pessoas compartilhavam um quarto (Barreto *et al.*, 2011).

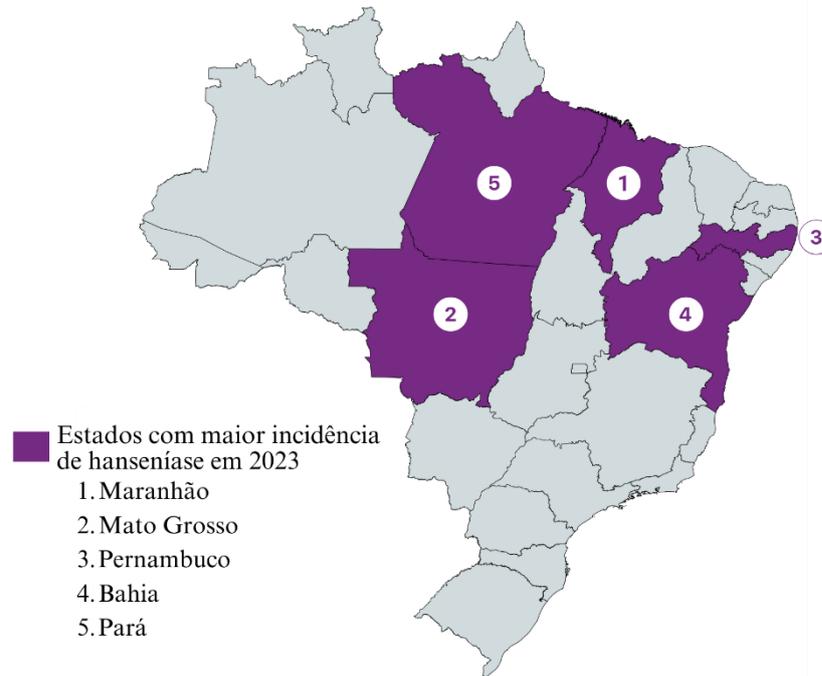
Em 2021, a OMS registrou 140.594 novos casos de hanseníase em 106 países ao redor do mundo, marcando um aumento de 10,2% na taxa de detecção em comparação com o ano anterior. A Índia destacou-se como o país com o maior número de casos, contribuindo com cerca de 53,6% do total global. Nas Américas, 19.826 casos foram notificados, sendo que 92,4%

deles ocorreram no Brasil, colocando o país como o segundo maior em incidência mundial, seguido pela Indonésia. Juntos, Índia, Brasil e Indonésia representaram 74,5% de todos os casos novos reportados mundialmente em 2021, segundo dados da OMS de 2022 (World Health Organization, 2022).

Entre os anos de 2017 a 2021, foram diagnosticados, no Brasil, 119.698 casos novos de hanseníase. Nesse período, entre os novos casos diagnosticados no país, as pessoas que declararam sua raça/cor no momento da notificação mostraram a maior frequência entre os pardos, com 51,6%, seguidos pelos brancos, que representaram 21,6%. O ano de 2021 apresentou maior redução da taxa de detecção geral, o que pode estar ainda relacionado aos efeitos do menor número de diagnósticos causado pela sobrecarga dos serviços de saúde e pelas restrições durante a pandemia da covid-19. A pandemia de covid-19 criou dificuldades para novos diagnósticos e para o tratamento de pacientes com hanseníase, contribuindo para a subnotificação e o pior prognóstico dos casos (Reis *et al.*, 2022).

Os *clusters* são áreas identificadas com maior concentração e risco de casos de hanseníase, que o Ministério da Saúde (MS) do Brasil utiliza para mapear essas regiões, visando estratégias mais eficazes de controle da doença onde a transmissão é mais intensa. O primeiro cluster, identificado entre 2017 e 2020, incluiu 41 municípios em Mato Grosso, destacando-se como a área de maior risco para contrair hanseníase. Já o terceiro cluster, entre 2016 e 2019, abrangeu 70 municípios no extremo sul do Pará, nordeste do Mato Grosso, centro-sul do Tocantins e norte do Goiás, apresentando o segundo maior risco identificado para a doença no país. Dados preliminares de 2022 demonstram que o Brasil diagnosticou 14.962 casos novos de hanseníase, sendo 645 (4,3%) em menores de 15 anos. Em 2023, o Maranhão foi a UF que apresentou o maior número de casos novos na população geral, com 1.860 casos, seguido de Mato Grosso, Pernambuco, Bahia e Pará, com mais de mil casos cada um, como ilustrado na Figura 2.

**Figura 2** – Estados brasileiros com maior número de casos novos de hanseníase.



Fonte: A autora (2024).

## 2.4 HANSENÍASE: TRATAMENTO

*“Alice Ball, com 24 anos, tocou a vida de milhares de pessoas que poucos haviam querido tocar fisicamente por séculos ao enfrentar o problema que havia frustrado inúmeros químicos, farmacologistas e pesquisadores em laboratórios sofisticados e bem equipados ao redor do mundo.”*

(Paul Wermager, 2006)

O primeiro tratamento eficaz contra a hanseníase surgiu apenas em 1916, a partir do óleo de chaulmoogra (*Hydnocarpus wightianus*). Foi a química-farmacêutica, Alice Ball, a primeira pessoa no mundo a desenvolver um tratamento para a hanseníase. Até então, a única fonte de alívio para a doença era o óleo das sementes da árvore de chaulmoogra, óleo altamente viscoso que provocava fortes dores estomacais, quando ingerido, e ineficaz ao aplicar sobre a pele. O óleo também não apresentava eficácia quando injetado por via intravenosa, além de provocar fortes dores (Legendre; Muzny; Swiatlo, 2012; World Health Organization, 2004).

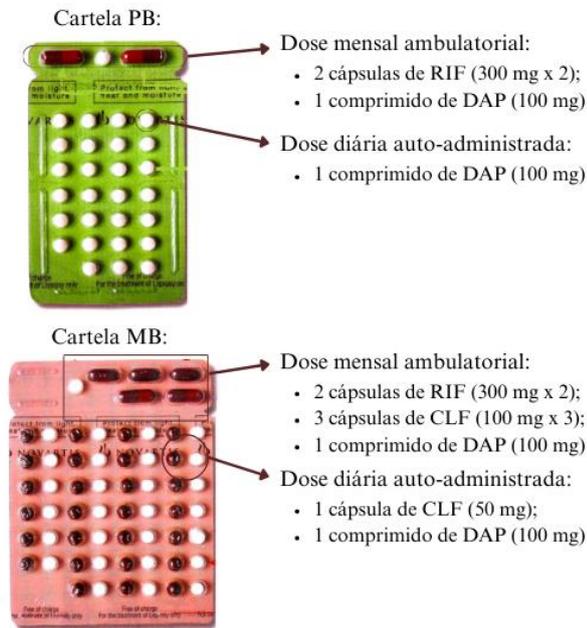
Em 1915, o médico Harry T. Hollmann do Serviço de Saúde Pública no Hospital de Kalihi, no Havaí, pediu a Alice que desenvolvesse uma injeção menos dolorosa do óleo de chaulmoogra para os pacientes com hanseníase. Em 1915, Alice desenvolveu os ésteres etílicos do óleo de chaulmoogra, isolados em seus ácidos graxos, que o tornaram solúvel em água. A

contribuição de Alice Ball para o tratamento da hanseníase foi significativa e durou até a década de 1940, quando surgiram as primeiras sulfonas para o tratamento da doença. Alice foi a primeira afro-americana e a primeira mulher a obter um diploma de mestrado em química na Universidade do Havaí, a primeira instrutora afro-americana de Química na Universidade do Havaí, e primeira mulher afro-americana a ser publicada duas vezes no prestigiado “Journal of the American Chemical Society” (1914 e 1917, postumamente) (Augusta; Endowed, 2006).

Na década de 1945, o uso clínico da dapsona foi introduzido, administrada por via parenteral para tratar a hanseníase. O promin, sal sódico da dapsona, foi um dos primeiros medicamentos a ser utilizado no tratamento da hanseníase, seu uso oral da dapsona foi relatado em vários locais, incluindo Brasil, Nigéria e Guiana Francesa, mostrando sua eficácia no tratamento da doença. Ele demonstrou inibir a progressão da hanseníase em muitos casos e foi considerado eficaz no tratamento de várias infecções causadas por bacilos ácidos, e seu desenvolvimento marcou um avanço significativo na terapia para a hanseníase (Zhu; Stiller, 2001).

Em 1982, a OMS introduziu um novo esquema terapêutico, baseado na poliquimioterapia (PQT), com os fármacos clofazimina (CLF), dapsona (DAP) e rifampicina (RIF). Para os casos de hanseníase PB, a duração do tratamento é de até 9 meses, com doses mensais de RIF (600 mg), DAP (100 mg) e CLF (300 mg) e doses diárias de DAP (100 mg). Para os casos de hanseníase MB, a duração do tratamento é de até 18 meses, com doses mensais de RIF (600 mg), DAP (100 mg) e CLF (300 mg) e doses diárias de DAP (100 mg) e CLO (50 mg). Atualmente, este esquema é a forma mais comum de limitar a disseminação do *M. leprae* (Figura 3) (World Health Organization, 2004). No Brasil, a Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (CONITEC) sugeriu unificar o tratamento nacional da hanseníase padronizando a terapia MB como ideal para todas as classificações da doença.

**Figura 3** – Esquema terapêutico para o tratamento adulto da hanseníase.



**Fonte:** Adaptado de (Kar; Gupta, 2015).

Apesar de não fazerem parte do esquema terapêutico da OMS, medicamentos, como moxifloxacina, ofloxacina, minociclina e claritromicina, apresentaram potencial atividade contra o *M. leprae*, sendo utilizados em alguns casos como tratamento alternativo. Isso faz parte dos esforços voltados à busca de novas combinações de tratamento, objetivando superar a resistência ao tratamento convencional, reduzir o tempo de tratamento e aumentar a eficácia terapêutica (Legendre; Muzny; Swiatlo, 2012).

A proporção de casos MB globalmente é de 60,6%, e entre os países que relataram novos casos, a maioria apresentou maior incidência de casos MB. Diante disso, a taxa de conclusão do tratamento é um dos indicadores de resultado mais importantes da atividade de controle de casos e reflete a eficiência no gerenciamento dos pacientes. Por outro lado, muitos pacientes apresentam dificuldade em aderir ao tratamento devido ao uso prolongado, que pode chegar e seis meses a dois anos, bem como à complexidade das cartelas, tendo em vista que as populações mais atingidas pela doença são as menos favorecidas, onde a falta de informação pode levar à interrupção prematura do tratamento e, conseqüentemente, ao desenvolvimento de resistência medicamentosa (Legendre; Muzny; Swiatlo, 2012).

Outras dificuldades associadas ao tratamento são as reações imunológicas, caracterizadas por exacerbar a doença. Essas reações são geralmente classificadas em dois tipos principais: reações tipo 1 (ou reações reversíveis) e reações tipo 2 (ou reações de Lucio). As

reações tipo 1 são caracterizadas por uma resposta inflamatória aguda que ocorre em pacientes com hanseníase, geralmente em resposta à morte de bacilos durante o tratamento. Elas podem se manifestar como dor, inchaço e vermelhidão nas áreas afetadas, além de agravamento de sintomas neurológicos. Enquanto as reações tipo 2, também conhecidas como reações de Lucio, são caracterizadas por erupções cutâneas e podem ocorrer em pacientes com hanseníase lepromatosa. Elas estão associadas a uma resposta imune mais intensa e podem levar a complicações mais graves, como úlceras e lesões nos nervos. As reações de hanseníase podem impactar a adesão ao tratamento, pois os pacientes podem sentir desconforto significativo e podem ser levados a interromper a terapia. Isso é especialmente preocupante em contextos em que a adesão ao tratamento é crucial para evitar recaídas e resistência a medicamentos (Kar; Gupta, 2015; White; Franco-Paredes, 2015).

Os efeitos adversos também são fatores determinantes na descontinuação do tratamento por parte dos pacientes. Os medicamentos utilizados na PQT podem ter efeitos colaterais. Por exemplo, a DAP, um dos principais componentes da terapia, pode causar reações adversas como anemia hemolítica, erupções cutâneas e reações de hipersensibilidade. Embora seja bem tolerada, a resistência a dapsona é observada desde a década de 1960, levando a complicações no tratamento. É crucial que os pacientes em tratamento com a PQT sejam monitorados de perto para identificar e gerenciar quaisquer efeitos adversos (Kar; Gupta, 2015).

A CLF, fármaco que integra a PQT, apresenta um dos efeitos colaterais mais notáveis do tratamento, a descoloração avermelhada da pele e das secreções corporais. Isso ocorre devido ao acúmulo do medicamento em tecidos como pele, gordura subcutânea, fígado, pulmões, glândulas adrenais, rins, linfonodos e trato gastrointestinal. A descoloração pode persistir por mais de três anos após a interrupção do tratamento (Kar; Gupta, 2015; Prasad; Kaviarasan, 2010). A CLF se acumula nos macrófagos, o que pode interferir na capacidade de processar e apresentar antígenos, potencialmente afetando a resposta imune do paciente.

A CLF pode, ainda, causar efeitos colaterais gastrointestinais, como náuseas e diarreia. Já em relação à resistência medicamentosa à CLF, não há relatos frequentes, possivelmente devido aos seus múltiplos mecanismos de ação. A gestão adequada dos efeitos colaterais, bem como o investimento em novas tecnologias que contornem os problemas associado à PQT, é essencial para garantir a adesão ao tratamento e a eficácia da terapia (Kar; Gupta, 2015). Assim como a CLF, a RIF pode causar descoloração de fluidos corporais, como urina, saliva e lágrimas, que podem adquirir uma coloração avermelhada ou laranja, o que pode ser desagradável aos pacientes. A RIF também pode causar hepatotoxicidade, levando a elevações

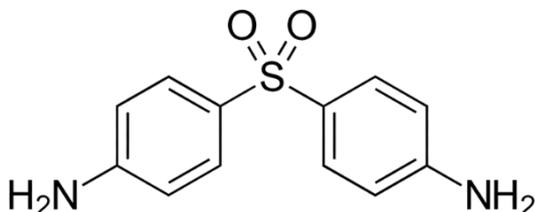
nas enzimas hepáticas e, em menor frequência, a hepatite. O monitoramento da função hepática é recomendado durante o tratamento (Prasad; Kaviarasan, 2010).

Diante disso, é essencial que os pacientes em tratamento com a PQT sejam monitorados de perto para identificar precocemente as reações de hanseníase. A intervenção rápida pode ajudar a mitigar os efeitos adversos e garantir que os pacientes continuem a receber o tratamento necessário. A educação dos pacientes sobre os sinais e sintomas das reações também é fundamental para promover a adesão e a busca de cuidados médicos quando necessário.

#### 2.4.1 Dapsona

A DAP (4,4'-diamino-difenilsulfona) (Figura 4) é um composto de ação antibiótica pertencente à classe das sulfonas. Apesar de sintetizada em 1908, foi apenas em 1945 utilizada no tratamento da hanseníase, a princípio, como monoterapia. No entanto, os relatos de resistência associados ao fármaco, tornou-se um obstáculo ao tratamento monoterápico (Legendre; Muzny; Swiatlo, 2012; Sener *et al.*, 2006).

Figura 4 – Estrutura química da dapsona.



Fonte: A autora (2024).

A DAP apresenta uma estrutura química que inclui um grupo sulfonamida e dois anéis benzênicos. Essa estrutura é responsável por suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, mas também pode ser responsável por sua toxicidade (Zhu; Stiller, 2001). A presença do grupo amina ( $\text{NH}_2$ ) nos anéis benzênicos é crucial para sua atividade biológica. A sulfona é uma base de Lewis muito fraca, sem íon de hidrogênio ( $\text{H}^+$ ) prontamente dissociável. A DAP é caracterizada por ser um pó cristalino branco e inodoro que escurece quando exposto à luz, mas permanece quimicamente inalterado (Oliveira *et al.*, 2014).

A solubilidade da DAP em água é limitada (0,16 mg/mL), o que pode afetar sua absorção e biodisponibilidade, sendo classificada como um fármaco de classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (Amidon *et*

*al.*, 1995). A solubilidade é um fator importante a ser considerado na formulação do medicamento, pois pode influenciar a eficácia do tratamento. É um fármaco mais solúvel em solventes orgânicos, como o etanol, o que pode ser relevante para a sua formulação em diferentes formas farmacêuticas (Wozel; Blasum, 2014; Zhu; Stiller, 2001).

Após a administração oral, a DAP é quase completamente absorvida pelo trato gastrointestinal (TGI) com uma biodisponibilidade de cerca de 80%, onde as concentrações séricas máximas podem ser atingidas dentro de 2 a 8 horas. O tempo de meia-vida da DAP é relativamente longo, entre 24 a 30 horas, o que permite sua administração em doses diárias ou semanais, dependendo da condição a ser tratada (Zuidema; Hilbers-Modderman; Merkus, 1986).

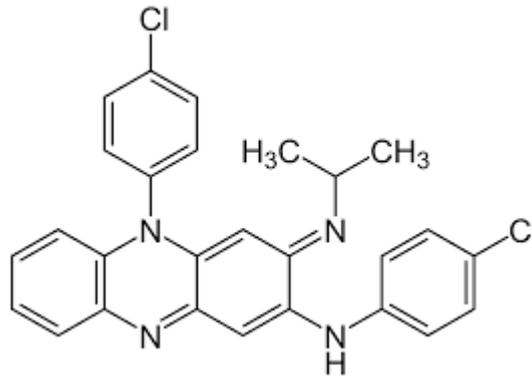
A estabilidade química da DAP é um aspecto importante, especialmente em condições de armazenamento, sendo estável em condições normais, mas que pode ser degradada em ambientes ácidos (Zhu; Stiller, 2001). A DAP é metabolizada no fígado, principalmente por meio de acetilação, que pode variar entre indivíduos, influenciando a eficácia e a toxicidade do medicamento. A presença de diferentes fenótipos de acetiladores (rápidos e lentos) pode afetar a resposta ao tratamento e a ocorrência de efeitos colaterais. Os principais produtos metabólicos resultam da acetilação mediada pela N-acetiltransferase e da hidroxilação pelas enzimas do citocromo P-450, formando monoacetil-dapsona e dapsona-hidroxilamina, respectivamente. Cerca de 20% da dapsona é excretada na urina na forma inalterada, enquanto 70% a 85% são eliminados como metabólitos solúveis em água. Além disso, uma pequena quantidade do fármaco pode ser excretada nas fezes (Ellard, 1966).

#### **2.4.2 Clofazimina**

A CLF, ou 3-(p-chloroanilino)-10-(pchlorophenyl)-2,10-di-hydro-2-(isopropylimino)phenazina, primeiramente descrita em 1957, é o protótipo do antibiótico da classe das riminofenazinas que, desde 1962, sua principal aplicação clínica tem sido no tratamento da hanseníase MB como um componente do esquema terapêutico recomendado pela OMS (Kornberg; Krebs, 1957). A CLF apresenta atividade antimicrobiana e anti-inflamatória, e, sua eficácia no tratamento da hanseníase é, em parte, atribuível à sua lipofilicidade. Isso porque a lipofilicidade permite que a CLF se acumule na pele e nos nervos, enquanto suas atividades anti-inflamatórias são potencialmente úteis no controle do eritema nodoso hansênico (Cholo *et al.*, 2012; Reddy; O'sullivan; Gangadharam, 1999).

As principais características estruturais das riminofenazinas são o núcleo fenazina com um grupo alquilimino (R-imino) na posição 2 e substituintes fenil nas posições 3 e 10 do núcleo fenazina, essenciais para a atividade antimicrobiana, variando conforme o número e tipo de átomos de halogênio nos substituintes fenil (Franzblau; White; O'sullivan, 1989; Jagannath *et al.*, 1995). Sua estrutura química é demonstrada na Figura 5.

**Figura 5** – Estrutura química da clofazimina.



**Fonte:** A autora (2024).

O mecanismo de ação da CLF não é bem definido, mas estudos sugerem que a atividade antimicrobiana está relacionada à desestruturação da membrana celular ou ao aumento da atividade da fosfolipase A2 bacteriana, resultando na liberação de lisofosfolípidios, produtos de hidrólise enzimática tóxicos ao *M. leprae* (Cholo *et al.*, 2012; Szeto *et al.*, 2016).

A CLF é caracterizada por uma cor que varia do vermelho profundo ao laranja em condições normais. Como um fármaco de natureza básica, apresenta três grupos amina que podem ser protonados e carregados em condições de pH ácido e fisiológicas. A cor da clofazimina pode mudar conforme o pH do ambiente: em ambientes mais alcalinos, ela permanece não carregada e assume uma cor laranja intensa. À medida que o pH diminui, a cor torna-se mais vermelha, tendendo ao violeta em ambientes muito ácidos, aumentando também sua solubilidade (Reddy; O'sullivan; Gangadharam, 1999). Essas variações de solubilidade conforme o pH podem levar à precipitação da clofazimina *in vivo*, especialmente ao longo do TGI, onde diferentes condições de pH são encontradas (Bannigan *et al.*, 2018). Entre os fármacos usados na PQT da hanseníase, a CLF apresenta a menor solubilidade em água, sendo praticamente insolúvel, e altamente lipofílica ( $\log P > 7$ ), o que resulta em sua bioacumulação, como biocristais intracelulares (Baik; Rosania, 2012).

Devido à sua alta lipofilicidade, a CLF é administrada como uma suspensão microcristalina em uma base de óleo-cerosa, a fim de possibilitar sua absorção (Lamprene®)

(Yawalkar; Her, [s.d.]). Em seres humanos, a absorção oral do medicamento varia significativamente (45%–62%), dependendo da ingestão ou não de alimentos. A administração oral de um comprimido numa dose de 200 mg com alimentos resultou em uma concentração plasmática máxima (C<sub>máx</sub>) de 0,41 µg/mL, atingida em 8 horas, enquanto, em estado não-alimentado, a concentração C<sub>máx</sub> foi 30% menor e o tempo para atingir C<sub>máx</sub> aumentou para 12 horas (Schaad-Lanyi *et al.*, 1987).

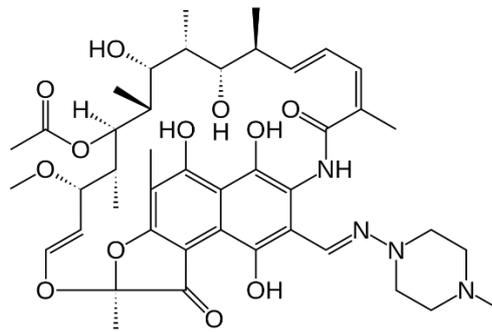
A CLF se distribui principalmente nos tecidos gordurosos, bem como nas células do sistema fagocitário mononuclear, e após a administração de clofazimina a camundongos, na dose de 25 mg/kg de peso corporal por 28 dias, as concentrações médias desse agente nos pulmões, baço, gordura e plasma foram de 800, 4000 e 80 mg/kg e 3 mg/L, respectivamente. Em humanos, a concentração de clofazimina na gordura de pacientes com hanseníase foi relatada ser tão alta quanto 5,3 mg/g, enquanto concentrações superiores a 1 mg/g foram encontradas na bile, vesícula biliar, rins, pâncreas, pele, fígado, baço, linfonodos, olhos e pulmões (Barry; Conalty, 1965; Cholo *et al.*, 2012).

Os efeitos adversos da CLF são geralmente relacionados à dose, afetando principalmente a pele, os olhos e o TGI. A descoloração marrom-avermelhada da pele é gradualmente reversível com a interrupção da terapia. No entanto, os pacientes muitas vezes se sentem marcados e estigmatizados por essa característica, tendendo, conseqüentemente, a suspender a CLF do tratamento (Cholo *et al.*, 2012).

### 2.4.3 Rifampicina

A RIF (Figura 6), introduzida em 1970, é o único componente bactericida da PQT contra o *M. leprae*. Ela atua pela inibição seletiva da RNA polimerase dependente de DNA bacteriano, bloqueando a síntese de RNA (Campbell *et al.*, 2001). A droga também é eficaz contra organismos resistentes à DAP. A RIF atravessa as membranas celulares e é eficaz na eliminação de organismos intracelulares. Uma dose única de 1500 mg ou 3 a 4 doses diárias de 600 mg do medicamento administradas a pacientes parecem matar mais de 99,99% dos *M. leprae* viáveis, conforme testado na almofada plantar de camundongos (Kar; Gupta, 2015). Os efeitos colaterais são raros com a dosagem mensal.

**Figura 6** – Estrutura química da rifampicina.



**Fonte:** A autora (2024).

A RIF tem um efeito significativo na farmacocinética de outros medicamentos, como a DAP. Especificamente, a rifampicina pode aumentar a taxa de eliminação da DAP do plasma, possivelmente devido à indução de enzimas microsomais hepáticas que aumentam a N-hidroxilação da DAP. No entanto, esse efeito parece ser mais pronunciado nas fases iniciais do tratamento e diminui com o tempo. Além disso, os níveis de DAP alcançados no sangue com doses diárias de 50-100 mg são considerados muito altos para serem reduzidos a níveis subterapêuticos, mesmo com o tratamento contínuo com RIF. Portanto, a administração mensal de rifampicina tem pouco ou nenhum efeito na taxa de eliminação da dapsona (Bullock, 1983).

A RIF é um pó cristalino vermelho-alaranjado, sendo geralmente solúvel em solventes orgânicos, como metanol, acetato de etila, clorofórmio e diclorometano, mas sua solubilidade em água é limitada. Isso pode influenciar a forma como é administrada e absorvida no organismo. A RIF é sensível à luz e pode se degradar em condições inadequadas de armazenamento. É um composto de caráter ácido, e seu comportamento em diferentes pHs pode afetar sua absorção e biodisponibilidade (Furesz, 1970).

#### **2.4.4 Desafios associados ao tratamento**

A PQT para o tratamento da hanseníase trouxe avanços significativos à saúde de muitas pessoas acometidas pela doença ao redor do mundo. No entanto, a incidência global da doença ainda permanece elevada, e os pacientes continuam enfrentando complicações a longo prazo em relação ao tratamento, principalmente associadas aos efeitos colaterais, resultado das altas doses; a falta de assistência em saúde e a disponibilidade do tratamento. Nesse sentido, as taxas de conclusão do tratamento são insatisfatórias na maioria dos programas de combate à hanseníase, o que levanta preocupações sobre a resistência antimicrobiana. Desse modo, é

essencial continuar a pesquisa em novas tecnologias aplicadas ao tratamento da hanseníase, focando na melhoria da administração de medicamentos, em formulações capazes de contornar o problema da baixa solubilidade associada aos fármacos que compõem a PQT, bem como na redução dos efeitos colaterais, impactando diretamente na adesão dos pacientes (White; Franco-Paredes, 2015).

## 2.5 FÁRMACOS DE BAIXA SOLUBILIDADE E O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICO

### 2.5.1 Fármacos de baixa solubilidade

A solubilidade de uma substância refere-se à quantidade de soluto que pode se dissolver em um solvente até atingir um equilíbrio dinâmico entre a solução e a porção não dissolvida da substância. Quando esse equilíbrio é alcançado, diz-se que a solução está saturada. Em uma solução diluída, a quantidade de soluto é relativamente pequena em comparação ao solvente. Adicionar mais soluto a essa solução resultará em uma solução mais concentrada. No entanto, ambas as soluções podem ser consideradas insaturadas se ainda for possível dissolver mais soluto.

Alterações nas condições da solução, como a temperatura, podem aumentar a solubilidade do soluto. O aquecimento de uma solução proporciona que uma quantidade maior de soluto se dissolva. Se essa solução for posteriormente resfriada até a temperatura inicial sem que o soluto precipite, obteremos uma solução supersaturada, caracterizada por sua instabilidade. Uma solução supersaturada contém uma quantidade de soluto maior do que aquela que normalmente seria possível em condições de saturação, mantendo uma única fase.

Predominantemente, para que um fármaco atinja concentrações adequadas no TGI e seja absorvido, alcançando a biodisponibilidade necessária para desempenhar sua função terapêutica, é preciso que este apresente boa solubilidade e permeabilidade em sistemas aquosos. Entretanto, a alta hidrofobicidade e a baixa solubilidade intrínseca em água são características cada vez mais comuns entre moléculas candidatas à fármacos, o que caracteriza um problema significativo no desenvolvimento de medicamentos, pois pode comprometer a eficácia terapêutica devido à absorção reduzida e variável após a administração oral. Compreender as variáveis que influenciam a solubilidade e a absorção é essencial para superar essas barreiras e garantir que o fármaco atinja seu alvo no organismo de maneira eficaz (Williams *et al.*, 2013).

A aplicação de técnicas combinatórias para gerar grandes bibliotecas químicas e o uso comum de modalidades de triagem do potencial ativo terapêutico de moléculas, muitas vezes em meios não aquosos, ou em meios de solventes mistos, provavelmente desempenharam um papel relevante na tendência hidrofóbica de novos fármacos. O método de “high throughput screening” (do inglês: rastreamento de alto rendimento), por exemplo, é baseado na testagem de novos candidatos solubilizados em soluções de solventes orgânicos como o dimetilsulfóxido (DMSO). A busca por agentes terapêuticos de maior potência, juntamente com o fato de que a ligação ao receptor é mediada, em parte, por interações hidrofóbicas, contribuiu para o aumento de candidatos a fármacos com solubilidade aquosa limitada (Stegemann *et al.*, 2007).

A “regra dos 5” (Lipinski *et al.*, 2012) é um princípio que ajuda a prever a probabilidade de um fármaco ter boa absorção ou permeabilidade. Segundo essa regra, é mais provável que um composto tenha problemas de absorção se atender a um ou mais dos seguintes critérios: (1) mais de 5 doadores de ligações de hidrogênio, (2) mais de 10 aceptores de ligações de hidrogênio, (3) peso molecular superior a 500, e (4) Log P calculado superior a 5. Esses parâmetros são importantes porque influenciam a solubilidade e a capacidade de um fármaco atravessar membranas biológicas. Há, ainda, as medições de solubilidade turbidimétrica, que são significativas no desenvolvimento de fármacos porque fornecem uma maneira de avaliar a solubilidade de compostos em um ambiente de descoberta. Essas medições ajudam a identificar quais compostos têm uma solubilidade adequada para a absorção oral.

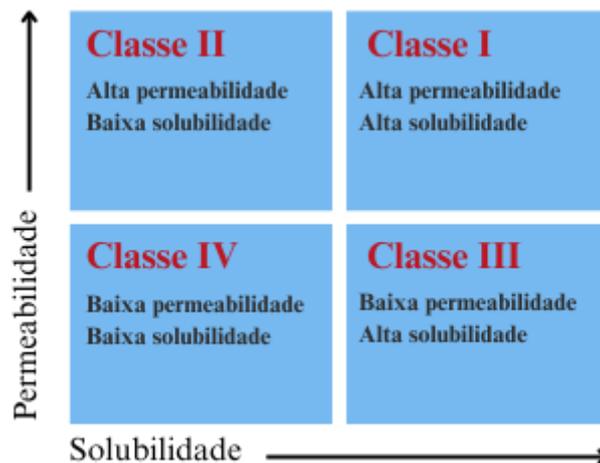
Além da regra do 5 de Lipinski, existem muitos critérios de decisão que são utilizados para identificar problemas na desenvoltura de fármacos e, posteriormente, melhorar suas características físico-químicas. Em todos os casos, porém, a solubilidade moderada em água é geralmente um foco principal. No entanto, apesar dos esforços em química medicinal e estratégias de otimização de candidatos a fármacos cada vez mais sofisticadas, para alguns alvos, reduzir a lipofilia e aumentar a solubilidade em água resultará em uma redução indesejável na potência terapêutica (Williams *et al.*, 2013).

Apesar das tentativas de contornar os problemas de solubilidade, sugere-se que aproximadamente 40% dos medicamentos atualmente comercializados e até 75% dos compostos atualmente em desenvolvimento são pouco solúveis em água (Babu; Nangia, 2011). Portanto, a baixa solubilidade em água continua a ser um desafio para o desenvolvimento bem-sucedido de medicamentos. Diante disso, fica evidente o desafio, cada vez mais recorrente, que a tecnologia farmacêutica tem se deparado com o surgimento de fármacos de alta lipofilia, em busca de estratégias que contornem o problema dos fármacos pouco solúveis em água.

## 2.5.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutico

Para a compreensão da relação entre solubilidade-permeabilidade e absorção oral, Amidon *et al.* (1995) criou o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB), que correlaciona a dissolução *in vitro* de um medicamento e a sua biodisponibilidade *in vivo* baseado na dissolução e na permeabilidade gastrointestinal de um fármaco como parâmetros fundamentais que controlam sua taxa e extensão de absorção. O SCB classifica os fármacos em função de suas propriedades de solubilidade e permeabilidade em 4 categorias diferentes (Figura 7). De acordo com o SCB, os fármacos de Classe I são aqueles que apresentam alta solubilidade e alta permeabilidade; já os compostos de Classe II apresentam baixa solubilidade e alta permeabilidade; os fármacos de Classe III têm alta solubilidade e baixa permeabilidade; e os compostos de Classe IV são aqueles que apresentam baixa solubilidade e baixa permeabilidade.

**Figura 7** – Classes biofarmacêuticas ordenadas pelos critérios de solubilidade e permeabilidade.



**Fonte:** Adaptado de Amidon *et al.* (1995).

A classificação é feita com base na capacidade dos medicamentos de se dissolverem em 250 ml de água em diferentes valores de pH encontrados no TGI (pH 1–6,8). Esta abordagem, ao correlacionar a dissolução do medicamento *in vitro* com sua absorção *in vivo*, proporciona uma base científica para isenções biofarmacêuticas e auxilia no desenvolvimento de formulações mais eficazes (Amidon *et al.*, 1995). O aspecto biofarmacêutico da solubilidade é especialmente importante para os fármacos de Classe II, em que a solubilidade é a principal limitação à absorção. Mesmo medicamentos que apresentam boa solubilidade em determinado valor de pH gastrointestinal podem ser classificados como Classe II se tiverem baixa

solubilidade em outros pontos do pH. Isso ilustra a complexidade do conceito de solubilidade baixa e a necessidade de um entendimento abrangente das propriedades físico-químicas dos medicamentos (Williams *et al.*, 2013).

Além disso, o SCB destaca a importância de considerar a dose do medicamento, pois a quantidade necessária para alcançar uma boa absorção pode variar. Medicamentos de baixa dose, como a digoxina, podem ter boa absorção e biodisponibilidade, mesmo com baixa solubilidade gastrointestinal, enquanto medicamentos de alta dose, como a griseofulvina, frequentemente apresentam absorção baixa e variável devido às limitações de solubilidade. A utilização do SCB tem se mostrado essencial para a identificação precoce de compostos com potencial de absorção problemático, permitindo ajustes necessários nas propriedades físico-químicas durante a fase de otimização de leads.

Dessa forma, o SCB não apenas facilita o desenvolvimento de medicamentos mais eficazes, mas também contribui para a identificação de estratégias terapêuticas mais seguras e eficientes, melhorando a eficácia e a qualidade dos tratamentos disponíveis no mercado (Sigfridsson *et al.*, 2019). Os medicamentos classificados como classe II pelo SBC são, geralmente, os principais alvos da aplicação de métodos de incremento de solubilidade. Isso porque, uma vez que não são limitados pela permeabilidade, tornam-se passíveis de estratégias que visam melhorar a biodisponibilidade oral dessas substâncias.

Muitas estratégias foram propostas para lidar com o problema dos fármacos pouco solúveis, como a formação de sais, complexos de inclusão com ciclodextrinas, nanopartículas lipídicas e dispersões sólidas amorfas. Dentre estas, estratégias baseadas na geração de concentrações superiores à concentração de saturação do fármaco durante a dissolução, como as dispersões sólidas amorfas (DSAs), têm se destacado entre as técnicas de solubilização de fármacos pouco solúveis, justamente pela sua capacidade de formar solução supersaturada do fármaco no TGI, o que melhora a absorção e, conseqüentemente, a biodisponibilidade da via oral (Hancock; Parks, 2000b).

## 2.6 DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS

A utilização de DSAs como método para melhorar a dissolução e a biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água foi pioneiramente explorada por Sekiguchi e Obi em 1961 (Sekiguchi; Obi, 1961). Desde então, esse campo tem sido amplamente estudado, destacando-se os trabalhos de (Sun; Lee, 2015a, 2015b; Xie; Taylor, 2016). As DSAs atuam aumentando a dissolução dos fármacos por meio de mecanismos como a redução do tamanho

das partículas, melhora na umectação e solubilização, e estabilização do fármaco na forma amorfa, mais solúvel.

As DSAs contêm o fármaco na forma amorfa, molecularmente disperso numa matriz predominantemente polimérica, que, na maioria das vezes, apresentam taxas de dissolução mais rápidas do que aquelas com o fármaco na forma cristalina, levando a uma absorção significativamente melhorada. A supersaturação formada após a liberação do fármaco de uma DSA funciona como força motriz para sua absorção no TGI. Um fármaco amorfo pode produzir uma solubilidade cinética transitória durante a dissolução que é maior do que sua solubilidade de equilíbrio cristalino. A vantagem de solubilidade de uma molécula amorfa relacionada com sua contraparte cristalina pode ser descrita como:

$$\frac{C_{S\text{amorfo}}}{C_{S\text{cristalino}}} = e^{\frac{\Delta G}{RT}} \quad (1)$$

onde  $\Delta G$  é a diferença na energia livre de Gibb's entre as duas formas,  $R$  é a constante universal dos gases e  $T$  a temperatura (Alonzo *et al.*, 2010).

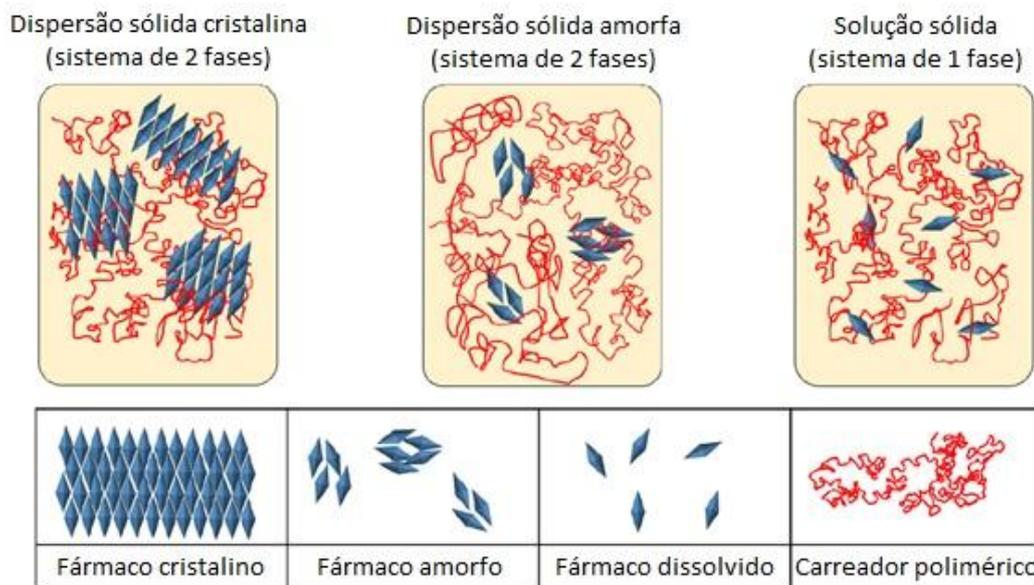
No entanto, devido à instabilidade termodinâmica do fármaco amorfo, existem desafios associados à garantia de estabilidade do produto, uma vez que o estado metastável altamente energético em que as DSAs se encontram favorece a iniciação do processo espontâneo de nucleação e a recristalização do fármaco. Por outro lado, pesquisas na área das DSAs fornecem boas evidências de formulações com melhor dissolução e estabilidade. Especificamente, já existe um entendimento bastante documentado na literatura dos mecanismos pelos quais polímeros de alto peso molecular, como hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e demais derivado de celulose, polivinilpirrolidona (PVP) e metacrilatos, podem reduzir os fatores que promovem a cristalização de fármacos, melhorando assim sua estabilidade física. Esses carreadores poliméricos têm se destacado devido às suas temperaturas de transição vítrea ( $T_g$ ) serem significativamente maiores do que a temperatura ambiente. Isso permite a formação de DSAs vítreas que operam com mobilidade molecular reduzida, o que inibe a nucleação e a recristalização no estado sólido, mas podem produzir supersaturação do fármaco após contato com o meio de dissolução (Serajuddin, 1999).

Esses processos limitam a transformação do fármaco amorfo para a forma cristalina. A eficácia na inibição da cristalização está intimamente ligada às tendências de cristalização do fármaco, às propriedades da formulação e à proporção fármaco-polímero (*drug loading*), uma vez que o aumento da carga do fármaco diminui a quantidade de polímero disponível para

estabilizar o fármaco amorfo. Formulações com altos *drug loadings* podem, ainda, promover a separação de fases dentro da DSA, aumentando a instabilidade do sistema (Liu *et al.*, 2018)

Compreender os aspectos físico-químicos de uma DSA é essencial para alcançar o melhor desempenho desse sistema. A interação entre fármaco e polímero, por exemplo, é crucial para entender os fatores que determinam o sucesso de uma dispersão. Muitos estudos focam em entender e relatar os problemas associados às DSAs, como a carga do fármaco, a estabilidade do sistema e seu desempenho na dissolução. A Figura 8 ilustra os possíveis estados em que uma DSA pode se organizar. Idealmente, uma DSA é um sistema de fase única onde o fármaco está completamente dissolvido na matriz polimérica (solução sólida). Em outro estado possível, o fármaco está disperso em pequenos domínios amorfos dentro do polímero (dispersão sólida amorfa) e, realisticamente, as DSAs frequentemente apresentam uma combinação desses dois estados. No entanto, num cenário indesejável, a dispersão sólida pode apresentar o fármaco disperso em domínios cristalinos, caracterizando uma dispersão cristalina, onde o estado termodinâmico favoreceu a recristalização no estado sólido, resultando em uma perda significativa do desempenho do sistema e sua capacidade de gerar solução supersaturada (Sun; Lee, 2014).

**Figura 8** – Organizações de uma dispersão sólida amorfa.



Fonte: Adaptado de Sun & Lee (2014).

### 2.6.1 Métodos de obtenção de dispersões sólidas amorfas

O processo de obtenção é uma etapa crucial para definir a qualidade de uma DSA, devido à instabilidade físico-química intrínseca do fármaco na forma amorfa, o que pode

comprometer a estabilidade da formulação, especialmente a longo prazo. Diversas técnicas são empregadas na obtenção de DSAs, dentre as quais as mais notáveis incluem a secagem por *spray-drying* (secagem por atomização) e a *hot-melt extrusion* (HME) – extrusão à quente, do inglês. Embora distintas em suas abordagens, todas compartilham o mesmo princípio fundamental de desfazer a estrutura cristalina do fármaco, convertendo-a em um estado sólido amorfo ou uma solução sólida, seja por fusão com aplicação de calor ou por solubilização em um solvente.

A técnica de *spray-drying* é um processo amplamente utilizado na indústria para obter materiais sólidos a partir de líquidos. Este método envolve o bombeamento de uma solução, tipicamente uma combinação de polímero e fármaco dissolvidos em solvente orgânico, para um atomizador dentro de uma câmara de secagem. O líquido atomizado, quando exposto ao ar de secagem em altas temperaturas, forma uma pluma de pequenas gotículas, evaporando praticamente todo o solvente. No contexto da obtenção de DSAs, pode ocorrer a formação de um gel na parte externa das gotículas devido às propriedades filmogênicas de alguns polímeros comumente utilizados. Esse gel aprisiona o fármaco em sua forma amorfa na matriz polimérica, resultando em uma DSA fisicamente estável. Este método é eficaz para garantir a estabilidade do fármaco na forma amorfa, promovendo, assim, a sua eficácia terapêutica e biodisponibilidade.

Entre as principais vantagens do método de *spray-drying*, a evaporação rápida do solvente e a obtenção de partículas amorfas em menor tempo é uma das vantagens que mais se destaca. A técnica também possibilita o controle da morfologia das partículas, resultando em formas esféricas que podem melhorar o fluxo e a manipulação do pó. Outra vantagem é a versatilidade do método, que pode ser aplicado a uma ampla gama de fármacos e excipientes, permitindo a formulação de dispersões sólidas ternárias e quaternárias. Por outro lado, o *spray-drying* apresenta desvantagens, como necessidade de uma segunda secagem para remover solventes residuais, aumentando o tempo e os custos do processo. Uma secagem mais eficiente é possível em temperaturas elevadas (Chiou; Riegelman, 1969), mas o aumento da temperatura também aumenta a mobilidade molecular e, portanto, a probabilidade de transições do estado amorfo para o cristalino. Alguns solventes são mais fáceis de remover do que outros, no entanto, a escolha do solvente é amplamente determinada pela carga de toxicidade e pela capacidade de dissolver tanto o fármaco quanto o polímero, em vez da pressão de vaporização.

Outro desafio relevante é o escalonamento do processo, que pode enfrentar dificuldades ao ser transferido de laboratório para produção em larga escala. Alterações na configuração e nas dimensões do equipamento podem afetar a trajetória das gotas, a taxa de evaporação e o

tempo de secagem, impactando as características do produto, como o tamanho das partículas e o conteúdo de solvente residual (Singh; Van Den Mooter, 2016).

Nesse sentido, considerando a complexidade do processo e a interação de múltiplos parâmetros de formulação e processamento, torna-se necessário um extenso conjunto de experimentos para otimizar as condições de produção e garantir a homogeneidade da dispersão sólida. Essas desvantagens adicionais ressaltam a necessidade de uma abordagem cuidadosa e bem planejada ao utilizar o *spray-dryer* para a produção de DSAs, considerando tanto os desafios técnicos quanto as características dos materiais envolvidos (Singh; Van Den Mooter, 2016).

A técnica de HME tem se destacado entre os métodos estudados para a obtenção de DSAs mais estáveis, apresentando uma abordagem eficiente e rápida em termos de produção em escala (Alzahrani *et al.*, 2022). Este método oferece vantagens significativas, como a ausência do uso de solventes e a facilidade de aplicação em nível industrial. A extrusão a quente envolve a mistura de um fármaco com um ou mais excipientes, geralmente polímeros, que se fundem solubilizando o fármaco no polímero. A massa fundida é extrudada e resfriada, resultando em um material sólido (Censi *et al.*, 2018).

Entre as vantagens da técnica, destaca-se a eficiência do processo, que é realizado sem o uso de solventes, reduzindo o número de etapas unitárias em comparação com técnicas que solubilizam o fármaco previamente em solução orgânica. Além disso, o HME permite a obtenção de formulações com altos *drug loadings* e perfis de liberação desejados, resultando em boa uniformidade de conteúdo, mesmo para baixas cargas de fármaco. Outro ponto positivo é a capacidade do HME de converter o fármaco na sua forma amorfa ou dispersá-lo em partículas muito pequenas, o que pode levar a uma melhor biodisponibilidade e menor variabilidade na concentração plasmática *in vivo*. O processo também é contínuo e escalável, permitindo o monitoramento da qualidade do produto em tempo real, e possibilita a produção de diversas formas farmacêuticas, como comprimidos, grânulos e filmes (Agrawal; Dudhedia; Zimny, 2016; Bhujbal *et al.*, 2021a).

Entre as desvantagens associadas ao método, a seleção de excipientes e a otimização das condições de extrusão podem ser complexas, exigindo um entendimento profundo das interações entre o fármaco e os polímeros utilizados. Isso porque a escolha de polímeros adequados é crucial, visto que diferentes polímeros podem apresentar diferentes tendências de cristalização e estabilidade. Por fim, a necessidade de realizar testes extensivos de estabilidade e dissolução para garantir a eficácia e segurança das formulações pode aumentar o tempo e o

custo de desenvolvimento. Essas considerações são fundamentais para a avaliação da viabilidade do uso do HME na formulação de DSAs (Agrawal; Dudhedia; Zimny, 2016).

Além dos métodos de *spray-drying* e HME mencionados, existem os métodos mais simples executáveis à nível de bancada laboratorial, como o método de *solvente-cast* (evaporação de solventes, do inglês). Este se destaca como uma abordagem mais econômica, baseada na secagem de solventes em uma estufa de circulação de ar. Esse método é especialmente útil para a obtenção de quantidades menores de DSAs, em nível laboratorial. No entanto, apresenta desvantagens, como a lentidão do processo, a perda de massa durante as etapas da obtenção e menor estabilidade do sistema. A técnica consiste em dissolver o fármaco e o polímero em um solvente orgânico até formar uma mistura homogênea, que é, então, secada lentamente em uma estufa de circulação de ar por 24 horas até se obter um filme fino e translúcido. O pó resultante é obtido pela trituração do filme, com o tamanho das partículas sendo determinado por tamisação. Quando o polímero utilizado é insolúvel em solventes orgânicos, a técnica pode ser adaptada para o método de *swelling-sorption* (do inglês, inchaço-sorção), onde uma solução concentrada do fármaco é preparada e o polímero é disperso nessa solução. A mistura é agitada magneticamente durante três dias para alcançar o equilíbrio, seguida de filtração, secagem em papel filtro e, finalmente, secagem em estufa de circulação de ar por mais três dias. O pó de DSA é então obtido por trituração e tamisação.

Além desse, o método de fusão (*quench-cooling*) também é executável a nível de bancada laboratorial. Este método é também econômico e simples, sendo amplamente utilizado para a obtenção das DSAs. Essa técnica consiste em aquecer a mistura do fármaco e do polímero até que ambos atinjam o estado fundido e se tornem uma mistura homogênea. Em seguida, essa mistura fundida é rapidamente resfriada, através de placas metálicas resfriadas ou um banho de gelo. O material solidificado é então triturado em pó, e o tamanho das partículas pode ser uniformizado por tamisação. Esse método é particularmente útil quando se deseja evitar o uso de solventes orgânicos. A rápida solidificação obtida no método de fusão pode contribuir para uma maior homogeneidade e estabilidade do sistema, no entanto, é crucial monitorar a temperatura para evitar a degradação dos componentes sensíveis ao calor (CENSI et al., 2018).

Na última década, houve um aumento relevante de produtos baseados em DSAs comercialmente disponíveis. A Tabela 2 resume alguns produtos farmacêuticos aprovados pelo *Food and Drug Administration* (FDA) dos EUA, entre 2016 e 2020, baseados em DSAs. Atualmente, existem vários métodos disponíveis, cada um com suas vantagens e limitações (Bhujbal et al., 2021a).

**Tabela 2** – Exemplos de produtos baseados em DSAs aprovados pelo FDA.

Nome comercial	Substância química	Método de obtenção	Fabricante	Ano de aprovação
Venclexta®	Venetoclax	Extrusão	AbbVie	2016
Zepatier®	Elbasvir + Grazoprevir	<i>Spray drying</i>	Merck	2016
Mavyret™	Pibrentasvir + Glecaprevir	Extrusão	AbbVie	2017
Lynparza®	Olaparibe	Extrusão	AstraZeneca	2018
Orilissa®	Elagolix	Granulação	AbbVie	2018
Erleada®	Apalutamida	<i>Spray drying</i>	Janssen	2018
Trikafta®	Elexacaftor + Ivacaftor + Tezacaftor	<i>Spray drying</i>	Vertex	2019
Symdeko®	Tezacaftor + Ivacaftor	<i>Spray drying</i>	Vertex	2019
Braftovi®	Encorafenib	Extrusão	Pfizer	2020
Oriahnn™	Elagolix + Estradiol + Acetato de Noretindrona	Extrusão	AbbVie	2020

Fonte: Adaptado de Bhujbal *et al.* (2021).

### 2.6.2 Ensaio de dissolução de dispersões sólidas amorfas: a condição *non-sink*

O sucesso de uma dispersão sólida é determinado pelo seu desempenho na dissolução após administração oral. Portanto, o ensaio de dissolução *in vitro* é essencial para analisar a eficiência das DSAs. Este teste, amplamente utilizado pela indústria farmacêutica, assegura a qualidade e eficácia da maioria das formas farmacêuticas orais sólidas convencionais, medindo a quantidade de substância ativa em solução em um intervalo de tempo específico. A maioria dos ensaios de dissolução é realizada sob condição *sink*, que se caracteriza por ter um volume de meio de dissolução pelo menos três vezes maior do que o necessário para formar uma solução saturada (United States Pharmacopeia, 2023), garantindo que a taxa de dissolução do fármaco não seja influenciada pela sua concentração de saturação ( $C_s$ ).

No entanto, para formulações não-convencionais, como as estratégias de solubilização de fármaco baseados na geração de supersaturação, o ensaio de dissolução *in vitro* sob condição

*sink* pode não proporcionar uma avaliação adequada do desempenho do sistema. Isso ocorre porque formulações supersaturadas, como as DSAs, tendem a gerar concentrações significativamente mais altas do fármaco no TGI, afastando-se do conceito de condição *sink*. Para avaliar o desempenho das DSAs, é necessário um ensaio de dissolução que simule o comportamento do fármaco no meio gastrointestinal, com um volume viável para produzir a supersaturação, facilitando a passagem do fármaco através das membranas biológicas. Assim, a dissolução deve ser conduzida sob condição *non-sink*, em que a concentração do meio de dissolução deve ser maior que a  $C_s$  do fármaco, resultando não mais em um perfil de taxa de dissolução, mas em um perfil de solubilidade cinética (PSC). Isso permite avaliar a capacidade dos sistemas de produzir supersaturação e investigar a recristalização (Schver; Lee, 2021).

Para caracterizar o grau de distância das condições *sink*, um *sink index* (SI) adimensional foi proposto por (Sun; Ju; Lee, 2012), de acordo com a Equação 2:

$$SI = \frac{C_s \times V}{dose} \quad (2)$$

onde  $C_s$  é a solubilidade de equilíbrio do fármaco cristalino no meio de dissolução específico,  $V$  é o volume do meio de dissolução e “dose” o total de fármaco na amostra do teste. De forma resumida, um valor de SI igual a 10 representa a condição *sink* ideal, onde a dose produz uma concentração pelo menos 10 vezes abaixo da  $C_s$  do fármaco. Da mesma forma, um SI menor que 1 representa uma condição em que a supersaturação é possível, caracterizando a condição *nonsink* (Sun; Ju; Lee, 2012).

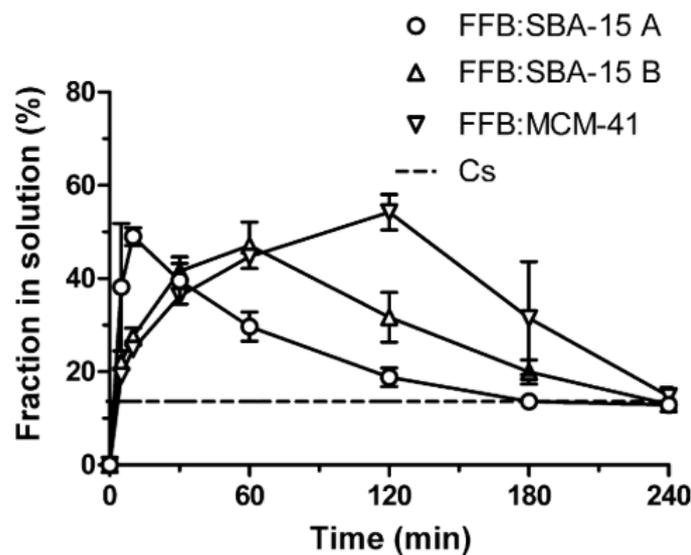
Frequentemente, o teste de dissolução *in vitro* de fármacos amorfos gerou o equívoco de que uma maior taxa de dissolução resultaria em maior absorção e biodisponibilidade. Contudo, em condições de *sink* ideais, a concentração teórica máxima (ou seja, a concentração atingida se 100% do fármaco for liberado) do perfil de dissolução será significativamente inferior à  $C_s$  do fármaco. Nessa situação, a verdadeira vantagem das DSAs não é plenamente aproveitada quando as condições *sink* são mantidas, visto que não houve geração de supersaturação e, portanto, nenhuma informação sobre a supersaturação e solubilidade cinética é fornecida.

Contudo, quando submetidas a condições de dissolução *non-sink*, onde a dose de fármaco excede sua  $C_s$  teórica, é possível simular o ambiente do TGI. Nessas condições, o estado de supersaturação em relação à  $C_s$  da forma cristalina pode ser alcançado. Essa supersaturação transitória não é, por sua vez, transitória devido aos processos de nucleação e

recristalização, resultando em uma diminuição das concentrações de fármaco ao longo do tempo. Assim, um teste de dissolução *non-sink* para uma DSA contendo revela um perfil de solubilidade cinética (PSC), demonstrando a evolução da supersaturação ao longo do tempo.

Um estudo realizado por Van Speybroeck em 2010 relatou que uma formulação, que apresentava uma liberação *in vitro* rápida do fármaco fenofibrato, resultou em um desempenho *in vivo* inferior em comparação com outras formulações que liberaram o fármaco de maneira mais controlada. Essa diferença sugere que a duração e a estabilidade da supersaturação no meio intestinal são fatores críticos para a absorção eficaz do fármaco. A Figura 9 ilustra o PSC do fármaco liberado a partir dos sistemas de sílica mesoporosa contendo fenofibrato, conforme observado por Van Speybroeck *et al.* (2010). A figura evidencia as diferenças nos perfis de dissolução gerados. Quando as concentrações ultrapassam a barreira termodinâmica da  $C_s$  do fenofibrato cristalino, ocorre a supersaturação. À medida que a supersaturação atinge o nível crítico, a nucleação e recristalização são ativadas, resultando na queda subsequente da concentração do fármaco (Van Speybroeck *et al.*, 2010). Adicionalmente, observa-se que uma menor taxa de acúmulo de supersaturação de fenofibrato resulta em uma supersaturação mais elevada e sustentada. Isso se deve ao fato de que tanto a taxa de geração de supersaturação quanto a sua extensão são fatores determinantes para a duração da supersaturação gerada, maximizando os benefícios do sistema amorfo (Danda *et al.*, 2023; Han; Lee, 2017; Sun; Lee, 2013, 2015a).

**Figura 9** – Perfis de dissolução de fenofibrato, sob condição *non-sink*, liberado de sílica mesoporosa ordenada insolúvel com tamanhos de partículas decrescentes (FFB:SBA-15 A < FFB:SBA-15 B < FFB:MCM-41).

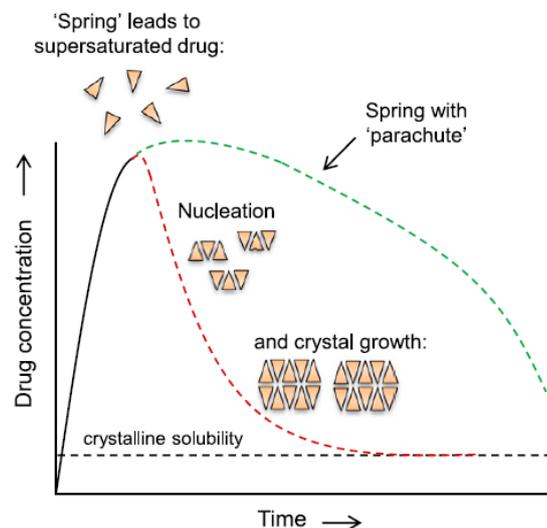


Fonte: Extraído de Van Speybroeck *et al.* (2010).

### 2.6.3 Perfis de solubilidade cinética de dispersões sólidas amorfas

A seleção do polímero adequado para o preparo de uma DSA é crucial para o sucesso do sistema. A escolha criteriosa do polímero pode otimizar a performance da DSA e resultar em um PSC capaz de manter a supersaturação e retardar a recristalização do fármaco. A liberação de fármacos a partir de DSAs baseadas em polímeros hidrossolúveis é mediada pelo mecanismo de dissolução do carreador (Sun; Lee, 2015b). Nesse processo, o polímero se dissolve e libera o fármaco imediatamente no meio. Sob condições *non-sink*, essa liberação instantânea pode provocar uma rápida solubilização seguida de uma recristalização igualmente rápida do fármaco. Outro cenário possível, é a obtenção de um PSC conhecido como *spring and parachute*, do inglês “mola e paraquedas” (Figura 10), em que ocorre a liberação imediata do fármaco seguida de uma sustentação da supersaturação, ou seja, o processo de recristalização é retardado.

**Figura 10** – Geração de supersaturação via dissolução de fármaco amorfo, a partir de dispersão sólida, ao longo do tempo. A linha preta sólida representa a rápida dissolução e supersaturação. A linha vermelha tracejada indica a rápida queda na concentração devido à nucleação e crescimento de cristais. O "paraquedas" é ilustrado pela linha verde tracejada, mostrando períodos de supersaturação mais longos com nucleação/crescimento de cristais mais lentos.



**Fonte:** Extraído de Williams *et al.* (2013).

Geralmente, este perfil de caráter mais sustentado depende de fatores associados às características do polímero, como o peso molecular, para manter o estado de supersaturação. Entretanto, sistemas baseados em polímeros que não apresentam esta característica tendem a apresentar diminuições abruptas nas concentrações atingidas, afetando os benefícios das DSAs. Esforços têm sido concentrados na necessidade de otimizar a liberação dos fármacos no meio de dissolução a partir dos polímeros. Idealmente, a partir de um polímero inibidor da recristalização, capaz de gerar um perfil que apresente uma boa geração de supersaturação bem como a sua sustentação por tempo suficiente à absorção do princípio ativo.

Portanto, polímeros insolúveis, como o hidroxipropilcelulose de baixa substituição (L-HPC), poli 2-hidróxietilmetacrilato (PHEMA) e o PVP reticulado (cPVP), vêm sendo investigados como carreadores para DSAs. Diferente dos polímeros solúveis, os carreadores insolúveis liberam o fármaco lentamente por um mecanismo de difusão controlada. Estes sistemas possuem a capacidade de evitar a rápida taxa de geração de supersaturação através da difusão controlada por fatores como o inchaço e tamanho de partícula do carreador (Schver; Nadvorny; Lee, 2020). No entanto, a velocidade e amplitude de liberação destes sistemas podem não alcançar níveis de concentração suficientes do ponto de vista biofarmacêutico, levando em consideração o tempo de trânsito no TGI (Butler; Dressman, 2010).

Geralmente, a eficácia deste perfil depende de fatores como o peso molecular do polímero, que influencia a capacidade de manter a supersaturação de forma sustentada. Polímeros com características inadequadas tendem a provocar quedas abruptas nas concentrações alcançadas, comprometendo os benefícios das DSAs na melhoria da solubilidade de fármacos pouco solúveis (Sun; Lee, 2015d). Portanto, a seleção rigorosa de polímeros não apenas assegura a manutenção da supersaturação, mas também otimiza o PSC, garantindo uma liberação mais controlada e eficaz do fármaco (Schram; Taylor; Beaudoin, 2015).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

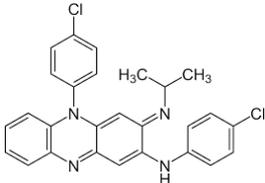
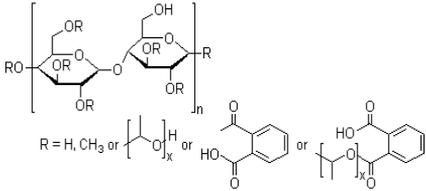
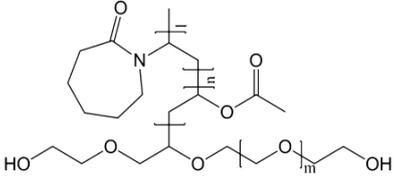
#### 3.1 MATERIAIS

Hydroxypropyl methylcellulose phthalate (HPMCP) grau 55 foi adquirida da Shin-Etsu Chemical Co (Tóquio, Japão). Soluplus® (SLP) foi adquirido da BASF. Clofazimina (99,5%, polimorfo I) foi adquirida da Macleods Pharmaceuticals (Mumbai, Índia). Todos os outros reagentes foram de grau analítico e usados assim que recebidos.

#### 3.2 SELEÇÃO DOS FÁRMACOS E POLÍMEROS UTILIZADOS

A Tabela 4 sumariza as estruturas moleculares e importantes características físico-químicas dos materiais selecionados para o estudo.

**Tabela 3** – Propriedades físico-químicas dos materiais empregados no estudo.

Molécula	Estrutura química	Solubilidade em água	Peso molecular
Clofazimina		Praticamente insolúvel (pKa = 8,51)	473,39 g/mol
HPMCP-55		Solúvel em valores de pH acima de 5,5	84.000
Soluplus®		Solúvel	90.000 - 140.000

Fonte: A autora (2024).

### 3.2.1 Clofazimina

Entre os fármacos utilizados na PQT da hanseníase, a CLF é o que apresenta a solubilidade mais crítica. Isso porque, apesar de Classe II no SBC, o efeito terapêutico da RIF e da DAP não são tão comprometidos pela sua baixa solubilidade aquosa como a CLF. Para mencionar, a solubilidade aquosa reportada de RIF e DAP é de, aproximadamente, 1300 e 193  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, enquanto a de CLF é de cerca de 0,1  $\mu\text{g/mL}$ . No caso da CLF, isso é particularmente preocupante em tratamentos que exigem níveis plasmáticos consistentes e eficazes para garantir a eficácia do tratamento. A formação de DSAs de CLF, bem como seu PSC, ainda é pouco explorada na literatura, deixando lacunas como: (1) quais características um polímero deve possuir para formar DSAs com CLF? (2) qual método de obtenção é mais adequado? (3) qual o PSC da CLF liberada de matrizes poliméricas com diferentes *drug loadings*?

A partir de uma busca nas principais bases de dados como Web of Science, PubMed e Scopus, com os termos “*clofazimine AND amorphous solid dispersion OR solid dispersion OR amorphous*”, revelou-se, após aplicados critérios de inclusão e exclusão, apenas 7 artigos de DSAs com CLF. A Tabela 3 resume os trabalhos encontrados.

**Tabela 4** – Análise das lacunas científicas de trabalhos envolvendo dispersões sólidas amorfas de clofazimina disponíveis na literatura.

Título	Autor e ano de publicação	Objetivo	Lacunas do trabalho
Improved Aqueous Dissolution of Clofazimine from Coevaporates Using Polyvinylmethyl Ether Maleic-Anhydride Copolymer.	Krishnan <i>et al.</i> , 1991	Demonstrar a eficácia da DSA de CLF e copolímero de éter de polivinilmetil-anidrido-maleico (GAN-119) na melhoria da dissolução do medicamento e investigar as propriedades de liberação e estabilidade da formulação.	O estudo não determinou a solubilidade da CLF nos meios de dissolução. O estudo foi realizado sob condição <i>sink</i> e, portanto, o PSC do fármaco não foi evidenciado.
Wettability study of clofazimine and poly(vinyl methyl ether/maleic anhydride) copolymer coevaporates	Krishnan <i>et al.</i> , 1992	Obter insights sobre o mecanismo de aumento da dissolução da CLF a partir do copolímero PVM/MA, através da monitoração da molhabilidade dos coevaporados por meio da medição do ângulo de contato.	O estudo não determinou a solubilidade da CLF nos meios de dissolução. O estudo foi realizado sob condição <i>sink</i> e, portanto, o PSC do fármaco não foi evidenciado.

Título	Autor e ano de publicação	Objetivo	Lacunas do trabalho
Comparative Bioavailability of Clofazimine Coevaporate in The Pig	Krishnan <i>et al.</i> , 1994	Avaliar a bioequivalência relativa e a biodisponibilidade sistêmica do coevaporado de CLF em comparação com o produto comercial Lamprene® em porcos para potencial aplicação clínica.	O estudo não incluiu ensaios de solubilidade nem de dissolução <i>in vitro</i> . A avaliação da dissolução poderia fornecer informações adicionais sobre a liberação do fármaco e sua possível relação com a absorção sistêmica <i>in vivo</i> .
Evaluation of solid dispersions of Clofazimine	Narang <i>et al.</i> , 2002	Comparar o desempenho de dissolução da CLF em DSAs com PEG e PVP de diferentes pesos moleculares e proporções de fármaco:carreador.	Apesar de demonstrar alguns avanços na análise de DSAs de CLF, o estudo afirma ter conduzido os ensaios de dissolução sob condição <i>sink</i> .
Investigating the Interaction Pattern and Structural Elements of a Drug-Polymer Complex at the Molecular Level	Nie <i>et al.</i> , 2015	Revelar o padrão crítico de interação entre fármaco-polímero, utilizando HPMCP, HPMC e PVP/VA, a fim de elucidar os mecanismos subjacentes envolvidos na formação de complexos entre as duas partes.	O estudo não realizou ensaio de dissolução dos sistemas obtidos, apesar de elucidar a importância de grupos funcionais poliméricos
Solid-State Spectroscopic Investigation of Molecular Interactions between Clofazimine and Hypromellose Phthalate in Amorphous Solid Dispersions	Nie <i>et al.</i> , 2016	O objetivo do trabalho foi investigar os padrões de interação em estado sólido entre a CLF e o HPMCP em DSAs.	O estudo se concentrou principalmente nas interações moleculares e na caracterização estrutural das DSAs de CLF-HPMCP, sem abordar ensaios de dissolução. Apesar da contribuição, além de compreender os pontos críticos para a estabilidade física do sistema, é de igual importância entender o comportamento do sistema durante a liberação.
Amorphous Drug-Polymer Salt with High Stability under Tropical Conditions and Fast Dissolution: The Case of Clofazimine and Poly(acrylic acid)	Gui <i>et al.</i> , 2021	Investigar a estabilidade e as propriedades de dissolução de sais de fármacos amorfos com polímeros, com foco na formação de sais de CLF com ácido poli(acrílico) (PAA).	Apesar de apresentar avanços significativos na formulação de sais de fármaco-polímero amorfos, podem ser identificadas para futuras investigações que poderiam enriquecer o entendimento das DSAs de CLF, como a realização de estudos de longo prazo de estabilidade e uma análise mais aprofundada das interações moleculares entre fármaco e polímero.

Fonte: Dados da pesquisa (2024).

### 3.2.2 HPMCP

Neste estudo, o polímero HPMCP-55 – um polímero amorfo, não-poroso, derivado da celulose e comumente utilizado em aplicações farmacêuticas, principalmente como agente de revestimento e em formulações de liberação sustentada – foi escolhido para investigar seu potencial de amorfização da CLF, bem como os PSC gerados a partir da liberação do fármaco desta matriz polimérica. O HPMCP-55 apresenta solubilidade em solventes orgânicos, como o metanol, e é parcialmente solúvel em mistura de etanol/água (8:2). Em meios exclusivamente aquosos, sua solubilidade depende do pH, sendo solúvel em valores de pH acima de 5,5. O HPMCP melhora a solubilidade dos fármacos ao estabilizar sua estrutura amorfa em DSAs, resultando em uma taxa de dissolução superior em comparação com formas cristalinas. Outro aspecto importante do HPMCP é sua capacidade de controlar a liberação do fármaco (Albadarin *et al.*, 2017; Lu *et al.*, 2019; Nie *et al.*, 2015, 2016).

A escolha do HPMCP (hipromelose ftalato) como carreador da CLF neste estudo pode ser justificada por algumas razões. Primeiramente, o HPMCP apresenta características químicas que permitem a formação de interações fortes com o fármaco, como a presença de grupos funcionais que podem participar de ligações iônicas e de hidrogênio. Essas interações são cruciais para melhorar a capacidade de carga do fármaco e a estabilidade física da DSA. Além disso, o estudo de Nie *et al.*, (2015) demonstrou que a CLF forma complexos mais estáveis com o HPMCP devido à forte associação entre a CLF e o grupo carboxílico do HPMCP. Essa associação resulta em uma mobilidade molecular reduzida da CLF, o que contribui para uma menor tendência à cristalização durante o armazenamento. A pesquisa utilizou métodos espectroscópicos e cálculos de química quântica para investigar as interações moleculares, confirmando que as interações iônicas são a força dominante no complexo CLF-HPMCP, o que reforça a escolha do HPMCP como carreador eficaz para a CLF.

### 3.2.3 Soluplus

O SLP, um copolímero de policaprolactama–acetato de polivinila–polietilenoglicol, foi escolhido para investigar seu potencial de amorfização da CLF e os PSCs gerados a partir da liberação do fármaco dessa matriz polimérica. O SLP apresenta uma estrutura anfifílica que permite atuar como um polímero de matriz para soluções sólidas e como um agente solubilizante em meios aquosos. É solúvel em água e em vários solventes orgânicos, como acetona (até 50%), metanol (até 45%), etanol (até 25%) e dimetilformamida (até 50%). Além

disso, o polímero possui importantes características para o uso em processos que envolvem a aplicação de temperatura, como a fusão e o HME.

Devido ao seu caráter parcialmente lipofílico, o SLP permite aumentar a solubilização do fármaco em meios aquosos. A escolha do SLP como carreador da CLF neste estudo é justificada pela necessidade de investigar uma alternativa polimérica que, apesar de apresentar diferentes mecanismos de estabilização, possa oferecer um perfil de solubilidade cinética otimizado para a administração oral do fármaco.

### 3.3 OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS

Dois métodos de obtenção de DSAs de CLF com HPMCP ou SLP foram testados neste trabalho, os quais serão descritos a seguir. A Tabela 5 descreve as quantidades de cada insumo utilizados na obtenção dos sistemas, em ambos os métodos.

**Tabela 5** – Descrição da obtenção das dispersões.

Polímero	<i>Drug Loading</i> (%)	Clofazimina (mg)	Polímero (mg)	Total (mg)
HPMCP	10	500	4500	
HPMCP	20	1000	4000	
HPMCP	30	1500	3500	
HPMCP	40	2000	3000	
HPMCP	50	2500	2500	
HPMCP	60	3000	2000	
HPMCP	70	3500	1500	5000
HPMCP	80	4000	1000	
Soluplus	10	500	4500	
Soluplus	20	1000	4000	
Soluplus	30	1500	3500	
Soluplus	40	2000	3000	
Soluplus	50	2500	2500	

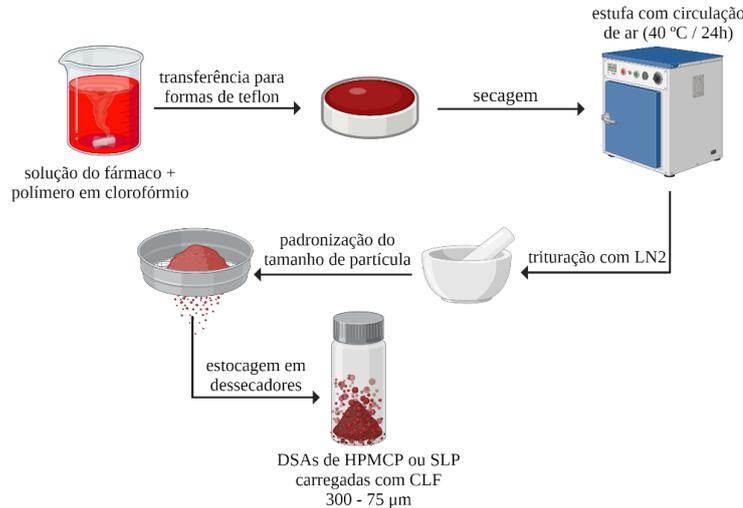
**Fonte:** Dados da pesquisa (2024).

#### 3.3.1 Método de evaporação de solventes

As DSAs à base de HPMCP ou SLP contendo 10 a 80% de CLF foram preparadas dissolvendo completamente as quantidades de fármaco e polímero correspondentes a cada *drug loading* em clorofórmio até formar uma solução perfeitamente homogênea. A escolha do clorofórmio foi baseada no estudo de solubilidade em solventes orgânicos discutida na Seção

4.5. Em seguida, as soluções foram levadas ao banho de ultrassom por 10 minutos para, logo após, serem distribuídas em formas de teflon.

**Figura 11** – Procedimento de evaporação de solventes para o preparo de dispersões sólidas amorfas de SLP ou HPMCP carregadas com clofazimina.



**Fonte:** A autora (2024).

### 3.3.2 Método *quench-cooling*

As DSAs à base de HPMCP contendo 10 a 80% de CLF foram preparadas adicionando 2 mL de etanol às misturas de fármaco e polímero. A mistura foi agitada vigorosamente a 75 - 80°C, utilizando uma chapa aquecedora, acoplada à termômetro e, em seguida, resfriada imediatamente em banho de gelo. Durante a reação, a cor da fase sólida na mistura mudou de vermelho (cor dos cristais de CLF) para preto. O produto sólido foi lavado duas vezes com etanol em papel-filtro, e seco em estufa de renovação de ar a 40°C por 24 horas. Um resumo ilustrativo do procedimento de obtenção pelo método *quench-cooling* pode ser visualizado na Figura 12.

A obtenção das DSAs de SLP contendo 10 a 80% de CLF foram preparadas de maneira semelhante, porém sem a adição de etanol à mistura, uma vez que o SLP é um polímero de aplicação direta na fusão. A mudança de cor de vermelho para preto não é observada na obtenção de DSA com SLP.

**Figura 12** – Procedimento de obtenção de dispersões sólidas amorfas de HPMCP e clofazimina pelo método *quench-cooling*.



Fonte: A autora (2024).

Os produtos foram triturados em gral e pistilo de porcelana com auxílio de pequenas quantidades de nitrogênio líquido e as massas obtidas foram padronizadas para 300-75 µm de tamanho de partícula. Os sistemas foram armazenados em dessecador para caracterização.

### 3.4 CARACTERIZAÇÕES DO ESTADO SÓLIDO

#### 3.4.1 Microscopia de luz polarizada

Imagens de microscopia de luz polarizada foram obtidas adicionando uma pequena quantidade da DSA na lâmina de vidro e alinhando os polarizadores para identificar as propriedades birrefringentes das amostras (microscópio Nikon Alphaphot 2 YS2 adaptado com filtros polarizadores). Imagens das áreas de interesse foram capturadas utilizando uma câmera acoplada ao microscópio com aumento de 100 vezes. A microscopia de luz polarizada foi empregada apenas para a análise dos sistemas obtidos por evaporação de solventes, pois formam um filme ao final da secagem, aplicável à técnica. As DSAs obtidas pelo método *quench-cooling* não formam filme ao final da obtenção e, portanto, não se aplicam à técnica.

#### 3.4.2 Difratomia de Raios-X

Análises de difração de raios-X (PXRD) foram realizadas em um difratômetro de Raios-X (Lab XRD-6100, Shimadzu, Tóquio, Japão) equipado com ânodo de cobre. As amostras foram preparadas em suportes de alumínio com uma fina camada de material em pó livre de solvente e foram analisadas na faixa entre 5–40° 2 $\theta$  (graus) a uma velocidade de varredura de 0,02° por segundo.

### 3.4.3 Espectroscopia do Infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de infravermelho na região média com transformada de Fourier (FTIR) foram obtidos em um espectrômetro de infravermelho (Espectro Shimadzu, IRXcross, Tóquio, Japão) em módulo ATR. As análises consistiram na média de 45 varreduras realizadas no intervalo de 4000-600 cm<sup>-1</sup>. Foi suprimida a banda de CO<sub>2</sub> e os gráficos foram normalizados.

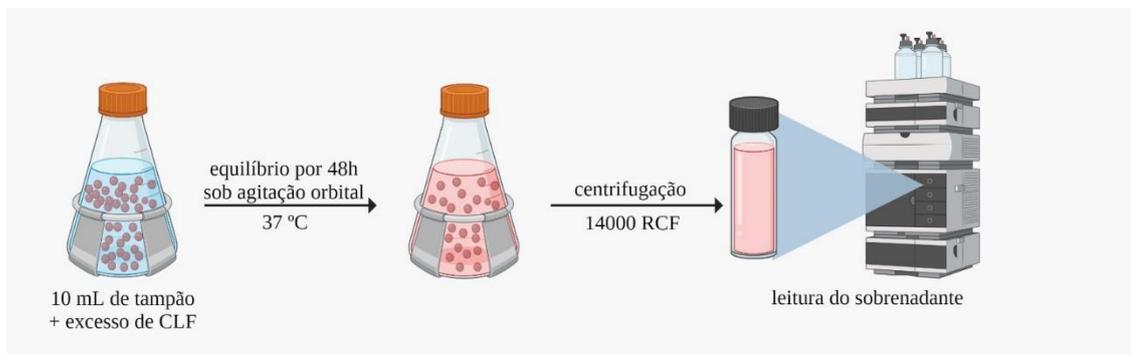
## 3.5 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE EM EQUILÍBRIO

Neste trabalho, a solubilidade da CLF foi determinada em diversos meios aquosos para eleger os meios dos ensaios de dissolução do estudo. Inicialmente, os meios testados foram: (a) tampão ácido clorídrico pH 1,2 50 mM, (b) tampão acetato pH 4,5 50 mM e (c) tampão fosfato pH 6,8 50 mM. Posteriormente, foram testados: (d) tampão ácido clorídrico pH 1,2 50 mM + laurilsulfato de sódio (LSS) 0,1% (m/m) e (e) tampão fosfato pH 6,8 50 mM + LSS 0,1% (m/m).

A solubilidade de CLF foi determinada através do método *shake-flask*, segundo recomendações da USP (United States Pharmacopeia, 2023), pela medida da concentração de saturação ( $C_s$ ) em cada meio. Para tal, frascos de centrifugação foram preenchidos com 10 mL de cada meio e, em seguida, saturados com matéria-prima de CLF até a formação de corpo-de-fundo (n=6). As soluções foram agitadas em um agitador orbital a 150 RPM, com temperatura controlada de 37 °C, durante 24 h. Os frascos foram posicionados de forma a favorecer a homogeneização do conteúdo. A Figura 13 ilustra o processo.

Após o período, os frascos foram retirados e uma alíquota de 1 mL de cada foi centrifugada a 14000 RCF por 10 minutos. Uma alíquota de 500  $\mu$ L do sobrenadante foi cuidadosamente retirada e centrifugada novamente a 14000 RCF por 10 minutos. As soluções finais foram diluídas em uma mistura de metanol e tampão formiato de amônio pH 3 25 mM (70:30 v/v) e quantificadas por cromatografia líquida de alta eficiência, conforme descrito na Seção 4.6. Medidas de pH foram realizadas antes e depois do experimento, onde verificou-se que não houve alteração de pH na faixa de +/- 0,1.

**Figura 13** – Esquema de determinação da solubilidade da CLF através do método *shake-flask*.



**Fonte:** A autora (2024).

Ensaio de solubilidade de CLF em solventes orgânicos também foram realizados com o objetivo de selecionar o melhor solvente para obtenção de DSAs pelo método de evaporação de solventes, conforme descrito na Seção 4.3.1. A determinação da  $C_s$  de CLF em acetona, acetonitrila, clorofórmio, diclorometano, dimetilsulfóxido, etanol, hexano, isopropanol e metanol foi realizada conforme descrito anteriormente para os tampões aquosos, com exceção da temperatura que foi ambiente (25 °C).

### 3.5.1 Determinação de clofazimina por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo diodos

Um cromatógrafo líquido de alta eficiência modelo 2050C 3D, marca Shimadzu (Kyoto, Japão), foi utilizado para determinação de CLF por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a detector de arranjo diodos (CLAE-DAD). As separações aconteceram em uma coluna USP L7 (octilsilano), modelo Zorbax Eclipse C<sub>8</sub>, 150 × 4,6 mm, 5 μm, marca Agilent (Santa Clara, EUA), com uma fase móvel composta por uma mistura de metanol e tampão formiato de amônio pH 3, 25 mM, na proporção de 70:30, respectivamente, em modo isocrático. O fluxo foi de 1 mL/min e a coluna foi mantida à 30°C. As injeções foram sempre de 10 μL. A adequabilidade do sistema cromatográfico foi avaliada através de injeções (n=6) de uma amostra padrão contendo CLF diluída em fase móvel na concentração de 1 μg/mL. O tempo de retenção típico de CLF foi registrado em aproximadamente 4 min. O fator de cauda dos picos cromatográficos foi sempre <1,2. Os picos de CLF foram integrados em 283 nm e o desvio

padrão relativo (DPR) das áreas dos picos foi abaixo de 1%. Análises de pureza de pico sempre revelaram picos puros no intervalo espectral observado (190-400 nm).

Para quantificar as amostras do ensaio de solubilidade, curvas de calibração de CLF diluída em fase móvel (metanol e tampão formiato de amônio pH 3, 25 mM, na proporção de 70:30, respectivamente) foram preparadas com níveis de calibração de 0,05, 0,1, 0,2, 0,5 e 1 µg/mL (n=3). Para tanto, uma solução mãe contendo CLF a 500 µg/mL foi preparada em metanol e, em seguida, diluída para 50 µg/mL (n=3). Esta solução foi, então, utilizada como ponto de partida para preparo das soluções de calibração. As soluções de calibração foram injetadas e uma curva de calibração foi obtida por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados ordinários.

### 3.6 ESTUDOS DE DISSOLUÇÃO SOB CONDIÇÃO *NON-SINK*

Os experimentos de dissolução sob condição *non-sink* foram realizados em um sistema de dissolução Varian® VanKel 7010 equipado com o aparato de pás (USP 2) a 100 RPM. Os meios de dissolução foram escolhidos para permitir visualizar o comportamento da CLF liberada a partir das DSAs em duas condições: tampão ácido clorídrico pH 1,2 50 mM + LSS 0,1% (m/m) e tampão fosfato pH 6,8 50 mM + LSS 0,1% (m/m). A baixa concentração de LSS foi acrescentada aos tampões para permitir a quantificação de CLF em baixas concentrações tipicamente encontradas em ensaios de dissolução. O LSS é amplamente utilizado em estudos de dissolução devido à sua alta capacidade de reduzir a tensão superficial e formar micelas, o que facilita a solubilização de fármacos pouco solúveis. Comparado a outros tensoativos, o LSS é economicamente acessível, apresenta boa estabilidade química e é compatível com uma ampla gama de fármacos e condições experimentais, tornando-o uma boa opção para estudos de dissolução de fármacos lipofílicos, como a CLF.

Uma quantidade de cada DSA foi cuidadosamente pesada e introduzida em cubas de dissolução individuais, preenchidas com 250 mL de meio de dissolução a 37 °C. As DSAs foram pré-selecionadas conforme os resultados das caracterizações no estado sólido. Os sistemas foram testados em dose fixa de fármaco para representar a atual dose terapêutica diária de CLF (50 mg), com diferentes *drug loadings*. A intenção foi investigar o impacto do método de obtenção, do polímero e do *drug loading* nos perfis de solubilidade cinética de CLF. O grau de supersaturação foi estimado através do *sink index* (SI) proposto por (Sun; Ju; Lee, 2012), levando em consideração as respectivas solubilidades de CLF em cada meio. As condições experimentais dos ensaios de dissolução podem ser visualizadas nos Quadros 1 e 2.

**Quadro 1** – Descrição do desenho experimental dos ensaios de dissolução sob condição *non-sink* das dispersões obtidas pelo método de evaporação de solventes.

Método de evaporação de solventes							
pH 1,2				pH 6,8			
DSA	Massa de sistema (mg)	Dose equivalente de CLF (mg)	<i>Sink index</i> *	DSA	Massa de sistema (mg)	Dose equivalente de CLF (mg)	<i>Sink index</i> *
HPMCP-CLF 10%	500	50	0,0029	HPMCP-CLF 10%	500	50	0,0029
HPMCP-CLF 50%	100	50	0,0029	HPMCP-CLF 50%	100	50	0,0029
SLP-CLF 10%	500	50	0,0029	SLP-CLF 10%	500	50	0,0029

\*Os valores de *sink index* foram calculados com base na  $C_s$  de CLF determinada em 0,58 µg/mL em ambos os meios de dissolução.

**Fonte:** Dados da pesquisa (2024).

**Quadro 2** – Descrição do desenho experimental dos ensaios de dissolução sob condição *non-sink* das dispersões obtidas pelo método *quench-cooling*.

Método de <i>quench-cooling</i>							
pH 1,2				pH 6,8			
DSA	Massa de sistema (mg)	Dose equivalente de CLF (mg)	<i>Sink index</i> *	DSA	Massa de sistema (mg)	Dose equivalente de CLF (mg)	<i>Sink index</i> *
HPMCP-CLF 10%	500	50	0,0029	HPMCP-CLF 10%	500	50	0,0029
HPMCP-CLF 50%	100	50	0,0029	HPMCP-CLF 50%	100	50	0,0029
SLP-CLF 10%	500	50	0,0029	SLP-CLF 10%	500	50	0,0029
SLP-CLF 30%	500	50	0,0029	SLP-CLF 30%	500	50	0,0029

\*Os valores de *sink index* foram calculados com base na  $C_s$  de CLF determinada em 0,58 µg/mL em ambos os meios de dissolução.

**Fonte:** Dados da pesquisa (2024).

Em dissoluções sob condição *non-sink*, o tratamento e leitura imediatos da amostra é uma etapa fundamental para obter concentrações fidedignas ao tempo real de dissolução, conforme descrito em um trabalho do nosso grupo (Danda *et al.*, 2024). Após o início do teste, alíquotas de 1 mL foram retiradas nos tempos predeterminados (5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 90, 120, 180 e 240 min), imediatamente centrifugadas a 14000 RCF, e uma pequena porção do

sobrenadante equivalente a 500  $\mu\text{L}$  foi removida para leitura espectrofotométrica em um espectrofotômetro Varian Cary<sup>®</sup> 50 Bio UV-Vis (Agilent Technologies, California, EUA). As absorbâncias foram coletadas em 495 nm e comparadas com curvas de calibração de CLF em cada meio de dissolução na faixa de 1–10  $\mu\text{g/mL}$ . Os testes foram realizados em triplicata e as amostras foram diluídas conforme necessário (nota: a soma de todas as alíquotas foi de apenas 4% do volume do meio de dissolução, não sendo necessária, portanto, a reposição do meio de dissolução). Os dados das dissoluções foram analisados em termos concentração máxima ( $C_{\text{max}}$ ), tempo de concentração máxima ( $T_{\text{max}}$ ) e de área sob a curva (ASC).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS AMORFAS

As características estruturais do polímero desempenham um papel crucial na obtenção de DSAs de CLF. A CLF possui tanto grupos doadores quanto aceptores de ligações de hidrogênio, além de um valor de pKa relativamente alto (8,51). Esses aspectos permitem que a CLF forme diferentes tipos de interações com grupos funcionais presentes em polímeros, sobretudo, aqueles com regiões doadoras eceptoras de prótons ( $H^+$ ). Essas interações são essenciais para a formação de complexos estáveis, evidenciando, dessa forma, a importância da seleção adequada de polímeros na formação de DSAs de CLF. A escolha de um polímero, como o HPMCP, é estratégica, uma vez que esse polímero tem um pKa em torno de 3, e a diferença de pKa entre a CLF e o HPMCP é um fator crítico na formação da interação do tipo ácido-base entre esses dois componentes.

A diferença significativa de pKa entre o fármaco e o polímero sugere que, em condições adequadas, a CLF pode atuar como uma base, aceitando um  $H^+$ , enquanto o HPMCP pode atuar como um ácido, doando um  $H^+$ . A formação de interações ácido-base é favorecida quando a diferença de pKa ( $\Delta pK_A = pK_A$  do componente básico -  $pK_A$  do componente ácido) entre os componentes é maior que 2 a 3 unidades (CRUZ-CABEZA, 2012). Nesse caso, a diferença de pKa entre a CLF e o HPMCP é suficiente para suportar a transferência de prótons, resultando em interações intermoleculares que contribuem para a formação da DSA. As interações ácido-base são consideradas uma das formas mais fortes de associação intermolecular, o que é particularmente benéfico para a estabilidade física desses sistemas. Assim, a análise da diferença de pKa não apenas fornece uma base teórica para a formação dessas interações, mas destaca a importância de selecionar polímeros que possam interagir efetivamente com o fármaco.

Essa discussão torna-se especialmente importante ao analisar a molécula da CLF. A CLF apresenta uma tendência em realizar interações intramoleculares, possuindo uma estrutura que permite a formação de ligações de hidrogênio, particularmente entre grupos funcionais dentro da própria molécula. Por exemplo, a proximidade entre os grupos imina e o grupo amida secundária na CLF sugere que pode ocorrer uma interação intramolecular entre esses grupos, o que pode impactar a configuração eletrônica local e a reatividade da molécula (Nie *et al.*, 2015; Nie *et al.*, 2016). Essas interações intramoleculares podem competir com as interações

intermoleculares que a CLF poderia formar com polímeros, limitando a eficácia de carreadores que não possuem grupos doadores de H<sup>+</sup>, como o PVP, por exemplo. Portanto, a capacidade da CLF de formar interações intramoleculares é um fator importante a ser considerado no desenvolvimento de formulações de DSAs.

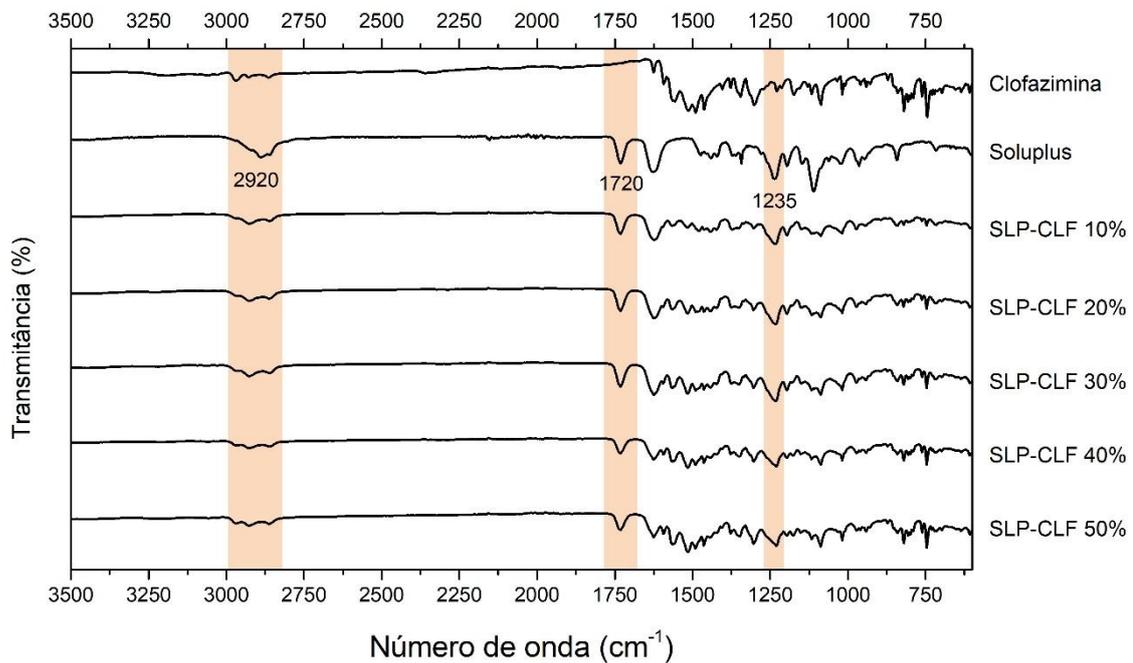
O HPMCP apresenta características em sua estrutura que o tornam um candidato promissor como carreador para a CLF. Primeiramente, a presença de grupos ftalatos - que contêm grupos carboxílicos -, é fundamental, pois esses grupos podem atuar como doadores de H<sup>+</sup>, facilitando a formação de interações ácido-base com a CLF. Devido a essa capacidade de interação, o HPMCP é um polímero que pode manter uma estrutura amorfa, ajudando a prevenir a recristalização do fármaco e aumentando sua estabilidade física.

Por outro lado, polímeros que não apresentam grupos funcionais específicos podem ser menos eficientes na capacidade de amorfização de sistemas contendo CLF. O SLP, por sua vez, contém grupos hidroxila (-OH) e carbonila (C=O) que são capazes de formar ligações de hidrogênio com os fármacos, sendo esta interação mais fraca quando comparadas às interações ácido-base e as ligações iônicas formadas pelo HPMCP. Estas interações são cruciais para estabilizar a fase amorfa e prevenir a recristalização dos fármacos na matriz polimérica. Apesar dessas características, é possível que a força dessas interações não seja suficiente para desfazer as ligações intramoleculares em potencial da CLF. Essa diferença na química dos polímeros implica que o SLP pode oferecer menor estabilidade física e capacidade de amorfização em comparação com o HPMCP.

Análises de FTIR foram realizadas para explorar os potenciais de interação química entre CLF e os polímeros nas DSAs obtidas. As análises das DSAs demonstradas aqui se referem apenas ao método de *quench-cooling*, uma vez que não foram evidenciadas diferenças entre os métodos de obtenção no FTIR.

Os espectros de CLF apresentam regiões específicas, como as bandas de estiramento C=N em 1625 cm<sup>-1</sup> e N-H em 2969 cm<sup>-1</sup> (Figura 14). Essas regiões são importantes para identificar alterações nas interações moleculares quando o fármaco é incorporado em uma matriz polimérica. Já o SLP apresenta bandas características em cerca de 1720 cm<sup>-1</sup>, referente ao estiramento C=O, devido à presença de grupos acetato (PVAc) e carbonila na caprolactama, e estiramento C-N em torno de 1235 cm<sup>-1</sup>, indicando a presença de ligações C-N na caprolactama. Nas dispersões, há uma diminuição na intensidade dos picos da CLF e uma leve mudança na posição dos picos, indicando possíveis interações.

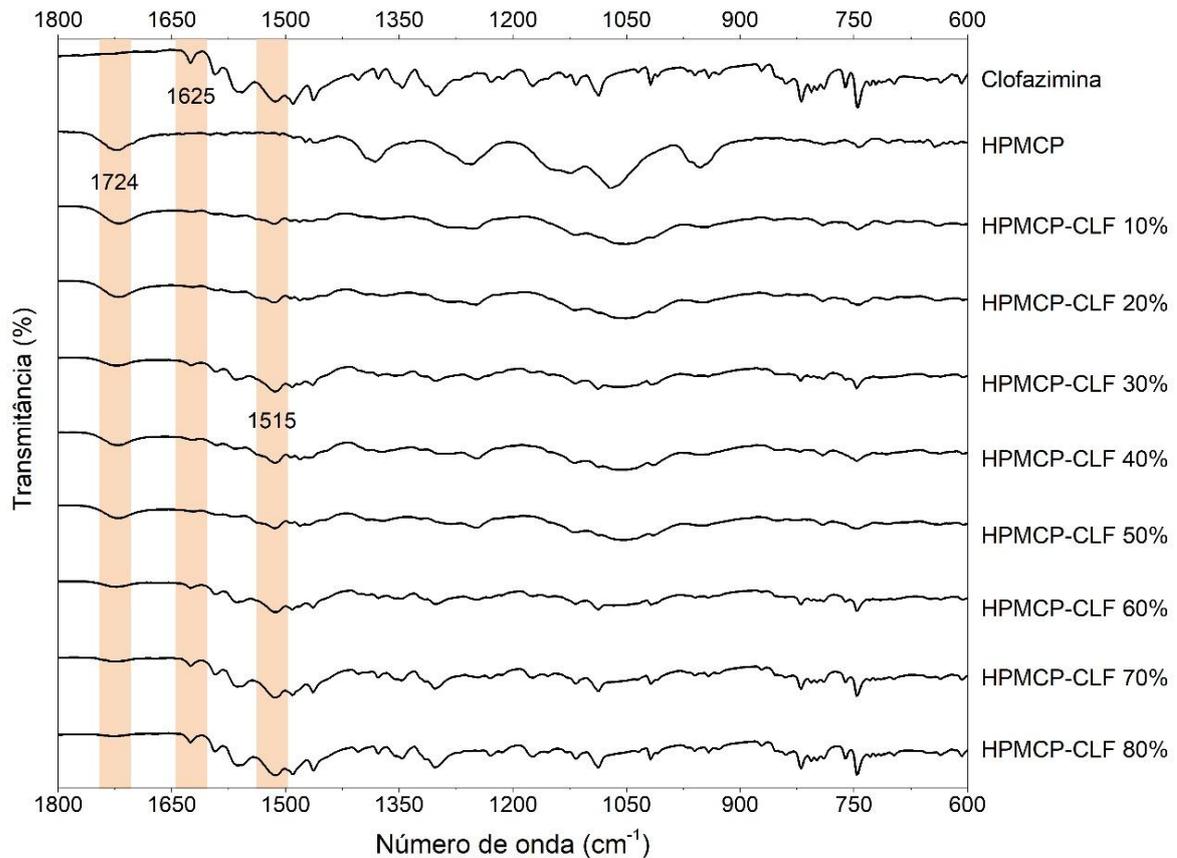
**Figura 14** – Espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier de clofazimina, Soluplus® e dispersões sólidas obtidas por *quench-cooling*.



Fonte: A autora (2024).

Por sua vez, o HPMCP é um éster ftálico da hidroxipropilmetilcelulose, contendo grupos ftalatos (CO-Ph-CO) que podem formar interações específicas com a CLF. A região de 1724 cm<sup>-1</sup> nos espectros de FTIR é característica do estiramento C=O dos grupos ftalatos. A presença desses grupos pode facilitar uma interação mais forte e específica com a CLF, resultando em uma melhor dispersão e estabilidade do fármaco na matriz polimérica. O HPMCP sozinho tem uma banda bastante larga centrada em 1724 cm<sup>-1</sup>, atribuída ao alongamento do grupo C=O do ácido carboxílico. O ácido carboxílico dos substituintes ftalil pode ser convertido em grupo carboxilato, formando uma interação iônica com a CLF na dispersão. Essa interação é apoiada pela supressão da banda característica do HPMCP em 1724 cm<sup>-1</sup> (semelhante ao que acontece com SLP) e o aparecimento de picos em 1515 cm<sup>-1</sup>. Mais evidências da existência de interações ácido-base entre CLF e HPMCP podem ser encontradas nas mudanças das características dos espectros na região de 1650–1350 cm<sup>-1</sup> (Figura 15).

**Figura 15** – Espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier de clofazimina, HPMCP e dispersões sólidas obtidas por *quench-cooling*.

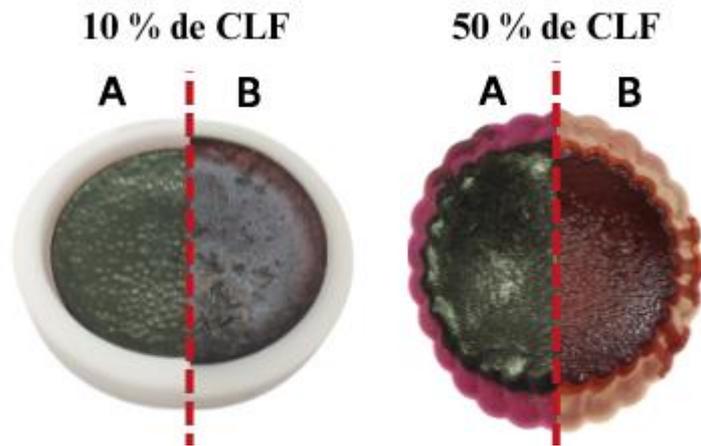


Fonte: A autora (2024).

Por fim, comparando HPMCP e SLP, as análises de FTIR demonstram que o HPMCP tem mais potencial de interação química específica com a CLF devido aos grupos ftalatos que podem formar interação iônica com o fármaco, o que pode resultar em uma dispersão mais estável a longo prazo.

Outro aspecto importante a ser observado é a mudança de cor de vermelho para preto durante a obtenção de DSAs de HPMCP-CLF pelo método *quench-cooling*. Essa mudança não foi observada durante a obtenção da DSA com o SLP pelo mesmo método, o que reforça a ideia de que a interação específica entre a CLF e os grupos carboxílicos do HPMCP é a responsável pela alteração na cor. Essa observação é importante, pois sugere um indicativo visual da formação de interações entre o fármaco e o polímero. Na Figura 16, é possível ver a mudança de cor no sistema HPMCP-CLF (lado A) nos *drug loadings* de 10 e 50%. Já no sistema SLP-CLF (lado B), contendo as mesmas cargas de fármaco, não ocorreu essa mudança.

**Figura 16** – Mudança de cor observada durante a preparação das DSAs de CLF com os polímeros HPMCP e Soluplus. A: DSA com HPMCP mostra uma transição de cor de vermelho para preto em *drug loadings* de 10% e 50%, indicando uma interação específica entre a CLF e os grupos carboxílicos do HPMCP. B: DSA com SLP, com as mesmas cargas de fármaco, não apresenta alteração na cor, reforçando a ausência da interação específica observada com o HPMCP.



Fonte: A autora (2024).

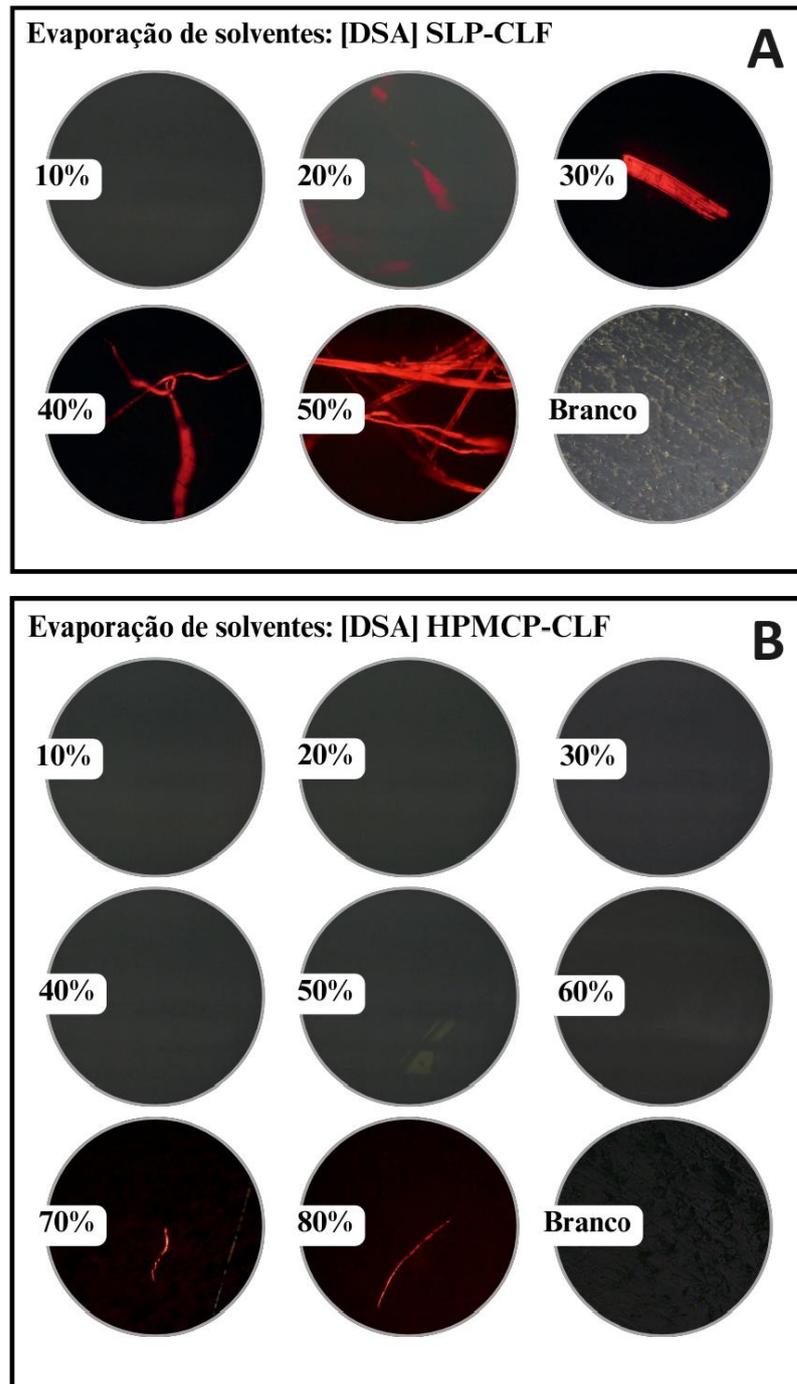
Essa mudança de cor pode ser atribuída às interações entre a CLF e os grupos funcionais do HPMCP, especialmente os grupos carboxílicos presentes no substituinte ftalato. A mudança de cor indica a protonação do grupo imina da CLF, que ocorre devido à transferência de  $H^+$  do grupo carboxílico do HPMCP. Essa protonação altera a densidade eletrônica na estrutura conjugada da CLF, que é responsável pela sua cor. Um estudo realizado por Nie *et al.* (2016) evidenciou a mudança de cor e o deslocamento para comprimentos de onda mais longos (*redshift*) nos espectros de absorção visível da CLF, indicando que as interações entre o fármaco e o HPMCP afetam a configuração eletrônica da CLF, resultando em uma alteração visual significativa.

O método de evaporação de solventes, apesar da simplicidade do processo, resultou em uma distribuição heterogênea do fármaco no polímero, levando à presença de cristais. Já o método *quench-cooling* de obtenção, que envolve a fusão simultânea do fármaco e do polímero, seguida de resfriamento imediato, levou a uma distribuição mais uniforme do fármaco e nos polímeros testados, demonstrando, ainda, maior capacidade de amorfização em *drug loadings* maiores comparado aos *drug loadings* alcançados pelo método de evaporação de solventes.

As imagens obtidas através da microscopia ótica de luz polarizada dos sistemas revelaram diferenças significativas na morfologia e estado físico das amostras obtidas por evaporação de solvente (Figura 17). Para as dispersões de HPMCP-CLF, até a concentração de 60%, as amostras não exibem características típicas de cristalização. Isso sugere que,

visualmente, não há formação de cristais detectável através da microscopia de luz polarizada. Contudo, a partir da concentração de 70%, é possível notar a presença de estruturas que podem indicar início de cristalização, com intensidade aumentada na amostra de 80%.

**Figura 17** – Imagens de microscopia ótica de luz polarizada das dispersões de HPMCP-CLF e SLP-CLF obtidas pelo método de evaporação de solventes.

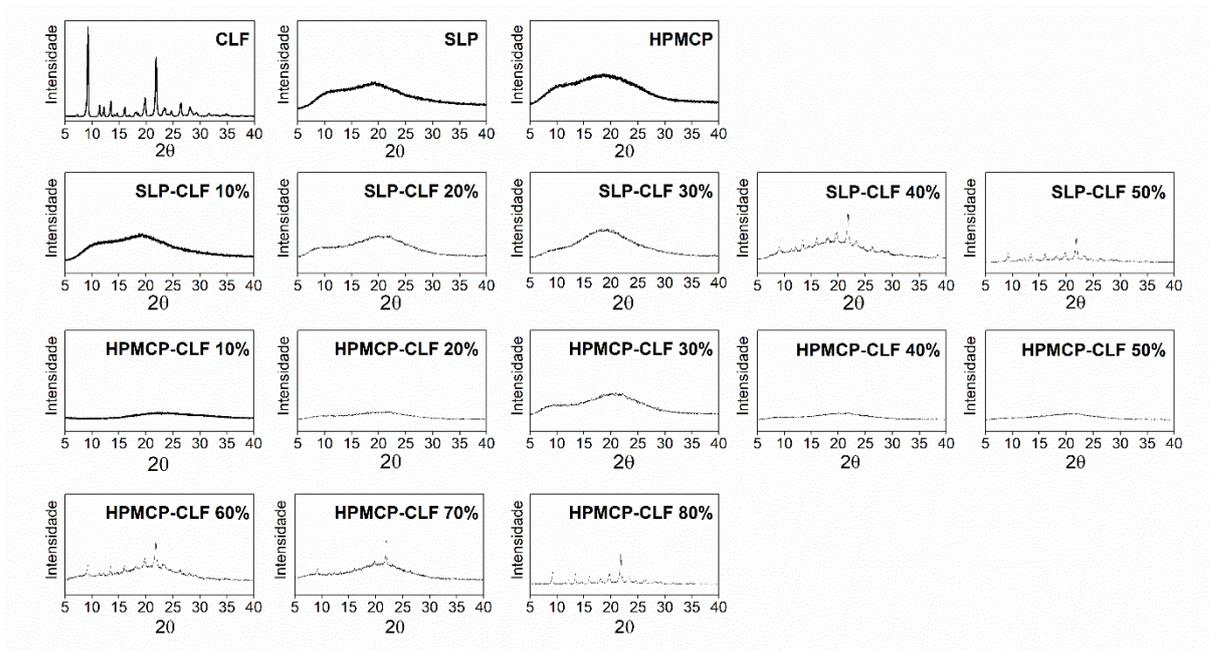


Fonte: A autora (2024).

Apesar das observações por microscopia ótica não terem indicado a presença de cristais na amostra com 60% de CLF, análises posteriores por PDRX confirmaram a presença de cristais neste sistema. Esta discrepância pode ser explicada pela sensibilidade diferente entre as técnicas: a PDRX é capaz de detectar cristais em níveis muito baixos que podem não ser visíveis na microscopia ótica.

Por fim, para evidenciar a diferença entre os processos de obtenção, os gráficos de PDRX forneceram informações importantes sobre o estado sólido do fármaco nas misturas poliméricas obtidas por diferentes métodos. Nos gráficos de PDRX, nota-se que, apenas através do método *quench-cooling*, as amostras de SLP-CLF apresentaram maior capacidade de amorfização da CLF, exibindo perfis que indicam a presença de uma fase amorfa em concentrações de 10%, 20% e 30% (Figura 18). A partir de concentrações de 40% e 50% de fármaco, há um aumento na intensidade dos picos, semelhante ao perfil da CLF cristalina, sugerindo uma menor capacidade de amorfização em cargas maiores de fármaco.

**Figura 18** – Análises de PDRX das DSAs obtidas por *quench-cooling*.

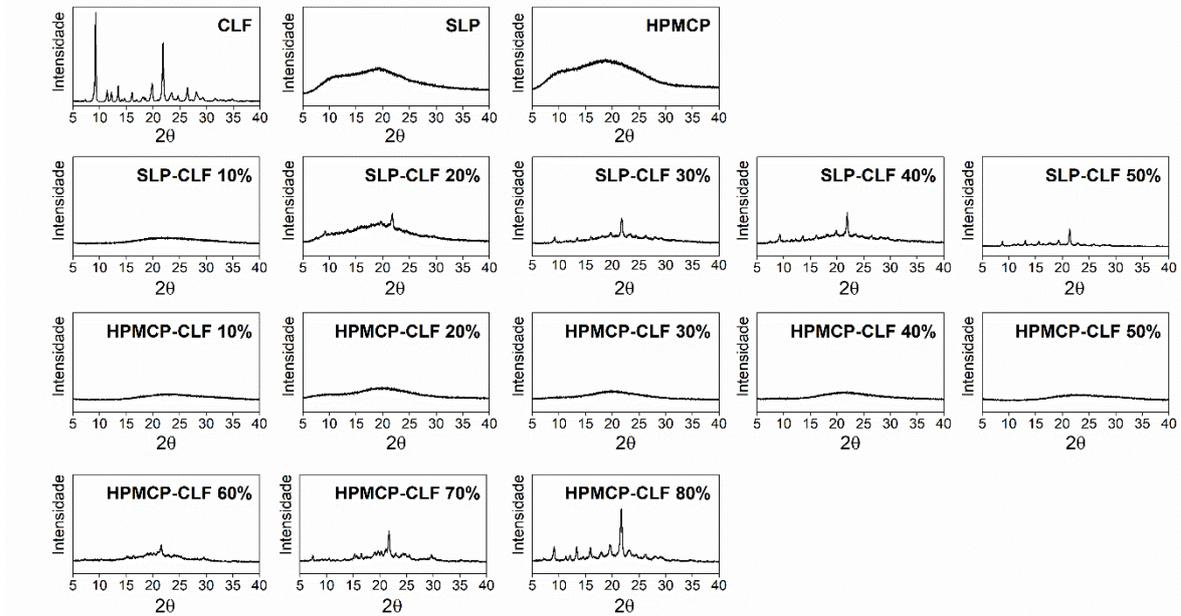


Fonte: A autora (2024).

Por outro lado, as amostras de HPMCP-CLF mantêm um padrão mais amorfo, mesmo em concentrações mais altas de fármaco (até 50%), tanto pelo método *quench-cooling*, quanto pelo método de evaporação de solventes (Figura 19), destacando a capacidade de interação do HPMCP com a CLF como determinante na formação das DSAs. Quando o polímero, como o SLP, não forma interações específicas com a CLF, a necessidade de usar métodos mais

eficientes para dispersar o fármaco na matriz polimérica se torna mais evidente. Isso é observado na capacidade reduzida do SLP em amorfizar a CLF pelo método de evaporação de solventes, onde, mesmo com apenas 20% de fármaco, foi possível notar sinais cristalinos.

**Figura 19** – Análises de PDRX das DSAs obtidas por evaporação de solventes.



Fonte: A autora (2024).

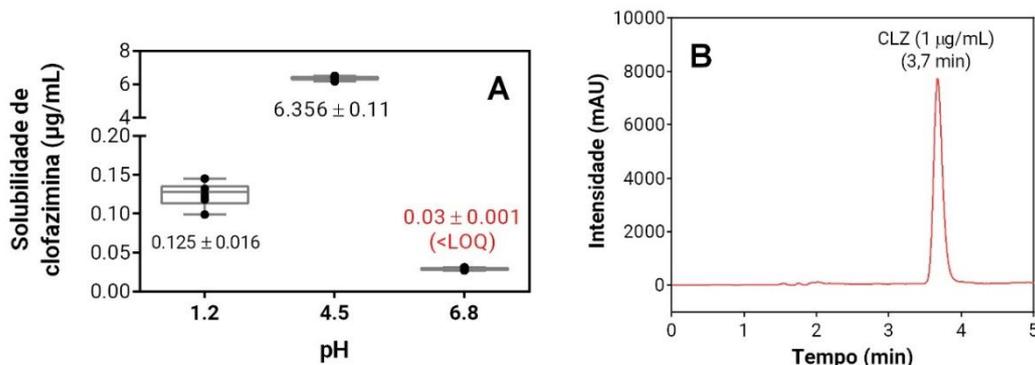
Portanto, o método *quench-cooling* se destacou por proporcionar uma distribuição mais uniforme do fármaco nas misturas poliméricas e uma maior capacidade de amorfização em concentrações mais altas, em comparação com o método de evaporação de solventes.

## 4.2 DETERMINAÇÃO DA SOLUBILIDADE DE CLOFAZIMINA EM EQUILÍBRIO

### 4.2.1 Clofazimina em tampões aquosos: seleção dos meios de dissolução do estudo

A solubilidade em equilíbrio de CLF foi determinada pelo método *shake-flask*, onde mediu-se a concentração de saturação de uma suspensão do fármaco após 24 h a 37 °C, inicialmente em três tampões aquosos (Figura 20A). O cromatograma típico demonstra CLF separada em aproximadamente 3,7 min no método cromatográfico (Figura 20B). Sendo a CLF uma base livre com  $\log P \approx 7$  (Chemaxon, 2024), sua solubilidade é extremamente baixa em toda faixa de pH testada, variando de (a)  $0,13 \pm 0,016$ , (b)  $6,36 \pm 0,11$  e (c)  $0,03 \pm 0,001$  µg/mL (<LOQ) em pH 1,2, 4,5 e 6,8, respectivamente (nota: em pH 6,8, a solubilidade de clofazimina esteve abaixo do LOQ do método analítico).

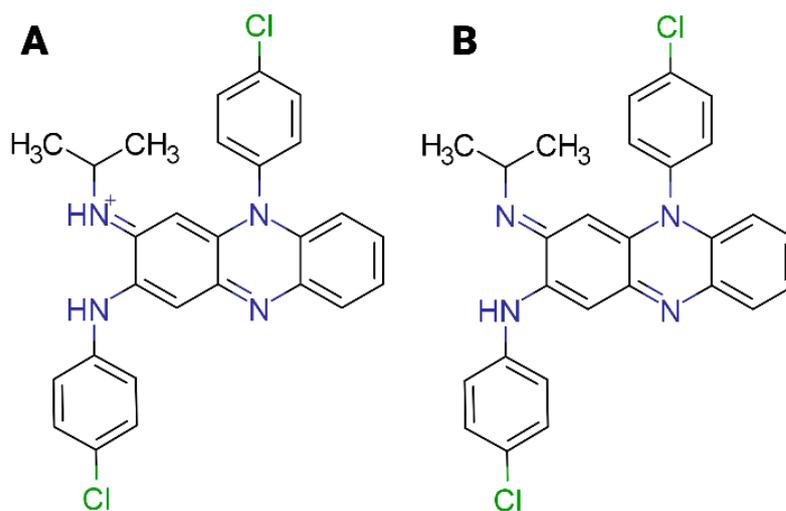
**Figura 20** – A: Solubilidade em equilíbrio de clofazimina em diferentes pHs determinada experimentalmente. B: Cromatograma típico de CLF injetada a 1 µg/mL.



Fonte: A autora (2024).

No pH 1,2, a espécie ionizada de CLF encontra-se discretamente presente (~7%), o que contribui para uma também discreta solubilização (Figura 21A). Em pH 4,5, a espécie iônica predomina (~80%), elevando a solubilidade em várias ordens de magnitude. Ainda assim, o íon de CLF em ambos os pHs pode ter um  $\log P$  estimado em 3,39 (Chemaxon, 2024), o que explica a baixa solubilidade de CLF mesmo quando em meio ácido. No pH 6,8, em contrapartida, a espécie molecular de CLF predomina (~89%) (Figura 21B), o que faz sua solubilidade cair drasticamente, à medida que se aproxima do seu  $pK_a \approx 9$  (VERBIĆ et al., 2023), ficando abaixo do LOQ do método empregado na quantificação de CLF deste estudo. É importante mencionar que as medidas de  $pK_a$ ,  $\log P$  e solubilidade de CLF são um desafio analítico e mais estudos devem ser realizados para fundamentar a discussão acerca do comportamento iônico de CLF.

Levando em conta a relevância biofarmacêutica dos meios de dissolução, foram selecionados os meios com pH 1,2 e 6,8 para o estudo, visto que traduzem as condições primárias do estômago e intestino em jejum, respectivamente. No entanto, devido a necessidade de quantificações práticas de CLF no estudo para os ensaios de dissolução, fez-se necessário a adição de uma pequena concentração de tensoativo aniônico, o LSS, a 0,1% (m/m), onde verificou-se que a solubilidade de CLF aumentou para 0,58 µg/mL em ambos os meios (Tabela 6).

**Figura 21** – Espécies ionizada (A) molecular (B) de clofazimina em meio aquoso.

Fonte: A autora (2024).

**Tabela 6** – Solubilidade de clofazimina em tampões aquosos determinada pelo método *shake-flask*.

Meio de dissolução	Tensoativo	Solubilidade ( $\mu\text{g/mL}$ )
Tampão HCl pH 1,2 50 mM	–	$0,13 \pm 0,016$
Tampão acetato de sódio pH 4,5 50 mM	–	$6,36 \pm 0,11$
Tampão fosfato de sódio pH 6,8 50 mM	–	(<LOQ)
Tampão HCl pH 1,2 50 mM	Laurilsulfato de sódio 0,1% (m/m)	$0,58 \pm 0,27$
Tampão fosfato de sódio pH 6,8 50 mM	Laurilsulfato de sódio 0,1% (m/m)	$0,58 \pm 0,24$

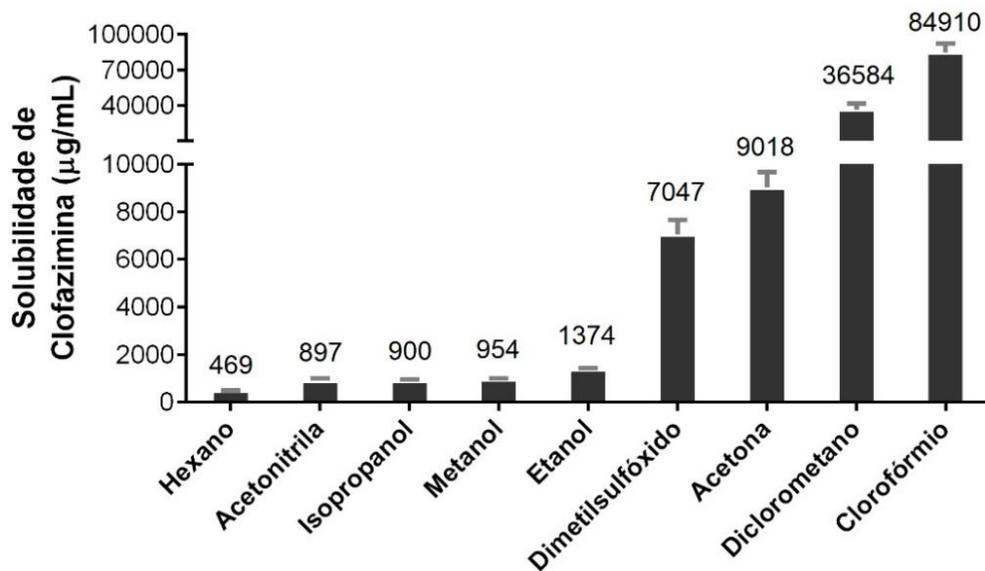
Fonte: Dados da pesquisa (2024).

Este aumento de baixa magnitude na solubilidade de CLF possibilitou que a determinação do fármaco dos ensaios de dissolução pudesse ser realizada por espectrofotometria UV-Vis. Esta mudança no método de determinação de CLF – entre CLAE-DAD para UV-Vis dos ensaios de solubilidade para dissolução, respectivamente – foi importante para reduzir o tempo total entre a coleta e a quantificação da amostra nos ensaios de dissolução. Mesmo com análise rápidas, tipicamente de 5 min, as análises por CLAE-DAD requerem diversas etapas de preparo de amostras, como a transferência para diluente, filtração, tempo entre injeções e limpezas, o que pode gerar atrasos na quantificação de dissoluções *non-sink*. Este importante aspecto de dissoluções *non-sink* foi recentemente discutido em um trabalho do nosso grupo, onde mostrou-se que o atraso entre a coleta e quantificação de amostras de dissolução *non-sink* podem conduzir a diferentes perfis de solubilidade e erros de interpretação (Danda *et al.*, 2024).

#### 4.2.2 Clofazimina em solventes orgânicos: seleção do solvente para método de evaporação

Ensaio de solubilidade de CLF em solventes orgânicos também foram realizados com o objetivo de selecionar o melhor solvente para obtenção de DSAs pelo método de evaporação de solventes, conforme descrito nas Seções 4.3.1 e 4.5 (Figura 22). Uma seleção dos principais solventes orgânicos usuais em laboratório farmacêutico foi utilizada para estudar a solubilidade de CLF.

**Figura 22** – Solubilidade de clofazimina em solventes orgânicos determinada pelo método *shake-flask*.



Fonte: A autora (2024).

O resultado demonstra que os solventes dimetilsulfóxido, acetona, diclorometano e clorofórmio são os principais solventes eficientes em dissolver CLF, atingindo valores de até ~85 mg/mL (clorofórmio). Além disso, os resultados expandem o conhecimento sobre como CLF se comporta nos principais solventes utilizados em CLAE, como acetonitrila, isopropanol, metanol e etanol, possibilitando o preparo de soluções-mãe com segurança até os valores reportados aqui.

Levando em conta as análises aqui divulgadas, clorofórmio foi o solvente selecionado para preparo de DSAs a partir de evaporação de solventes. É importante ressaltar que isto não significa que outros solventes orgânicos como acetona, diclorometano, ou até mesmo etanol, não sejam elegíveis para o preparo de DSAs por evaporação de solventes. Porém, quanto maior for a solubilidade do fármaco no solvente, melhor a dispersão do mesmo no polímero, por reduzir a tendência de recristalização durante a remoção do solvente (BHUIBAL et al., 2021b).

### 4.3 ENSAIO DE DISSOLUÇÃO SOB CONDIÇÃO NON-SINK

A escolha dos *drug loadings* usados nos ensaios de dissolução foi baseada nas caracterizações do estado sólido dos sistemas HPMCP-CLF e SLP-CLF. As caracterizações mostraram que a maior carga de fármaco que o sistema HPMCP-CLF conseguiu manter no estado amorfo foi de 50%, independentemente do método de obtenção. Para o sistema SLP-CLF, a maior carga de fármaco obtida no estado amorfo foi de 30% pelo método de *quench-cooling* e apenas 10% pelo método de evaporação de solventes. A intenção foi comparar os maiores *drug loadings* de cada sistema com o menor *drug loading* comum (10%), a fim de investigar a influência da carga de fármaco na liberação em diferentes condições de pH. Em resumo, a discussão dos ensaios de dissolução envolve a análise dos parâmetros fornecidos pelo ensaio ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$  e AUC) das DSAs preparadas por dois métodos distintos: evaporação de solventes e *quench-cooling*. Para cada pH (1,2 e 6,8), as diferenças observadas entre os diferentes polímeros e métodos também serão discutidas.

Para as DSAs obtidas pelo método *quench-cooling* (Quadro 3), em dose e tamanho de partícula fixos, nota-se que no pH 1,2, as formulações com HPMCP 10% e HPMCP 50% apresentaram valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de 22,9  $\mu\text{g/mL}$  e 21,9  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, com AUCs de 4258  $\mu\text{g/mL/min}$  e 3603  $\mu\text{g/mL/min}$ . As formulações com SLP 10% e 30% apresentaram valores de  $C_{m\acute{a}x}$  de 30,8  $\mu\text{g/mL}$  e 28,4  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, com AUCs de 4544  $\mu\text{g/mL/min}$  e 5927  $\mu\text{g/mL/min}$ . Já no pH 6,8, as DSAs com HPMCP 10% e HPMCP 50% mostraram  $C_{m\acute{a}x}$  de 191,7  $\mu\text{g/mL}$  e 89,9  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, e AUCs de 8813  $\mu\text{g/mL/min}$  e 9861  $\mu\text{g/mL/min}$ . As DSAs com SLP 10% e 30% apresentaram  $C_{m\acute{a}x}$  de 102,9  $\mu\text{g/mL}$  e 119,7  $\mu\text{g/mL}$ , respectivamente, com AUCs de 21067  $\mu\text{g/mL/min}$  e 8249  $\mu\text{g/mL/min}$ .

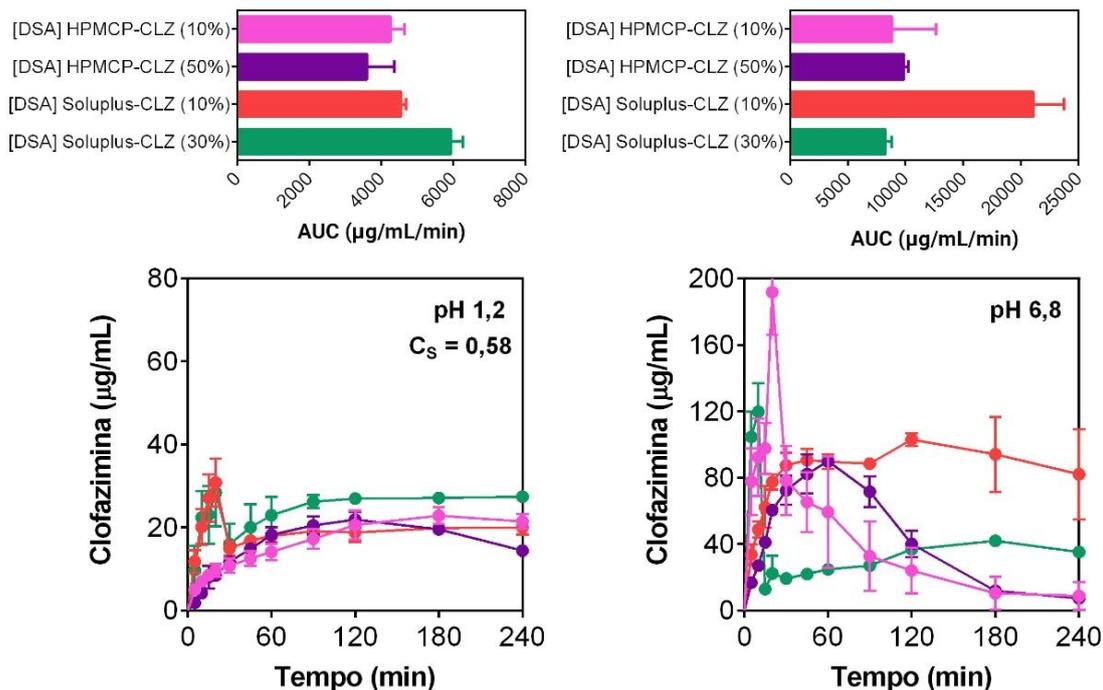
**Quadro 3** – Dados experimentais das dissoluções realizadas com DSAs obtidas através do método de fusão.

Dispersão sólida amorfa	pH 1,2			pH 6,8		
	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$t_{max}$ (min)	ASC ( $\mu\text{g/ml/min}$ )	$C_{max}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )	$t_{max}$ (min)	ASC ( $\mu\text{g/ml/min}$ )
HPMCP 10%	22,9 $\pm$ 2,0	180	4258	<b>191,7 <math>\pm</math> 25,4</b>	20	8813
HPMCP 50%	21,9 $\pm$ 1,8	120	3603	89,9 $\pm$ 3,4	60	9861
Soluplus 10%	<b>30,8 <math>\pm</math> 5,8</b>	20	4544	102,9 $\pm$ 3,7	120	<b>21067</b>
Soluplus 30%	28,4 $\pm$ 8,1	20	<b>5927</b>	119,7 $\pm$ 17,2	10	8249

Fonte: A autora (2024).

Os PSC da CLF liberada a partir das DSAs preparadas por *quench-cooling* (Figura 23) mostram que, no pH 1,2, o sistema HPMCP-CLF com 50% de *drug loading* alcança uma  $C_{\text{máx}}$  em torno de 20  $\mu\text{g/mL}$  aos 120 min. O HPMCP se comporta como uma matriz insolúvel em pH 1,2 e, portanto, apresenta liberação mais lenta do fármaco através do mecanismo de difusão controlada. A velocidade com que o fármaco se difunde para o meio de dissolução é o que determina o perfil de liberação e recristalização que será exibido pelo fármaco. O sistema HPMCP-CLF com 10% apresentou comportamento semelhante, com uma  $C_{\text{máx}}$  em torno de 20  $\mu\text{g/mL}$  aos 180 min. Em ambos os casos, a difusão lenta refletiu numa supersaturação sustentada e em um ganho de solubilidade de quase 35 vezes o valor da  $C_s$  (0,58  $\mu\text{g/ml}$ ). Essa sustentação da supersaturação, para o HPMCP-CLF 10%, manteve-se praticamente até 4 horas de dissolução. Para HPMCP-CLF 50%, em 3h de dissolução, foi possível notar os primeiros eventos de cristalização, o que pode ser explicado devido à presença de mais fármaco disponível para a recristalização no meio.

**Figura 23** – Perfis de solubilidade cinética de CLF liberada a partir de DSAs preparadas por *quench-cooling*.



Fonte: A autora (2024).

Para os sistemas de SLP-CLF, também preparados por *quench-cooling*, em pH 1,2, observa-se uma liberação mais imediata, atingindo a  $C_{\text{máx}}$  (em torno de 30  $\mu\text{g/ml}$ ) já nos primeiros 20 min de dissolução para ambos os *drug loadings* (10 e 30%). Isso porque o SLP, diferente do HPMCP, é um polímero solúvel, cujo mecanismo de liberação depende da

dissolução do carreador. A supersaturação gerada também foi sustentada. Os perfis de solubilidade são mais estáveis ao longo do tempo, com pouca variação entre 10% e 30% de *drug loading*. A sustentação da supersaturação refletiu em um ganho de solubilidade de mais 50 vezes o valor da  $C_s$  (nota: não houve influência do polímero na  $C_s$  do fármaco).

Em pH 6,8, a solubilidade inicial dos sistemas baseados em HPMCP (método *quench-cooling* de obtenção) é alta, com  $C_{\max}$  de  $191,7 \pm 25,4$  em 20 min para o *drug loading* de 10%, e  $89,9 \pm 3,4$  em 60 min para 50%. Essa mudança de comportamento no PSC da CLF nos primeiros minutos da dissolução pode ser explicada pela mudança no mecanismo de liberação, uma vez que, com a mudança de pH (pH 6,8), o HPMCP passa de uma matriz insolúvel para solúvel, liberando o fármaco imediatamente com a dissolução do carreador polimérico. Entretanto, há uma queda acentuada nas concentrações, por volta de 30 minutos para o sistema contendo 10% de fármaco e após 60 minutos de dissolução para o sistema contendo 50%, indicando uma possível precipitação ou instabilidade do sistema em meio básico. Isso porque quanto maior a taxa de geração de supersaturação, mais os eventos de nucleação e recristalização são favorecidos.

Para as DSAs obtidas pelo método de evaporação de solventes (Quadro 4), no pH 1,2, observa-se que os sistemas HPMCP-CLF 10% e HPMCP-CLF 50% apresentaram valores de  $C_{\max}$  de  $12,7 \mu\text{g/mL}$  e  $35,0 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente, com AUCs de  $2178 \mu\text{g/mL/min}$  e  $6820 \mu\text{g/mL/min}$ . O sistema SLP-CLF 10% apresentou  $C_{\max}$  de  $21,6 \mu\text{g/mL}$  e AUC de  $3498 \mu\text{g/mL/min}$ . No pH 6,8, as DSAs HPMCP-CLF 10% e HPMCP-CLF 50% mostraram  $C_{\max}$  de  $124,9 \mu\text{g/mL}$  e  $103,2 \mu\text{g/mL}$ , respectivamente, e AUCs de  $7450 \mu\text{g/mL/min}$  e  $3277 \mu\text{g/mL/min}$ . O sistema com SLP-CLF 10% apresentou  $C_{\max}$  de  $60,1 \mu\text{g/mL}$  e AUC de  $4407 \mu\text{g/mL/min}$ .

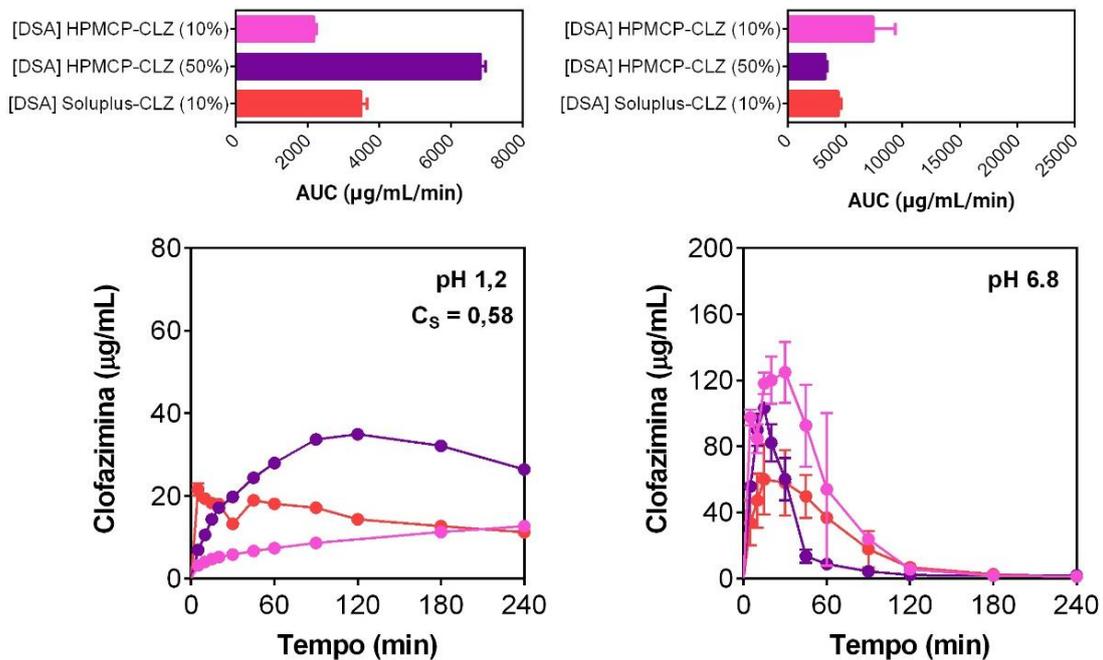
**Quadro 4** – Dados experimentais das dissoluções realizadas com DSAs obtidas através do método de evaporação de solventes.

Polímero	pH 1,2			pH 6,8		
	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{\max}$ (min)	ASC ( $\mu\text{g/mL/min}$ )	$C_{\max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	$t_{\max}$ (min)	ASC ( $\mu\text{g/mL/min}$ )
HPMCP 10%	$12,7 \pm 0,4$	240	2178	<b><math>124,9 \pm 18,4</math></b>	30	<b>7450</b>
HPMCP 50%	<b><math>35,0 \pm 0,9</math></b>	120	<b>6820</b>	$103,2 \pm 3,6$	15	3277
Soluplus 10%	$21,6 \pm 1,5$	5	3498	$60,1 \pm 21,3$	15	4407

Nos sistemas obtidos por evaporação de solvente (Figura 24), os perfis de solubilidade mostram que, em pH 1,2, os sistemas exibem um comportamento parecido como o apresentado pelos sistemas obtidos por *quench-cooling* no mesmo pH: as DSAs de HPMCP-CLF, em ambos os *drug loadings* possuem um perfil de liberação governado por difusão controlada ao longo do

tempo, o que reflete em uma liberação mais lenta, porém mais sustentada. Enquanto o sistema SLP-CLF mostra um perfil de liberação imediata, seguida de queda nas concentrações também imediata. O que chama atenção nesse ensaio, são os valores de AUC do sistema HPMCP-CLF 50%, que foi 3 vezes superior à AUC do sistema HPMCP-CLF 10%, e aproximadamente 2 vezes maior que a AUC exibida pelo sistema SLP-CLF 10%. Isto pode indicar que a miscibilidade entre o fármaco e o HPMCP, pelo método de *quench-cooling* pode ser alta a ponto de manter a CLF presa à matriz por mais tempo, enquanto pelo método evaporação de solventes a taxa de liberação do fármaco é mais favorecida.

**Figura 24** – Perfis de solubilidade cinética de CLF liberada a partir de DSAs preparadas por *quench-cooling*.



Fonte: A autora (2024).

Em pH 6,8, os sistemas mostram uma solubilidade inicial alta seguida por uma diminuição antes da primeira hora de dissolução. Em comparação ao método *quench-cooling*, os valores de AUC foram, pelo menos, 2 vezes menores. Esses dados sugerem que o método *quench-cooling*, em geral, resulta em melhores parâmetros de dissolução quando comparado ao método de evaporação de solventes, especialmente em termos de  $C_{m\acute{a}x}$  e AUC. Este método mostrou-se eficaz na formação de DSAs com parâmetros de dissolução mais favoráveis. A rápida solidificação através do *quench-cooling* pode resultar em uma distribuição mais uniforme do fármaco na matriz polimérica, além de favorecer a manutenção da forma amorfa do fármaco, o que pode explicar a superioridade deste método. Por outro lado, as DSAs obtidas

por evaporação de solventes apresentaram desempenho inferior, com exceção de algumas formulações específicas. Esse método pode não ser tão eficiente em criar uma dispersão homogênea de CLF ou pode resultar em recristalização parcial durante o processo de evaporação, o que compromete a eficácia da forma amorfa na melhoria da dissolução.

Comparando os resultados entre pH 1,2 e pH 6,8 dentro de cada método, as DSAs preparadas pelo método *quench-cooling* apresentaram, em pH 6,8,  $C_{\text{máx}}$  e AUC significativamente maiores do que em pH 1,2. Por exemplo, HPMCP-CLF 10% mostrou um aumento de  $C_{\text{máx}}$  de 22,9  $\mu\text{g/mL}$  em pH 1,2 para 191,7  $\mu\text{g/mL}$  em pH 6,8. Isso indica que a CLF possui melhor desempenho de dissolução em condições menos ácidas, o que é um resultado muito interessante, levando em consideração que a absorção da CLF ocorre em meio intestinal. O mesmo padrão foi observado para SLP 10% e 30%. As formulações obtidas pelo método de evaporação de solventes também mostraram melhor desempenho em pH 6,8, mas com diferenças menos pronunciadas. Por exemplo, HPMCP-CLF 10% teve um aumento de  $C_{\text{máx}}$  de 12,7  $\mu\text{g/mL}$  em pH 1,2 para 124,9  $\mu\text{g/mL}$  em pH 6,8. SLP-CLF 10% apresentou um  $C_{\text{máx}}$  de 21,6  $\mu\text{g/mL}$  em pH 1,2, que aumentou para 60,1  $\mu\text{g/mL}$  em pH 6,8. As diferenças menos acentuadas podem sugerir que a eficiência do método de evaporação de solventes é mais afetada pelas condições de pH, tendo em vista que, em tampões aquosos, a solubilidade da CLF é menor em pH 6,8 e, portanto, quanto mais distante do estado amorfo o fármaco estiver, menor será seu desempenho de dissolução nesse meio.

A diferença observada entre os pH 1,2 e 6,8 também pode ser explicada com base nas propriedades físico-químicas da CLF e na influência dos compostos presentes no meio de dissolução. A CLF é uma base fraca com  $\text{pK}_a$  de 8,5, o que implica que em meios de baixo pH (ácidos), como pH 1,2, ela tende a se protonar, podendo formar um sal de hidrocloreto (CLF-HCl). Em pH alto (básico), como pH 6,8, a forma base livre da CLF é predominante.

Além disso, o estudo de Bannigan *et al.* (2019) evidenciou que em pH baixo, a CLF se dissolve inicialmente, mas depois precipita como clofazimina-hidrocloreto devido ao efeito de íon comum. Este efeito é exacerbado pela presença de íons cloreto no meio, que promovem a cristalização do CLF-HCl. Além disso, compostos anfipáticos como sais biliares e fosfolipídios, presentes no sistema gastrointestinal, podem atuar como inibidores de cristalização e ajudar a manter a clofazimina em solução por mais tempo.

Diante disso, uma observação importante é que o bom desempenho dos sistemas baseados em SLP pode ser explicado pela presença de segmentos hidrofóbicos no SLP (cadeias de polietileno glicol) que podem facilitar a solubilização de fármacos pouco solúveis em água e contribuir para a formação de micelas poliméricas que encapsulam o fármaco, melhorando

seu desempenho durante a dissolução. Além disso, a solubilização eficaz proporcionada pelo SLP durante a dissolução pode, apesar dos indícios de menor força de interação com o fármaco, ainda assim trazer benefícios significativos para a dissolução da CLF. Em contraste, apesar de, em pH 6,8, a CLF permanecer principalmente na forma de base livre, que é menos solúvel em água não ocorre o efeito de íon comum, que acaba sendo mais prevalente em tampão HCl.

Portanto, a diferença na dissolução e comportamento da clofazimina entre pH 1,2 e pH 6,8 pode ser atribuída à sua natureza química como uma droga fracamente básica e à interação com compostos presentes no meio de dissolução, que variam em suas capacidades de solubilização e inibição de cristalização em diferentes pH (Bannigan; Verma; Hudson, 2019).

## 5 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos demonstraram que a escolha do polímero para DSAs de CLF, um recristalizador rápido, deve ser bem direcionada, levando em consideração, sobretudo, a presença de grupos doadores ou aceptores de H<sup>+</sup>, influenciando, diretamente, não apenas a estabilidade física do sistema, inclusive em altos *drug loadings*, mas o PSC do fármaco liberado de um sistema baseado em ligações fortes. Este trabalho contribui para ampliar a compreensão acerca do desenvolvimento e performance de DSAs de CLF, exibindo, pela primeira vez, o perfil de dissolução da CLF liberada a partir do HPMCP e do SLP. A abordagem de sistemas supersaturantes, aliada à redução da dose, pode transformar a forma como a CLF é administrada, melhorando a adesão ao tratamento e, conseqüentemente, os resultados clínicos. Assim, este estudo não apenas amplia o conhecimento sobre as DSAs de CLF, mas também abre novas discussões para a pesquisa e desenvolvimento de terapias mais eficazes e seguras para infecções resistentes.

## REFERÊNCIAS

- AGRAWAL, A. M.; DUDHEDIA, M. S.; ZIMNY, E. Hot Melt Extrusion: Development of an Amorphous Solid Dispersion for an Insoluble Drug from Mini-scale to Clinical Scale. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 1, p. 133–147, 2016.
- ALBADARIN, A. B. et al. Development of stability-enhanced ternary solid dispersions via combinations of HPMCP and Soluplus® processed by hot melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 532, n. 1, p. 603–611, 30 out. 2017.
- ALONZO, D. E. et al. Understanding the behavior of amorphous pharmaceutical systems during dissolution. **Pharmaceutical Research**, v. 27, n. 4, p. 608–618, 2010.
- ALZHRANI, A. et al. **A systematic and robust assessment of hot-melt extrusion-based amorphous solid dispersions: Theoretical prediction to practical implementation.** **International Journal of Pharmaceutics** Elsevier, , ago. 2022.
- AMIDON, G. L. et al. A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability. **Pharmaceutical Research** 1995 12:3, v. 12, n. 3, p. 413–420, 1995.
- AUGUSTA, A.; ENDOWED, B. TÄ | vx Tâzââàt UtÄÄ. p. 2006, 2006.
- AZULAY, R. D. *Dermatologia* 8º ed. p. 4459, 2022.
- BABU, N. J.; NANGIA, A. Solubility advantage of amorphous drugs and pharmaceutical cocrystals. **Crystal Growth and Design**, v. 11, n. 7, p. 2662–2679, 2011.
- BAIK, J.; ROSANIA, G. R. Macrophages Sequester Clofazimine in an Intracellular Liquid Crystal-Like Supramolecular Organization. **PLOS ONE**, v. 7, n. 10, 2012.
- BAKKER, M. I. et al. Risk factors for developing leprosy - A population-based cohort study in Indonesia. **Leprosy Review**, v. 77, n. 1, p. 48–61, 2006.
- BANNIGAN, P. et al. Investigating the effects of amphipathic gastrointestinal compounds on the solution behaviour of salt and free base forms of clofazimine: An in vitro evaluation. **INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS**, v. 552, n. 1–2, p. 180–192, 2018.
- BANNIGAN, P.; VERMA, V.; HUDSON, S. P. Overcoming the Common Ion Effect for Weakly Basic Drugs: Inhibiting the Crystallization of Clofazimine Hydrochloride in Simulated Gastrointestinal Media. **CRYSTAL GROWTH & DESIGN**, v. 19, n. 3, p. 1599–1609, 2019.
- BARRETO, J. G. et al. Anti-PGL-I seroepidemiology in leprosy cases: Household contacts and school children from a hyperendemic municipality of the Brazilian Amazon. **Leprosy Review**, v. 82, n. 4, p. 358–370, 2011.

- BARRY, V. C.; CONALTY, M. L. the Antimycobacterial Activity of B 663. **Leprosy review**, v. 36, p. 3–7, 1965.
- BECELLI, L. M.; ROTBERG, A.; MAURANO, F. Tratado de leprologia. Clínica. p. 452–452, 1950.
- BHUJBAL, S. V. et al. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. **Acta pharmaceutica Sinica. B**, v. 11, n. 8, p. 2505–2536, 1 ago. 2021a.
- BHUJBAL, S. V. et al. Pharmaceutical amorphous solid dispersion: A review of manufacturing strategies. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 11, n. 8, p. 2505–2536, 1 ago. 2021b.
- BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia para o controle da hanseníase**. [s.l.: s.n.].
- BULLOCK, W. E. Rifampin in the treatment of leprosy. **Reviews of Infectious Diseases**, v. 5, n. August, p. S606–S613, 1983.
- BUTLER, J. M.; DRESSMAN, J. B. The developability classification system: Application of biopharmaceutics concepts to formulation development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n. 12, p. 4940–4954, 1 dez. 2010.
- CAMPBELL, E. A. et al. Structural mechanism for rifampicin inhibition of bacterial RNA polymerase. **Cell**, v. 104, n. 6, p. 901–912, 2001.
- CENSI, R. et al. Hot Melt Extrusion: Highlighting Physicochemical Factors to Be Investigated While Designing and Optimizing a Hot Melt Extrusion Process. **Pharmaceutics** **2018**, Vol. 10, Page 89, v. 10, n. 3, p. 89, jul. 2018.
- CHEMAXON. **Marvin**. Budapest, 2024.
- CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Preparation and dissolution characteristics of several fast-release solid dispersions of griseofulvin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 58, n. 12, p. 1505–1510, 1 dez. 1969.
- CHOLO, M. C. et al. Clofazimine: Current status and future prospects. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 2, p. 290–298, 2012.
- CRUZ-CABEZA, A. J. Acid-base crystalline complexes and the pKa rule. **CrystEngComm**, v. 14, n. 20, p. 6362–6365, 2012.
- DANDA, L. J. DE A. et al. Amorphous solid dispersions in high-swelling, low-substituted hydroxypropyl cellulose for enhancing the delivery of poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 642, n. April, p. 1–14, 2023.
- DANDA, L. J. DE A. et al. Optimizing Nonsink Dissolution Testing for Amorphous Solid Dispersions: Exploring Sample Handling Variables. **Molecular Pharmaceutics**, v. 21, n. 4, p. 1861–1871, 1 abr. 2024.

EIDT, L. M. Breve história da hanseníase: sua expansão do mundo para as Américas, o Brasil e o Rio Grande do Sul e sua trajetória na saúde pública brasileira. **Saúde e Sociedade**, v. 13, n. 2, p. 76–88, ago. 2004.

ELLARD, G. A. ABSORPTION, METABOLISM AND EXCRETION OF DI(p-AMINOPHENYL) SULPHONE (DAPSONE) AND DI(p-AMINOPHENYL) SULPHOXIDE IN MAN. **British Journal of Pharmacology and Chemotherapy**, v. 26, n. 1, p. 212–217, 1966.

FEASEY, N. et al. Neglected tropical diseases. **British Medical Bulletin**, v. 93, n. 1, p. 179–200, 2010.

FRANZBLAU, S. G.; WHITE, K. E.; O’SULLIVAN, J. F. Structure-activity relationships of tetramethylpiperidine-substituted phenazines against *Mycobacterium leprae* in vitro. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 33, n. 11, p. 2004–2005, 1989.

FREITAS, A. A. et al. Alterations to antigen-specific immune responses before and after multidrug therapy of leprosy. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 83, n. 2, p. 154–161, 2015.

FURESZ, S. Chemical and biological properties of rifampicin. **Antibiotics and chemotherapy**, v. 16, p. 316–351, 1970.

GADELHA, P.; PEREIRA, T. R.; SANTOS, M. Doenças Tropicais Negligenciadas Agenda Inacabada. p. 45, 2019.

HAN, Y. R.; LEE, P. I. Effect of Extent of Supersaturation on the Evolution of Kinetic Solubility Profiles. **Molecular Pharmaceutics**, v. 14, n. 1, p. 206–220, 3 jan. 2017.

HANCOCK, B. C.; PARKS, M. What is the True Solubility Advantage for Amorphous Pharmaceuticals? **Pharmaceutical Research** 2000 17:4, v. 17, n. 4, p. 397–404, 2000a.

HANCOCK, B. C.; PARKS, M. What is the true solubility advantage for amorphous pharmaceuticals? **Pharmaceutical Research**, v. 17, n. 4, p. 397–404, abr. 2000b.

HOTEZ, P. J.; FUJIWARA, R. T. Brazil’s neglected tropical diseases: an overview and a report card. **Microbes and infection / Institut Pasteur**, v. 16, n. 8, p. 601–606, 2014.

HUNGRIA, E. M. et al. Antigen-specific secretion of IFN $\gamma$  and CXCL10 in whole blood assay detects *Mycobacterium leprae* infection but does not discriminate asymptomatic infection from symptomatic leprosy. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 87, n. 4, p. 328–334, 2017.

JAGANNATH, C. et al. Chemotherapeutic activity of clofazimine and its analogues against *Mycobacterium tuberculosis*: In vitro, intracellular, and in vivo studies. **American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine**, v. 151, n. 4, p. 1083–1086, 1995.

KAR, H. K.; GUPTA, R. Treatment of leprosy. **CLINICS IN DERMATOLOGY**, v. 33, n. 1, p. 55–65, 2015.

KORNBERG, H. L.; KREBS, H. A. © 1957 Nature Publishing Group. **Group Nature Publishing**, v. 180, p. 756–757, 1957.

KURNIAWATI, PUTRI. No Title الـتواصل على طفرة «الإلكتروني». **Universitas Nusantara PGRI Kediri**, v. 01, p. 1–7, 2017.

LEGENDRE, D. P.; MUZNY, C. A.; SWIATLO, E. Hansen's disease (Leprosy): Current and future pharmacotherapy and treatment of disease-related immunologic reactions. **Pharmacotherapy**, v. 32, n. 1, p. 27–37, 2012.

LIPINSKI, C. A. et al. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. SUPPL., p. 4–17, 2012.

LIU, C. et al. Oral bioavailability enhancement of  $\beta$ -lapachone, a poorly soluble fast crystallizer, by cocrystal, amorphous solid dispersion, and crystalline solid dispersion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 124, n. August 2017, p. 73–81, 2018.

LU, X. et al. Molecular Interactions in Posaconazole Amorphous Solid Dispersions from Two-Dimensional Solid-State NMR Spectroscopy. **Molecular Pharmaceutics**, v. 16, n. 6, p. 2579–2589, 3 jun. 2019.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia prático sobre a hanseníase**. [s.l: s.n.].

MOLYNEUX, D. H.; HOTEZ, P. J.; FENWICK, A. “Rapid-impact interventions”: How a policy of integrated control for Africa's neglected tropical diseases could benefit the poor. **PLoS Medicine**, v. 2, n. 11, p. 1064–1070, 2005.

MONTEIRO, Y. N. Hanseníase: história e poder no estado de Sao Paulo. **Hansenologia Internationalis: hanseníase e outras doenças infecciosas**, v. 12, n. 1, p. 1–7, 30 jun. 1987.

NIE, H. et al. Investigating the Interaction Pattern and Structural Elements of a Drug-Polymer Complex at the Molecular Level. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 7, p. 2459–2468, 6 jul. 2015.

NIE, H. et al. Solid-state spectroscopic investigation of molecular interactions between clofazimine and hypromellose phthalate in amorphous solid dispersions. **Molecular Pharmaceutics**, v. 13, n. 11, p. 3964–3975, 7 nov. 2016.

NOGUEIRA, W. et al. Perspectivas de eliminação da hanseníase. **Hansenologia Internationalis: hanseníase e outras doenças infecciosas**, v. 20, n. 1, p. 19–28, 1995.

OLIVEIRA, F. R. et al. Clinical applications and methemoglobinemia induced by dapsone. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 25, n. 10, p. 1770–1779, 2014.

PRASAD, P. V. S.; KAVIARASAN, P. K. Leprosy therapy, past and present: Can we hope to eliminate it? **Indian Journal of Dermatology**, v. 55, n. 4, p. 316–324, 2010.

QUEIROZ, M. DE S.; PUNTEL, M. A. Um pouco de história da hanseníase. **A endemia hanseníca: uma perspectiva multidisciplinar**, p. 25–37, 1997.

REDDY, V. M.; O’SULLIVAN, J. F.; GANGADHARAM, P. R. J. Antimycobacterial activities of riminophenazines. **JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY**, v. 43, n. 5, p. 615–623, 1999.

REIS, A. C. N. F. DOS et al. Impacto da pandemia de COVID-19 no cuidado continuado da hanseníase: uma revisão integrativa. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. e339111436490, 2022.

SCHAAD-LANYI, Z. et al. Pharmacokinetics of clofazimine in healthy volunteers. **International journal of leprosy and other mycobacterial diseases : official organ of the International Leprosy Association**, v. 55, n. 1, p. 9–15, mar. 1987.

SCHRAM, C. J.; TAYLOR, L. S.; BEAUDOIN, S. P. Influence of Polymers on the Crystal Growth Rate of Felodipine: Correlating Adsorbed Polymer Surface Coverage to Solution Crystal Growth Inhibition. **Langmuir**, v. 31, n. 41, p. 11279–11287, out. 2015.

SCHVER, G. C. R. M.; LEE, P. I. On the usefulness of sink index in characterizing the degree of nonsinkness in dissolution studies. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 605, p. 120845, 10 ago. 2021.

SCHVER, G. C. R. M.; NADVORNY, D.; LEE, P. I. Evolution of supersaturation from amorphous solid dispersions in water-insoluble polymer carriers: Effects of swelling capacity and interplay between partition and diffusion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 581, p. 119292, 15 maio 2020.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on Absorption of Eutectic Mixture. I. A Comparison of the Behavior of Eutectic Mixture of Sulfathiazole and that of Ordinary Sulfathiazole in Man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 9, n. 11, p. 866–872, 25 nov. 1961.

SENER, O. et al. Severe dapsone hypersensitivity syndrome. **Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology**, v. 16, n. 4, p. 268–270, 2006.

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

SIGFRIDSSON, K. et al. Sustained release and improved bioavailability in mice after subcutaneous administration of griseofulvin as nano- and microcrystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 566, p. 565–572, 20 jul. 2019.

SINGH, A.; VAN DEN MOOTER, G. Spray drying formulation of amorphous solid dispersions. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 100, p. 27–50, 2016.

STEGEMANN, S. et al. When poor solubility becomes an issue: From early stage to proof of concept. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 31, n. 5, p. 249–261, 2007.

SUN, D. D.; JU, T. C. R.; LEE, P. I. Enhanced kinetic solubility profiles of indomethacin amorphous solid dispersions in poly(2-hydroxyethyl methacrylate) hydrogels. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 1, p. 149–158, maio 2012.

SUN, D. D.; LEE, P. I. Evolution of supersaturation of amorphous pharmaceuticals: The effect of rate of supersaturation generation. **Molecular Pharmaceutics**, v. 10, n. 11, p. 4330–4346, 2013.

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

SUN, D. D.; LEE, P. I. Evolution of supersaturation of amorphous pharmaceuticals: Nonlinear rate of supersaturation generation regulated by matrix diffusion. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, n. 4, p. 1203–1215, 6 abr. 2015a.

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

SZETO, W. et al. Clofazimine enteropathy: A rare and underrecognized complication of mycobacterial therapy. **Open Forum Infectious Diseases**, v. 3, n. 3, p. 1–4, 2016.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. **General Chapter, (1236) Solubility Measurements**. Rockville, MD: United States Pharmacopeia, 2023. v. USP-NF

VAN SPEYBROECK, M. et al. Enhanced absorption of the poorly soluble drug fenofibrate by tuning its release rate from ordered mesoporous silica. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 41, n. 5, p. 623–630, 23 dez. 2010.

VERBIĆ, T. Ž. et al. Clofazimine pKa Determination by Potentiometry and Spectrophotometry: Reverse Cosolvent Dependence as an Indicator of the Presence of Dimers in Aqueous Solutions. **Molecular Pharmaceutics**, v. 20, n. 6, p. 3160–3169, 5 jun. 2023.

VIRMOND, M.; GRZYBOWSKI, A.; VIRMOND, L. Leprosy: A glossary. **Clinics in Dermatology**, v. 33, n. 1, p. 8–18, 1 jan. 2015.

VLADIMIR, D.; OPROMOLLA, A. HANSENOLOGIA. 2000.

WHITE, C.; FRANCO-PAREDES, C. Leprosy in the 21st century. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 28, n. 1, p. 80–94, 2015.

WILLIAMS, H. D. et al. **Strategies to address low drug solubility in discovery and development**. **Pharmacological Reviews**American Society for Pharmacology and Experimental Therapy, , 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Multidrug therapy against leprosy : development and implementation over the last 25 years. p. 1–179, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global leprosy (Hansen disease) update, 2021: moving towards interruption of transmission. **Weekly Epidemiological Record**, v. 36, p. 429–450, 2022.

WOZEL, G.; BLASUM, C. Dapsone in dermatology and beyond. **Archives of Dermatological Research**, v. 306, n. 2, p. 103–124, 2014.

XIE, T.; TAYLOR, L. S. Dissolution Performance of High Drug Loading Celecoxib Amorphous Solid Dispersions Formulated with Polymer Combinations. **Pharmaceutical Research**, v. 33, n. 3, p. 739–750, 12 mar. 2016.

YAWALKAR, S. J.; HER, W. V. Lamprene ( Cl ofaz imine) in Leprosy. [s.d.].

YONEMOTO, A. C. F. et al. Fisiopatologia da hanseníase: resposta imunológica relacionada às formas clínicas. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 9, p. e42211932058, 14 jul. 2022.

ZHU, Y. I.; STILLER, M. J. Dapsone and sulfones in dermatology: Overview and update. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v. 45, n. 3, p. 420–434, 2001.

ZUIDEMA, J.; HILBERS-MODDERMAN, E. S. M.; MERKUS, F. W. H. M. Clinical Pharmacokinetics of Dapsone. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 11, n. 4, p. 299–315, 1986.