



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

LARIZA DARLENE SANTOS ALVES

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS BINÁRIAS
VISANDO O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE AQUOSA DO
ANTIRRETROVIRAL EFAVIRENZ**

RECIFE

2010

LARIZA DARLENE SANTOS ALVES

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS BINÁRIAS
VISANDO O INCREMENTO DA SOLUBILIDADE AQUOSA DO
ANTIRRETROVIRAL EFAVIRENZ**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, para a obtenção do Título de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

RECIFE

2010

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Alves, Lariza Darlene Santos

Desenvolvimento de dispersões solidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral efavirenz / Lariza Darlene Santos Alves. – Recife: O Autor, 2010.

131 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCB. Inovação Terapêutica , 2010.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Farmacologia 2. Medicamentos – Desenvolvimento 3. AIDS (Doença) 4. HIV (Vírus) I. Título.

615

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2010-197

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Ângela Maria Isidro Farias

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Arruda de Moraes

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

Prof^a. Dr^a. Suely Lins Galdino

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

Prof^a. Dr^a. Ana Cristina de Almeida Fernandes



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

Recife, 13 de agosto de 2010.

Dissertação de Mestrado defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 13 de agosto de 2010 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

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

(Departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: _____

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho

(Departamento de Bioquímica de Farmacologia da Universidade Federal do Piauí)

Assinatura: _____

EXAMINADOR INTERNO: Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima

(Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco).

Assinatura: _____

AGRADECIMENTOS

Ao **Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica e a Universidade Federal de Pernambuco** pela oportunidade de realizar minha formação acadêmica.

Ao meu orientador, **Prof. Pedro Rolim**, por todo carinho, atenção e confiança depositada. Saiba que lhe admiro muito, e estou muito feliz por participar da família LTM e poder aprender todos os dias com você.

A **minha família**, em especial ao meu querido pai **Arivonaldo Alves**, por todo amor, apoio e compreensão. Além de todas as contribuições que trouxeram na minha formação pessoal e profissional, através do qual possibilitou a construção deste trabalho. Vocês são a essência da minha vida! Serei eternamente grata.

A **Julio César** por toda colaboração realizada neste trabalho, assim como por todo o companheirismo nesta fase tão importante da minha vida. Obrigada por tudo.

Aos meus companheiros de projeto **Mônica Soares, Camila Tavares, Élica Rodrigues, Alexandre Couto e Danilo Fontes**, pelo empenho e por todos os momentos disponibilizados na execução desse projeto.

Aos meus queridos amigos da **família LTM**, pela convivência maravilhosa que vocês me proporcionam todos os dias. É muito bom trabalhar com vocês. Muito obrigada **Magaly Lyra, Larissa Rolim, José Lourenço Neto, Fabiana Lícia, Luíse Lopes, Salvana Costa, Thays Lucena, Ana Flávia Pessanha, Maria Luiza Moura, Graziella Marques, Amanda Vieira e Keyla Emanuelle**. E um pouco mais distante, mas sempre presentes **Rosali Silva, José Lamartine Soares Sobrinho, Ádley Lima, Geisiane Presmich, Lívio Nunes e Jackson Silva**.

Aos meus queridos amigos **Jana Sandes, Marcos Andrade, Lylian Rodrigues, Evelyn Mirella e Januária Lima**, por todos os momentos de alegrias, e por todo o incentivo nesta longa caminhada.

A **Prof^a Miracy Albuquerque** do **NCQMC/UFPE** pelo auxílio e disponibilidade na utilização de equipamentos, um agradecimento especial à **Ruth Strattmann** pela colaboração e atenção.

Ao **João Carlos e Pedro Canuto Vieira Costa** do **Departamento de Física/UFPE** pela realização dos estudos de difração de Raios-X e MEV.

Ao **Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE)** pelas colaborações realizadas no desenvolvimento tecnológico de medicamentos antirretrovirais juntamente com o Laboratório de Tecnologia dos Medicamentos/UFPE.

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

“Ao pensar em como podemos fazer uma grande diferença, não devemos ignorar as pequenas coisas que podemos fazer a cada dia, as quais, com o passar do tempo, acabam virando obras bastante significativas, que nem sempre podemos prever.”

Marian Wright Edelman

“O único lugar do mundo onde sucesso vem antes do trabalho é no dicionário”.

Vidal Sasson

RESUMO

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz. 2010. 131f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brasil.

O efavirenz (EFZ), utilizado como parte do tratamento de primeira escolha na terapia antirretroviral para a AIDS, possui baixa molhabilidade e solubilidade aquosa, apresentando problemas de absorção no trato gastrointestinal e baixa biodisponibilidade. Uma das abordagens utilizadas para o contorno desses entraves se dá através da obtenção de dispersões sólidas (DS), técnica esta utilizada para o EFZ. Para o desenvolvimento deste trabalho, realizou-se inicialmente o desenvolvimento e a validação, segundo o ICH e a RE nº 899/03 (ANVISA), de um método para o doseamento do EFZ por espectrofotometria no UV-Vis, utilizando como sistema os solventes álcool etílico/água (60:40) ($\lambda = 247 \text{ nm}$), permitindo a quantificação do fármaco através de um método prático, confiável e de baixo custo para a rotina laboratorial. Visando o desenvolvimento das DS, realizou-se inicialmente um diagrama de solubilidade de fases com carreadores de diferentes classes (polímeros, surfactantes, ácidos orgânicos, poliol e hidrotopo) nas concentrações de 0,01 %; 0,05 %; 0,1 %; 0,3 %; 0,5 %; 0,7 % e 1 %, p/v. De acordo com os resultados apresentados, os surfactantes apresentaram os maiores incrementos de solubilidade, com destaque para o polissorbato (aumento de 928 vezes). Contudo, visando uma DS com consistência adequada para uma formulação sólida, optou-se pela utilização do PVP K-30, por apresentar dentre os polímeros o melhor incremento de solubilização (cerca de 25 %) como o mais adequando para a preparação das dispersões. Dessa forma, obtiveram-se os sistemas binários utilizando o PVP K-30, através dos métodos de malaxagem e solvente (rotaevaporação) nas proporções 1:1; 2:1 e 4:1 (fármaco: polímero). Esses foram avaliados e caracterizados através das técnicas de DSC, IV-TF, MEV, DR-X e ensaio de dissolução. Através dessas análises observou-se que as DS rotaevaporadas apresentaram resultados insatisfatórios no incremento da taxa de dissolução, apesar do estado amorfo apresentando por essas amostras, enquanto que a DS malaxada 4:1 e as misturas físicas (MF) apresentaram um alto incremento na taxa de dissolução, devido a diminuição da tensão superficial entre sólido-líquido e o aumento da molhabilidade do fármaco. A DS malaxada 4:1 e sua respectiva MF, também foram avaliadas com relação as suas características de densidade e compressibilidade, e de estabilidade através de TG e IV antes e após a serem submetidas a condições de estocagem em câmara de estabilidade acelerada (40 °C/75 % UR) durante 30 dias. Através desses estudos, pode-se observar vantagens na densidade dos sistemas binários em relação ao fármaco isolado, assim como foi observada uma maior estabilidade térmica do EFZ nesses sistemas, não havendo diferenças entre as amostras submetidas a condições adversas de estocagem e as analisadas no tempo inicial (T_0). Para a obtenção de uma forma farmacêutica sólida a partir das dispersões, serão necessários alguns estudos adicionais para o ajuste de uma formulação. Neste caso, a obtenção da forma farmacêutica cápsula mostrou-se promissora.

PALAVRAS-CHAVE: efavirenz, carreadores hidrofílicos, dispersões sólidas

ABSTRACT

ALVES, L. D. S. Development of solid dispersions order to increase the binary aqueous solubility of antiretroviral Efavirenz. 2010. 131f. Dissertation (Master). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Pernambuco, Brazil.

Efavirenz (EFZ), used as part of the treatment of choice for antiretroviral therapy for AIDS, has low wettability and aqueous solubility, presenting problems of absorption in the gastrointestinal tract and low bioavailability. One of the approaches used for the outline of these obstacles is through obtaining solid dispersions (SD), this technique used for the EFZ. To develop this work, there was initially the development and validation according to ICH and RE n° 899/03 (ANVISA), a method for the determination of EFZ by UV-Vis spectrophotometry, using alcohol as the solvents system ethanol/water (60:40) ($\lambda = 247 \text{ nm}$), allowing quantification of the drug through a practical, reliable and low cost to the laboratory routine. Aiming at the development of the SD, there was initially a phase solubility diagram with carriers of different classes (polymers, surfactants, organic acids, polyol and hidrotopo) at concentrations of 0,01 %, 0,05 %, 0,1 % , 0,3 %, 0,5 %, 0,7 % and 1 % w/v. According to the results presented, the surfactants had the highest increase in solubility, especially polysorbate (increase of 928 times). However, seeking an appropriate consistency for SD with a solid formulation, we opted for the use of PVP K-30, for presenting the best among the polymers to increase solubility (25 %) as the most relevant for the preparation of dispersions. Thus, we obtained the binary systems using PVP K-30 using the methods of kneading and solvent (rotaevaporação) 1:1, 2:1 and 4:1 (drug: polymer). These were evaluated and characterized using the techniques of DSC, FT-IR, SEM, DRX and dissolution test. Through these tests showed that the SD rotatory evaporator showed unsatisfactory results in increasing the rate of dissolution, although the amorphous state by presenting the samples, while the SD kneading and 4:1 physical mixtures (PM) had a high growth rate dissolution, due to decreased surface tension between solid-liquid and increasing the wettability of the drug. SD kneading 4:1 and its respective PM, were also evaluated with respect to their characteristics of density and compressibility, and stability through TG and IV before and after being subjected to storage conditions of accelerated stability chamber (40 ° C/75 % RH) for 30 days. Through these studies, we can see advantages in the density of binary systems in relation to the drug alone, as was observed a higher thermal stability of these systems EFZ, with no differences between the samples subjected to adverse storage conditions and analyzed in time initial (T_0). To obtain a solid dosage form from the dispersions will require some additional studies to fit in a formulation. In this case, obtaining the capsule dosage form was shown to be promising.

KEYWORDS: efavirenz, hydrophilic carriers, solid dispersions

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1. Estrutura do vírus HIV.	27
Figura 2. Ciclo do retrovírus HIV.	28
Figura 3. Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS comparado com convencionais formulações de comprimidos e cápsulas.....	38
Figura 4. Estrutura química do monômero do PVP.	44
Figura 5. Representação da estrutura monomérica do PVP e a formação da ligação entre fármaco (M) e o polímero.....	45
Figura 6. Estrutura química do monômero de PEG.....	47
Figura 7. Estrutura química do monômero de HPMC.....	48
Figura 8. Estrutura química do EFZ ($C_{14}H_9ClF_3NO_2$) e varredura espectrofotométrica no sistema solvente selecionado.	67
Figura 9. Gráfico de linearidade do método desenvolvido.....	69
Figura 10. Varreduras realizadas para a avaliação da especificidade do método.....	73
Figura 11. Curvas do diagrama de solubilidade com polímeros hidrofílicos.....	79
Figura 12. Curvas do diagrama de solubilidade com ácido cítrico, manitol e uréia.	80
Figura 13. Curvas do diagrama de solubilidade com os agentes surfactantes/emulsionantes..	80
Figura 14. Perfis de dissolução das DS EV, MF e EFZ.	84
Figura 15. Perfis de dissolução das DS MX, MF e EFZ.	84

Figura 16. Comportamento de DS MX 1:1 em cápsula gelatinosa no meio de dissolução com LSS 0,5%. (A) Antes da dissolução, (B) 10 min, (C) 15 min, (D) 30 min, (E) 45 min, (F) 60 min, (G) Aspecto da DS após 60 min de dissolução.	86
Figura 17. Curvas DSC para componentes isolados e sistemas binários de BNZ e PVP K-30: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.	89
Figura 18. Eletromicrografias de MEV: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS MX 1:1, (E) MF 1:1, (F) DS EV 2:1, (G) DS MX 2:1, (H) MF 2:1, (I) DS EV 4:1, (J) DS MX 4:1, (L) MF 4:1.	92
Figura 19. Difrátogramas do EFZ, PVP K-30 e sistemas binários: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.	94
Figura 20. Espectros de infravermelho dos componentes isolados, MF e DS. (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.	97
Figura 21. Curvas de TG das amostras antes de estocagem (t_0), obtidos a 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.	99
Figura 22. Curvas de TG das amostras após serem submetidas a estocagem (30 dias), obtidos a 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.	100
Figura 23. Espetros de infravermelho das amostras submetidas a condições de estocagem durante 30 dias: (A) EFZ, (B) MF 4:1, (C) DS MX 4:1.	102

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Medicamentos antirretrovirais disponíveis no mercado brasileiro	33
Tabela 2. Sistemas solventes utilizado na preparação da solução mãe de 500 µg/mL (primeira diluição) e da solução amostra de 10 µg/mL (segundo diluição).....	66
Tabela 3. Resultados experimentais do desenvolvimento do método com relação ao tipo e tempo de agitação das amostras.....	67
Tabela 4. Resultados da robustez com relação ao parâmetro luminosidade e estabilidade das amostras.	68
Tabela 5. Resultado do tratamento estatístico por ANOVA <i>One-Way</i> para a regressão linear.	70
Tabela 6. Resultados experimentais obtidos na precisão intermediária com o sistema testado.	71
Tabela 7. Resultados experimentais obtidos para a reprodutibilidade.	71
Tabela 8. Resultados da Exatidão do método.....	72
Tabela 9. Resultados experimentais obtidos na precisão intermediária com os diferentes sistemas testados.....	74
Tabela 10. Resultados experimentais e teóricos para o parâmetro linearidade nos solventes água purificada e metanol.....	76
Tabela 11. Parâmetros do estudo de solubilidade do efavirenz obtidos com os carreadores a 25 °C.	78
Tabela 12. Valores de energia livre de Gibbs para o processo de solubilização do EFZ em meio aquoso com diferentes carreadores.....	82
Tabela 13. Percentagem e eficiência de dissolução do EFZ e sistemas binários dissolvido após 15, 30 e 60 min.	88
Tabela 14. Dados térmicos obtidos por DSC do evento de fusão do EFZ nas diferentes amostras avaliadas.	91
Tabela 15. Resultados das propriedades de compressibilidade das amostras analisadas.	98
Tabela 16. Resultados obtidos com sistemas avaliados antes e após condições adversas de estocagem.	101

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

UNAIDS	Programa conjunto das Nações Unidas sobre AIDS
SIDA	Síndrome da Imunodeficiência Humana
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
AIDS	<i>Acquired Immuno Deficiency Syndrome</i>
EFZ	Efavirenz
AZT	Zidovudina
3TC	Lamivudina
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
DS	Dispersão Sólida
MF	Mistura Física
IV-TF	Infravermelho por Transformada de Fourier
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória
TG	Termogravimetria
UV-vis	Ultra Violeta visível
RNA	Ácido Ribonucléico
SUS	Sistema Único de Saúde
PN-DST/AAIS	Programa Nacional DST/AIDS
HAART	<i>Highly Active Antiretroviral Therapy</i>
gp	Glicoproteína
TR	Transcriptase Reversa
DNA	Ácido desoxirribonucléico
ITRN	Inibidores da Transcriptase Reversa Nucleosídico

ITRNN	Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Nucleosídico
IP	Inibidor de Protease
IF	Inibidor de Fusão
PVP	Polivinilpirrolidona
PEG	Polietilenoglicol
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
PM	Peso molecular
PF	Ponto de fusão
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
EHL	Equilíbrio hidrofílico lipofílico
CD	Ciclodextrina
MC	Metilcelulose
HEC	Hidroxietilcelulose
HPC	Hidroxipropilcelulose
HEMC	Hidroetilmetilcelulose
Na-CMC	Carboximetilcelulose de sódio
AP	Ácido polivinílico
HDMP	brometo de hexadimetrina
HP β CD	Hidroxipropil- β -ciclodextrina
SBE β CD	Sulfabutiléter- β -ciclodextrina
MEV	Microscópio Eletrônico de Varredura
LAFEPE	Laboratório de Medicamentos de Pernambuco
CLAE	Cromatografia de Alta Eficiência

ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
RE	Resolução
NIST	<i>National Institute of Standards and Technology</i>
CV	Coeficiente de Variação
LD	Limite de Detecção
LQ	Limite de Quantificação
DP	Desvio Padrão
IC	Coeficiente angular
ANOVA	Análise de Variância
ED%	Eficiência de Dissolução

LISTA DE SÍMBOLOS

%	Porcentagem
pH	Potencial hidrogeniônico
°C	Graus Celsius
®	Marca registrada
p/v	peso/volume
mg	Miligrama
±	Mais ou menos
min	Minutos
mL	Mililitro
ΔH	Variação da energia de entalpia
J	Joules
g	Grama
KJ	Kilo Joules
μg	Micrograma
v/v	Volume/volume
ΔG	Variação da energia livre de Gibbs
R^2	Coeficiente de correlação linear

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	21
2. OBJETIVOS	24
2.1 OBJETIVO GERAL	24
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	24
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	26
3.1 AIDS: Aspectos gerais.....	26
3.2 Terapia antirretroviral: avanços e conquistas.....	30
3.3 As dispersões sólidas como alternativa tecnológica para o desenvolvimento de medicamentos	35
3.3.1 Avanços e aplicações das dispersões sólidas.....	37
3.3.2 Métodos de preparação das dispersões sólidas.....	39
3.3.2.1 Método de fusão	40
3.3.2.2 Método de solvente	41
3.3.2.3 Método fusão-solvente	41
3.3.2.4 Método de malaxagem	42
3.3.2.5 Método de atomização por <i>spray drying</i>	42
3.3.2.6 Método de fluido supercrítico	43
3.4 Agentes carreadores utilizados nas dispersões sólidas	43
3.4.1 Polivinilpirrolidona (PVP).....	44
3.4.2 Polietilenoglicol (PEG).....	46
3.4.3 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)	47
3.4.4 Novos carreadores	48

4. MATERIAL E MÉTODOS	52
PARTE EXPERIMENTAL I	52
4.1 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFAVIRENZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS	52
4.1.1 <i>Matéria prima, reagentes e vidrarias</i>	52
4.1.2 <i>Equipamentos</i>	52
4.1.3 <i>Desenvolvimento do método analítico</i>	53
4.1.4 <i>Preparação da solução amostra</i>	53
4.1.5 <i>Preparação da curva controle</i>	54
4.1.6 <i>Validação do método analítico</i>	54
4.1.6.1 <i>Parâmetros avaliados</i>	54
4.1.7 <i>Determinação da Absortividade Molar</i>	55
4.1.8 <i>Verificação da Aplicabilidade da Absortividade Molar</i>	56
PARTE EXPERIMENTAL II.....	57
4.2 OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS COM EFAVIRENZ	57
4.2.1 <i>Matérias primas e Reagentes</i>	57
4.2.2 <i>Diagrama de Solubilidade de Fases</i>	57
4.2.2.1 <i>Determinação da energia livre de Gibbs</i>	58
4.2.3 <i>Preparação das Misturas Físicas (MF)</i>	58
4.2.4 <i>Preparação das Dispersões Sólidas (DS)</i>	59
4.2.4.1 <i>Preparação pelo método de malaxagem (MX)</i>	59
4.2.4.2 <i>Preparação pelo método de solvente por rotaevaporação (EV)</i>	59
4.2.5 <i>Ensaio de dissolução</i>	60
4.2.6 <i>Caracterização físico-química</i>	61
4.2.6.1 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	61
4.2.6.2 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i>	61
4.2.6.3 <i>Difração de pó de Raios X (DRX)</i>	61
4.2.6.4 <i>Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF)</i>	62
ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.	

4.2.7 Caracterização farmacotécnica	62
4.2.8 Estudo de Estabilidade	63
4.2.8.1 Termogravimetria.....	63
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	65
PARTE EXPERIMENTAL I	65
5.1 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFAVIRENZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS	65
5.1.1 Desenvolvimento do método analítico.....	66
5.1.2 Validação do método analítico	69
5.1.2.1 Robustez	68
5.1.2.2 Linearidade.....	69
5.1.2.3 Precisão.....	70
5.1.2.4 Exatidão	72
5.1.2.5 Especificidade	72
5.1.3 Absortividade Molar (ϵ).....	73
5.1.4 Verificação da Aplicabilidade da Absortividade Molar	74
5.1.4.1 Precisão	74
5.1.4.2 Especificidade	75
5.1.4.3 Linearidade.....	75
PARTE EXPERIMENTAL II.....	77
5.2 OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS COM EFAVIRENZ	77
5.2.1 Diagrama de Solubilidade de Fases	77
5.2.3 Ensaio de dissolução.....	83
5.2.4 Caracterizações físico-químicas	89
5.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	90
5.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	92
5.2.4.3 Difração de Raios X (DRX).....	94
5.2.4.4 Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF).....	96
ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.	

5.2.5 Caracterização farmacotécnica.....	98
5.2.6 Estudo de Estabilidade	99
6. CONCLUSÃO	104
7. PERSPECTIVAS	106
REFERÊNCIAS	108
ANEXOS.....	121

Introdução

1. INTRODUÇÃO

Segundo a UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas sobre AIDS) (2009), cerca de 33 milhões de pessoas vivem com Síndrome da Imunodeficiência Humana (SIDA), mais conhecida como AIDS. Grande parte dessa população infectada reside nos países em desenvolvimento, visto que o acesso à prevenção primária e o diagnóstico são restritos e muitas vezes inexistentes.

O governo brasileiro vem sendo reconhecido, há muitos anos, como líder mundial na defesa e garantia dos direitos de indivíduos infectados pelo vírus da Imunodeficiência Humana (HIV). Esse estabeleceu ainda que o acesso aos fármacos antirretrovirais para o tratamento da infecção pelo HIV é um direito de todos os seus cidadãos. Mas, ao lado da distribuição, vem ganhando importância a produção nacional de medicamentos, que é apresentada como uma estratégia fundamental para a manutenção do programa de distribuição (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). Sobretudo, a produção local dos antirretrovirais deu destaque internacional à forma como o Brasil está enfrentando a epidemia (ROSENBERG, 2001).

O Efavirenz (EFZ), utilizado no tratamento como fármaco de primeira escolha, juntamente com a Zidovudina (AZT) e Lamivudina (3TC), faz parte da terapia de 75 mil das 200 mil pessoas e chegou a representar o custo de US\$ 42.930.000 no ano de 2007 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008). Contudo, o licenciamento compulsório ocorrido no final deste mesmo ano (previsto no artigo 31 do Acordo sobre os Aspectos dos Direitos de Propriedade Intelectual), possibilitou ao Brasil a produção nacional do medicamento, garantindo o acesso universal a um número cada vez maior de pacientes, reduzindo custos e viabilizando a sustentabilidade do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) /AIDS.

Apesar das vantagens terapêuticas proporcionadas pelo EFZ, a sua baixa solubilidade aquosa proporciona problemas de absorção no trato gastrointestinal e consequentemente biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica, sendo classificado como de classe II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), segundo o sistema de classificação biofarmacêutica (SATHIGARI *et al.*, 2009). Essa característica, portanto, torna-se um aspecto relevante a ser superado uma vez que o aumento da hidrossolubilidade de fármacos pouco solúveis é

considerado um dos mais desafiantes aspectos no desenvolvimento moderno de fármacos e de novas formas farmacêuticas (RATHBONE; HADGRAFT; ROBERTS, 2003; KARAVAS *et al.*, 2007).

Neste sentido, uma das mais tradicionais abordagens para o incremento da biodisponibilidade de fármacos com essa característica se dá através do aumento da velocidade e taxa de dissolução pela formação de dispersões sólidas (DS) (BIKIARIS *et al.*, 2005). No entanto, existem poucos relatos da aplicação desta técnica em produtos acabados, demonstrando a necessidade do conhecimento aprofundado em relação as possibilidades de aplicações e do comportamento do fármaco nesses sistemas, de forma a se obter medicamentos que garantam a eficácia terapêutica desejada, utilizando uma técnica simples e de baixo custo (LEONARDI *et al.*, 2007).

Paralelamente a este aspecto, diversos métodos analíticos para a quantificação do EFZ são preconizados na literatura científica utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do fármaco isolado e na forma farmacêutica cápsula (MONTGOMERY *et al.*, 2001), assim como em plasma na forma isolada e associado a outros antirretrovirais (MOGATLE; KANFER, 2009; MARTIN *et al.*, 2009; RAMACHANDRAN *et al.*, 2006; DAILLY; RAFFI; JOLLIET, 2004; MATTHEWS *et al.*, 2002; KAPPELHOFF *et al.*, 2003; REZK; TIDWELL; KASHUBA, 2002; LANGMANN *et al.*, 2001; SARASA-NACENTA *et al.*, 2001; MARZOLINI *et al.*, 2000; VELDKAMP *et al.*, 1999). Contudo, nenhum método analítico por espectrofotometria de absorção no ultravioleta visível (UV-Vis) foi relatado.

Portanto, esse trabalho descreve o desenvolvimento e a validação de um método analítico para quantificação da matéria prima EFZ, atendendo às exigências da *International Conference on Harmonization* (ICH Q2A e ICH Q2B) e da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), Resolução (RE) nº 899 de 2003, (BRASIL, 2003), conferindo praticidade, confiabilidade e baixo custo para a utilização deste método na rotina laboratorial da indústria farmacêutica, inexistente na literatura atual. Adicionalmente, o caráter inovador desse trabalho estará suportado na utilização de metodologias utilizadas para obtenção de sistemas de DS binários de EFZ e um polímero hidrofílico não tóxico e de baixo custo, proporcionando vantagens relacionadas à otimização das características físico-químicas e farmacotécnicas em relação ao fármaco isolado, e consequentemente de melhores propriedades que podem vir a otimizar eficácia terapêutica do EFZ em relação ao medicamento atualmente utilizado.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Obter dispersões sólidas pelos métodos de malaxagem e solvente utilizando a polivinilpirrolidona (PVP) K-30 como carreador hidrofílico, visando o incremento da taxa e do percentual de EFZ dissolvido.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Desenvolver método analítico para quantificação do EFZ por espectrofotometria no UV-Vis;
- Avaliar o incremento da solubilização do EFZ por diferentes tipos de carreadores em solução através do diagrama de solubilidade de fases, objetivando a escolha do carreador a ser utilizado na preparação das dispersões sólidas;
- Obter misturas físicas e DS pelos métodos de malaxagem e solvente, utilizando o carreador selecionado após avaliação do diagrama de solubilidade;
- Realizar caracterização do fármaco EFZ, das misturas físicas e dispersões sólidas através de ensaio de dissolução, Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Difração de Raios-X (DRX) e Infravermelho por Transformada de Fourier (IV-TF);
- Realizar caracterização farmacotécnica através de avaliação de densidade e compressibilidade do EFZ e do sistema binário que apresentou a melhor taxa de dissolução (DS MX 4:1), e sua respectiva mistura física (MF 4:1);
- Avaliar estabilidade do EFZ e desse sistemas binários escolhidos através de Termogravimetria (TG) e IV-TF. Adicionalmente avaliar a estabilidade dos mesmos após serem submetidos à estocagem sob condições de umidade e temperatura controladas (75 % UR/40 °C) em câmara de estabilidade acelerada através de TG e IV-TF.

Revisão Bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 AIDS: Aspectos gerais

Desde sua descoberta, a epidemia da infecção pelo HIV representa um fenômeno global, dinâmico e instável, cuja forma de ocorrência nas diferentes regiões do mundo depende, entre outros determinantes, do comportamento humano individual e coletivo. A AIDS destaca-se entre as enfermidades infecciosas emergentes pela grande magnitude e extensão dos danos causados às populações e, desde a sua origem, cada uma de suas características e repercussões tem sido exaustivamente discutida pela comunidade científica e pela sociedade em geral (BRITO *et al.*, 2000).

A sua identificação, no início da década de 80 tornou-se um marco na história da humanidade. Os primeiros casos identificados relatavam a presença de uma pneumonia extremamente grave causada por *Pneumocystis carinni* e um determinado tipo de câncer de pele raro conhecido como sarcoma de Kaposi, nos Estados Unidos, em homens jovens homossexuais e alguns usuários de drogas. Logo, se estabeleceu que se tratava de uma doença infecciosa, cuja transmissão se dava por um microorganismo transmitido de maneira semelhante a hepatite B, por contato sexual, inoculação de sangue ou seus subprodutos e transmissão vertical (LANCELLOTTI; GAGLIANI, 2005).

Por volta de 1984, pesquisadores de São Francisco conseguiram isolar um retrovírus a partir de pacientes aidéticos de diferentes grupos de riscos, que foi identificado como o possível agente etiológico da AIDS, sendo posteriormente designado pelo Comitê Internacional de Taxonomia dos Vírus como Vírus da Imunodeficiência Humana, cuja fisiopatologia atacava especialmente os linfócitos T CD 4+ (“*helper*”). Este vírus pertence a família Retroviridae e possui material genético composto com ácido ribonucléico (RNA) (LANCELLOTTI; GAGLIANI, 2005) (Figura 1).

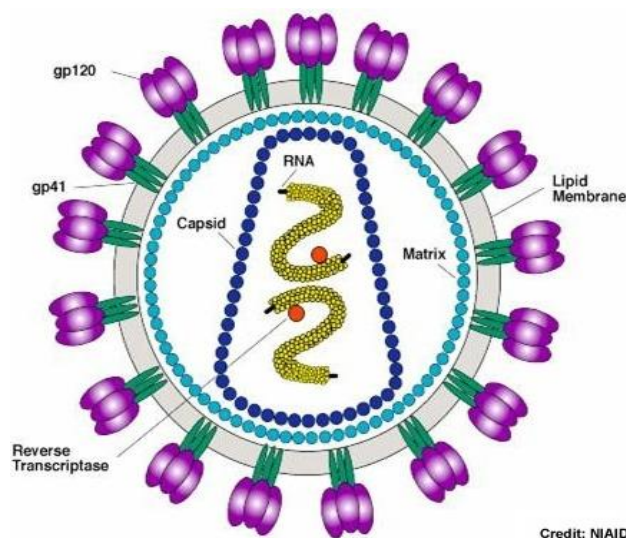


Figura 1. Estrutura do vírus HIV.

Foram evidenciados por estudos sorológicos até o presente momento dois tipos antigênicos: HIV-1 e HIV-2, sendo o tipo 1 o mais virulento e o principal responsável pela pandemia da AIDS. O HIV- 2, aparentemente menos patogênico, é encontrado quase exclusivamente no oeste da África (GRANT; COCK, 2001).

A infecção por esse vírus se dá quando o HIV funde a sua membrana celular ao do linfócito, por meio da proteína *gp 120*, sendo em seguida liberado o conteúdo do cápsideo do vírus, contendo o seu RNA e enzimas, no citoplasma celular das células T CD 4+. Posteriormente, a enzima *transcriptase reversa* (TR) atua na conversão do RNA viral em ácido desoxirribonucleico (DNA), permitindo que este entre chegue ao núcleo da célula infectada, assumindo o controle dos mecanismos de replicação. Desta forma, o DNA viral então transportado ao núcleo celular, ocorre a atuação de uma segunda enzima do HIV, a *integrase*, que catalisa a incorporação do DNA viral ao material genético do hospedeiro. Em seguida, após a transcrição e tradução dos genes virais, a enzima *protease* atua na fase final da montagem de um novo vírus, fundamental para a clivagem das cadeias protéicas produzidas pela célula infectada em proteínas virais estruturais e enzimas que formarão cada partícula do HIV (Figura 2) (SOUZA, 2005).

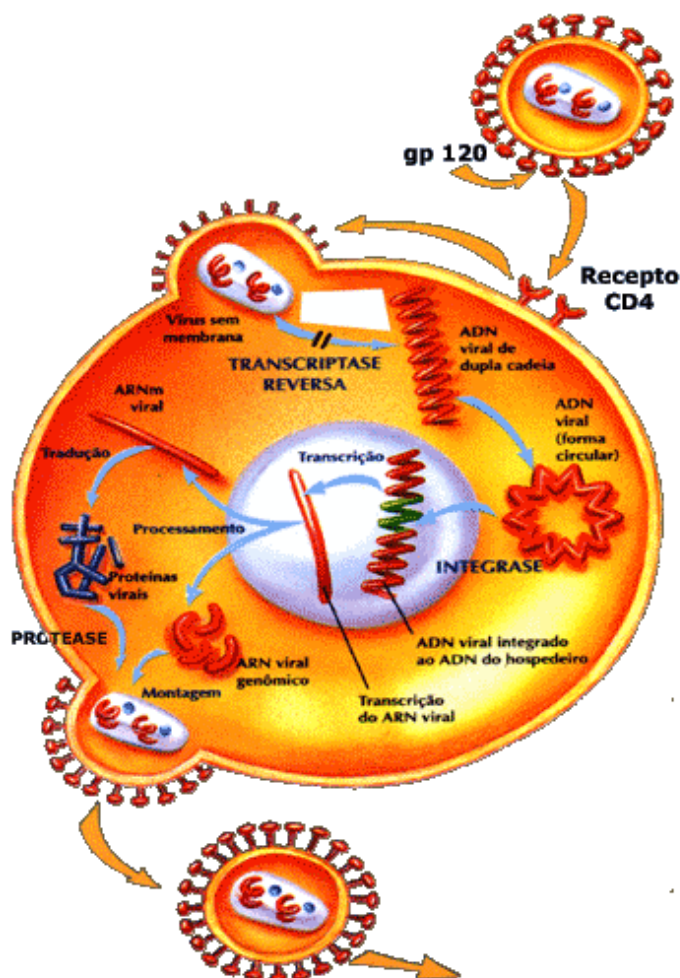


Figura 2. Ciclo do retrovírus HIV.

A infecção pelo HIV-1 cursa com amplo espectro de apresentações clínicas, desde a fase aguda, que pode se manifestar como síndrome retroviral aguda, até fase avançada da doença com as manifestações definidoras da síndrome da imunodeficiência. Em indivíduos não-tratados, estima-se em que o tempo médio entre o contágio e o aparecimento da doença seja de 10 anos (BRASIL, 2008).

A *infecção aguda* ou *Síndrome Retroviral Aguda* é caracterizada por uma doença transitória sintomática, que ocorre logo após exposição ao HIV. Está associada à intensa replicação viral e a uma resposta imunológica vírus específica. Após a transmissão do HIV-1, manifestações clínicas podem ocorrer em cerca de 50 a 90% dos indivíduos. O início dos sintomas ocorre entre duas a quatro semanas após a exposição, porém, já foi descrito em até

10 meses após a infecção primária. A duração dessa fase sintomática pode ser de sete a dez dias e, raramente, até duas semanas. Os sintomas, quando ocorrem, incluem febre alta por um ou dois dias, suores, linfadenomegalia transitória, que se caracteriza pela presença de nódulos indolores, esplenomegalia, fadiga, falta de apetite, depressão que pode durar semanas ou até meses, entre outros (BRASIL, 2008).

O diagnóstico clínico da infecção aguda pelo HIV, geralmente, passa despercebido por seu caráter inespecífico ou pela ausência de sintomas. O clínico deve estar atento para avaliar não só os dados do exame físico e as queixas, mas também a situação epidemiológica, incluindo história de possível exposição de risco para o HIV, tais como relações sexuais desprotegidas, utilização de drogas endovenosas e acidente com material biológico (BRASIL, 2008).

Denomina-se *fase assintomática* o estágio em que a pessoa infectada não apresenta qualquer sintoma. Esse período de latência do vírus é marcado pela forte interação entre o sistema imune e as constantes e rápidas mutações do vírus. Durante essa fase, os vírus amadurecem e morrem de forma equilibrada (BRASIL, 2008).

A *fase sintomática* é a fase em que se instalam doenças oportunistas, que são as doenças que se desenvolvem em decorrência de uma alteração imunitária do hospedeiro, devido à redução crítica de células T, que chegam abaixo de 200 unidades por mm³ de sangue. Adultos saudáveis possuem de 800 a 1200 unidades. Nessa fase, surgem os sintomas típicos da AIDS, tais como: diarreia persistente, dores de cabeça, contrações abdominais, febre, falta de coordenação, náuseas, vômitos, fadiga extrema, perda de peso e câncer (BRASIL, 2009).

No início da década de 1980, essa epidemia atingiu principalmente os usuários de drogas injetáveis, homossexuais, assim como os indivíduos que receberam transfusão de sangue e hemoderivados. Já nos últimos anos da década de 80 e início dos anos 90, a epidemia assumiu outro perfil. A transmissão heterossexual passou a ser a principal via de transmissão do HIV, a qual vem apresentando maior tendência de crescimento em anos recentes, acompanhada de uma expressiva participação das mulheres na dinâmica da epidemia. Os últimos anos são marcados também pelo processo de interiorização (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

No Brasil, desde a identificação do primeiro caso até junho de 2008, já foram identificados, aproximadamente, 506 mil casos da doença. Do total de notificações, cerca de 80% estão concentrados nas regiões Sudeste e Sul. Nesses estados, atualmente, observa-se um

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

lento processo de estabilização desde 1998, acompanhado mais recentemente pelo Centro-Oeste. As regiões Norte e Nordeste mantêm a tendência de crescimento do número de casos. Como resultado dessa dinâmica regional da epidemia, a taxa de incidência de AIDS no país mantém-se estabilizada, ainda que em patamares elevados (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2009).

3.2 Terapia antirretroviral: avanços e conquistas

Uma vez identificado o retrovírus, começaram as pesquisas por agentes que pudessem agir em diferentes enzimas e estruturas do vírus, possibilitando a pesquisa de diferentes fármacos que evitassem a multiplicação viral, diminuindo a progressão da infecção (LANCELLOTTI; GAGLIANI, 2005).

Em 1986, surgiu o primeiro antirretroviral, a Zidovudina (AZT), sintetizado inicialmente como um agente antitumoral, que demonstrou atividade inibitória contra HIV-1 *in vitro*, tornando-se o primeiro fármaco a ser aprovado para o tratamento da AIDS e condições relacionadas a ela (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002). A partir de então, gradativamente foi se conhecendo mais sobre a situação epidemiológica e as medidas preventivas necessárias (GIR; VAICHULONIS; OLIVEIRA, 2005).

Ao final da década de 80, dois compostos, HEPT e TIBO foram identificados como potentes protótipos anti-HIV em programas de seleção em cultura de células infectadas, sendo verificada a alta potência e especificidade destes compostos na inibição da enzima *transcriptase reversa* (TR) do HIV-1 (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002).

A descoberta destes novos inibidores estimulou o rastreamento de novos compostos com atividade semelhante. Dentre os compostos que apresentaram atividade, a nevirapina (Viramune®), delavirdina (Rescriptor®) e efavirenz (Sustiva®), foram aprovados para o tratamento da AIDS (PEÇANHA; ANTUNES; TANURI, 2002).

Posteriormente, a partir do desenvolvimento de novos medicamentos e dos estudos clínicos realizados, foi proposto o tratamento dos pacientes utilizando associações de fármacos antirretrovirais, sendo introduzida no ano de 1996 a terapia tríplice (BONOLO; GOMES; GUIMARÃES, 2007).

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Esta última é também conhecida como terapia antirretroviral de alta eficiência, *Highly Active Antiretroviral Therapy* (HAART), ou como coquetel de drogas, que vem contribuindo para uma dramática queda no número de mortes relacionadas ao vírus HIV e representa um padrão de terapia para o tratamento da AIDS (MARIER *et al.*, 2007). Essa terapêutica tem imposto benefícios consideráveis ao seu usuário como prolongamento de sobrevida, melhoria da qualidade de vida, diminuição de episódios mórbidos e diminuição do número e frequência de internações; entretanto, requer perfeita adesão (GIR; VAICHULONIS; OLIVEIRA, 2005).

A eficiência dos esquemas terapêuticos está fundamentada na atuação conjunta dos diferentes fármacos nas diferentes etapas do ciclo de replicação viral, que apresenta diversos eventos exclusivamente relacionados a componentes virais, que podem ser utilizados como alvos para intervenção quimioterápica (MARIER *et al.*, 2007).

Neste sentido, a partir do ciclo viral, a atual classificação dos agentes antirretrovirais utilizados no combate ao vírus HIV está dividida em quatro classes de fármacos, classificadas de acordo com as enzimas virais que inibem. Estes são: Inibidores da Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídicos (ITRNs), Inibidores da Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídicos (ITRNNs), Inibidores da Protease (IP) e Inibidores de Fusão (IF) (CHEARSKUL *et al.*, 2006).

Os ITRNs foram a primeira classe de fármacos que demonstraram atividade antirretroviral em pacientes tratados, para possuir atividade precisam sofrer fosforilação intracelular que os converte em sua forma 5'- trifosfato, a qual atua como um inibidor competitivo ou um substrato alternativo da TR. Se o inibidor for incorporado à cadeia de DNA, torna-se impossível a continuidade do crescimento desta. Assim, os ITRNs atuam como terminadores de cadeia (PEÇANHA; ANTUNES; TANURE, 2002).

A principal vantagem dos ITRNNs sobre os ITRNs é que estes não necessitam de uma etapa inicial de ativação intracelular através de fosforilação. Os ITRNNs não interagem com o sítio ativo da TR, mas sim com um sítio de ligação alostérico, localizado a aproximadamente 10000pm de distância do sítio catalítico (PEÇANHA; ANTUNES; TANURE, 2002).

A introdução dos IP do HIV foi feita, a partir de 1996, para uso em combinação com os inibidores da TR do vírus. A protease apresenta um papel fundamental para a maturação viral, sendo necessária para o processamento das poliproteínas Gag-Pol. Os inibidores de protease se ligam à enzima com mais afinidade do que o substrato natural, promovendo a

inibição por competição. Na presença de um IP, as novas partículas virais geradas são defectivas e incapazes de infectar novas células (FERRARINI *et al.*, 2004).

Os IF representam uma nova abordagem na estratégia de combate de replicação do HIV, pois atua na fase inicial do ciclo viral durante a fusão do vírus no linfócito T. Enquanto os IP e da TR visam a interrupção do processo de replicação viral em uma fase onde a célula já foi infectada, os IFs impedem o início da infecção (SOUZA; ALMEIDA, 2003). O fuseon é o primeiro fármaco dessa promissora classe, no entanto, ainda não é uma alternativa tão vantajosa devido ao seu elevado custo e dificuldade de administração, por ser através de injeções subcutâneas. Além disso, este fármaco necessita de condições especiais de estoque, devendo ser conservado a baixa temperatura, o que torna a sua utilização delicada em vários países quentes, como na África (SOUZA, 2005). Segue na Tabela 1, os antirretrovirais disponíveis de acordo com a sua classificação.

Tabela 1. Medicamentos antirretrovirais disponíveis no mercado brasileiro (ANVISA, 2010).

Nome genérico	Sigla	Classe	Apresentação	Medicamento de referência
ABACAVIR	ABC	INTR	Comp. 300 mg sol. oral 20 mg/ml	Ziagenavir
DIDANOSINA	DdI	INTR	Comp. 25 e 100 mg; comp. revestido para liberação entérica 250 e 400 mg.	Videx
ESTAVUDINA	d4T	INTR	Cap. 30 e 40 mg	Zeritavir
LAMIVUDINA	3TC	INTR	Comp. 150 mg; comp. dose fixa AZT 300 mg + 3TC 150 mg; sol. oral 10 mg/ml.	Epivir /Lafepe Lamivudina
TENOFOVIR	TDF	INTR	Comp. 300 mg	Viread
ZIDOVUDINA	AZT ou ZDV	INTR	Cáp. 100 mg; ; comp. dose fixa AZT 300 mg + 3TC 150 mg; sol. oral 10 mg/ml	Biovir / Lafepe Zidovudina
EFAVIRENZ	EFZ	INNTR	Cáp. 50 e 200 mg; comp. 300 e 600 mg; sol. oral 30 mg/ml	Stocrin
NEVIRAPINA	NVP	INNTR	Comp. 200 mg; susp. oral 10 mg/ml	Viramune
AMPRENAVIR	APV	IP	Cáp. 150 mg; sol. oral 15 mg/ml	Agenerase
ATAZANAVIR	ATV	IP	Cáp. 100, 150, 200 e 300 mg; Pó extemporâneo. 50 mg/1,5 g	Reyataz
INDINAVIR	IDV	IP	Cap. 200 e 400 mg	Crixivan
LOPINAVIR/r	LPV/r	IP	Cáp. 133,3/33,3 mg; sol. oral 80 mg/ml + 20 mg/ml	Kaletra
NELFINAVIR	NFV	IP	Comp. 250 mg; pó oral 50 mg.	Viracept
RITONAVIR	RTV	IP	Cáp. 100 mg; sol. oral 80 mg/ml	Norvir
SAQUINAVIR	SQV	IP	Cáp. 200 mg; comp. 500 mg.	Invirase
DARUNAVIR	DRV	IP	Comp. 300 mg	Prezista
ENFURVITIDA (T20)	ENF	IF	Frascos descartáveis com 108 mg para reconstituição em 1,1 ml de água	Fuzeon

O regime recomendado na HAART é constituído, de forma geral, por três fármacos, sendo dois ITRNs associados a um ITRNN ou um IP (MARIER *et al.*, 2007).

Esquemas que utilizam 2 ITRN + 1 ITRNN são de posologia mais simples, facilitam a adesão ao tratamento, apresentam tempo de supressão viral mais prolongado e, de modo geral, tem perfil de toxicidade mais favorável. Portanto, os esquemas com ITRNN são preferenciais na terapia inicial. A experiência acumulada ao longo da última década permite concluir que esta é a melhor estratégia para maximizar a supressão da replicação viral, preservar e/ou restaurar o sistema imune, retardando a progressão da doença e aumentando a sobrevida (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Além dessas considerações, também leva-se em consideração alguns critérios para as recomendações dos esquemas propostos, dentre eles podemos citar a disponibilidade e palatabilidade das formulações pediátricas, incluindo sabor, volume e tamanho; assim como a comodidade posológica, incluindo o número de doses, necessidade de jejum ou ingestão com alimentos e preparação.

O Brasil foi um dos primeiros países em desenvolvimento a garantir o acesso universal e gratuito aos medicamentos antirretrovirais no Sistema Único de Saúde (SUS), a partir de 1996, sendo reconhecido como líder mundial na defesa e garantia dos direitos de indivíduos infectados por HIV/AIDS, pois estabeleceu o acesso aos medicamentos antirretrovirais para o tratamento da infecção pelo HIV como um direito de todos os seus cidadãos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2001). A política para a assistência aos indivíduos infectados pelo HIV inclui também outras modalidades assistenciais que visam à redução das internações hospitalares, tais como assistência ambulatorial especializada, hospital-dia e assistência domiciliar terapêutica, aumentando a sobrevida e a qualidade de vidas das pacientes infectados (DOURADO *et al.*, 2006).

Uma importante estratégia da Política de Medicamentos do Programa Nacional de DST e AIDS (PN-DST/AIDS) foi o estabelecimento de recomendações técnicas consensuais para utilização da mesma, por meio de comitês assessores. Segundo o Consenso DST/AIDS de recomendações para terapia antirretroviral para crianças e adolescentes 2009 e para adultos 2008, a associação AZT/3TC como ITRN é considerada como dupla de primeira escolha pelo Ministério da Saúde para compor o esquema antirretroviral inicial. Este esquema é o mais estudado e amplamente utilizado em todo mundo, apresentando menor custo comparativo dentro da classe, o que fortalece a sustentabilidade do acesso universal ao tratamento.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Juntamente a estes, dentro da classe de ITRNN, o EFZ é considerado como fármaco de primeira escolha, preferencial à nevirapina, exceto para gestantes e crianças menores de 3 anos. Essa opção está fundamentada na sua elevada potência de supressão viral, comprovada eficácia a longo prazo e ao menor risco de efeitos adversos sérios (BRASIL, 2008; BRASIL, 2009).

Esse fármaco é utilizado por cerca de 75 mil das 180 mil pessoas em terapia antirretroviral e chegou a representar o custo de US\$ 42.930.000 no ano de 2007. Após seu licenciamento compulsório (Lei 9.313/96), o Ministério da Saúde passou a importar da Índia genéricos pré-qualificados pela OMS. Essa medida provocou um impacto imediato de US\$ 30 milhões de economia para o país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Apesar de sua eficácia terapêutica, o EFZ apresenta baixa solubilidade aquosa, apresentando problemas de absorção no trato gastrointestinal e consequentemente biodisponibilidade inadequada para sua ação (SATHIGARI *et al.*, 2009).

Diante desse aspecto, novas técnicas de formulação devem ser preferencialmente aplicadas para qualquer fármacos pouco solúveis, independente de sua estrutura química e dimensão molecular espacial, visando solucionar esse aspecto (RATHBONE; HADGRAFT; ROBERTS, 2003). Dentre as várias técnicas utilizadas para melhorar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, incluem a formulação com nanopartículas, microemulsões, dispersão sólida (DS), extrusão por fusão, formação de sal e formação de complexos de inclusão solúveis em água. Por estas técnicas tenta-se aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir a otimização de seu potencial (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005). Devido as promessas de aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, o emprego de DS se tornou uma das mais ativas áreas de pesquisas, com o objetivo de superar os entraves ligados a esse aspecto.

3.3 As dispersões sólidas como alternativa tecnológica para o desenvolvimento de medicamentos

Nos últimos anos, diversos sistemas de administração de fármacos surgiram com a finalidade de modelar a cinética de liberação, melhorar a absorção e aumentar a estabilidade de fármacos. A partir disto, levantaram-se as principais dificuldades no que diz respeito ao

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

desenvolvimento e atividade terapêutica de diversos medicamentos, que resultam em grande parte, da baixa solubilidade aquosa dos fármacos. Das novas entidades químicas, de 35 a 45% possuem essa característica, o que conduz a uma baixa taxa de incorporação do ativo ou de sua liberação incompleta (SALTÃO; VEIGA, 2001; KARAVAS *et al.*, 2007).

A solubilidade aquosa de um fármaco constitui requisito prévio à absorção e obtenção de resposta clínica, para a maioria dos medicamentos administrados por via oral (RAMA *et al.*, 2006). Fármacos pouco solúveis são lentamente absorvidos quando comparados aos que possui alta solubilidade em água (PATEL *et al.*, 2008).

Diante disso, algumas técnicas podem ser utilizadas para o incremento da solubilidade de fármacos, independente de sua estrutura química e dimensão molecular espacial (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005). Devido à promessa de incremento de hidrossolubilidade, o emprego de DS tornou-se uma das mais ativas áreas de pesquisas no campo farmacêutico. Esta técnica produz uma significativa redução no tamanho da partícula do fármaco, com um aumento da uniformidade e superfície de contato, propiciando uma dissolução e absorção mais rápida (BIKIARIS *et al.*, 2005).

Os problemas que limitavam os estudos pioneiros para aplicação comercial das DS envolviam: método de preparação; reprodutibilidade das propriedades físico-químicas; dosagem na formulação; processo de fabricação em grande escala e estabilidade química do fármaco e do veículo. Contudo, a utilização desse sistema em algumas formulações, como por exemplo, no desenvolvimento de tecnologias para enchimento direto de DS dentro de cápsulas de gelatina dura, renovaram o interesse desse sistema para o uso pré-clínico, clínico e desenvolvimento comercial, em grande escala, de produtos farmacêuticos (SERAJUDDIN, 1999).

No entanto, apesar dos avanços alcançados, existem poucos relatos da aplicação desta técnica em medicamentos (LEONARDI *et al.*, 2007), demonstrando a necessidade do conhecimento aprofundado com relação as possibilidades de aplicações, de forma a se obter medicamentos que garantam a eficácia terapêutica desejada, utilizando uma técnica simples e de baixo custo para as indústrias farmacêuticas.

3.3.1 Avanços e aplicações das dispersões sólidas

As dispersões sólidas são obtidas através de distintos processos tecnológicos que consistem em dispersar um componente farmacologicamente ativo em um carreador ou matriz no estado sólido, a fim de melhorar a solubilidade, aumentar a taxa de dissolução, modular a ação terapêutica e a permeabilidade do fármaco através das membranas absortivas (JANSSENS *et al.*, 2008a; LIMA *et al.*, 2008). Também tem sido utilizado para aumentar a estabilidade química de fármacos em solução ou suspensão (SETHIA; SQUILANTE, 2003).

A primeira geração de DS foi preparada empregando carreadores cristalinos, a partir da década de 60. Estes carreadores incluíam uréia e açúcares, que possuem com desvantagens a formação de DS cristalinas, que por serem mais estáveis termodinamicamente, não liberam o fármaco com a rapidez desejada (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Ao final dessa década, observou-se que a obtenção de DS poderia ser mais eficaz quando obtida no estado amorfo. Iniciou-se então, a segunda geração das DS, caracterizada pela preparação de sistemas onde o fármaco encontra-se molecularmente disperso de forma irregular num carreador amorfo (VILHELMSSEN *et al.*, 2005).

Esses carreadores foram relatados em 1971 por Chiou, demonstrando que polímeros hidrofílicos poderiam ser utilizados para melhorar a solubilidade e o grau de dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis. Como exemplos desses polímeros, podemos citar os sintéticos que incluem a polivinilpirrolidona (PVP) e polietilenoglicol (PEG); e os derivados celulósicos naturais, como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose e hidroxipropilcelulose (CIRRI *et al.*, 2004).

Embora o fármaco no estado amorfo possua uma dissolução mais rápida quando comparada a sua estrutura cristalina, a primeira não é fisicamente estável, sendo possível a recristalização do produto obtido durante o período de vida útil de sua utilização, facilmente verificada através da técnica de difração de raios-X (KIMURA *et al.*, 2000).

Com o intuito de contornar esse problema, estudos realizados demonstraram que o perfil dissolução das DS poderia ser melhorado através da adição de surfactantes ou de agentes com propriedade emulsionante. Iniciou-se assim a terceira geração das DS. Esta foi desenvolvida, com o objetivo de alcançar o mais elevado grau de biodisponibilidade dos

fármacos pouco solúveis e de estabilizar as DS, evitando a recristalização dos fármacos (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Estes sistemas são capazes de reduzir o tamanho de partícula do fármaco quase a nível molecular, proporcionando uma melhor molhabilidade e dispersibilidade pelo carreador, pela formação de uma estrutura amorfa do fármaco e carreador (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005). Nestas DS, a dissolução do carreador ou misturas deles determina o perfil de liberação do fármaco (OHARA *et al.*, 2005).

Como exemplo da utilização desse sistema tem o estudo realizado por Liu & Wang (2007) que utilizaram o surfactante Polissorbato 80 como terceiro componente na preparação da DS contendo ácido oléico e PVP K-30, que exerceu um importante incremento na taxa de dissolução, quando comparado ao sistema bifásico contendo apenas o polímero e o fármaco.

As vantagens relacionadas às DS quando comparadas as formulações convencionais de cápsulas e comprimidos convencionais (Figura 3), é de que o fármaco carregado é liberado na forma de partículas de tamanho inferior a 1 μm quando dissolvido, enquanto que em formulações convencionais o tamanho de partícula é superior a 5 μm (SERAJUDDIN, 1999; BIKIARIS *et al.*, 2005).

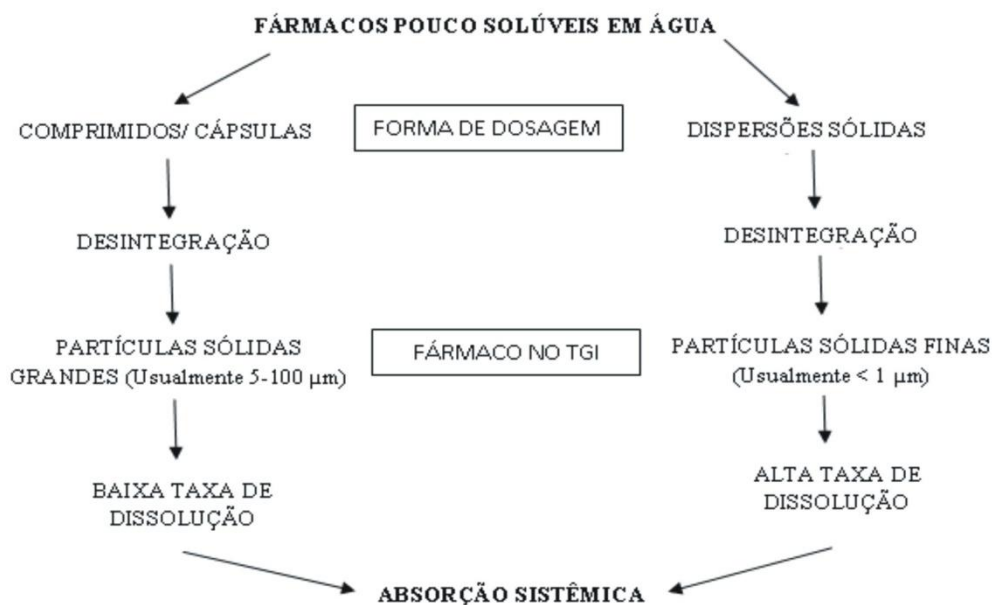


Figura 3. Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco hidrossolúveis através de DS comparado com convencionais formulações de comprimidos e cápsulas.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Além disso, as transformações do fármaco no estado sólido cristalino para o estado amorfo é um dos principais motivos que leva ao aumento na sua solubilidade aparente, melhorando o contato entre o fármaco e o meio de dissolução, reduzindo a formação de agregados e aglomerados, favorecendo a estabilidade das dispersões (JANSSENS *et al.*, 2008a; JANSSENS *et al.*, 2008b).

A maior solubilização aquosa no estado amorfo baseia-se na energia de solvatação envolvida no processo de dissolução, devido a disposição das moléculas nesse sistema, que são arranjadas ao acaso. Portanto, neste caso, baixa energia de solvatação é requerida para separá-las e homogeneizá-las ao meio, proporcionando uma dissolução mais rápida e efetiva. Assim, o desenvolvimento de formulações contendo o fármaco na forma amorfa é frequentemente benéfico em termos de dissolução e biodisponibilidade (STULZER *et al.*, 2007).

A dissolução do fármaco contido na DS é influenciada por vários outros fatores, dentre eles podemos citar o método empregado na obtenção, proporção e características do carreador utilizado, pH do meio de dissolução, temperatura e características da superfície das partículas resultantes da DS (OZKAN *et al.*, 2000). Dentre as influências citadas, as mais relevantes na determinação das propriedades das DS são os métodos de preparação e os tipos de carreadores utilizados.

3.3.2 Métodos de preparação das dispersões sólidas

Diversos estudos demonstram que as propriedades físico-químicas de DS obtidas através de diferentes métodos de preparação estão diretamente relacionadas. Dessa forma, este fato se estabelece como pré-requisito no desenvolvimento de DS, sendo necessária a avaliação da interferência do método utilizado, visando a escolha daquele que seja mais eficiente com relação à dissolução e a estabilidade dos produtos obtidos nas condições de armazenamento (BIKIARIS *et al.*, 2005).

Os métodos de obtenção das dispersões comumente utilizados são o método de fusão, solvente, fusão-solvente, e malaxagem (PATEL *et al.*, 2008). Contudo, já estão sendo

citados outros métodos, dentre eles fluido supercrítico e *spray drying*, que já são comumente utilizados como métodos de obtenção de complexos de inclusão utilizando ciclodextrinas, sendo empregadas com sucesso para a preparação de DS (CHAUHAN; SHIMPI; PARADKAR, 2005).

3.3.2.1 Método de fusão

Devido à toxicidade e aos problemas ecológicos associados ao uso de solventes orgânicos, a utilização do método por fusão representa um meio vantajoso na preparação das DS quando o fármaco apresenta estabilidade térmica. Contudo, seu uso é inadequado quando ocorre polimorfismo, devido a transição que pode ocorrer durante a fusão entre as formas polimórficas (ZAJC *et al.*, 2005).

Neste método, o carreador e o fármaco são aquecidos à temperatura ligeiramente superior ao seu ponto de fusão, e o fármaco é incorporado ao carreador fundido. O sistema permanece sob aquecimento, até obtenção de uma solução homogênea, macro e microscopicamente. Posteriormente o sistema é resfriado sob agitação constante. Neste caso há maior probabilidade da quebra do estado cristalino do fármaco para o estado amorfo, devido a utilização de temperaturas elevadas. Porém há possibilidade de miscibilidade incompleta entre fármaco e carreador devido à alta viscosidade do polímero no estado fundido, além da degradação de fármacos termolábeis (HASEGAWA, *et al.*, 2005; KIM *et al.*, 2006).

Quando o fármaco possui um alto grau de solubilidade no carreador, ele pode permanecer “dissolvido” no estado sólido, originando o que é conhecido como solução sólida. Sob estas condições, a redução no tamanho das partículas provê um nível máximo de dispersão molecular do fármaco no carreador (JUPPO *et al.*, 2003).

3.3.2.2 Método de solvente

Neste método, também conhecido com método de co-evaporação, o fármaco e o carreador são solubilizados em solvente orgânico comum que é em seguida evaporado sob agitação constante, obtendo-se um resíduo seco e sólido. A remoção do solvente pode ser realizada à vácuo, num rotaevaporador ou liofilizador. Esse método muitas vezes é confundido com o de co-precipitação, no entanto, neste caso o fármaco e o polímero são dissolvidos, e posteriormente induz-se a precipitação pela adição de um co-solvente. A natureza do solvente e a taxa e temperatura de evaporação do solvente são particularmente críticos nesse método. Paralelamente, a principal desvantagem desse método é a utilização de solventes orgânicos e a formação de resíduos, apesar de ser um método simples, de baixo custo e muito utilizado em escala laboratorial. Além da dificuldade de selecionar um solvente comum que dissolva o fármaco com características hidrofóbicas e o carreador hidrofílico (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

3.3.2.3 Método fusão-solvente

Neste método, o polímero é aquecido à temperatura ligeiramente superior ao seu ponto de fusão e o fármaco, previamente solubilizado em solvente orgânico, é incorporado ao carreador fundido. Posteriormente o sistema é resfriado sob agitação constante, e seco por liofilização, quando necessário. Este método torna-se útil para fármacos que tenham elevado ponto de fusão ou termolábeis (FERNANDEZ *et al.*, 1992), no entanto, é um método pouco relatado na literatura.

3.3.2.4 Método de malaxagem

Neste método, o polímero e o fármaco são misturados por diluição geométrica. A mistura é malaxada com a adição de mínima quantidade de solvente (equivalente à 30% do peso dos pós) visando a obtenção de uma consistência úmida. Industrialmente, a mistura de componentes é efetuada em uma malaxadora, sendo neste caso, necessário alguns ajustes na metodologia utilizada inicialmente a nível de bancada, o que pode acarretar em algumas modificações das características físico-químicas e farmacotécnicas do produto obtido. A secagem do material pode ser feita em estufa ou diretamente na malaxadora acompanhada de pulverização para uniformizar o tamanho de partícula. Devido à simplicidade, ao elevado rendimento e à facilidade de transposição de escala, este método é um dos mais utilizados na indústria farmacêutica (LIMA *et al.*, 2008).

3.3.2.5 Método de atomização por *spray drying*

Esta técnica possui os mesmos princípios do método de solvente, que assim como outras técnicas que vem sendo desenvolvidas, se distingue apenas na forma de secagem do solvente, o que produz diferenças nas características dos produtos obtidos. Neste caso, o processo produz DS de partículas com tamanho reduzidos e amorfas, com alta taxa de dissolução, com mínimo resíduo de solvente nos sistemas, além da possibilidade de transposição industrial (CHAUHAN; SHIMPI; PARADKAR, 2005).

Embora a técnica por *spray drying* seja uma tecnologia que necessita de elevados investimentos em instalações e operações, muitas são as razões pelas quais a mesma é amplamente utilizada, apesar do custo. Esta vem sendo recentemente utilizada, principalmente no incremento da biodisponibilidade de fármacos da classe biofarmacêutica II (reduzida solubilidade e elevada permeabilidade), resultando em produtos com melhores propriedades funcionais, tais como tamanho de partícula, compactação e taxa de dissolução (CHAUHAN; SHIMPI; PARADKAR, 2005; CORRIGAN; HEALY; CORRIGAN, 2002). Para os fármacos

dessa classe, a solubilidade é o fator limitante da absorção e os dados e estudos *in vitro* podem ser úteis (RAMA *et al.*, 2006).

As vantagens relacionadas a essa técnica incluem: a produção de partículas de qualidade consistente, facilidade em relação ao uso contínuo, aplicabilidade da técnica tanto em materiais sensíveis quanto resistentes ao aquecimento e capacidade de processar vários tipos de matéria prima, produção de sistemas de liberação prolongada, além de aumentar a hidrossolubilidade de fármacos (STULZER *et al.*, 2007).

3.3.2.6 Método de fluido supercrítico

O processo de fluido supercrítico vem emergindo como um método alternativo ao tradicional método de evaporação de solvente através de outras técnicas, formando coprecipitados de pequeno tamanho de partícula e com baixo teor de resíduo orgânico, apresentando também melhor escoamento. O dióxido de carbono é atualmente utilizado por essa técnica, devido as vantagens associadas ao seu uso, por ser um gás não tóxico, não inflamável, barato, e de baixa temperatura crítica, tornando-se atraente no processamento de fármacos sensíveis ao calor, sendo o processo de remoção do solvente extremamente controlado (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Apesar dos resultados promissores descritos na literatura, ainda é uma técnica experimental e que apresenta um custo inicial bastante elevado (AL-MARZOUQI *et al.*, 2007).

3.4 Agentes carreadores utilizados nas dispersões sólidas

Na preparação de DS, muitas substâncias podem ser utilizadas, dentre elas podemos citar os polióis (manitol e sorbitol); ácidos orgânicos (ácido cítrico); uréia; poloxamer; quitosana e glicerídeos poliglicosilados. Contudo, os polímeros hidrofílicos são os mais citados e utilizados como carreadores de substâncias sólidas para as dispersões (BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001).

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

As propriedades dos polímeros estão diretamente relacionadas com a natureza química dos monômeros, o peso molecular e a estrutura macromolecular (LOFTSSON; MASSON; BREWSTER, 2004). Combinações de polímeros ou de polímeros e surfactantes têm sido propostos na tentativa de adequar as propriedades físico-químicas dos polímeros ao sistema de dispersão sólida (JANSSENS *et al.*, 2008b). Além disso, a escolha dos carreadores poliméricos pode determinar a inibição ou o período que o fármaco disperso possa vir a se recrystalizar, sendo este fator dependente do grau de miscibilidade do fármaco no polímero em determinada umidade (VASANTHAVADA *et al.*, 2005).

Dentre os polímeros hidrofílicos mais relatados na literatura para preparação das DS temos o PEG, PVP e HPMC. Esses são freqüentemente empregados em diversas formulações farmacêuticas, devido a baixa toxicidade, taxa de solidificação rápida, alta solubilidade aquosa, disponibilidade em várias pesos moleculares, custo econômico, e fisiologicamente toleráveis (PATEL *et al.*, 2008; LIU; WANG, 2007).

3.4.1 Polivinilpirrolidona (PVP)

O PVP, também chamado de povidona (Figura 4), é um homopolímero de N-vinil-2-pirrolidona, capaz de formar ligações de hidrogênio com outras moléculas por conter grupos elétrons doadores como nitrogênio e oxigênio.

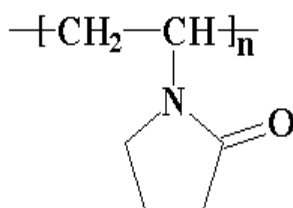


Figura 4. Estrutura química do monômero do PVP.

Apresenta-se como um pó branco amorfo de fluxo livre e seu peso molecular é frequentemente relatado por K, valor de Fikentscher, derivado da viscosidade destes em solução. A variação de peso molecular entre 10.000 a 700.000, apresenta uma ampla faixa de

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

aplicações na indústria farmacêutica devido a alta hidrossolubilidade. Para as DS, o PVP K-12 e K-30 (PM 2500-50.000) são os mais utilizados. Acima de 50.000 a solubilidade aquosa do PVP diminui, sendo sua viscosidade diretamente aumentada, podendo ser utilizado para liberação controlada de fármacos. (VALERO *et al.*, 2003; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; DORNELAS *et al.*, 2008; PATEL *et al.*, 2008).

O PVP apresenta um anel lactâmico como parte da unidade monomérica. A alta polaridade do anel pode ser atribuída à forte estabilização de ressonância, mostrada na Figura 5, facilitada pela geometria planar do anel, contribuindo na ligação com fármacos pouco hidrossolúveis (M) através de ligações de hidrogênio, possibilitando o processo de formação das DS (KARAVAS *et al.*, 2007).

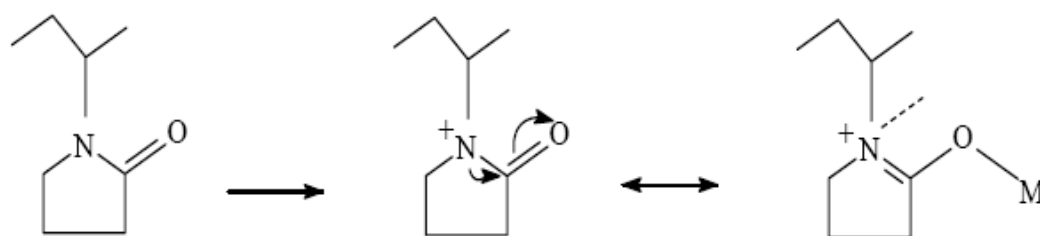


Figura 5. Representação da estrutura monomérica do PVP e a formação da ligação entre fármaco (M) e o polímero.

Em geral, a temperatura de transição vítrea do PVP é elevada, para o PVP K-30 é de 163 °C. Por esta razão, o PVP tem aplicação limitada para a preparação de DS pelo método de fusão. Devido à sua boa solubilidade em uma ampla variedade de solventes orgânicos, é particularmente adequado para a preparação pelo método de solvente (BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001).

O aumento da dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis proporcionado pelos polímeros, em geral, se dá através da maximização da estrutura porosa de uma matriz polimérica solúvel em água, como é o caso do PVP. Logo, o objetivo desse recurso é aumentar a superfície de contato do fármaco com o meio dissolutor, facilitando o processo de solubilização (DORNELAS *et al.*, 2008).

3.4.2 Polietilenoglicol (PEG)

A utilização do PEG, polímero de óxido etileno, caracterizado pelas unidades (-CH₂-CH₂-O-) de repetição, torna-se vantajosa na obtenção de DS, devido às suas propriedades físico-químicas. Dentre elas, a presença de grupamentos hidroxila (-OH) como doadores de elétrons (Figura 6); responsáveis pela interação com compostos hidrofóbicos, através de ligações de hidrogênio; biocompatibilidade; características inodoras; neutro e não-irritante; baixa toxicidade *in vivo* e solubilidade em diversos solventes orgânicos e em água, proporcionando uma liberação rápida do fármaco disperso e facilitando o processo de obtenção pelo método solvente (LEAO; SYU, 2009; PATIL; GAIKWAD, 2009; MA *et al.*, 2009).

Os limites da aplicação do PEG podem ser estendidos pela biodegradabilidade em resposta aos fatores específicos tais como o aumento na temperatura ou pH (LEUNER; DRESSMAN, 2000; KOO *et al.*, 2009).

O PEG apresenta diversos PM (200 a 300.000) e diferentes temperaturas de fusão, o que proporciona sua ampla aplicação industrial nos processos que envolvem aquecimento (PATEL *et al.*, 2008). Comumente, na preparação de DS e de soluções, são utilizados PEGs com PM entre 1500 e 20.000. O aumento do peso molecular do PEG, leva à elevação da sua viscosidade e de seu ponto de fusão (PF). Nas estruturas de PM de até 600, os PEGs são fluidos; na escala entre 800-1500 apresentam maior consistência; entre 2000 a 6000, em geral, apresentam aspectos cerosos e aqueles com PM acima de 20000, possuem forma de cristais frágeis à temperatura ambiente (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

A variação do PF dos PEGs é inferior a 65 °C, por exemplo, o PEG 1000 é de 30-40 °C, PEG 4000 é 50-58 °C e o PEG 20000 é de 60-63 °C (WANG *et al.*, 2009). Estas baixas temperaturas de PF são vantajosas para a obtenção de DS pelo método de fusão (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

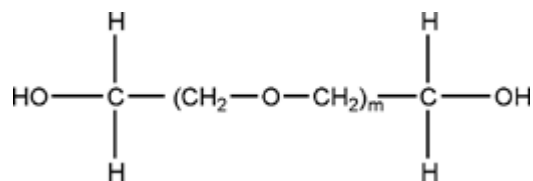


Figura 6. Estrutura química do monômero de PEG.

3.4.3 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

Dentre os materiais poliméricos, os derivados da celulose são bastante populares, principalmente o HPMC. Este polímero é descrito pela farmacopéia europeia como uma parte da celulose orto-metilada e da celulose orto-2-hidroxipropilada (Figura 7). Classifica-se com um éter de celulose onde os hidrogênios e grupos hidroxilas da celulose foram parcialmente substituídos por grupos alquila, substituídos para modificar as características da celulose nativa (GUIMARÃES *et al.*, 2008).

A popularidade do HPMC está associada à natureza não tóxica, biocompatibilidade e biodegradabilidade, à pequena influência das variáveis de processamento sobre a liberação do fármaco e além de sua facilidade de compressão. Uma das características mais importantes deste polímero hidrofílico linear é a sua capacidade de solubilização de fármacos de baixa solubilidade em comparação a outros polímeros hidrossolúveis (LYRA *et al.*, 2007; GUIMARÃES *et al.*, 2008). Além do fato de que o seu emprego previne ou retarda o efeito de nucleação que leva a recristalização do fármaco, podendo ser associado a outros polímeros em distintas formulações; e de acordo com a viscosidade do tipo de HPMC escolhido, possibilita adicionalmente uma liberação prolongada (KAPSI; AYRES, 2001).

O HPMC é bastante solúvel em água, misturas hidroalcoólicas e solventes clorados, não sendo solúvel em etanol puro (KUSHIDA *et al.*, 2002). Usualmente é relatada a preparação de DS com HPMC utilizando misturas de solventes com diclorometano pelo método de solvente (YAMASHITA *et al.*, 2003).

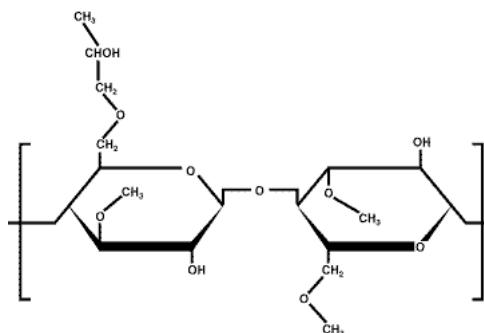


Figura 7. Estrutura química do monômero de HPMC.

As propriedades físico-químicas deste polímero são fortemente afetadas por modificações nos grupamentos metoxi (OCH) e hidroxipropoxi (OCH-CH (CH) OH), e pelo peso molecular. A *United States Pharmacopeia* (USP) distingue quatro diferentes tipos de HPMC: HPMC 1828, HPMC 2208, HPMC 2906 e HPMC 2910. Os dois primeiros números indicam a percentagem de grupos metoxi, os dois últimos números, a percentagem de grupos hidroxipropoxi, determinados após secagem a 1058 °C por 2 h. (SIEPMANNA; PEPPAS, 2001). Na obtenção de DS é relatada a utilização dos diferentes tipos de HPMC, não havendo um predomínio de um determinado tipo, demonstrando que a escolha é realizada de acordo com a finalidade pretendida.

3.4.4 Novos carreadores

A utilização de carreadores anfifílicos constituídos de lipídios como Gelucire® e a Vitamina E TPGS (TPGS), tem atraído recente interesse nos estudos de incremento de solubilidade de fármacos. As substâncias lipídicas com baixo equilíbrio hidrófilo lipofílo (EHL) podem ser empregadas para diminuir a velocidade de dissolução de fármacos e as com alto EHL são utilizadas para uma rápida liberação (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

Gelucires® são glicerídeos saturados poliglicosilados constituídos de mono-, di-, e tri- glicerídeos e de mono- e di- ésteres de ácido graxo de polietilenoglicol. Quando em contato com os fluidos aquosos, essa substância forma uma fina emulsão, que possibilita a solubilização da substância ativa. Além disso, suas propriedades permitem o controle da liberação do fármaco na formulação (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

O TPGS é um derivado da vitamina E solúvel em água que consiste em um grupo polar hidrofílico de polietilenoglicol e uma cauda lipofílica, constituída de tocoferol succinato, resultando num tensoativo de propriedades anfifílicas (EHL~13). Assim como o Gelucires®, o TPGS apresenta a vantagem de formar espontaneamente emulsões, facilitando a solubilização de fármacos lipofílicos quando em meio aquoso, por apresentar uma baixa concentração micelar crítica, garantindo o incremento da absorção gastrointestinal (KHOO; PORTER; CHARMAN, 2000).

A utilização da associação do Gelucires® e do TPGS em formulações com PVP também se mostrou eficiente na redução da taxa de cristalização, evento comum quando se utiliza carreadores com baixo ponto de fusão. Sendo, contudo, o aumento da biodisponibilidade a maior vantagem oferecida por estas associações (KHOO; PORTER; CHARMAN, 2000).

O Labrasol®, um tensoativo da mesma natureza química do Gelucires®, também vem sendo extensivamente explorado para aumentar a solubilidade e permeabilidade intestinal e biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúveis em água. Apresentando-se como um líquido transparente e com valor de EHL de 14 (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005; KOGA *et al.*, 2006).

Juntamente a estes, os polaxamers, conhecidos comercialmente como Lutrol®, também vem sendo relatados na preparação de DS. Sua constituição intercalar de unidades de copolímero hidrofílicas e hidrofóbicas possibilita sua ampla utilização como agentes solubilizadores, molhantes e estabilizadores de suspensão. Como exemplo dessa classe, tem-se o Poloxamer 188, que é um copolímero composto de duas cadeias hidrofílicas de polioxietileno ligadas por uma cadeia hidrofóbica de polioxipropileno, que vem sendo frequentemente selecionado como carreador na dissolução de fármacos pouco solúvel em água (SHAH *et al.*, 2007).

Diante do exposto, podemos afirmar que das técnicas aplicadas para o incremento de solubilidade de fármaco pouco hidrossolúvel, o emprego de DS tem se destacado como um

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

dos avanços nas áreas de pesquisas no campo farmacêutico. Portanto, diversos polímeros hidrofílicos têm sido utilizados com esta finalidade. Além desses, a adição de agentes surfactantes com propriedade emulsionante também vem sendo utilizados tanto isolados quanto em associação. Portanto, mesmo com os vários métodos de obtenção e diferentes tipos de agentes carreadores, investigações têm sido aprofundadas no desenvolvimento de DS mais eficientes frente às melhorias observadas na dissolução dos fármacos.

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

PARTE EXPERIMENTAL I

4.1 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFAVIRENZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS

4.1.1 Matéria prima, reagentes e vidrarias

Para as etapas correspondentes ao desenvolvimento do método e sua validação, foram utilizados a matéria prima EFZ (Cristália[®], lote: 1289/07, teor 98,00 %) e o seu respectivo padrão de trabalho (Xiamem Mchem[®], lote 050501, teor 98,32 %); a matéria-prima zidovudina (Northeast[®] lote: DY 070041, teor 97,88 %) para a determinação da especificidade do método desenvolvido. Os reagentes utilizados foram: acetonitrila (Vetec[®], lote 0806979); metanol (Cinética[®], lote 11850); álcool etílico absoluto (Dinâmica[®], lote 30065 e Vetec[®], lote 0806654); ácido clorídrico (Dinâmica[®], lote 10023) e água ultra-purificada obtido por Milli-Q Millipore[®] (Milli-Q[®] System, Massachusetts, USA). Utilizou-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Satelit[®].

4.1.2 Equipamentos

Os equipamentos utilizados no estudo foram Balanca Analítica Bioprecisa[®], modelo FA2104N, Espectrofotômetro UV-Vis B582 Micronal[®], Agitador magnético SBSR, Ultra-som 1.500 Barnson[®] (70 W potência). Para a reprodutibilidade foram utilizados os seguintes equipamentos: Balanca Analítica CT 225 Sartorius[®], Espectrofotômetro UV-Vis modelo 50 Vankel[®], Ultra-som 2.510 Barnson[®].

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

4.1.3 Desenvolvimento do método analítico

Primeiramente realizou-se um teste de solubilidade (à 25 °C) com diferentes solventes (água, álcool etílico absoluto, metanol, acetonitrila e ácido clorídrico 0,1 M), de acordo com a Farmacopéia Brasileira. Esse estudo observou-se o comportamento do fármaco em diferentes solventes, com objetivo de definir a melhor solução diluente para o método analítico desenvolvido. Para tal, levou-se em consideração o poder de solubilização do fármaco, custo e toxicidade do solvente; e a sensibilidade do fármaco frente ao comprimento de onda utilizado. Diante disto, realizou-se uma varredura na faixa de 200 a 700 nm nos diferentes sistemas de solventes propostos (Tabela 1), para a identificação do comprimento de onda que apresentaria o valor de absorbância mais adequado para o método. A calibração do equipamento espectrofotômetro foi realizada através de padrões de referência rastreados pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

Posteriormente foram realizadas comparações entre as amostras obtidas pelas técnicas de agitação por ultrassonicação e agitação magnética (ambos sem aquecimento), paralelamente a variação do tempo de agitação (5, 10 e 15 min para ultrassonicação e 10 e 15 min para agitação magnética). Além disso, realizou-se a verificação da estabilidade das amostras, no sistema de solvente escolhido, avaliando-se o aspecto visual e a absorbância das mesmas, preparadas em triplicata no intervalo de 0, 24 e 48 h, na presença e ausência de luz.

4.1.4 Preparação da solução amostra

As amostras de EFZ foram analiticamente pesadas e solubilizadas em álcool etílico absoluto, ultrassonicadas por 10 min, obtendo-se uma concentração final de 500 µg/mL, após aferição do balão volumétrico. Uma alíquota foi retirada dessa solução para diluição, utilizando-se como sistema de solventes álcool etílico absoluto: água purificada (60:40, v/v), obtendo-se uma concentração final de 10 µg/mL. As amostras foram preparadas em triplicatas e lidas no comprimento de onda de 247 nm.

4.1.5 Preparação da curva controle

Partindo da solução estoque do padrão de EFZ (500 µg/mL), foram realizadas diluições com o sistema álcool etílico absoluto:água purificada (60:40, v/v) para a obtenção das seguintes concentrações: 8, 10 e 12 µg/mL. A curva controle foi preparada diariamente e utilizada para os cálculos das concentrações.

4.1.6 Validação do método analítico

4.1.6.1 Parâmetros avaliados

No processo de validação desta metodologia analítica foram avaliados os seguintes parâmetros: robustez, linearidade, intervalo, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e especificidade de acordo com as normas estabelecidas pelo ICH^{18,19} e pela RE n° 899/03 (ANVISA).

A confiabilidade dos parâmetros avaliados pode ser observada pelo coeficiente de variação (CV %) ou desvio padrão relativo de uma serie de medidas. Para cada parâmetro avaliado, foi determinado um CV % menor que 5 % e tratados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA) *One-Way* e teste *t* de *Student* com um nível de significância de 95 %.

O ensaio para determinação da robustez foi realizado a partir da variação dos seguintes parâmetros: fabricante do álcool etílico absoluto (Dinâmica[®] e Vetec[®]), influência da luminosidade (presença e ausência de luz) e tempo de preparação das amostras (0, 1, 2, 3, 4 h).

A linearidade do método foi verificada a partir da análise de três curvas autênticas nas concentrações de 5, 8, 9, 10, 11, 12 e 15 µg/mL de EFZ. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através do cálculo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Também foram estimados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de acordo com as equações $LD = DP \times 3/IC$ e $LQ = DP \times 10/IC$, onde DP é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y obtido com as três curvas de linearidade e IC é a média dos coeficientes angulares das respectivas curvas. Para calculá-los, foi considerado o desvio padrão da reta com relação à absorbância do primeiro nível de concentração de EFZ das três curvas de calibração. Apesar

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

desses parâmetros não serem considerados como requisitos necessários para testes da categoria I de validação (Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos e matérias primas) (BRASIL, 2003), os mesmos foram realizados para a utilização em uma posterior validação de limpeza de equipamentos.

A precisão do método foi avaliada nos níveis de repetitividade (precisão intra-corrída), precisão intermediária (precisão inter-corrídas) e reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial). A repetitividade foi verificada por seis determinações individuais a 100 % da concentração teste (10 µg/mL), analisadas em um pequeno intervalo de tempo. Para o parâmetro precisão intermediária, três réplicas foram analisadas variando-se os dias e os analistas, ambas também na concentração de 100 %. A reprodutibilidade foi realizada em dois laboratórios diferentes em triplicata de amostras.

A exatidão foi definida através da manipulação de amostras preparadas em triplicata nas concentrações de 80 %, 100 % e 120 % da concentração teórica do EFZ, sendo determinada após o estabelecimento da linearidade e intervalo do método.

O parâmetro especificidade foi verificado através da contaminação da solução mãe de 500 µg/mL de EFZ com 1 mg do antirretroviral zidovudina, com o objetivo de observar a especificidade do método frente a uma possível contaminação, já que ambos são manipulados na mesma área de produção de uma indústria. A solução mãe contaminada foi diluída para obter uma solução na concentração de 10 µg/mL. Também foi preparada uma solução amostra não contaminada, contendo apenas o EFZ na mesma concentração e outra solução numa concentração de 0,2 µg/mL de zidovudina, correspondente a concentração final deste fármaco na solução contaminada de EFZ após diluição.

4.1.7 Determinação da Absortividade Molar

A espectrofotometria é fundamentada na lei de Lambert-Beer, que é a base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras no estado sólido, líquido ou gasoso, nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético. A absortividade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente (ROCHA; TEXEIRA, 2004). As amostras para a

determinação da absortividade molar do EFZ nos solventes água purificada e metanol, foram preparadas utilizando a mesma técnica descrita anteriormente, variando apenas o tempo de sonicação das amostras preparadas em água (4 h). Para as leituras das amostras, também se utilizou o comprimento de onda de 247 nm do método desenvolvido e validado.

4.1.8 Verificação da Aplicabilidade da Absortividade Molar

Por meio dos três parâmetros utilizados na co-validação do método analítico, verificou-se estatisticamente a diferença dos resultados teóricos obtidos por meio do cálculo da absortividade molar e dos resultados práticos realizados com os dois solventes, água purificada e metanol. Tais parâmetros foram executados de forma idêntica à validação do método desenvolvido com o sistema solvente álcool etílico absoluto: água purificada (60:40, v/v).

PARTE EXPERIMENTAL II

4.2 OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DOS SISTEMAS BINÁRIOS COM EFAVIRENZ

4.2.1 Matérias primas e Reagentes

O Efavirenz utilizado (Cristália®, lote 1289/07, teor 98%) foi fornecido pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE).

Para a realização do diagrama de solubilidade foram utilizadas as seguintes matérias primas: PVP K-30 (ISSO do Brasil®, lote 05500138511V06/08); PEG 4000 (Vetec®, lote 0503226); PEG 6000 (USP®, lote 61002637941); hidroxipropilmetilcelulose K100 (Methocel K 100, Colorcon®, lote UC02012N24); polissorbato 80 (Tween 80, Vetec®, lote 0803511); uréia (Vetec®, lote 0807029); manitol (Vetec®, lote 0805738); Lauril Sulfato de Sódio (LSS) (Vetec®, lote 0806072); polyoxyethylene (40) monostearate (Myrj 52) (Spectrum®, lote WA0462); polyoxyethylene (50) monostearate (Myrj 53) (Spectrum®, lote QB0083); Gelucire 44/14 (Gattefosse®, lote 101012; e Solutol HS15 (BASF®, lote 12256575LO). Posteriormente, o PVP K-30 utilizado neste estudo, também foi utilizado na preparação das misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS).

Também foram utilizados álcool etílico absoluto (Dinâmica®, lote 30065) e água purificada obtida pelo sistema de osmose reversa (Gehaka®) na preparação das amostras para a análise de doseamento.

4.2.2 Diagrama de Solubilidade de Fases

Esse estudo foi realizado em triplicata, à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Em tubos de ensaio de 20 mL adicionado excesso do EFZ (~30mg), e posteriormente 10 mL de solução aquosa dos carreadores em concentrações crescentes (0,01 %; 0,05 %; 0,1 %; 0,3 %; 0,5 %; 0,7 %; 1 %, p/v), exceto para o HPMC, que devido a divergência de viscosidade em água,

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

dificultou a preparação de soluções mais concentradas. Nesse caso, as concentrações testadas foram de 0,01 %; 0,05 %; 0,1%; e 0,3 %. Paralelamente foram preparadas amostras do fármaco apenas em água (AHUJA *et al.*, 2007; HIGUCHI; CONNORS, 1965).

As misturas foram agitadas em um banho com água (Banho Dubnoff, Nova Ética[®]) durante seis dias. Posteriormente, as suspensões foram filtradas em filtros de nylon com poros de 0,22 µm e lidas em espectrofotômetro de UV-Vis (Modelo B582, Micronal[®]), no comprimento de onda de 247 nm, utilizando o método previamente validado.

4.2.2.1 Determinação da energia livre de Gibbs

Os valores de energia livre de Gibbs (ΔG°) relacionados à espontaneidade do processo de solubilização do fármaco nas soluções aquosas contendo os carreadores hidrofílicos, foram calculados para cada carreador nas concentrações testadas de acordo com a equação 1:

$$\Delta G = -2.303RT \cdot \log \frac{S_c}{S_o} \quad \text{Eq. 1}$$

Onde, R é a constante universal dos gases perfeitos ($8.314472 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$), T é a temperatura em kelvin, S_c é a solubilidade do EFZ numa determinada concentração do carreador e S_o é a concentração do EFZ em água na ausência de carreador, ambos em µg/mL.

4.2.3 Preparação das Misturas Físicas (MF)

Foram preparadas misturas físicas com o EFZ e polímero PVP K-30 nas proporções 1:1, 2:1 e 4:1 (p/p), respectivamente. O método de diluição geométrica foi utilizado de forma a garantir a homogeneidade do produto com posterior tamisação em malha de 250 µm para uniformização do tamanho das partículas. As misturas físicas foram acondicionadas em frascos-ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador de vidro sob vácuo.

4.2.4 Preparação das Dispersões Sólidas (DS)

4.2.4.1 Preparação pele método de malaxagem (MX)

A preparação das DS malaxadas com EFZ e PVP K-30, foram efetuadas partindo-se das misturas físicas, sendo esta posteriormente malaxada com a adição de uma mistura de uma solução etanol: água (50:50) na quantidade necessária para manter a consistência levemente úmida (aproximadamente 10 % do peso). Após 20 min de malaxagem o produto foi colocado em estufa industrial à 50 °C por 16 h. O produto seco foi tamisado em malha de 250 µm e acondicionado em frasco ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador de vidro sob vácuo.

4.2.4.2 Preparação pelo método de solvente por rotaevaporação (EV)

Para este método, as DS foram preparadas nas mesmas proporções citadas anteriormente, utilizando um rotaevaporador (Evaporador rotativo Marconi®) para a evaporação dos solventes utilizados para solubilização.

O EFZ e o polímero PVP K-30, nas devidas proporções, foram separadamente dissolvidos em quantidades mínimas dos solventes, sendo utilizado 10 mL de álcool metílico e 2 mL de acetonitrila para a solubilização do EFZ e 10 mL álcool metílico para solubilização do PVP K-30 (KIM *et al.*, 2006). A solução contendo EFZ foi vertida na solução contendo o polímero e posteriormente foram homogeneizadas. Os solventes foram removidos lentamente através de evaporação sob temperatura controlada ($60\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) e pressão reduzida ($-900\text{ mbar} \pm 20\text{ mbar}$) com agitação contínua de $90 \pm 3\text{ rpm}$, havendo uma precipitação do EFZ juntamente com o polímero. Após a secagem as dispersões foram pulverizadas, misturadas em gral de porcelana com auxílio de pistilo e tamisadas em malha de 250 µm. Posteriormente os produtos foram acondicionados em frascos ampola hermeticamente fechados e armazenados em dessecador de vidro sob vácuo.

4.2.5 Ensaio de dissolução

A velocidade de solubilização do EFZ matéria prima, das dispersões sólidas e misturas físicas foram avaliadas através dos perfis de dissolução *in vitro*, utilizando as condições baseadas nas especificações do FDA (Food and Drug Administration) para a forma farmacêutica cápsula (FDA, 2010) e em estudos de solubilidade prévios com o fármaco em diferentes meios com a finalidade de manter as condições *sink*. Os ensaios foram realizados a $37 \pm 0,5$ °C, utilizando 900 mL da água purificada com 0,5 % de Lauril Sulfato de Sódio (LSS) como meio de dissolução, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação de 50 rpm, utilizando o dissolutor Varian VK 7010. Para esse estudo, foram pesadas quantidades equivalentes a 300 mg de EFZ em cápsulas gelatinosas duras nº 00. Em intervalos de tempo predefinidos de 15, 30, 45, e 60 min as amostras foram coletas, filtradas em filtro de membrana 0,45 µm e devidamente diluídas para posterior quantificação do EFZ por espectroscopia no UV a 247 nm (Modelo B582, Micronal[®]), utilizando a metodologia previamente validada (ALVES *et al.*, 2010). Foi efetuada a reposição do meio de dissolução com o mesmo volume de cada alíquota retirada. Todos os ensaios foram efetuados em triplicata.

Os perfis de dissolução foram avaliados e comparados em relação à percentagem de fármaco dissolvido ($Q_{15\text{min}}$, $Q_{30\text{min}}$ e $Q_{60\text{min}}$) e em relação à eficiência de dissolução em (ED%), que foi calculada com o objetivo de comparar o desempenho relativo das dispersões em 15 e 60 min para cada formulação. Estes foram calculados a partir da área da curva de dissolução até um tempo t , expressa como a percentagem da área do retângulo correspondente a 100% da dissolução, conforme a equação 2 (KHAN, 1975).

$$ED\% = \left(\frac{\int_0^t y \times dt}{y_{100} \times t} \right) 100 \quad \text{Eq. 2}$$

4.2.6 Caracterização físico-química

4.2.6.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os termogramas foram obtidos em Calorímetro de Varredura Shimadzu® DSC-60 interligado ao software Shimadzu® TA-60WS com atmosfera de nitrogênio de 50 mL.min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura de 25-200°C. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechados com o equivalente a 2 mg $\pm$ 0,2 de fármaco. Índio e Zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

4.2.6.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Amostras dos produtos isolados e dos sistemas binários (MF e DS) foram montadas em stub, fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 15 min (Metalizador Baltec® SCD 050). A morfologia das amostras foi verificada em Microscópio Eletrônico de Varredura Jeol® JSM-5900, onde foram obtidas as eletromicrografias em câmara com tensão de excitação de 15 KV.

4.2.6.3 Difração de pó de Raios X (DRX)

Os difratogramas dos produtos isolados e binários foram obtidos no difratômetro SIEMENS (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com anodo de cobre. As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo 2 θ de 2-60 a uma velocidade de digitalização de 0,02° 2 θ /s. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de material do pó sem solvente.

4.2.6.4 Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF)

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

4.2.7 Caracterização farmacotécnica

4.2.7.1 Densidade e propriedade de compactação

Visando a avaliação da DS que apresentou o melhor perfil de dissolução em relação a sua respectiva MF e fármaco isolado, determinou-se as propriedades de compactação do EFZ, DS MX 4:1 e MF 4:1. Esses foram obtidos através da determinação da capacidade de compactação, *densidade aparente* (d_{AP}) e *densidade de compactação* (d_{CP}). Este ensaio foi realizado com 10 g das amostras em um compactador automático (Tap Density, Varian®) provido de uma proveta normatizada, em triplicata. O volume inicial (V_0) ocupado pelo produto foi medido, e posteriormente foram realizadas 10 compactações para acomodação do pó. Em seguida, foram realizadas 1250 compactações (V_{1250}), que foram repetidas em seguida, de forma que não foi observada mudança no volume medido. A relação entre a massa das amostras e o volume ocupado pelo pó antes e após a compactação determinou as *densidades aparente* d_{AP} e de *compactação* d_{CP} , respectivamente.

A compressibilidade do pó foi avaliada através do Índice de Hausner (IH) e o Índice de Carr (IC) de acordo com as seguintes equações: $IH = d_{CP}/d_{AP}$ e $IC (\%) = (d_{CP} - d_{AP}) / d_{CP} \times 100$, respectivamente (SCHMIDT; RUBENSDORFER, 1994; SOARES-SOBRINHO, 2008).

4.2.8 Estudo de Estabilidade

Após realização das caracterizações do fármaco, polímeros e sistemas binários (MF e DS), avaliou-se a estabilidade da dispersão malaxada 4:1 e respectiva MF após serem armazenados em câmara climática qualificada para estudo de estabilidade acelerada ($40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ / $75\text{ \% UR} \pm 5\text{ \% UR}$) (CUNHA-FILHO; PACHECO; LANDÍN, 2007). As amostras foram analisadas após 1 mês por IV-TF e Termogravimetria (TG). Para o IV-TF, utilizou-se a metodologia anteriormente descrita.

4.2.8.1 Termogravimetria

A caracterização termoanalítica através de TG foi realizada em duplicata por meio de termobalança, modelo TGA Q50, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL/min, sendo a massa da amostra equivalente a cerca de 4,0 mg ($\pm 0,4$) de EFZ, acondicionadas em cadinho de alumina e analisadas na faixa de temperatura entre $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $800\text{ }^{\circ}\text{C}$ na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C/min}$. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de alumínio e zinco.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

PARTE EXPERIMENTAL I

5.1 DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFAVIRENZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS

5.1.1 Desenvolvimento do método analítico

Conforme avaliação da solubilidade do EFZ frente a diferentes solventes, observou-se que este se apresenta como praticamente insolúvel ou insolúvel em água e em ácido clorídrico 0,1 M, conforme classificação da Farmacopéia Brasileira (2003). Para o solvente acetonitrila, o fármaco apresentou-se facilmente solúvel, enquanto que para os solventes metanol e álcool etílico absoluto o fármaco mostrou-se pouco solúvel.

Os resultados obtidos fornecem informações importantes do comportamento do fármaco, possibilitando a escolha inicial dos solventes mais adequados para a completa solubilização do EFZ e que permitam a máxima estabilidade da solução, proporcionando a quantificação adequada do fármaco.

Para o método em desenvolvimento, utilizaram-se inicialmente metanol, álcool etílico e acetonitrila, como solventes iniciais de solubilização. Após a escolha destes solventes, foram realizadas varreduras utilizando várias combinações de solventes para a diluição das soluções, incluindo a possibilidade da adição de uma proporção de água. A proporção deste no sistema foi determinada de acordo com a estabilidade do EFZ em permanecer solúvel por 48 h em repouso após completa solubilização. As combinações dos sistemas testados para a preparação das amostras estão descritas na Tabela 2.

Tabela 2. Sistemas solventes utilizado na preparação da solução mãe de 500 µg/mL (primeira diluição) e da solução amostra de 10 µg/mL (segunda diluição).

1ª diluição	2ª diluição
metanol	metanol
metanol	álcool etílico
metanol	sistema de diluição (álcool etílico: água purificada, 60:40, v/v)
álcool etílico	álcool etílico
álcool etílico	metanol
álcool etílico	sistema de diluição
acetonitrila	água purificada

As varreduras espectrofotométricas realizadas para verificação dos sistemas que apresentavam as melhores absorções na faixa de comprimentos de onda entre 200 e 700 nm, demonstraram que todos os sistemas testados apresentaram absorções semelhantes no comprimento de 247 nm; com exceção do sistema acetonitrila/água, que apresentou uma absorção duas vezes maior aos outros sistemas na concentração de 10 µg/mL. Portanto, devido à alta solubilização deste fármaco neste solvente, e consequentemente da absorção elevada na faixa de concentração testada, esse sistema mostrou-se inadequado para o método.

Somado a este fato, para a escolha final do sistema a ser utilizado, levou-se em consideração: a toxicidade e o custo do solvente; além da possível adição de uma proporção de água ao sistema, o que as facilita as leituras provenientes de estudos de preparação de complexos com ciclodextrinas, dispersões sólidas e ensaios de dissolução. Logo, levando em consideração esses critérios, optou-se pelos solventes álcool etílico/sistema de diluição (álcool etílico: água, 60:40, v/v) para a primeira e segunda diluição, respectivamente (Figura 8).

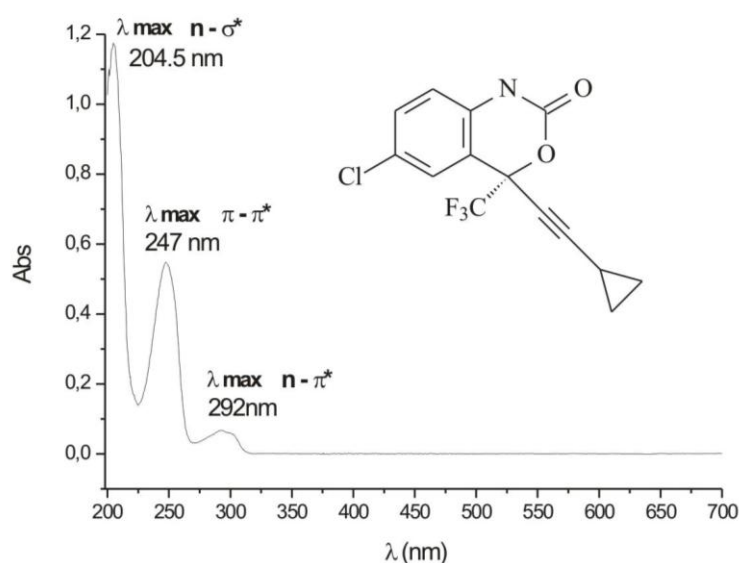


Figura 8. Estrutura química do EFZ ($C_{14}H_9ClF_3NO_2$) e varredura espectrofotométrica no sistema solvente selecionado.

Nas análises realizadas para a determinação do tipo e tempo de agitação na preparação das amostras, foi possível definir a ultrassonição por 10 min como o método a ser padronizado, uma vez que este se apresentou como o mais eficiente para o método proposto (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados experimentais do desenvolvimento do método com relação ao tipo e tempo de agitação das amostras.

Tipo/Tempo de Agitação	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	CV%
Sonicação 5 min	0,490	0,495	0,495	0,493	0,58
Sonicação 10 min	0,510	0,511	0,519	0,513	0,96
Sonicação 15 min	0,505	0,502	0,503	0,503	0,30
F calculado = 25,7146 F tabelado = 5,1432					
Agitação 10 min	0,471	0,476	0,491	0,474	0,53
Agitação 15 min	0,495	0,491	0,496	0,494	0,54
F calculado = 93,0250 F tabelado = 7,7086					

5.1.2 Validação do método analítico

5.1.2.1 Robustez

O método desenvolvido demonstrou ser robusto quanto à variação dos fabricantes de álcool etílico absoluto. De acordo com os resultados obtidos, o F calculado para esse parâmetro foi de 0,0218, inferior ao F tabelado (7,7086), sendo o CV % de 0,28 e 0,14 para os fabricantes Dinâmica® e Vetec®, respectivamente. Com relação à avaliação da estabilidade das soluções no intervalo de 4 h a partir da preparação das amostras e da influência da luminosidade, obteve-se um F calculado de 2,1185 (F tabelado = 5,1922) e 4,1784 (F tabelado = 5,3176), respectivamente, demonstrando que não houve diferenças estatisticamente significativas entre mesmos (Tabela 4).

Tabela 4. Resultados da robustez com relação ao parâmetro luminosidade e estabilidade das amostras.

Tempo	Concentração %	
	Presença de Luz	Ausência de Luz
0 h	100,96	100,51
1 h	100,77	100,58
2 h	100,22	100,83
3 h	101,15	100,83
4 h	101,41	100,15
Média	101,10	100,78
CV %	0,24	0,25

5.1.2.2 Linearidade

A análise de regressão linear dos mínimos quadrados apresentou um coeficiente de correlação de 0,99978, indicando linearidade dentro dos limites das concentrações estudadas, obtendo-se a equação da reta $y = 0,0520x - 0,0099$ (Figura 9).

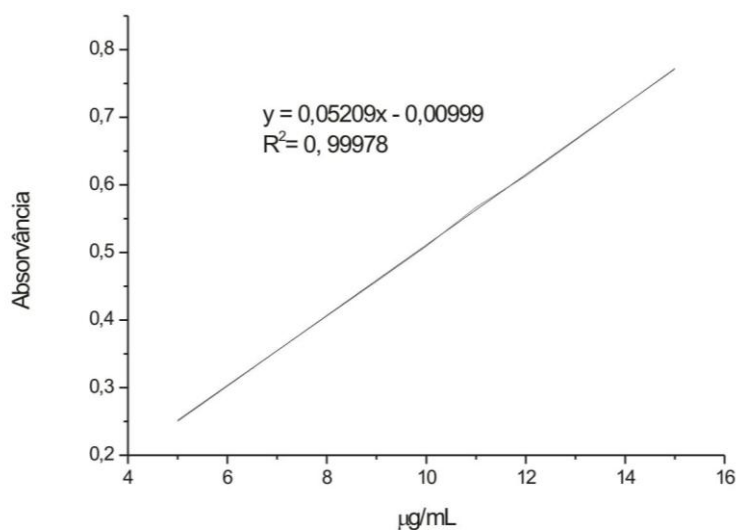


Figura 9. Gráfico de linearidade do método desenvolvido.

Através da análise de variância (Tabela 5) pode-se testar a validação do método e a significância estatística da curva ajustada. De acordo os resultados, observou-se que o método é linear e não houve falta de ajustes para as médias estudadas, apresentando um valor de F de 2,9582, abaixo do valor crítico tabelado (4,3807).

Tabela 5. Resultado do tratamento estatístico por ANOVA *One-Way* para a regressão linear.

Fonte	SQ	GL	MQ	F	F-crítico
Modelo	0,488486777	1	0,488486777	15515,9	4,3807
Residual	0,000598175	19	3,14829E-05	Curva Linear	
Falta de ajuste	9,28417E-05	5	1,85683E-05	0,51443	2,9582
Erro puro	0,000505333	14	3,60952E-05	Não há falta de ajuste	
Total	0,489084952	20	0,024454248		

5.1.2.3 Precisão

O método desenvolvido demonstrou ser preciso nos três níveis avaliados: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Para o parâmetro repetitividade os resultados obtidos apresentaram uma média de 100,32 e um CV de 1,35 %, abaixo do valor máximo especificado (BRASIL, 2003).

Na precisão intermediária foi demonstrado que o método é preciso para análises realizadas por analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes, estando a variação encontrada dentro dos limites especificados, pois através do tratamento estatístico foi demonstrado que os F calculados para as análises foram menores do que o F crítico (Tabela 6).

Tabela 6. Resultados experimentais obtidos na precisão intermediária com o sistema testado.

Analistas	Dia 1	Dia 2	Álcool Etílico: água (60:40, v/v)
			Dia
Analista 1	100,84 %	100,51 %	F calculado = 2,1109
			F tabelado = 18,5128
			Analista
Analista 2	100,52 %	100,26 %	F calculado = 1,8408
			F tabelado = 18,5128

O método também se apresentou reprodutivo quando avaliado em diferentes laboratórios, utilizando equipamentos diferentes. Os resultados avaliados podem ser visualizados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados experimentais obtidos para a reprodutibilidade.

Laboratório	1	2	3	Média	CV %
I	100,77	98,08	100,58	99,81	1,505
II	99,42	98,65	99,04	99,04	0,390

F calculado = 0,7384

F tabelado = 7,7086

5.1.2.4 Exatidão

A exatidão do método foi averiguada através da análise de três concentrações distintas (80 %, 100 %, 120 %), encontrando-se os resultados dentro dos limites especificados (Tabela 8).

Tabela 8. Resultados da Exatidão do método.

Amostras	8 µg/mL	%	10 µg/mL	%	12 µg/mL	%
1	8,06	100,74	10,08	100,78	11,88	99,03
2	7,96	99,50	10,04	100,39	11,88	99,03
3	8,06	100,74	9,90	99,03	11,90	99,19
Média	8,03	100,33	10,01	100,6	11,89	99,08
DP	0,057	0,714	0,091	0,919	0,011	0,093
CV %	0,712	0,712	0,919	0,919	0,094	0,094

Para este parâmetro, foi aplicado o teste *t Student*, o qual demonstrou que o *t* calculado para cada concentração foi de 0,8308, 0,8543 e 0,3523, respectivamente, sendo estes menores que o *t* tabelado (4,3026), comprovando que não houve diferença significativa entre as médias das três concentrações analisadas.

5.1.2.5 Especificidade

Para o método proposto, a solução amostra de EFZ foi contaminada com uma impureza, a zidovudina. Embora este fármaco possua absorção máxima no comprimento de onda de 270 nm (RANDAU *et al.*, 2005), muito próximo ao comprimento em estudo (247 nm), não houve interferência na absorção do EFZ neste comprimento de onda e na concentração de 0,2 µg/mL de zidovudina. Esse valor encontra-se dentro do intervalo que

compreende os LD e LQ da zidovudina, que são de 0,0394 e 0,0597 $\mu\text{g/mL}$ (RANDAU *et al.*, 2005), respectivamente (Figura 10).

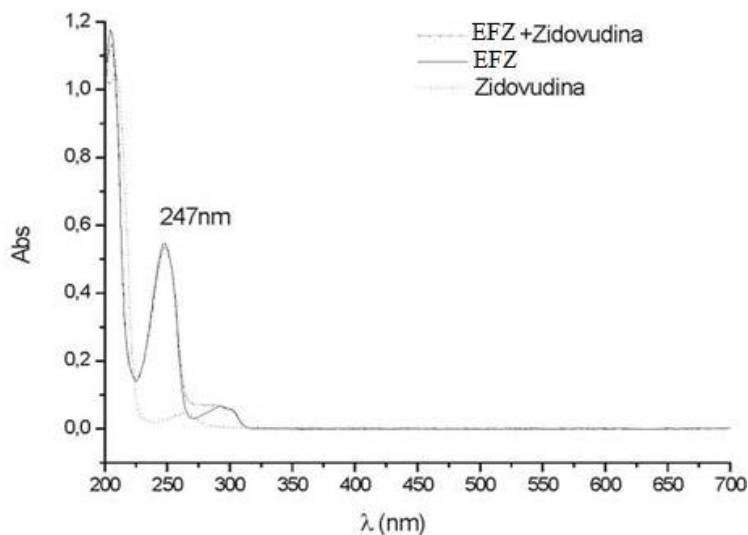


Figura 10. Varreduras realizadas para a avaliação da especificidade do método.

5.1.3 Absortividade Molar (ϵ)

A absorbância da amostra foi de 0,555 para o solvente metanol e 0,318 para a água purificada, por meio da aplicação da equação $M = m/\text{mol} \times V$; onde M é a concentração molar, m é a massa e V o volume. Conhecida a massa molar do EFZ (315,68 g/mol), tem-se que a concentração molar do mesmo a 10 $\mu\text{g/mL}$ é igual a $3,1677 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$.

Aplicando-se a equação $\epsilon = \text{Abs} \cdot M^{-1}$, calculou-se a absortividade molar do EFZ em água purificada ($9028,63 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$) e metanol ($17520,59 \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$). Uma vez realizado o calculado da absortividade molar do fármaco no solvente de interesse, pode-se descobrir a concentração molar de qualquer amostra desconhecida solubilizada no solvente em questão.

5.1.4 Verificação da Aplicabilidade da Absortividade Molar

5.1.4.1 Precisão

O método desenvolvido demonstrou ser preciso por meio da repetitividade e precisão intermediária para os dois solventes analisados. Na repetitividade, os resultados obtidos apresentaram um CV de 0,92 % para a água purificada e 1,13 % para o metanol. Na precisão intermediária foi demonstrado que o método é preciso para análises realizadas por analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes, sendo a variação enquadrada dentro dos limites especificados para ambos solventes (Tabela 9).

Tabela 9. Resultados experimentais obtidos na precisão intermediária com os diferentes sistemas testados.

Analistas	Dia 1	Dia 2	<i>Água Purificada</i>
Dia			
Analista 1	100,67 %	100,17 %	F calculado = 0,0095 F tabelado = 18,5128
Analista			
Analista 2	99,92 %	100,50 %	F calculado = 0,3008 F tabelado = 18,5128
<i>Metanol</i>			
Dia			
Analista 1	100,15 %	100,39 %	F calculado = 3,8879 F tabelado = 18,5128
Analista			
Analista 2	99,77 %	100,30 %	F calculado = 0,6526 F tabelado = 18,5128

5.1.4.2 Especificidade

Para o método proposto, a solução amostra de EFZ nos dois solventes analisados foram contaminadas com uma impureza zidovudina, não havendo interferência na absorção do EFZ neste comprimento de onda.

5.1.4.3 Linearidade

Os resultados do estudo de linearidade estão agrupados na Tabela 10, bem como a média dos pontos estudados. A análise de regressão linear dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação de 0,9994 e 0,9939 para metanol e água, respectivamente, indicando a linearidade dentro dos limites das concentrações estudados, obtendo-se a equação da reta $y = 1,1107x + 0,0011$ para o metanol e $y = 0,9308x + 0,0081$ para água. De acordo os resultados, observou-se que o método é linear e não houve falta de ajustes para as médias estudadas, apresentando um valor de F de 2,9582, abaixo do valor crítico tabelado de 4,3807.

Aplicando-se o método de comparação entre duas grandezas, no qual o módulo do valor teórico subtraído do valor prático, sendo o resultado dividido pelo valor teórico e multiplicando por cem, obtêm em percentual o quão distante o resultado experimental está do modelo teórico. Para os valores avaliados na linearidade, para ambos solventes menores, a variação encontrada foi menor do que 5 %, sendo, portanto, adequados analiticamente (BRASIL, 2003).

Tabela 10. Resultados experimentais e teóricos para o parâmetro linearidade nos solventes água purificada e metanol.

	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Abs Teórica	Abs Prática Média (n3)	Resultados Práticos		Teórico x Prático
				DP %	CV %	%
Água Purificada	5	0,143	0,146	0,004	2,986	2,098
	8	0,229	0,228	0,002	0,914	0,437
	9	0,257	0,252	0,007	2,646	1,946
	10	0,286	0,292	0,006	1,907	2,098
	11	0,315	0,322	0,003	1,076	2,222
	12	0,343	0,338	0,004	1,067	1,458
	15	0,429	0,421	0,006	1,323	1,865
Metanol	5	0,277	0,275	0,004	1,455	0,722
	8	0,444	0,448	0,005	1,007	0,901
	9	0,499	0,502	0,005	0,913	0,601
	10	0,555	0,555	0,005	0,826	0,000
	11	0,611	0,607	0,003	0,414	0,655
	12	0,666	0,668	0,004	0,605	0,300
	15	0,833	0,832	0,003	0,367	0,120

O método desenvolvido e validado segundo o ICH (ICH Q2A, 2005; ICHQ2B, 2005) e a ANVISA (RE nº 899, 2003), apresentou a confiabilidade requerida para um método analítico. Além de se mostrar como uma alternativa rápida, segura e de baixo custo quando comparado ao método por CLAE.

Paralelamente, a absortividade molar demonstrou que pode ser utilizada no setor de Desenvolvimento Analítico para facilitar o desenvolvimento de novos métodos, investigação de desvios de qualidade e/ou adaptação dos mesmos. Por meio dos parâmetros utilizados, demonstraram-se as vantagens do uso dentro do limite de confiabilidade analítica.

PARTE EXPERIMENTAL II

5.2 OBTENÇÃO E AVALIAÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS COM EFAVIRENZ

5.2.1 Diagrama de Solubilidade de Fases

A solubilidade do EFZ em água foi de 8,34 µg/mL, indicando que este é insolúvel em água, como relatado na literatura (F. BRAS IV, 1988; SATHIGARI *et al.*, 2009). Paralelamente, de acordo com as curvas obtidas com os diferentes carreadores utilizados, observou-se que esses influenciaram de forma distinta o comportamento do EFZ em água para o incremento da solubilidade.

Dentre os parâmetros avaliados, analisou-se a linearidade das curvas obtidas para cada carreador, com o objetivo de observar a tendência no incremento da solubilidade do fármaco em relação ao aumento da concentração do carreador em solução, além do percentual de solubilização proporcionado em relação ao fármaco. Esses resultados foram avaliados a partir do coeficiente de correlação (R^2) de cada curva e da concentração de fármaco dissolvido nas concentrações testadas. Os valores de R^2 variaram entre 0,1863 e 0,9968, demonstrando que nem todos os carreadores proporcionaram um incremento linear da solubilidade, apresentando variações aleatórias para as diferentes concentrações (Tabela 11), não sendo possível prever, em alguns casos, o comportamento da solubilidade do EFZ em solução com o aumento da concentração do carreador.

As soluções que apresentaram um comportamento mais previsível e linear foram aqueles com os seguintes carreadores: polissorbato 80, Solutol HS15, LSS, Myrj 52, PVP K-30 e ácido cítrico. Para esses, o aumento da concentração do carreador foi acompanhado de um incremento de solubilidade proporcional, demonstrando claramente a influência positiva do carreador no meio aquoso.

Tabela 11. Parâmetros do estudo de solubilidade do efavirenz obtidos com os carreadores a 25 °C.

Carreador	Coefficiente angular	R²	% de incremento (conc. carreador %)
<i>Ácido Orgânico</i>			
Ácido Cítrico	4,24 x 10 ⁰	0,9711	12,21 (1 %)
<i>Hidrotopo</i>			
Uréia	- 8,04 x 10 ⁻¹	0,5099	8,85 (0,5 %)
<i>Polímeros</i>			
PVP K-30	1,50 x 10 ¹	0,9968	24,20 (1 %)
PEG 4000	4,35 x 10 ⁰	0,8859	14,64 (1 %)
PEG 6000	7,13 x10 ⁻¹	0,8899	9,05 (1 %)
HPMC K-100	2,91 x 10 ⁰	0,7521	10,44 (0,3 %)
<i>Poliol</i>			
Manitol	- 4,80 x 10 ⁻¹	0,1863	11,17 (0,1 %)
<i>Surfactantes</i>			
Polissorbato	9,01 x 10 ²	0,9710	928,73 (1 %)
LSS	3,51 x 10 ²	0,9522	318,18 (1 %)
Myrj 52	2,52 x 10 ²	0,9534	248,85 (1 %)
Myrj 53	1,55 x 10 ²	0,7542	216,66 (0,5 %)
Solutol HS15	4,08 x 10 ²	0,9826	429,63 (1 %)
Gelucire 44/14	3,92 x 10 ²	0,9028	378,87 (1 %)

Na avaliação dos coeficientes angulares das curvas lineares pode-se observar a seguinte ordem crescente de valores, com relação ao incremento de solubilidade do EFZ: uréia < manitol < PEG 6000 < HPMC K100 < ácido cítrico < PEG 4000 < PVP K-30 < Myrj 53 < Myrj 52 < LSS < Gelucire 44/14 < Solutol HS15 < polissorbato 80. Esses resultados estão diretamente relacionados ao incremento de solubilidade observado do EFZ ($\mu\text{g/mL}$) para cada carreador utilizado, como ilustra as curvas das figuras 11, 12 e 13, além dos resultados do aumento de solubilização apresentados na tabela 11. De acordo com esses, quanto maior o valor do coeficiente angular, maior o incremento da solubilidade aquosa proporcionado.

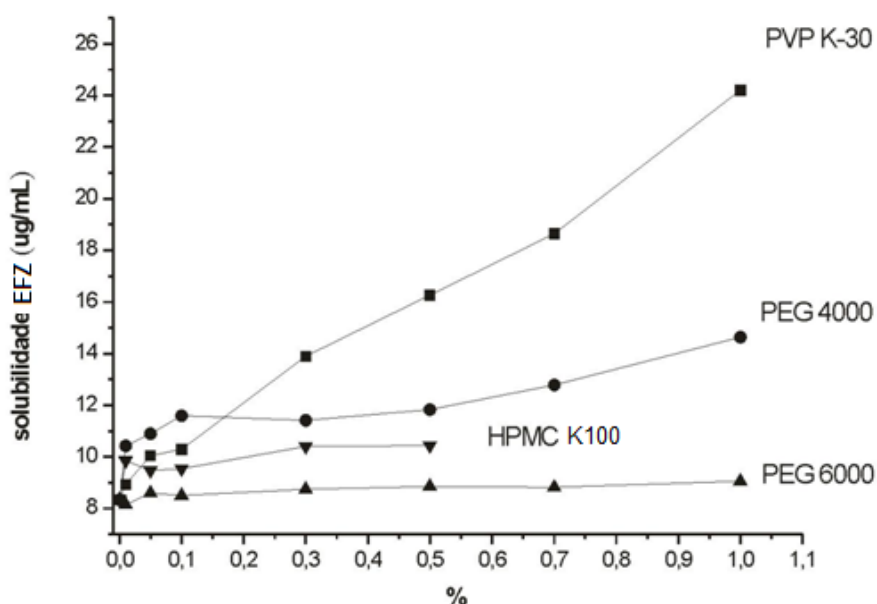


Figura 11. Curvas do diagrama de solubilidade com polímeros hidrofílicos.

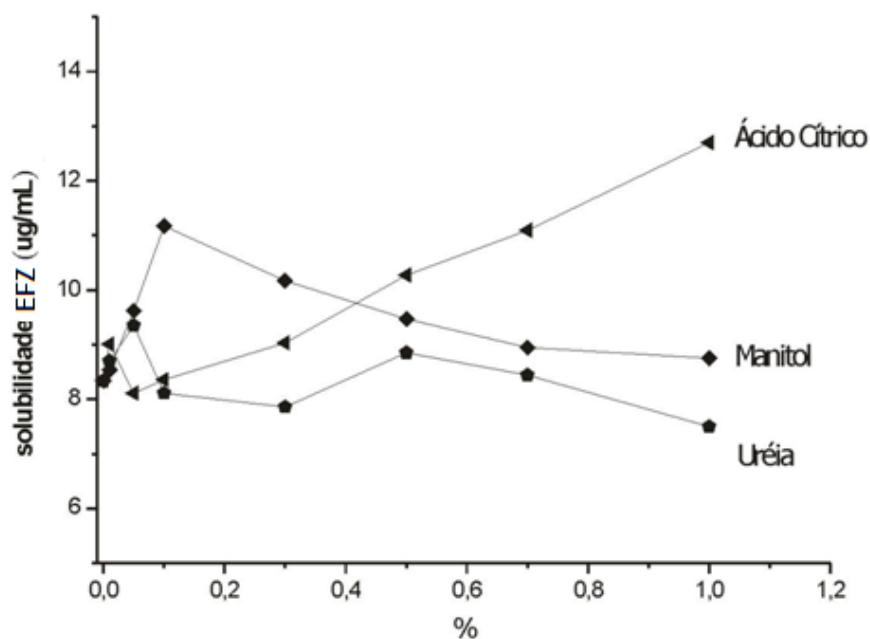


Figura 12. Curvas do diagrama de solubilidade com ácido cítrico, manitol e uréia.

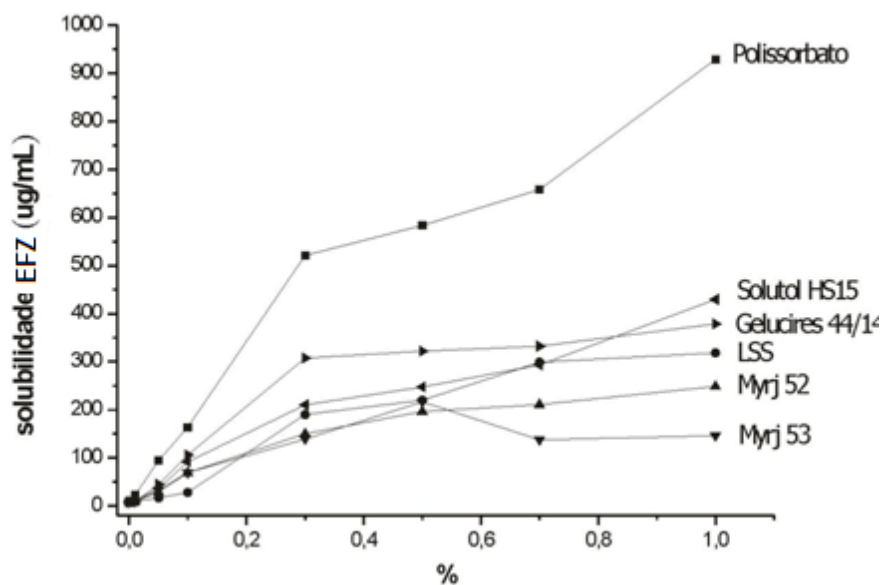


Figura 13. Curvas do diagrama de solubilidade com os agentes surfactantes/emulsificantes.

Todos os dados relatados também podem ser visualizados através dos resultados obtidos com o cálculo da energia livre de Gibbs que demonstra a espontaneidade no processo de solubilização do EFZ. Em geral, o incremento da solubilidade está diretamente associado a valores de $\Delta G^\circ < 0$, que comumente é proporcional ao aumento da concentração do agente solubilizante, logo quanto maior a contribuição para o valor negativo de ΔG , melhor será o efeito solubilizante (PATEL *et al.*, 2008).

Em conformidade com os resultados anteriormente descritos, o valor mais negativo de ΔG° foi encontrado para o polissorbato, seguido do sorbitol, gelucire, LSS, Myrj 52, Myrj 53, PVP K-30, PEG 4000, ácido cítrico, HPMC, PEG 6000 e manitol, sendo os valores de ΔG° mais negativos na concentração de 1 % de carreador (Tabela 12). Para uréia, nessa mesma concentração, observou-se um valor de ΔG° positivo, evidenciando a não espontaneidade do processo de solubilização, o que pode ser constatado com a diminuição da solubilidade do EFZ na presença de uréia.

Apesar dos resultados demonstrarem que os agentes surfactantes/emulsionantes proporcionam um incremento na solubilidade aquosa mais significativa em relação aos outros carreadores, através de avaliações prévias demonstrou-se que estes se mostraram inadequados para a preparação das dispersões no estado sólido a partir das metodologias utilizadas visando uma formulação sólida. Diante do exposto e dos resultados obtidos, optou-se pela preparação de dispersões sólidas utilizando o polímero PVP K-30, que dentre os polímeros testados, proporcionou o maior incremento de solubilização do fármaco (cerca de 25 %). Adicionalmente, também é um polímero amplamente utilizado pela indústria farmacêutica com diversas finalidades, e amplamente citado na preparação de dispersões.

Tabela 12. Valores de energia livre de Gibbs para o processo de solubilização do EFZ em meio aquoso com diferentes carreadores.

ΔG° (J.mol ⁻¹) para os carreadores hidrossolúveis a 25 °C													
carreador	Ácido	Uréia	PVP	PEG	PEG	HPMC	Manitol	Polissorbato	LSS	Myrj	Myrj	Solutol	Gelucire
%	Citrico		K-30	4000	6000					52	53		44/14
0.01	-191.18	-103.86	-170.08	-553.80	57.24	-413.77	-58.10	-2450.40	-255.14	-112.92	-241.45	-637.10	-127.33
0.05	68.88	-283.98	-461.33	-664.73	-74.67	-315.82	-355.46	-6021.53	-1675.83	-3039.72	-3416.93	-3639.72	-4178.13
0.1	-7.71	68.88	-521.82	-816.24	-48.85	-334.07	-725.46	-7385.83	-3030.83	-5246.91	-5253.74	-5941.89	-6307.81
0.3	-198.18	145.91	-1264.43	-777.84	-116.53	-547.74	-492.53	-10251.80	-7753.42	-7162.56	-6984.80	-8002.52	-8943.50
0.5	-515.69	-148.80	-1657.48	-867.42	-147.02	-556.82	-315.82	-10534.20	-8115.40	-7830.97	-8076.40	-8408.39	-9057.82
0.7	-707.76	-30.23	-1995.82	-1059.72	-138.09	-	-175.37	-10830.20	-8875.89	-8005.52	-6950.65	-8825.82	-9136.92
1	-946.13	260.86	-2642.03	-1394.95	-205.15	-	-118.33	-11685.10	-9029.24	-8419.83	-7101.84	-9773.79	-9462.04

5.2.3 Ensaio de dissolução

Os perfis de dissolução do EFZ isolado, DS e MF são mostrados na Figura 14 e 15, resumidos na Tabela 13. A partir da análise desses resultados, observou-se que os perfis de dissolução indicaram que o comportamento do EFZ incorporado nas dispersões sólidas malaxadas, rotaevaporadas e misturas físicas apresentam liberações totalmente distintas.

Comparando o fármaco puro as MF, observou-se que estas últimas apresentaram as mais elevadas taxas de dissolução de EFZ dissolvido. Dentre estes, a proporção 1:1 obteve o melhor resultado (Q_{60} 76,08), demonstrando que mesmo sem interação química, as mistura do fármaco com o PVP K-30 proporcionam melhores características de dissolução. Esses resultados podem ser atribuídos principalmente ao efeito hidrofílico do carreador, que além de diminuir a tensão interfacial entre o fármaco e o meio de dissolução, também contribui na molhabilidade do fármaco, através da formação de um microambiente favorável para solubilização em torno das partículas.

Com relação as DS rotaevaporadas, pode-se observar que este método não proporcionou incremento na quantidade de fármaco dissolvido, sendo observado apenas um aumento na taxa de dissolução nas dispersões nas proporções 1:1 e 2:1 nos primeiros 15 min de dissolução (Figura 14 e Tabela 13). Paralelamente, a proporção 4:1 obteve resultados inferiores em relação a taxa de dissolução e ao percentual de fármaco dissolvido (Q_{60} 3,44), quando comparado ao fármaco isolado (Q_{60} 34,19). Esse fato demonstra o efeito negativo do processo de obtenção por solvente nas dispersões, principalmente com altas proporções de EFZ.

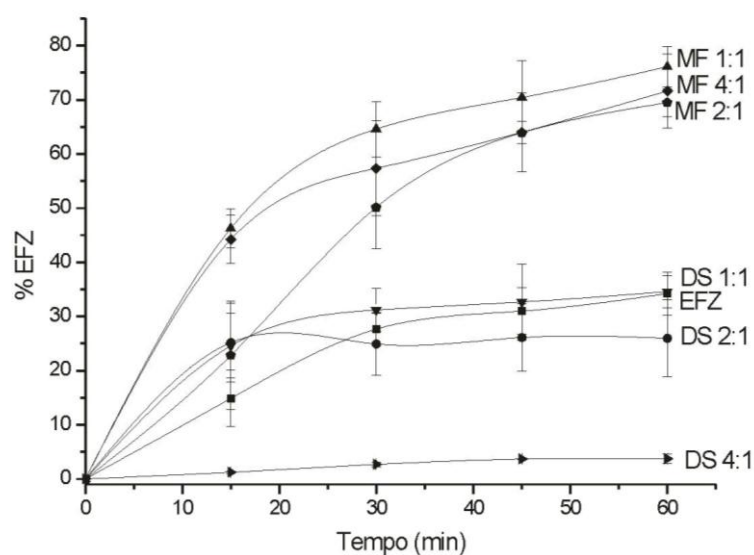


Figura 14. Perfis de dissolução das DS EV, MF e EFZ.

Ao contrário das dispersões obtidas pelo método solvente, o EFZ apresentou um perfil de dissolução diferenciado nas dispersões malaxadas. Embora o aumento da taxa de dissolução seja geralmente observado em proporções elevadas de polímero, em particular neste estudo, observou-se um comportamento inverso para as DS malaxadas (Figura 15).

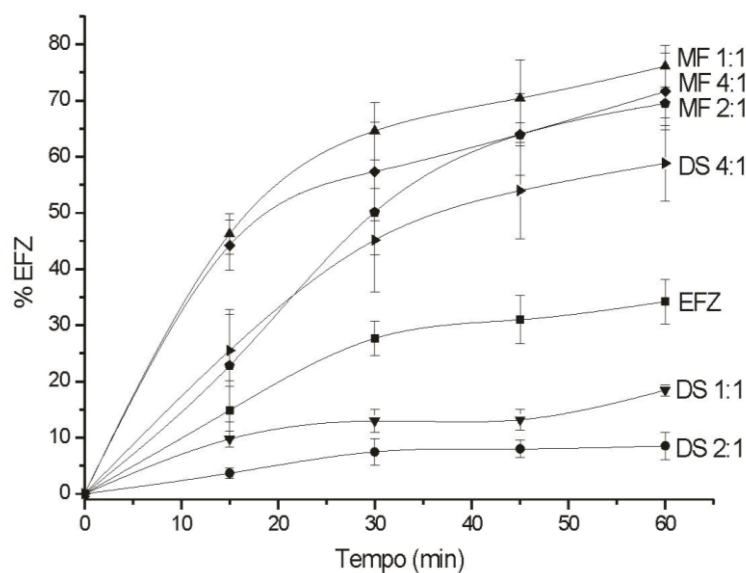


Figura 15. Perfis de dissolução das DS MX, MF e EFZ.

Neste caso, o sistema com o menor percentual de PVP K-30 (proporção 4:1) mostrou-se mais efetivo na taxa de dissolução do EFZ. Cabe salientar que em todas as DS, incluindo as rotaevaporadas, foi observada a formação de uma malha consistente que tomou a forma da cápsula gelatinosa, após a solubilização do invólucro (Figura 16), sendo mais predominante nas proporções 1:1 e 2:1, levando a uma lenta dissolução das DS através de um processo predominantemente erosivo. Esse fato pode estar relacionado a natureza do transportador utilizado, associado ao processo de obtenção, fazendo com que o polímero haja como um forte aglutinante em contato com o meio líquido. Isso pode ser facilmente avaliado levando-se em consideração a DS MX 4:1, onde a dissolução observada foi maior, devido a menor quantidade de PVP K-30 incorporado ao sistema. O comportamento ora descrito, também foi observado quando o pó das amostras foram colocados diretamente nas cubas de dissolução.

Adicionalmente, a camada exterior da matriz polimérica formada pelo PVP K-30 hidratado pode ter conduzido a transformação do polímero do estado vítreo para o maleável fazendo o polímero intumescer. A camada de pseudo-gel formada controla a taxa de liberação do fármaco, que também é dependente da solubilidade deste, uma vez que o mecanismos de liberação de fármacos com solubilidade inferiores a 0,5 mg/mL a partir de uma matriz é predominantemente pelo processo de erosão, que também é influenciada pela propriedade do polímero. Para estes casos, a velocidade de dissolução também dependerá em grande parte de algumas características do fármaco incluso neste sistema, tais como: estado cristalino, ionização e tamanho de partícula (ANDREETTA, 2003; HARDY *et al.*, 2007).

Neste sentido, as MF demonstraram a influência negativa que os métodos de obtenção podem ter favorecendo este evento, sendo o incremento da molhabilidade proporcionado pelo polímero hidrofílico nas MF relevante para proporcionar a melhora da taxa e do percentual de fármaco dissolvido. Esse mesmo fenômeno de aglutinação também foi relatado em outros estudos com diferentes tipos de carreadores, incluindo diferentes tipos de PEG e PVP (AKBUGÃ; GÜRSOY; YETIMOGLU, 1998; SERAJUDDIN, 1999).

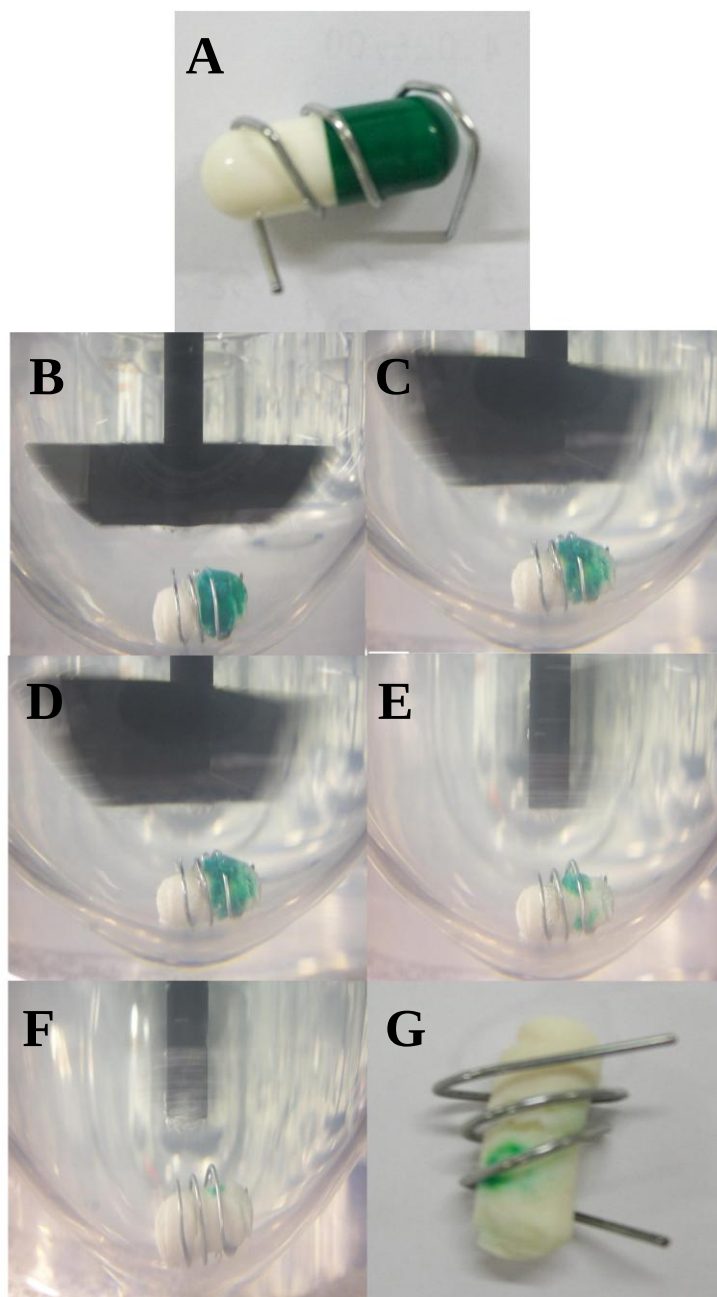


Figura 16. Comportamento de DS MX 1:1 em cápsula gelatinosa no meio de dissolução com LSS 0,5%. (A) Antes da dissolução, (B) 10 min, (C) 15 min, (D) 30 min, (E) 45 min, (F) 60 min, (G) Aspecto da DS após 60 min de dissolução.

Para a análise comparativa de todas as formulações, foram calculados as ED nos primeiros 15 min e ao final da dissolução (Tabela 13). Os valores de ED₁₅ permitiram uma avaliação comparativa das formulações com relação a velocidade de liberação mais rápida do fármaco quando em contato com o meio. Enquanto que os valores de ED₆₀ forneceram informações sobre a eficiência do processo como um todo, levando em consideração a eficiência total do processo de liberação do fármaco a partir dos sistemas avaliados. O valor de ED₁₅ para o EFZ puro (1,93) demonstra a sua baixa dissolução inicial, que pode ser fortemente atribuída a sua resistência a molhagem nos minutos iniciais da dissolução. Contudo, o contato permanente com o meio adicionado de LSS, permite a diminuição da tensão superficial entre o meio aquoso e o EFZ, melhorando a molhabilidade do mesmo, permitindo a dissolução gradual do fármaco.

Por outro lado, observou-se que as MF proporcionaram uma melhora nesse aspecto, inclusive em relação as DS, devido a característica hidrofílica do polímero, que contribui para a dissolução instantânea do EFZ em contato com o meio; além de não haver interferência do processo de preparação das DS, conforme descrito anteriormente. Esse mesmo fato pode ser aplicado com relação aos dados de ED₆₀ obtidos, sendo possível também inferir que o EFZ puro quando comparando as DS EV 1:1 e MX 4:1, estes últimos proporcionaram uma influência notável na dissolução do EFZ, sendo mais significativa para a DS MX 4:1.

Tabela 13. Percentagem e eficiência de dissolução do EFZ e sistemas binários dissolvido após 15, 30 e 60 min.

PARÂMETROS DA DISSOLUÇÃO					
Produto	Q ₁₅	Q ₃₀	Q ₆₀	ED ₁₅ %	ED ₆₀ %
EFZ	14,87 ± 5,23	27,67 ± 3,02	34,19 ± 3,97	1,93	22,66
MF 1:1	46,25 ± 3,61	64,59 ± 5,10	76,08 ± 3,78	5,78	54,82
MF 2:1	22,82 ± 9,98	50,12 ± 7,54	69,46 ± 2,52	2,85	42,90
MF 4:1	44,20 ± 4,47	57,35 ± 8,73	71,61 ± 6,86	5,52	50,34
Dispersões rotaevaporadas					
DS EV 1:1	27,39 ± 2,74	29,46 ± 2,94	30,88 ± 3,09	3,07	26,43
DS EV 2:1	5,73 ± 7,29	7,04 ± 5,73	7,29 ± 7,04	3,15	22,30
DS EV 4:1	1,25 ± 0,22	2,68 ± 0,39	3,74 ± 0,85	0,16	2,37
Dispersões malaxadas					
DS MX 1:1	3,66 ± 0,97	7,46 ± 2,38	8,54 ± 2,41	0,46	5,85
DS MX 2:1	9,76 ± 1,44	12,99 ± 2,01	18,43 ± 0,97	1,22	11,29
DS MX 4:1	25,50 ± 6,42	45,15 ± 9,20	58,83 ± 6,72	3,19	38,51

5.2.4 Caracterizações físico-químicas

5.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC obtidas do material puro, processados e suas correspondentes misturas físicas foram representadas na Figura 17.

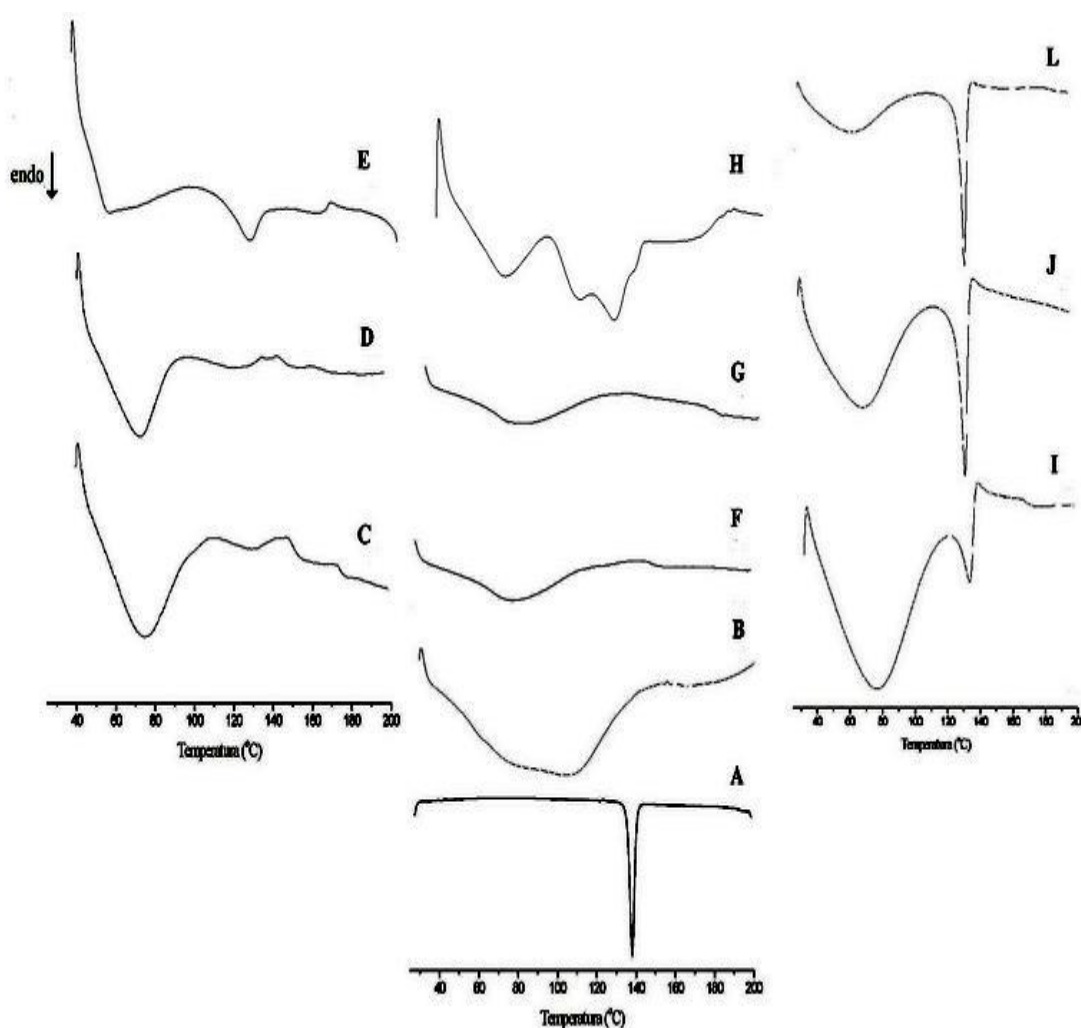


Figura 17. Curvas DSC para componentes isolados e sistemas binários de BNZ e PVP K-30: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

O comportamento térmico do EFZ pôde ser evidenciado através de um pico endotérmico correspondente a faixa de temperatura de 136,86 a 141,75 °C, característico do processo de fusão da sua estrutura cristalina (Figura 17A), confirmada através de MEV (Figura 18A) e DRX (Figura 19A). Para o PVP K-30 pode-se observar uma leve curva no sentido endotérmico, no intervalo entre 36,99 e 143,07 °C, sendo até a temperatura de 102,36 °C devido a evaporação de água do material (Figura 17B), confirmado através da análise de TG, responsável pela perda de 12,26% da massa do PVP K-30; ocorrendo paralelamente até a temperatura de final o processo de transição vítrea do polímero.

O pico característico do EFZ pode ser observado em todas as proporções das MF. Paralelamente, foi observado um deslocamento nos picos de fusão das MF de em média 3,21 °C, além de que quanto menor a proporção de EFZ no sistema em relação ao PVP K-30, menor a energia requerida para o processo de fusão do mesmo (Tabela 14). Esse fato sugere que o PVP K-30 foi capaz de proporcionar uma leve solubilização da fração de EFZ em excesso no estado sólido durante o processo de aquecimento, conforme fenômeno relatado anteriormente por Kaewnopparat *et al.* (2009). Apesar desse fato, podemos observar através dessa técnica que não houve indícios de interações químicas e incompatibilidades entre o fármaco e o polímero nas MF. Paralelamente, também há indícios de que o EFZ esteja presente na forma cristalina, podendo ser confirmado através dos resultados dos estudos de DRX.

Tabela 14. Dados térmicos obtidos por DSC do evento de fusão do EFZ nas diferentes amostras avaliadas.

Amostra	Intervalo de fusão (°C)	T_{max} (°C)	ΔH (J/g)
EFZ	136,54 - 141,75	139,54	41,27
MF 1:1	129,26 – 138,84	135,31	4,87
MF 2:1	131,73 – 139, 13	136,67	17,11
MF 4:1	133, 23 – 138,96	137,01	26,68
DS EV 1:1	-	-	-
DS EV 2:1	-	-	-
DS EV 4:1	115,89 – 131,67	125,10	3,00
DS MX 1:1	-	-	-
DS MX 2:1	-	-	-
DS MX 4:1	95,39 – 114,01	107,57	3,26
	118,18 – 134,71	124,95	4,07

Adicionalmente, as DS MX e EV nas proporções 1:1 e 2:1 (Figura 17C, D, F e G), apresentaram comportamento térmico semelhante, devido a ausência de picos do EFZ, possibilitando inferir sobre uma possível perda da estrutura cristalina do fármaco nessas amostras. Contudo, essa informação só pode ser confirmada através do auxílio das demais técnicas utilizadas, como a DRX.

Através da curva de DSC referente à DS EV 4:1 foi possível evidenciar a presença de um pico de fusão com um deslocamento de 14,44 °C, além de uma baixa variação de energia requerida para esse processo, que provavelmente indica uma diminuição da cristalinidade das partículas avaliadas, decorrente de alguma interação entre os componentes. Paralelamente, na curva da DS MX 4:1, observou-se a presença de dois picos deslocados, corresponde a formação de duas fases devido ao excesso de fármaco, sendo a quantidade de polímero adicionada insuficiente para a solubilização completa do fármaco. Apesar desse fato, pode-se observar uma diminuição acentuada da fusão do fármaco ainda presente forma cristalina no sistema avaliado.

5.2.4.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A análise de MEV permite avaliar a morfologia dos produtos isolados e na forma de sistemas binários, possibilitando uma possível correlação entre a estrutura morfológica e o tamanho das partículas com os resultados obtidos através das demais análises realizadas na investigação da formação de uma dispersão sólida com o aumento da solubilidade de fármacos. As eletromicrografias dos materiais isolados (EFZ e PVP K-30) e dos sistemas binários (MF e DS) estão ilustradas na Figura 18.

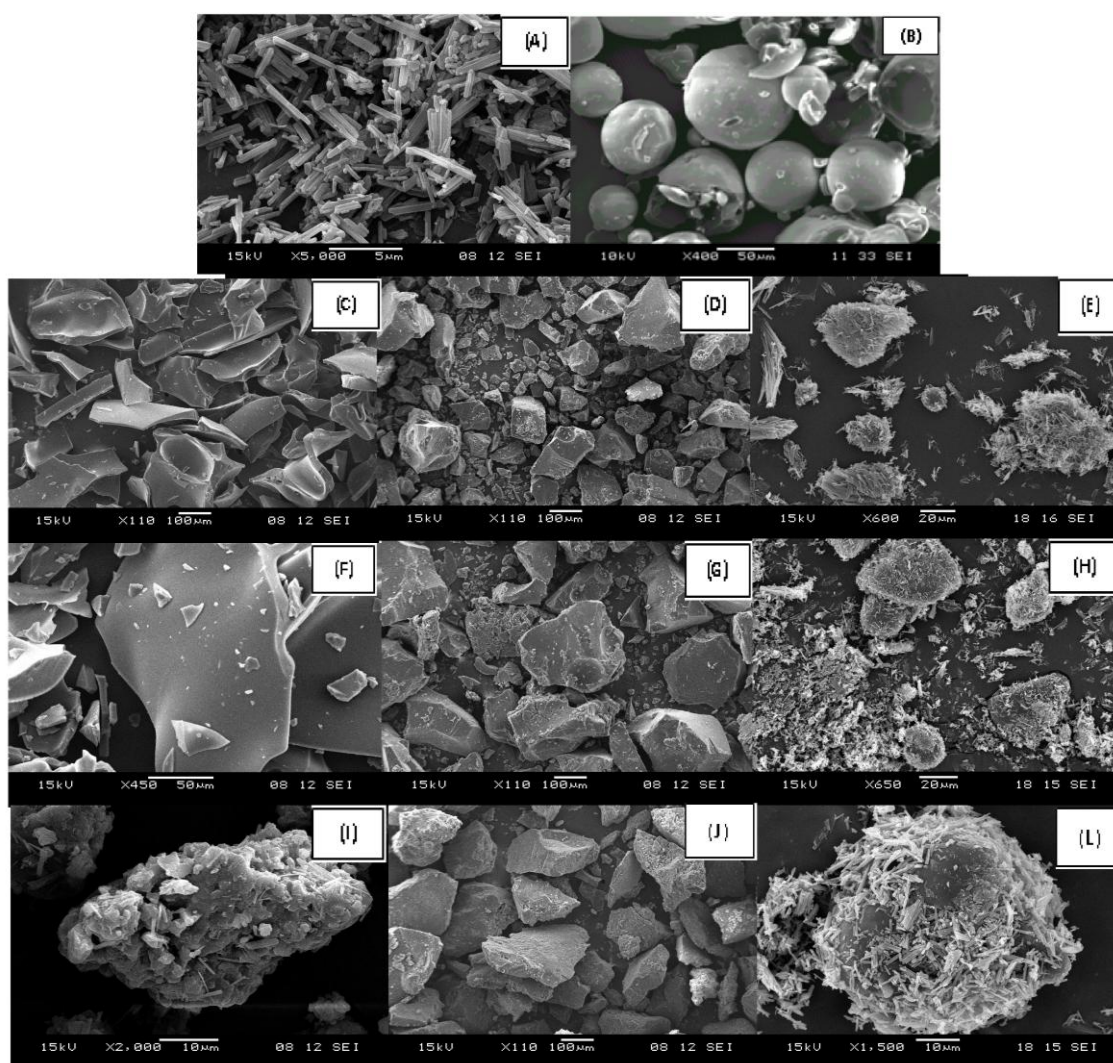


Figura 18. Eletromicrografias de MEV: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS MX 1:1, (E) MF 1:1, (F) DS EV 2:1, (G) DS MX 2:1, (H) MF 2:1, (I) DS EV 4:1, (J) DS MX 4:1, (L) MF 4:1.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Através dessas pode-se observa a forma cristalina do fármaco EFZ, apresentando cristais irregulares de formato ortorrômbico (Figura 18A); enquanto que o PVP K-30 (Figura 18B) é composto por partículas amorfas esféricas bem características.

Por outro lado, nas eletromicrografias das DS MX e das EV 1:1 e 2:1 não foi visualizada a morfologia cristalina original do EFZ, ocorrendo também uma drástica mudança no aspecto do polímero. Diante disso, esses sistemas apresentaram-se como pequenos agregados amorfos de partículas não sendo possível a separação visual entre fármaco e polímero. Contudo, observou-se uma diferença nítida entre a morfologia das dispersões obtidas pelo método de MX e EV. Portanto, a drástica mudança da forma e do aspecto das partículas, sugere a formação de uma nova fase sólida, que pode ser atribuída à mudança do estado cristalino desses sistemas binários, levando a existência de uma única fase; ou a uma real conversão do estado cristalino ao estado amorfo devido às possíveis interações químicas ocorridas entre o polímero e o ativo no processo de obtenção das dispersões sólidas (PRESMISH, 2009).

Com relação a DS EV 4:1, foi possível visualizar algumas partículas do EFZ inseridas em partículas maiores de dispersão, demonstrando que apesar das mudanças observadas em relação as partículas originais, ainda há partículas do fármacos na forma cristalina, o que pode ser confirmado pela curva de DSC dessa DS, que apresentou picos referentes a fusão do EFZ nas fases do sistema avaliado. Apesar de não ser possível a visualização nítida dos cristais de EFZ na DS MX 4:1 por MEV, sendo possível ver apenas pequenas partículas no aumento de 8.500X, há indícios de sua presença através das demais técnicas utilizadas.

Portanto, embora esta técnica não seja conclusiva para avaliar a existência da formação de dispersões verdadeiras no estado sólido, pode ser útil para provar a homogeneidade dos sistemas.

5.2.4.3 Difração de Raios X (DRX)

Os difratogramas do fármaco em relação a algumas dispersões indicam alterações produzidas na estrutura cristalina originais do EFZ. O difratograma deste, revelou a presença de um pico bem distinto que pode ser observado a 2θ em torno de $6,24^\circ$, além de outros de menor intensidade em $10,56^\circ$, $11,04^\circ$, $12,34^\circ$, $13,34^\circ$, $14,28^\circ$, $15,36^\circ$, $17,0^\circ$, $19,4^\circ$, $20,3^\circ$, $21,38^\circ$ e $25,02^\circ$ (Figura 19A). Por sua vez, o PVP K-30 foi caracterizado por completa ausência de picos, característico de composto amorfo (Figura 19B), colaborando com os dados obtidos com o DSC e MEV.

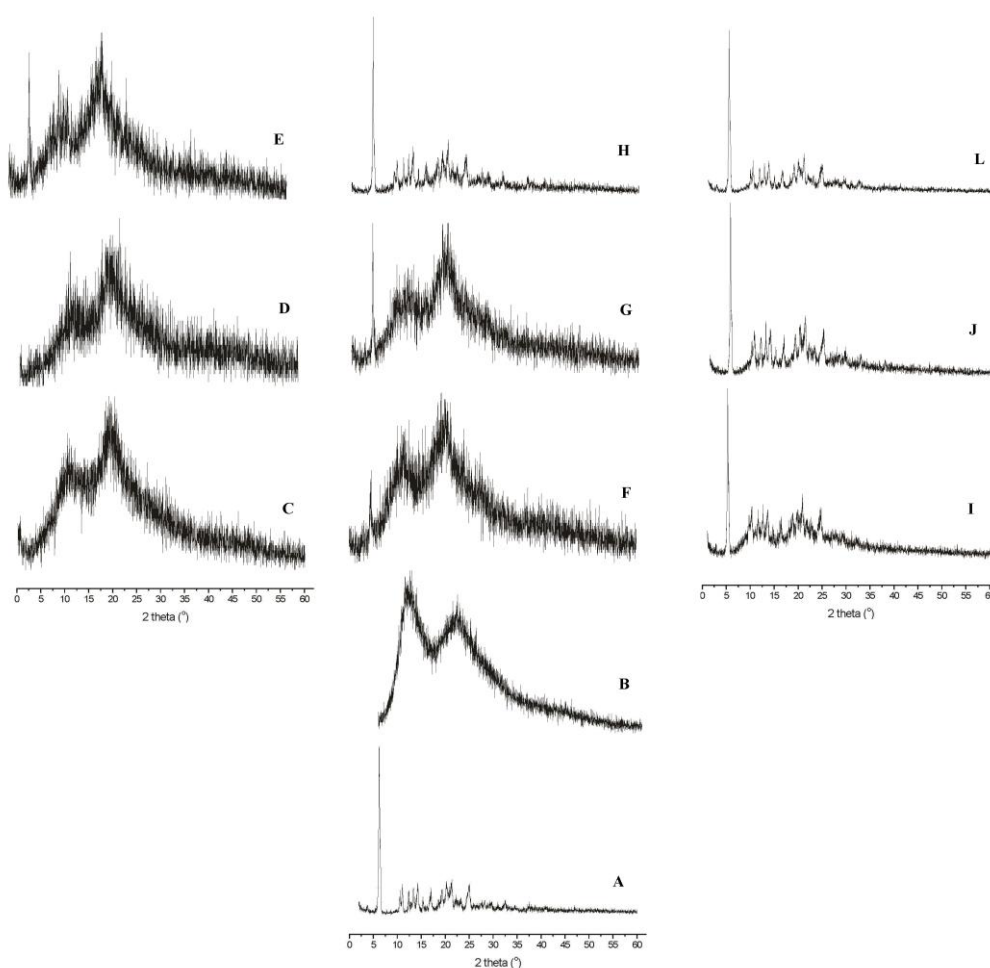


Figura 19. Difratogramas do EFZ, PVP K-30 e sistemas binários: (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.

As MF apresentaram difratogramas similarmente sobreponíveis ao fármaco indicando que a cristalinidade não foi afetada pelo processo de obtenção das mesmas (Figuras 19I, J, L). O resultado ora apresentado está em concordância com os anteriormente descritos.

Nas DS EV (Figuras 19C, D, E) apenas na proporção 4:1 foi observado no difratograma a presença do pico principal do fármaco, apesar de ter ocorrido uma diminuição da intensidade do mesmo. Essa característica também foi apresentada nas proporções 1:1 e 2:1 das DS MX, sendo mais evidente na proporção 2:1. Contudo, pode-se afirmar que ainda há uma tendência ao comportamento amorfo nas amostras analisadas. Por outro lado, a DS MX 4:1 apresentou um comportamento mais cristalino, apesar de haver uma diminuição da intensidade dos picos em comparação ao EFZ.

Diante do exposto, é possível sugerir que o PVP K-30, durante os processos de obtenção das DS, diminui o estado cristalino do EFZ tanto nos sistemas malaxados quanto nos rotaevaporados, apesar de as DS EV apresentarem uma redução mais acentuada da cristalinidade nas proporções analisadas. Apesar de esse aspecto contribuir para incremento da solubilidade do fármaco, uma vez que as formas amorfas possuem mais facilidade de solubilização do que as formas cristalinas, o estudo de dissolução demonstrou juntamente com esta caracterização que neste caso, a cristalinidade não é o fator limitante no incremento da taxa e do percentual de fármaco dissolvido. Por outro lado, o processo de preparação utilizado também possui influência direta nos resultados apresentados, devendo ser cuidadosamente avaliado na obtenção desses sistemas.

5.2.4.4 Infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF)

Utilizando esta técnica obtivemos o espectro do EFZ, representado na Figura 20A. Neste foi observado a presença das seguintes bandas características: 3314 cm^{-1} (vibração de estiramento N-H), 2249 cm^{-1} (vibração do estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$), 1742 cm^{-1} (vibração de estiramento $\text{C}=\text{O}$), 1601 e 1494 cm^{-1} (vibração de estiramento $\text{C}=\text{C}$ do anel benzeno), 1240 (estiramento C-N) e 1165 cm^{-1} (vibração de estiramento C-O). Na região de menor frequência, às bandas de 1073 e 1037 cm^{-1} foram atribuídas as vibrações de deformação C-H no plano e em 976 e 926 cm^{-1} na deformação C-H fora do plano. E por fim, as vibrações de estiramento de C-F é observada na frequência de 689 e 652 cm^{-1} .

Paralelamente, o espectro do PVP K-30 (Figura 20B) apresentou importantes bandas em 2952 cm^{-1} (estiramento C-H) e em 1647 cm^{-1} (estiramento $\text{C}=\text{O}$). Em 3419 cm^{-1} também pode ser visualizada uma larga banda atribuída à presença de água, confirmando o pico endotérmico detectado na análise por DSC.

Os espectros de IV das misturas físicas (Figura 20I, J, L), em geral, foram semelhantes no que se refere a sobreposição das bandas de EFZ e PVP K-30, com predomínio do EFZ, indicando a não interação entre esses.

Para todas as DS, a banda referente ao estiramento OH em 3419 cm^{-1} do PVP K-30 mostrou-se ausente; assim como também a banda em 3314 (N-H) do EFZ, com exceção das proporções 4:1 (Figura 20E, H), em que foi verificada essa banda em menor intensidade. Paralelamente, estiveram presentes em todos os espectros de dispersões as bandas referentes ao estiramento C-H e $\text{C}=\text{O}$ do PVP K-30 e do $\text{C}=\text{O}$ do EFZ, sendo estas sempre em menor intensidade e apresentando um pequeno deslocamento. Esse comportamento também pode ser aplicado as bandas em 689 e 652 cm^{-1} .

Portanto, através dos resultados observados, pode-se inferir que em todas as dispersões sólidas, independentemente do processo de obtenção, houve interações intermoleculares entre o PVP K-30 e o EFZ, principalmente ligações de hidrogênio.

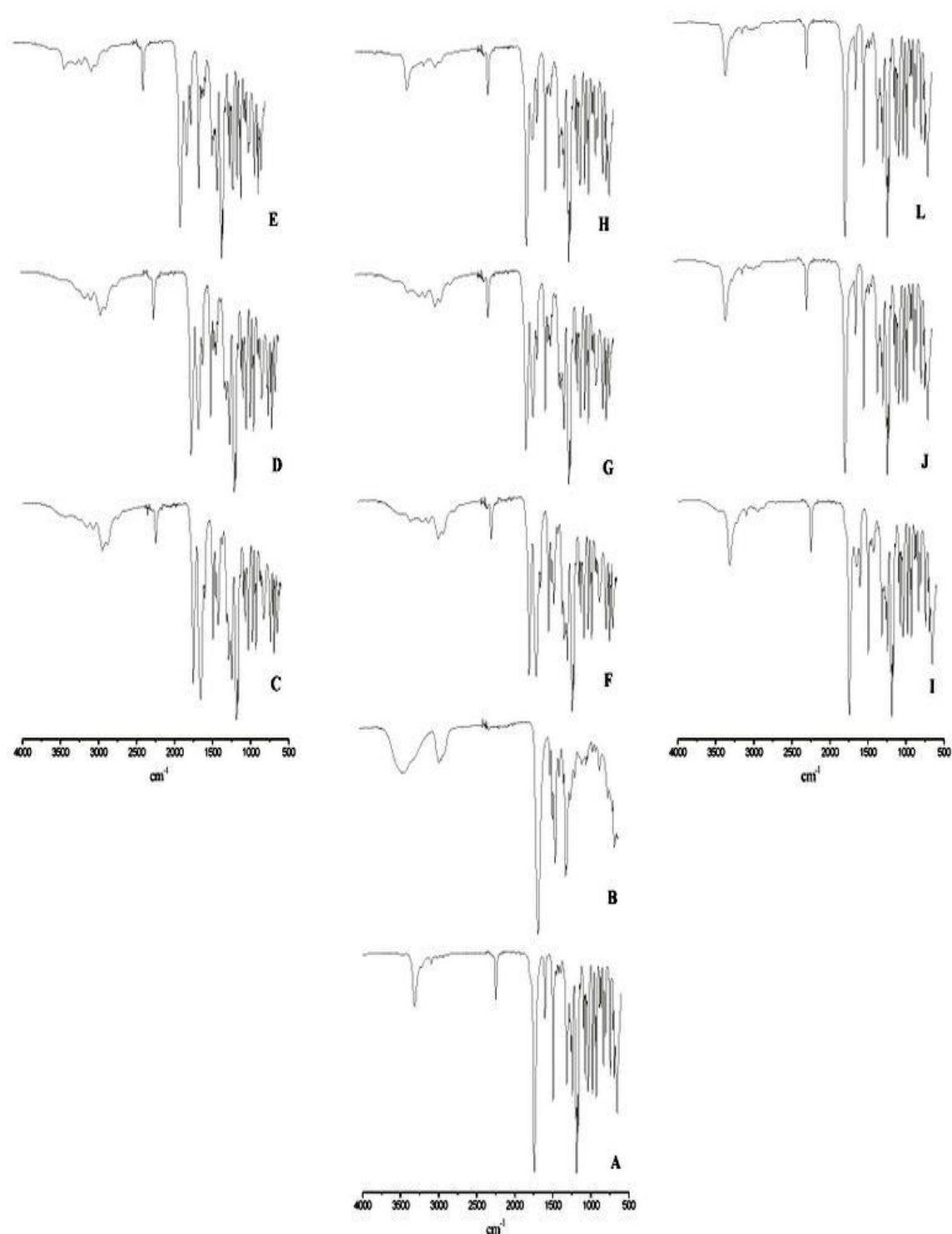


Figura 20. Espectros de infravermelho dos componentes isolados, MF e DS. (A) EFZ, (B) PVP K-30, (C) DS EV 1:1, (D) DS EV 2:1, (E) DS EV 4:1, (F) DS MX 1:1, (G) DS MX 2:1, (H) DS MX 4:1, (I) MF 1:1, (J) MF 2:1, (L) MF 4:1.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

5.2.5 Caracterização farmacotécnica

As propriedades físico-mecânicas de compressibilidade e compatibilidade foram avaliadas para a DS MX 4:1, e sua respectiva MF, visando avaliar qual a vantagem que o processamento para a obtenção da DS trás em relação a simples mistura física dos componentes e do fármaco isolado destinados a formas farmacêuticas sólidas. Tais resultados foram mensurados a partir da densidade aparente, compactada, Índice de Hausner e Carr, sendo os resultados apresentados na Tabela 15.

Tabela 15. Resultados das propriedades de compressibilidade das amostras analisadas.

PRODUTOS	dap (g/mL)	dcp (g/mL)	IH	IC
EFZ	0,16	0,26	1,61	37,89%
MF 4:1	0,35	0,55	1,59	37,14%
DS MX 4:1	0,71	1,11	1,54	35,23%

*dap = densidade aparente; dcp = densidade compactada; IH = Índice de Hausner; IC = Índice de Carr.

De acordo com os dados apresentados, observou-se a baixa densidade do efavirenz matéria, conforme relatado na literatura (VIANA *et al.* 2006), sendo evidenciada uma melhora expressiva das densidades da dispersão malaxada.

O Índice de Carr exprimiui de forma percentual a capacidade de compressibilidade dos pós analisados, onde valores acima de 21 % são considerados de baixo fluxo e compressibilidade. Adicionalmente, o Índice de Hausner, similar ao IC, indicam que valores entre 1,25 e 1,5 exigem a adição de lubrificantes para melhorar o escoamento, enquanto que valores superiores indicam fluxo ruim (AULTON, 1998). Logo, de acordo com esses parâmetros, todas as amostras apresentaram características de baixo fluxo, apesar de ter ocorrido um aumento significativo das densidades, principalmente da DS. Contudo, apesar desses dois últimos parâmetros, Índice de Hausner e Carr, não apresentarem melhoras considerável na característica da DS, pode-se observar que houve uma modificação na característica de aderência do fármaco, que apresenta afinidade por superfícies de diferentes

tipos de materiais, dificultando ainda mais o seu manuseio e escoamento, sendo considerado, portanto, um aspecto positivo do sistema malaxado em relação ao fármaco e MF.

5.2.6 Estudo de Estabilidade

A partir da avaliação das curvas de TG das amostras antes de serem submetidas a estocagem na condições determinadas, obteve-se que o EFZ apresenta dois estágios de decomposição, sendo o primeiro entre 230,38 a 276,58 °C e o segundo relativo a carbonização (Figura 21).

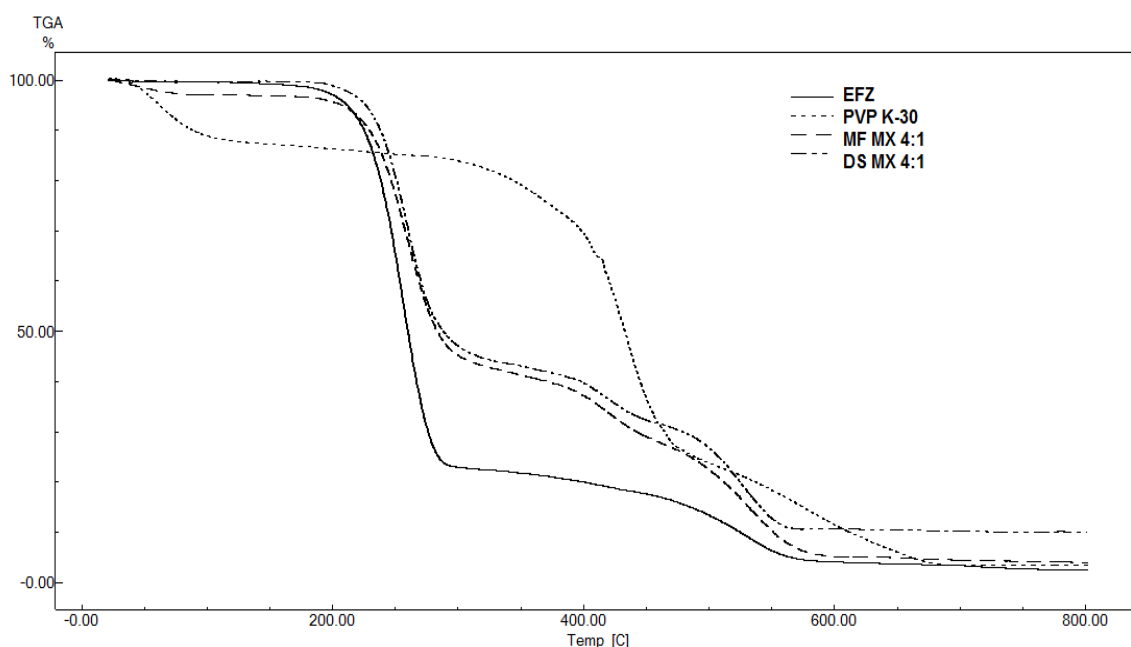


Figura 21. Curvas de TG das amostras antes de estocagem (t_0), obtidos a 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

Analisando-se a curva de TG para o PVP K-30, observa-se uma perda de massa relativa a perda de água ($\Delta m = 12,55\%$), que ocorre entre 42,28 e 102 °C e posteriormente um processo principal de decomposição na faixa entre 405-458 °C, na ordem de 58,20 %; seguido de carbonização.

Com relação as MF 4:1 e DS MX 4:1, pode-se verificar três processos de decomposição, sendo dois principais. Nesse estudo, será considerada a primeira etapa de decomposição para a avaliação da estabilidade do fármaco. Essa primeira etapa encontra-se na faixa de 231,76-283,13 °C para a MF e 237,15-278,76 °C para a DS. Logo, pode-se evidenciar que o PVP K-30 proporcionou uma maior estabilidade no sistema binário fármaco-polímero, uma vez que houve uma diminuição estatisticamente significativa (ANOVA *one-way*) da quantidade de fármaco degradado na mesma faixa de temperatura.

Para as amostras submetidas as condições de estocagem, em temperatura e umidade controladas, concluiu-se que não houve mudanças em relação ao comportamento inicialmente observado (Figura 22), sendo os dados obtido apresentados na Tabela 16.

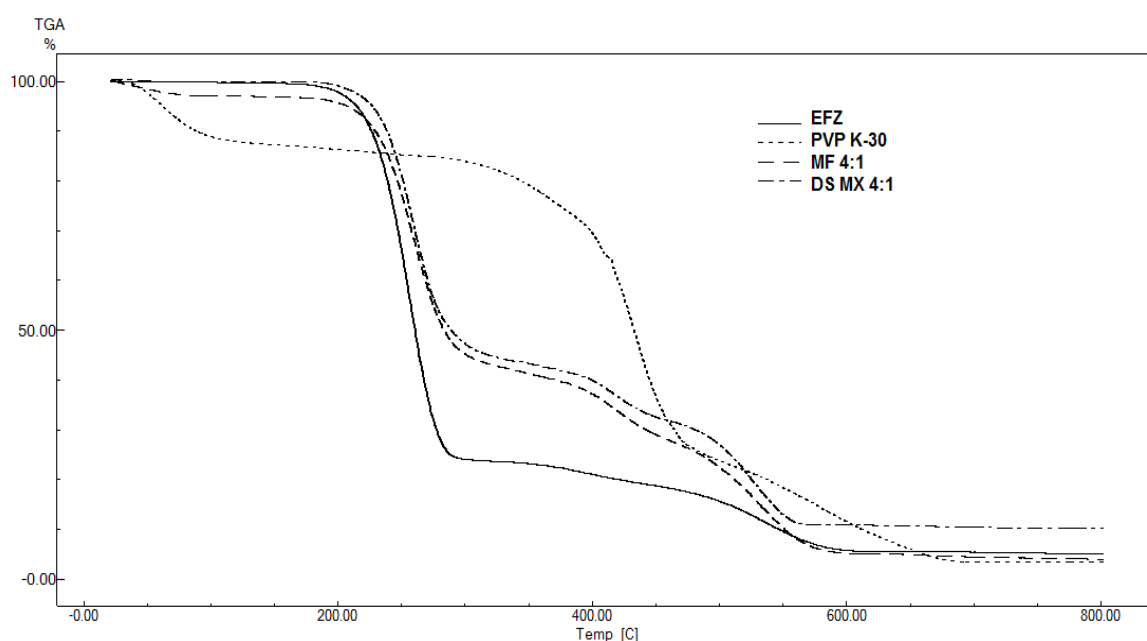


Figura 22. Curvas de TG das amostras após serem submetidas a estocagem (30 dias), obtidos a 10 °C/min sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL/min.

Tabela 16. Resultados obtidos com sistemas avaliados antes e após condições adversas de estocagem.

Amostra	<i>T₀ (antes da estocagem)</i>		<i>T₃₀ (após estocagem)</i>	
	Intervalo de decomposição (°C)	Δm (%)	Intervalo de decomposição (°C)	Δm (%)
EFZ	230,38 - 276,58	75,91	232,45 – 277,42	75,55
MF 4:1	231,76 – 283,13	54,18	236,04 – 283,95	56,69
DS MX 4:1	237,15 – 278,76	53,99	236,28 – 280,51	58,47

Para a curva de TG do PVP K-30, observa-se apenas uma perda de massa mais acentuada de água ($\Delta m = 20,76$ %), devido a sua natureza higroscópica e a atmosfera úmida submetida.

As análises realizadas no IV-TF, também confirmaram a ausência de modificações das bandas apresentadas pelas amostras iniciais, demonstrando que as amostras permanecem estáveis mesmo em condições adversas de estocagem (Figura 23).

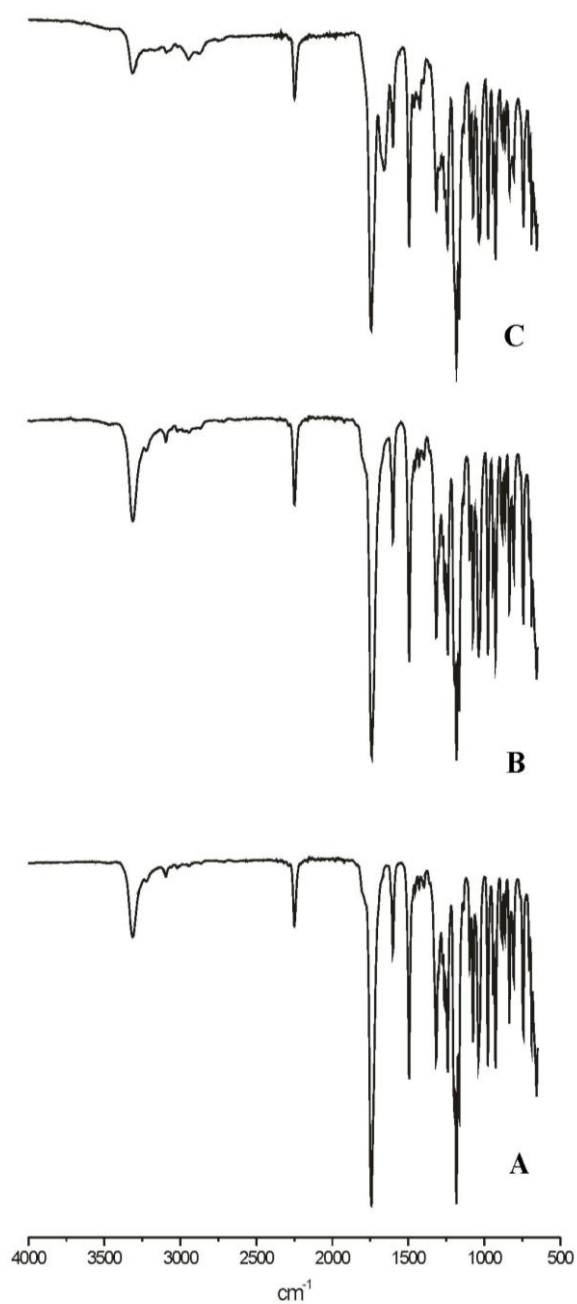


Figura 23. Espetros de infravermelho das amostras submetidas a condições de estocagem durante 30 dias: (A) EFZ, (B) MF 4:1, (C) DS MX 4:1.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

- O método desenvolvimento e validado por espectrofotometria no UV-Vis para doseamento do fármaco EFZ mostrou-se adequado para rotina laboratorial, sendo de fundamental importância para as análises realizadas, apresentando a confiabilidade requerida para um método analítico;
- Na avaliação dos sistemas binários com o antirretroviral EFZ e PVP K-30, observou-se que as metodologias empregadas para a preparação e as proporções utilizadas do carreador em relação ao fármaco influenciaram significativamente nas características físico-químicas desses sistemas.
- Observou-se um incremento na taxa de dissolução na dispersão malaxada 4:1 e nas misturas físicas devido as características dos sistemas formados na presença do PVP K-30 e dos métodos de obtenção utilizados;
- Em altas proporções, o PVP K-30 mostrou-se inadequado nesses sistemas por dificultar a liberação do fármaco, apesar de diminuir a cristalinidade do efavirenz;
- Diante dos resultados apresentados, a DS MX 4:1 também foi avaliada com relação a densidade e compressibilidade, demonstrando um aumento significativo na densidade aparente e compacta apresentada em relação ao fármaco isolado. Adicionalmente, esse sistema também se mostrou vantajoso com relação a estabilidade, após avaliação por TG, uma vez que diminuiu a quantidade de fármaco degradado, mesmo após serem submetidos a condições de estocagem em condições adversas.

Perspectivas

7. PERSPECTIVAS

- Testar a obtenção de DS pelo método de evaporação por *spray dried*, o qual poderá proporcionar características físico-químicas, farmacotécnicas e de dissolução mais diferenciadas;
- Realizar estudos adicionais dando continuidade ao desenvolvimento de uma formulação sólida, através do planejamento de formulações para adequação dos parâmetros requeridos a uma forma farmacêutica sólida.

Referências

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

REFERÊNCIAS

AL-MARZOUQI, A.H.; JOBE, B.; DOWAIDAR, A.; MAESTRELLI, F.; MURA, P. Evaluation of supercritical fluid technology as preparative technique of benzocaine-cyclodextrin complexes-Comparison with conventional methods. **Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis**, v. 43, n.2, p.566-74, 2007.

AKBUGÃ, J.; GÜRSOY, A.; YETIMOGLU, F. Preparation and properties of tablets prepared from furosemide-PVP solid dispersion systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. v. 14, p. 2091-2108, 1988.

ALVES, L. D. S; ROLIM, L. A.; FONTES, D. A. F.; ROLIM-NETO, P. J.; SOARES, M. F. L. S. SOARES-SOBRINHO, J. L. Desenvolvimento de método analítico para quantificação do Efavirenz por espectrofotometria no UV-Vis. **Química Nova**, *In Press*, 2010.

ANDREETTA, H. A.. Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos de Distintos Modelos. **Latin American. Journal of Pharmacy**, v. 22, n. 4, p. 355-364, 2003.

ANVISA. Disponível em:
<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/medicamentos>>. Acesso em: 02 jun. 2010.

AULTON M.E. Pré-formulação farmacêutica. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 677.

BIKIARIS, D.; PAPAGEORGIOU, G. Z.; STERGIOU, A.; PAVLIDOU, E.; KARAVAS, E.; KANAZE, F.; GEORGARAKIS, M. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs Evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochimica Acta**, v. 439, p. 58-67, 2005.

BONOLO, P.F; GOMES, R.R.F.M.; GUIMARÃES, M.D.C. Adesão à terapia anti-retroviral (HIV/aids): fatores associados e medidas da adesão. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v.16, n. 4, p. 261-278, 2007.

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

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

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

BRASIL. Resolução RE nº899 de 29/5/2003; Diário Oficial da União, Brasília, DF, 02/06/2003, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprova o **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. 2003.

BROMAN, E.; KHOO, C.; TAYLOR, L. S. A comparison of alternative polymer excipients and processing methods for making solid dispersions of a poorly water soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 222, n. 1, p. 139-151, 2001.

BRITO, A. M.; CASTILHO, E. A.; SZWARCOWALD, C. L. AIDS e infecção pelo HIV no Brasil: uma epidemia multifacetada. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 2, p. 207-217, 2000.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKAR, A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, p. 219–230, 2005.

CHEARSKUL, P.; RONGKAVILIT, C.; AL-TATARI, H.; ASMAR, B. Newantiretroviral drugs in clinical use. **Indian Journal of Pediatrics**, v.73, p.335–341, 2006.

CIRRI, M.; MURA, P.; RABASCO, A. M.; GINES, J.M.; MOYANO, J. R.; GONZALEZ-RODRIGUEZ, M. L. Characterization of ibuprofen binary and ternary dispersion with hydrophilic carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 30, n.1, p. 65-74, 2004.

CORRIGAN, D. O.; HEALY, N. M.; CORRIGAN, O. I. The effect of spray drying solutions of polyethylene glycol (PEG) and lactose/PEG on their physicochemical properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, p.193–205, 2002.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; PACHECO, R. M.; LANDÍN, M. Compatibility of the antitumoral β -lapachone with different solid dosage forms excipients. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 45, p. 590-598, 2007.

DAILLY, E.; RAFFI, F.; JOLLIET P. Determination of atazanavir and other antiretroviral drugs (indinavir, amprenavir, nelfinavir and its active metabolite M8, saquinavir, ritonavir, lopinavir, nevirapine and efavirenz) plasma levels by high performance liquid

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography B.**, v. 813, n. 1-2, p. 353-358, 2004.

DORNELAS, C. B.; RESENDE, D. K.; TAVARES, M. I. B.; CABRAL, A. S. G. L. M. Preparação e Avaliação Reacional de Nanocompósitos de PVP K-30 – Montmorilonita (Natural e Organicamente Modificada) por Difração de Raios X. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 18, n. 2, p. 187-192, 2008.

DOURADO, I.; VERAS, M. A. S. M.; BARREIRA, D.; BRITO, A. M. Tendências da epidemia de Aids no Brasil após a terapia anti-retroviral. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, p. 9-17, 2006.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, IV ed., Atheneu: São Paulo, 2003.

FDA, 2010. Disponível em: <
http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/dissolution/dsp_SearchResults_Dissolutions.cfm?PrintAll=1>. Acesso em: 20. abr. 2010.

FERNANDEZ, M.; RODRIGUEZ, I.C.; MARGARIT, M.V.; CEREZO, A. Characterization of solid dispersions of piroxicam/polyethyleneglycol 4000. **International Journal of Pharmaceutics**, v.84, p. 197-202. 1992.

FERRARINI, M.; KIKUCHI, I.S.; YAMAMOTO, R.N.; PINTO, T.G.A. Avaliação do método de doseamento de indinavir por meio de HPLC. **Infarma**, v. 44, n. 9-10, p. 64-68, 2004.

GIR, E.; VAICHULONIS, C. G.; OLIVEIRA, M. D.. Adesão à terapêutica anti-retroviral por indivíduos com HIV/AIDS assistidos em uma instituição do interior paulista. **Revista Latino Americana de Enfermagem**, v. 13, n.5, p. 634-641, 2005.

GUIMARÃES, G. G.; KATSUKI, G. I.; ZANARDO, N. D.; RIBEIRO, D. A.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação da pectina-HPMC no processo de revestimento por compressão. I - Estudo da propriedade de intumescimento em núcleos revestidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 136-141, 2008.

GRANT, A. D.; COCK, K. M. ABC of AIDS HIV infection and AIDS in the developing world. **British Medical Journal**, v.322, p.1475-1478, 2001.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

HARDY, I. J.; WINDBERG-BAARUP, A. H.; NERI, C.; BYWAY, P. V.; BOOTH, C. W.; FITZPATRICK, S. Modulation of drug release kinetics from hydroxypropyl methyl cellulose matrix tablets using polyvinyl pyrrolidone. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 337, p. 246–253, 2007.

HASEGAWA, S.; HAMAURAA, T.; FURUYAMA, N.; KUSAI, A.; YONEMOCHI, E.; TERADA, K. Effects of water content in physical mixture and heating temperature on crystallinity of troglitazone-PVP K30 solid dispersions prepared by closed melting method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, p. 103–112, 2005.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. **Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation**, v. 4, p. 117–212, 1965.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH); **Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology**, Q2A (CPMP/ICH/381/95), 1995.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION (ICH); **Validation of Analytical Procedures: Methodology**, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.

JANSSENS, S.; DENIVELLE, S.; ROMBAUT, P.; MOOTER, P. G. Influence of polyethylene glycol chain length on compatibility and release characteristics of ternary solid dispersions of itraconazole in polyethylene glycol/hydroxypropylmethylcellulose 2910 E5 blends. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 35, p. 203–210, 2008a.

JANSSENS, S.; ARMAS H. N.; AUTRY W. D.; SCHEPDAEL, A. V.; MOOTER, G. V. Characterization of ternary solid dispersions of Itraconazole in polyethylene glycol 6000/polyvidone-vinylacetate 64 blends. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 1114–1120, 2008b.

JUPPO, A. M.; BOISSIER C.; KHOO C. Evaluation of solid dispersion particles prepared with SEDS. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 250, n. 2, p. 385–440, 2003.

KAewnOPPARAT, N.; KAewnOPPARAT, S.; JANGWANG, A.; MANEENAUN, D.; CHUCHOME, T.; PANICHAYUPAKARANANT, P. Increased Solubility, Dissolution and Physicochemical Studies of Curcumin- Polyvinylpyrrolidone K-30 Solid Dispersions. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, v. 55, p. 229–234, 2009.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

KAPPELHOFF, B. S.; ALWIN, H. R.; HUITEMA, D. R.; BEIJNEN, J. H. Simple and rapid method for the simultaneous determination of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors efavirenz and nevirapine in human plasma using liquid chromatography. **Journal of Chromatography B**, v. 792, n. 2, 25 p. 353-362, 2003.

KAPSI, S. G.; AYRES, J. W. Processing factors in development of solid solution formulation of itraconazole for enhancement of drug dissolution and bioavailability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 229, p. 193-203, 2001.

KARATAS, A.; YÜKSEL, N.; BAYKARA, T. Improved solubility and dissolution rate of piroxicam using gelucire 44/14 and labrasol. **Il Farmaco**, v. 60, n. 9, p. 777-782, 2005.

KARAVAS, E.; GEORGARAKIS, E.; SIGALAS, M. P.; AVGOUSTAKIS, K.; BIKIARIS, D. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 3, p. 334-347, 2007.

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

KHOO, S. M.; PORTER, C. J. H.; CHARMAN, W.N. The formulation of halofantrine as either non-solubilising PEG 6000 or solubilising lipid based solid dispersions: physical stability and absolute bioavailability assessment. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 205, p. 65-78, 2000.

KIM, E. J.; CHUN, M. K.; JANG, J. S.; LEE, I. H.; LEE, K. R.; CHOI, H. K. Preparation of a solid dispersion of felodipine using a solvent wetting method. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 64, p. 200-205, 2006.

KIMURA, K.; HIRAYAMA, F.; ARIMA, H.; UEKAMA, K. Effects of aging on the crystallization, dissolution and absorption characteristics of an amorphous tolbutamide/2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin complex. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, v. 48, p. 646-650, 2000.

KOGA, K.; KUSAWAKE, Y.; ITO, Y.; SUGIOKA, N.; SHIBATA, N.; TAKADA, K. Enhancing mechanism of Labrasol on intestinal membrane permeability of the hydrophilic drug gentamicin sulfate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 64, p. 82-91, 2006.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

KOO, H.; JIN, G.; KANGA, H.; LEEB, Y.; NAMA, H. Y.; JANGC, H.; PARKA, J. S. A new biodegradable crosslinked polyethylene oxide sulfide (PEOS) hydrogel for controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, p. 58–65, 2009.

KUSHIDA, I.; ICHIKAWA, M.; ASAKAWA, N. Improvement of dissolution and oral absorption of ER-34122, a poorly water-soluble dual 5-lipoxygenase/ cyclooxygenase inhibitor with anti-inflammatory activity by preparing solid dispersion. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.91, n.1, p. 258-266, 2002.

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

LANGMANN, P.; SCHIRMER, D.; VÄTH, T.; ZILLY, M.; KLINKER, H. High-performance liquid chromatographic method for the determination of HIV-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in plasma of patients during highly active antiretroviral therapy. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 755, n 1-2, p. 151-156, 2001.

LEAO, Y.C.; SYU, M.J. Effects of poly(ethylene glycol) and salt on the binding of α -amylase from the fermentation broth of *Bacillus amyloliquefaciens* by Cu^{2+} - β -CD affinity adsorbent. **Carbohydrate Polymers**, v. 77, p. 344–350, 2009.

LEONARDI, D.; BARRERA, M. G.; LAMAS, M. C.; SALOMÓN, C. J. Development of Prednisone:Polyethylene Glycol 6000 Fast-Release Tablets From Solid Dispersions: Solid-State Characterization, Dissolution Behavior, and Formulation Parameters. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n.4, p. E1-E8, 2007.

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

LI, F. Q.; HU, J. H. Improvement of the Dissolution Rate of Silymarin by Means of Solid Dispersions. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**. v.52, n. 8, p. 972-973, 2004.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

LIMA, A. N.; SOBRINHO, J. L. S.; CORRÊA JUNIOR, R. A.C.; ROLIM NETO, P. J. Alternative Technologies to Improve Solubility of Poorly Water Soluble Drugs. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n.5, p.789-97, 2008.

LIU, L.; WANG, X. Improved Dissolution of Oleanolic Acid with Ternary Solid Dispersions. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 4, p. E1-E5, 2007.

LOFTSSON, T.; MASSON, M.; BREWSTER, M. E. Self-association of cyclodextrins and cyclodextrin complexes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 5, p. 1091-1099, 2004.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrin solubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, p. 18-28, 2005.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; LA ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas Matriciais Hidrofílicos e Mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n.5, p. 784-793, 2007.

MA, J.; LI, Y. G.; ZHANG, Z. M.; WU, Q.; WANG, E. B. A polyethylene-glycol-functionalized ring-like isopolymolybdate cluster. **Inorganica Chimica Acta**, v. 362, p. 2413–2417, 2009.

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

MARTIN, J.; DESLANDES, G.; DAILLY, E.; RENAUD, C.; RELIQUET, V.; RAFFI, F.; JOLLIET, P. A liquid chromatography–tandem mass spectrometry assay for quantification of evnirapine, indinavir, atazanavir, amprenavir, saquinavir, ritonavir, lopinavir, efavirenz, tipranavir, darunavir and maraviroc in the plasma of patients infected with HIV. **Journal of Chromatography B**, v. 877, n. 27, p. 3072-3082, 2009.

MARZOLINI, C.; TELENTI, A.; BUCLIN, T.; BIOLLAZ, J.; DECOSTERD, L. A.; Simultaneous determination of the HIV protease inhibitors indinavir, amprenavir, saquinavir, ritonavir, nelfinavir and the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz by high-

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

performance liquid chromatography after solid-phase extraction. **Journal of Chromatography. B, Biomedical Sciences and Applications**, v. 740, n.1, p. 43-58, 2000.

MATTHEWS, C. Z.; WOOLF, E. J.; MAZENKO, R. S.; HADDIX-WIENER, H.; CHAVEZ-ENG, C. M.; CONSTANZER, M. L.; DOSS, G. A.; MATUSZEWSKI, B. K. Determination of efavirenz, a selective non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, in human plasma using HPLC with post-column photochemical derivatization and fluorescence detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 28, n. 5, p. 925-934, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Aids**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>. Acesso em: 20.out.2009.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Programa Nacional de DST e AIDS**. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISF7202394PTBRIE.htm>>. Acesso em: 27 mar. 2008.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Nota Informativa: Painel da OMC Questiona a Lei de Patentes Brasileira**. Brasília: Coordenação Nacional de DST e AIDS, MS, 2001.

MOGATLE, S.; KANFER, I. K. Rapid method for the quantitative determination of efavirenz in human plasma. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 5, p. 1308-1312, 2009.

MONTGOMERY, E. R.; EDMANSON, A. L.; COOK, S. C.; HOVSEPIAN, P. K. Development and validation of a reverse-phase HPLC method for analysis of efavirenz and its related substances in the drug substance and in a capsule formulation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 25, p. 267-284, 2001.

OHARA, T.; KITAMURA, S.; KITAGAWA, T.; TERADA, K. Dissolution mechanism of poorly water-soluble drug from extended release solid dispersion system with ethylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, n. 1-2, p. 95-102, 2005.

OZKAN, Y.; DOGANAY, N.; DIKMEN, N.; ISIMER, A. Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethylene glycol. **Fármaco**, v. 55, p. 433-438, 2000.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

PATEL, R. P.; PATEL, D. J.; BHIMANI, D. B.; PATEL, J. K. Physicochemical Characterization and Dissolution Study of Solid Dispersions of Furosemide with Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone K-30. **Dissolution Technologies**, p. 17-25, 2008.

PATIL, M. P.; GAIKWAD, N. J. Preparation and characterization of gliclazide-polyethylene glycol 4000 solid dispersions. **Acta Pharmaceutical**, v. 59, p. 57-65, 2009.

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

PRESMISH, G. M. A.. **Incremento da Solubilidade/Dissolução da b-lapachona utilizando tecnologias de dispersões sólidas e complexos de inclusão**. 2007. Tese (Doutorado no Programa Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco.

RAJEBHADUR, M.; ZIA, H.; NUES, A.; LEE, C. Mechanistic Study of Solubility Enhancement of Nifedipine Using Vitamin E TPGS or Solutol HS-15. **Drug Delivery**, v. 13, n. 3, p. 201-206, 2006.

RAMA, A. C. R.; VEIGA, F.; FIGUEIREDO, I. V.; SOUSA, A.; CARAMONA, M. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- β -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, n. 1, 2006.

RAMACHANDRAN, G.; KUMARA, A. K. H.; SWAMINATHAN, S.; VENKATESAN, P.; KUMARASWAMI, V.; GREENBLATT, D. J. Simple and rapid liquid chromatography method for determination of efavirenz in plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 835, p. 131-135, 2006.

RANDAU, K. P.; MEIRA, J. L.; BRAGA, J. M. F.; MONTEIRO, D. B.; ROLIM-NETO, P. J. Desenvolvimento e validação de metodologia analítica para anti-retroviral zidovudina (AZT) matéria-prima. **Acta Farm Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 104-108, 2005.

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

REZK, N. L.; TIDWELL, R. R.; KASHUBA, A. D. M. Simple and rapid quantification of the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors nevirapine, delavirdine, and efavirenz in

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

human blood plasma using high-performance liquid chromatography with ultraviolet absorbance detection. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v 774, n. 1, p. 79-88, 2002.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, F. R. P.; TEXEIRA, L. S. G..Estratégias para aumento de sensibilidade em espectrofotometria UV-VIS. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 807-812, 2004.

ROSENBERG, T. Look at Brazil. *New York Times*, New York, 28 jan de 2001.

SALTÃO, R.; VEIGA, F. Ciclodextrinas em novos sistemas terapêuticos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 37, n. 1, p. 1-17, 2001.

SATHIGARI, S.; CHADHA, G.; LEE, Y-H. P.; WRIGHT, N.; PARSONS, D. L.; RANGARI, V. K.; FASINA, O; BAB, R. J. Physicochemical Characterization of Efavirenz–Cyclodextrin Inclusion Complexes. **AAPS PharmSciTech**, v.10, n.1, 81-87, 2009.

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

SARASA-NACENTA, M.; LÓPEZ-PÚA, Y.; LÓPEZ-CORTÉS, L. F.; MALLOLAS, J.; GATELL, J. M.; CARNÉ, X. Determination of efavirenz in human plasma by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 763, n. 1-2, p. 53-59, 2001.

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, 1999.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid dispersion: revival with greater possibilities and applications in oral drug delivery. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier System**. v. 20, n. 2-3, p. 215-247. 2003.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

SCHMIDT P. C.; RUBENSDORFER, P. Evaluation of Ludipress as a Multipurpose Excipient for direct compression. Part I: powder characteristics and tableting properties. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 20, n. 18, p. 2899–2925, 1994.

SHAH, T. J.; AMIN, A. F.; PARIKH, J. R.; PARIKH, R. H. Process Optimization and Characterization of Poloxamer Solid Dispersions of a Poorly Water-soluble Drug. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, n. 2, p. E1-E7, 2007.

SIEPMANNA, J.; PEPPAS, B. N. A. Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 139-157, 2001.

SOARES-SOBRINHO, J. L. S.; LIMA, L. N. A.; PERRELLI, D. C.; SILVA, J. L.; MEDEIROS, F. P. M.; SOARES, M. F. L. R.; ROLIM-NETO, P. J. Development and *in vitro* evaluation of tablets based on the antichagasic benznidazole. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 44, n. 3, 2008.

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

SOUZA, M.V.N.S.; ALMEIDA, M. V. A.. Drogas Anti-VIH: Passado, Presente e Perspectivas Futuras. **Química Nova**, v. 26, n. 3, p. 366-372, 2003.

STULZER, H. K.; TAGLIARI, M. P.; SILVA, M. A. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Desenvolvimento, avaliação e caracterização físico-química de micropartículas constituídas de aciclovir/quitosana desenvolvidas pela técnica de *Spray-drying*. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 26, n. 6, p. 866-871, 2007.

UNAIDS. Disponível em: <www.unaids.com>. Acesso em: 10 de mar. de 2009.

VALERO, M.; PÉREZ-REVUELTA, B. I.; RODRÍGUEZ, L. J. Effect of PVP K-25 on the formation of the naproxen: β -cyclodextrin complex. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 253, p. 97–110, 2003.

VASANTHAVADA, M.; TONG, W. Q.; JOSHI, Y.; KISLALIOGLU, M. S. Phase Behavior of Amorphous Molecular Dispersions II: Role of Hydrogen Bonding in Solid Solubility and Phase Separation Kinetics. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 3, p. 440-448, 2005.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

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

VELDKAMP, A. I.; HEESWIJK, R. P. G.; MEENHORST, P. L.; MULDER, J. W. LANGE, J. M. A.; BEIJNEN, J. H.; HOETELMANS, R. M. W. Quantitative determination of efavirenz (DMP 266), a novel non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor, in human plasma using isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, v. 734, n. 1, p. 55-61, 1999.

VIANA, O. S.; ARAÚJO, A. A. S.; SIMÕES, R. A.; SOARES, J. L.; MATOS, C. R. S.; GRANGEIRO-JÚNIOR, S.; LIMA, C. M.; ROLIM-NETO, P. J. Kinetic Analysis of the Thermal Decomposition of Efavirenz and Compatibility Studies with Selected Excipients. **Latin American Journal of Pharmacy**. v. 27, n. 2, p. 211-216, 2008.

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

VILHELMSSEN, T.; ELIASSEN, H.; SCHAEFER, T. Effect of a melt agglomeration process on agglomerates containing solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, p. 132–142, 2005.

YAMASHITA, K.; NAKATE, T.; OKIMOTO, K.; OHIKE, A.; TOKUNAGA, Y.; IBUKI, R.; HIGAKI, K.; KIMURA, T. Establishment of new preparation method for solid, dispersion formulation of tacrolimus. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 267, p. 79–91, 2003.

WANG, W.; YANG, X.; FANG, Y.; DING, J.; YAN, J. Preparation and thermal properties of polyethylene glycol/expanded graphite blends for energy storage. **Applied Energy**, v. 86, p. 1479–1483, 2009.

WULFF, M.; ALDÉN, M. Phase equilibria in drug-polymer-surfactant systems. **Thermochimica Acta**, v. 256, p. 151-165, 1995.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

ZAJC, N.; OBREZA, A.; BELE, M.; SRCIC, S. Physical properties and dissolution behaviour of nifedipine/mannitol solid dispersions prepared by hot melt method. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 291, p. 51–58, 2005.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

Anexos

ANEXO A - Versão *in press* do artigo intitulado “Desenvolvimento de método analítico para quantificação do Efavirenz por espectrofotometria no UV-Vis” pela Revista Química Nova.

ANEXO B - Carta de recebimento e capa do artigo de revisão intitulado “Advances, properties and applications of the solid dispersions in the pharmaceutical products attainment” submetido na *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* (em fase de correção).

ANEXO C - Declaração do processo de entrada da patente de invenção intitulada “FORMULAÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS DE EFAVIRENZ COM POLIVINILPIRROLIDONA K-30 E/OU SEUS DERIVADOS DESTINADOS A FORMULAÇÕES DE FORMAS FARMACÊUTICAS”.

ANEXO D – Resumos apresentados em anais de Congressos Nacionais e Internacionais.

ANEXO A

Quím. Nova, Vol. XY, No. 00, 1-6, 200_

DESENVOLVIMENTO DE MÉTODO ANALÍTICO PARA QUANTIFICAÇÃO DO EFAVIRENZ POR ESPECTROFOTOMETRIA NO UV-VIS

Lariza Darlene Santos Alves, Larissa Araújo Rolim, Danilo Augusto Ferreira Fontes e Pedro José Rolim-Neto*

Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Arthur de Sá, s/n, 50740-521 Recife – PE, Brasil

Mônica Felts de La Roca Soares, José Lamartine Soares Sobrinho

Departamento de Bioquímica e Farmacologia, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, 64049-550 Teresina – PI, Brasil

Recebido em 29/11/09; aceito em 13/4/10; publicado na web em 20/7/10

UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY ANALYTICAL METHOD DEVELOPMENT FOR QUANTIFYING EFAVIRENZ. An UV-Vis spectrophotometry analytical method for quantifying Efavirenz was developed and validated as an alternative to replace the HPLC current method. The report method presents sample concentration of 10 µg mL⁻¹, dissolved in a solution ethanol:water (60:40, v/v), economic and technically adequate for the purpose adopted. The results and the statistical treated proved that the method being considered an precise and accurate analytical low cost alternative for laboratory routine. The adaptability of this method in product and other analytical methods development has been challenged by mathematical calculation of drug extinction coefficient in water and methanol and practical experiments, showing interesting results.

Keywords: UV-Vis spectroscopy; Efavirenz; analytical method.

INTRODUÇÃO

O Efavirenz (EFV) é um fármaco inibidor da transcriptase reversa não nucleosídico, utilizado desde 1998 em associação com outros agentes antirretrovirais no tratamento da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana.¹ Atualmente é utilizado por cerca de 75 mil das 200 mil pessoas em terapia antirretroviral no Brasil, chegando a representar um custo de US\$ 42.930.000 em 2007. Contudo, o licenciamento compulsório, ocorrido no final deste mesmo ano, possibilitou ao Brasil a produção nacional do medicamento, garantindo o acesso universal a um número cada vez maior de pacientes, reduzindo custos e viabilizando a sustentabilidade do Programa de Doenças Sexualmente Transmissíveis.²

No Brasil, assim como em grande parte do mundo, este fármaco é considerado como de primeira escolha, associado aos fármacos zidovudina e lamivudina na terapia antirretroviral; exceto para gestantes e crianças menores de 3 anos. Essa opção está fundamentada na elevada potência da supressão viral, comprovada eficácia a longo prazo e ao menor risco de efeitos adversos.³

Na literatura científica internacional, diversos métodos analíticos para a quantificação do EFV são preconizados utilizando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) do fármaco isolado e na forma farmacêutica cápsula,³ assim como em plasma na forma isolada e associado a outros antirretrovirais.⁴⁻¹⁴ Contudo, nenhum método analítico por espectrofotometria de absorção no ultravioleta visível (UV-vis) foi relatado.

Esta técnica é reconhecida pelas vantagens relacionadas ao seu uso, sendo utilizada principalmente no controle de qualidade na indústria farmacêutica, que exige rapidez e confiabilidade nos resultados.¹⁵ Além disso, possui baixo custo operacional, sendo de fácil utilização e produz resultados de interpretação bastante simples.¹⁶

Paralelamente, a necessidade de proporcionar qualidade às medições químicas está sendo cada vez mais reconhecida e exigida.¹⁷ Logo, para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis, o mesmo deve passar por uma avaliação denominada validação.

A validação é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o desenvolvimento e transferência de um método. Para registro de novos produtos, o órgão regulador do Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), e o dos Estados Unidos da América, o *Food and Drug Administration* (FDA), exigem a validação das metodologias analíticas e, para isso, são estabelecidos documentos oficiais que direcionam os critérios a serem adotados nesse processo.¹⁷

Logo, a validação tornou-se uma ferramenta de qualidade e não mais um proforme inflexível e automatizado. Com o desenvolvimento do setor de Desenvolvimento Analítico dentro do Controle de Qualidade, os técnicos ganharam flexibilidade para adaptar os métodos antigos, investigar desvios da qualidade e/ou desenvolver novos métodos para os fármacos de interesse.

Na atualidade, o fundamento da técnica analítica e a aplicação de equações conhecidas acelera a investigação e otimização dos métodos e práticas aplicadas. Aplicando-se o cálculo de absortividade molar ao método desenvolvido e validado para o fármaco EFV pode-se relativizar qualquer resultado gerado em absorvância para qualquer sistema de solvente empregado, gerando agilidade e flexibilidade ao setor de Desenvolvimento Analítico.

Portanto, esse estudo descreve o desenvolvimento e a validação de um método analítico para quantificação da matéria prima EFV, de forma que o método atenda às exigências da *International Conference on Harmonization* (ICH Q2A e ICH Q2B)^{18,19} e da ANVISA (RE nº 899 de 2003),²⁰ conferindo praticidade, confiabilidade e baixo custo para a utilização deste método na rotina laboratorial da indústria farmacêutica.

PARTE EXPERIMENTAL

Material e métodos

Matéria-prima, reagentes e vidrarias

Para as etapas correspondentes ao desenvolvimento do método e sua validação, foram utilizadas a matéria-prima EFV (Cristália®, lote: 1289/07, teor 98,00%) e o seu respectivo padrão de trabalho (Xiamen

*e-mail: pedro.rolim@pq.cnpq.br

Mchem®; lote 050501, teor 98,32%) e a matéria-prima zidovudina (Northeast® lote: DY 070041, teor 97,88%) para a determinação da especificidade do método desenvolvido. Os reagentes utilizados foram acetonitrila (Vetec®, lote 0806979); metanol (Cinética®, lote 11850); álcool etílico absoluto (Dinâmica®, lote 30065 e Vetec®, lote 0806654); ácido clorídrico (Dinâmica®, lote 10023) e água ultrapurificada obtida por Milli-Q Millipore® (Milli-Q System, Massachusetts, USA). Utilizaram-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Satelit®.

Equipamentos

Os equipamentos utilizados foram balança analítica Bioprecisa®, modelo FA2104N; espectrofotômetro UV-Vis B582 Micronal®; agitador magnético SBSR e ultrassom 1.500 Barnson® (70 W de potência). Para a reprodutibilidade foram utilizados os seguintes equipamentos: balança analítica CT 225 Sartorius®; espectrofotômetro UV-Vis modelo 50 Vankel® e ultrassom 2.510 Barnson®.

Desenvolvimento do método analítico

Primeiramente realizou-se um teste de solubilidade (a 25 °C) com diferentes solventes (água, álcool etílico absoluto, metanol, acetonitrila e ácido clorídrico 0,1 M), de acordo com a Farmacopeia Brasileira.²¹ Neste estudo observou-se o comportamento do fármaco em diferentes solventes, com objetivo de definir a melhor solução diluente para o método analítico desenvolvido. Para tal, levou-se em consideração o poder de solubilização do fármaco, custo e toxicidade do solvente e a sensibilidade do fármaco frente ao comprimento de onda utilizado. Diante disto, realizou-se uma varredura na faixa de 200 a 700 nm nos diferentes sistemas de solventes propostos (Tabela 1), para a identificação do comprimento de onda que apresentaria o valor de absorbância mais adequado para o método. A calibração do equipamento espectrofotômetro foi realizada através de padrões de referência rastreados pelo *National Institute of Standards and Technology* (NIST).

Tabela 1. Sistemas solventes utilizados na preparação da solução mãe de 500 µg mL⁻¹ (1ª diluição) e da solução amostra de 10 µg mL⁻¹ (2ª diluição)

1ª diluição	2ª diluição
metanol	metanol
metanol	álcool etílico
metanol	sistema de diluição (álcool etílico: água purificada, 60:40, v/v)
álcool etílico	álcool etílico
álcool etílico	metanol
álcool etílico	sistema de diluição
acetonitrila	água purificada

Posteriormente foram realizadas comparações entre as amostras obtidas pelas técnicas de agitação por ultrassonicação e agitação magnética (ambas sem aquecimento), paralelamente à variação do tempo de agitação (5, 10 e 15 min para ultrassonicação e 10 e 15 min para agitação magnética). Além disso, realizou-se a verificação da estabilidade das amostras, no sistema de solvente escolhido, avaliando-se o aspecto visual e a absorbância das mesmas, preparadas em triplicata no intervalo de 0, 24 e 48 h, na presença e ausência de luz.

Preparação da solução amostra

As amostras de EFZ foram analiticamente pesadas e solubilizadas em álcool etílico absoluto, ultrassonicadas por 10 min, obtendo-se uma concentração final de 500 µg mL⁻¹, após aferição do balão volumétrico. Uma alíquota foi retirada dessa solução para diluição,

utilizando-se como sistema de solventes álcool etílico absoluto:água purificada (60:40, v/v), obtendo-se uma concentração final de 10 µg mL⁻¹. As amostras foram preparadas em triplicata e lidas no comprimento de onda de 247 nm.

Preparação da curva controle

Partindo da solução estoque do padrão de EFZ (500 µg mL⁻¹), foram realizadas diluições com o sistema álcool etílico absoluto:água purificada (60:40, v/v) para a obtenção das seguintes concentrações: 8, 10 e 12 µg mL⁻¹. A curva controle foi preparada diariamente e utilizada para os cálculos das concentrações.

Validação do método analítico

Parâmetros avaliados

No processo de validação desta metodologia analítica foram avaliados os seguintes parâmetros: robustez, linearidade, intervalo, limite de detecção, limite de quantificação, precisão, exatidão e especificidade, de acordo com as normas estabelecidas pelo ICH^{20,19} e pela RE nº 899/03 (ANVISA).²⁰

A confiabilidade dos parâmetros avaliados pode ser observada pelo coeficiente de variação (CV%) ou desvio padrão relativo de uma série de medidas. Para cada parâmetro avaliado, foi determinado um CV% menor que 5%²⁰ e tratados estatisticamente por Análise de Variância (ANOVA) *One-Way* e teste *t* de Student com um nível de significância de 95%.

O ensaio para determinação da robustez foi realizado a partir da variação dos seguintes parâmetros: fabricante do álcool etílico absoluto (Dinâmica® e Vetec®), influência da luminosidade (presença e ausência de luz) e tempo de preparação das amostras (0, 1, 2, 3, 4 h).

A linearidade do método foi verificada a partir da análise de três curvas autênticas nas concentrações de 5, 8, 9, 10, 11, 12 e 15 µg mL⁻¹ de EFZ. Os resultados obtidos foram tratados estatisticamente através do cálculo de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. Também foram estimados os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) de acordo com as equações $LD = DP \times 3/IC$ e $LQ = DP \times 10/IC$, onde DP é o desvio padrão do intercepto com o eixo do Y obtido com as três curvas de linearidade e IC é a média dos coeficientes angulares das respectivas curvas. Para calculá-los, foi considerado o desvio padrão da reta com relação à absorbância do primeiro nível de concentração de EFZ das três curvas de calibração. Apesar desses parâmetros não serem considerados como requisitos necessários para testes da categoria I de validação (Testes quantitativos para a determinação do princípio ativo em produtos farmacêuticos e matérias-primas),²⁰ os mesmos foram realizados para a utilização em uma posterior validação de limpeza de equipamentos.

A precisão do método foi avaliada nos níveis de repetitividade (precisão intracorrída), precisão intermediária (precisão intercorrida) e reprodutibilidade (precisão interlaboratorial). A repetitividade foi verificada por 6 determinações individuais a 100% da concentração teste (10 µg mL⁻¹), analisadas em um pequeno intervalo de tempo. Para o parâmetro precisão intermediária, 3 réplicas foram analisadas variando-se os dias e os analistas, ambas também na concentração de 100%. A reprodutibilidade foi realizada em dois laboratórios diferentes em triplicata de amostras.

A exatidão foi definida através da manipulação de amostras preparadas em triplicata nas concentrações de 80, 100 e 120% da concentração teórica do EFZ, sendo determinada após o estabelecimento da linearidade e intervalo do método.

O parâmetro especificidade foi verificado através da contaminação da solução mãe de 500 µg mL⁻¹ de EFZ com 1 mg do antiretroviral zidovudina, com o objetivo de observar a especificidade do método

frente a uma possível contaminação, já que ambos são manipulados na mesma área de produção de uma indústria. A solução mãe contaminada foi diluída para se obter uma solução na concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Também foi preparada uma solução amostra não contaminada, contendo apenas o EFZ na mesma concentração e outra solução numa concentração de $0,2 \mu\text{g mL}^{-1}$ de zidovudina, correspondente à concentração final deste fármaco na solução contaminada de EFZ após diluição.

Determinação da absorvidade molar

A espectrofotometria é fundamentada na lei de Lambert-Beer, que é a base matemática para medidas de absorção de radiação por amostras no estado sólido, líquido ou gasoso, nas regiões ultravioleta, visível e infravermelho do espectro eletromagnético. A absorvidade molar (ϵ) é uma grandeza característica da espécie absorvente, cuja magnitude depende do comprimento de onda da radiação incidente.²¹ As amostras para a determinação da absorvidade molar do EFZ nos solventes água purificada e metanol foram preparadas utilizando-se a mesma técnica descrita anteriormente, variando-se apenas o tempo de sonicação das amostras preparadas em água (4 h). Para as leituras das amostras, também se utilizou o comprimento de onda de 247 nm do método desenvolvido e validado.

Verificação da aplicabilidade da absorvidade molar

Por meio dos três parâmetros utilizados na validação do método analítico, verificou-se estatisticamente a diferença dos resultados teóricos obtidos por meio do cálculo da absorvidade molar e dos resultados práticos realizados com os dois solventes, água purificada e metanol. Tais parâmetros foram executados de forma idêntica à validação do método desenvolvido com o sistema solvente álcool etílico absoluto: água purificada (60:40, v/v).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Desenvolvimento do método analítico

Conforme avaliação da solubilidade do EFZ frente a diferentes solventes, observou-se que este se apresenta como praticamente insolúvel ou pouco solúvel em água e em ácido clorídrico 0,1 M, conforme classificação da Farmacopeia Brasileira.²² Para o solvente acetonitrila, o fármaco apresentou-se facilmente solúvel, enquanto que para os solventes metanol e álcool etílico absoluto o fármaco se mostrou pouco solúvel.

Os resultados obtidos fornecem informações importantes sobre o comportamento do fármaco, possibilitando a escolha inicial dos solventes mais adequados para a completa solubilização do EFZ e que permitam a máxima estabilidade da solução, proporcionando a quantificação adequada do fármaco.

Para o método em desenvolvimento, utilizaram-se inicialmente metanol, álcool etílico e acetonitrila, como solventes iniciais de solubilização. Após a escolha destes solventes, foram realizadas varreduras utilizando várias combinações de solventes para a diluição das soluções, incluindo a possibilidade da adição de uma proporção de água. A proporção deste no sistema foi determinada de acordo com a estabilidade do EFZ em permanecer solúvel por 48 h em repouso, após completa solubilização. As combinações dos sistemas testados para a preparação das amostras estão descritas na Tabela 1.

As varreduras espectrofotométricas, realizadas para verificação dos sistemas que apresentavam as melhores absorções na faixa de comprimentos de onda entre 200 e 700 nm, demonstraram que todos os sistemas testados apresentaram absorções semelhantes no

comprimento de 247 nm; com exceção do sistema acetonitrila/água, que apresentou uma absorção duas vezes maior aos outros sistemas na concentração de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$. Portanto, devido à alta solubilização deste fármaco neste solvente e, consequentemente, da absorção elevada na faixa de concentração testada, esse sistema mostrou-se inadequado para o método.

Somado a este fato, para a escolha final do sistema a ser utilizado, levou-se em consideração a toxicidade e o custo do solvente, além da possível adição de uma proporção de água ao sistema, o que as facilita as leituras provenientes de estudos de preparação de complexos com ciclodextrinas, dispersões sólidas e ensaios de dissolução. Levando em consideração esses critérios, optou-se pelos solventes álcool etílico/sistema de diluição (álcool etílico:água, 60:40, v/v) para a primeira e segunda diluições, respectivamente (Figura 1).

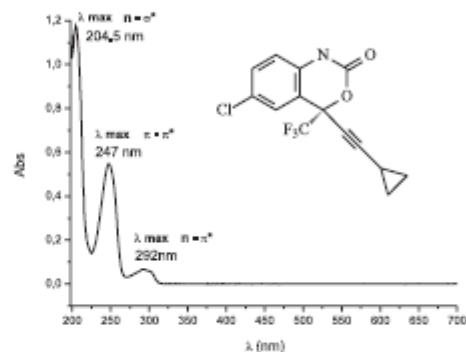


Figura 1. Estrutura química do EFZ ($\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{ClF}_3\text{NO}_2$) e varredura espectrofotométrica no sistema solvente selecionado

Nas análises realizadas para a determinação do tipo e tempo de agitação na preparação das amostras, foi possível definir a ultrassonicação por 10 min como o método a ser padronizado, uma vez que este se apresentou como o mais eficiente para o método proposto (Tabela 2).

Tabela 2. Resultados experimentais do desenvolvimento do método com relação ao tipo e tempo de agitação das amostras

Tipo/ Tempo de agitação	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Média	CV%
Sonicação 5 min	0,490	0,495	0,495	0,493	0,58
Sonicação 10 min	0,510	0,511	0,519	0,513	0,96
Sonicação 15 min	0,505	0,502	0,503	0,503	0,30
	F calculado = 25,7146		F tabelado = 5,1432		
Agitação 10 min	0,471	0,476	0,491	0,474	0,53
Agitação 15 min	0,495	0,491	0,496	0,494	0,54
	F calculado = 93,0250		F tabelado = 7,7086		

Validação do método analítico

Robustez

O método desenvolvido demonstrou ser robusto quanto à variação dos fabricantes de álcool etílico absoluto. De acordo com os resultados obtidos, o F calculado para esse parâmetro foi de 0,0218, inferior ao F tabelado (7,7086), sendo o CV de 0,28 e 0,14 para os fabricantes Dinâmica® e Vetec®, respectivamente. Com relação à avaliação da estabilidade das soluções no intervalo de 4 h a partir da preparação das amostras e da influência da luminosidade, obteve-se

um F calculado de 2,1185 (F tabelado = 5,1922) e 4,1784 (F tabelado = 5,3176), respectivamente, demonstrando que não houve diferenças estatisticamente significativas entre os mesmos (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados da robustez com relação ao parâmetro luminosidade e estabilidade das amostras

Tempo (h)	Concentração %	
	Presença de luz	Ausência de luz
0	100,96	100,51
1	100,77	100,58
2	100,22	100,83
3	101,15	100,83
4	101,41	100,15
Média	101,10	100,78
CV %	0,24	0,25

Linearidade

A análise de regressão linear dos mínimos quadrados apresentou um coeficiente de correlação de 0,99978, indicando linearidade dentro dos limites das concentrações estudadas, obtendo-se a equação da reta $y = 0,0520x - 0,0099$. Através da análise de variância (Tabela 4) pode-se testar a validação do método e a significância estatística da curva ajustada. De acordo os resultados, observou-se que o método é linear e não houve falta de ajustes para as médias estudadas, apresentando um valor de F de 2,9582, abaixo do valor crítico tabelado (4,3807).

Tabela 4. Resultado do tratamento estatístico por ANOVA one-way para a regressão linear

Fonte	SQ	GL	MQ	F	F-crítico
Modelo	0,488486777	1	0,488486777	15515,9	4,3807
Residual	0,000598175	19	3,14829E-05		
Falta de ajuste	9,28417E-05	5	1,85683E-05	0,51443	2,9582
Erro puro	0,000505333	14	3,60952E-05		
Total	0,489084952	20	0,024454248		

Ainda como resultado da avaliação da linearidade, calcularam-se os LD e LQ. Os resultados encontrados foram de 0,21 para LD e 0,69 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para LQ.

Precisão

O método desenvolvido demonstrou ser preciso nos três níveis avaliados: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade. Para o parâmetro repetitividade os resultados obtidos apresentaram uma média de 100,32 e um CV de 1,35%, abaixo do valor máximo especificado.²⁰

Na precisão intermediária foi demonstrado que o método é preciso para análises realizadas por analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes, estando a variação encontrada dentro dos limites especificados, pois através do tratamento estatístico foi demonstrado que os F calculados para as análises foram menores do que o F crítico (Tabela 5).

O método também se apresentou reprodutivo quando avaliado em diferentes laboratórios, utilizando equipamentos diferentes. Os resultados avaliados podem ser visualizados na Tabela 6.

Exatidão

A exatidão do método foi averiguada através da análise de três concentrações distintas (80, 100 e 120%), encontrando-se os resultados dentro dos limites especificados. Para este parâmetro, foi aplicado o teste t Student, o qual demonstrou que o t calculado para

Tabela 5. Resultados experimentais obtidos na precisão intermediária com os diferentes sistemas testado

Analistas	Dia 1	Dia 2	Álcool etílico: água (60:40, v/v)
Dia			
Analista 1	100,84%	100,51%	F calculado = 2,1109 F tabelado = 18,5128
Analista			
Analista 2	100,52%	100,26%	F calculado = 1,8408 F tabelado = 18,5128
Água purificada			
Dia			
Analista 1	100,67%	100,17%	F calculado = 0,0095 F tabelado = 18,5128
Analista			
Analista 2	99,92%	100,50%	F calculado = 0,3008 F tabelado = 18,5128
Metanol			
Dia			
Analista 1	100,15%	100,39%	F calculado = 3,8879 F tabelado = 18,5128
Analista			
Analista 2	99,77%	100,30%	F calculado = 0,6526 F tabelado = 18,5128

Tabela 6. Resultados experimentais obtidos para a reprodutibilidade

Laboratório	1	2	3	Média	CV%
I	100,77	98,08	100,58	99,81	1,505
II	99,42	98,65	99,04	99,04	0,390

cada concentração foi de 0,8308; 0,8543 e 0,3523, respectivamente, sendo estes menores que o t tabelado (4,3026), comprovando que não houve diferença significativa entre as médias das três concentrações analisadas.

Especificidade

Para o método proposto, a solução amostra de EFZ foi contaminada com uma impureza, a zidovudina. Embora este fármaco possua absorção máxima no comprimento de onda de 270 nm,²² muito próximo ao comprimento em estudo (247 nm), não houve interferência na absorção do EFZ neste comprimento de onda e na concentração de 0,2 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de zidovudina. Esse valor encontra-se dentro do intervalo que compreende os LD e LQ da zidovudina, que são de 0,0394 e 0,0597 $\mu\text{g mL}^{-1}$,²³ respectivamente (Figura 2).

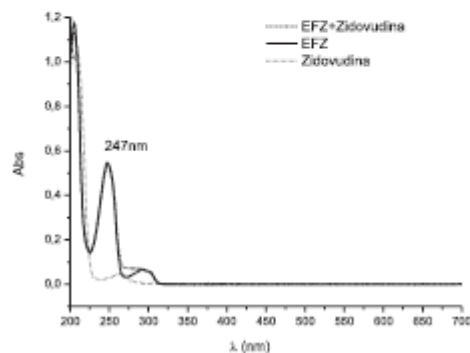


Figura 2. Varreduras realizadas para a avaliação da especificidade do método

Absortividade molar (ϵ)

A absorvância da amostra foi de 0,555 para o solvente metanol e 0,318 para a água purificada, por meio da aplicação da equação $M = m/\text{mol} \times V$; onde M é a concentração molar, m é a massa e V o volume. Conhecida a massa molar do EFZ (315,68 g mol⁻¹), tem-se que a concentração molar do mesmo a 10 µg mL⁻¹ é igual a 3,1677 x 10⁻⁵ mol. Aplicando-se a equação $\epsilon = \text{Abs} \cdot M^{-1}$, calculou-se a absorvidade molar do EFZ em água purificada (9028,63 M⁻¹ cm⁻¹) e metanol (17520,59 M⁻¹ cm⁻¹). Uma vez realizado o cálculo da absorvidade molar do fármaco no solvente de interesse, pode-se descobrir a concentração molar de qualquer amostra desconhecida solubilizada no solvente em questão.

Verificação da aplicabilidade da absorvidade molar**Precisão**

O método desenvolvido demonstrou ser preciso por meio da repetitividade e precisão intermediária para os dois solventes analisados. Na repetitividade, os resultados obtidos apresentaram um CV de 0,92% para a água purificada e 1,13% para o metanol. Na precisão intermediária foi demonstrado que o método é preciso para análises realizadas por analistas diferentes em um mesmo dia e em dias diferentes, sendo a variação enquadrada dentro dos limites especificados para ambos solventes (Tabela 5).

Especificidade

Para o método proposto, a solução amostra de EFZ nos dois solventes analisados foi contaminada com uma impureza, zidovudina, não havendo interferência na absorção do EFZ neste comprimento de onda.

Linearidade

Os resultados do estudo de linearidade estão agrupados na Tabela 7, bem como a média dos pontos estudados. A análise de regressão linear dos mínimos quadrados demonstrou um coeficiente de correlação de 0,9994 e 0,9939 para metanol e água, respectivamente, indicando a linearidade dentro dos limites das concentrações estudadas, obtendo-se a equação da reta $y = 1,1107x + 0,0011$ para o metanol e $y = 0,9308x + 0,0081$ para água. De acordo com os resultados, verificou-se que o método é linear e não houve falta de ajustes para as médias estudadas, apresentando um valor de F de 2,9582, abaixo do valor crítico tabelado de 4,3807.

Aplicando-se o método de comparação entre duas grandezas, no qual o módulo do valor teórico subtraído do valor prático, sendo o resultado dividido pelo valor teórico e multiplicando por cem, obtém-se em percentual o quão distante o resultado experimental está do modelo teórico. Para os valores avaliados na linearidade, para ambos solventes menores, a variação encontrada foi menor do que 5%, sendo, portanto, adequados analiticamente (Tabela 7).²⁰

CONCLUSÃO

O método apresentado foi desenvolvido e validado segundo o ICH (ICH Q2A, 2005; ICH Q2B, 2005) e a ANVISA (RE nº 899, 2003), apresentou a confiabilidade requerida para um método analítico. Além de se mostrar como uma alternativa rápida, segura e de baixo custo quando comparado ao método por CLAE.

Paralelamente, a absorvidade molar pode ser utilizada no setor de Desenvolvimento Analítico para facilitar o desenvolvimento de novos métodos, a investigação de desvios de qualidade e/ou adaptação dos mesmos. Por meio dos parâmetros utilizados, demonstraram-se as vantagens do uso dentro do limite de confiabilidade analítica.

Tabela 7. Resultados experimentais e teóricos para o parâmetro linearidade nos solventes água purificada e metanol

	Concentração (µg/mL)	Abs teórica	Abs prática Média (n3)	Resultados práticos		Teórico x Prático %
				DP %	CV %	
Água purificada	5	0,143	0,146	0,004	2,986	2,008
	8	0,229	0,228	0,002	0,914	0,437
	9	0,257	0,252	0,007	2,646	1,946
	10	0,286	0,292	0,006	1,907	2,008
	11	0,315	0,322	0,003	1,076	2,222
	12	0,343	0,338	0,004	1,067	1,458
Metanol	15	0,429	0,421	0,006	1,323	1,865
	5	0,277	0,275	0,004	1,455	0,722
	8	0,444	0,448	0,005	1,007	0,901
	9	0,499	0,502	0,005	0,913	0,601
	10	0,555	0,555	0,005	0,826	0,000
	11	0,611	0,607	0,003	0,414	0,655
	12	0,666	0,668	0,004	0,605	0,300
	15	0,833	0,832	0,003	0,367	0,120

REFERÊNCIAS

- Cujka, C.; Marzolini, C.; Fittinger, K.; Decosterd, L. A.; Fellay, J.; Telenti, A.; Biollaz, J.; Buclin, T.; *Clat. Pharmacol. Ther.* **2003**, *20*, 73.
- Brasil, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids; *Recomendações para terapia anti-retroviral em adultos infectados pelo HIV: manual de bolso*, Ministério da Saúde: Brasília, 2008.
- Montgomery, E. R.; Edmanson, A. L.; Cook, S. C.; Hovsepian, P. K.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2001**, *25*, 267.
- Mogalle, S.; Kanfer, L.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2009**, *49*, 1308.
- Martin, J.; Deslandes, G.; Dailly, E.; Renaud, C.; Reliquet, V.; Raffi, F.; Joliet, P.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2009**, *877*, 3072.
- Ramachandran, G.; Hemanth, A. K.; Swaminathan, S.; Venkatesan, P.; Kumaraswami, V.; Greenblatt, D. J.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2006**, *835*, 131.
- Dailly, E.; Raffi, F.; Joliet, P.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2004**, *813*, 353.
- Mathews, C. Z.; Woolf, E. J.; Mazenko, R. S.; Haddix-Wiener, H.; Chavez-Eng, C. M.; Constanzer, M. L.; Doss, G. A.; Matuszewski, B. K.; *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2002**, *28*, 925.
- Kappelhoff, B. S.; Alwin, H. R.; Huitema, D. R.; Beijnen, J. H.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2003**, *792*, 353.
- Rezk, N. L.; Tidwell, R. R.; Kasuba, A. D. M.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2002**, *774*, 79.
- Langmann, P.; Schirmer, D.; Vith, T.; Zilly, M.; Klinker, M. J.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2001**, *755*, 151.
- Sarasa-Nacenta, M.; López-Púa, Y.; López-Cortés, I. F.; Mallolas, J.; Gatell, J. M.; Xavier, C.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2001**, *763*, 53.
- Marzolini, C.; Telenti, A.; Buclin, T.; Biollaz, J.; Decosterd, L. A.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2000**, *740*, 43.
- Veldkamp, A. I.; Heeswijk, R. P. G.; Meenhof, P. L.; Mulder, J. W.; Lange, J. M. A.; Beijnen, J. H.; Hoeltelmann, R. M. W.; *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **1999**, *734*, 55.
- Soares, M. F. L. R.; Soares-Sobrinho, J. L.; Grangeiro-Júnior, S.; Silva, K. E. R.; Rolim-Neto, P. J.; *Lat. Am. J. Pharm.* **2008**, *27*, 688.

16. Galo, A. L.; Colombo, M. F.; *Quím. Nova* **2009**, *32*, 488.
17. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quím. Nova* **2004**, *27*, 771.
18. International Conference on Harmonisation (ICH); *Validation of Analytical Procedures: Definitions and Terminology*, Q2A (CPMP/ICH/381/95), 1995.
19. International Conference on Harmonisation (ICH); *Validation of Analytical Procedures: Methodology*, Q2B (CPMP/ICH/281/95), 1995.
20. Brasil; Resolução RE nº899 de 29/5/2003; *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, 02/06/2003, seção 1 - Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) aprova o Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.
21. Rocha, F. R. P.; Teixeira, L. S. G.; *Quím. Nova* **2004**, *27*, 807.
22. Farmacopéia Brasileira, IV ed., Athenes: São Paulo, 2003.
23. Randau, K. P.; Meira, J. L.; Braga, J. M. F.; Monteiro, D. B.; Rolim-Neto, P. J.; *Acta Farm. Bonaerense* **2005**, *24*, 104.

ANEXO B

**BRAZILIAN JOURNAL OF PHARMACEUTICAL
SCIENCES**

RECIBO

Nº de Registro: 112/09

Acusamos o recebimento do trabalho para publicação no **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**.

AUTORIA: ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M.; ROLIM, L. A.; PRESMICH, G. M. A.; ROLIM-NETO, P. J.

Título do artigo: "Advances, properties and applications of the solid dispersions in the pharmaceutical products attainment"

São Paulo, 12 de novembro de 2009.

Profa. Elizabeth Igne Ferreira
Editoria Científica

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.

ANEXO C



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
NÚCLEO DE INOVAÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE TECNOLOGIA DA UFPI
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Setor de Convivência L09 e L10
Bairro Ininga CEP: 64049-550 - Teresina-PI Fone/ Fax (86)3237-1638

DECLARAÇÃO

Teresina, 10 de agosto de 2010.

Venho, por meio deste, declarar que a Professora M.Sc. Monica Felts de La Roca Soares, deu entrada no processo de análise e avaliação da invenção intitulada: "FORMULAÇÃO DE SISTEMAS BINÁRIOS DE EFAVIRENZ COM POLIVINILPIRROLIDONA K-30 E/OU SEUS DERIVADOS DESTINADOS A FORMULAÇÕES DE FORMAS FARMACÊUTICAS" no Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI - NINTEC, onde a mesma encontra-se em fase de investigação e busca de anterioridade. Esta patente possui como titular a Universidade Federal do Piauí – UFPI e como inventores os pesquisadores:

- 1 - Lariza Darlene Santos Alves - UFPE
- 2 - Monica Felts de La Roca Soares - UFPI
- 3 - Pedro Jose Rolim Neto - UFPE

Atenciosamente,

Profa. Dra. Maria Rita de Moraes Chaves Santos

Coord. Núcleo de Inovação e Transferência de Tecnologia da UFPI – NINTEC

ANEXO D

Resumo 1 - “Avaliação da adesão ao tratamento HIV/AIDS em mulheres portadoras do vírus” aprovado no IX Congresso Brasileiro de Saúde Coletiva na modalidade Publicação, que se encontra no CD de Anais de Saúde Coletiva 2009 INSS 14-13-8123 e no suplemento I, v. 42, 2009, ISSN – 0037-8682 da Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.

Resumo 2 - “Absortividade molar do efavirenz em diferentes solventes e adaptação de método analítico” publicado nos anais do XX Congresso Pan-americano de Farmácia.

Resumo 3 - “Aplicação de polímeros hidrofílicos no incremento da solubilidade aquosa do Efavirenz” publicado nos anais do XX Congresso Pan-americano de Farmácia.

Resumo 4 - “Desenvolvimento de método analítico para doseamento no UV-vis do antirretroviral Efavirenz” publicado nos anais do XX Congresso Pan-americano de Farmácia.

Resumo 5 - “Desenvolvimento farmacotécnico e caracterização por DSC de dispersões sólidas a base do antirretroviral Efavirenz” publicado nos anais do XX Congresso Pan-americano de Farmácia.

Resumo 6 - “Caracterização físico-química o efavirenz por Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)” publicado nos anais do I Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica.

Resumo 7 - “Diagrama de solubilidade de fases do efavirenz utilizando PVP-K30, manitol e ácido cítrico” publicado nos anais do I Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica.

Resumo 8 - “Dispersões sólidas em sistemas multicomponentes com ciclodextrinas” publicado nos anais do I Encontro Brasileiro para Inovação Terapêutica.

Resumo 9 - “Aqueous behavior of the antiretroviral efavirenz in emulsifiers” apresentado no XVI Congresso Paulista de Farmacêuticos, e publicado em edição suplementar da *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

Resumo 10 - “Physical chemistry characterization of antiretroviral efavirenz for medicines development” apresentado no XVI Congresso Paulista de Farmacêuticos, e publicado em edição suplementar da *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

Resumo 11 - “Development of binary systems of efavirenz and characterization by scanning electron microscopy” apresentado no XVI Congresso Paulista de Farmacêuticos, e publicado em edição suplementar da *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*.

ALVES, L. D. S. Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral Efavirenz.