



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

ALEXANDRE COUTO CARNEIRO VIEIRA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES NO
INCREMENTO DA SOLUBILIDADE DO EFAVIRENZ NA
TERAPIA ANTI-HIV**

RECIFE - PE
2011

ALEXANDRE COUTO CARNEIRO VIEIRA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES NO
INCREMENTO DA SOLUBILIDADE DO EFAVIRENZ NA
TERAPIA ANTI-HIV**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica na Área de Desenho, Modelagem Molecular e Preparação de Produtos Bioativos.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

**RECIFE - PE
2011**

Vieira, Alexandre Couto Carneiro

Obtenção e caracterização de complexo de inclusão e sistema multicomponentes no incremento da solubilidade do Efavirenz na terapia Anti-HIV/ Alexandre Couto Carneiro Vieira. – Recife: O Autor, 2011.

107 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas, Inovação Terapêutica, 2011.

Inclui bibliografia e anexos

**1. Efavirenz (medicamento) 2. AIDS (doença) 3. HIV (Vírus)I.
Título.**

616.9792

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2011-188

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

ALEXANDRE COUTO CARNEIRO VIEIRA

**OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE COMPLEXO DE
INCLUSÃO E SISTEMA MULTICOMPONENTES NO
INCREMENTO DA SOLUBILIDADE AQUOSA DO
EFAVIRENZ NA TERAPIA ANTI-HIV**

**Dissertação apresentada à Universidade Federal de Pernambuco para obtenção
do título de Mestre em Inovação Terapêutica.**

Banca Examinadora

Membros Externos:

Prof. Dra. Flávia Patrícia Moraes de Medeiros
Faculdade Pernambucana de Saúde

Assinatura: _____

Prof.Dra. Monica Felts de La Roca Soares
Departamento Bioquímica e Farmacologia
Universidade Federal do Piauí – UFPI

Assinatura: _____

Membro Interno:

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto – UFPE
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Universidade Federal de Pernambuco

Assinatura: _____

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

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

AGRADECIMENTOS

Ao meu grande orientador, **Prof.Dr. Pedro Rolim**, pela aceitação no grupo, por todo carinho, atenção e confiança depositada. Saiba que lhe admiro muito pela pessoa simples e carismática, e estou muito feliz por participar da grande família LTM e poder aprender todos os dias com você.

A **Vicente Alexandre, Lúcia de Fátima e Natalia Couto (Família)** pelo apoio e por todas as contribuições que trouxeram na construção deste trabalho e na minha formação pessoal e profissional.

A **Luíse Lopes**, minha companheira, pelo apoio, compreensão e pelo amor nos momentos nessa difícil caminhada.

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.

Aos meus companheiros de projeto **Danilo Fontes, Mônica Felts** por todos os momentos disponibilizados na execução desse projeto, e especialmente a **Lariza Darlene**, além da grande ajuda no desenvolvimento dessa dissertação e na grande amiga que mostrou ser.

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, **José Lourenço Neto, Fabiana Lícia, Luíse Lopes, Salvana Costa, Thays Lucena, Maria Luiza Moura, Graziella Marques, Monize Santos, Amanda Vieira e Keyla Emanuelle, Pablo Ataíde**. Os mais distantes, mas sempre presentes **Rosali Silva, José Lamartine, Ádley Lima, Fabio Henrique**.

Aos meus queridos amigos **Hilton Freitas, Dário Marcelos, Gabriel Ferraz Novais, Marcelo Assunção, Luiz Henrique, Danilo Fontes Pablo Ataíde**, por todos os momentos de alegrias, e por todo o incentivo nesta longa caminhada.

Aos colaboradores, Abene Ribeiro da Central Analítica e ao Prof.Dr. Ricardo Oliveira do departamento de Química na Universidade Federal de Pernambuco.

Aos Colaboradores Tarcyla de Andrade Gomes do Laboratório de difração de Raios X e Sergio dos Santos Silva do laboratório de microscopia eletrônica de varredura, no departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco.

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

“Quem confia em Deus, nada teme”

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CD – Ciclodextrina

CDs – Ciclodextrinas

β CD — β -ciclodextrina

HP β CD - Hidroxipropil- β -ciclodextrina

M β CD - Metil- β -ciclodextrina

RM β CD – Metil Randomizada - β -ciclodextrina

DSC – Calorimetria Diferencial de Varrimento

FDA - Food and Drug Administration

IV-TF - Espectroscopia de Infravermelho com transformadas de Fourier

K_s – Constante de estabilidade

MX – Malaxagem

PEG 4000 – Polietilenoglicol

PVP K30 – Polivinilpirrolodona

RDC – Grau relativo de cristalinidade

DRX – Difraccção de Raio-X

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

SIDA – Síndrome da imunodeficiência adquirida

MF – Mistura Física

USP - United States Pharmacopoeia

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

AIDS - Acquired Immuno Deficiency Syndrome

EFZ - Efavirenz

LAFEPE – Laboratório de Medicamentos de Pernambuco

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Alguns produtos farmacêuticos comercializados contendo ciclodextrinas.	37
Tabela 2. Considerações sobre o fármaco, ciclodextrinas e condições de estudo.	50
Tabela 3. Formulação do Sistema Multicomponente, no estado sólido (Mistura Física e Malaxado).....	54
Tabela 4. Estudo de solubilidade em concentrações elevadas de PVP K30 na ausência e presença da M β CD	74
Tabela 5. Resultados da eficiência de dissolução (ED).....	78
Tabela 6. Resultados obtidos através da termogravimetria.....	84

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo do vírus da imunodeficiência humana (HIV) .	28
Figura 2. Estrutura química do efavirenz.	31
Figura 3. Ciclodextrinas naturais.....	35
Figura 4. Principais tipos de complexo de inclusão	36
Figura 5. Diagrama de solubilidade das fases	42
Figura 6. Difratoograma de raios-X do pó de EFZ	59
Figura 7. Espectrograma do EFZ no IV-TF	61
Figura 8. Curvas de DSC obtida a 10 °C.min ⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min ⁻¹	62
Figura 9. Curva DSC de aquecimento (razão de 10 °C.min ⁻¹), resfriamento (razão de 20 °C.min ⁻¹) e aquecimento (razão de 10 °C.min ⁻¹) sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min ⁻¹	63
Figura 10. Curvas de TG obtida a 10 °C.min ⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min ⁻¹	65
Figura 11. Eletromicrografias das partículas cristalinas de EFZ	66
Figura 12. Perfis de dissolução do EFZ matéria prima e em formulação sólida (cápsula).67	
Figura 13. Diagrama de solubilidade de fases do efavirenz com a αCD, βCD, RMβCD, HPβCD e MβCD em água à temperatura ambiente (25 ° C).....	69
Figura 14. Diagrama de solubilidade efavirenz em concentração fixa de CD, utilizando PVP K30 e PEG 4000 em concentrações crescentes.....	71
Figura 15. Diagrama de solubilidade efavirenz em concentração fixa PVP K30, utilizando CDs em concentrações crescentes.....	72

.....65**Erro!**

Indicador não definido.

Figura 16. Perfil de dissolução do MX em diferentes concentrações de PVP K30.....	75
Figura 17. Perfil de dissolução MF em diferentes concentrações de PVP K30.....	76
Figura 18. Perfil de dissolução das MFs e dos MXs.....	76
Figura 19. Difrátograma do EFZ e sistemas multicomponentes (EFZ-M β CD-PVP K30 1%); MF – Mistura Física, MX – Malaxado.....	79
Figura 20. Espectros de IV-TF.....	81
Figura 21. Curvas de DSC obtida a 10 °C.min ⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min ⁻¹ do EFZ, M β CD, PVP K30 e os sistemas multicomponentes por MF 1% e MX 1%.....	82
Figura 22. Curva de TG do EFZ, M β CD, PVP K30, MF 1% e MX 1%.....	84
Figura 23. Eletromicrografias de MEV: (A-B) EFZ; (C-D) PVP K30; (E-F) M β CD; (G-H) MF - EFZ + M β CD + 1% PVP K-30; (I-J) MX – EFZ+ M β CD + 1% PVP K-30.....	86

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	20
2.	OBJETIVOS	22
2.1.	OBJETIVO GERAL.....	23
2.2.	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
3.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	25
3.1.	Human immuno deficiency virus: histórico da doença	25
3.1.1.	AIDS: conceito, agente etiológico, epidemiologia e mecanismo de ação.....	26
3.1.2.	Tratamento e esquema de tratamento	28
3.2.	Insumo farmacêutico ativo: efavirenz	30
3.2.1.	Perfil de dissolução.....	31
3.2.2.	Análises termooanalíticas	32
3.2.3.	Difração de raios-X	32
3.2.4.	Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)	33
3.2.5.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	34
3.3.	Complexo de inclusão com ciclodextrina.....	34
3.3.1.	Métodos de obtenção de complexos de inclusão.....	38
3.3.2.	Estratégias para aumentar a eficiência de complexação das ciclodextrinas....	39
3.3.3.	Caracterização dos complexos de inclusão em solução	40
3.3.4.	Diagramas de solubilidade de fases.....	41
3.4.	Sistema multicomponente com ciclodextrina e polímeros hidrofílicos.....	42
3.4.1.	Caracterização de multicomponentes no estado sólido	44
4.	MATERIAL E MÉTODOS.....	46
4.1.	MATERIAL.....	46
4.1.1.	Insumo farmacêutico ativo (IFA)	46
4.1.2.	Reagentes, solventes e vidrarias	46
4.1.3.	Insumos farmacêuticos	46
4.1.4.	Equipamentos	47
4.2.	MÉTODOS	48

4.2.1. PARTE I – CARACTERIZAÇÃO DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFZ.....	48
4.2.1.1. Difração de Raios-X (DRX) _____	48
4.2.1.2. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF) _____	48
4.2.1.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) _____	48
4.2.1.4. Termogravimetria (TG) _____	49
4.2.1.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) _____	49
4.2.1.6. Ensaio de dissolução _____	49
4.2.2. PARTE II – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS	51
4.2.2.1. Diagrama de solubilidade com ciclodextrinas _____	51
4.2.3. PARTE III – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS E DOS POLÍMEROS HIDROFÍLICOS	52
4.2.3.1. Diagrama de solubilidade com o sistema multicomponente _____	52
4.2.3.1.1. Efeito dos polímeros, em concentração fixa de ciclodextrina _____	52
4.2.3.1.2. Efeito das ciclodextrinas, em concentrações fixas de polímeros _____	53
4.2.3.2. Efeito do polímero PVP K30, em concentrações elevadas, na presença de ciclodextrina	53
4.2.4. PARTE IV – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS MULTICOMPONENTES NO ESTADO SÓLIDO.....	54
4.2.4.1. Obtenção de sistemas multicomponentes no estado sólido pela técnica de malaxagem e mistura física _____	54
4.2.4.1.1. Mistura Física (MF)	54
4.2.4.1.2. Malaxado (MX).....	54
4.2.4.2. Caracterização dos sistemas multicomponentes no estado sólido _____	55
4.2.4.2.1. Perfil de Dissolução	55
4.2.4.2.2. Difração de Raios-X (DRX)	56
4.2.4.2.3. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)	56
4.2.4.2.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	56
4.2.4.2.5. Termogravimetria (TG).....	57
4.2.4.2.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	57
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
5.1. PARTE I - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA.....	59

5.1.1.	Difração de raios-X (DR-X)	59
5.1.2.	Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)	60
5.1.3.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	62
5.1.4.	Termogravimetria	64
5.1.5.	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	66
5.1.6.	Ensaio de dissolução	66
5.2.	PARTE II – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS	68
5.2.1.	Diagrama de solubilidade complexo de inclusão	68
5.3.	PARTE III - SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS E DOS POLÍMEROS HIDROFÍLICOS	70
5.3.1.	Diagrama de solubilidade sistema multicomponente	70
5.3.2.	Efeito dos polímeros, em uma concentração fixa de ciclodextrina	70
5.3.3.	Efeito das ciclodextrinas, em uma concentração fixa de polímeros	72
5.3.4.	Efeito do polímero PVP K30, em concentrações elevadas, na presença e ausência de ciclodextrina	73
5.3.5.	PARTE IV – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS MULTICOMPONENTES NO ESTADO SÓLIDO	75
5.3.5.1.	Perfil de Dissolução	75
5.3.5.2.	Difração de raios-X (DRX)	79
5.2.1.1.	Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)	80
5.2.1.2.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	82
5.2.1.3.	Termogravimetria (TG)	83
5.2.1.4.	Microscopia eletrônica de varredura	84
6.	CONCLUSÃO	89
8.	ANEXOS	106

RESUMO

Dentro do cenário brasileiro, o [(S)-6-Cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-Dihidro - 1H-3, 1-benzoxazin-2-ona], conhecido como efavirenz (EFZ), é atualmente o medicamento mais utilizado no tratamento da AIDS sendo de primeira escolha como antirretroviral, inibidor não competitivo da enzima transcriptase reversa (TR) do HIV-1. Atualmente, o governo do Brasil disponibiliza comprimidos revestido de efavirenz 600 mg, gratuitamente através do Programa DST-AIDS. Entretanto, esse fármaco por possuir uma baixa solubilidade, pode apresentar uma biodisponibilidade não adequada, o que interfere na ação terapêutica, sendo classificado de classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade), ou seja, praticamente insolúvel. Para incrementar a solubilidade do efavirenz, foram testadas novas técnicas, destacando-se a formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas (CDs) e sistemas multicomponentes com polímeros hidrofílicos-CDs. No diagrama de solubilidade com complexo de inclusão utilizando a M β CD a 20 mM, obteve-se melhor resultado, seguido de um aumento de 739,64% na solubilidade. Já no diagrama de solubilidade com o sistema multicomponente foi notado que com a adição de polímeros hidrofílicos, especificamente neste caso o PVP K30, houve ainda um incremento na solubilidade obtendo aumento de 812,44%, podendo de ser destacado que a adição do PVP K30 em concentrações elevadas mostrou-se eficaz, porém com a presença da M β CD esse aumento na solubilidade do EFZ foi mais significativo. O sistema multicomponente que se destacou foi o obtido através da técnica de malaxagem, EFZ – M β CD (20 mM) - PVP K30 (1%), possibilitando um incremento na solubilidade do fármaco, que na dissolução apresentou liberação superior a 80%. O DRX visualizou-se a diminuição dos principais picos do EFZ característicos da sua cristalinidade, principalmente no pico em 6,24°. Através do espectro na região de infravermelho com transformada de Fourier observou-se que a vibração do estiramento C $\equiv$ C em 2249 mostra-se praticamente ausente no sistema MX, sugerindo que haja complexação da M β CD nessa região do efavirenz, o ciclopropano. No DSC observou um aumento do PF do EFZ entre 123,31 e 145,20°C para 160,6°C e 168,7°C, onde a energia de entalpia foi elevada, caracterizando estabilidade do sistema. O processo de decomposição no TG ocorreu em três etapas características do EFZ, PVP K30 e da M β CD, cuja perda de massa foi menor

para todos os componentes. Porém, no MX a perda de massa do IFA foi significativamente inferior ao da MF, demonstrando que o produto obtido através da técnica de malaxagem proporcionou uma maior estabilidade ao EFZ. As eletromicrografias do MX evidenciaram a mudança de morfologia dos excipientes, juntamente com a inserção parcial do fármaco no sistema, corroborando com o DSC e DRX na diminuição da cristalinidade do IFA. Portanto, este trabalho é de caráter inovador, pois através de técnicas modernas, visa incrementar a solubilidade do EFZ, aumentando sua biodisponibilidade, possibilitando ampliar e facilitar seu uso no desenvolvimento em diversas formas farmacêuticas.

Palavras-chave: efavirenz, complexo de inclusão, sistema multicomponente, ciclodextrina, polímeros hidrofílicos, solubilidade.

ABSTRACT

Within the Brazilian scenario, the [(S)-6-chloro-4-(ciclopropiletinil) -4 - (trifluoromethyl) - 2,4-dihydro - 1H-3, 1-Benzoxazines-2-one], known as efavirenz (EFZ), is currently the most commonly used drug to treat AIDS as a first choice as antirretroviral, non-competitive inhibitor of the enzyme reverse transcriptase (RT) of HIV-1. Currently, the government of Brazil provides coated tablets of 600 mg efavirenz reference free through National STD-AIDS. However, this drug because it has a low solubility, can not provide adequate bioavailability, which interferes with the therapeutic action, which was classified Class II (low solubility and high permeability), or insoluble. To increase the solubility of efavirenz, was tested new techniques, especially the formation of inclusion complexes with cyclodextrins (CDs) and multicomponent systems with hydrophilic polymers-CDs. In the solubility diagram with inclusion complex using M β CD at 20 mM, best result was obtained, followed by an increase of 739.64% in solubility. In the diagram of solubility with the multicomponent system was noted that with the addition of hydrophilic polymers, specifically in this case, PVP K30, there was also an increase in solubility resulting increase of 812.44%, and cannot be emphasized that the addition of PVP K30 at high concentrations was shown to be effective but the presence of M β CD this increase in solubility was more significant EFZ The multicomponent system that stood out was that obtained using the technique of mixing, EFZ - M β CD (20 mM) - PVP K30 (1%), allowing an increase in solubility of the drug release showed that the dissolution of more than 80%. The XRD envisioned for the lower peaks of the main characteristic of the EFV crystallinity, especially at the peak at 6.24 °. Across the spectrum in the region of Fourier transform infrared showed that the vibration of C $\equiv$ C stretch at 2249 shows practically absent in the MX system, suggesting that there is complexation of M β CD in the region of efavirenz, cyclopropane. In the DSC showed an increase in PF between 123.31 and 145.20 EFZ ° C to 160.6 ° C and 168.7 ° C, where the energy was high enthalpy characterizing stability of the system. The process of decomposition in TG occurred in three characteristic stages of the EFZ, PVP K30 and M β CD, whose weight loss was lower for all components. However, in MX the mass loss of the IFA was significantly lower than that of MF, showing that the product obtained by kneading technique provided greater stability to the

EFZ. The electron micrographs of MX showed a change in morphology of the excipients, along with the partial insertion of the drug in the system, which agrees with the DSC and XRD in the decrease of crystallinity of IFA. Therefore, this work is innovative, because through modern techniques, aims to increase the solubility of the EFZ, increasing its bioavailability, allowing its use to expand and facilitate development in various pharmaceutical forms.

Keywords: Efavirenz, inclusion complex, multicomponent system, cyclodextrin, hydrophilic polymers, solubility.

Introdução

1. INTRODUÇÃO

A síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS) é uma doença pandêmica que tem como agente etiológico o vírus HIV (Human immunodeficiency virus). As conseqüências clínicas da infecção por esse vírus devem-se à sua capacidade em desarmar o sistema imune do hospedeiro, devido à depressão dos linfócitos que expressam, superficialmente, o antígeno CD4⁺ que em conjunto com alterações qualitativas e quantitativas do sistema imune leva à susceptibilidade do organismo às infecções oportunistas (GOLDMAN & BENNET, 2001; PEÇANHA, ANTUNES & TANURI, 2002).

O acesso da população infectada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) aos medicamentos antirretrovirais nos países em desenvolvimento é uma prioridade de saúde pública. Os esforços atuais focalizam na simplificação dos esquemas terapêuticos de modo a aumentar a adesão ao tratamento e o manejo dos efeitos colaterais. Com o apoio de programas, organizações não-governamentais, e autoridades nacionais, a Organização Mundial de Saúde (OMS) tem o ambicioso objetivo de tratar 3 milhões de pessoas infectadas pelo HIV com a terapia antirretroviral de alta atividade (LAURENTE et al., 2005; LANCELLOTTI & GAGLIANI, 2005).

O Efavirenz (EFZ) é 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 em tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

A comercialização de medicamentos a base de EFZ para o combate à AIDS, foi possível por meio da medida assinada em maio de 2007 pelo presidente Luiz Inácio Lula da Silva, determinando o licenciamento compulsório do produto, segundo a Lei federal nº 9.313, de 13 de novembro de 1996 (BRASIL, 2010).

Devido a sua baixa solubilidade aquosa, o EFZ é classificado como de classe II (baixa solubilidade, alta permeabilidade), segundo o sistema de classificação biofarmacêutica (SBC), apresentando problemas de absorção no trato gastrointestinal e conseqüentemente biodisponibilidade inadequada para sua ação terapêutica (SATHIGARI et al., 2009).

Novas técnicas para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, com fármacos de baixa solubilidade, devem ser aplicadas independente de sua estrutura química e dimensão molecular espacial (RATHBONE, HADGRAFT & ROBERTS, 2003).

Este desafio tecnológico pode ser vencido com a utilização de novas técnicas como a formação de complexos de inclusão (CI) com ciclodextrinas, assim como a formação de sistemas multicomponentes de ciclodextrina com polímeros hidrofílicos.

As ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos contendo seis (α -ciclodextrinas), sete (β -ciclodextrinas) ou oito (γ -ciclodextrinas) unidades de α -1,4-glucopirranose, que contém uma superfície externa hidrofílica e uma cavidade central hidrofóbica, a qual pode acomodar uma variedade de fármacos lipofílicos (VEIGA, TEIXEIRA-DIAS & KEDZIEREWICZ, 1995). No sistema multicomponente, os polímeros interagem com as CDs e com o complexo fármaco-CD, quer por estabelecimento de interações com a superfície externa da molécula de CD, quer por formação de CI. As interações estabelecidas são do tipo de Van der Waals e ligações de hidrogênio (RIBEIRO et al., 2005).

A utilização dessas tecnologias permite o aumento da dissolução do fármaco a nível gastrointestinal e conseqüente aumento da sua biodisponibilidade. Isso viabiliza o desenvolvimento de formas farmacêuticas tanto sólidas, que têm menor custo e alta produtividade industrial, como líquidas, que apresentam vantagens para classes especiais de pacientes em tratamento, como crianças e idosos.

O caráter inovador desse trabalho baseia-se em técnicas e metodologias para obtenção de complexo de inclusão utilizando ciclodextrina e sistemas multicomponentes CDs-Polímeros, que trouxe vantagens relacionadas à otimização da eficácia terapêutica, com uma alta taxa de dissolução, além de possibilitar posteriormente a associação do EFZ a outros fármacos da terapia anti-HIV.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL

Obter e caracterizar complexos de inclusão e sistemas multicomponentes utilizando Efavirenz e diferentes tipos de polímeros e ciclodextrinas, com a finalidade de aumentar sua solubilidade.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o insumo farmacêutico ativo (EFZ) por calorimetria diferencial exploratória (DSC), termogravimetria (DTG), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de Raios-X (DRX) e infravermelho por transformada de Fourier (IV-TF) e perfil de dissolução;
- Obter complexo de inclusão utilizando ciclodextrinas naturais e modificadas contendo o efavirenz;
- Determinar a solubilidade do efavirenz em complexo de inclusão, pela técnica de diagrama de solubilidade;
- Obter sistemas multicomponentes utilizando os melhores resultados da complexação e em diferentes polímeros hidrofílicos;
- Determinar a solubilidade do efavirenz em sistemas multicomponentes através do diagrama de solubilidade com ciclodextrinas e polímeros hidrofílicos;
- Obter sistemas multicomponentes utilizando os processos de mistura física e malaxagem, utilizando ciclodextrinas e polímero hidrofílico selecionados no diagrama de solubilidade;
- Caracterizar o sistema multicomponente obtido, através do perfil de dissolução, calorimetria diferencial exploratória (DSC), termogravimetria (TG), microscopia eletrônica de varredura (MEV), difração de raios-X (DRX) e infravermelho por transformada de fourrier (IV-TF).

Revisão Bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Human immuno deficiency virus: histórico da doença

Os primeiros casos de AIDS foram reconhecidos devido à aglomeração de casos de um tipo determinado e raro câncer de pele, o Sarcoma de Kaposi (SK) e uma pneumonia extremamente rara e grave pelo *Pneumocystis carinii* (PPC) em pacientes homossexuais masculinos, procedentes de grandes cidades norte-americanas (Nova York, Los Angeles e São Francisco). Embora já reconhecidas anteriormente, essas doenças apresentam características próprias (a pneumocistose, por exemplo, ocorria em pacientes com câncer em estágios avançados, já o SK era bem conhecido em indivíduos idosos, procedentes da bacia do mediterrâneo) (PINEL, INGLES, 1996; CASEIRO, 2001). Como muitos dos pacientes, inicialmente, diagnosticados eram homossexuais houve a suspeita de que a doença estivesse de alguma forma ligada a este estilo de vida. Logo se percebeu, entretanto, que havia casos entre heterossexuais e crianças recém nascidas. Ainda assim, certas características epidemiológicas permaneciam sugerindo uma etiologia infecciosa, transmitida por via sexual, vertical e parenteral. Muitos estudos foram iniciados na tentativa de identificar-se o agente etiológico da AIDS, possivelmente um vírus, já que parecia pouco provável que outro tipo de microorganismo pudesse causar uma doença com essas características sem ser identificado. O Citomegalovírus (CMV), o vírus Epstein-Barr (EBV) e o vírus da hepatite B encabeçaram a lista dos suspeitos. Todavia, esses já eram vírus conhecidos, e a doença sob investigação era nova, o que indicava que um vírus até então desconhecido fosse o agente etiológico da doença (PINEL, INGLES, 1996).

Segundo Pinel & Ingles 1996, dois grupos de cientistas reclamaram para si a descoberta de um retrovírus que seria o agente etiológico da AIDS. O primeiro grupo do Instituto Pasteur de Paris, chefiado pelo Dr. Luc Montagnier; e o segundo nos Estados Unidos, chefiado pelo Dr. Robert Gallo. Inicialmente, o agente etiológico da AIDS foi denominado HTLV - 3, pelos americanos, e os franceses preferiam chamá-lo LAV de vírus associado à Linfadenopatia, e posteriormente se chegou a um consenso de denominá-lo HIV, vírus da imunodeficiência humana.

3.1.1. AIDS: conceito, agente etiológico, epidemiologia e mecanismo de ação

O Vírus da Imunodeficiência Humana, conhecido como HIV, esta sigla é proveniente do inglês: *Human Immunodeficiency Virus*, é um vírus cujo material genético é o RNA (ácido ribonucleico), portanto pertencente à classe dos retrovírus e causador da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS).

A AIDS, também proveniente do inglês: *Acquired Immune Deficiency syndrome* que em português quer dizer a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), foi inicialmente reconhecida, pois inúmeras doenças oportunistas se manifestaram devido à deficiência do sistema imunitário (ROSEMBERG & FAUCI, 1992; GALLO & MONTAGNEIR, 1988).

Desde sua descoberta, a epidemia da infecção pelo HIV representa 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 (BRITTO, NASCIMENTO-JÚNIOR & SANTOS, 2004)

O impacto do surgimento desta epidemia, no início da década de 80, foi tal que alguns autores a incluem na categoria daquelas caracterizadas como "pestes", demandando amplas e imediatas respostas do Estado, com uma intensa capacidade para a geração de representações entre os grupos sociais (OLIVEIRA, et al., 2006). As consequências clínicas da infecção por esse vírus devem-se a sua capacidade em desarmar o sistema imune do hospedeiro. (GOLDMAN & BENNET, 2001).

Por isso, a compreensão do ciclo viral (Figura 1) é muito importante, pois a interferência em qualquer um dos seus passos pode impedir a multiplicação e/ou liberação de novos vírus. Em decorrência da fisiopatogenicidade do vírus HIV que permanecem em constante multiplicação e apresenta grandes mutações, são sempre necessárias novas drogas o que constitui motivos de estudos em busca de novos fármacos e medicamentos (LIMA, et al., 1996).

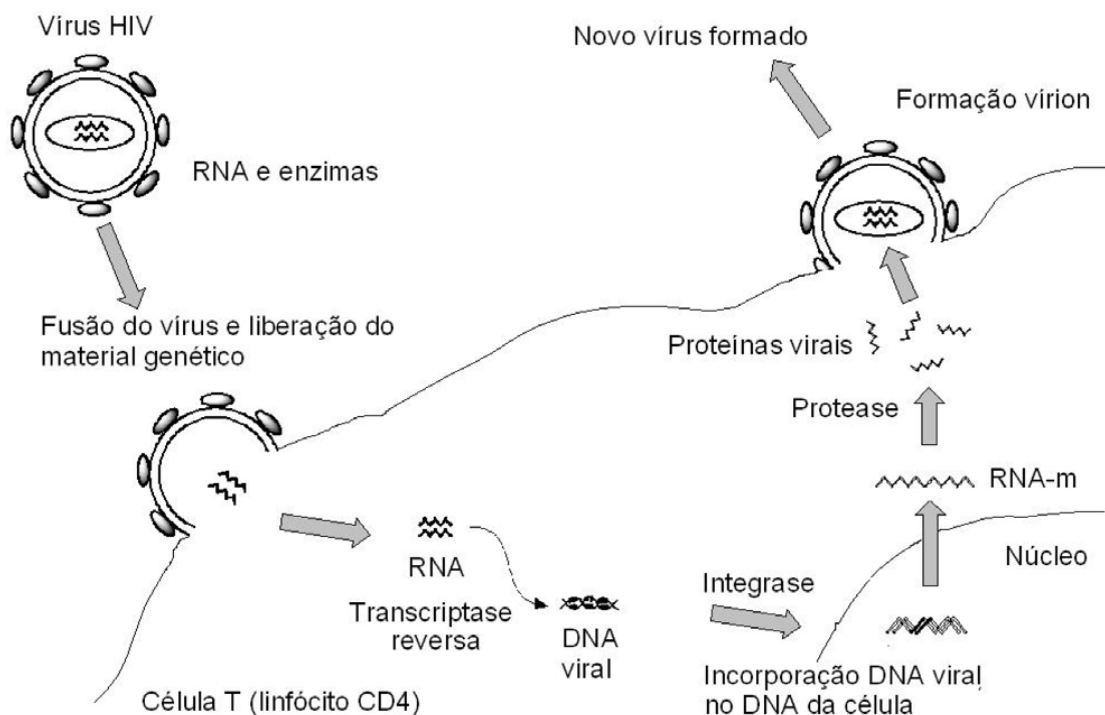


Figura 1. Ciclo do vírus da imunodeficiência humana (HIV)

O alvo principal do vírus HIV durante a infecção é o linfócito T CD4+ (PEÇANHA, ANTUNES & TANURI, 2002). Segundo a contagem sanguínea dos linfócitos T CD4+ a doença é classificada em três estágios: inicial, com a contagem das células CD4+ $< 500 \text{ cel/mm}^3$, intermediário com contagem de CD4+ esta entre 200 e 500 cel/mm^3 , e final, com uma contagem de células CD4+ $< 200 \text{ cel/mm}^3$ (CUPPARI, 2005).

Ao linfócito T CD4+, o HIV se funde a membrana celular e o seu conteúdo é liberado no citoplasma celular. A enzima transcriptase reversa do HIV catalisa a produção de uma cópia de DNA a partir do RNA do vírus. A cópia de DNA dupla hélice é então transportada ao núcleo celular, onde a enzima integrase catalisa a incorporação do DNA viral ao material genético do hospedeiro. Ocorre então a transcrição do RNA a partir do DNA do HIV e tradução das proteínas virais. Essas proteínas virais recém-formadas são produzidas na forma de precursores de poliproteínas. As poliproteínas e o RNA viral movem-se para a superfície da célula onde ficam incorporadas aos novos vírus que brotam na membrana celular, levando parte da mesma com eles para formar a camada externa viral. Os vírus recém-formados não seriam infectantes se não fosse à ação das enzimas proteases do HIV, que processam as poliproteínas virais em proteínas e enzimas funcionais (ALMEIDA & SOUZA, 2003).

Devido à depressão dos linfócitos que expressam, superficialmente, o antígeno CD4⁺ que em conjunto com alterações qualitativas e quantitativas do sistema imune leva à susceptibilidade do organismo às infecções oportunistas (GOLDMAN & BENNET, 2001).

Considerando que há de 30 a 36 milhões de pessoas vivendo com HIV e que 2,7 milhões dessas novas infecções foi no ano de 2007, e destacando que 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. Considerando ainda que nesse mesmo ano, cerca de 2 milhões (1,9 milhões - 2,3 milhões) de pessoas que estão vivendo com HIV foram crianças menores de 15 anos de idade, a maioria das quais adquiriu essa infecção de suas mães durante a gravidez, nascimento ou a amamentação. É relevante enfatizar que a epidemia do HIV continua a ser um dos principais desafios para a saúde global (WHO, UNAIDS e UNICEF, 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 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 (AIDS, 2009).

3.1.2. Tratamento e esquema de tratamento

Na observação dos avanços alcançados no conhecimento da infecção pelo HIV, destaca-se a evolução ocorrida no tratamento antirretroviral. Este tratamento, cuja história teve início no uso de monoterapia com zidovudina (AZT), de 1994 a 1996, consolidou-se com a terapia dupla como padrão terapêutico e, a partir de 1996, com a terapia tríplice, de introdução dos inibidores da protease. Os novos regimes terapêuticos têm demonstrado a capacidade de diminuir ou mesmo de tornar indetectável a carga viral do HIV e reduzir a morbidade e mortalidade relacionada à AIDS. Entre os dias 7 a 12 de julho de 1996, na cidade de Vancouver, Canadá, ocorreu a XI Conferência Internacional de AIDS, que foi apresentada a *Highly active antiretroviral therapy* (HAART), conhecida como *Terapia antirretroviral de alta potência*, a qual combina pelo menos três fármacos, sendo dois

inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRN) associados a um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (ITRNN) ou um inibidor de protease (IP), tornou-se possível diminuir a carga viral plasmática e elevar a contagem de células CD4⁺ em pessoas com AIDS, que veio proporcionar grande aumento na sobrevida aos pacientes soropositivos (BONOLO, GOMES & GUIMARÃES, 2007; BARSOTTI et al., 2007; GUIMARÃES *et al.*, 2007; LAURENT *et al.*, 2005). Essas recomendações são re-vistas e atualizadas à medida que novos medicamentos são registrados no país ou que novas evidências demonstrem necessidade de mudanças nas estratégias de terapia antirretroviral.

Diante da necessidade de viabilizar o tratamento antirretroviral, a Lei Federal nº 9.313, de 13 de novembro de 1996, uma conquista da sociedade brasileira organizada, garantiu o acesso universal e gratuito ao tratamento antirretroviral no Brasil, sendo um dos primeiros países em desenvolvimento a disponibilizar os antirretrovirais. Ao longo do tempo, foi também estruturado, no país, o acesso da população aos exames de monitoramento laboratorial da infecção pelo HIV, bem como aos insumos e ações de prevenção. Tais conquistas são construídas, no Brasil, em sintonia com princípios e diretrizes que regem o Sistema Único de Saúde (SUS): equidade, integralidade e participação social. Essas dimensões se desdobram em distintos campos de ação na experiência brasileira de luta contra a epidemia, construindo inclusão, combate ao estigma e respeito a todos (BRASIL, 2010).

Atualmente, cerca de 197 mil (aproximadamente 200 mil) pacientes estão em tratamento com os 19 antirretrovirais distribuídos pelo Sistema Único de Saúde. Como resultado desse acesso, observa-se, no país, redução significativa da mortalidade e do número de internações e infecções por doenças oportunistas, que são as que ocorrem como consequência do enfraquecimento do sistema imunológico, provocado pelo HIV (BRASIL, 2010).

Dentre os fármacos de primeira escolha, está o efavirenz (EFZ), cujo nome químico [(S)-6-Cloro-4-(ciclopropiletinil) -4-(trifluormetil) -2,4-Dihidro - 1H-3, 1-benzoxazin-2-ona] é um inibidor da transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo aprovado para o tratamento do vírus da imunodeficiência humana tipo 1 infecção. O governo brasileiro distribui comprimidos de efavirenz 600 mg, gratuitamente, através do Programa DST-AIDS, que faz terapia de 75 mil das 200 mil pessoas infectadas e chegou a representar o custo de US\$ 42.930.000 no ano de 2007 (RIBEIRO et al, 2005; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2008).

Após o licenciamento compulsório que se baseou na Lei Federal no 9.313, de 13 de novembro de 1996, 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; BRASIL, 2010).

3.2. Insumo farmacêutico ativo: efavirenz

O conhecimento das propriedades físico-químicas e físicas dos fármacos é indispensável durante o desenvolvimento de uma forma farmacêutica, devendo a caracterização do princípio ativo ser o primeiro passo no delineamento do medicamento, sendo este anterior ao planejamento da forma farmacêutica, de modo que as informações obtidas por meio desta prática possibilitem uma abordagem racional ao desenvolvimento da mesma. Fatores como presença de diferentes formas cristalinas; pureza e perfil de impurezas; granulometria e morfologia dos cristais; propriedades de fluxo, atrito e deformação, entre outros aspectos da matéria prima utilizada, quando apresentarem grandes alterações e variações, acarretam em falhas produtivas, reprocessos, desvios de qualidade do produto final e, no pior caso, perda do lote produtivo (RODRIGUES, et al., 2005; MAMEDE, et al., 2006; SOARES-SOBRINHO, et al., 2010).

A caracterização físico-química e física do fármaco pode ser realizada através de diversas técnicas analíticas, que em geral, são especificadas na monografia de cada fármaco disponível em farmacopéia. No caso de ausência de monografia publicada em farmacopéia, pode-se adotar outras técnicas de caracterização. Dentre elas podemos citar a análise térmica; determinações de tamanho, forma, porosidade e área superficial das partículas; propriedades de fluxo, atrito e deformação, técnicas espectrométricas como ultravioleta e infravermelho por transformada de Fourier; difração de raios-X; avaliação do perfil de dissolução, higroscopicidade, dentre outros (NERY, et al., 2008).

O conhecimento destas características é ainda mais relevante quando se trata de fármacos que apresentam polimorfismo e baixa solubilidade aquosa, como é o caso do antirretroviral efavirenz (EFZ), classificado como de classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica da *Food and drug administration* (FDA), que se apresenta como um pó cristalino de característica lipofílica (coeficiente de partição de 5,4 octanol/água), com massa molecular de 315,68 (SATHIGARI, et al., 2009).

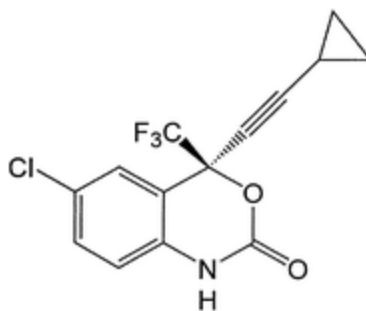


Figura 2. Estrutura química do efavirenz

Na literatura são relatados cinco polimorfos, sendo a forma polimórfica I utilizada para a produção dos medicamentos atualmente disponibilizados. Essa é a forma cristalina mais termodinamicamente estável, e, portanto, apresenta reduzida solubilidade aquosa (RADESCA, et al., 2004). Adicionalmente, também apresenta baixa densidade e alta estaticidade, caracterizada por meio da aderência em superfícies (VIANA, et al., 2008). Essas características proporcionam algumas barreiras no desenvolvimento e na produção de medicamentos, assim como na sua eficácia clínica, devido a sua baixa taxa de dissolução, acarretando uma biodisponibilidade oral limitada (cerca de 40 %). Esta, por sua vez, proporciona flutuações na concentração plasmática e consequentemente aumento da resistência viral e surgimento de efeitos adversos que levam a falha terapêutica (ALMOND, et al., 2005).

3.2.1. Perfil de dissolução

A absorção de fármacos, a partir de formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral, depende de sua liberação e dissolução nas condições fisiológicas e permeabilidade das membranas biológicas que necessitam transpor. Com base nestas considerações, pode-se afirmar que a dissolução *in vitro* é uma etapa relevante para prever o desempenho *in vivo* do medicamento (AGUIAR et al, 2005).

Os dados de dissolução podem ser apresentados e tratados utilizando vários métodos de análise: perfis de dissolução, tempos de dissolução, fração de fármaco dissolvido num intervalo de tempo e eficiência de dissolução (RAMA *et al.*, 2006).

O perfil de dissolução relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo e representa uma técnica relativamente rápida e barata para avaliar formas farmacêuticas sólidas antes do teste clínico. Permite, também, a obtenção de parâmetros

cinéticos, que são importantes para determinar a velocidade e eficiência do processo, além do tempo necessário para que determinadas porcentagens do fármaco se dissolvam, possibilitando, desta forma, conclusões a respeito das características biofarmacotécnicas *in vitro* de determinada formulação (AGUIAR et al, 2005).

3.2.2. Análises termooanalíticas

Os métodos térmicos são amplamente utilizados na caracterização das ciclodextrinas e dos seus complexos, principalmente pela rapidez das análises (SOARES-SOBRINHO, 2009).

Entre os métodos termooanalíticos usados na caracterização de sistemas multicomponentes com polímeros e CDs, o DSC é amplamente utilizado para a caracterização de complexos supramoleculares, como complexos de inclusão entre fármacos e ciclodextrinas. A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica na qual é medida a diferença de energia dentro e fora de uma amostra e da referência em uma atmosfera controlada e sob um gradiente de temperatura. No início da utilização da técnica de DSC, o método mais utilizado era a calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência. Atualmente, a calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor é a mais utilizada (GREBOGI, 2009).

Análises de termogravimetria (TG) é uma técnica na qual relaciona a massa de uma substância em que é medida em função da temperatura (aquecimento ou resfriamento), enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de temperatura. E a termogravimetria derivada (DTG) é a técnica que fornece a derivada da primeira curva do TG, em função do tempo ou da temperatura. A análise térmica diferencial (DTA) fornece picos característicos com cada decomposição, os quais ocorrem em temperaturas iguais as das curvas do TG e DTG (SALIM, 2005).

3.2.3. Difração de raios-X

Na área farmacêutica, a difração em raios X tem especial utilidade na identificação de polimorfismo em fármacos. Na detecção da complexação de fármacos com ciclodextrinas é também uma técnica bastante simples e útil, baseando-se no princípio de

que o fenômeno está frequentemente associado ao aumento do grau de amorfização das substâncias envolvidas na formação do complexo em estado sólido. Se houver uma distinção clara entre o padrão de difração do complexo em relação à sobreposição dos padrões de difração do fármaco puro e da ciclodextrina, evidencia-se a formação de um complexo de inclusão real (RIBEIRO *et al.*, 2003).

Segundo VEIGA e colaboradores a difração de raios X (DRX) é uma das melhores técnicas para a caracterização de complexo de inclusão (VEIGA; PECORELLI; RIBEIRO, 2006).

Dentre as vantagens da técnica de difração de raios X para a caracterização de fases, destacam-se a simplicidade e rapidez do método, a confiabilidade dos resultados obtidos (pois o perfil de difração obtido é característico para cada fase cristalina), a possibilidade de análise de materiais compostos por uma mistura de fases e uma análise quantitativa destas fases (SOARES-SOBRINHO, 2009).

3.2.4. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

A espectroscopia de FIRT é uma técnica qualitativa amplamente utilizada na identificação de grupos funcionais (hidróxidos, grupos carboxílicos, carboxilatos, polissacarídeos, alifáticos, aminas, entre outros).

Entre todas as técnicas, os métodos espectroscópicos oferecem algumas vantagens importantes na análise dos complexos, por ser não-destrutiva, permitir informações químicas, ser rápido e utilizar pequenas quantidades de material (microgramas) (CANNAVA *et al.*, 2009).

A formação dos complexos de inclusão na fase sólida pode ser avaliada pela comparação de espectros de infravermelho do fármaco puro e dos complexos sólidos obtidos por diferentes métodos de preparação. Para isso, são verificadas interações a nível molecular, detectando as mudanças significativas na forma e na posição das faixas de absorbância, através do espectro vibracional dos diferentes grupos funcionais das moléculas de fármacos complexados e livres (SOARES-SOBRINHO, 2009).

3.2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) é muito utilizado para a análise microestrutural de materiais sólidos, fornecendo um resultado com uma imagem de fácil interpretação. O aumento máximo conseguido pelo MEV fica entre o microscópio ótico (MO) e o Microscópio Eletrônico de Transmissão (MET). A grande vantagem do MEV em relação ao microscópio ótico é sua alta resolução, e em relação ao MET é a facilidade do preparo das amostras (GREBOGI, 2009).

O MEV é utilizado para definir qualitativamente a formação dos complexos de inclusão e complexos multicomponentes. A análise é feita através da comparação morfológica do fármaco, da CDs, do polímero e do complexo formado. Assim diferenciando as amostras e comprovando a formação do complexo (FIGUEIRAS et al., 2007).

3.3. Complexo de inclusão com ciclodextrina

O incremento da solubilidade, da taxa de dissolução e da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, constitui um dos aspectos mais desafiantes no desenvolvimento moderno de fármacos e de novas formas farmacêuticas. Embora a formação de sal, solubilização e redução do tamanho de partícula sejam utilizados geralmente para aumentar a taxa de dissolução e absorção oral e biodisponibilidade de alguns fármacos, há algumas limitações práticas destas técnicas (RATHBONE; HADGRAFT; ROBERTS, 2003; KARAVAS *et al.*, 2007).

Várias técnicas têm sido usadas para melhorar a solubilidade/taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis em água, dentre estas, as mais utilizadas incluem a formulação com formas amorfas sólidas, nanopartículas, microemulsões, extrusão por fusão, formação de sal, formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas e sistema multicomponente são as mais utilizadas. Por estas técnicas tenta-se aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir a otimização de seu potencial (LOFTSSON; HREINSDÓTTIR; MÁSSON, 2005).

Devido às promessas de incremento da solubilidade e conseqüentemente da biodisponibilidade dessas entidades químicas pouco solúveis, o emprego de complexo de

inclusão e sistema multicomponente tornou-se uma das mais ativas áreas de pesquisas no campo farmacêutico.

A formação de complexos de inclusões utilizando ciclodextrinas naturais e modificadas podem aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos, aumentar a dissolução, diminuir a toxicidade e sem diminuir a otimização de seu potencial (LOFTSSON, HREINSDÓTTIR, MÁSSON, 2005; GRILLO; MELO; FRACETO, 2008).

Ciclodextrinas (CDs) são oligossacarídeos cíclicos formados por moléculas de D-glicose unidas através de ligações glicosídicas $\alpha(1-4)$, obtidas a partir da degradação enzimática do amido. As que são obtidas com maior rendimento são comumente conhecidas como CDs naturais e contém seis, sete ou oito unidades de glicose, sendo denominadas de α -ciclodextrinas (α -CD), β -ciclodextrinas (β -CD) e γ -ciclodextrinas (γ -CD), respectivamente (Figura 3).

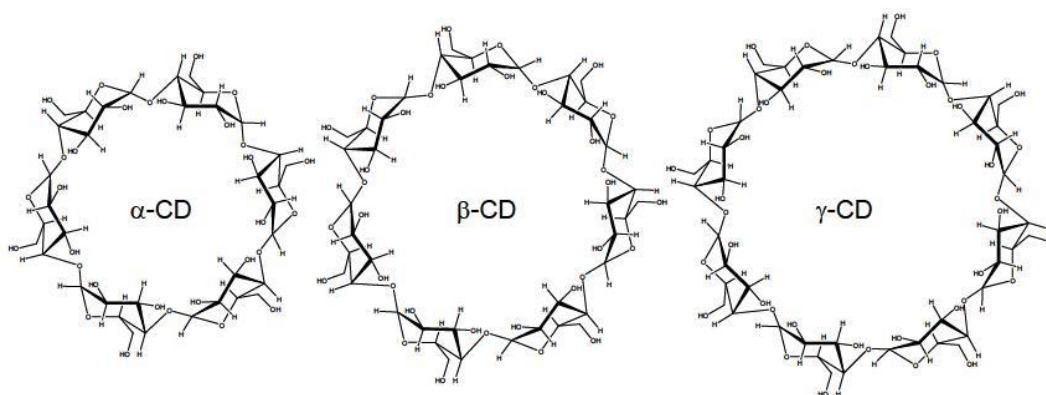


Figura 3. Ciclodextrinas naturais (BUDAL, 2003).

Essas substâncias podem ser consideradas cápsulas cilíndricas vazias de tamanho molecular, aberta em ambos as extremidades. Esse arranjo estrutural das moléculas de glicose nas CDs possibilita a utilização desses compostos como hospedeiros na formação de complexos de inclusão. A presença de uma cavidade hidrofóbica e de grupos hidroxilas livres na parte externa da molécula permite a “dissolução” em meio aquoso de compostos (hóspedes) de baixa solubilidade. Esse aspecto molecular tem possibilitado a utilização de CDs em diferentes áreas da ciência e tecnologia, sendo o principal domínio de aplicação a indústria farmacêutica, possibilitando a obtenção de novos medicamentos com propriedades físicas e químicas diferentes, porém mesmo princípio ativo (BRITTO, NASCIMENTO-JUNIOR & SANTOS, 2004).

Embora as ciclodextrinas naturais (α CD, β CD, γ CD) sejam muito utilizadas na investigação e desenvolvimento de formulações farmacêuticas, elas apresentam algumas propriedades menos adequadas enquanto veículos de fármacos. A derivação das ciclodextrinas naturais oferece eficiências de complexação, geralmente superiores, devido ao prolongamento do espaço hidrofóbico da cavidade das CDs, promovida pela introdução dos substituintes. As CDs quimicamente modificadas além de melhorarem a possibilidade de aumentar a capacidade de inclusão dos seus derivados, possibilitam melhorar a solubilidade e toxicidade (VEIGA, PECORELLI, RIBEIRO, 2006).

Devido a sua cavidade hidrofóbica, na qual substratos podem ser “aprisionados” para formarem complexos de inclusão, as ciclodextrinas podem hospedar distintos compostos, cuja estequiometria mais usual é 1:1. A química do fenômeno de inclusão molecular demonstra um sistema de complexidade estrutural dentro da química supramolecular, onde a ciclodextrina é o hospedeiro (em inglês, “host”) e o substrato é o hóspede (em inglês, “guest”). (BUDAL, 2003).

Portanto, complexo de inclusão (CI) são entidades compostas por duas ou mais moléculas, nas quais uma das moléculas, hospedeira, inclui total ou parcialmente, sem estabelecimento de ligações covalentes, uma molécula hóspede. (Figura 4)

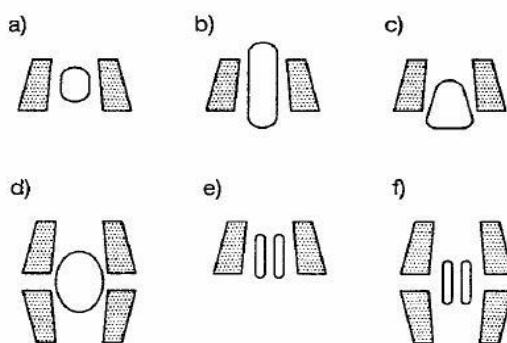


Figura 4. Principais tipos de complexo de inclusão (BUDAL, 2003).

A condição mínima requerida para a formação de complexos é a compatibilidade geométrica entre as moléculas hospede e hospedeira, ou seja, a molécula hospede tem que penetrar e ajusta se total ou parcialmente na cavidade apolar da CD, apesar de não somente fatores estereoquímicos serem parâmetros importantes. A polaridade dessas moléculas condicionam a inclusão na cavidade das CDs (VEIGA, PECORELLI, RIBEIRO, 2006).

Os efeitos das complexação sobre tais propriedades podem ser atribuídos a fatores como mudança no estado cristalino do fármaco, maior molhabilidade dos sólidos, e aumento da solubilidade aparente dos fármacos por isso está entre as técnicas mais vantajosas e eficientes quando se busca melhoria nas propriedades de dissolução e biodisponibilidade (VEIGA, PECORELLI, RIBEIRO, 2006; SPRICIGO *et al.*, 2008).

A principal força motriz que favorece a encapsulação molecular consiste na substituição das moléculas de água, que possuem elevada entalpia, por moléculas hóspedes adequadas. Trata-se de um processo energeticamente viável por promover uma alteração favorável de entalpia, aumento de entropia e redução da energia total do sistema, fatores que contribuem para o aumento da estabilidade do complexo formado. Interações eletrostáticas de Van der Waals, interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio, também contribuem para formação e estabilização dos CI (GÓRNAS *et al.*, 2009).

Atualmente, há um número de medicamento que possuem a técnica de complexo de inclusão utilizando diferentes tipos de ciclodextrina para melhorar a solubilidade sem diminuir a otimização de seu potencial.

Além da melhora da solubilidade de fármacos pouco solúveis, aumento da velocidade de dissolução e biodisponibilidade, redução dos efeitos secundários, as ciclodextrinas também são aplicáveis em compostos líquidos transformando-os em formas cristalinas sólidas para eliminar incompatibilidades entre o princípio ativo e os outros constituintes da formulação, para dar estabilidade química e/ou física, eliminar maus odores e sabores e reduzir a volatilidade de certos princípios ativos (Tabela 1) (BUDAL, 2003).

Tabela 1. Alguns produtos farmacêuticos comercializados contendo ciclodextrinas (BREWSTER; LOFTSSON, 2007)

Drogas / ciclodextrina	Nome comercial	Formulação	País
<i>β-Ciclodextrina</i>			
Benexate HCl	Ulgut, Lonmiel	Cápsula	Teikoku (Japão); Shionogi (Japão)
Cefalosporina	Meiact	Comprimidos	Meiji Seika (Japão)
Cetirzine	Cetizin	Mascar pastilha	Losan Pharma (Alemanha)
Clordiazepóxido	Transillium	Comprimidos	Gador (Argentina)
Dexametasona	Glymesason	Pomada, comprimido	Fujinaga (Japão)
Dextrometorfano	Rynathisol		Synthelabo (Europa)
Dimetil Dramin e cloro teofilina	Stada-Travel	Mascar pastilha	Stada (Europa)
Iodo	Mena-Gargle	Solução	Kyushin (Japão)
Meloxicam	Mobitil	Comprimidos e supositório	Sindicato Médico Farmacêutica (Egipto)
Nicotina	Nicorette	Comprimidos sublinguais	Pfizer (Europa)
Nimesulida	Nimedex	Comprimidos	Novartis (Europa)
Nitroglicerina	Nitropen	Comprimido sublingual	Kayaku Nihon (Japão)
Omeprazol	Omebeta	Comprimidos	Betafarm (Europa)
PGE ₂	E Prostarmon	Comprimido sublingual	Ono (Japão)
Piroxicam	Brexin, Flogene, Cicladon	Comprimido, supositório	Chiesi (Europa); Aché (Brasil)
<i>2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (HPβCD)</i>			
Alfaxalona			
Cisaprida	Propulsid	Supositório	Janssen (Europa)
Hidrocortisona	Dexocort	Solução	Actavis (Europa)
Indometacina	Indocid	Solução	Chauvin (Europa)
Itraconazol	Sporanox	Oral e Intravenosa	Janssen (Europa, E.U.A.)
Mitomicina	MitoExtra, Mitozytrex	Intravenosa	Novartis (Europa)
<i>Aleatoriamente β-ciclodextrina metilada (RMβCD)</i>			
17β-Estradiol	Aerodiol	Spray Nasal	Servier (Europa)
Cloranfenicol	Clorocil	Solução	Oftalder (Europa)
Insulina		Spray Nasal	Espanha

3.3.1. Métodos de obtenção de complexos de inclusão

Para a grande maioria dos substratos, as técnicas de complexação utilizadas são procedimentos simples e a escolha do método experimental, depende fundamentalmente

das características do substrato que se está trabalhando e, se é preparado em escala laboratorial ou industrial.

Na bibliografia são descritos diversos métodos de preparação dos complexos de inclusão, entre os que se pode destacar: complexos em solução, complexos em suspensão, complexo por malaxagem, complexos por maceração, coprecipitação, liofilização.

3.3.2. Estratégias para aumentar a eficiência de complexação das ciclodextrinas

Os avanços no campo farmacêutico resultantes da utilização de CDs para formulação de fármacos insolúveis nem sempre são suficientes, sendo necessário o contínuo esforço em tentar melhorar as formulações fármaco-CD. Nos casos em que é utilizada a ciclodextrina natural, β -CD, o aumento de solubilidade atingido pelos fármacos é modesto, comparativamente à utilização das ciclodextrinas modificadas devido a seus preços bastante elevado, nem sempre permitindo que seja atingido um valor de solubilidade suficiente ou que seja formulado um comprimido de tamanho adequado à fácil deglutição (ASBAHR, 2008).

Além da limitada solubilidade das ciclodextrinas naturais, a eficiência de complexação das CDs, em geral, é normalmente baixa e, por conseguinte, são necessárias elevadas quantidades de CDs para se atingir o desejado efeito complexante, solubilizante e estabilizante sobre os fármacos (LOFTSSON & FRIKDRIKSDOTTIR, 1998).

Diante disso, diversas estratégias têm sido utilizadas com o fim de diminuir a quantidade destes agentes nas formulações, por razões relacionadas com a otimização da biodisponibilidade dos fármacos ou por razões de ordem tecnológicas, toxicológicas e econômicas. Por isso, deve-se considerar a menor quantidade possível de ciclodextrina para obtenção dos complexos. Assim, torna-se extremamente importante desenvolver estratégias que aumentem a eficiência de complexação das CDs. Vários métodos foram descritos por diferentes autores para melhorar a eficiência das complexações e assim reduzir a quantidade de ciclodextrina nos complexos.

3.3.3. Caracterização dos complexos de inclusão em solução

Uma das características mais importantes dos complexos de inclusão é o ajustamento espacial entre a molécula de fármaco e a cavidade interna da CD, e a estequiometria do complexo formado depende, entre outros parâmetros, do tamanho de ambas. Por outro lado, a orientação da molécula de fármaco dentro da cavidade da CD é um elemento fundamental na interação fármaco/CD, e determinam inclusivamente propriedades como solubilidade e estabilidade. É também com base na alteração das propriedades físico-químicas dos complexos relativamente às moléculas não complexadas, que as metodologias analíticas permitem a avaliação e caracterização da inclusão (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

As propriedades físico-químicas do fármaco e da CD são relativamente diferentes das que possuem quando estes compostos estão complexados. Partindo deste conceito, qualquer metodologia que tenha sensibilidade suficiente para medir estas diferenças pode ser utilizada para caracterizar estes complexos sob diferentes pontos de vista, possibilitando completar este complexo quebra-cabeça e permitindo direccionar os fenómenos de inclusão de acordo com as necessidades. (CUNHA-FILHO & SÁ-BARRETO, 2007)

A maioria dos estudos relacionados com o cálculo da constante de formação se baseia na determinação das mudanças que ocorrem na solubilidade do substrato quando na presença de diferentes concentrações de ciclodextrina. Mediante este procedimento, é possível determinar a formação do complexo de inclusão, tipo de complexo e calcular sua constante (BUDAL, 2003).

No entanto, não é garantido, que um pó obtido da mistura da ciclodextrina e algum substrato em solução, ou suspensão, ou como pasta, seja um verdadeiro complexo de inclusão. Muitos compostos não podem ser complexados, outros formam complexos de inclusão em solução, mas não no estado sólido. O produto sólido final pode ser uma mistura de hóspede e hospedeiro, hóspede não complexado e ciclodextrina hidratada. Portanto, vários métodos têm sido usados para detectar a formação de complexos de inclusão. A caracterização de complexos em solução se baseia na investigação da interação molecular entre a ciclodextrina e o hóspede, determinação da constante de estabilidade e estequiometria do complexo. Para tal, são utilizadas as determinações relacionadas com mudanças espectrais, como no caso da espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN), espectroscopia por ultravioleta (UV)-Visível (VIS) e a técnica de fluorescência,

além de estudos de solubilidade e métodos cinéticos (FRÖMMING & SZEJTLI, 1994; SZEJTLI, 1998)

3.3.4. Diagramas de solubilidade de fases

A constante de estabilidade dos complexos pode ser determinada por vários métodos que se baseiam na determinação de alterações que ocorrem durante o processo de complicação (OLIVEIRA, 2009). A teoria desenvolvida por Higuchi e Connors em 1965 constitui a aproximação mais utilizada na caracterização de complexos de inclusão em solução. Baseia-se na medição do efeito de complexação na solubilidade do substrato e permite fazer inferências sobre a estequiometria de inclusão e estimar uma constante relacionada com o grau de estabilidade do complexo formado (HIGUCHI & CONNORS, 1965).

A utilização desse estudo analisa os efeitos da adição do agente complexante sobre o composto a ser solubilizado. Essa abordagem permite obter a constante de estabilidade (K_c) e a estequiometria de formação do complexo, a partir da solubilidade intrínseca do substrato (S_o) e a inclinação da reta resultante do diagrama de solubilidade.

Para muito dos complexos formados, a variação das constantes de formação dos complexos (constante de estabilidade) varia entre 0 e 10^5 M^{-1} , demonstrando que mesmo com a formação de complexos estáveis, uma diluição de 1:100, diminui a porcentagem de complexação de 100% para 30%, o que possibilita a liberação do fármaco complexado nas membranas biológicas. Contudo, há os efeitos da diluição devem ser bem elucidados na utilização desses complexos em formas farmacêuticas, devido à possibilidade de precipitação do fármaco quando existe uma relação de não-linearidade da solubilidade entre fármaco-CDs (RAJEWSKI & STELLA, 1996; CHALLA et al., 2005).

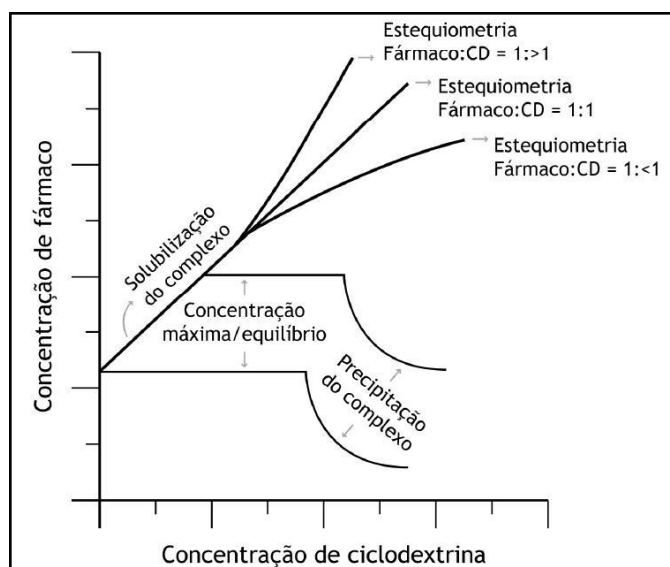


Figura 5. Diagrama de solubilidade das fases

Segundo esta teoria (Figura 5), classifica-se como perfis do tipo A, quando a solubilidade do substrato aumenta com o incremento da concentração de CD. Quando o complexo é de primeira ordem com respeito à CD e de primeira ou superior ordem com respeito ao substrato, um perfil tipo A_L é obtido. Se o complexo formado é de primeira ordem em relação ao fármaco, mas de segunda ou superior ordem em relação à CD, o perfil de solubilidade obtido possui um desvio positivo da linearidade, sendo classificado como diagramas do tipo A_p . Perfis do tipo A_N possuem interpretação mais complexa devido à multiplicidade de fenômenos que podem ocorrer. Perfis do tipo B são obtidos com a formação de complexos de baixa solubilidade aquosa, em alguns casos, inclusive inferior à da molécula hospedeira e que precipitam à medida que há encapsulação (CUNHA-FILHO & SÁ-BARRETO, 2007).

3.4. Sistema multicomponente com ciclodextrina e polímeros hidrofílicos

Em determinadas situações a eficiência de complexação com CDs é baixa, exigindo quantidades inviáveis para o uso de formas farmacêuticas sólidas e líquidas do agente complexante. Entretanto, é comum adicionar-se um excesso de CD nas preparações, para prevenir eventuais problemas, resultante da falta de estabilidade dos complexos, é importante utilizar a quantidade correta de CD, uma quantidade excessiva poderá resultar em uma biodisponibilidade não otimizada, além do entrave tecnológico (volume da

preparação) e financeiro (custo da preparação) (SOARES-SOBRINHO, 2009).

Diante deste fato, a tecnologia farmacêutica atual lança mão de novas estratégias de complexação que suplantam os sistemas binários dando lugar a formação de complexos ou sistemas multicomponentes, fármaco - ciclodextrina e um terceiro componente (GUEDES, 2008). O incremento na eficiência de complexação das ciclodextrinas pode ser aumentada por adição ao meio complexante de uma reduzida quantidade de polímero hidrossolúvel, resultando na formação de um complexo multicomponente fármaco-CD-polímero, também designado por co-complexo (fármaco-CD)-polímero. Este complexo, em geral, apresenta um notável aumento de solubilidade comparativamente ao correspondente complexo binário (LOFTSSON *et al.*, 1994).

O mecanismo pelo qual a eficiência de complexação das ciclodextrinas é aumentada na presença dos polímeros hidrossolúveis não está totalmente esclarecido. Contudo, existe um mecanismo proposto com base na analogia dos aumentos de solubilidade conferidos pelos polímeros nas soluções aquosas de tensoativos. Segundo este pressuposto, o mecanismo de complexação associado à formação dos complexos multicomponentes com polímeros deverá ser semelhante à formação dos complexos tensoativos-polímero (GREBOGI, 2009). O aumento da solubilidade se dá por sinergismo onde a CD é considerada como agente complexante e o polímero como agente co-complexante (LOFTSSON & FRIARINKSDOTTIR, 1998).

Em solução aquosa, os polímeros diminuem a mobilidade das ciclodextrinas e aumentam a solubilidade dos complexos formados. Contudo, tal como para os complexos tensoativo-polímero, a estrutura química dos complexos resultantes permanece desconhecida. Sabe-se que, em solução aquosa, os polímeros hidrossolúveis alteram a hidratação das moléculas de ciclodextrina, bem como sua estrutura tridimensional, atuando como co-complexante (GREBOGI, 2009).

Há descrito três categorias de polímeros utilizados para obtenção de sistemas ternários de complexação, são: os polímeros semi-sintéticos derivados da celulose, polissacarídeos naturais ou polipeptídios e os polímeros sintéticos tipo polivinilo ou co-polímero de ácido acrílico (LOFTSSON *et al.*, 1994).

Os polímeros hidrossolúveis são vastamente utilizados como excipientes em aplicações farmacêuticas, por exemplo, como agente emulsionantes e suspensores, agentes floclulantes, de revestimento e modeladores da velocidade de dissolução (RIBEIRO *et al.*, 2008).

Complexos quaternários são também descritos na literatura envolvendo o fármaco, a CD, o polímero e um quarto componente que pode ser hidroxí-ácidos ou íons magnésios (YAMAKAWA & NISHIMURA, 2003; RIBEIRO *et al.*, 2005).

3.4.1. Caracterização de multicomponentes no estado sólido

As caracterizações realizadas para os complexos de inclusão no estado sólido se aplicam para caracterizar sistemas multicomponentes, no que se diz a respeito de fármaco-CD-polímero, também designado por (fármaco-CD)-polímero.

Para os estudos que envolvem complexos multicomponentes em fase sólida, são utilizadas com mais frequência as técnicas de difração de raios-X, TG, DSC, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (IV-TF) e estudos de dissolução (CANNAVÁ *et al.*, 2008; LU *et al.*, 2009). Mas existem relatos de outras caracterizações que estão sendo recentemente utilizadas, mas ainda são pouco relatadas como a espectroscopia de Raman, eletroforese capilar, potenciometria, calorimetria de titulação isotérmica (ITC), dicroísmo circular, entre outros (VENTURINE *et al.*, 2008).

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. Insumo farmacêutico ativo (IFA)

Efavirenz (Cristália[®], lote: 1289/07), (S)-(-)-6-cloro-4-(ciclopropiletinil)-4-(trifluormetil)-2,4-dihidro-1H-3,1-benzoxazin-2-ona, doado pelo Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE), com pureza estimada, por meio da técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, de teor 98 %.

4.1.2. Reagentes, solventes e vidrarias

Álcool etílico absoluto (Dinâmica[®], lote 30065). As soluções foram preparadas utilizando água purificada obtida pelo sistema de osmose reversa (Gehaka[®]) e ultrapura (Milli-Q[®] System, Massachusetts, USA), membranas filtrantes de porosidade de 0,22 µm Millipore[®] e filtros de nylon com poros de 0,22 µm. Utilizou-se vidrarias volumétricas calibradas com certificado de calibração por lote do fabricante Satelit[®].

4.1.3. Insumos farmacêuticos

Alfa ciclodextrina (α -CD), beta ciclodextrina (β -CD) foram doadas pela APSEN Farmacêutica[®] (São Paulo). Hidroxipropil beta ciclodextrina (HP- β -CD) (com grau de substituição molar de 2,7) pela Janssen Pharmaceutica (Beerse, Belgica), metil-beta ciclodextrina (M- β -CD), metil-randomizada-beta ciclodextrina (RM- β -CD) (com grau de substituição molar de 0,57) foi doada pela indústria Roquette (Barcelona, Espanha), PVP K-30 (ISO do Brasil[®], lote 05500138511V06/08), PEG 4000 (Vetec[®], lote 0503226), Lauril Sulfato de Sódio (LSS) (Vetec[®], lote 0806072).

4.1.4. Equipamentos

Os equipamentos utilizados no estudo foram: Balança Analítica Bioprecisa[®], modelo FA2104N; Espectrofotômetro UV-Vis B582 Micronal[®]; Agitador magnético SBSR; Ultrassom modelo LS-3DA-Sonic Limp[®] (70 W potência); Banho Dubnoff, Nova Ética[®]; Dissolutor Varian[®] VK 7010.

Para a caracterização, foi utilizado difratômetro de raio-X SIEMENS modelo D-5000, equipado com ânodo de cobre; Calorímetro de Varredura Shimadzu[®] DSC-60 interligado ao software Shimadzu[®] TA-60 WS, Termobalança Shimadzu[®] modelo TGA Q50, Microscópio Jeol[®] JSM-5900.

4.2. MÉTODOS

4.2.1. PARTE I – CARACTERIZAÇÃO DO INSUMO FARMACÊUTICO ATIVO EFZ

4.2.1.1. Difração de Raios-X (DRX)

As amostras foram analisadas no intervalo de ângulo 2θ de 2-60 a uma velocidade de digitalização de $0,02^\circ 2\theta/s$. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de material do pó sem solvente.

4.2.1.2. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

As amostras analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR, sendo o resultado obtido da média de 4 varreduras. Os espectrogramas foram obtidas de 650 a 4000 cm^{-1} na resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.1.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Os termogramas foram obtidos com atmosfera de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura de 25–200 $^\circ\text{C}$. As amostras foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechados com 2 mg (± 0.2) de fármaco. As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

Para a verificação do comportamento térmico do fármaco sob condições de aquecimentos alternados por resfriamento da amostra, realizou-se um primeiro aquecimento na faixa de temperatura entre -40 a 150 $^\circ\text{C}$ na razão de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, seguido de resfriamento até -80 $^\circ\text{C}$ na razão de $20\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e posterior um aquecimento na faixa de -80 a 400 $^\circ\text{C}$ na razão de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando nitrogênio como gás de purga, com fluxo de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Nesta análise utilizou-se 8 mg (± 0.5) de EFZ.

4.2.1.4. Termogravimetria (TG)

A caracterização termoanalítica através de TG foi realizada em duplicata por meio de termobalança, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 4 mg (± 0.4) de EFZ, acondicionadas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 25 a 500 °C na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de alumínio e zinco.

4.2.1.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A avaliação da morfologia dos cristais de EFZ foi realizada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 15 min (Metalizador Baltec[®] SCD 050). As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 15 KV.

4.2.1.6. Ensaio de dissolução

As cinéticas de liberação do EFZ insumo farmacêutico ativo e cápsula de 200 mg do medicamento distribuído pelo Ministério da Saúde (Aurobindo[®], lote EE2009001) foram avaliadas através dos perfis de dissolução *in vitro*, utilizando as condições baseadas nas especificações do FDA, 2010 (*Food and Drug Administration*) 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 ± 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. Para esse estudo, foram pesadas quantidades equivalentes a 200 mg de EFZ em cápsulas gelatinosas duras n° 00. Em intervalos de tempo predefinidos (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 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. Os ensaios foram efetuados em triplicata e os perfis de dissolução foram avaliados.

4.2.2. PARTE II – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS

4.2.2.1. Diagrama de solubilidade com ciclodextrinas

O estudo de solubilidade de fases foi realizado de acordo com Higuchi e Connors (1965). Pesou-se quantidades de EFZ em excesso (aproximadamente 30 mg) em tubos de ensaios, de 20 mL, aos quais se adicionaram 10 mL de soluções de ciclodextrinas em concentrações crescentes: 1 mM – 15 mM para β -CD; e 1 mM – 20 mM para α -CD, M- β -CD, HP- β -CD e RM- β -CD (Tabela 2). As amostras foram agitadas em banho-maria termostático protegido da luz por 5 dias, à temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Este período de tempo foi estabelecido com base em estudos realizados por Sathigari e colaboradores (2009), cujos resultados indicaram que ao fim desse período, a solubilidade do EFZ se mantinha constante.

Após alcançado o equilíbrio, o conteúdo de cada frasco foi filtrado com filtro com porosidade de $0,28 \mu\text{m}$. As soluções filtradas foram quantificadas por espectrofotômetro a 247 nm, método desenvolvido e validado por Alves e colaboradores (2010). Os experimentos foram realizados em triplicata e hermeticamente fechados.

Tabela 2: Considerações sobre o fármaco, ciclodextrinas e condições de estudo.

Componentes	Peso molecular	Solubilidade em água	Concentrações (mM)
Efavirenz	315,67 g/mol	0,009 mg/mL	Excesso
β CD	1135 g/mol	18,5 mg/mL	1, 3, 5, 10, 12, 15
α CD	972 g/mol	145 mg/ mL	1, 3, 5, 10, 12, 15, 20
HP β CD	1390 g/mol	> 500 mg/mL	1, 3, 5, 10, 12, 15, 20
M β CD	1191 g/mol	> 2000 mg/mL	1, 3, 5, 10, 12, 15, 20
RM β CD	1312 g/mol	>500 mg/mL	1, 3, 5, 10, 12, 15, 20

4.2.3. PARTE III – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS E DOS POLÍMEROS HIDROFÍLICOS

4.2.3.1. Diagrama de solubilidade com o sistema multicomponente

O estudo de solubilidade efetuado nessa etapa revela à importância do conhecimento do comportamento da molécula hóspede (EFZ), das CDs e dos polímeros hidrossolúveis. Todos os experimentos foram realizados em triplicata em tubos hermeticamente fechados. Os estudos foram realizados de acordo com o método de Higuchi e Connors (HIGUCHI e CONNORS, 1965).

4.2.3.1.1. Efeito dos polímeros, em concentração fixa de ciclodextrina

Os estudos de solubilidade foram realizados, inicialmente, usando os melhores polímeros hidrofílicos selecionados a partir de estudos de solubilidade realizados por Alves (2010). Primeiramente, os estudos foram realizados com a β CD e a HP β CD em concentrações fixas de 10 mM, nas quais foram adicionadas concentrações crescentes de PEG 4000 e PVP K30 (0,05%; 0,1%; 0,3%; 0,5%; 0,7% e 1%).

Posteriormente o mesmo estudo, foi realizado utilizando a M β CD em uma concentração fixa de 10 mM, na qual foram adicionadas as mesmas concentrações crescentes isoladamente do PVP K30. Os estudos realizados a semelhança dos estudos efetuados por Loftsson e colaboradores (LOFTSSON *et al.*, 1994).

Quantidades em excesso de EFZ foram colocadas em tubos de vidro, com 10 mL das soluções de β CD e de HP β CD, nas concentrações crescentes do polímero PVP-K30 e PEG 4000. Para a M β CD, foi avaliado somente o polímero PVP K30, que foi também adicionado à 10 mL de solução, nas mesmas concentrações. As ampolas foram hermeticamente fechadas e colocadas no banho ultrassônico durante 1h a aproximadamente 60°C, ao que se seguiu um período em banho com agitação mecânica, com temperatura de 25°C por aproximadamente 5 dias. Terminado o período as amostras foram filtradas por meio de membranas filtrantes de porosidade de 0,22 μ m Millipore® e

doseadas por espectrofotometria ($\lambda=247$), metodologia desenvolvida e validada por Alves e colaboradores (ALVES *et al.*, 2010).

4.2.3.1.2. Efeito das ciclodextrinas, em concentrações fixas de polímeros

Foi realizado à semelhança do estudo anterior, apenas variando algumas condições do meio de preparação das soluções de CDs, uma vez que estas foram obtidas não em água, mas sim em soluções de PVP K30 (1%) (p/v) para as concentrações crescentes de β CD e M β CD e PVP K30 (0,7%) (p/v) para HP β CD.

As concentrações de M β CD e HP β CD utilizadas foram 0,1 mM; 0,5 mM; 1 mM; 3 mM; 5 mM; 10 mM, 15 mM e 20 mM; e as utilizadas para a β CD foram de 0,1 mM; 1 mM; 5 mM; 10 mM, 15 mM e 20 mM.

4.2.3.2. Efeito do polímero PVP K30, em concentrações elevadas, na presença de ciclodextrina

Também realizado semelhantemente aos estudos anteriores, apenas aumentando as concentrações do polímero PVP K30 na ausência e na presença da M β CD.

As concentrações do PVP K30 foram de 10% e de 30%, com e sem M β CD a 20 mM. Os resultados foram estatisticamente tratados por ANOVA.

4.2.4. PARTE IV – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS MULTICOMPONENTES NO ESTADO SÓLIDO

4.2.4.1. Obtenção de sistemas multicomponentes no estado sólido pela técnica de malaxagem e mistura física

A baixa taxa de dissolução do EFZ sugere a absorção oral limitada desse fármaco. Dessa forma, se a solubilidade do EFZ for garantida *in vitro*, a possibilidade do aumento dessa absorção, mesmo em formas farmacêuticas sólidas, deve ser alcançada.

Diante disso, os estudos anteriores foram estudos preliminares para avaliação das associações mais promissoras entre ciclodextrinas e polímeros hidrofílicos a fim de selecioná-los a partir dos melhores resultados para o desenvolvimento em lotes de bancada de multicomponentes no estado sólido através da técnica de malaxagem que é uma técnica das mais utilizadas pela indústria farmacêutica, devido ao elevado rendimento e à facilidade de transposição de escala (LIMA, 2008). Paralelamente, a mistura física foi utilizada como controle.

4.2.4.1.1. Mistura Física (MF)

O EFZ e a M β CD em razão equimolar e o PVP K30 (p/p) foram precisamente pesados e posteriormente cada componente foi separadamente pulverizados em ordem e completamente misturado em gral de porcelana com auxílio de pistilo, até a mistura homogênea ser obtida. As misturas foram tamizadas em tamis de 250 μ m ou 60 mesh, e transferidas para frasco ampolas onde foram mantidas em dessecador.

4.2.4.1.2. Malaxado (MX)

O sistema MX foi preparado semelhantemente à mistura física, complementado pela adição lenta de solução etanol/água (1:1 v/v), em uma quantidade de 20%, até completa homogeneização (HEDGES, 1998), visando a obtenção de uma consistência úmida, característica do MX. Posteriormente, as amostras foram secas em

estufa a 50°C por 60 minutos, e após secagem, a massa resultante foi tamisada em malha de 250 µm ou 60 mesh.

Os lotes obtidos nas MF e MX foram obtidos de acordo com a tabela 3.

Tabela 3. Formulação do Sistema Multicomponente, no estado sólido.

Formulações	PVP K30 (%)	Proporção Molar
1	1%	EFZ : MβCD (1:1)
2	5%	EFZ : MβCD (1:1)
3	10%	EFZ : MβCD (1:1)
4	30%	EFZ : MβCD (1:1)

4.2.4.2. Caracterização dos sistemas multicomponentes no estado sólido

4.2.4.2.1. Perfil de Dissolução

Os estudos de dissolução *in vitro* foram executados seguindo especificações do *Food and Drug Administration* (FDA, 2010) para fármacos pouco solúveis usando a *United States Pharmacopeia* (USP). Os ensaios foram realizados a $37 \pm 0,5$ °C, utilizando 900 mL de meio Lauril Sulfato de Sódio (LSS) 0,5%, aparato 2 (pá) e velocidade de rotação de 50 rpm.

Foram utilizadas cápsulas gelatinosas duras, n° 00, transparentes, contendo quantidade do efavirenz isolado (30mg), da MF e do MX equivalente de 30 mg do fármaco. As coletas foram realizadas nos tempos, 15, 30, 45, e 60 min, onde foram retirados 4 mL do meio de dissolução, seguidas de reposição.

As amostras foram filtradas em membrana com porosidade de 0,45 µm e devidamente diluídas para posterior quantificação do EFZ por espectrofotometria no UV a 247 nm, utilizando metodologia validada por Alves e colaboradores (ALVES *et al.*, 2010). Foram

realizadas análises em triplicata para cada sistema multicomponente, malaxado e mistura física.

4.2.4.2.2. Difração de Raios-X (DRX)

Os resultados de difração de Raios-X das amostras foram obtidos usando equipamento difratômetro SIEMENS (X-Ray Diffractometer, D-5000), equipado com ânodo de cobre, no intervalo de ângulo 2θ de 2-60 a uma velocidade de digitalização de $0,02^\circ 2\theta/s$. As amostras foram preparadas em suportes de vidro com uma fina camada de material dos pós sem solvente.

4.2.4.2.3. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

As amostras analisadas foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR, sendo o resultado obtido da média de 4 varreduras. Os espectrogramas foram obtidas de 650 a 4000 cm^{-1} na resolução de 4 cm^{-1} .

4.2.4.2.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas com atmosfera de nitrogênio de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ e razão de aquecimento de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, na faixa de temperatura de $25\text{--}200\text{ }^\circ\text{C}$. As amostras EFZ, M β CD, PVP K30, MF 1% e MX 1% foram colocadas em porta amostra de alumínio hermeticamente fechados com aproximadamente 2 mg (± 0.2). As determinações foram realizadas em triplicata. Índio e zinco foram utilizados para calibrar a escala de temperatura e a resposta de entalpia.

Para a verificação do comportamento térmico das amostras foram realizadas condições de aquecimentos na faixa de -80 a $400\text{ }^\circ\text{C}$ na razão de $10\text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando nitrogênio como gás de purga, com fluxo de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

4.2.4.2.5. Termogravimetria (TG)

A caracterização através da curva de TG foi realizada em duplicata por meio de termobalança, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 50 mL.min⁻¹, sendo a massa da amostra de cerca de 3 mg (± 0.4) das amostras EFZ, M β CD, PVP K30, MF 1% e MX 1%, acondicionadas em cadinho de alumina na faixa de temperatura de 25 a 600°C na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Antes dos ensaios, verificou-se a calibração do instrumento empregando-se uma amostra de alumínio e zinco.

4.2.4.2.6. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A avaliação da morfologia das amostras foram realizadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), após serem fixadas em fita de dupla face de carbono e metalizadas com ouro por 15 min (Metalizador Baltec[®] SCD 050). As eletromicrografias foram obtidas em uma câmara com tensão de excitação de 15 KV.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. PARTE I - CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

5.1.1. Difração de raios-X (DR-X)

Neste ensaio foi estabelecido o padrão de difração do pó da forma polimórfica I do efavirenz (Cristália[®], lote: 1289/07, doado pelo LAFEPE). O perfil do difratograma revelou a presença de uma série de picos, podendo ser observado a presença de um pico distinto a 2θ em torno de $6,24^\circ$, além de outros secundários 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 6), evidenciando o comportamento tipicamente cristalino do fármaco que possui influência relevante na sua solubilização e fluidez.

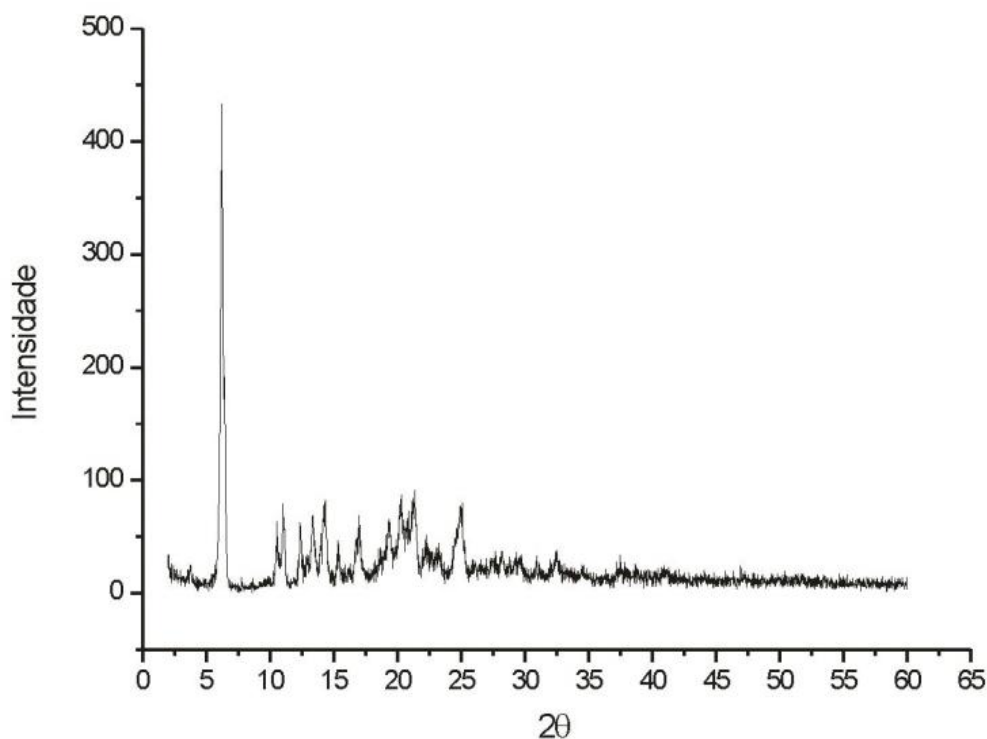


Figura 6. Difratograma de raios-X do pó de EFZ

O perfil difratométrico constitui uma ferramenta importante no controle de matérias primas, principalmente em associação com as técnicas de DSC e TG, e é atualmente utilizado na caracterização cristalina de diversos fármacos, como por exemplo, na análise

das duas formas cristalinas que apresenta o antirretroviral ritonavir, realizada por Alencar e colaboradores (2006).

5.1.2. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

Compostos orgânicos com grupamentos amida apresentam, normalmente, bandas características da presença de carbonila e átomo de nitrogênio. No espectro do EFZ (Figura 7) pode-se observar banda em 1742.12 cm^{-1} , referente a deformação axial de C=O, estando em frequência maior, isto é, menor número de ondas, que cetonas isoladas ou até mesmo ésteres alifáticos, por corresponder a uma carbonila de acoplamento duplo, pertencendo ao éster cíclico saturado e a amida secundária cíclica do anel A. O estiramento correspondente a deformação axial de N-H (banda de amida I) da amida secundária pode ser observado em três bandas próximas e sem muita definição em $3314,13$; $3156,02$ e $3095,13\text{ cm}^{-1}$, relativas a facilidade de dimerização em conformação s-cis, deste grupamento no estado sólido. Sendo ainda, possível a observação da deformação angular de N-H em $1601,90\text{ cm}^{-1}$ (banda de amida II), em sinal único e intenso, característico de amidas secundárias.

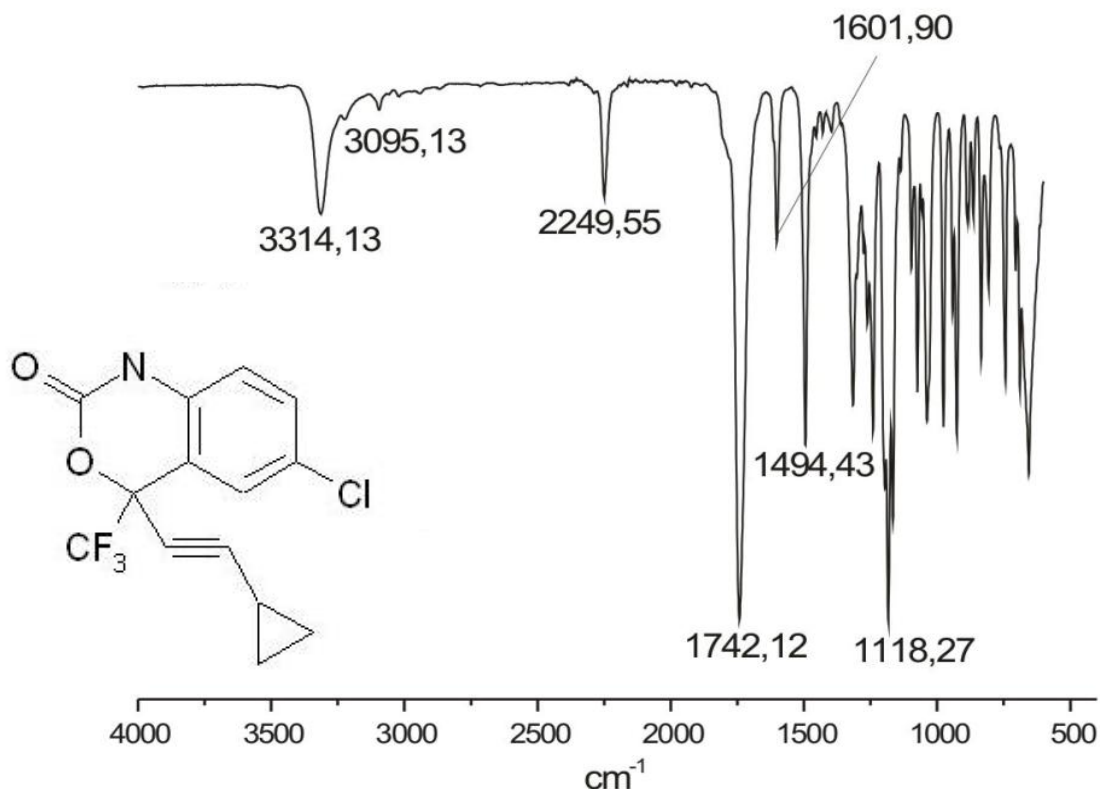


Figura 7. Espectrograma do EFZ no IV-TF

A ligação coordenada $C\equiv C$ presente na cadeia lateral da molécula do EFZ é relacionada a 2 vibrações axiais distintas: $C\equiv C$ e $C-H$. Sendo o EFZ, um alquino dissustituído, a banda característica da deformação $C\equiv C$ foi observada em $2249,55\text{cm}^{-1}$ (sendo observada entre $2260\text{-}2190\text{cm}^{-1}$), porém não foi possível a observação de banda fraca correspondente a deformação axial $C-H$ entre $3330\text{-}3267\text{cm}^{-1}$, visto que o EFZ apresenta estiramento $N-H$ nesta região do espectro. Outro grupamento característico da molécula do EFZ é $-CF_3$, ligado ao anel aromático, sendo possível a observação de uma única banda característica de seu estiramento axial assimétrico intenso em $1183,27\text{cm}^{-1}$, visto que as vibrações simétricas não mudam o momento dipolo do radical, não produzindo assim vibração característica. Por fim, pode-se observar uma banda de intensidade forte característica de estiramento axial de $C-H$ em grupamentos cíclicos tensionados em $1494,43\text{cm}^{-1}$; evidenciando a presença do radical ciclopropil na molécula do EFZ.

5.1.3. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Através da curva de DSC realizada para a verificação da faixa de fusão do EFZ (Figura 8) na razão de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, pode-se evidenciar um pico endotérmico na faixa de temperatura entre 123.31 e $145.20\text{ }^{\circ}\text{C}$, característico do processo de fusão do fármaco, conforme relatado na literatura e confirmada através das análise de MEV e DRX realizadas. (Radesca et al.,2004).

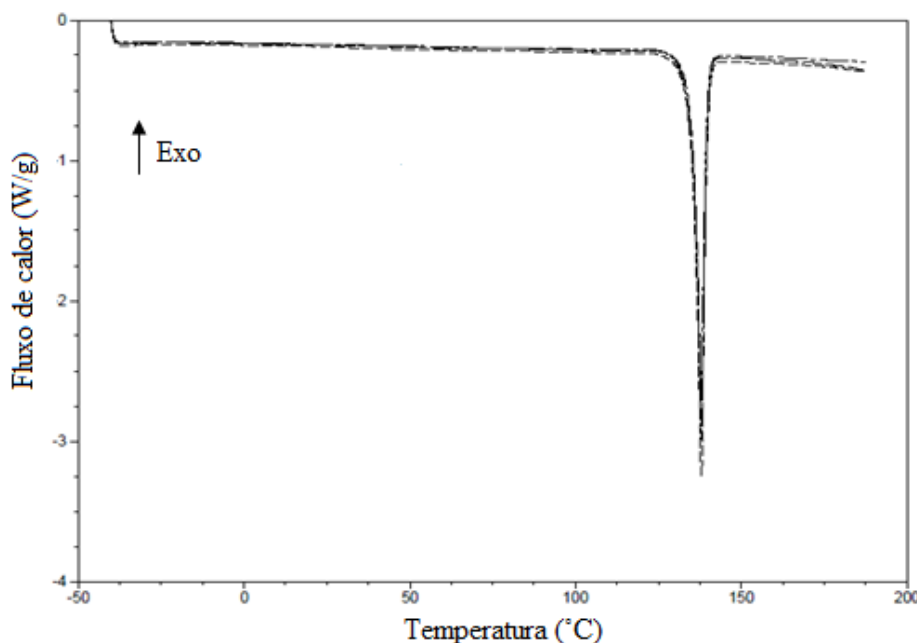


Figura 8. Curvas de DSC obtida a $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de $50\text{ mL}.\text{min}^{-1}$

A pureza do EFZ foi calculada através da aplicação da equação de Van't Hoff na linearização do evento de fusão, verificado em triplicata. Neste modelo a pureza é determinada através do desvio da linearidade do evento de fusão, o qual ocorre pela presença de impurezas. Conhecendo-se o desvio da linearidade, pode-se inferir sobre o fator de correção na linearização da reta. Logo, a pureza do EFZ mostrou-se em torno de 99,4 %, com um fator de correção calculado para as impurezas de 5,76 %.

Através desses resultados, também se pode verificar que o insumo efavirenz utilizada trata-se apenas da forma polimórfica 1, faixa de fusão , confirmando-se através da DRX, considerada a forma mais estável entre as cinco formas reladas, confirmando os dados do DMF (Drug Master File) do fornecedor da insumo farmacêutico ativo. As outras formas polimórficas apresentam as seguintes faixas de fusão: forma 2 ($116-119\text{ }^{\circ}\text{C}$); forma

3 (108-110 °C); forma 4 (95-100 °C); forma 5 (108-110 °C) (RADESCA, et al.,2004).

Corroborando com esse resultado, realizou-se o resfriamento da amostra fundida, induzindo a recristalização do fármaco, com o objetivo de verificar através de um segundo aquecimento mudanças da rede cristalina pela formação de arranjos estruturais diferentes, devido às variações das condições de temperatura sofridas (Figura 9)

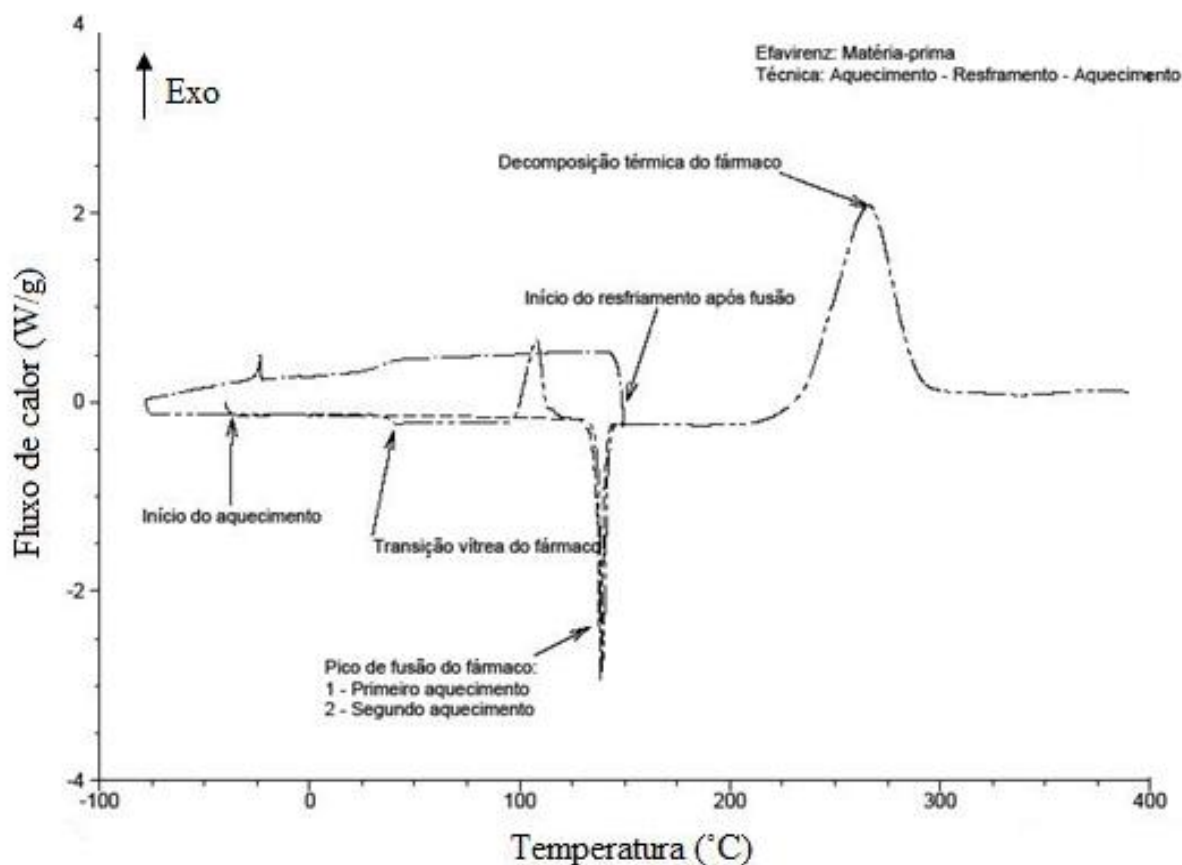


Figura 9. Curva DSC de aquecimento (razão de 10 °C.min⁻¹), resfriamento (razão de 20 °C.min⁻¹) e aquecimento (razão de 10 °C.min⁻¹) sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL.min⁻¹

No primeiro aquecimento, observou-se o ponto de fusão de 138,28 °C, numa faixa de fusão compreendida entre 127,94 e 145,79 °C, sendo determinada uma pureza de 99,42 %. Posteriormente ao resfriamento da amostra, em uma razão maior do que a do aquecimento, reiniciou-se o processo de aquecimento da amostra. Entre as temperaturas de 39,55 e 40,87 °C foi observado um processo levemente endotérmico correspondente a transição vítrea do fármaco, correspondente a temperatura da passagem do estado vítreo para um estado “maleável”, sem ocorrência de uma mudança estrutural. A parte amorfa do

material (parte onde as cadeias moleculares estão desordenadas) é a responsável pela caracterização da temperatura de transição vítrea. A transição vítrea não foi visualizada no primeiro aquecimento da amostra porque quanto maior for o estado cristalino do material, menor é a representatividade da transição.

Posteriormente a esse processo, verificou-se a presença de um pico exotérmico, correspondente ao processo de cristalização. Na faixa de 129,66 a 145,95 °C, iniciou-se o segundo processo de fusão, que apresentou um ponto de fusão de 139,08 °C, determinando uma pureza de 99,39 %, o que demonstra a elevada pureza do lote analisado.

A diferença entre os dois picos de fusão realizados, não se mostrou estatisticamente significativo, de acordo com a ANOVA *one-way*, demonstrando que não houve a formação de estruturas metaestáveis, o que dá indícios da ausência de formação de polimorfos, mesmo quando o fármaco é submetido a diferentes condições de temperatura. Seguido a etapa de fusão, iniciou-se um processo exotérmico característico ao processo de decomposição térmica, a partir da temperatura de 234,23 °C com um máximo de 265,70 °C ($\Delta H = 404,50 \text{ J.g}^{-1}$). ‘

Esses resultados permitiram avaliar a qualidade do IFA utilizado, garantindo que o fármaco quando submetido a processos térmicos de aquecimento e resfriamento, não modifica suas características cristalinas iniciais, e, conseqüentemente, mantém suas características físico-químicas.

5.1.4. Termogravimetria

A partir da avaliação das curvas de TG do fármaco, observou o comportamento térmico do EFZ, que apresentou um estágio de decomposição entre 244,31 a 274,49 °C ($\Delta m = 77,49 \%$), seguido de carbonização (Figura 10), conforme pode ser confirmado pela primeira derivada do TG. Os dados ora obtidos estão de acordo com os dados relatados na literatura (VIANA et al., 2008).

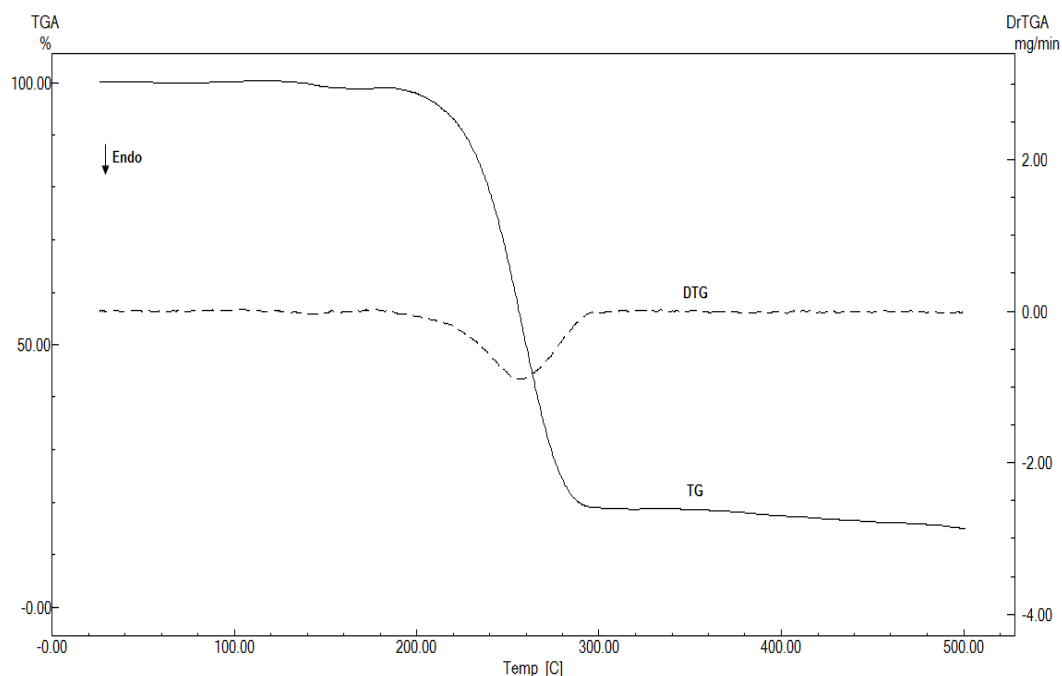


Figura 10. Curvas de TG obtida a $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ sob atmosfera de nitrogênio com fluxo de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$.

Esta técnica também foi utilizada anteriormente em associação com o DSC por Viana et al. (2008), em um estudo de pré-formulação, onde buscou-se a avaliação do comportamento do EFZ em misturas físicas com diferentes tipos de excipientes visando a observação de possíveis incompatibilidades. A partir deste, verificou-se que o EFZ não é incompatível com croscarmelose, estearato de magnésio, celulose microcristalina 101 e crospovidona, podendo estes serem utilizados com segurança em formulações contendo EFZ.

Portanto, esse tipo de estudo utilizando técnicas de análise térmica são largamente aplicadas na indústria farmacêutica, sendo de extrema importância na identificação da compatibilidade e estabilidade de fármacos, principalmente daqueles que apresentam polimorfos, (ALENCAR et al., 2006) sendo possível discriminar de forma rápida até 0,002 mol % de impurezas.

5.1.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As eletromicrografias obtidas dos cristais de EFZ demonstram a sua forma cristalina, na forma de cristais irregulares com formato ortorrômbo de tamanho regular (Figura 11), corroborando com os resultados obtidos na DRX e no DSC.

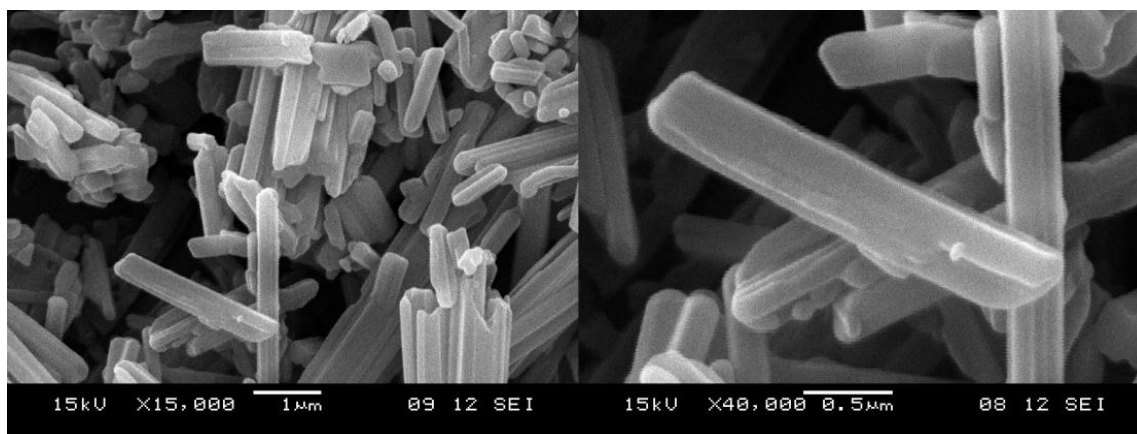


Figura 11. Eletromicrografias das partículas cristalinas de EFZ

5.1.6. Ensaio de dissolução

Para o EFZ, a etapa limitante de absorção é a dissolução, visto as características físico-químicas desse fármaco, anteriormente apresentadas, com ênfase na sua baixa solubilidade aquosa, que leva a uma diminuição da molhabilidade e uma lenta taxa de dissolução do fármaco, esta devido a tensão superficial que há entre o IFA e o meio de dissolução, proporcionado pela sua característica essencialmente hidrofóbica.

Através da figura abaixo (Figura 12), pode-se verificar a influência dos excipientes utilizados para a formulação da cápsula de EFZ, possibilitando o processo de desagregação da forma farmacêutica e de dissolução do fármaco de forma mais eficiente, chegando a 86 % de EFZ dissolvido em 60 min. Enquanto que a dissolução máxima do fármaco foi de 34 %, demonstrando como o estudo de pré-formulação é de extrema relevância no desenvolvimento de formulações.

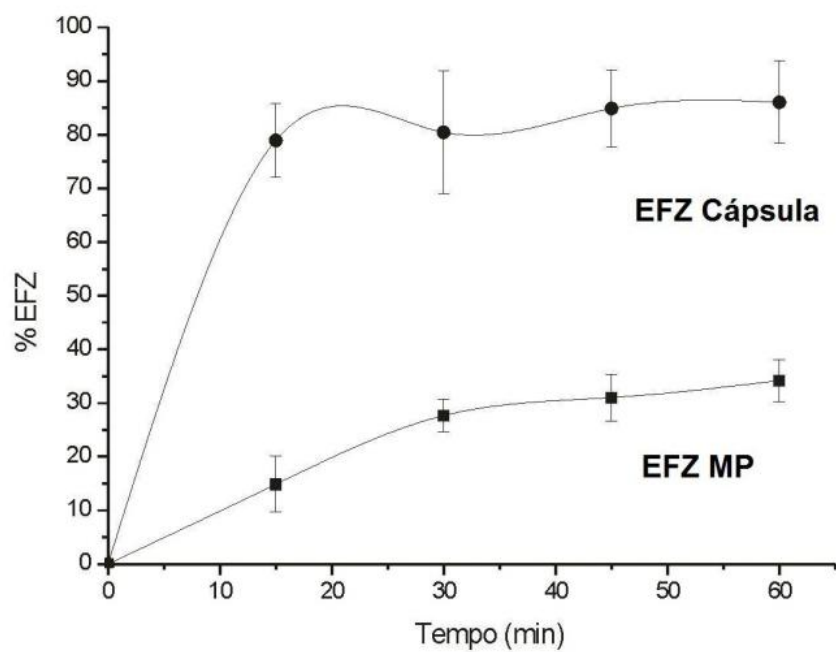


Figura 12. Perfis de dissolução do EFZ IFA e em forma farmacêutica sólida (cápsula)

5.2. PARTE II – SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS

5.2.1. Diagrama de solubilidade complexo de inclusão

As análises do diagrama de solubilidade das fases demonstram o efeito do agente complexante no IFA, além de fornecer a constante de estabilidade do complexo e também indicações sobre a estequiometria do complexo, no equilíbrio.

Os diagramas de solubilidade foram obtidas através da representação gráfica na figura 13. As CDs naturais α CD e β CD não obtiveram grande destaque frente as CDs modificadas: M β CD, RM β CD e a HP β CD. O melhor complexo foi entre o EFZ e a M β -CD por ser o mais estável, observando-se a melhor eficiência na complexação e um maior incremento na solubilidade, que inicialmente era de 9 μ g/mL chegando a 75,568 μ g/mL na concentração de 20 mM de CD, obtendo um incremento de 739,64%. Isto pode ser justificado pela presença de grupos de metila, uma vez que estes grupos são importantes para o alargamento da cavidade das CDs, favorecendo um ambiente mais hidrofílico externamente e hidrofóbico internamente favorecendo a adaptabilidade dos fármacos, através de uma maior flexibilidade (MELO, GRILLO & ROSA, 2008).

Portanto a eficiência de complexação aumentou na seguinte ordem crescente: β CD < α CD < RM β CD < HP β CD < M β CD.

Os resultados mostraram que a solubilidade do EFZ aumentou linearmente com a concentração das CDs, correspondendo, de acordo com Higuchi e Connors, ao perfil do tipo A_L , o qual está relacionado com a formação de um complexo de inclusão solúvel. O valor do declive (slope) de cada um destes diagramas apresentou-se inferior a 1, sugerindo a formação de complexo com estequiometria 1:1.

De acordo com Jullian e colaboradores (2008), o complexo CD/fármaco com estequiometria 1:1 é o tipo mais comum de associação, pois é quando uma única molécula de fármaco está incluído na cavidade de uma molécula de ciclodextrina, com uma constante de complexação ($K_{1:1}$) para o equilíbrio entre as espécies livres e associadas.

E segundo Sathigari e colaboradores (2009) sugeriram a formação de complexo de inclusão EFZ com a HP β CD e a RM β CD, evidenciando que o EFZ aumentou linearmente em função da CDs, indicando a formação de complexos de inclusão em uma proporção de 1:1 molar (EFZ 1:1 / CD razão molar), assim corroborando com o estudo.

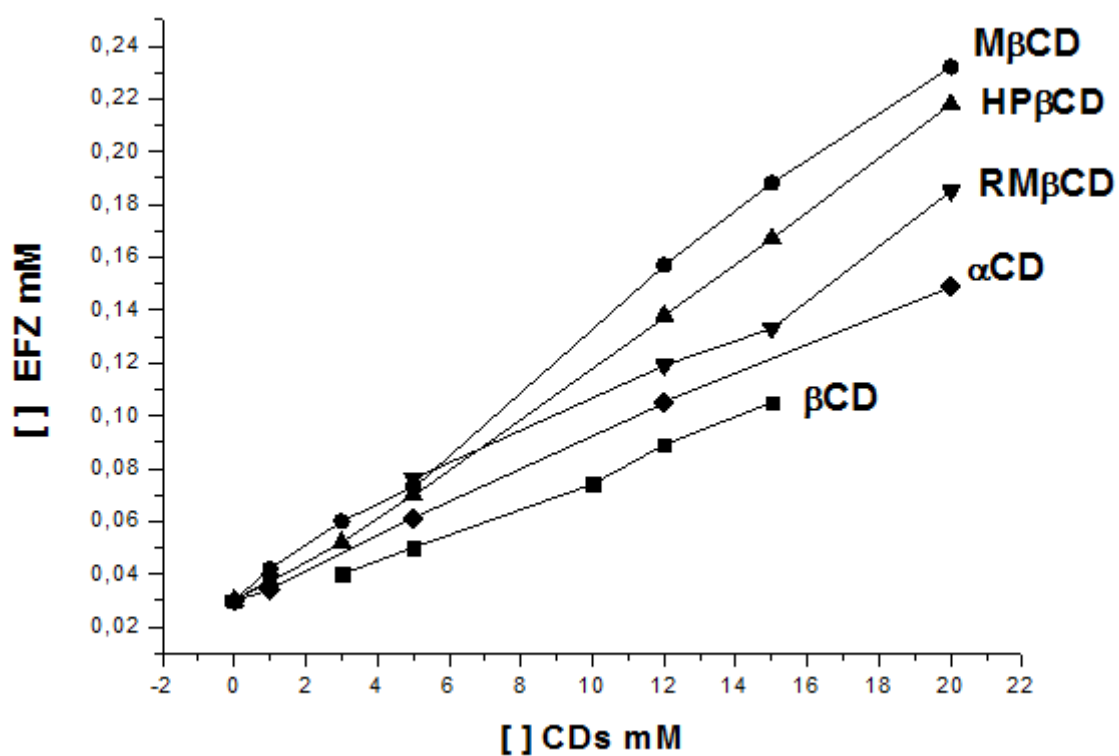


Figura 13. Diagrama de solubilidade de fases do efavirenz com a α CD, β CD, RM β CD, HP β CD e M β CD em água à temperatura ambiente (25 ° C).

5.3. PARTE III - SELEÇÃO DAS CICLODEXTRINAS E DOS POLÍMEROS HIDROFÍLICOS

5.3.1. Diagrama de solubilidade sistema multicomponente

O estudo de solubilidade efetuado nessa etapa utilizou os melhores complexos formados EFZ-M β CD e o complexo EFZ-HP β CD, e não descartando o complexo EFZ- β CD pelo seu menor valor econômico entre as usadas.

Para a escolha dos polímeros hidrofílicos na formação dos sistemas multicomponentes fármaco-CD foi utilizado um diagrama de solubilidade com a finalidade de avaliar, se a simples adição dos polímeros hidrossolúveis aos sistemas iria aumentar a estabilidade do complexo como também a sua eficiência de complexação, ou seja, se seriam possivelmente os melhores resultados a proporcionar algum incremento.

Entre os polímeros utilizados, foi selecionado o PVP K30 e o PEG 4000, de acordo com resultados obtidos por ALVES (2010) no diagrama de solubilidade com polímeros hidrofílicos.

5.3.2. Efeito dos polímeros, em uma concentração fixa de ciclodextrina

O efeito dos polímeros PVP-K30 e PEG 4000, em concentrações crescentes no acréscimo da taxa de solubilização do EFZ em associação com as ciclodextrinas em concentrações fixas, permitiram determinar o tipo e a concentração utilizada de polímero para a formação de sistemas multicomponentes fármaco-CD-polímero, de forma a se obter o sistema mais adequado e estável para a finalidade pretendida de incremento da solubilidade. Os resultados se encontram graficamente representados, na figura 14.

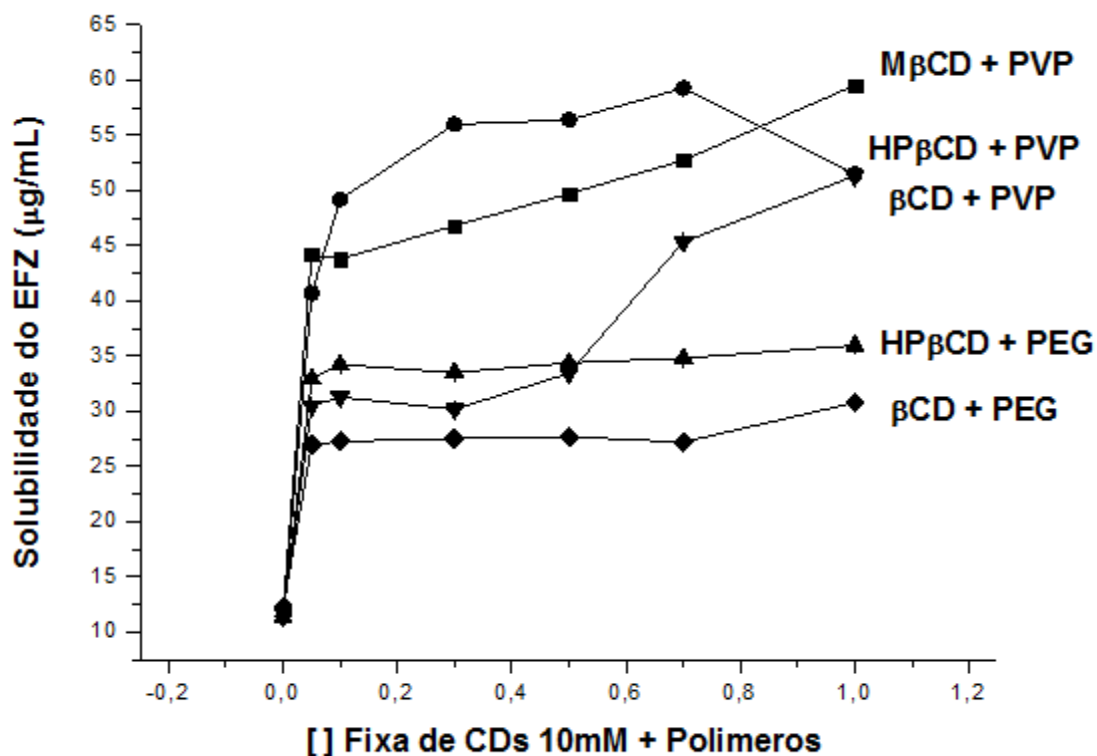


Figura 14. Diagrama de solubilidade efavirenz em concentração fixa de CD, utilizando PVP K30 e PEG 4000 em concentrações crescentes

Os resultados demonstram que as melhores taxas de solubilização do EFZ foram obtidos na presença de PVP K30 associado às ciclodextrinas, sendo bem superior aos complexos e aos polímeros isolados.

O sistema multicomponente com MβCD (10 mM) com o PVP K-30 a 1%, obteve o melhor resultado, levando a um aumento da solubilidade do EFZ de 9 µg/mL para 59,50 µg/mL. Em relação a HPβCD (10 mM), verificou que o melhor resultado foi obtido com o PVP K30 na concentração de 0,7%, uma vez que na concentração de 1% do polímero ocorre um decaimento da solubilização, que se aproxima com o resultado obtido com a βCD (10 mM) associado ao PVP K30 a 1%.

Por outro lado, a associação da HPβCD (10 mM) ao polímero PEG 4000 mostrou resultados satisfatórios, quando não comparado aos demais sistemas com o PVP K30.

A eficiência de solubilidade segue na seguinte ordem crescente: EFZ- MβCD- PVP K30 < EFZ- HPβCD- PVP K30 < EFZ- βCD- PVP K30 < EFZ- MβCD- PEG 4000.

O sistema EFZ- MβCD (10 mM) - PVP K30 (1%), nessa etapa foi o mais eficiente. Porém, levando-se em consideração o custo-benefício das CDs utilizadas e os resultados

obtidos através desse estudo, a utilização do PVP K-30 associado a β CD mostrou-se como um sistema promissor, não podendo deixar de ser destacado. Uma vez que na concentração de 1% do polímero, o complexo apresentou resultados satisfatórios utilizando uma ciclodextrina mais barata e já amplamente utilizada na indústria farmacêutica. (LOFTSSON, SIGURDARDOTTIR, 1994; RIBEIRO *et al.*, 2005).

5.3.3. Efeito das ciclodextrinas, em uma concentração fixa de polímeros

Os resultados obtidos permitiram determinar a melhor associação entre as CDs e o PVP K30, de forma a se obter o sistema mais adequado e estável para a finalidade pretendida de incremento da solubilidade. Os resultados encontram-se graficamente representados na figura 15.

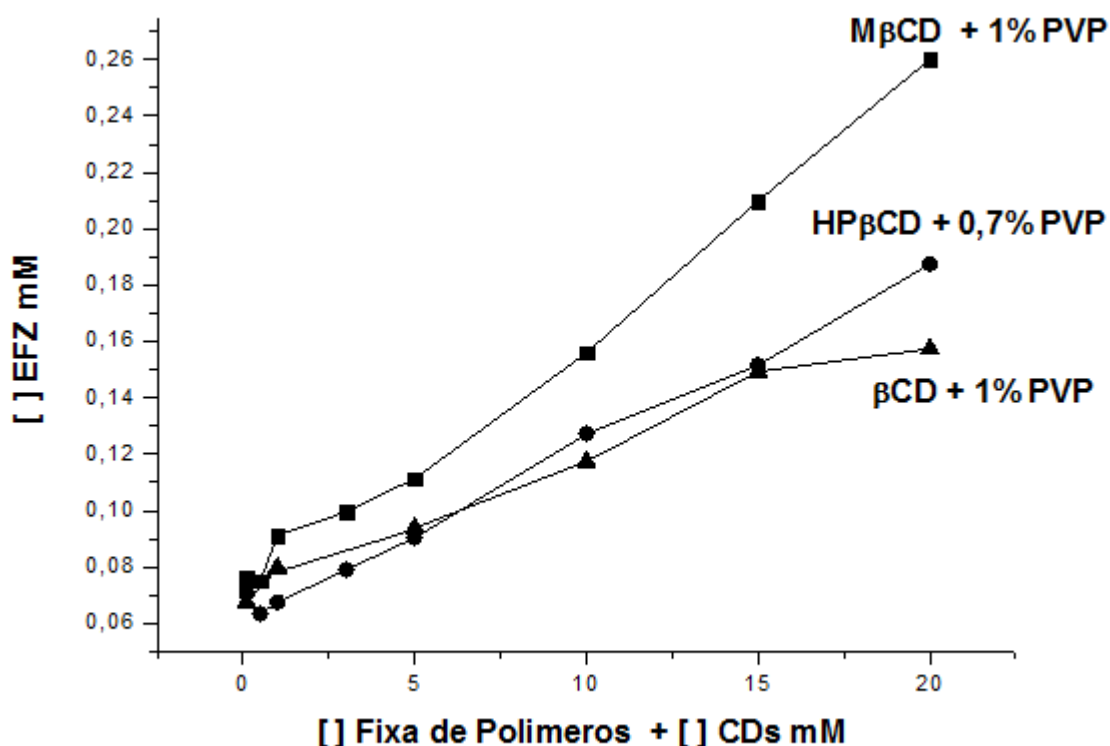


Figura 15. Diagrama de solubilidade efavirenz em concentração fixa PVP K30, utilizando CDs em concentrações crescentes.

A figura 15 evidencia que, em todos os casos, aumentando a concentração das CDs há um incremento na solubilidade do EFZ, mostrando que o sistema multicomponente mais significativo foi a M β CD (20 mM) com PVP K30 (1%), seguido da HP β CD (20 mM) com o PVP K30 (0,7%) e por fim a β CD (20 mM) com PVP K30 (1%).

A solubilidade do EFZ que era, inicialmente, de 9 $\mu\text{g/mL}$ (SATHIGARI et al., 2009) no sistema obtido, EFZ – M β CD (20 mM) - PVP K30 (1%), foi elevada para 82,12 $\mu\text{g/mL}$, em percentual chegando a 812,44% de incremento, comprovando a eficiência na obtenção de sistemas multicomponentes entre CDs e polímeros hidrofílicos.

5.3.4. Efeito do polímero PVP K30, em concentrações elevadas, na presença e ausência de ciclodextrina

Após a avaliação do perfil de incremento da solubilidade do EFZ nos sistemas multicomponentes anteriormente citados, nesta etapa-se buscou verificar a continuidade do incremento da solubilidade a partir do aumento nas concentrações do polímero hidrofílico (PVP K30), a 10% e 30%, além de avaliar se a presença da M β CD nesse incremento é estatisticamente significativa.

Através dos resultados, observou-se que a solubilidade do EFZ continuou aumentando proporcionalmente à medida que se aumentou a concentração de PVP K30, porem o incremento foi bem mais significativo com a presença da metil-beta-ciclodextrina (M β CD), que pode ser confirmado pela comparação do F calculado com o F crítico na tabela 4 abaixo.

O PVP 30 na concentração 10% obteve um F-crítico (7,708) menor em relação ao PVP K30 10% com a M β CD obtendo um F-calculado de 11,114. O PVP 30 na concentração de 30% obteve um F-crítico (7,708) menor em relação a ao PVP K30 30% com a M β CD obtendo um F-calculado de 152,653.

Tabela 4. Estudo de solubilidade do EFZ em concentrações elevadas de PVP K30 na ausência e presença da M β CD.

AMOSTRA	SOLUBILIDADE ($\mu\text{g/mL}$)	F-Calculado	F-Crítico
M β CD 20 mM + PVP 10%	315,419 ($\pm$ 4,641)	11,114	> 7,708
PVP 10%	136,619 ($\pm$ 0,167)		
M β CD 20 mM + PVP 30%	411,419 ($\pm$ 0,292)	152,653	> 7,708
PVP 30%	328,885 ($\pm$ 0,498)		

5.3.5. PARTE IV – OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DOS SISTEMAS MULTICOMPONENTES NO ESTADO SÓLIDO

5.3.5.1. Perfil de Dissolução

O perfil de dissolução, o qual relaciona a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo, do EFZ isolado e dos sistemas multicomponentes MF e MX foram realizados a fim de avaliar a velocidade e eficiência do processo, além do tempo necessário para que determinadas porcentagens do fármaco se dissolvam, possibilitando, desta forma, conclusões a respeito das características biofarmacotécnicas *in vitro* das formulações. Os testes de dissolução dos sistemas multicomponentes das MF e dos MX estão representados na Figura 16, 17 e 18.

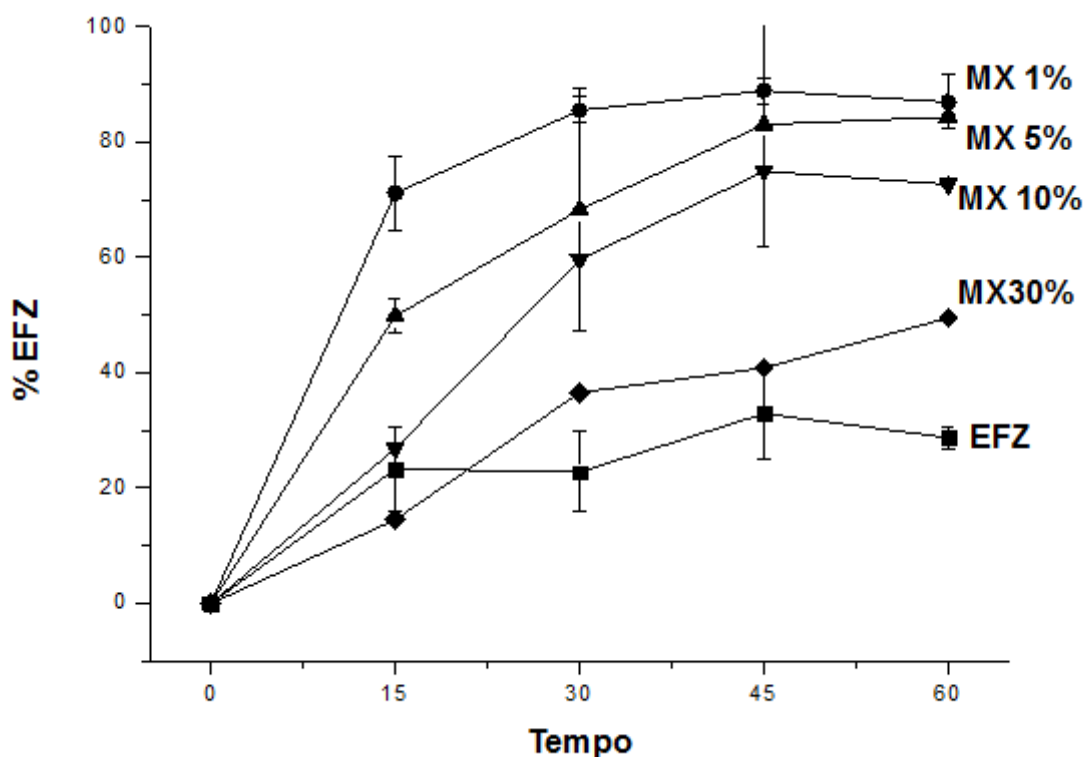


Figura 16. Perfil de dissolução do MX em diferentes concentrações de PVP K30.

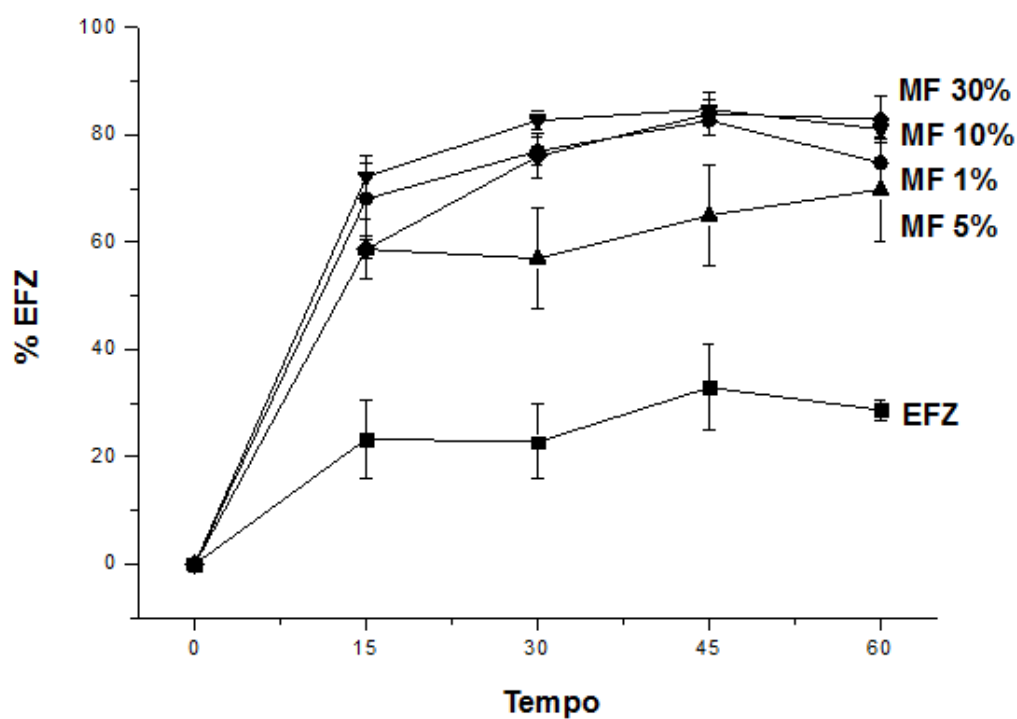


Figura 17. Perfil de dissolução MF em diferentes concentrações de PVP K30.

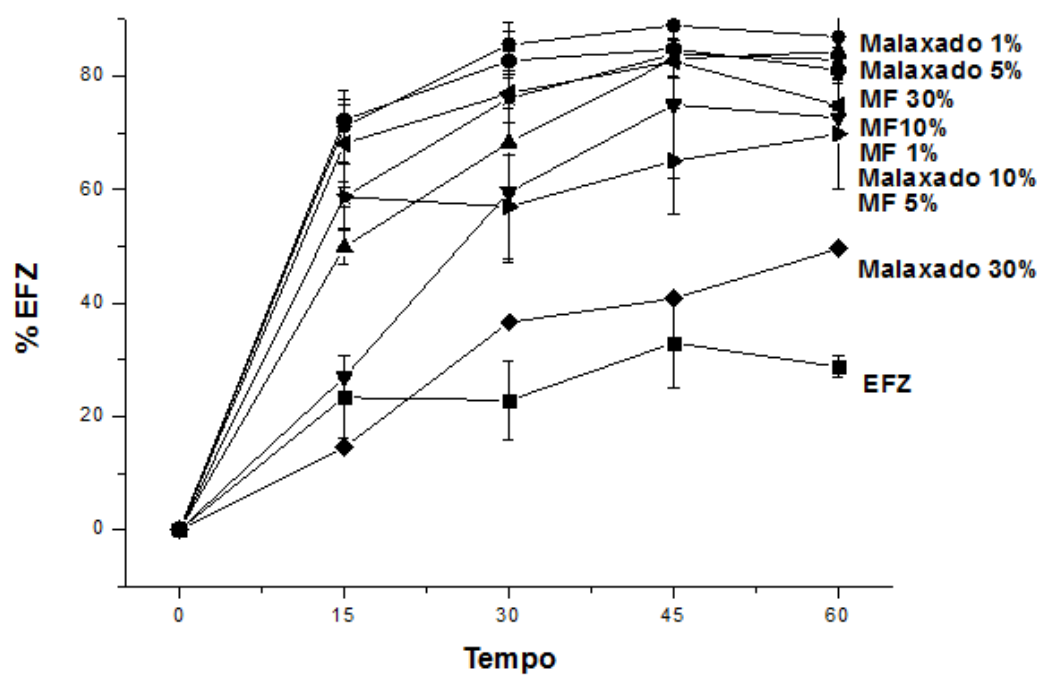


Figura 18. Perfil de dissolução das MFs e dos MXs.

Aumentos significativos foram observados entre o fármaco, as MFs e os MXs no que se refere ao percentual solubilizado de ativo, baseado nos resultados das figuras 16, 17 e 18.

Fazendo uma relação de fármaco dissolvido nos tempo de 15 e 60 minutos, o EFZ isolado em 15 minutos tem percentagem de dissolução de 23,32% e em 60 minutos de 28,71%. Nos mesmos tempos para as MFs, o melhor resultado atingiu a porcentagem acima de 70% e 80%, respectivamente. Nos MXs, o percentual de fármaco dissolvido foi acima de 70% e 80% referentes ao tempo de 15 e 60 minutos no melhor resultado (EFZ - M β CD – PVP K30 1%).

Visto que os perfis de dissolução entre as MFs e os MXs foram semelhantes, a técnica de malaxagem proporcionou uma melhora visível na estrutura do sistema multicomponente, uma vez que o processo de molhagem possibilitou uma possível complexação (EFZ - M β CD), devido ao revestimento do complexo pelo PVP K30 que atua como co-complexante, aumentando o potencial hidrofílico da M β CD, aumentando a área de contato entre as partículas e sua homogeneidade.

O incremento de dissolução para sistema multicomponente por malaxagem de diferentes fármacos tem sido explicado com base na alta energia do estado não cristalino, redução de cristalinidade, como a diminuição da tensão interfacial entre água-fármaco insolúvel e a indução do meio de dissolução pelas ciclodextrinas e de polímeros hidrofílicos com a alta solubilidade do sistema multicomponente (FERNANDES & VEIGA, 2002).

O mesmo não ocorre com as MFs, já que nesse caso ocorre apenas uma adsorção superficial entre o EFZ, a M β CD e o PVP K30, diferenciando os resultados das diferentes concentrações do polímero hidrofílico. Nota-se ainda, que a presença da M β CD contribuiu para a não formação de malhas gelatinosas consistentes entre o PVP K30 e o EFZ, como descrito em Alves, 2010, que retarda a liberação do EFZ, mesmo em concentração de 30%.

Para avaliação dos resultados entre os MX e as MF, foi calculado a eficiência de dissolução (ED) que foi determinada através da razão entre a área sob da curva de dissolução no intervalo de tempo entre 0 e 60 minutos e a área total do retângulo definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa, que fornecem 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.

Os intervalos de tempo avaliados foram de 15, 30 e 60 minutos (ED₁₅, ED₃₀ e ED₆₀), para os produtos obtidos conforme Tabela 5.

Tabela 5. Resultados da eficiência de dissolução (ED).

PARÂMETROS DE DISSOLUÇÃO			
Produto	ED₁₅ %	ED₃₀ %	ED₆₀ %
MALAXADO			
EFZ	2,90	8,72	23,35
MβCD (20 mM) + PVP K30 (1%)	9,84	28,12	72,23
MβCD (20 mM) + PVP K30 (5%)	6,40	20,73	60,82
MβCD (20 mM) + PVP K30 (10%)	3,58	14,40	49,42
MβCD (20 mM) + PVP K30 (30%)	1,99	8,10	29,16
MISTURA FÍSICA			
MβCD (20 mM) + PVP K30 (1%)	8,56	26,73	66,25
MβCD (20 mM) + PVP K30 (5%)	7,45	21,77	53,88
MβCD (20 mM) + PVP K30 (10%)	8,97	28,43	70,03
MβCD (20 mM) + PVP K30 (30%)	7,47	24,08	65,00

O MX a 1% mostrou-se o mais eficiente nas ED₁₅, ED₃₀ e ED₆₀, tanto comparado com as concentrações de PVP K30 dos MXs, quanto com as MFs, e principalmente quando comparado ao EFZ isolado, visto que, suas ED₁₅ e ED₆₀ mostraram-se cerca de três vezes maior.

Diante do melhor resultado obtido, o MX a 1% foi selecionado para dos ensaios das caracterizações, para usar como parâmetro comparativo foi utilizado a MF com a mesma concentração de 1% de PVP K30.

5.3.5.2. Difração de raios-X (DRX)

Os difratogramas do EFZ, M β CD e PVP K30, assim como dos sistemas multicomponentes obtidos por malaxagem e mistura física encontram-se representados na Figura 21.

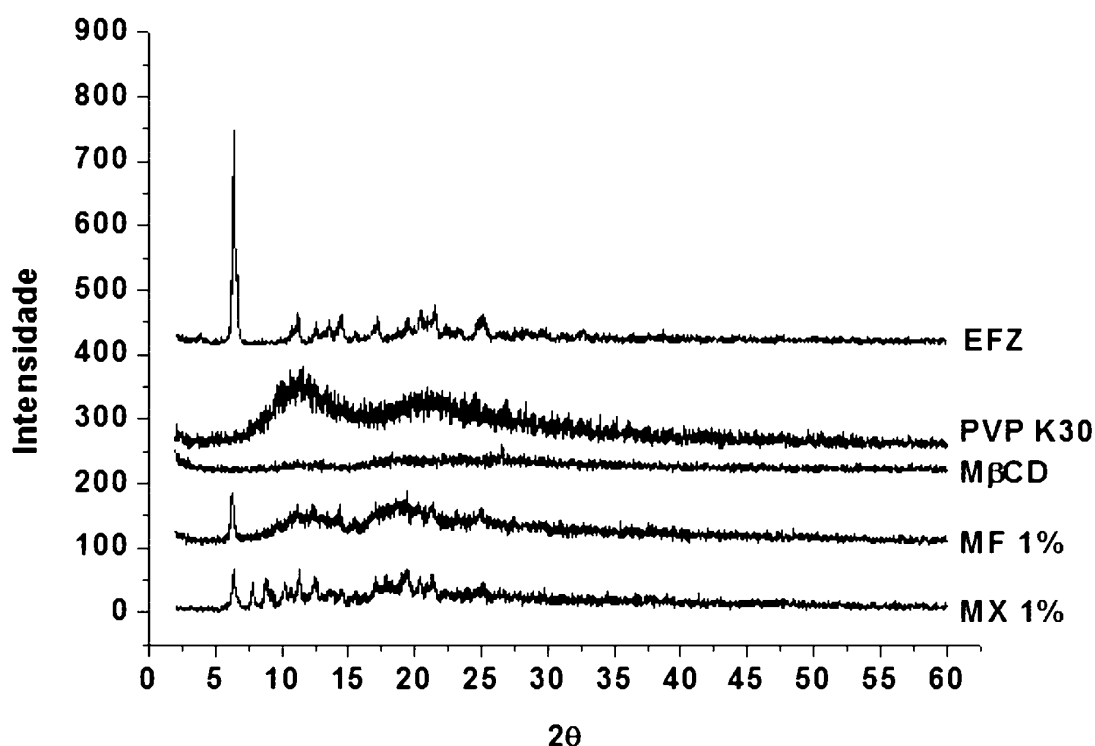


Figura 19. Difratograma do EFZ e sistemas multicomponentes (EFZ-M β CD-PVP K30 1%); MF – Mistura Física, MX – Malaxado.

O perfil de difração do EFZ evidencia o seu caráter cristalino, demonstrando numerosos picos de difração, podendo ser notado a presença de um pico intenso a 2θ aproximadamente em 6,24°, além de outros secundários de menor intensidade em 10,56°, 11,04°, 12,34°, 13,34°, 14,28°, 15,36°, 17,0°, 19,4°, 20,3°, 21,38° e 25,02°.

Paralelamente, o difratograma da M β CD e do PVP K30 mostram-se totalmente difuso indicando a natureza não cristalina. No perfil de difração da MF, podemos observar

que este sistema possui o principal pico em $6,24^\circ$, porém a diminuição da intensidade do pico primário e secundários do EFZ, que pode ser explicado pela presença dos excipientes não cristalinos, PVP K30 e M β CD, que interagem apenas fisicamente entre eles.

No produto obtido por MX o perfil de difração é semelhante ao da MF, porém pode ser observada uma menor intensidade no pico primário ($6,24^\circ$) em comparação com a MF, relacionado a menor cristalinidade observada nesse sistema. Porém os picos secundários são mais definidos no MX em relação a MF, possivelmente devido ao processo realizado que proporcionou uma diminuição da cristalinidade do EFZ. Contudo, para melhor explicar os difratogramas as outras técnicas de caracterização devem ser utilizadas em conjunto para melhor compreensão do fenômeno observado.

5.2.1.1. Espectroscopia na Região de Infravermelho com Transformada de Fourier (IV-TF)

Utilizando esta técnica obtivemos o espectro do EFZ, representado na Figura 20. 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 às 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} .

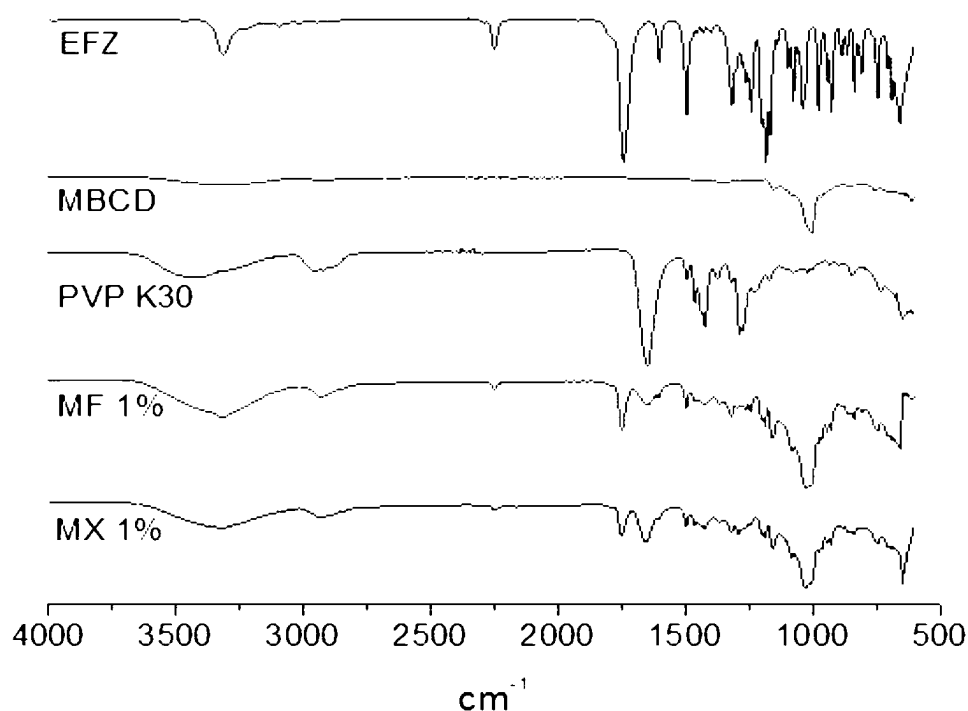


Figura 20: Espectros de IV-TF

Paralelamente, o espectro do PVP K-30 apresentou as principais bandas em 2952 cm^{-1} (estiramento C-H) e em 1647 cm^{-1} (estiramento C=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. O espectro da M β CD apresenta bandas características em 3297 cm^{-1} referente deformação axial do grupamento OH, além de bandas em 1003 cm^{-1} características de deformação axial de ligações C – O.

Os espectros da MF e MX foram semelhantes no que se refere à diminuição da intensidade das bandas referentes ao EFZ, com destaque a banda referente ao estiramento C=O, além de evidenciar a presença das bandas referentes ao estiramento O-H do PVP K-30 e da M β CD, que se sobrepõe a banda em 3314 cm^{-1} (N-H) do EFZ. Paralelamente, estiveram presentes em todos os espectros as bandas referentes ao estiramento C-H e C=O do PVP K-30, sendo estas sempre em menor intensidade. Adicionalmente, nota-se que a vibração do estiramento $\text{C}\equiv\text{C}$ mostra-se praticamente ausente no sistema MX, sugerindo uma possível complexação da M β CD nessa região do efavirenz, o ciclopropano. Na MF esta banda ainda esteve presente, contudo em baixa intensidade devido à quantidade proporcionalmente inferior do fármaco no sistema. Nesse caso, o processo de obtenção da MF não favorece a complexação eficiente, visto que não há adição de água, que é essencial

ao processo de complexação. Portanto, através dos resultados observados, pode-se inferir que tanto no sistema multicomponente MX como na MF, houve interações intermoleculares entre o PVP K-30, a M β CD e o EFZ, principalmente ligações de hidrogênio.

5.2.1.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A curva de DSC do EFZ, forma polimorfa I, mostrou um evento endotérmico na faixa entre 123,31 e 145,20°C ($\Delta H = 41,7$ J/g) referente à fusão do fármaco. Por sua vez, o PVP K30 mostrou um evento discreto, caracteristicamente endotérmico em 104,21°, no intervalo de 50-120°C relativo à evaporação de água do material, conforme pode ser observado na Figura 21 abaixo. Esse mesmo evento pode ser observado para a M β CD, no intervalo entre 40 e 130°C.

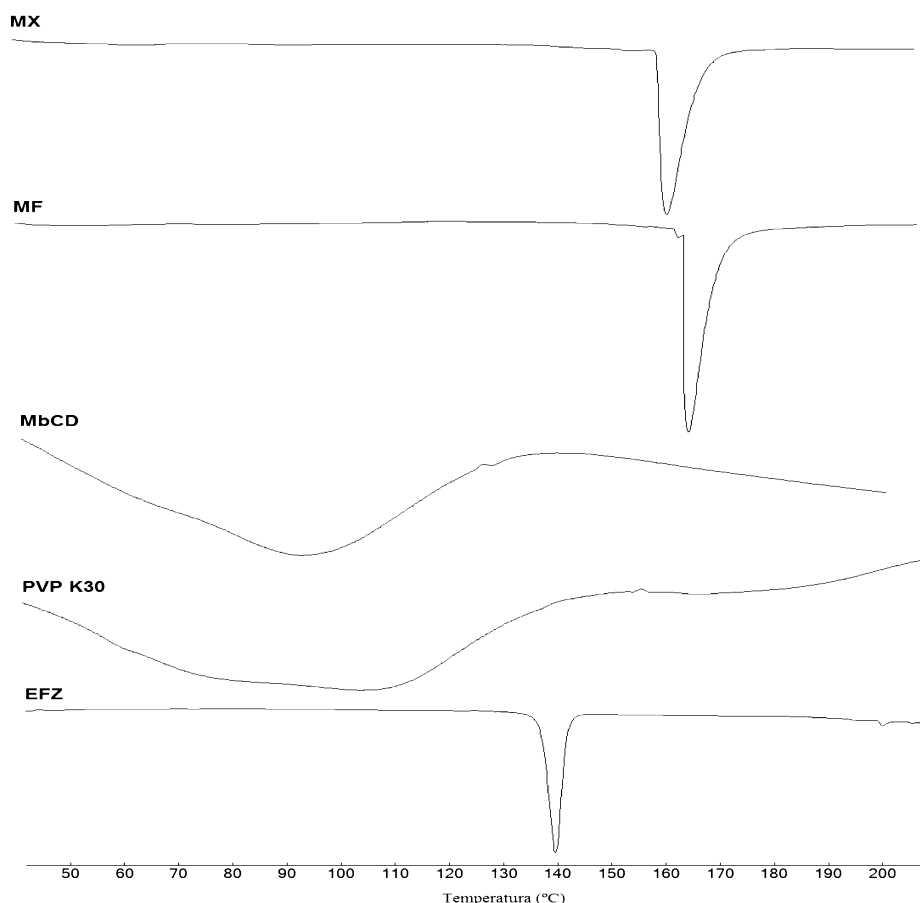


Figura 21. Curvas de DSC obtida a 10 °C.min⁻¹ sob atmosfera de nitrogênio com

fluxo de 50 mL.min⁻¹ do EFZ, M β CD, PVP K30 e os sistemas multicomponentes por MF 1% e MX 1%.

A curva de DSC da MF mostrou um evento endotérmico entre 163,3°C e 171,5°C (226,1 J/g), apresentando um pico alargado e deslocado para uma temperatura superior a fusão do fármaco isolado. Evento semelhante pode ser observado na curva do MX, que apresentou um evento endotérmico entre 160,6°C e 168,7°C (116,69 J/g). Levando-se em consideração a média dos pontos de fusão da MF e MX, observou-se que não existe diferença estatisticamente significativa entre eles de acordo com a análise de ANOVA *One-Way*, onde o $F_{\text{calculado}}$ (0,013) foi inferior ao F_{tabelado} (18,51).

Diante do exposto sugere-se que a presença da M β CD e do PVP K30 dificultam o processo de fusão do EFZ, fazendo com que haja tanto o deslocamento deste evento para temperaturas superiores, como alargamento desses picos e conseqüente aumento da energia de entalpia envolvida. Dessa forma, sugere-se que os sistemas obtidos podem estar proporcionando uma maior estabilidade ao fármaco, que poderá ser confirmada através da análise de TG.

Logo, a análise térmica por DSC não é, neste caso, uma ferramenta analítica conclusiva na busca de indícios de complexação dos sistemas multicomponentes (sistemas ternários) entre o fármaco, a ciclodextrina e o polímero hidrofílico.

5.2.1.3. Termogravimetria (TG)

De acordo com os resultados obtidos e apresentados na tabela 6 e figura 22, pode-se observar que tanto na MF quanto no produto do MX que as etapas de degradação são a soma das degradações individuais do EFZ, M β CD e PVP K30. Contudo, na MF a faixa de decomposição do EFZ ocorreu em temperatura inferior quando comparado ao IFA isolado, enquanto que na MX o processo de decomposição foi deslocado para temperaturas superiores.

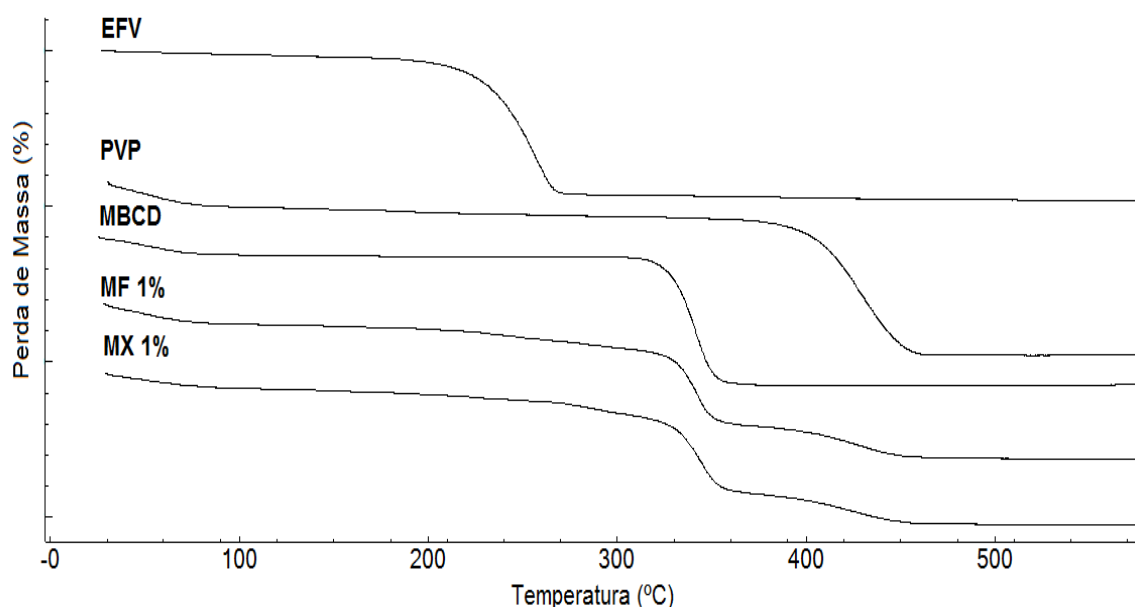


Figura 22. Curva de TG do EFZ, MβCD, PVP K30, MF 1% e MX 1%.

Além disso, o percentual de perda de massa do IFA foi significativamente inferior na MF, demonstrando que o produto obtido através da técnica de malaxagem proporcionou uma maior estabilidade ao EFZ, como pode ser melhor visualizado na tabela 6.

Tabela 6. Resultados obtidos através da termogravimetria

	Faixa de decomposição (°C)			% Perda de massa		
EFZ	231,9-266,4			88,6		
MβCD	332,9-350,4			82,5		
PVP K30	405,1-449,9			88,3		
	1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa	1ª etapa	2ª etapa	3ª etapa
MF	224,0-228,8	333,1-348,6	405,1-449,5	10,4	51,1	19,8
MX	272,6-281,2	332,9-352,7	402,5-447,4	9,6	50,7	17,7

5.2.1.4. Microscopia eletrônica de varredura

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para o conhecimento detalhado da microestrutura dos produtos (EFZ, MβCD, PVP K30, MF 1% e MX 1%) que permitiu

um melhor entendimento das propriedades correlacionando estrutura morfológica e o tamanho das partículas com os resultados obtidos através das demais análises realizadas na investigação da formação do sistema multicomponente.

As eletromicrografias dos materiais isolados (EFZ, PVP K-30, M β CD) e dos produtos (MF e MX) estão ilustradas na Figura 23.

Em geral, as partículas de ciclodextrina são globulares, medindo de 1 a 180 μ m, enquanto que os fármacos apresentam-se na forma de cristais menores, com formato irregular, mas com uma distribuição de tamanho de partícula mais homogênea (RIBEIRO *et al.*, 2003). Nas misturas físicas é possível distinguir as partículas de fármaco das partículas de ciclodextrina. Porém, quando um complexo é formado, o estado cristalino resultante é diferente do obtido pela simples mistura da molécula hóspede com a CD.

Apesar dos estudos de MEV serem inadequados para confirmar a formação de complexos de inclusão, as alterações drásticas na forma das partículas, bem como no seu aspecto e tamanho apontam para a existência de novas formas de arranjos.

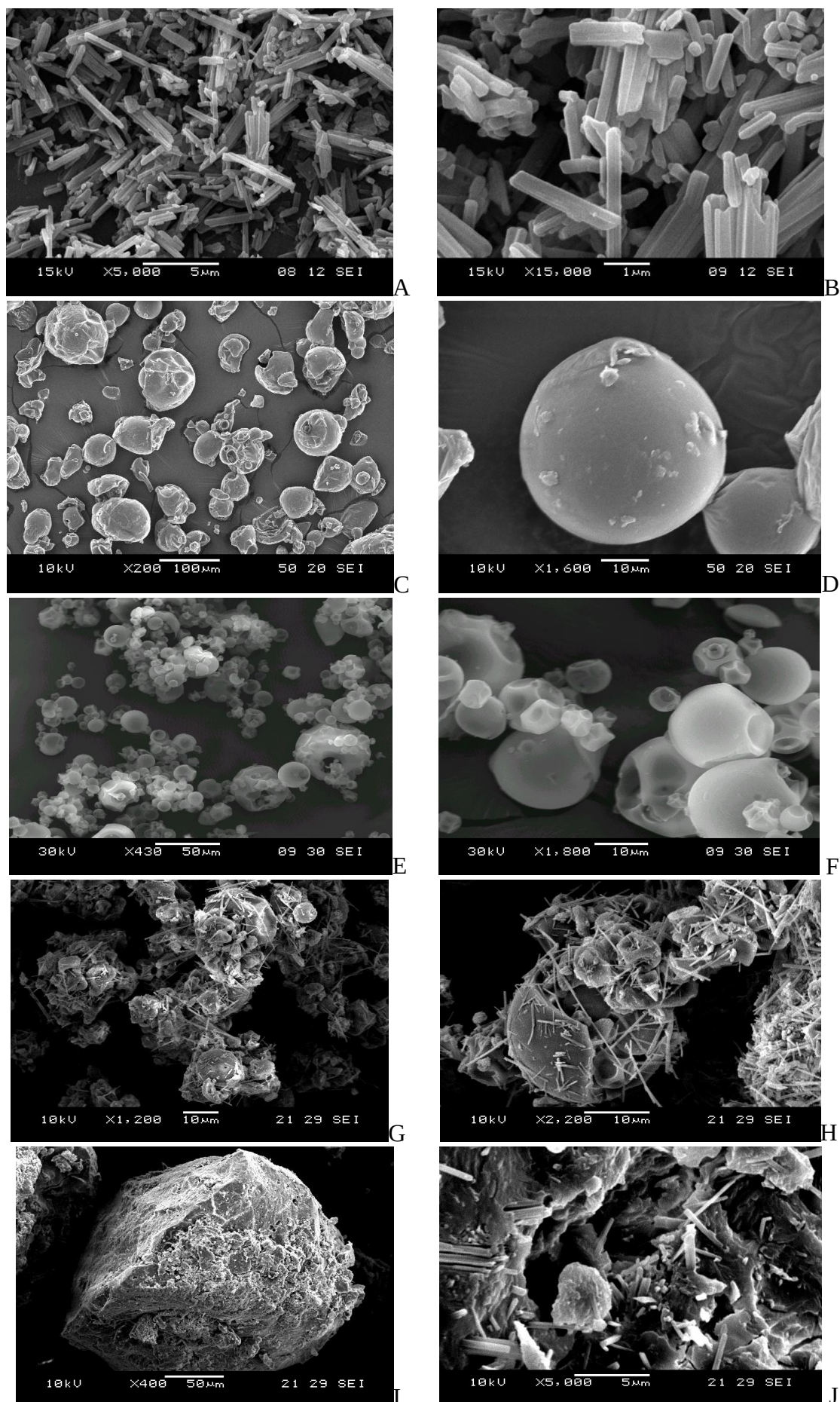


Figura 23. Eletromicrografias de MEV: (A-B) EFZ; (C-D) PVP K30; (E-F) M β CD; (G-H) MF - EFZ + M β CD + 1% PVP K-30; (I-J) MX – EFZ+ M β CD + 1% PVP K-30.

Através das imagens pode-se observa a forma cristalina do fármaco EFZ, apresentando cristais irregulares de formato ortorrômbico (Figura X, A-B), enquanto que o PVP K-30 (Figura X, B-C) e a M β CD (Figura X, D-E) são compostos por partículas esféricas características.

As eletromicrografias das MF foram observadas em dois aumentos (Figura X, G-H), onde, em ambos, podemos visualizar a permanência do IFA na sua forma cristalina, apesar de estar somente aderida superficialmente nos excipientes, os quais permaneceram com a mesma morfologia. O mesmo não ocorre com o MX (Figura X, I-J), que em menor aumento observam-se partículas uniformes, demonstrando mudanças nas formas originais tanto do IFA como dos excipientes, contudo, no maior aumento (5.000 vezes) pode-se visualizar o fármaco ora inserido totalmente, ora inserido parcialmente na partícula, a provar que esse fármaco pouco inserido ainda em sua forma cristalina é detectável ao ponto de corroborar com as caracterizações por DSC e por DRX.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

- Na caracterização do insumo farmacêutico ativo EFZ por DRX, foi comprovada a cristalinidade do fármaco devido a existências de um pico primário intenso em $6,24^\circ$, característico de fármacos cristalinos, além de picos secundários menos intensos entre $10,56^\circ$ a $25,02^\circ$.
- O IV-TF foi utilizado para confirmação da estrutura química do EFZ, através de bandas características de alguns grupos funcionais.
- A técnica de DSC por aquecimento-resfriamento-aquecimento, foi utilizada para confirmação da forma polimorfa 1 do EFZ, através da permanência da faixa de fusão em $123,31^\circ\text{C}$ e $145,20^\circ\text{C}$.
- Através do TG pode-se observar o perfil de degradação do fármaco, indicando sua decomposição entre $244,31^\circ\text{C}$ a $274,49^\circ\text{C}$.
- As electromicrografias obtidas pelo MEV confirmaram o difratograma, que indica a cristalinidade do fármaco pelo formato ortorrômbico de tamanho regular.
- A solubilidade é um fator limitante na dissolução do EFZ, não atingindo uma porcentagem de dissolução significativa, menor de 40%, porém em comparação ao efavirenz cápsula 200 mg, os excipientes da formulação foram fundamentais para que o EFZ apresentasse níveis relevantes de dissolução, acima de 80%.
- No diagrama de solubilidade com complexo de inclusão utilizando a M β CD a 20 mM, foi atingindo um aumento na solubilidade do EFZ que era inicialmente de 9 $\mu\text{g/mL}$ até 75,569 $\mu\text{g/mL}$, aumento este em 739,64%.
- No diagrama de solubilidade com o sistema multicomponente foi notado que com a adição de polímeros hidrofílicos, especificamente neste caso o PVP K30, houve ainda um incremento na solubilidade do EFZ para 82,12 $\mu\text{g/mL}$, sendo em percentual de 812,44%.

- A adição do PVP K30 em concentrações elevadas mostrou-se eficaz, porém com a presença da M β CD esse aumento na solubilidade do EFZ foi mais significativo.
- Através da realização de estudos prévios de complexos de inclusão e sistemas multicomponentes, através do diagrama de solubilidade, foi possível encontrar a melhor interação entre a ciclodextrina e o polímero hidrofílico, para assim prosseguir com a obtenção do sistema multicomponente no estado sólido.
- O sistema multicomponente que se destacou foi o obtido através da técnica de malaxagem, EFZ – M β CD (20 mM) - PVP K30 (1%), possibilitando um incremento na solubilidade do fármaco, que na dissolução apresentou liberação superior a 80%.
- No DRX visualizou-se a diminuição dos principais picos do EFZ característicos da sua cristalinidade, principalmente no pico em 6,24°.
- Através do espectro na região de infravermelho com transformada de Fourier observou-se que a vibração do estiramento C $\equiv$ C em 2249 mostra-se praticamente ausente no sistema MX, sugerindo que haja complexação da M β CD nessa região do efavirenz, o ciclopropano.
- No DSC observou um aumento do PF do EFZ entre 123,31 e 145,20°C para 160,6°C e 168,7°C, onde a energia de entalpia foi elevada, caracterizando estabilidade do sistema.
- No TG, o processo de decomposição ocorreu em três etapas características do EFZ, PVP K30 e da M β CD, cuja perda de massa foi menor para todos os componentes. Porém, no MX a perda de massa do IFA foi significativamente inferior ao da MF, demonstrando que o produto obtido através da técnica de malaxagem proporcionou uma maior estabilidade ao EFZ.
- As eletromicrografias do MX evidenciaram a mudança de morfologia dos excipientes, juntamente com a inserção parcial do fármaco no sistema, corroborando com o DSC e DRX na diminuição da cristalinidade do IFA.

- Pode-se concluir que através do complexo de inclusão foi possível a escolha da melhor CD a fim de obter o mais eficiente sistema multicomponente com o melhor polímero hidrofílico, capaz de aumentar a solubilidade e o perfil de dissolução do EFZ, podendo ser considerada uma técnica promissora para fármacos pouco solúveis.
- Os resultados obtidos destacam-se pela inovação tecnológica associada às possíveis vantagens biofarmacêuticas, os quais poderão ser úteis para a formulação de novos medicamentos com esse fármaco em diversas formas farmacêuticas, podendo atingir diversas classes de pacientes em tratamento, com custos mais acessíveis.

Perspectivas

PERSPECTIVAS

- Caracterizar o sistema sistema multicomponente EFZ – M β CD – PVP K30 obtido no estado solido por RMN.
- Realizar outras caracterizações do sistema multicomponente EFZ – M β CD – PVP K30 obtido no estado solido como doseamento, teor de unidade, tamanho de partícula, teor de umidade, densidade, entre outras.
- Desenvolvimento de formas farmacêuticas sólida e/ou líquida.
- Patentear o Sistema Multicomponente EFZ – M β CD – PVP K30.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIA BIBLIOGRAFICA

ALENCAR, J. S.; BEDOR, D.C.G.; MEDEIROS, F.; ALENCAR, J.R.B. ; LEITE, A.C.L.; BRONDANI , D. J.; GALEMBECK, A.; MACÊDO, R.; ALBUQUERQUE, M.M. & ROLIM NETO, P. J..Caracterização e propriedades térmicas do ritonavir para qualificação de fornecedores. *Acta Farm. Bonaerense*. v. 25, n. 2, p. 170-176, 2006.

AGUIAR, G.; FARIA, L.G.; FERRAZ, H.G.; SERRA, C.H.R.; PORTA, V.. Avaliação biofarmacotécnica *in vitro* de formas farmacêuticas sólidas contendo doxiciclina. *Revista Brasileira de Cienias Farmacêuticas*. [online]., v. 41, n. 4, p. 451-548, 2005.

AIDS. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br>>, 2009. Acesso em: 25. jan. 2010.

ALENCAR, J.S.; BEDOR, D. C. G.; MEDEIROS, F.; ALENCAR, J. R.B.; LEITE, A. C. L.; BRONDANI, D. J. ; GALEMBECK, A.; MACÊDO, R.; ALBUQUERQUE, M. M.; ROLIM-NETO, P. J. Caracterização e propriedades térmicas do ritonavir para qualificação de Fornecedores. *Acta Farmacêutica. Bonaerense*, v.25, p.170-176, 2006.

ALMEIDA, M. V.; SOUZA, M. V. N. Drogas Anti-HIV: passado, presente e perspectivas futuras. *Química Nova*, v.26, n. 3, p.366-372, 2003.

ALMOND, L. M.; HOGGARD, P. G.; EDIRISINGHE, D.; KHOO, S. H.; BACK, D. J.; Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals. *Journal of . Antimicrobial Chemotherapy*, n.56, p. 738-744, 2005.

ALVES, L.D.S., Desenvolvimento de dispersões sólidas binárias visando o incremento da solubilidade aquosa do antirretroviral efavirenz. Dissertação de Mestrado em Inovação Terapêutica. Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, 2010.

ALVES, L.D.S.; ROLIM, L.A.; FONTES, A.A.F.; ROLIM-NETO, P.J. SOARES, M.F.L.R.; SOARES SOBRINHO, J.L.. Desenvolvimento de método analítico para

quantificação do Efavirenz por espectrofotometria no UV-Vis. *Química Nova*, In Press, 2010.

ANVISA. Disponível em:
<<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home/medicamentos>>. Acesso em: 30 Out. 2010.

ASBAHR, A.C.C. Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de finasterida. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.

BARSOTTI, V; SGARBI, C.R; MORENO, P.F.B; MIOTTO, A C S; RUIZ, FJG. Lipodistrofia e a síndrome da imunodeficiência adquirida. *Revista da Faculdade de Ciências Médicas de Sorocaba*, Sorocaba, n. 3, v. 9, p. 4 - 7, 2007.

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

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Protocolo de assistência farmacêutica em DST/HIV/AIDS: recomendações do Grupo de Trabalho de Assistência Farmacêutica Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

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

BRITTO, M. A. F. O.; NASCIMENTO-JUNIOR, C. S.; SANTOS, H. F. Análise Estrutural de Ciclodextrinas: Um Estudo Comparativo entre Métodos Teóricos Clássicos e Quânticos. *Química Nova*, v. 27, n. 6, p. 882-888, 2004.

BUDAL, R. M. Estudos de formação de complexos de inclusão em ciclodextrinas. Tese de doutorado em química orgânica. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2003.

CANNAVA, C.; CRUPI, V.; FICARRA, P.; GUARDO, M.; MAJOLINO, D.; STANCANELLI, R.; VENUTI, V. Physicochemical characterization of coumestrol/ β -cyclodextrins inclusion complexes by UV-vis and FTIR-ATR spectroscopies. *Vibrational Spectroscopy*, v. 48, p.172–178, 2008.

CASEIRO, M. M., Prevalência de Infecção pelo HIV-1 no período de 1995-2000 e resistência genotípica primária dos anti-retrovirais no Centro de Listagem Anônima para o HIV-1 do município de Santos/SP – 2001, Tese (Doutorado), Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, 2001.

CHALLA, R.; AHUJA, A.; ALI, J.; KHARL, R.K. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review, *AAPS PharmSciTech*, v. 6, p.329–357, 2005.

CUNHA-FILHO, M.S.S. & L.C.L. SÁ-BARRETO. Ciclodextrina Importante excipiente farmacêutico funcional. *Latin American Journal of Pharmacy*., v. 28, n.1, p.1-9, 2007.

CUPPARI, L.. Nutrição Clínica no Adulto. 2.ed São Paulo, Manole, 2005.

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

FERNANDES, C.M. & F.J.B. VEIGA. Effect of the Hydrophobic Nature of Triacetyl- β -cyclodextrin on the Complexation with Nicardipine Hydrochloride: Physicochemical and Dissolution Properties of the Kneaded and Spray-dried Complexes. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*; v. 50, n. 12, p.1597-1602, 2002.

FIGUEIRAS, A.; SARRAGUÇA, J.M.G.; CARVALHO, R.A.; PAIS, A.A.C.C.; VEIGA, F.J.B. Interaction of omeprazole with a methylated derivative of β -ciclodextrin: Phase solubility. NMR spectroscopy and molecular simulation. *Pharmaceutical Research*, v.24, p.377-389, 2007.

FROMMING, K.; SZEJTLI, J. Cyclodextrin in pharmacy. *Dordrecht: Kluwer Academic*, 219p, 1994

GALLO, R. C.; MONTAGNEIR, L.; Pharmacological strategies for anti-HIV therapy: SCIENT, AM.. V. 259, n . 41, p. 10-16, 1988.

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

GÓRNAS P, NEUNERT GZ, SKI KB, POLEWSKI K. Beta-cyclodextrin complexes with chlorogenic and caffeic acids from coffee brew: Spectroscopic, thermodynamic and molecular modelling study. *Food Chem*; v.114, p.190–196, 2009.

GRANGEIRO, A., TEIXEIRA, L., BASTOS, F.I., TEIXEIRA P.. Sustentabilidade da política de acesso a medicamentos anti-retrovirais no Brasil. *Revista Saúde Pública* [online]. v.40, p. 60-69, 2006.

GREBOGI, I. H. Obtenção e caracterização de complexos binários e ternários de dapsona. Dissertação de mestrado em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal do Paraná-UFPR, 2009.

GRILLO, R.; MELO, N. F. S.; FRACETO, L. F. Caracterização físico-química de complexo de inclusão entre hidroximetilnitrofurazona e hidroxipropil- β -ciclodextrina. *Quim. Nova*, Vol. 31, No. 2, 290-295, 2008.

GUEDES, F.L.; ALVES, G.M.C.; SANTOS, F.L.A.; LIMA, L.F.; ROLIM, L.A.; ROLIM NETO, P.J. Ciclodextrinas: como adjuvante tecnológico para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. *Rev Bras Farm* 2008; 89 (3): 220-225.

GUIMARÃES, M.M.M.; GRECO, D.B.; JÚNIOR, A.R.O.; PENIDO, M.G.; LUCAS JOSÉ DE C. MACHADO, L.J.C.. Distribuição da gordura corporal e perfis lipídico e glicêmico de pacientes infectados pelo HIV. *Arq Bras Endocrinol Metab.* São Paulo, v. 51, n.1, 2007.

HIGUCHI, T.; CONNORS, K. A. Phase solubility techniques. *Adv Anal Chem Instrum.* 4:117-212, 1965.

HEDGES, A.R. *Chem Rev.* 98 (1998) 2035-2044.

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.

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

LAURENT, C.; KOUANFACK, C.; KOULLA-SHIRO, S.; NKOUÉ, N.; BOURGEOIS, A.; CALMY, A.; LACTUOCK, B.; NZEUSSEU, V.; MOUGNUTOU, R., PEYTAVIN, G.; LIÉGEOIS, F.; NERRIENET, E.; TARDY, M.; PEETERS, M.; ANDRIEUX-MEYER, I.; ZEKENG, L.; KAZATCHKINE, M.; MPOUDI-NGOLÉ, E.; DELAPORTE, E. Effectiveness and safety of a generic fixed-dose combination of nevirapine, stavudine, and lamivudine in HIV-1-infected adults in Cameroon: open-label multicentre trial. *The Lance.* v. 364, p. 29-34, 2005.

JULLIAN, C.; MORALES-MONTECINOS, J.; ZAPATA-TORRES, G.; AGUILERA, B.; RODRIGUEZ, J.; ARÁN, V.; OLEA-AZAR, C. Characterization, phase-solubility, and molecular modeling of inclusion complex of 5-nitroindazole derivative with cyclodextrins. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, p. 5078-5084, 2008.

LIMA, A.L.M.; KIFFER, C.R.; UIP, D.E.; OLIVEIRA, M.S.; LEITE, O.H.M.. Perguntas e Resposta HIV/AIDS. 1ª ed. São Paulo: ATheneu, 1996. 261p.

LIMA, A.A.N. *Desenvolvimento de dispersões sólidas e complexos de inclusão para benznidazol em formas farmacêuticas sólidas*, 2008. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmaceuticas). Universidade Federal de Pernambuco.

LOFTSSON, T.; FRIKDRIKSDÓTTIR, H.; SIGURKDARDÓTTIR, A.M.; UEDA, H.. The effect of water-soluble polymers on drug-cyclodextrin complexation, *Int. J. Pharm.* 110, 169-177 (1994).

LOFTSSON, T & SIGURDARDÓTTIR, A. M. (1994)- The effect of polyvinylpirrolidone and hydroxypropyl methylcellulose on HPBCD complexation of hydrocortisone and its permeability though hairless mouse skin. **Eur. J. Pharm. Sci.** 2, 297-301.

LOFTSSON, T. e FRIKDRIKSDOTTIR, H. The effect of water-soluble polymers on the aqueous solubility and complexing abilities of b-cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics*, v.163, p.115-121. 1998.

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

LU, Y.; ZHANG, X.; LAI, J.; YIN, Z.; WU, W. Physical characterization of meloxicam- β -cyclodextrin inclusion complex pellets prepared by a fluid-bed coating method. *Particuology*, v.7, p.1–8, 2009.

MAMEDE, L. C.; CAETANO, B. L.; ROCHA, L. A; FERREIRA, E. M.; CESTARI, A.; KFURI C. R.; CIUFFI, K. J.; CALEFI, P. S.; MELLO, C.; CUNHA, W. R.; NASSAR, E. J.; *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **2006**, 27, 151.

MELO, F,S,N.; GRILLO, R.; ROSA, A.H.; Interaction between nitroheterocyclic compounds with β - cyclodextrins: Phase solubility and HPLC studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.** v. 47, p.865-869, 2008.

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. Programa Nacional de DST e AIDS. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/data/Pages/LUMISF7202394PTBRIE.htm>>. Acesso em: 10 abril de 2010.

NERY, C. G. C.; PIRES M. A. S.; PIANETTI, G. A.; SOARES, C. D. V.; *Braz. J. Pharm. Sci.* **2008**, *44*, 61.

OLIVEIRA, D. C., COSTA, T.L.; GOMES, A.M.T.; ACIOLI, S.; FORMOZO, G.A.; HERINGER, A. & GIAMI, A.. Análise da produção de conhecimento sobre o HIV/AIDS em resumos de artigos em periódicos brasileiros de enfermagem, no período de 1980 a 2005. Texto contexto - enfermagem, Florianópolis, v. 15, n. 4, 2006.

PEÇANHA ,E.P.; ANTUNES, O.A.C. & TANURI, A.. Estratégias farmacológicas para a terapia anti-AIDS. *Quím Nova*, v.25, p.1108-1116, 2002.

PINEL, A. C.; INGLES, E. O que é AIDS? São Paulo: Brasiliense, 1996.

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.

RADESCA, L. A.; MAURIN, M. B.; RABEL, S. R.; MOORE, J. R.; US pat. 6673372 **2004**.

RAJEWSKI, R. A.; STELLA, V. J. Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. In vivo drug delivery. *J Pharm Sci.* 85(11):1142-69, 1996.

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

RIBEIRO, A.F., MADALOSSO, C., VERAS, M.A.S.M., GUERRA, M.A.T., LEMOS, R.R.G. Epidemiologia. In: **Veronesi: Tratado de Infectologia**. Focaccia, R. (ed.). Atheneu, 2005. p. 118-37.

RIBEIRO, L., LOFTSSON, T., FERREIRA, D.; VEIGA, F.. Investigation and Physicochemical Characterization of Vinpocetine-Sulfobutyl ether b-cyclodextrin binary and ternary complexes. Chemical Pharmaceutical Bulletin, v.51, n.8, p.914-922. 2003.

RIBEIRO, L.; CARVALHO, R. A.; FERREIRA, D. C.; VEIGA, F. J. B.. Multicomponent complex formation between vinpocetine, cyclodextrins, tartaric acid and water-soluble polymers monitored by NMR and solubility studies. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 24, p.1–13, 2008.

RODRIGUES, O.P.; CARDOSO, T.F.M.; SILVA, M.A.S.; MATOS, J.R.; *Acta Farmacêutica. Bonaerense* 2005, 24, 383.

ROSEMBERG, Z.F. & FAUCI, A.S. Immunopathogenesis of HIV Infection/AIDS: Etiology, Diagnosis, Treatment and Prevention-J.B, *Lippincot Company Philadelphia*, Cap 4, 1992.

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.

SALIM, V.A.. Desenvolvimento de uma metodologia usando a termogravimetria para avaliação da retenção de co₂ em substrato sólido. Dissertação de mestrado na Pós-Graduação em Química da Universidade Federal Fluminense-UFF, 2005.

SMYKATZ-KLOSS, W. Differential thermal analysis – Application and Results in Mineralogy. Berlim/New York: Springer-Verlag, 1974.

SOARES-SOBRINHO, J. L.; LYRA, M. A. M; ALVES, L. D. S.; ROLIM-NETO, P. J.; *Latin American Journal of Pharmacy*. **2010**, 29, *In Press*.

VIEIRA, A.C.C. Obtenção e caracterização de complexo de inclusão e sistema multicomponentes no incremento da solubilidade do efavirenz na terapia anti-hiv

SOARES-SOBRINHO, J.L.. Sistemas de vetorização do benznidazol para o tratamento da doença de chagas. Tese de Doutorado na Pós-Graduação de Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Pernambuco-UFPE, 2009.

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.

SPRICIGO, R.; BOTELHO, K. C. A.; CONSIGLIERI, V. O.; SERRA, C. H. R. Obtenção e Avaliação de Complexos de Inclusão de Furosemida com β -ciclodextrinas e hidroxipropil- β -ciclodextrina: Efeitos sobre as Propriedades de Dissolução do Fármaco. *Latin American Journal of Pharmacy*, v. 27, p. 645-653, 2008.

SZEJTLI, J. Cyclodextrin and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chemical Reviews* v. 98, p.1743-1753, 1998.

VEIGA, F., TEIXEIRA-DIAS, J. J. C., KEDZIEREWICZ, F.; SOUSA, A.; MAINCENT, P.. Inclusion complexation of tolbutamide with β -cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *International Journal of Pharmaceutics* v.129, p.63-71. 1995.

VEIGA, F.J.B.; PECORELLI, C.C.M.F.; RIBEIRO, S.S.L.; As Ciclodextrinas em Tecnologia Farmacêutica. 1ª Ed. Revisão e Orientação Gráfica Minerva Coimbra, 2006.

VENTURINE CG, NICOLINE J, MACHADO C, MACHADO VG. Propriedades e aplicações recentes das ciclodextrinas. *Química Nova*, v.31, n.2, p. 360-368, 2008.

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

YAMAKAWA, T. & NISHIMURA, S. Liquid formulation of a novel non-fluorinated topical quinolon, T-3912, utilizing the synergic solubilizing effect of the combined use of magnesium ions and hydroxypropyl- β -cyclodextrin. *Journal of Controlled Release*, v. 86, p. 101–113, 2003.

WHO, UNAIDS and UNICEF. Towards universal access: Scaling up priority HIV/AIDS interventions in the health sector, Progress Report, 2009.

Anexos

7. ANEXOS

Anexo A - Resumos apresentados em anais de Congressos Nacionais e Internacionais.

Resumo - Aplicação de polímeros hidrofílicos no incremento da solubilidade aquosa do efavirenz.

XX Congresso Pan-Americano de Farmácia e XIV Congresso da Federação Farmacêutica Sul-Americana, 2010, Porto Alegre.

Resumo - Incremento da solubilidade aquosa do efavirenz através da formação de complexo de inclusão.

XX Congresso Pan-Americano de Farmácia e XIV Congresso da Federação Farmacêutica Sul-Americana, 2010, Porto Alegre.

Resumo - Utilização da modelagem molecular para caracterização de complexos de inclusão.

II Congresso De Biomedicina E Farmácia E Medicamentos, 2010, Caruaru.

Resumo - Avaliação da solubilidade aquosa do antirretroviral efavirenz em sistemas multicomponentes com β CD e PEG 4000.

II Congresso De Biomedicina E Farmácia E Medicamentos, 2010, Caruaru.

Resumo - Avaliação do complexo de inclusão e de sistema multicomponente no incremento da solubilização do efavirenz.

1º Workshop Brasileiro de Tecnologia Farmacêutica e Inovação, 2011, Sergipe.

Resumo - Estudo de solubilidade dos fármacos efavirenz, zidovudina e lamivudina em diferentes meios de dissolução.

1º Workshop Brasileiro de Tecnologia Farmacêutica e Inovação, 2011, Sergipe.

Resumo - Caracterização do insumo farmacêutico ativo (IFA) efavirenz: forma polimorfa I
IV Congresso ibero-americano de Ciências Farmacêuticas , 2011, Lisboa – Portugal

Anexo B – Submissão do artigo.

Data: 21 Feb 2011 08:45:07 -0500

De: AAPSPPT Editorial Office <aapsptsubmit@aaps.org>

Reponder para: AAPSPPT Editorial Office aapsptsubmit@aaps.org

Assunto: Submission Confirmation for *Physical-chemical and physical characterization of the antiretroviral efavirenz polymorphic form I: a pharmaceutical technology approach*.

Para: Pedro José Rolim-Neto <pedro.rolim@pq.cnpq.br>

Dear Dr. Rolim-Neto,

Your submission entitled "*Physical-chemical and physical characterization of the antiretroviral efavirenz polymorphic form I: a pharmaceutical technology approach*" has been received by AAPS PharmSciTech.

An initial review of your manuscript to ensure compliance with all Author Instructions will be conducted by the Editorial Office. Upon completion of this initial review, you will receive either notification of an assigned manuscript number as the file is assigned to an Editor for peer review, or, an email from the Editorial Office requesting additional information, or corrections to the submission.

Thank you for submitting your work to AAPS PharmSciTech.

Kind regards,

AAPS PharmSciTech.

Anexo C – Depósito de Patente