

MAYZA ALVES MOREIRA

**PRODUÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE GENFIBROZILA POR
LIOFILIZAÇÃO: EFEITO DO PROCESSO DE CONGELAMENTO E DO VOLUME
PRODUZIDO SOBRE AS PROPRIEDADES DO PÓ**

JOINVILLE

2017

MAYZA ALVES MOREIRA

**PRODUÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE GENFIBROZILA POR
LIOFILIZAÇÃO: EFEITO DO PROCESSO DE CONGELAMENTO E DO VOLUME
PRODUZIDO SOBRE AS PROPRIEDADES DO PÓ**

Dissertação de mestrado apresentada como requisito para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos na Universidade da Região de Joinville. Professora Orientadora: Denise Abatti Kasper Silva. Professora Coorientadora: Bianca Ramos Pezzini.

JOINVILLE

2017

Catálogo na publicação pela Biblioteca Universitária da Univille

M836p
Moreira, Mayza Alves
Produção de dispersões sólidas de genfibrozila por liofilização: efeito do processo de congelamento e do volume produzido sobre as propriedades do pó/ Mayza Alves Moreira; orientadora Dra. Denise Abatti Kasper Silva, co-orientadora Dra. Bianca Ramos Pezzini. – Joinville: UNIVILLE, 2017.

83 f. : il. ; 30 cm

Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos – Universidade da Região de Joinville)

1. Genfibrozila. 2. Dispersões. 3. Secagem por congelação. I. Silva, Denise Abatti Kasper. (orient.). II. Pezzini, Bianca Ramos. (coorient.) III. Título.
CDD 615.1

Termo de Aprovação

“Produção de Dispersão Sólida de Genfibrozila por Liofilização: Efeito do Processo de Congelamento e do Volume produzido sobre as Propriedades do Pó”

por

Mayza Alves Moreira

Dissertação julgada para a obtenção do título de Mestre em Engenharia de Processos, área de concentração Engenharia de Processos e Tecnologias Limpas e aprovada em sua forma final pelo Programa de Mestrado em Engenharia de Processos.



Prof. Dra. Denise Abatti Kasper Silva
Orientadora (UNIVILLE)

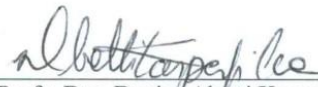


Prof. Dra. Bianca Ramos Pezzini
Coorientadora (UFSC)



Prof. Dra. Ana Paula Testa Pezzin
Coordenadora do Programa de Mestrado em Engenharia de Processos (UNIVILLE)

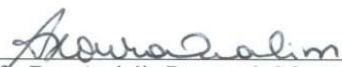
Banca Examinadora:



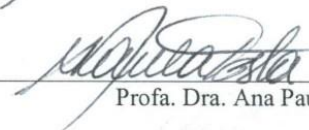
Prof. Dra. Denise Abatti Kasper Silva
Orientadora (UNIVILLE)



Prof. Dra. Bianca Ramos Pezzini
Coorientadora (UFSC)



Prof. Dra. Andréia Rosane de Moura Valim
(UNISC)



Prof. Dra. Ana Paula Testa Pezzin
(UNIVILLE)

Joinville, 23 de março de 2017.

Dedicada a Deus, à minha mãe Solange e ao meu irmão Junior, pelo apoio incondicional em todas as etapas da vida e por serem minha maior motivação.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar comigo em todos os momentos, me conduzindo e renovando esperanças.

À minha mãe Solange pelo apoio, incentivo, amor incondicional e por ser o maior exemplo de dedicação e caráter.

Ao meu irmão Junior, pelo companheirismo, por ser o meu primeiro e melhor amigo e por me motivar a ser cada dia melhor.

Ao meu pai Rogerio e meus avôs, que não estão mais presentes fisicamente, mas que guiam meus passos diariamente.

Ao meu noivo Rodrigo, por todo carinho, compreensão e por sempre acreditar nos meus sonhos e ser meu maior incentivador.

Aos meus sogros Carlos e Maristela, pelo apoio, compreensão e carinho em todos os momentos.

À minha amiga Ana Cristina Peruzzo, por estar comigo em todos os momentos do mestrado, compartilhando alegrias, tristezas e principalmente por me incentivar.

A todos os meus amigos pelo apoio, carinho, compreensão e momentos de descontração, tornando os momentos mais leves e felizes.

À minha orientadora, Profa. Dra. Denise Abatti Kasper Silva, pela dedicação em todas as etapas desta pesquisa, em especial a todo o conhecimento transmitido.

À minha coorientadora, Profa. Bianca Ramos Pezzini, pelas valiosas contribuições na realização deste trabalho.

Ao acadêmico Matheus Mews por todo auxílio e disposição em ajudar.

Às técnicas dos laboratórios, Cláudia Hack Gumz Correia e Aline Scheller Coan, pela atenção, dedicação e comprometimento na realização de inúmeras análises.

À técnica Daniela Westrupp pelo convívio e atenção sempre demonstrados durante os períodos de trabalho no laboratório de Controle de Qualidade da UNIVILLE.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela bolsa de mestrado.

Aos professores do Mestrado em Engenharia de Processos, por todo conhecimento compartilhado durante o curso.

A todos os colegas de turma, que me acolheram e incentivaram desde o início.

À mestre Ana Carolina Fanton precursora deste trabalho, pelo apoio, incentivo, palavras de carinho e disposição em ajudar.

Aos membros da banca examinadora, por aceitarem o convite de avaliar este trabalho, contribuindo com valiosas sugestões.

A todos que contribuíram de forma direta e indireta para a realização deste trabalho, meu muito obrigada!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

RESUMO

A genfibrozila (GFB), fármaco antilipêmico, pertencente à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) possuindo taxa de dissolução lenta em meio aquoso. Uma formulação de dispersão sólida (DS), empregando óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.), obtida por liofilização aumentou em no mínimo 60% a dissolução da GFB. Entretanto, mostrou-se relevante verificar o efeito de alguns parâmetros no processo de obtenção dessas DS. Neste contexto, os objetivos deste trabalho foi avaliar os efeitos do processo de congelamento e do volume de formulação produzida por batelada sobre as características físico-químicas das DS contendo GFB, utilizando óleo de alecrim a partir da técnica de liofilização. Os tipos de congelamento testados foram, o convencional em *freezer* (C) e o congelamento rápido, em concha (R). A partir de 2 formulações (C e D), que diferem entre si pela quantidade relativa de fármaco, gerou-se 8 amostras. As amostras foram caracterizadas por Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), Calorimetria exploratória diferencial (DSC), Difração de raios-X (DRX), Microscopia eletrônica de varredura (MEV), densidade verdadeira, área superficial específica, solubilidade aparente e eficiência de dissolução (ED%). As DS apresentaram aumento da solubilidade aparente e ED% de até 70% superior quando comparadas a GFB isolada. A melhora das características de dissolução e solubilidade observada para as DS, ocorreu devido à redução do grau de cristalinidade da GFB e ao aumento da área superficial. O tipo de congelamento e o volume produzido afetaram de forma distinta as formulações de DS, as que continham maior quantidade de fármaco foram as mais afetadas e foram evidenciadas nos resultados de MEV e área superficial específica. O processo de liofilização foi eficiente para a remoção do óleo de alecrim.

Palavras-chave: genfibrozila, óleo de alecrim, dispersões sólidas, liofilização.

ABSTRACT

The gemfibrozil (GFB), antilipemic drug, belonging to class II of the Biopharmaceutical Classification System (BCS), having slow dissolution rate in aqueous media. A solid dispersion formulation (SD) using rosemary oil (*Rosmarinus officinalis* L.) obtained by lyophilization increased the GFB dissolution by at least 70%. However, it was relevant to verify the effect of some parameters in the process of obtaining these SD. In this context, the objectives of this work were to evaluate the effects of the freezing process and the volume of formulation produced by batch on the physical-chemical characteristics of SD containing GFB, using rosemary oil from the lyophilization technique. The freezing types tested were, the conventional freezing (C) and the fast freezing, in shell (F). From 2 formulations (C and D), which differ from each other by the relative amount of drug, 8 samples were generated. The samples were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), Differential scanning calorimetry (DSC), X-ray diffraction (XRD), Scanning electron microscope (SEM), true density, specific surface area, apparent solubility and dissolution efficiency (DE%). DS had increased solubility and DE% of up to 70% higher when compared to isolated GFB. The improvement of the dissolution and solubility characteristics observed for the SD occurred due to the reduction of the crystallinity degree of the GFB and the increase of the surface area. The type of freezing and the volume produced differently affected the formulations of SD, those containing the highest amount of drug were the most affected and were evidenced in the results of SEM and specific surface area. The lyophilization process was efficient for the removal of rosemary oil.

Keywords: gemfibrozil, rosemary oil, solid dispersions, lyophilization.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Aerosil® 200 - Dióxido de silício coloidal

ANOVA – Análise de variância

C – Congelamento convencional

CG – Cromatografia gasosa

CV – Coeficiente de variação

d – Dobro de volume de emulsão preparada 200 mL

DCV - Doenças cardiovasculares

DP – Desvio padrão

DRX - Difração de raios-X

DS – Dispersões sólidas

DSC – Calorimetria exploratória diferencial

ED% - Eficiência de dissolução

EE – Efeito evidenciado

FC – Formulação C

FCC – Formulação C pelo método de congelamento convencional 100 mL

FCCd – Formulação C pelo método de congelamento convencional 200 mL

FCR – Formulação C pelo método de congelamento rápido 100 mL

FCRd – Formulação C pelo método de congelamento rápido 200 mL

FD – Formulação D

FDC – Formulação D pelo método de congelamento convencional 100 mL

FDCd – Formulação D pelo método de congelamento convencional 200 mL

FDR – Formulação D pelo método de congelamento rápido 100 mL

FDRd – Formulação D pelo método de congelamento rápido 200 mL

FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

GFB – Genfibrozila

HDL - Lipoproteína de alta densidade

Kollidon® CL-SF - Polivinilpirrolidona reticulada

Kollidon® VA64 - Vinilpirrolidona-co-acetato de vinila

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

Lutrol® F68 - Poloxamer 188

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

NE – Efeito não evidenciado

R – Congelamento rápido

SCB - Sistema de Classificação Biofarmacêutica

Span 80 - Monooleato de sorbitano

TG – Triglicerídeos

UV - Ultravioleta

PPAR-alfa - Receptores dos peroxossomos

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da genfibrozila.....	21
Figura 2 - Composições das quatro gerações de dispersões sólidas.	27
Figura 3 - Fluxograma experimental da metodologia utilizada para o desenvolvimento deste trabalho.....	35
Figura 4 - Simbologia empregada para denominar cada amostra obtida a partir das formulações FC e FD, tipos de congelamento (Convencional – C ou Rápido – R) quantidade produzida (volume de 100 mL – sem indicação ou o dobro de 200 mL – d).	37
Figura 5 - Congelamento convencional - C (a) e congelamento rápido - R (b)	38
Figura 6 - Espectro da GFB com as principais bandas em destaque.....	44
Figura 7 - Espectros de FTIR dos componentes isolados e das misturas. (A) GFB Aerosil® 200; (B) GFB Kollidon® CLSF; (C) GFB Kollidon® VA64; (D) GFB Lutrol® F68.	46
Figura 8 - Espectros das formulações FC (a) e FD (b) agrupados com GFB isolada.	47
Figura 9 - Espectros de FTIR ampliados das formulações FC (a) e FD (b) agrupados com GFB isolada.	48
Figura 10 - Espectros das formulações FCC e FCR (a) e FDC e FDR (b) agrupados com GFB isolada.	50
Figura 11 - Curvas de DSC do fármaco GFB e excipientes isolados (a) e GFB isolada e misturas 1:1 (m/m) com os excipientes avaliados.	52
Figura 12 - Curvas de DSC da GFB e das formulações FC (a) e FD (b).	53
Figura 13 - Difrátogramas da GFB e das formulações FC (a) e FD (b).	56
Figura 14 - Micrografias obtidas para a GFB isolada nos aumentos de 35X e 500X.	59
Figura 15 - Micrografias obtidas para as formulações FC nos aumentos de 35X e 500X.	60
Figura 16 - Micrografias obtidas para as formulações FD nos aumentos de 35X e 500X.	62

Figura 17 - Resultados de área superficial específica (a) e densidade verdadeira (b). Os resultados de densidade são apresentados pelos valores médios e desvio padrão de cinco determinações.	65
Figura 18 - Perfil de dissolução das formulações FC e FD e GFB isolada.....	69
Figura 19 - Cromatograma do Padrão (Óleo de alecrim), Branco e formulações FC.	71
Figura 20 - Cromatograma do Padrão (Óleo de alecrim), Branco e formulações FD.	71

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Estratégias propostas na literatura para melhorar o perfil de dissolução da GFB.....	24
Quadro 2 - Composição das formulações FC e FD, função e respectivas fases da emulsão em que os componentes estão inseridos.....	36
Quadro 3 - Quadro resumo de resultados com indicação de efeito evidenciado (EE) e efeito não evidenciado (NE).....	72

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Estrutura molecular do fármaco GFB, suas principais bandas presentes no espectro e grupos funcionais correspondentes.	44
Tabela 2 - Resultados de área superficial específica e densidade verdadeira. Os resultados de densidade são apresentados pelos valores médios e desvio padrão de cinco determinações.	64
Tabela 3 - Formulações e respectivos teores médios de fármaco, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV).	67
Tabela 4 - Resultados de solubilidade aparente da GFB e das formulações FC e FD em tampão fosfato pH 6,8.	68
Tabela 5 - Eficiência de dissolução (ED%) da GFB isolada e formulações FC e FD.	69

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS	20
2.1 GERAL	20
2.2 ESPECÍFICOS	20
3 REFERENCIAL TEÓRICO	21
3.1 GENFIBROZILA	21
3.2 ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS.....	22
3.3 DISPERSÕES SÓLIDAS.....	25
3.4 TÉCNICAS DE OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS.....	27
3.5 LIOFILIZAÇÃO	29
3.6 CONGELAMENTO/SOLIDIFICAÇÃO NA LIOFILIZAÇÃO	30
3.7 POLÍMEROS E EXCIPIENTES	31
3.8 ÓLEO DE ALECRIM (<i>ROSMARINUS OFFICINALIS</i> L.)	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1 MATERIAIS	35
4.2 ORGANIZAÇÃO EXPERIMENTAL DA PESQUISA	35
4.3 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES E NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS.....	36
4.4 LIOFILIZAÇÃO DAS EMULSÕES	38
4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS OBTIDAS	38
4.5.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	38
4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	39
4.5.3 Difração de raios-X (DRX)	39
4.5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	39
4.5.5 Densidade verdadeira.....	39
4.5.6 Análise de área superficial.....	40
4.5.7 Determinação do teor de fármaco nas amostras.....	40

4.5.8 Determinação da solubilidade aparente	40
4.5.9 Perfil de dissolução.....	41
4.6 ANÁLISE DE PRESENÇA DO ÓLEO DE ALECRIM RESIDUAL NAS DS.....	41
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	43
5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS OBTIDAS.....	43
5.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	43
5.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	51
5.1.3 Difração de raios-X (DRX).....	55
5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	58
5.1.5 Determinação de área superficial específica e densidade verdadeira	64
5.1.6 Determinação do teor de fármaco nas amostras.....	67
5.1.7 Determinação da solubilidade aparente	67
5.1.8 Perfil de dissolução	68
5.2 ANÁLISE DA PRESENÇA DO ÓLEO DE ALECRIM RESIDUAL NAS DS	70
5.3 ANÁLISE GERAL DO CONJUNTO DE RESULTADOS.....	72
CONCLUSÃO	73
RECOMENDAÇÕES.....	74
REFERÊNCIAS.....	75

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares (DCV) são as causas mais comuns de morbimortalidade em todo mundo (GOMES *et al.*, 2015a; TOWNSEND *et al.*, 2015). Alguns fatores de risco são causas diretas das DCV; os principais incluem o tabagismo, a hipertensão arterial, o colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade) e a glicose elevados. O nível baixo de colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) é considerado um fator de risco principalmente porque prediz a incidência de DCV (XAVIER *et al.*, 2013)

A dislipidemia, incluindo a hiperlipidemia, caracterizada por altos níveis sanguíneos de colesterol LDL, triglicerídeos (TG) e baixos níveis de colesterol HDL, está entre as principais causas de DCV em todo o mundo (MIHAYLOVA *et al.*, 2012). Estima-se que o número anual de mortes por DCV aumentará de 17 milhões em 2008 e chegará a 25 milhões em 2030 (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2012).

Vários ensaios clínicos demonstram que o controle das dislipidemias, em especial as reduções do LDL, têm se associado a importantes benefícios na redução de eventos e mortalidade cardiovascular (XAVIER *et al.*, 2013).

O tratamento da hiperlipidemia compreende duas grandes abordagens: medidas terapêuticas farmacológicas ou não farmacológicas. Os medicamentos utilizados para essa finalidade podem apresentar maior atuação sobre os níveis de colesterol total e frações ou de triglicerídeos (BRAGA *et al.*, 2008). A escolha da classe terapêutica está condicionada ao tipo de alteração lipídica presente.

Os fibratos são fármacos que reduzem significativamente os níveis de TG e aumentam a concentração de HDL, sendo que a genfibrozila (GFB) apresenta maior eficácia sobre essa categoria de dislipidemia (MOSTAZA & LAHOZ, 2014; ELIKIR, 2010). A GFB atua na redução dos níveis de TG e colesterol LDL, inibindo a lipólise periférica e diminuindo a captação hepática de ácidos graxos livres (GOODMAN *et al.*, 2012; MILLER, 2002). É uma droga lipofílica não higroscópica, possui alta permeabilidade através da membrana intestinal e baixa solubilidade e taxa de dissolução no trato gastrointestinal o que limita sua absorção e biodisponibilidade, e por isso estando classificada como classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) (AMIDON *et al.*, 1995; AIGNER *et al.*, 2012; HUANG *et al.*, 2008).

Os fármacos pouco solúveis em água possuem absorção limitada pela velocidade de dissolução, pois podem passar pelo seu local de absorção antes da dissolução completa (BAGHEL *et al.*, 2015). Devido à sua baixa absorção e biodisponibilidade, a GFB é administrada em doses elevadas, de 600 a 1200 mg ao dia, que podem ser divididas em duas doses (GOODMAN *et al.*, 2012; XAVIER *et al.*, 2013). A dosagem elevada do medicamento é necessária para que sua concentração sanguínea alcance níveis terapêuticos, favorecendo, desta forma, o aumento da toxicidade e maior aparecimento de efeitos colaterais que podem levar a uma redução na adesão do paciente ao tratamento (KAWABATA *et al.*, 2011).

A insolubilidade de fármacos em água sempre foi um obstáculo na formulação farmacêutica, afetando a estabilidade desta e a biodisponibilidade do medicamento (KAWABATA *et al.*, 2011; KIPP, 2004), sendo assim de grande interesse entre os formuladores desenvolver métodos eficientes, rentáveis e escaláveis para aumentar a solubilidade aquosa de fármacos de classe II e IV do SCB (BAGHEL *et al.*, 2015).

No caso de fármacos insolúveis, a biodisponibilidade pode ser melhorada por meio da micronização da matéria-prima, que promove o aumento da sua área superficial (VANDANA *et al.*, 2014; YASUJI; TAKEUCHI; KAWASHIMA, 2008). Entre outros métodos para melhorar a dissolução de fármacos fracamente solúveis está o uso de reações químicas, que convertem a estrutura do fármaco para a forma salina, geralmente mais solúvel (KAWABATA *et al.*, 2011), ou ainda, pode-se converter a forma cristalina, que é pouco solúvel, na forma amorfa, que é mais solúvel e possui maior velocidade de dissolução (GUO *et al.*, 2013; ADIBKIA *et al.*, 2013). Outro método para melhorar a dissolução de formas farmacêuticas é a formulação de dispersões sólidas (DS) contendo o fármaco, que aumenta a solubilidade aquosa e conseqüentemente, melhora a biodisponibilidade do fármaco (GURUNATH *et al.*, 2013; HUANG & DAI, 2014; VO; PARK; LEE, 2013).

Uma DS é um sistema de dois ou mais componentes, no qual o fármaco é disperso em uma matriz polimérica (HUANG & DAI, 2014). A maioria das DSs é preparada usando polímeros altamente solúveis em água como carreador, sendo o polímero amorfo ou parcialmente cristalino (ZHU *et al.*, 2012).

A DS é estabelecida como uma tecnologia de plataforma para a formulação de fármacos pouco solúveis. Especificamente, a tecnologia de DS foi aplicada com sucesso no desenvolvimento de formulações com uma elevada carga de fármaco e

contendo fármacos com uma elevada tendência para cristalizar (HUANG & DAI, 2014). Vários autores classificaram a formulação de DSs como um dos métodos mais eficazes para melhorar a dissolução dos fármacos (BAIRD & TAYLOR, 2012; ASARE-ADO, 2015; AL-HAMIDI, 2010). Dentre as vantagens de produção de DSs estão a redução do tamanho das partículas, possivelmente a nível molecular, aumentando a molhabilidade da forma farmacêutica final, bem como alterando o estado cristalino do fármaco para o estado amorfo (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; VO; PARK; LEE, 2013).

Existem vários métodos de preparo de DSs, sendo o *spray drying* (ADIBKIA *et al.*, 2013) e o *hot melt extrusion* (DJURIS *et al.*, 2014; PINA *et al.*, 2014) os mais utilizados. A técnica de secagem por liofilização, mesmo não sendo desenvolvida com a finalidade de produção de DS (KASPER *et al.*, 2013) é muito utilizada na indústria farmacêutica, na produção de fármacos liofilizados, a exemplo: produtos imunológicos, substâncias derivadas da engenharia genética, proteínas de alta massa molecular e peptídeos, por serem muito frágeis, difíceis de congelar e altamente sensíveis ao teor de umidade residual e por isso demandam de um processo muito bem projetado e otimizado (TANG & PIKAL, 2004).

Para obtenção de DS pelo método de liofilização, o fármaco e o veículo são dissolvidos em um solvente comum, congelados e submetidos a um processo de sublimação sob vácuo. A etapa de congelamento é de extrema importância para o processo de liofilização, pois influencia diretamente o número, tamanho, forma e a distribuição dos cristais de gelo (KASPER & FRIESS, 2011), sendo nesta etapa em que todos os fluidos presentes se tornam corpos sólidos, que podem ser cristalinos ou amorfos (REY & MAY, 2010).

Uma desvantagem do método de liofilização é a de que a maioria dos solventes orgânicos utilizados para o desenvolvimento das DSs possui temperatura de solidificação baixa e não permanece congelado durante o processo de sublimação. Porém, a técnica de liofilização não precisa ser desenvolvida necessariamente com o uso destes solventes (KASPER & FRIESS, 2011).

Uma alternativa à utilização de solventes orgânicos na produção de DSs por liofilização é o emprego de óleos essenciais. Em um estudo realizado por Villar e colaboradores (2012) óleos essenciais de limão, anis e hortelã foram utilizados para a produção de sistemas auto-emulsionantes contendo GFB e obtiverem melhor

dissolução do fármaco. O óleo essencial de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) possui características moleculares responsáveis pela sua alta volatilidade, o que permite que o óleo seja carregado junto à água no processo de liofilização (FANTON, 2015).

No estudo precursor deste trabalho, realizado por Fanton (2015), foram obtidas DSs contendo GFB por liofilização utilizando o óleo de alecrim como solvente. As formulações de DSs apresentaram diminuição da cristalinidade da GFB e melhora significativa na dissolução do fármaco, um aumento de pelo menos 60% na dissolução quando comparadas ao fármaco puro. Considerando esses resultados, o presente trabalho teve como objetivo aprofundar o estudo sobre o processo de obtenção das DSs contendo GFB por liofilização, usando o óleo de alecrim. Esse aprofundamento se deu avaliando o efeito do processo de congelamento e o volume de formulação produzida sobre algumas propriedades físico-químicas das formulações. A análise da presença do óleo de alecrim residual nas DSs também foi realizada.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Avaliar os efeitos do processo de congelamento e do volume de formulação produzida por batelada sobre as características físico-químicas das DSs contendo GFB, utilizando óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) a partir da técnica de liofilização.

2.2 ESPECÍFICOS

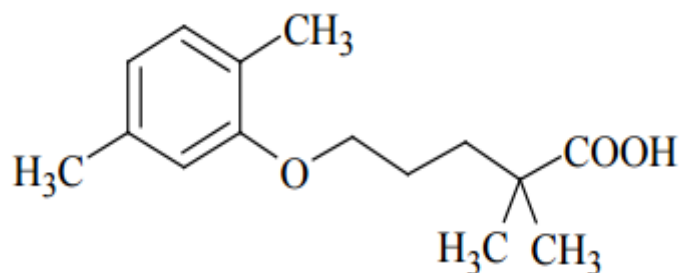
- Preparar DSs contendo GFB utilizando óleo de alecrim pelo método de liofilização;
- Caracterizar as DSs quanto à morfologia, densidade e área de superfície das partículas;
- Caracterizar as DSs quanto ao comportamento térmico e à cristanilidade;
- Determinar o teor de substância ativa, a solubilidade aparente e o perfil de dissolução das DSs;
- Verificar a presença do óleo de alecrim nas DSs obtidas;
- Analisar a influência do processo de congelamento, do volume produzido e do óleo de alecrim residual sobre as características das DSs.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 GENFIBROZILA

A genfibrozila (GFB), denominada quimicamente como ácido 5-(2-5-dimetilfenóxi)-2,2-dimetilpentanóico possui fórmula molecular $C_{15}H_{22}O_3$ e massa molar de 250,33 g/mol. É um pó cristalino, branco ou quase branco, ceroso, praticamente insolúvel em água e facilmente solúvel em metanol, sua faixa de fusão é de 58°C a 61°C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). A estrutura química da GFB é apresentada na Figura 1.

Figura 1 - Estrutura química da genfibrozila.



Fonte: Farmacopeia Brasileira (2010).

A GFB pertence à classe dos fibratos. É um fármaco hipolipemiante, empregado no controle das lipidemias, muito utilizado em especial, para elevar o colesterol HDL e reduzir o risco de DCV (ROTLLAN *et al.*, 2011). É administrado de 600 a 1200 mg ao dia, como preconizado na V Diretriz Brasileira de dislipidemias (2013) e pode aumentar os níveis de colesterol HDL de 5 a 30% e reduzir os níveis de TG de 20 a 60% (XAVIER *et al.*, 2013).

Os fibratos são fármacos ligantes que ativam os receptores dos peroxissomos (PPAR-alfa), que são expressos primariamente no fígado e no tecido adiposo, e em menor grau, no rim, coração e músculo esquelético. Quando ativados pelos fibratos, ocorre o aumento da expressão dos genes responsáveis pela síntese de lipase lipoproteica e a diminuição da expressão do apo CIII, o que potencializa o catabolismo das lipoproteínas ricas em triglicerídeos. Os fibratos aumentam a expressão das apolipoproteínas AI e AII, elevando os níveis de HDL, e ainda, possuem propriedades

cardioprotetoras como a melhora da sensibilidade à insulina e o aumento da adiponectina circulante, a qual modula vários efeitos metabólicos como a regulação da glicemia e o catabolismo de ácido graxos (GOODMAN *et al.*, 2012; SAHEBKAR & WATTS, 2013).

A GFB é rapidamente e completamente absorvida após administração oral, o pico de concentração plasmática de 20 mg/L é atingido 1 a 2 horas após a administração de 600 mg do fármaco (TODD & WARD, 1988).

A GFB é um fármaco lipofílico não higroscópico, o que faz com que ele tenha alta permeabilidade na membrana intestinal e baixa solubilidade e taxa de dissolução no trato gastrointestinal. Essas características resultam em uma baixa absorção e biodisponibilidade do fármaco, que é classificado como categoria II do SCB (AMIDON *et al.*, 1995). No SCB os fármacos são divididos em quatro classes, sendo elas: classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade), classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade), classe III (alta solubilidade e baixa permeabilidade) e classe IV (baixa solubilidade e baixa permeabilidade) (AMIDON *et al.*, 1995).

Fármacos que apresentam baixa solubilidade aquosa como a GFB, pertencem à categoria II ou IV do SCB, possuem grande potencial para baixa biodisponibilidade quando administrados em formas farmacêuticas sólidas, por via oral, pois sua limitada dissolução nos fluidos gastrintestinais dificulta o processo de absorção (AMIDON *et al.*, 1995; BIKIARIS *et al.*, 2005; JUNYAPRASERT & MORAKUL, 2015). Geralmente, a etapa limitante para a absorção de fármacos SCB classe II é a taxa de dissolução decorrente de sua baixa solubilidade. Embora estes fármacos sejam altamente permeáveis, a baixa solubilidade gera um baixo gradiente de concentração entre o intestino e a corrente sanguínea, limitando o transporte através das membranas biológicas e a absorção do fármaco (JUNYAPRASERT & MORAKUL, 2015).

3.2 ESTRATÉGIAS PARA MELHORAR A DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS

A insolubilidade dos fármacos em água tem sido um dos principais obstáculos no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas, pois afeta a biodisponibilidade do fármaco, influenciando diretamente a sua farmacocinética e farmacodinâmica (KIPP, 2004; RODRIGUEZ-ALLER *et al.*, 2015). Diferentes fatores interferem na taxa de dissolução de fármacos, tais como: área de superfície, tamanho de partícula

quantidade de fármaco dissolvido, volume do meio de dissolução e o transporte através das membranas do lúmen intestinal (GOODMAN *et al.*, 2012; GOMES *et al.*, 2015b).

São conhecidas várias técnicas para melhorar as propriedades de solubilidade e dissolução do fármaco, podem ser feitas modificações químicas e físicas. Alguns exemplos são a formação de complexos com ciclodextrinas (KURKOV & LOFTSSON, 2013), os sistemas auto-emulsificantes (KOHLI *et al.*, 2010) e os sistemas líquisólidos (NOKHODCHI; HENTZSCHEL; LEOPOLD, 2011). As modificações físicas empregadas para melhorar a dissolução de fármacos normalmente aumentam a área superficial, a solubilidade e/ou a molhabilidade de partículas do pó. Pode-se alterar o estado sólido do fármaco, o que irá influenciar a força das interações fármaco-fármaco, determinando a sua solubilidade e velocidade de dissolução. As formas amorfas, em geral, possuem estrutura desordenada nas quais a interação fármaco-fármaco é mais fraca quando comparada com a forma cristalina, possuindo melhor dissolução (GUO *et al.*, 2013; ADIBKIA *et al.*, 2013; RODRIGUEZ-ALLER *et al.*, 2015).

A amorfização do fármaco, geralmente é combinada com outras estratégias para melhorar a dissolução, como a diminuição do tamanho de partícula, que aumenta a área de superfície do fármaco, melhorando sua taxa de dissolução e biodisponibilidade (RODRIGUEZ-ALLER *et al.*, 2015). As técnicas de amorfização e diminuição do tamanho de partícula podem ser obtidas por meio da formulação de DS, que é considerada uma das estratégias mais eficazes para melhorar o perfil de dissolução de substâncias ativas pouco solúveis (VO; PARK; LEE, 2013).

O Quadro 1 apresenta algumas estratégias propostas na literatura para melhorar o perfil de dissolução da GFB.

Quadro 1 - Estratégias propostas na literatura para melhorar o perfil de dissolução da GFB.

Estratégia utilizada	Técnica de obtenção	Principais resultados	Referência
Dispersões sólidas	Liofilização	As DS contendo genfibrozila apresentaram diminuição da cristalinidade do fármaco e aumento da dissolução.	FANTON, 2015
Complexação com ciclodextrinas	Co-moagem	A cristalinidade da GFB complexada com ciclodextrina diminuiu consideravelmente com o aumento do tempo de co-moagem, em 35 min de co-moagem atingiu o estado amorfo.	AIGNER <i>et al.</i> , 2012
Micronização	Sonocristalização (liofilização e <i>spray drying</i>)	As formulações contendo GFB obtidas apresentaram melhor dissolução do que a GFB isolada. Pelo método de <i>spray drying</i> obteve-se menor tamanho de partícula e melhor taxa de dissolução (100% em 10 min).	AMBRUS <i>et al.</i> , 2012
Nanoemulsão	Sistemas auto-emulsionantes (SNEDDS)	Comprimidos contendo as nanoemulsões de GFB obtiveram melhor dissolução do fármaco (90% em 15 min) comparado com os comprimidos convencionais de GFB (30% em 15 min).	VILLAR <i>et al.</i> , 2012
Dispersões sólidas	Fusão	A presença de surfactantes na DS de GFB promoveu aumento da taxa de liberação do fármaco (100% em 10 min).	SZÜTS <i>et al.</i> , 2011
Micronização	Solução supercrítica com CO ₂ de rápida expansão (RESS)	A GFB micronizada manteve a estrutura cristalina original, porém a sua taxa de dissolução teve um aumento de 5,5 vezes, quando comparada com a GFB bruta.	CHEN <i>et al.</i> , 2010
Complexação com ciclodextrinas	Liofilização e amassamento	O método de liofilização obteve maior taxa de dissolução da GFB complexada quando comparado com o método de amassamento.	SAMI; PHILIP; PATHAK, 2010
Micronização	Precipitação reativa	A GFB micronizada apresentou dissolução de cerca de 91,2% em 120 min, enquanto que apenas 23,6% de GFB bruta dissolveram no mesmo tempo.	HUANG <i>et al.</i> , 2008
Microesferas e Fármaco conjugado	<i>Spray drying</i>	As microesferas e a GFB conjugada melhoraram o perfil de liberação do fármaco, porém as microesferas induziram um perfil de dissolução mais regular.	MARTINAC <i>et al.</i> , 2002

Fonte: Elaboração própria.

Dentre as estratégias apresentadas, merece destaque o estudo de Fanton (2015), que obteve DSs contendo GFB utilizando o óleo de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) pelo método de liofilização. A utilização de óleos essenciais para a produção de DSs de GFB ainda não havia sido explorada. O estudo obteve bons resultados, como a diminuição da cristalinidade do fármaco e o aumento de pelo menos 60% na dissolução das DSs, quando comparadas com o fármaco isolado.

3.3 DISPERSÕES SÓLIDAS

Uma DS é um sistema de pelo menos dois componentes, onde o fármaco é disperso em uma matriz polimérica (HUANG & DAI, 2014). Os mecanismos envolvidos que levam a melhora das propriedades de dissolução do fármaco incluem a redução do tamanho de partícula e, como resultado, o aumento de superfície de contato do fármaco com o meio bem como a conversão de formas cristalinas do fármaco para formas parcial ou totalmente amorfas (ADIBKIA *et al.*, 2013; VO; PARK; LEE, 2013).

As DSs são classificadas em quatro gerações de acordo com os carreadores e/ou adjuvantes empregados em sua composição. Cada geração apresenta diferentes características quanto ao tipo de carreador e/ou adjuvantes utilizados em sua composição, taxa de dissolução, mecanismo de liberação e estabilidade (VO, PARK, LEE, 2013).

A primeira geração de DSs, são DSs cristalinas, nas quais um fármaco cristalino é disperso em um carreador também cristalino, formando uma mistura eutética, em que o ponto de fusão da mistura é menor que o ponto de fusão do fármaco e do carreador; ou ainda, formando uma mistura monotética em que o ponto de fusão do carreador e do fármaco são constantes. A principal desvantagem das DSs cristalinas (primeira geração) é a alta estabilidade termodinâmica dos carreadores, que reduz a taxa de dissolução em comparação com as DS amorfas (VO; PARK; LEE, 2013).

As DSs de segunda geração contêm carreadores amorfos, que são principalmente polímeros, que podem ser sintéticos ou de origem natural. São chamadas de DSs amorfas, que podem ser classificadas como soluções amorfas sólidas, suspensões amorfas sólidas ou uma mistura de ambas, de acordo com o estado físico do fármaco (HUANG & DAI, 2014; VO; PARK; LEE, 2013). Nas soluções

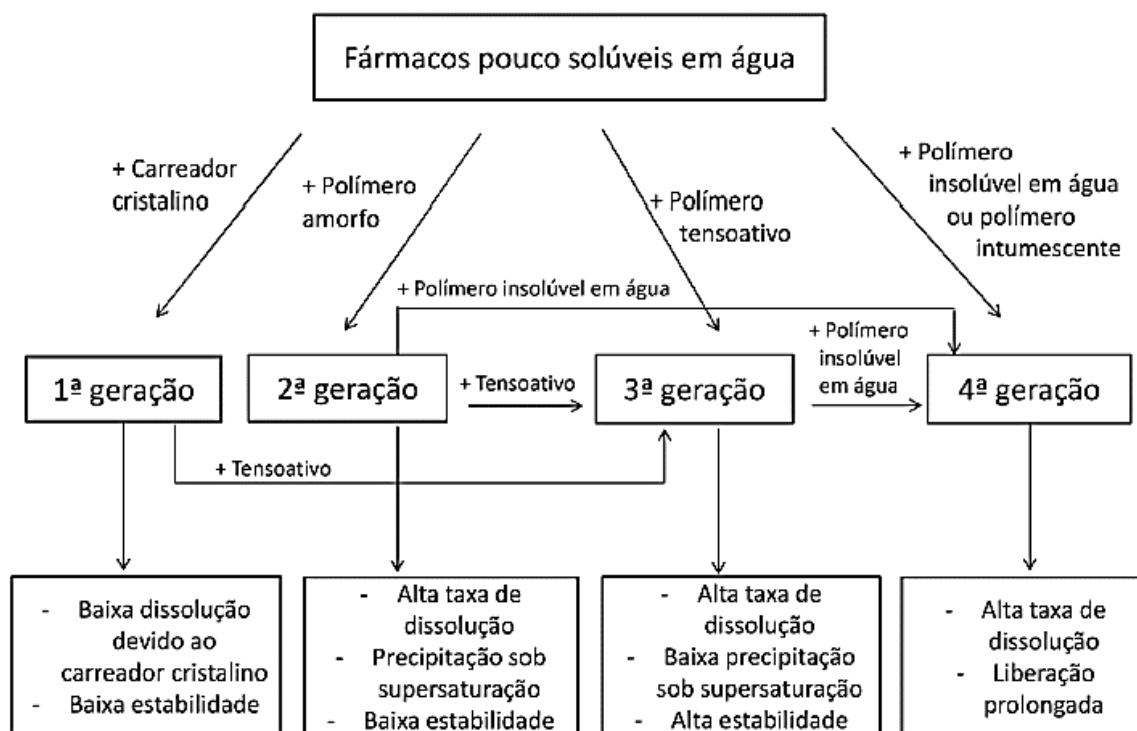
amorfos sólidos, o fármaco e o carreador são completamente miscíveis e formam uma mistura molecular homogênea, já as suspensões amorfas sólidas consistem de duas fases separadas. As suspensões amorfas sólidas são formadas quando o fármaco tem limitada solubilidade no carreador ou um ponto de fusão muito alto. Nas DSs de segunda geração, as partículas de fármaco geralmente estão amorfas, porém, em alguns casos o fármaco pode estar dissolvido ou suspenso no carreador, existindo então, nos estados amorfo e cristalino ao mesmo tempo (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; VO; PARK; LEE, 2013).

A DS de terceira geração foi desenvolvida com o objetivo de minimizar problemas decorrentes da precipitação do fármaco nas gerações anteriores de DSs. Estes problemas são relacionados com a ocorrência de recristalização do fármaco no processo de preparo, no resfriamento ou remoção de solvente e durante o armazenamento. O estado de supersaturação pode causar a precipitação do fármaco e, assim, diminuir a liberação *in vitro* ou *in vivo*, afetando a biodisponibilidade destes sistemas (HUANG & DAI, 2014; VO; PARK; LEE, 2013). Nas DSs de terceira geração, a adição de agentes tensoativos na formulação pode solucionar os problemas relacionados a precipitação e recristalização. A introdução de tensoativos na formulação de DSs pode não só melhorar o perfil de dissolução do fármaco, mas também a sua estabilidade física e química. Os tensoativos podem aumentar a miscibilidade de fármacos e veículos e assim, reduzir a taxa de recristalização. Além disso, tensoativos são capazes de melhorar a molhabilidade dos fármacos e prevenir a sua precipitação devido à supersaturação (VO; PARK; LEE, 2013).

A DS de quarta geração é uma DS de liberação prolongada, que contém fármacos que apresentam baixa solubilidade em água e tempo de meia-vida plasmática curto (GURUNATH *et al.*, 2013; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; VO; PARK; LEE, 2013). Nesses sistemas, o fármaco molecularmente disperso no carreador torna-se mais solúvel em meio aquoso, enquanto que polímeros insolúveis ou intumescíveis são utilizados para prolongar a sua liberação no meio de dissolução. As vantagens apresentadas por este tipo de DS incluem a melhoria da adesão ao tratamento pelo paciente, devido à frequência posológica reduzida, a diminuição de efeitos colaterais e a duração prolongada do efeito terapêutico (VO; PARK; LEE, 2013).

Na Figura 2, são apresentadas de forma esquemática as quatro gerações de DS.

Figura 2 - Composições das quatro gerações de dispersões sólidas.



Fonte: Adaptado de VO; PARK; LEE, 2013.

3.4 TÉCNICAS DE OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS

As propriedades físico-químicas das DSs estão diretamente relacionadas ao método de preparação utilizado. Por isso, a adequada seleção da técnica de obtenção é pré-requisito fundamental para o desenvolvimento de uma DS com as características de dissolução e estabilidade desejadas (ALVES *et al.*, 2012).

Os principais métodos de preparo de DSs descritos na literatura são os métodos de fusão, de evaporação do solvente e de fusão e evaporação do solvente. São conhecidos outros métodos como a moagem com esferas, extrusão a quente, liofilização e fluido supercrítico, que podem também ser utilizados para obter DSs (GURUNATH *et al.*, 2013; VO; PARK; LEE, 2013; NAIK & MOKALE, 2014).

O método de fusão consiste em fundir o fármaco e a matriz que compõe a DS até obtenção de uma solução homogênea, e em seguida, resfriá-la até solidificação. Após solidificação a DS é triturada, pulverizada e tamisada. Uma vantagem deste método é a facilidade no preparo e baixo custo. Devido as altas temperaturas empregadas nesse método, uma desvantagem é a de que pode ocorrer a decomposição ou evaporação do fármaco ou veículo (SINGH *et al.*, 2011; DAS *et al.*, 2012).

No método de evaporação do solvente, o fármaco e o carreador são solubilizados em um solvente orgânico, que é evaporado sob agitação constante, obtendo-se um resíduo seco e sólido. Uma das vantagens desse método é que a decomposição de fármacos termolábeis pode ser evitada, pois a evaporação do solvente orgânico não necessita de altas temperaturas (TACHIBANA & NAKAMURA, 1965; SHARMA & JOSHI, 2007; DAS *et al.*, 2012).

O método de fusão e evaporação do solvente é uma combinação das duas técnicas acima, onde o carreador é fundido e em seguida incorpora-se o fármaco solubilizado previamente em solvente orgânico, após, resfria-se o sistema com agitação constante para remoção do solvente. Esse método é muito empregado para fármacos que tenham elevado ponto de fusão ou termolábeis (ALVES *et al.*, 2012).

Na técnica de liofilização o fármaco e o veículo são dissolvidos em um solvente comum, congelados e sublimados para se obter a DS (GUPTA & SAINI, 2011). Dentre as vantagens do método de liofilização está o fato do fármaco ser submetido a um estresse térmico mínimo. Uma desvantagem é o tempo de processamento do método (KAUR & KUMAR, 2016).

As DSs possuem várias vantagens, porém algumas se destacam, em comparação com outras técnicas utilizadas para melhorar a biodisponibilidade de fármacos. O processo de preparação de DS é mais simples e aplicável do que outras técnicas, tais como o preparo de nanopartículas e nanoemulsões, as quais envolvem processos mais longos e demandam maior tempo para a produção (VO *et al.*, 2013).

A redução do tamanho de partícula aumenta a área superficial do fármaco, melhorando assim, a taxa de dissolução e biodisponibilidade do mesmo. A técnica de DS possibilita a obtenção de partículas com melhor molhabilidade e maior porosidade. O aumento da porosidade depende das propriedades do polímero utilizado, quando polímeros com estrutura linear são utilizados, produzem partículas maiores e mais

porosas em comparação com as DS preparadas com polímeros reticulados, portanto, uma partícula mais porosa resulta em uma taxa de dissolução mais elevada (GHADERI *et al.*, 1999; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Na técnica de DS ocorre a amorfização do fármaco, sendo uma das maiores vantagens em sua produção. O fármaco em seu estado amorfo possui melhor velocidade de dissolução porque não é necessária energia para quebrar a rede cristalina durante o processo de dissolução (POKHARHAR *et al.*, 2006; TAYLOR & ZOGRAFI, 1997).

Existem descritas na literatura algumas desvantagens a respeito das DSs, as quais podem variar de acordo com alguns aspectos como o modo de preparo e os polímeros utilizados. A transposição para escala industrial pode ser um desafio, a baixa reprodutibilidade das propriedades físico-químicas e a estabilidade química do fármaco e do carreador está relacionada com o método de obtenção das DSs (VO; PARK; LEE, 2013; DAS *et al.*, 2012; ALVES *et al.*, 2012). Durante o armazenamento, pode ocorrer a recristalização do fármaco devido às condições desfavoráveis de temperatura e umidade, que favorecem a recristalização do fármaco e comprometem a biodisponibilidade do produto (VO; PARK; LEE, 2013; GURUNATH *et al.*; 2013).

3.5 LIOFILIZAÇÃO

A liofilização baseia-se em um processo de sublimação no qual a água ou outro solvente passa diretamente do estado sólido para o estado gasoso, sob condições de baixa pressão (vácuo) e baixa temperatura, sem ter que passar pelo estado líquido. É muito utilizada na secagem de fármacos e produtos biológicos sensíveis ao calor (NIREESHA *et al.*, 2013).

A liofilização é um método alternativo para a secagem de DSs e é considerado promissor, pois o fármaco é submetido a uma tensão térmica mínima durante a formação da DS (KAUR & KUMAR, 2016). A vantagem deste método é o risco minimizado de separação de fases e a desvantagem é que a maioria dos solventes orgânicos possuem baixas temperaturas de congelamento e não permanecem congelados durante a sublimação. Porém, a técnica de liofilização não precisa, necessariamente, ser desenvolvida com o uso destes solventes (VO *et al.*, 2013).

A obtenção de DSs por liofilização pode ser dividida em quatro etapas. A primeira etapa consiste no preparo das formulações, após, o material é congelado, o congelamento ou solidificação pode ser feito por nitrogênio líquido, gelo, *freezer* convencional, entre outros (KASPER & FRIESS, 2011; MORAIS *et al.*, 2016). O próximo passo é a secagem primária ou sublimação, na qual a pressão é reduzida e calor suficiente é fornecido ao material para que o solvente sublime, cerca de 95% de água é removida nesta etapa. Após, ocorre a secagem secundária, em que as moléculas de solvente e água descongeladas são removidas da formulação devido a temperatura elevada acima da empregada na secagem primária e a pressão é reduzida para promover a dessorção (KAUR & KUMAR, 2016; BAHETI *et al.*, 2010).

3.6 CONGELAMENTO/SOLIDIFICAÇÃO NA LIOFILIZAÇÃO

O processo de liofilização na secagem de DSs consiste em duas etapas: congelamento/solidificação e liofilização. Na etapa de congelamento as amostras são expostas a uma temperatura suficientemente baixa para que se tornem sólidas (VO; PARK; LEE, 2013; MORAIS *et al.*, 2016). A taxa de congelamento é muito importante para controlar a separação de fases, sendo responsável pelo produto final e pelo tempo que é necessário para secar a DS (VO; PARK; LEE, 2013).

A taxa de congelamento é um parâmetro que deve ser otimizado, uma vez que diferentes taxas de congelamento resultam na formação de diferentes tipos de cristais de gelo (KASPER & FRIESS, 2011). O congelamento rápido conduz a cristais de gelo pequenos e numerosos, que devido ao seu tamanho não facilitam a taxa de sublimação, enquanto o congelamento lento forma cristais maiores e menos numerosos, que apresentam poros de maiores dimensões e que aceleram o processo de sublimação (MORAIS *et al.*, 2016). A área superficial destes cristais irá influenciar nos passos adicionais de liofilização (INGVARSSON *et al.*, 2011).

Como uma etapa prévia à secagem primária, existem vários métodos de solidificação que podem ser empregados aos produtos a serem liofilizados. Quando o produto no recipiente a ser solidificado apresenta uma camada superior a 1 cm de espessura, o método de solidificação empregado deve ser o de solidificação em concha (*shell freezing*) ou *spin freezing* no qual os frascos são imersos num banho refrigerado e permanecem em rotação durante o processo. Este método promove uma

diminuição da espessura do produto e um aumento da sua área superficial, levando à redução do tempo de secagem primária e, portanto, maximiza o ciclo de liofilização (KASPER & FRIESS, 2011; INGVARSSON *et al.*, 2011).

3.7 POLÍMEROS E EXCIPIENTES

Os excipientes, por definição, são substâncias farmacêuticas auxiliares que, do ponto de vista farmacológico, são inativos, permitem que o princípio ativo tenha uma determinada forma farmacêutica e são incluídos nas formulações intencionalmente. Atualmente, o conceito de “substância inativa” utilizado para os excipientes está em desuso, uma vez que, do ponto de vista biofarmacêutico e tecnológico, há funcionalidade destas substâncias no produto final (CHAUDHARI *et al.*, 2012).

Excipiente é qualquer substância, diferente do fármaco, que tem sua segurança avaliada e, a partir de então, pode ser incluído na forma farmacêutica, com intenções variadas, tais como, auxiliar no preparo; fornecer estabilidade física, química e microbiológica ao produto; melhorar a disponibilidade do ativo no organismo; garantir a aceitabilidade do paciente; e, melhorar ou promover qualquer outro atributo relacionado à segurança e efetividade (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

Os excipientes podem constituir grande parte de uma forma de dosagem sólida, compreendendo até 99% da massa total da formulação e exercem sua ação desde o momento de fabricação até o desempenho *in vivo*, de modo que suas propriedades podem afetar a dissolução do fármaco (ZARMPI, *et al.*, 2017). Os fármacos com baixa solubilidade, na maioria das vezes, requerem excipientes como tensoativos ou agentes molhantes a fim de facilitar ou acelerar a liberação da substância ativa e melhorar o perfil de dissolução, o qual é essencial para a absorção adequada e eficácia do medicamento (GARCÍA-ARIETA, 2014).

Os polímeros fazem parte do cotidiano e representam uma das classes de materiais mais versáteis que existem, apresentando inúmeras aplicações, entre as quais, no setor farmacêutico, são empregados como excipientes em preparações convencionais de medicamentos e cosméticos (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010). Os polímeros naturais, naturais modificados e sintéticos são empregados como excipientes farmacêuticos para a formulação de cosméticos e medicamentos de liberação convencional e de liberação modificada. Os polímeros biodegradáveis,

bioadesivos, biomiméticos e hidrogéis responsivos têm sido amplamente incluídos em formulações farmacêuticas (VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

No estudo de Fanton (2015) precursor deste trabalho, as DSs contendo GFB foram desenvolvidas contendo, além do fármaco, mais de um polímero, tensoativo e um componente inorgânico. A seguir, descreve-se esses componentes, suas principais propriedades e funções em formulações farmacêuticas.

As copovidonas são polímeros de cor branca ou levemente amareladas, com partículas de tamanho fino e excelentes propriedades deslizantes e desintegrantes. Geralmente são utilizadas em formulações de comprimidos processados por compressão direta ou indireta, pastilhas e granulados (CHAUDHARI *et al.*, 2012). O Kollidon® VA64 é uma copovidona, é um copolímero denominado quimicamente como poli (vinilpirrolidona-co-acetato de vinila), é utilizado na área farmacêutica como carreador hidrofílico em formulações de DSs, como aglutinante e desintegrante na granulação por via seca e úmida, ou na compressão direta de comprimidos. Também atua como agente formador de película para revestimento de comprimidos, com o intuito de melhorar a aparência e mascarar o sabor do fármaco (BASF, 2014).

A crospovidona ou Kollidon® CL-SF, denominado quimicamente polivinilpirrolidona reticulada, é um polímero não iônico insolúvel em água. Tem como principal função na área farmacêutica a ação super-desintegrante, em especial para comprimidos convencionais e sublinguais, conduz a uma desintegração rápida sem comprometer a dissolução do fármaco. Este componente melhora a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis e pode ser utilizado em processos de granulação seca ou úmida, seguida de compressão para produção de comprimidos (ZARMPPI *et al.*, 2017; BASF, 2014).

O Lutrol® F68 (Poloxamer 188) é um copolímero formado por óxido de etileno e óxido de propileno. Apresenta ponto de fusão de 55°C e característica cristalina, a qual é evidenciada na análise de difração de raios-X e calorimetria exploratória diferencial (SONG; YOON; KIM, 2016; CAVALLARI; FINI; CESCHEL, 2013). É utilizado como agente molhante, emulsificante e solubilizante, muito explorado na formulação de DSs, pois atua melhorando a solubilidade, absorção e conseqüentemente a biodisponibilidade do fármaco a partir de formas farmacêuticas sólidas (BASF, 2012).

O Span 80, denominado quimicamente monooleato de sorbitano, é um agente tensoativo lipofílico não iônico muito utilizado em formulações farmacêuticas como solubilizante, e como componente em sistemas auto-emulsionantes, promovendo o aumento da biodisponibilidade do fármaco (JANNIN; MUSAKHANIAN; MARCHAUD, 2008).

O dióxido de silício coloidal, comercialmente denominado Aerosil® 200, apresenta fórmula molecular composta por dois átomos de oxigênio ligadas a um átomo de silício (SiO₂), cor branca, característica muito pequena e fina (7-16 nm), amorfa e higroscópica (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; KIBBE, 2000). É amplamente utilizado em produtos farmacêuticos e cosméticos com várias aplicações. Na produção de comprimidos, o Aerosil® 200 é utilizado como adsorvente de umidade, agente de fluxo e de deslizamento por apresentar partícula pequena e fina e grande área superficial; é empregado também como desintegrante na formulação, pois influencia a absorção de água. Outra aplicação é a utilização de dióxido de silício como adjuvante de secagem no processo de liofilização de nanocápsulas e nanoesferas (ALBERTINI *et al.*, 2004; ROWE; SHESKEY; OWEN, 2009)

3.8 ÓLEO DE ALECRIM (*ROSMARINUS OFFICINALIS* L.)

O alecrim, *Rosmarinus officinalis* Linn é uma planta aromática (ZANELLA *et al.*, 2012), membro da família Lamiaceae. É originária de regiões em torno do mar Mediterrâneo, como a Europa, Ásia e África, e amplamente distribuída em diversas partes do mundo, incluindo o Brasil (BOIX *et al.*, 2010; MULINACCI *et al.*, 2011).

Os constituintes químicos responsáveis pela alta volatilidade dos óleos estão presentes em grande quantidade no óleo de alecrim, são eles os diterpenos fenólicos, triterpenos, ácidos fenólicos e flavonoides (SEDIGHI *et al.*, 2015). O óleo essencial de alecrim é constituído por hidrocarbonetos monoterpênicos, ésteres terpênicos, linalol, verbinol, terpineol, 3-octanona e acetato de isobornila, dentre outros compostos (ALONSO JUNIOR, 1998; SEDIGHI *et al.*, 2015). Como todo óleo extraído de plantas a composição química pode apresentar variação devido a fatores ambientais e de manejo das plantas bem como da forma de extração e armazenamento (NASCIMENTO *et al.*, 2007).

Este óleo é amplamente utilizado na medicina tradicional, indústrias farmacêuticas, cosméticos e agronegócios, e pesquisado devido às suas propriedades antimicrobiana e antioxidante (KADRI *et al.*, 2011). Além disso, estudos recentes demonstram o potencial do alecrim para o tratamento da obesidade e do diabetes mellitus devido aos seus efeitos anti-hiperlipidêmicos e anti-hiperglicêmicos (SEDIGHI *et al.*, 2015).

O emprego de óleo de alecrim não foi explorado na produção de DS, porém, um estudo realizado por Villar e colaboradores (2012), utilizou óleos essenciais de limão, anis e hortelã para a produção de sistemas auto-emulsionantes contendo GFB e obtiverem melhora na dissolução do fármaco.

Em processos de suspensão-liofilização os óleos essenciais podem se tornar uma alternativa à utilização de solventes orgânicos convencionais, pois sua alta volatilidade permite que o óleo seja carregado junto à água durante o processo de liofilização (FANTON, 2015). Além disso, possuem função terapêutica e ainda reduzida toxicidade se comparada aos solventes orgânicos convencionalmente usados na área farmacêutica.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

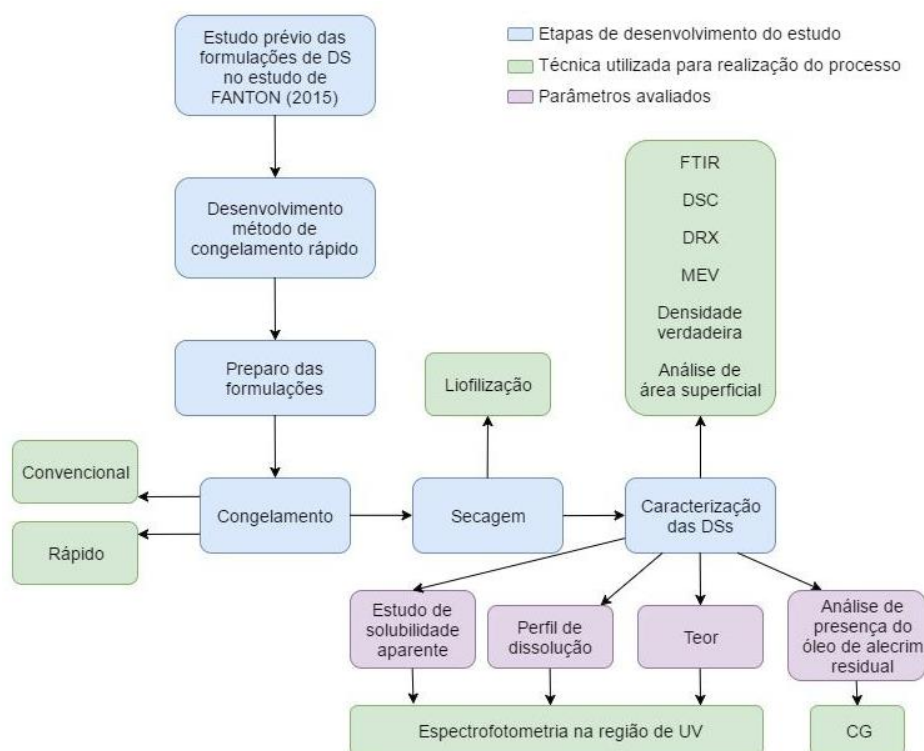
4.1 MATERIAIS

A genfibrozila (GFB) foi adquirida da Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos (Brasil). O Aerosil 200 (dióxido de sílcio coloidal) foi obtido da Pharmaspecial Especialidades (Brasil). O Kollidon® CL-SF (Polivinilpirrolidona), o Kollidon® VA64 poli (vinilpirrolidona-co-acetato de vinila) e o Lutrol® F68 (Poloxamer 188) foram obtidos da BASF S.A (Alemanha). O Span 80 (monooleato de sorbitano) foi obtido da Sigma Aldrich (EUA). O óleo essencial de alecrim foi obtido da Herbia Cosméticos Naturais e Orgânicos (Brasil). Todos os demais reagentes utilizados eram de grau analítico.

4.2 ORGANIZAÇÃO EXPERIMENTAL DA PESQUISA

Na Figura 3, pode-se observar um fluxograma experimental das etapas que compuseram este trabalho.

Figura 3 - Fluxograma experimental da metodologia utilizada para o desenvolvimento deste trabalho.



4.3 PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES E NOMENCLATURA DAS AMOSTRAS

Fanton (2015) obteve quatro formulações contendo diferentes proporções dos constituintes da composição. Selecionou-se as duas formulações que obtiveram melhor perfil de dissolução relativamente ao fármaco puro.

Para este estudo, as formulações selecionadas do estudo prévio de Fanton (2015) denominadas FC e FD, tiveram sua nomenclatura mantida. As composições das formulações podem ser observadas no Quadro 2 no qual se evidencia, em negrito, o fator que difere uma formulação da outra, ou seja, a quantidade relativa de fármaco.

Essas formulações foram preparadas empregando o mesmo procedimento descrito por Fanton (2015). Os componentes da fase oleosa foram aquecidos a 40°C sob agitação de 50 rpm (Quimis Q241, Brasil) até completa solubilização. Na fase aquosa os componentes foram solubilizados em quantidade suficiente de água destilada, até formação de uma suspensão homogênea. A fase oleosa foi vertida sobre a fase aquosa, sob agitação em agitador magnético a 50 rpm. O volume final foi completado com água destilada.

Quadro 2 - Composição das formulações FC e FD, função e respectivas fases da emulsão em que os componentes estão inseridos.

Componentes	Função	Fase	FC (%)*	FD (%)*
Genfibrozila	Fármaco	Oleosa	2	4
Óleo de alecrim	Solubilizante	Oleosa	2	2
Span 80	Emulsificante Estabilizante	Oleosa	1,025	1,025
Aerosil®	Dessecante	Aquosa	2,5	2,5
Kollidon® VA64	Desintegrante	Aquosa	2	2
Kollidon® CL-SF	Desintegrante	Aquosa	0,25	0,25
Lutrol® F68	Emulsificante Estabilizante	Aquosa	1,425	1,425
Água destilada	Solubilizante	Aquosa	qsp 100 mL	qsp 100 mL

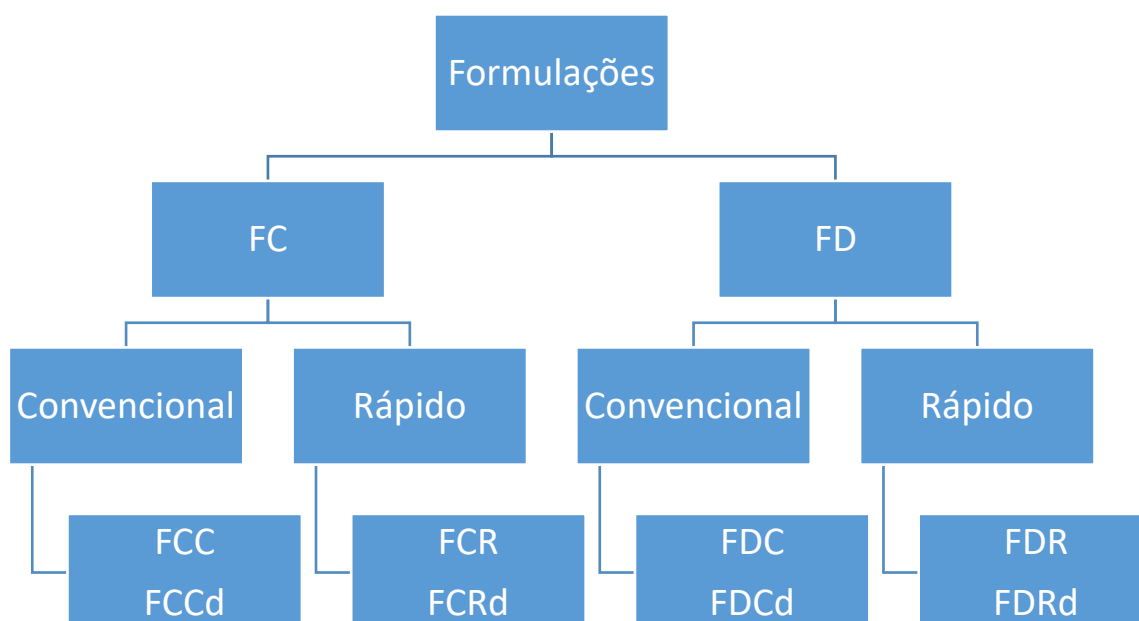
* Percentuais em massa (m/m).

Partindo dessas formulações (FC e FD) e considerando que o intuito do estudo foi analisar o efeito de dois fatores, sendo um, o efeito do tipo de congelamento empregado e o segundo, o volume de formulação produzida por batelada sobre a qualidade do pó gerado foram preparadas 8 amostras no total. Como forma de

identificá-las e diferenciá-las, símbolos foram acrescentados à nomenclatura da formulação base. Essa simbologia foi definida conforme segue:

As DSs foram submetidas ao congelamento, parte por via rápida (R), utilizando o congelamento em concha e parte por congelamento convencional (C), direto em freezer como um bloco. Pensando em otimizar a produção das DSs, variou-se a quantidade de emulsão preparada para posterior liofilização: 100 mL, foi definido como volume padrão de emulsão e 200 mL, como o dobro do volume de emulsão preparada, simbolizada pela letra “d” minúscula (d). Sendo assim, as amostras foram denominadas, FC pelo método de congelamento convencional 100 mL (FCC), FC pelo método de congelamento convencional 200 mL (FCCd), FC pelo método de congelamento rápido 100 mL (FCR), FC pelo método de congelamento rápido 200 mL (FCRd). A amostra FD pelo método de congelamento convencional 100 mL (FDC), FD pelo método de congelamento convencional 200 mL (FDCd), FD pelo método de congelamento rápido 100 mL (FDR), FD pelo método de congelamento rápido 200 mL (FDRd). A Figura 4 demonstra de forma esquemática as formulações e suas denominações.

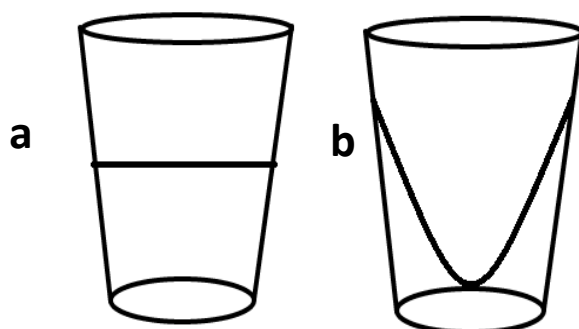
Figura 4 - Simbologia empregada para denominar cada amostra obtida a partir das formulações FC e FD, tipos de congelamento (Convencional – C ou Rápido – R) quantidade produzida (volume de 100 mL – sem indicação ou o dobro de 200 mL – d).



4.4 LIOFILIZAÇÃO DAS EMULSÕES

As formulações preparadas pelo método de congelamento convencional foram solidificadas em congelador a uma temperatura de $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, por 24 h, formando um bloco (Figura 5a). Para as DSs que foram submetidas ao congelamento rápido, o frasco contendo a DS foi imerso na mistura de cloreto de sódio, álcool, gelo e água, sob agitação constante de 50 rpm, por cerca de 10 min, até atingir o congelamento completo em concha/crosta, conforme Figura 5b. Após o congelamento a DS foi armazenada em congelador convencional por 24 h.

Figura 5 - Congelamento convencional - C (a) e congelamento rápido - R (b)



Fonte: elaboração própria (2017)

Depois de congeladas as formulações foram levadas ao liofilizador (Terroni, Fauvel LT 1000/8, Brasil) para secagem por 12 - 24 h, até completa sublimação da água e redução do óleo presente nas amostras. Após a secagem, as amostras foram coletadas em frascos de vidro âmbar e armazenadas em dessecador.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS OBTIDAS

4.5.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os espectros de FTIR foram obtidos utilizando-se pastilhas de brometo de potássio (KBr) contendo cada uma das amostras. Para o preparo das pastilhas, triturou-se 300 mg de KBr e 1 mg de amostra até a mistura se tornar homogênea e opaca. Após, esta mistura foi prensada com força de compressão de 10 t. As pastilhas

foram inseridas no espectrofotômetro e submetidas a 12 varreduras na região de 4000 a 400 cm^{-1} , utilizando uma resolução de 4 cm^{-1} (Perkin-Elmer Spectrum One B, EUA). Os espectros foram agrupados utilizando o *software OriginPro 8.5*.

4.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas de DSC foram obtidas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min^{-1}), empregando-se cadinhos de alumínio hermeticamente fechados, contendo 4-5 mg de amostra. A faixa de temperatura utilizada foi de 25 a 500 $^{\circ}\text{C}$, a uma razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$ (TA Instruments DSC Q20, EUA). Os resultados obtidos foram analisados em *software TA Universal Analysis*. As curvas de DSC das misturas físicas 1:1 (m/m) da GFB/excipientes foram obtidas através do estudo de compatibilidade realizado por Fanton (2015) que pertence ao mesmo grupo de pesquisa.

4.5.3 Difração de raios-X (DRX)

Os difratogramas foram registrados na faixa de 5-30 $^{\circ}$ (2θ), a uma velocidade de varredura de 2 $^{\circ} \text{min}^{-1}$, empregando radiação $\text{CuK}\alpha$ como fonte de raios-X. O equipamento (Panalytical, X'PERT PRO MPD, Holanda) foi operado a uma voltagem de 40 kV e uma corrente de 30 mA.

4.5.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

As amostras, previamente recobertas com uma fina camada de ouro (Denton Vacuum Desk V, Japão), foram submetidas à avaliação morfológica de superfície, sendo as micrografias obtidas em microscópio eletrônico de varredura (Jeol JSM 6701F, Japão), operando a 15 kV, nos aumentos de 35 e 500 vezes.

4.5.5 Densidade verdadeira

A densidade verdadeira das amostras foi obtida em picnômetro de gás hélio (Quantachrome Ultrapycnometer 1000 - EUA), onde cerca de 1,0 a 3,0 g de cada

amostra foram submetidas a cinco medições de volume e densidade, determinando-se ao final a densidade média.

4.5.6 Análise de área superficial

A determinação da área superficial específica das amostras foi realizada em analisador de adsorção gasosa (Quantachrome NOVA 2200e, EUA) pela metodologia de análise de superfície e porosidade de materiais sólidos (BET) sob atmosfera inerte de nitrogênio, utilizando cerca de 1g de amostra.

4.5.7 Determinação do teor de fármaco nas amostras

Para a determinação do teor de fármaco das amostras, foi utilizado o método de espectrofotometria UV, previamente validado por Fanton (2015). Foram utilizadas alíquotas das formulações FC e FD, correspondentes a uma massa conhecida de ativo, as quais foram solubilizadas em etanol PA e diluídas até a concentração teórica de 50 mg L⁻¹ de GFB. O procedimento foi realizado em triplicata. As absorvâncias de cada uma das soluções foram quantificadas no comprimento de onda de 276 nm com base em uma curva analítica obtida na faixa de 25 a 150 mg L⁻¹.

4.5.8 Determinação da solubilidade aparente

As determinações de solubilidade da GFB e das formulações FC e FD foram realizadas em tampão fosfato pH 6,8. Para tanto, quantidade em excesso do fármaco foi adicionada a frascos de vidro âmbar fechados contendo o solvente (tampão fosfato pH 6,8), os quais foram submetidos à agitação em incubadora orbital a rotação de 100 rpm e 37 °C por 24 h. Então, as amostras foram coletadas, centrifugadas a 3000 rpm por 10 min (Nova Técnica, FC0G-0035, Brasil) e submetidas à quantificação por espectrofotometria de absorção em 276 nm (Shimadzu UV1601PC, Japão). Os testes foram realizados em triplicata.

4.5.9 Perfil de dissolução

Amostras de cada uma das formulações, equivalentes a 50 mg de GFB, foram submetidas ao ensaio de dissolução, no qual foi utilizado aparato 2 (pá), nas condições experimentais de velocidade de agitação de 50 rpm, com 900 mL de meio de dissolução (tampão fosfato pH 6,8) e temperatura de $37 \pm 0,5$ °C. As condições *sink* foram mantidas. Alíquotas de 5 mL foram coletadas em 10, 20, 30, 40, 50 e 60 min, submetidas à centrifugação por 10 min a 3000 rpm (Nova Técnica, FC0G-0035, Brasil) e então à leitura (sobrenadante) por meio de método espectrofotométrico, no comprimento de onda de 276 nm (Shimadzu UV1601PC, Japão). O ensaio foi realizado em sextuplicata. A porcentagem de fármaco dissolvido foi calculada utilizando-se a curva de calibração obtida para o meio tampão. A eficiência de dissolução foi calculada, empregando-se a Equação 1:

$$ED\% = \frac{ASC}{ASCTR} \times 100 \quad \text{Equação 1}$$

Onde, ASC é a área sob a curva de dissolução e ASCTR é a área total do retângulo correspondente a 100% de dissolução no mesmo intervalo de tempo.

A análise estatística dos dados foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA) unifatorial, seguida de teste de Tukey, na qual os resultados são considerados significativos quando a probabilidade é inferior a 5% ($p < 0,05$, intervalo de confiança de 95%). A avaliação estatística dos resultados foi realizada por meio do *software OriginPro 8.5*.

4.6 ANÁLISE DE PRESENÇA DO ÓLEO DE ALECRIM RESIDUAL NAS DS

A verificação da presença ou ausência de óleo de alecrim nas amostras foi analisada por cromatografia gasosa (CG), conforme método adaptado da Farmacopeia Brasileira, 2010, no item 5.3.1. Foi utilizado cromatógrafo (Agilent, 6890 Series, EUA) provido de detector de ionização de chamas (TCD), utilizando mistura de nitrogênio, hidrogênio e ar sintético (1:1:10) como gases auxiliares à chama do detector; coluna HP5 (30m x 0,32 mm x 0,25 µm), preenchida com polietilenoglicol. A temperatura do injetor foi ajustada para 220 °C, a temperatura do detector para 240

°C e a temperatura da coluna foi programada para iniciar em 50 °C por 10 min, em uma rampa de 50 a 200 °C com taxa de aquecimento de 20 °C min⁻¹. Foi utilizado hélio purificado como gás de arraste a 1 mL min⁻¹.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS OBTIDAS

5.1.1 Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A análise de FTIR é muito utilizada no estudo de DS, pois permite investigar a existência de interações intermoleculares e a compatibilidade entre fármacos e carreadores, por meio desta técnica pode-se detectar interações físicas e químicas entre os compostos (VO; PARK; LEE, 2013).

Essa técnica é baseada na ocorrência de transições vibracionais e rotacionais das moléculas, decorrentes da exposição da amostra à radiação eletromagnética na região do infravermelho. Os espectros de infravermelho são bastante utilizados na identificação química de fármacos, pois as regiões das bandas de absorção dos grupos funcionais das moléculas são conhecidas. As alterações no dipolo oscilante das moléculas, devido às interações, se apresentam como alterações no número de ondas e na largura de bandas de grupamentos químicos específicos, em comparação com as dos componentes individuais (CUFFINI; PITALUGA JUNIOR; TOMBARI, 2011; BUNACIU; ABOUL-ENEIN; FLESCHEIN, 2010; GUO; SHALAEV; SMITH, 2013).

As análises de FTIR foram realizadas com as formulações e a GFB isolada. O espectro da GFB isolada com as principais bandas identificadas e suas atribuições são apresentados na Figura 6 e Tabela 1.

Figura 6 - Espectro da GFB com as principais bandas em destaque.

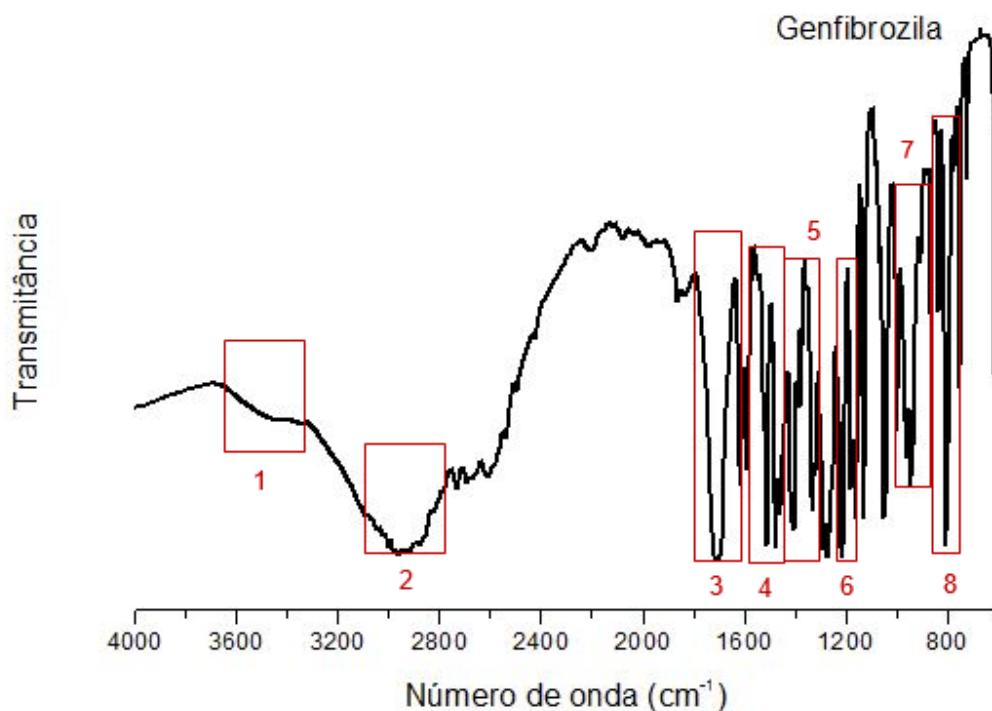


Tabela 1 – Estrutura molecular do fármaco GFB, suas principais bandas presentes no espectro e grupos funcionais correspondentes.

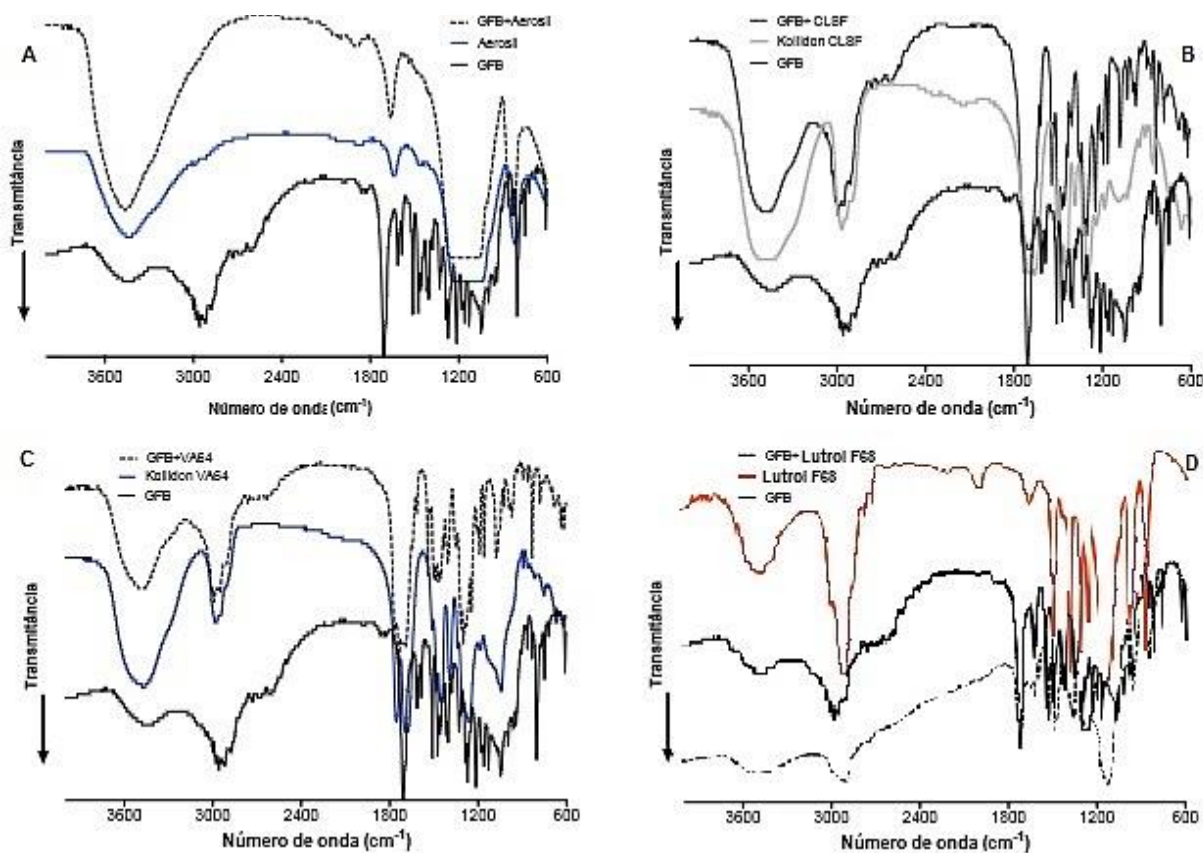
Estrutura molecular do fármaco	Principais bandas	Comprimento de onda (cm ⁻¹)	Grupos funcionais
	1	3500	Estiramento de ligações O-H de ácido carboxílico;
	2	3000	Estiramento de ligações C-H em cadeias aromáticas;
	3	1705	Estiramento de ligações C=O com H;
	4	1510	Flexão de ligações O-H no plano;
	5	1473	Flexão de ligações O-H no plano;
	6	1212	Estiramento de ligações C-O;
	7	956	Flexão de ligações C-O-H fora do plano;
	8	803	Estiramento de ligações C-H fora do plano do anel aromático.

Observa-se no espectro da GFB isolada uma banda discreta acima de 3000 cm^{-1} , característica de ligações O-H de ácido carboxílico. Na região imediatamente inferior a 3000 cm^{-1} observa-se um conjunto de bandas, que são indicativas da presença de ligações C-H, sendo indicativo de cadeia alifática, pois ocorrem entre 3000 cm^{-1} e 2850 cm^{-1} . A presença do composto aromático e da ligação C-H de cadeia alifática estão relacionadas a fórmula estrutural do fármaco.

A banda em 1705 cm^{-1} é evidenciada devido a um estiramento da ligação C=O de ácidos carboxílicos na forma de dímero, em virtude das fortes pontes de hidrogênio intermoleculares (STUART, 2004). Na faixa de 1550 e 1430 cm^{-1} , pode-se observar várias bandas, que podem ser atribuídas a flexões de ligações O-H no plano. A banda em 1212 cm^{-1} , indicativa do estiramento de ligações C-O. A banda em 956 cm^{-1} é atribuída a flexão de ligações C-O-H fora do plano. A banda forte em 800 cm^{-1} , que corresponde a estiramentos da ligação C-H aromática fora do plano do anel, o que confirma a presença dessa estrutura no fármaco. As informações descritas estão de acordo com a literatura consultada (AIGNER *et al.*, 2012; FANTON, 2015).

Fanton (2015) realizou um estudo de compatibilidade entre o fármaco GFB e excipientes, que evidenciou que não há interação entre os componentes da DS com a GFB, os espectros de FTIR da GFB isolada e excipientes podem ser visualizados na Figura 7 de “A” a “D”, que sobrepõe GFB isolada, cada excipiente isolado e as misturas 1:1 (m/m) de GFB com os excipientes avaliados, na sequência: (A) GFB Aerosil® 200; (B) GFB Kollidon® CLSF; (C) GFB Kollidon® VA64; (D) GFB Lutrol® F68.

Figura 7 - Espectros de FTIR dos componentes isolados e das misturas. (A) GFB Aerosil® 200; (B) GFB Kollidon® CLSF; (C) GFB Kollidon® VA64; (D) GFB Lutrol® F68.

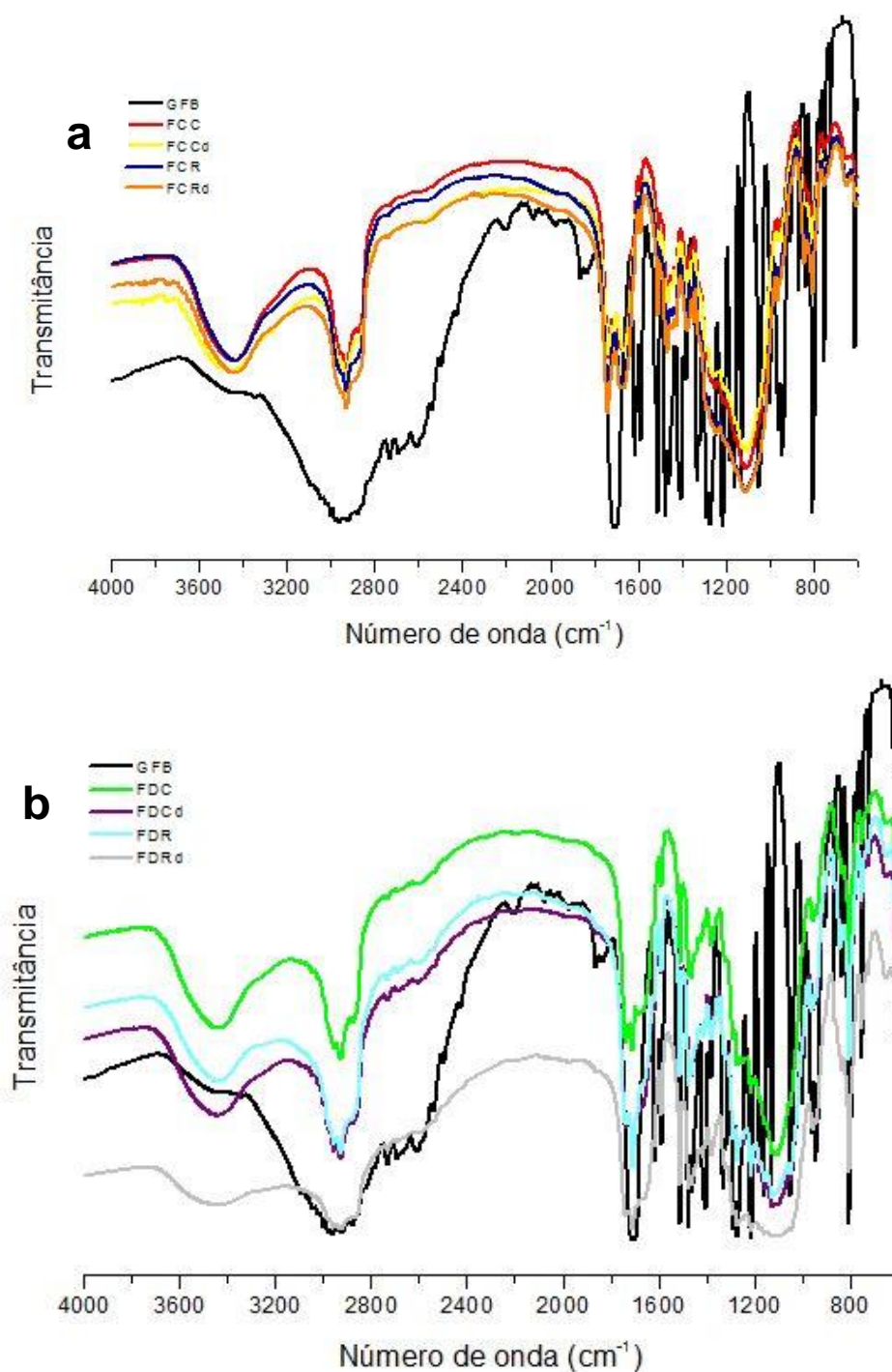


Fonte: Fanton (2015)

Analisando-se os espectros de FTIR obtidos a partir das misturas binárias entre a GFB e cada um dos excipientes obtidas por Fanton (2015) pode-se observar que as bandas correspondentes aos principais grupos funcionais da GFB permanecem nas misturas físicas o que indica que em todos os casos houve sobreposição dos espectros das substâncias isoladas, isto significa que não houve surgimento de novas bandas e que o desaparecimento de algumas delas é devido ao encobrimento por bandas mais intensas dos componentes. As análises de FTIR, em conjunto com os dados obtidos por DSC evidenciam que não houve interações entre o fármaco e os excipientes avaliados, sugerindo que os componentes da formulação não apresentam incompatibilidades (FANTON, 2015).

Para melhor avaliar se houve algum efeito do processo de congelamento e do volume de formulação produzida sobre os principais grupos funcionais da GFB, os espectros das formulações FC e FD com a GFB isolada estão agrupados na Figura 8 a e b, respectivamente.

Figura 8 - Espectros das formulações FC (a) e FD (b) agrupados com GFB isolada.

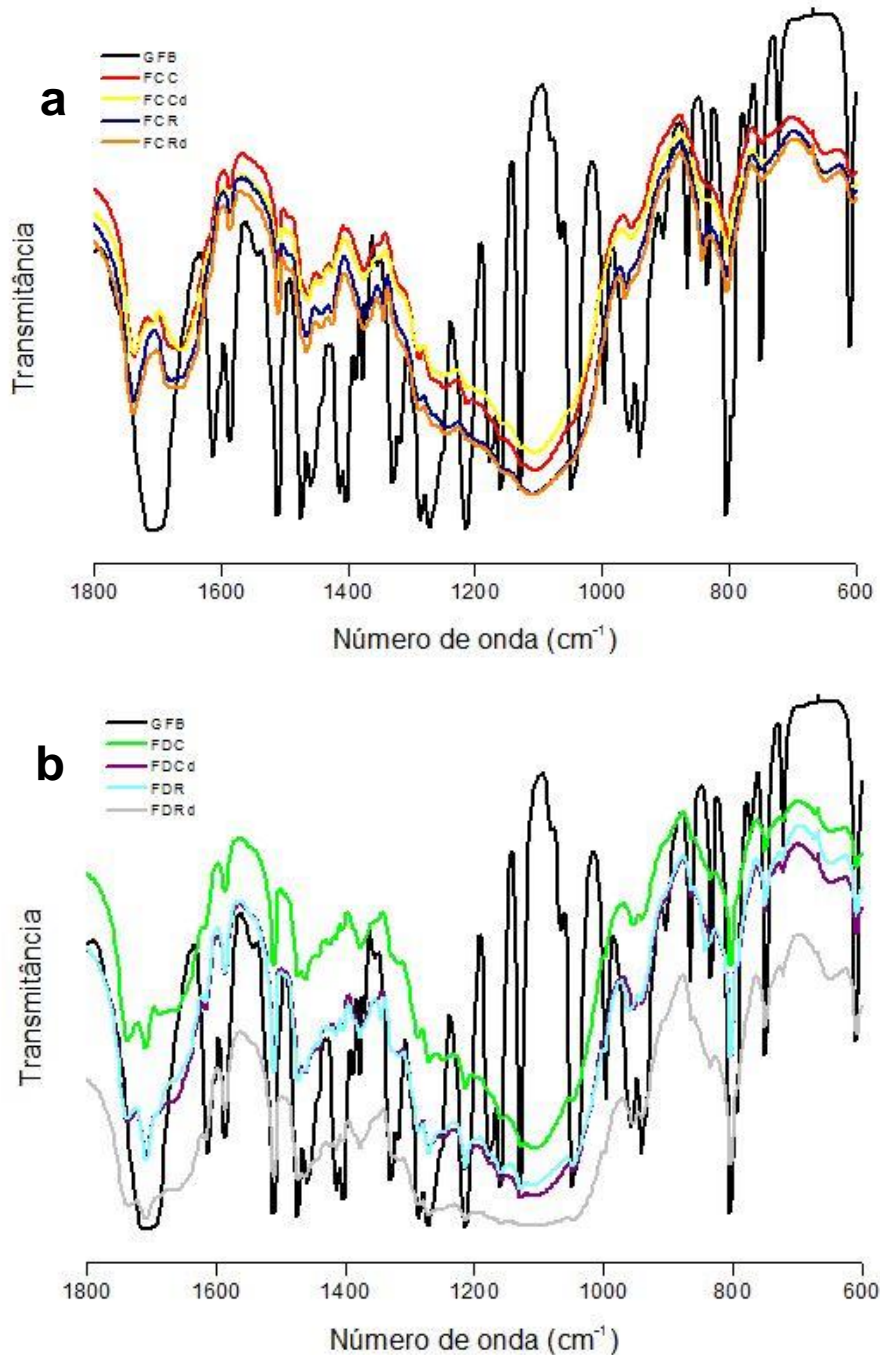


Nos espectros obtidos por FTIR, é possível visualizar a banda acima de 3000 cm^{-1} presente em todas as formulações, característica de ligação C-H de composto aromático. Todas as formulações FC e FD apresentaram bandas na região de 3500 cm^{-1} , devido a ligações O-H terminais, que podem ser atribuídas a presença de ácidos

carboxílicos na estrutura molecular do fármaco, e eventual presença de umidade nas formulações (FANTON, 2015).

Os espectros ampliados para o intervalo de 1800 cm^{-1} a 600 cm^{-1} são apresentados na Figura 9 a e b.

Figura 9 - Espectros de FTIR ampliados das formulações FC (a) e FD (b) agrupados com GFB isolada.

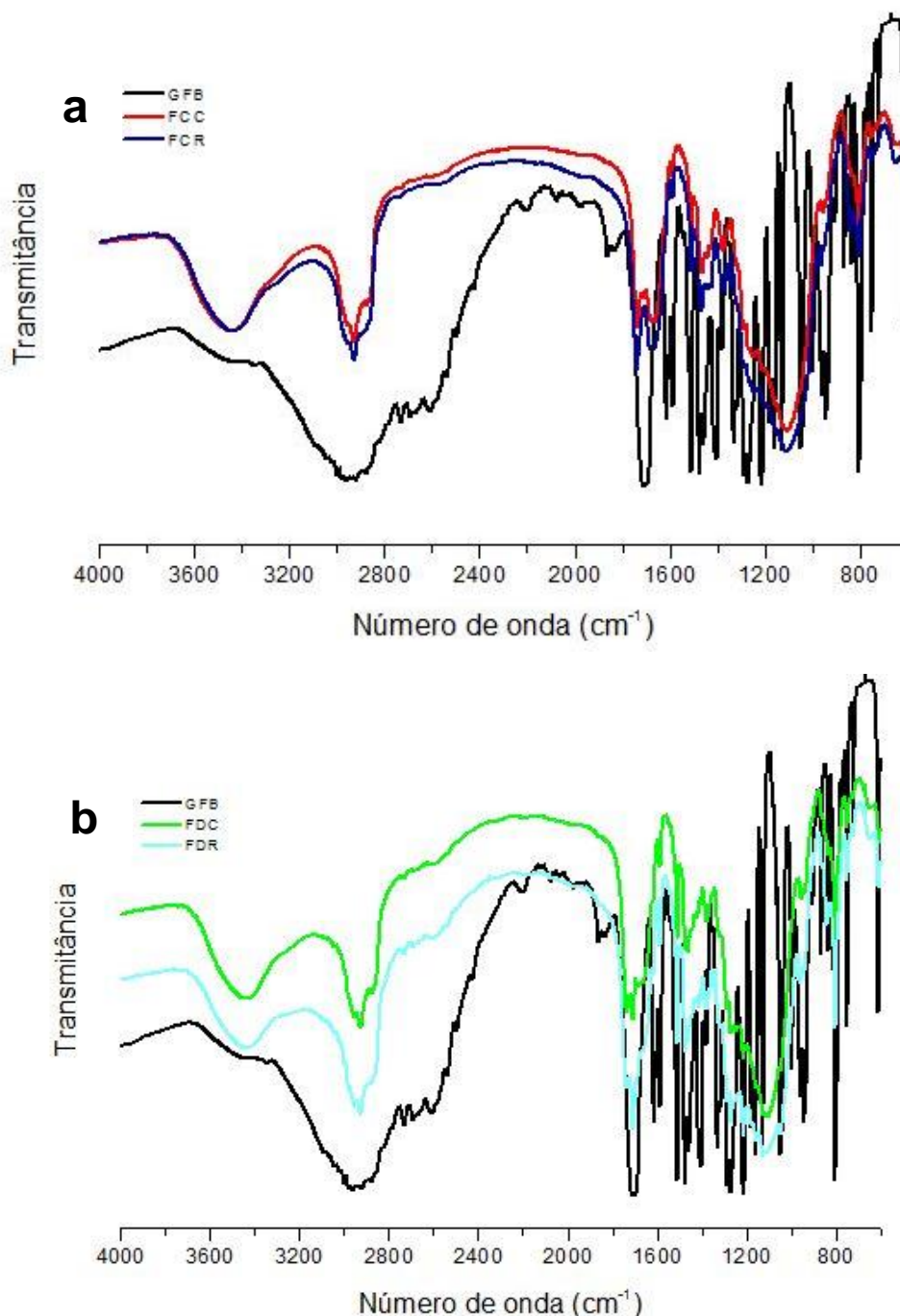


Nos espectros ampliados para o intervalo de 1800 cm^{-1} a 600 cm^{-1} (Figura 9 a e b), é possível visualizar uma banda intensa, que inicia em 1100 cm^{-1} em todas as formulações, sobrepondo as bandas características da GFB nessa faixa. Essa banda é indicativa de ligações assimétricas Si-O, que está presente em um dos componentes das formulações, o Aerosil®, conforme é possível verificar no espectro de FTIR das misturas binárias (Figura 7a). O aparecimento da banda em 1100 cm^{-1} , possivelmente está relacionado ao fato de o Aerosil® possuir densidade mais baixa que os outros componentes e mesmo após homogeneização das DSs ao coletar amostras para análise, pode ter ocorrido separação dos componentes devido a diferença de densidade.

Além disso, verificou-se na Figura 9a, que a banda em 1705 cm^{-1} atribuída ao grupo COOH da GFB se desloca para em torno de $1750 - 1760\text{ cm}^{-1}$. É sabido que a banda relativa ao grupo COOH de ácidos carboxílicos quando livre se apresenta deslocada para número de ondas maiores que 1700 cm^{-1} (STUART, 2004).

Na Figura 10 a e b estão agrupados os espectros das formulações FC e FD, variando-se o tipo de congelamento.

Figura 10 - Espectros das formulações FCC e FCR (a) e FDC e FDR (b) agrupados com GFB isolada.



Analisando-se o tipo de congelamento as formulações FC e FD apresentam as mesmas bandas, independentemente do tipo de congelamento empregado. Em maior ou menor intensidade, as bandas em 800 cm⁻¹ também característica do fármaco se manteve em todas as formulações. As formulações analisadas não apresentaram diferenças significativas nos espectros com a variação de congelamento e quantidade de formulação preparada.

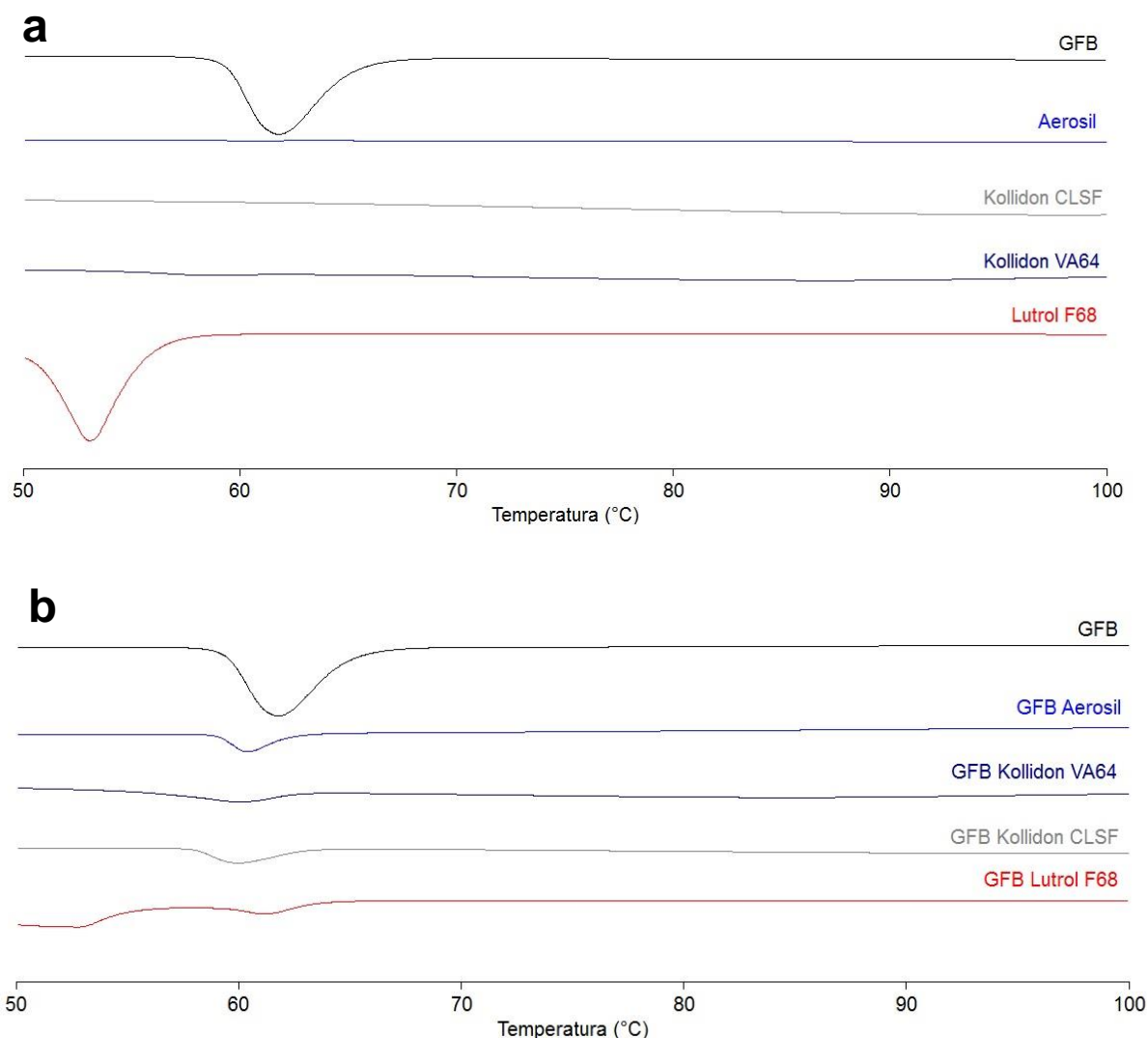
5.1.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

A técnica de DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento. Na área farmacêutica é utilizada na caracterização térmica e determinação da pureza de fármacos, estudos de compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina (GUO; SHALAEV; SMITH, 2013).

Na caracterização de DSs a técnica de DSC é amplamente utilizada, pois fornece informações precisas sobre a temperatura de fusão, temperatura de transição vítrea, bem como as mudanças de energia associadas com as transições de fase, incluindo cristalização e processo de fusão (VO; PARK; LEE, 2013). Na DSC, as amostras são submetidas a uma programação controlada de temperatura, sendo detectada a energia envolvida para a ocorrência de eventos térmicos, que podem ser endotérmicos (fusão, transição vítrea e entalpia de relaxamento) ou exotérmicos (cristalização) (VO; PARK; LEE, 2013; GURUNATH *et al.*, 2013).

Fanton (2015) realizou um estudo de compatibilidade entre o fármaco GFB e os excipientes. As curvas de DSC da GFB e excipientes isolados podem ser visualizadas na Figura 11a, enquanto que a comparação da curva de GFB isolada e as misturas 1:1 (m/m) de GFB com os excipientes podem ser avaliados na Figura 11b.

Figura 11 - Curvas de DSC do fármaco GFB e excipientes isolados (a) e GFB isolada e misturas 1:1 (m/m) com os excipientes avaliados.



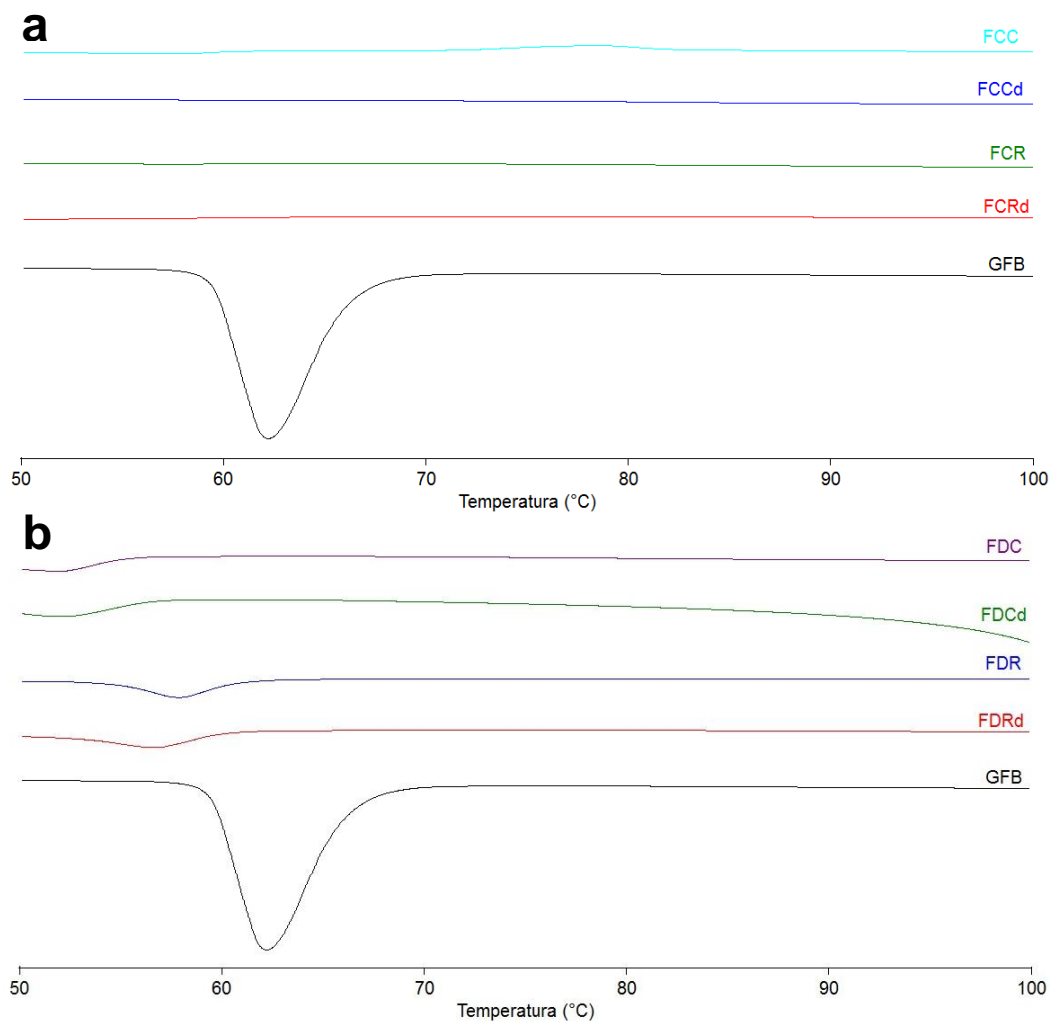
Fonte: Fanton (2015)

Por meio da análise das curvas de DSC obtidas, observa-se que o fármaco GFB apresenta um evento endotérmico em torno de 62 °C, que corresponde a fusão do material e é indicativa de que a GFB apresenta estrutura molecular cristalina (VILLAR *et al.*, 2012; AIGNER *et al.*, 2012; FANTON, 2015). Assim como a GFB, o Lutrol® F68 também apresentou um evento endotérmico, em torno de 53 °C, valor compatível com a faixa de fusão descrita na literatura (KIBBE, 2000; KOLAŠINAC *et al.*, 2012). A ausência do evento endotérmico, característico à fusão, é inerente a materiais com estrutura molecular amorfa, a qual é comum aos excipientes avaliados (Aerosil® 200, Kollidon® CLSF e Kollidon® VA64) (FANTON, 2015). Na mistura binária GFB/Lutrol® F68, além do evento endotérmico de fusão do fármaco, pode-se

observar também o pico característico da fusão do Lutrol® F68, próximo de 53°C. As curvas térmicas das misturas binárias podem ser consideradas como uma sobreposição das curvas de GFB e excipientes isolados, evidenciando a ausência de interações entre estes componentes (FANTON, 2015).

As curvas de DSC obtidas para as 8 amostras desenvolvidas neste trabalho e a GFB isolada estão agrupadas na Figura 12, por formulação, FC (Fig.12a) e FD (Fig.12b).

Figura 12 - Curvas de DSC da GFB e das formulações FC (a) e FD (b).



Analisando-se a curva de DSC da GFB isolada pode-se observar um evento endotérmico em torno de 62 °C, que é característico da fusão da GFB cristalina. Nas formulações FC e FD esse evento endotérmico não pode ser visualizado, a ausência do pico de fusão do fármaco na curva DSC de uma DS indica que o fármaco está na forma amorfa (VO; PARK; LEE, 2013).

Analisando-se as curvas obtidas para as formulações FC, é possível observar que nenhuma delas apresenta o pico endotérmico característico da fusão da GFB. Além disso, essas curvas não demonstram diferenças entre si que possam ser atribuídas ao tipo de congelamento ou ao volume adotado na preparação das amostras, ou seja, considerando somente a análise térmica, sugere-se que o fármaco está na forma amorfa e que isso independe do processo de congelamento empregado ou mesmo no volume produzido.

O perfil das curvas de DSC das amostras FC apresentaram-se semelhante àquela obtida por Fanton (2015), para essa mesma composição.

No caso das formulações FD, observa-se para FDC e FDCd um discreto evento endotérmico em torno de 52 °C enquanto para as amostras FDR e FDRd é possível visualizar um discreto evento endotérmico por volta de 56 °C. Esse evento endotérmico pode estar relacionado à presença da GFB parcialmente em sua forma cristalina, uma vez que nessas formulações FD o teor do fármaco é o dobro (4% m/m) daquele presente na formulação FC (2% m/m). Outra hipótese considerada foi a presença de Lutrol® F68 na formulação, o qual apresentou ponto de fusão em torno de 52 °C, como pode ser observado na Figura 11a, evento discreto, mas na mesma faixa de temperatura fora observado na mistura física de GFB e Lutrol® F68 (1:1). Ou ainda, a presença de água residual na amostra.

Para a formulação FD, as curvas não parecem diferir considerando o volume de formulação produzida, mas diferem quando se considera o tipo de congelamento empregado, convencional (C) ou rápido (R).

Por meio das análises das curvas de DSC obtidas, e considerando a região de temperatura entre 58 °C e 61 °C como referência à temperatura de fusão da GFB quando cristalina (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010), a redução de intensidade (FD) e o desaparecimento (FC) do evento de fusão da GFB, indicam que houve diminuição do grau de cristalinidade do fármaco e verificou-se que o tipo de

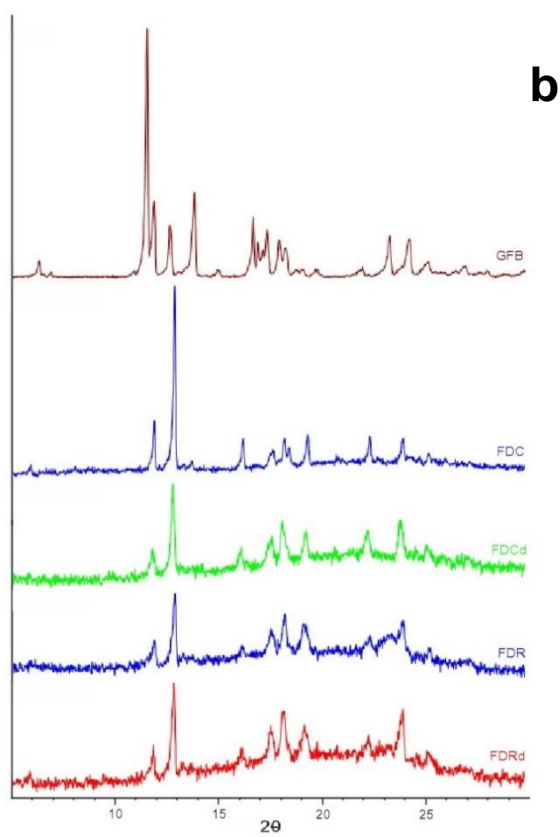
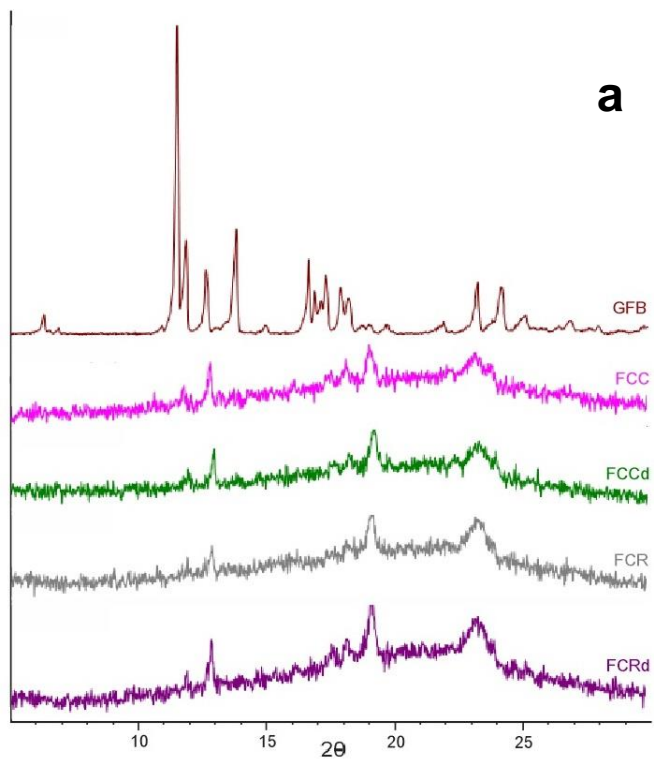
congelamento exerceu maior influência no perfil das curvas de DSC que o volume de formulação produzida na batelada.

5.1.3 Difração de raios-X (DRX)

A DRX é uma técnica específica para a determinação da estrutura cristalina de substâncias no estado sólido, na qual, um feixe de raios-X incide em um cristal ou amostra cristalina e interage com os elétrons dos átomos presentes, originando o fenômeno de difração (CUFFINI; PITALUGA JUNIOR; TOMBARI, 2011). A técnica de DRX é amplamente utilizada para identificar e caracterizar o estado cristalino de fármacos em DSs. Nesta técnica, a cristalinidade do fármaco pode ser identificada separadamente da cristalinidade do carreador, permitindo assim, a diferenciação entre o estado cristalino ou amorfo do fármaco na DS. Porém, quando a cristalinidade fica abaixo de 5-10% não podem ser detectadas por essa técnica (VO; PARK; LEE, 2013).

Assim como as curvas de DSC, os difratogramas obtidos para as 8 amostras e a GFB isolada estão agrupados por formulação base das DSs. Na Figura 13a, GFB isolada e amostras da FC, na Figura 13b, GFB isolada e amostras FD.

Figura 13 - Difratoformas da GFB e das formulações FC (a) e FD (b).



O difratograma da GFB demonstrou elevado grau de cristalinidade do fármaco, o que é caracterizado nas análises de DRX pela presença de picos longos e afilados, destacando-se aqueles com 2θ igual a $11,53^\circ$, $11,89^\circ$, $12,64^\circ$, $13,83^\circ$, $16,65^\circ$, $17,33^\circ$, $18,25^\circ$, $21,93^\circ$, $23,26^\circ$ e $24,23^\circ$. Esses picos, também foram identificados por Sami e colaboradores (2010) nos estudos com GFB e estão de acordo com aqueles registrados por Fanton (2015).

O difratograma das amostras FC e FD, apresentou o surgimento de um pico em aproximadamente 19° , o qual é identificado na literatura e atribuído ao Lutrol® F68, que apresenta característica cristalina, a qual também foi evidenciada na análise de DSC (Figura 11) (SONG; YOON; KIM, 2016; CAVALLARI; FINI; CESCHEL, 2013).

Os difratogramas das amostras FC (Figura 13a) apresentaram redução de intensidade de picos, relativamente ao fármaco isolado, o que indica diminuição do grau de cristalinidade da GFB nas amostras, pois, a ausência de picos longos e afilados e redução de sua intensidade, também chamada de halos amorfos, é comum a estruturas com baixa cristalinidade (MAULVI *et al.*, 2011). A redução de intensidade dos picos também pode ser atribuída à redução do tamanho de partícula (SAMI; PHILIP; PATHAK, 2010).

Analisando-se o efeito do tipo de congelamento empregado (FCC e FCR), observou-se que o perfil dos difratogramas, as intensidades dos picos e do halo amorfo são semelhantes entre si, sugerindo que o tipo do congelamento, não interferiu na cristalinidade da GFB para esta formulação. Observando-se as formulações FCCd e FCRd, que representam o maior volume produzido na batelada, verificou-se que os mesmos picos obtidos para FCC e FCR estão presentes, o que indica que o efeito do volume produzido na batelada não interferiu na cristalinidade da GFB presente na formulação. A ausência de efeito do tipo de congelamento e do volume de formulação produzida são coerentes com os dados de DSC obtidos. A presença do fármaco com baixo grau de cristalinidade foi identificada nesta análise, aspecto que não foi evidenciado nas curvas de DSC.

Nos difratogramas obtidos para as formulações FD (Figura 13b), observou-se que houve redução de intensidade dos picos característicos da GFB, porém, em menor intensidade se comparado com as amostras FC, o que pode ser justificado pela presença do dobro de GFB nas amostras FD. Além disso, para todas as amostras FD, observou-se o aumento do pico em 2θ de $12,64^\circ$ do fármaco, o desaparecimento dos

picos em 2θ de $11,53^\circ$ e $13,83^\circ$, aspectos que podem estar relacionados a uma reorganização estrutural do fármaco contido nas formulações, semelhante ao polimorfo I, apresentado na patente que trata de polimorfos de GFB (HUI *et al.*, 2009).

Analisando-se, o tipo de congelamento empregado no preparo das DSs, ambas as amostras, FDC e FDR, apresentaram difratogramas com o mesmo perfil e picos, porém o congelamento rápido (FDR) proporcionou maior redução do pico em $2\theta = 12,64^\circ$, o que sugere redução da cristalinidade da GFB. Quanto ao efeito do volume de formulação produzido por batelada, verificou-se que o congelamento convencional FDCd proporcionou uma redução mais acentuada na intensidade dos picos característicos da GFB cristalina, quando comparado com FDC o que sugere maior amorfização do fármaco. Para a FDR, os picos apresentaram-se no difratograma menos intensos, quando comparados aqueles com a FDRd, entretanto a FDCd e FDRd são bastante semelhantes, inclusive em intensidades de picos, o que pode indicar que, neste caso, o processo de congelamento parece não ter efeito sobre o perfil cristalino das amostras.

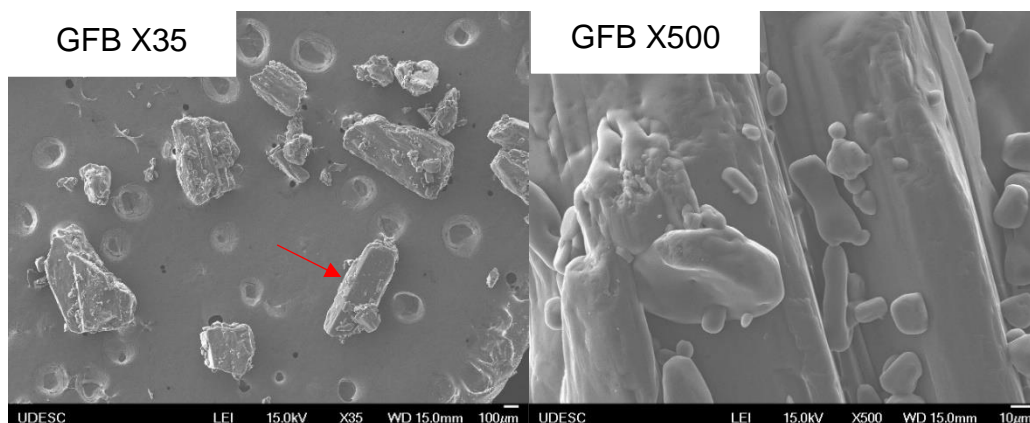
Os resultados de DRX, aliados aos de DSC, indicaram que houve redução do grau de cristalinidade das formulações (FC e FD) contendo GFB. Porém as variáveis tipo congelamento (C e R) e volume de formulação produzida por batelada exerceram influência sobre os picos de difração característicos da GFB de forma distinta. Dessa forma, o desaparecimento do pico de fusão da GFB nas curvas de DSC da FC não foi decorrente da amorfização total da amostra, mas sim da redução do grau de cristalinidade a um nível na qual a técnica não foi capaz de detectar (LEUNER & DRESSMAN, 2000).

5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A técnica de MEV no estudo de DS permite estudar aspectos de superfície do material e fornece informações do estado de cristalização da formulação. O conhecimento da microestrutura dos materiais permite o entendimento e até mesmo a previsão das propriedades e respostas químicas (LYRA *et al.*, 2010).

As micrografias obtidas para a GFB isolada são apresentadas na Figura 14.

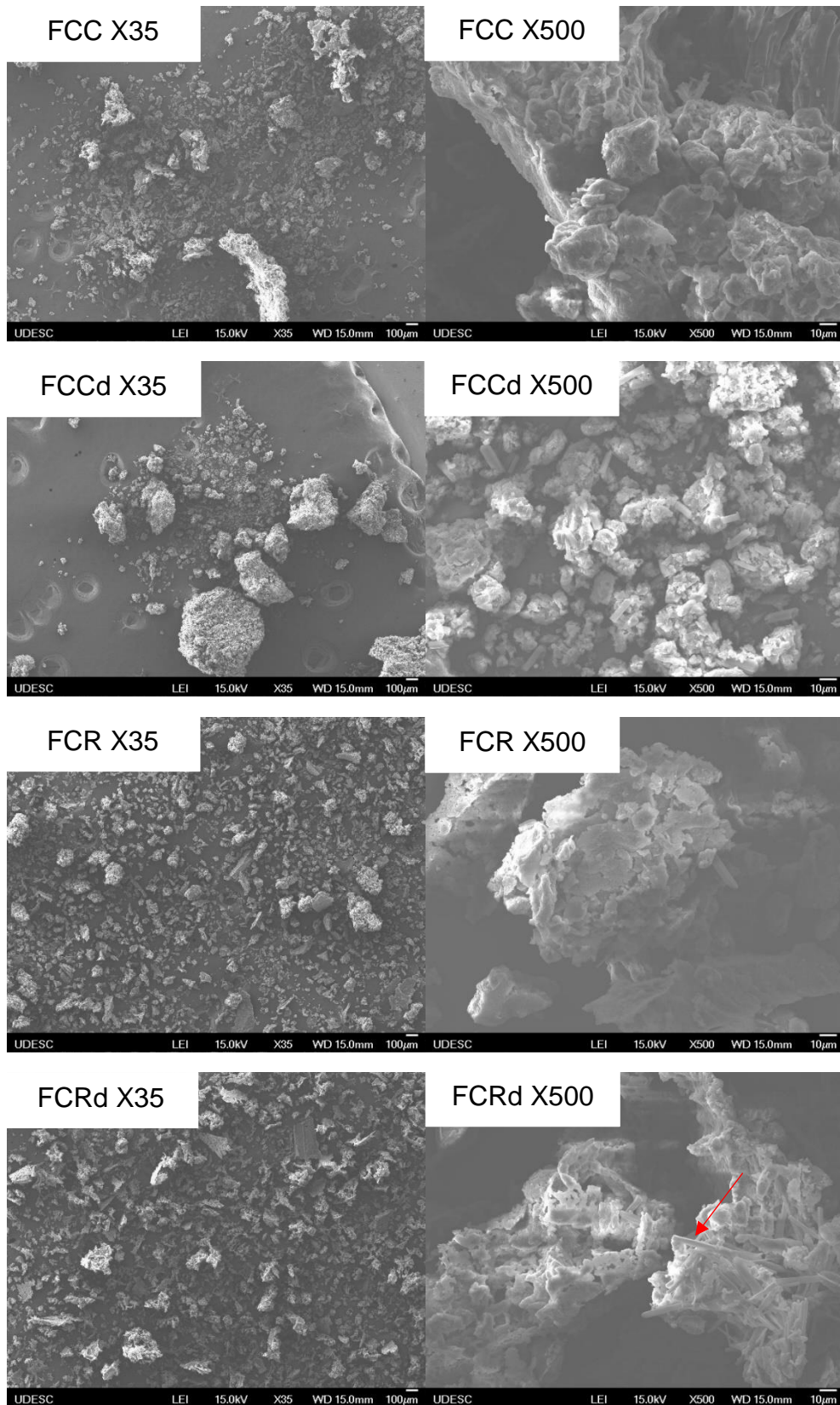
Figura 14 - Micrografias obtidas para a GFB isolada nos aumentos de 35X e 500X.



As micrografias obtidas permitem uma visão geral da morfologia e de algumas características da superfície tanto da GFB isolada quanto das formulações. A avaliação microscópica da GFB isolada apresentou partículas de aspecto cristalino regulares, algumas com formato colunar (indicado pela seta vermelha), essa forma está registrada na literatura para GFB (AMBRUS *et al.*, 2012).

As micrografias obtidas para a formulação FC são apresentadas na Figura 15.

Figura 15 - Micrografias obtidas para as formulações FC nos aumentos de 35X e 500X.



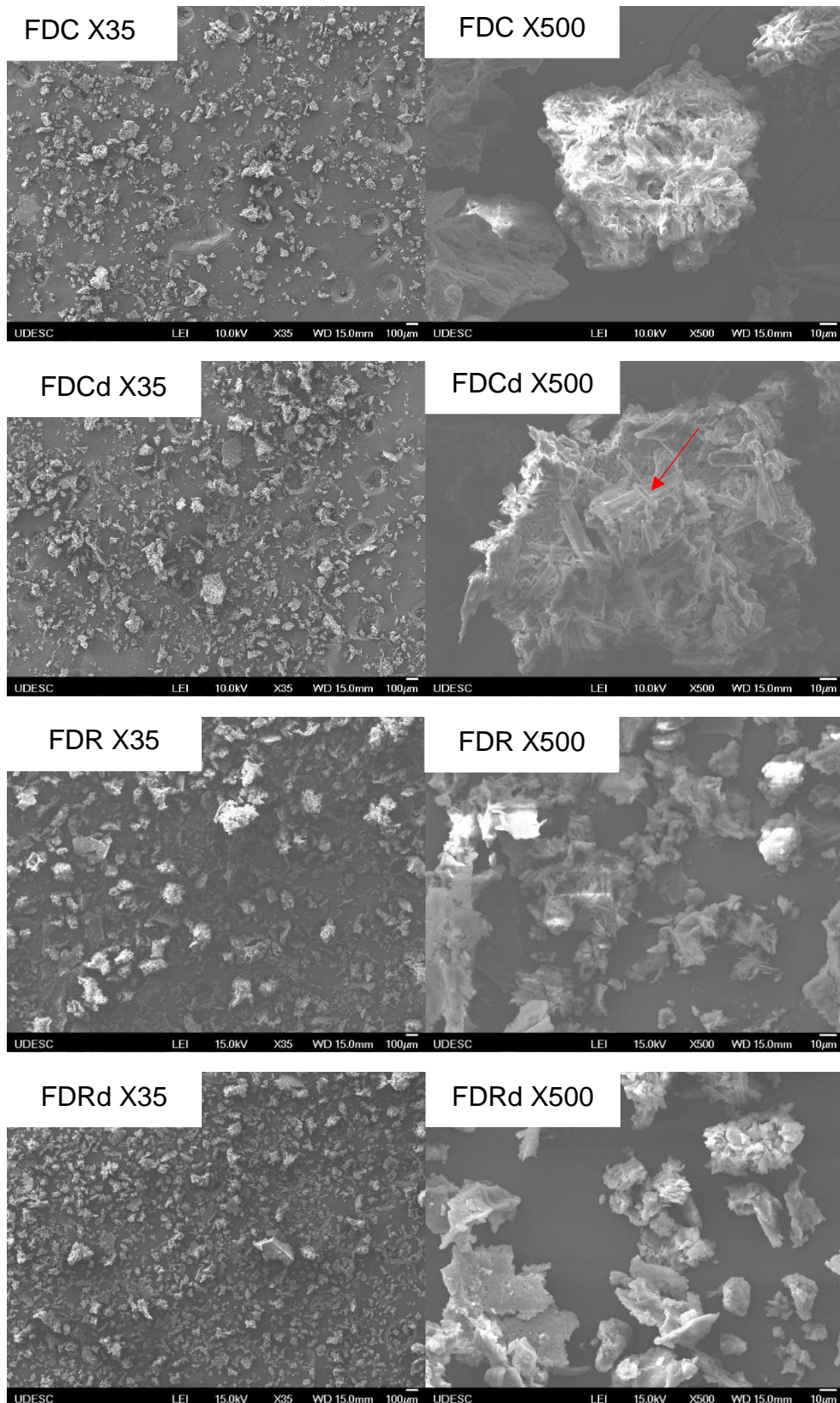
De modo geral, para as formulações FC, verifica-se que todas apresentaram tamanhos de partículas variados e no caso da FCCd, os aglomerados são mais evidentes. Além disso, nas imagens com aumento de 500x, predomina superfícies com características de baixa cristalinidade, rugosas, porosas e tipo escamas com algumas estruturas de forma de agulha ou acicular (mais evidente na FCRd – indicada pela seta vermelha), indicando a presença de alguma estrutura cristalina. A presença dessas estruturas havia sido sinalizada nos resultados de DRX.

Considerando-se os dois tipos de congelamento (C e R), as imagens sugerem que FCC e FCR apresentaram diminuição do tamanho de partícula quando comparada com a GFB isolada, porém ambas formulações apresentaram alguns aglomerados, a FCR parece ter uma distribuição mais homogênea que a FCC. Tanto a FCC quanto a FCR sofreram modificação da morfologia com predomínio do perfil de baixa cristalinidade que conferem com a apresentada na literatura (AMBRUS *et al.*, 2012).

Ao comparar as amostras FCC e FCCd para verificar o efeito da quantidade de formulação produzida, parece que o aumento do volume favorece a formação de aglomerados. Entretanto, essa tendência não se confirma quando se compara as amostras FCR e FCRd. Este fato pode estar relacionado, para os casos de maior volume de solução, com o efeito do congelamento. De acordo com a literatura, o processo de congelamento ao qual as amostras são submetidas podem alterar o tamanho dos cristais de gelo formado, menores em processos mais rápidos e maiores em processos mais lentos (MORAIS *et al.*, 2016). Ao analisar as micrografias obtidas sob o aumento de 500x (FCR e FCRd) pode-se visualizar uma modificação da morfologia, chamada de cristais em forma de agulha, encontradas na literatura em uma formulação liofilizada contendo GFB (AMBRUS *et al.*, 2012). A análise dessas amostras sugere que o tipo de congelamento empregado e quantidade de formulação produzida influenciam as características das partículas obtidas.

As micrografias obtidas para a formulação FD são apresentadas na Figura 16.

Figura 16 - Micrografias obtidas para as formulações FD nos aumentos de 35X e 500X.



Analisando-se as micrografias obtidas para as formulações FD, considerando-se os dois tipos de congelamento (C e R), pode-se observar que todas apresentaram tamanhos de partículas variados, bem distribuídos com alguns aglomerados. Mais evidente na superfície das formulações submetidas ao congelamento convencional em relação às formulações submetidas ao congelamento rápido é a presença das estruturas cristalinas (mais evidente na FDCd – indicada pela seta vermelha). Esses resultados confirmam o que foi indicado na análise por DRX.

Em relação à quantidade de formulação produzida na batelada, para a amostra FDCd ao aumento de 500x pode-se observar partículas de aspecto cristalino com formato colunar semelhante à presente no fármaco isolado (AMBRUS *et al.*, 2012). FDC também apresentou partículas de aspecto cristalino, porém menos evidentes do que na FDCd. FDR revelou partículas pequenas com alguns aglomerados bem distribuídos e pequenas partículas melhor observadas ao aumento de 500x com característica cristalina no formato de agulha (AMBRUS *et al.*, 2012). FDRd apresentou partículas de tamanho pequeno com alguns aglomerados bem distribuídos. Ao aumento de 500x, FDR e FDRd apresentaram partículas com bordas irregulares e de maior tamanho se comparada com as outras formulações, forma também descrita para formulação contendo GFB liofilizada (SAMI; PHILIP; PATHAK, 2010).

As amostras das formulações FC e FD apresentaram partículas com característica de menor cristalinidade, menos regulares, formas também registradas na literatura para formulação contendo GFB liofilizada (SAMI; PHILIP; PATHAK, 2010). Essas diferenças morfológicas nas partículas de característica cristalina ou amorfa, é resultado da organização molecular das estruturas, a organização molecular repetitiva do material cristalino, resulta em partículas regulares, enquanto a disposição mais aleatória das moléculas nas amostras amorfas leva a formação de uma partícula menos reprodutível e irregular (HANCOCK *et al.*, 2002).

A avaliação microscópica das formulações revelou partículas com tamanho, distribuição e superfície com características diferentes obtidas para os diferentes tipos de congelamento e quantidade de formulação produzida na batelada sugerindo que o processo de obtenção de DSs contendo GFB influencia a morfologia das partículas.

5.1.5 Determinação de área superficial específica e densidade verdadeira

Um dos fatores mais importantes no processo de dissolução é o tamanho de partícula, e mais especificamente, a área superficial do fármaco. A dissolução é proporcional a área de superfície do pó, que aumenta com a diminuição do tamanho de partícula (HÖRTER & DRESSMAN, 2001). A diminuição do tamanho de partícula pode ter algumas desvantagens nas propriedades de dissolução do fármaco, como a formação de aglomerados e a baixa densidade do pó (KHADKA *et al.*, 2014), sendo assim, a avaliação da área superficial específica e densidade verdadeira é relevante no estudo de DSs.

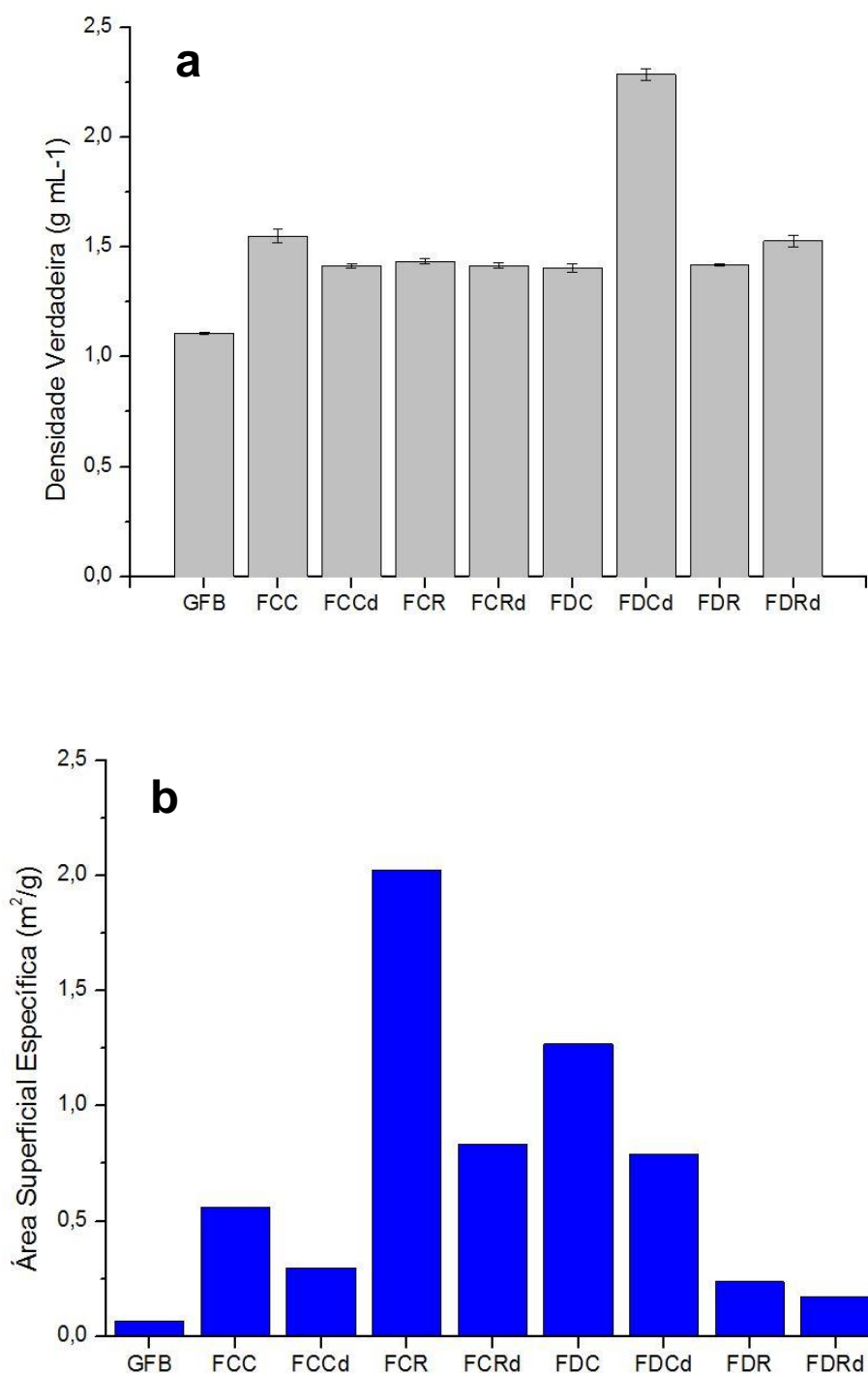
Os resultados obtidos nas análises de densidade verdadeira e área superficial específica estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados de área superficial específica e densidade verdadeira. Os resultados de densidade são apresentados pelos valores médios e desvio padrão de cinco determinações.

Amostra	Densidade Verdadeira (g mL⁻¹)	Área Superficial Específica (m²/g)
GFB	1,1085 ± 0,0055	0,064
FCC	1,5503 ± 0,0307	0,56
FCCd	1,413 ± 0,0088	0,297
FCR	1,4355 ± 0,0126	2,024
FCRd	1,4164 ± 0,0105	0,833
FDC	1,4043 ± 0,0182	1,268
FDCd	2,2868 ± 0,0258	0,790
FDR	1,4187 ± 0,0055	0,236
FDRd	1,5294 ± 0,0258	0,171

A Figura 17 representa os resultados obtidos na análise de densidade verdadeira (Fig 17a) e área superficial específica (Fig 17b).

Figura 17 - Resultados de área superficial específica (a) e densidade verdadeira (b). Os resultados de densidade são apresentados pelos valores médios e desvio padrão de cinco determinações.



As formulações apresentaram densidades maiores do que a GFB isolada, provavelmente devido à presença dos outros componentes da DS e que possuem maior densidade, como o Kollidon® VA64 e o Kollidon® CL-SF que possuem valores de densidade de 1,18 g mL⁻¹, 1,22 g mL⁻¹ respectivamente (KIBBE, 2000).

Analisando-se os resultados obtidos para a formulação FC, todas mantiveram densidades semelhantes variando-se o tipo de congelamento e volume de formulação produzido na batelada. FCC obteve um valor de densidade de $1,55 \text{ g mL}^{-1}$ e para as demais formulações os valores de densidade permaneceram entre $1,41$ e $1,43 \text{ g mL}^{-1}$, esse fato pode estar relacionado com a presença de aglomerados observada na análise de MEV para as formulações FC.

Nas formulações FD, nota-se que a FDCd apresenta uma densidade de $2,28 \text{ g mL}^{-1}$, bem superior aos valores obtidos para FDC ($1,40 \text{ g mL}^{-1}$), FDR ($1,41 \text{ g mL}^{-1}$) e FDRd ($1,52 \text{ g mL}^{-1}$), a densidade elevada provavelmente está associada a presença de aglomerados na formulação. As densidades verdadeiras das formulações FD indicam que o dobro de formulação produzida teve maior influência do que o tipo de congelamento empregado sobre a densidade do pó obtido.

Em relação à área superficial específica, a GFB apresentou o valor de $0,064 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$, sendo inferior às obtidas para FC e FD, indicando que a formulação de DSs diminuiu o tamanho de partícula e conseqüentemente, aumentou a área superficial específica.

Observando-se os resultados de área superficial obtidos para FC e considerando os tipos de congelamento empregados (C e R), FCR apresentou um aumento de área superficial de aproximadamente 3 vezes em relação a FCC, que teve valor de densidade aumentado em relação as outras FC, o que pode estar relacionado com a presença de aglomerados maiores evidenciados na análise de MEV. A quantidade de formulação produzida influenciou a área superficial obtida nas DSs. FCC e FCR apresentaram maior área superficial específica do que FCCd e FCRd. Para a formulação FC o tipo de congelamento e a quantidade produzida influenciaram diretamente na área superficial obtida.

Os resultados de área superficial específica obtidos para FD demonstraram que diferente das formulações FC, a FDC obteve um aumento de aproximadamente 5 vezes em relação a FDR. O tamanho das partículas não pôde ser avaliado na análise de MEV, devido ao grande aglomerado presente na micrografia. A formação de aglomerados está relacionada a diminuição do tamanho de partícula, que leva ao aumento da área superficial. Avaliando-se as quantidades produzidas, o dobro de formulação (FDCd e FDRd) promoveu a diminuição da área superficial.

As diferenças de densidade e, principalmente, nos valores de área superficial específica podem influenciar a velocidade de dissolução das DSs, devido a redução do tamanho das partículas, que aumenta a molhabilidade da forma farmacêutica, melhorando sua solubilidade (CHADHA & BHANDARI, 2014).

5.1.6 Determinação do teor de fármaco nas amostras

A determinação do teor de GFB presente nas amostras foi realizada por método espectrofotométrico UV-Vis, em triplicata, e os valores das médias estão descritos na Tabela 3. Os valores em concentração (mg L^{-1}) foram calculados a partir dos valores das leituras de absorvância de cada uma das amostras por meio das curvas de calibração obtidas.

Tabela 3 - Formulações e respectivos teores médios de fármaco, desvio padrão (DP) e coeficiente de variação (CV).

Formulação	Média teor (%)	DP	CV (%)
FCC	93,04	0,52	0,6
FCCd	106,37	0,4	0,4
FCR	100,92	0,65	0,6
FCRd	106,63	0,3	0,3
FDC	90,87	7,57	1,34
FDCd	95,63	1,04	1,09
FDR	100,31	2,71	2,7
FDRd	96,16	1,57	1,64

Por meio da avaliação dos resultados obtidos, observa-se que os teores calculados em cada uma das formulações apresentaram resultados diferentes entre si. A faixa de valores de aceitação sugerida como padrão pela Farmacopeia Brasileira (2010) para ensaios de doseamento de formulações contendo o fármaco é de 90 – 110 % e todas as amostras cumprem esse requisito, desse modo, os resultados foram considerados satisfatórios.

5.1.7 Determinação da solubilidade aparente

Os valores de solubilidade aparente obtidos para a GFB e para FC e FD, são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Resultados de solubilidade aparente da GFB e das formulações FC e FD em tampão fosfato pH 6,8.

Amostra	Solubilidade aparente da GFB (mg L⁻¹)*
GFB	568,35 ± 43,28
FCC	1047,82 ± 10,17
FCCd	1653,35 ± 56,48
FCR	1830,55 ± 17,10
FCRd	1791,07 ± 22,62
FDC	1102,41 ± 15,49
FDCd	1413,69 ± 27,98
FDR	1376,77 ± 66,37
FDRd	1049,08 ± 20,70

*Resultados expressos como média ± DP.

A Tabela 4 mostra que a solubilidade aparente da GFB em meio tampão fosfato pH 6,8 foi de 568,35 mg L⁻¹, que confere com o resultado obtido por Fanton (2015) e todas as formulações avaliadas apresentaram resultados superiores. Indicando que a formulação de DSs aumentou a solubilidade aparente do fármaco em no mínimo 1,8 vezes (FCC) no meio testado. Este resultado pode ser explicado pelo aumento da área superficial específica das formulações, discutido no item 5.1.5, e também devido à redução da cristalinidade obtida nas amostras, evidentes na análise de DRX, item 5.1.2.

FCR foi a formulação que obteve melhor resultado de solubilidade aparente, com um aumento de até 3 vezes quando comparada a GFB isolada, e apresentou a maior área superficial dentre as amostras.

5.1.8 Perfil de dissolução

A dissolução é o processo pelo qual uma substância no estado sólido dissolve em um meio líquido. É uma propriedade fundamental de um sólido, controlada pela afinidade entre o soluto e o meio que o envolve. A dissolução é um pré-requisito para a absorção de fármacos, o qual influencia na taxa e na extensão com que a dose administrada alcança a circulação sistêmica (JAMBHEKAR & BREEN, 2013).

Os perfis de dissolução da GFB isolada e das DSs obtidas estão representados na Figura 18. Além disso, a eficiência de dissolução (ED%), calculada por meio da equação 1 (item 4.5.9), é apresentada na Tabela 5.

Figura 18 - Perfil de dissolução das formulações FC e FD e GFB isolada.

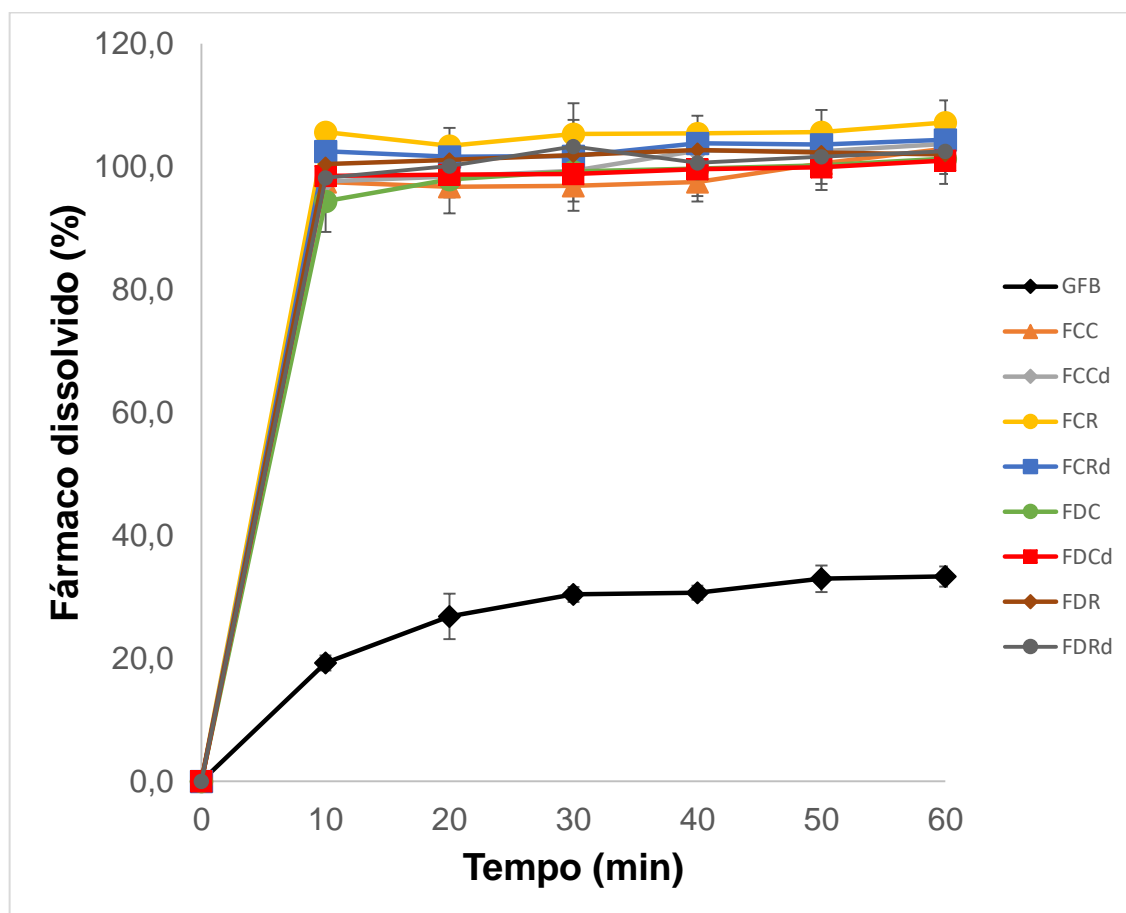


Tabela 5 - Eficiência de dissolução (ED%) da GFB isolada e formulações FC e FD.

Amostra	ED%
GFB	25,6 ± 3,0
FCC	90,10 ± 2,2
FCCd	92,0 ± 2,1
FCR	96,5 ± 2,6
FCRd	94,2 ± 1,7
FDC	90,3 ± 3,8
FDCd	91,0 ± 0,5
FDR	93,3 ± 0,6
FDRd	92,5 ± 1,7

*Resultados expressos como média ± DP.

A Figura 18 demonstra que todas as formulações apresentaram melhora na dissolução do fármaco, quando comparadas com a GFB isolada. É possível visualizar

que todas as formulações atingiram a liberação completa do fármaco em condições *sink*, em apenas 10 min e mantiveram a concentração do fármaco inalterada até o final do teste (60 min). As condições *sink* são atingidas quando a concentração do fármaco é mantida pelo menos três a cinco vezes abaixo da solubilidade de equilíbrio, durante o teste de dissolução (FDA, 1997).

Um parâmetro utilizado para caracterizar o perfil de liberação de um fármaco é a eficiência de dissolução (ED%). A ED% é definida como a área sobre a curva de dissolução até determinado tempo, expressa como a porcentagem da área do retângulo descrito pela dissolução de 100% do fármaco no mesmo tempo (COSTA & LOBO, 2001). Este parâmetro está relacionado com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvido no meio e fornece dados importantes para previsão dos resultados *in vivo*. Analisando-se a Tabela 5 pode-se observar que a formulação FCR apresentou melhor eficiência de dissolução (96,5%). O congelamento rápido, proporcionou melhora na eficiência de dissolução. Cabe destacar que a FCR apresentou a maior área superficial dentre as amostras.

Por meio da análise estatística ANOVA, observou-se que a ED% foi diferente entre FCC e FCR, mostrando que as amostras submetidas ao congelamento rápido, obtiveram melhor eficiência de dissolução. O volume de formulação produzida não influenciou na ED%.

5.2 ANÁLISE DA PRESENÇA DO ÓLEO DE ALECRIM RESIDUAL NAS DS

Esta análise foi conduzida para demonstrar que o óleo foi carregado durante o processo de liofilização. Os cromatogramas do óleo de alecrim, padrões e formulações FC e FD são apresentados na Figura 19 e 20.

Figura 19 - Cromatograma do Padrão (Óleo de alecrim), Branco e formulações FC.

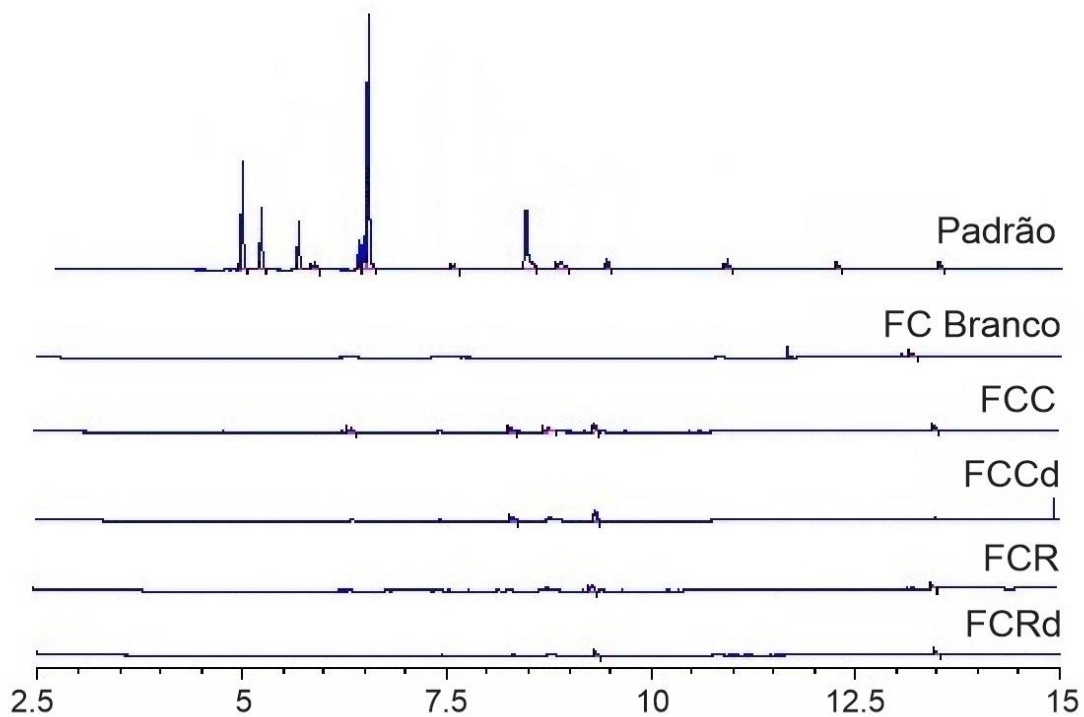
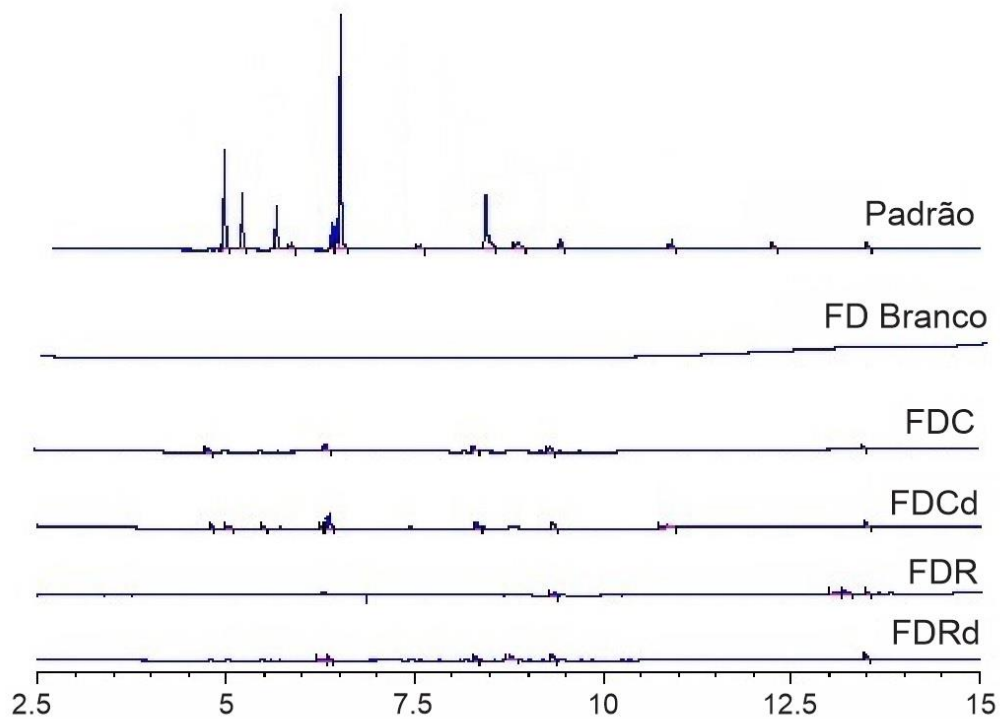


Figura 20 - Cromatograma do Padrão (Óleo de alecrim), Branco e formulações FD.



Os cromatogramas obtidos (Figura 19 e 20) mostram que houve diminuição considerável dos picos relacionados ao óleo de alecrim, o que sugere que o processo de liofilização foi eficiente para remoção do óleo de alecrim das amostras.

5.3 ANÁLISE GERAL DO CONJUNTO DE RESULTADOS

Para se ter uma visão global do conjunto de resultados obtidos e a influência dos fatores selecionados neste trabalho, organizou-se um quadro resumo (Quadro 3) colocando-se a indicação de efeito evidenciado (EE) e efeito não evidenciado (NE).

Quadro 3 - Quadro resumo de resultados com indicação de efeito evidenciado (EE) e efeito não evidenciado (NE).

Análise	Tipo de congelamento		Volume produzido	
	FC	FD	FC	FD
FTIR	NE	NE	NE	NE
DSC	NE	EE	NE	NE
DRX	NE	EE	NE	EE
MEV	EE	EE	EE	EE
Densidade	NE	NE	NE	EE
Área superficial	EE	EE	EE	EE
ED%	EE	NE	NE	NE

Desta forma, demonstra-se que o tipo de congelamento e o volume produzido afetam de forma distinta as formulações FC e FD, certamente em virtude da quantidade de fármaco presente nessas formulações (Quadro 2 da metodologia). As amostras com maior quantidade de fármaco, FD, parecem ser mais afetadas.

O congelamento rápido, proporcionou melhora na ED% para FC e FD. Cabe destacar que a possibilidade, no caso das amostras FC, de poder produzir o dobro de formulação e utilizar o congelamento rápido são promissores, por permitir a redução de tempo de produção e redução do consumo de energia, uma vez que o processo de ocorre num banho que pode ser reutilizado e que durante o evento em si, não precisa desse aporte para se manter.

CONCLUSÃO

As DSs contendo GFB utilizando óleo de alecrim (FC e FD) obtidas por liofilização, avaliando diferentes métodos de congelamento e volume de formulação produzida, apresentaram diferenças nas características físico-químicas. A partir da formulação de DSs foi possível reduzir o grau de cristalinidade da GFB, porém as variáveis tipo de congelamento e volume de formulação produzida por batelada exerceram influência de forma distinta sobre essas características. As formulações FD foram as mais afetadas pelas diferentes condições de processo, devido a maior quantidade de fármaco na DS.

O aspecto morfológico das partículas de DSs obtidas foi influenciado pelo tipo de congelamento e volume produzido. Quando comparadas ao fármaco isolado, a formulação de DSs diminuiu o tamanho de partícula e aumentou a área superficial específica das amostras (FC e FD). O congelamento rápido, proporcionou uma distribuição mais homogênea das partículas quando comparado com o método de congelamento convencional. O dobro de formulação produzida promoveu diminuição da área superficial específica para FC e FD.

Todas as DSs obtidas apresentaram aumento da solubilidade aparente e do perfil de dissolução, quando comparadas ao fármaco isolado. A melhora das propriedades de dissolução foram atribuídas à redução do grau de cristalinidade da GFB e ao aumento da área superficial das formulações, que promoveu o aumento da molhabilidade. O congelamento rápido, promoveu melhor ED%, FCR foi a formulação que obteve o melhor resultado, o que está relacionado com o fato de que obteve maior área superficial específica.

O processo de liofilização foi eficiente para a remoção do óleo de alecrim, portanto qualquer alteração nas propriedades das DSs é decorrente do processo, tipo de congelamento empregado e volume de formulação produzido na batelada.

A formulação FC é considerada a mais promissora, pois se pode produzir o dobro de formulação e utilizar o congelamento rápido, com menor consumo de energia e tempo, uma vez que esse processo é feito em um banho que pode ser reutilizado e de baixo custo.

RECOMENDAÇÕES

Considerando-se os resultados atingidos, propõe-se a continuidade deste estudo, visando a produção de comprimidos a partir das DSs, bem como, o estudo de estabilidade, pois uma grande preocupação na formulação de DSs está na estabilidade durante o armazenamento.

Sugere-se ainda, a obtenção de DSs contendo quantidades de fármaco intermediárias às utilizadas neste trabalho FC (2% m/m) e FD (4%), para que se obtenha uma formulação com boas propriedades de dissolução, mantendo suas características físico-químicas.

REFERÊNCIAS

- ADIBKIA, K. *et al.* Physicochemical characterization of naproxen solid dispersions prepared via spray drying technology. **Powder Technology**. v.246, p. 448–455, 2013.
- AIGNER, Z.; BERKESI, O.; FARKAS, G.; SZABÓ-RÉVÉSZ, P. DSC, X-ray and FTIR studies of a gemfibrozil/dimethyl- β -cyclodextrin inclusion complex produced by co-grinding. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. v. 57, p. 62–7, 2012.
- ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ M.L.; PERISSUTTI, B.; RODRIGUEZ, L. Effect of Aerosil® on the properties of lipid controlled release microparticles. **Journal of Controlled Release**. v. 100, p. 233-246, 2004.
- AL-HAMIDI, H.; EDWARDS, A. A.; MOHAMMAD, M.A.; NOKHODCHI, A. To enhance dissolution rate of poorly water-soluble drugs: Glucosamine hydrochloride as a potential carrier in solid dispersion formulations. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**. v.76, p. 170–178, 2010.
- ALONSO JUNIOR, R. Tratado de fitomedicina: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis Ediciones, 1998.
- ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M.; ROLIM, L. A.; PRESMICH, G. M. A.; ROLIM NETO, P. J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.33, p.17-25, 2012.
- AMBRUS, R.; AMIRZADI, N. N.; AIGNER, Z.; SZABÓ-RÉVÉSZ P. Formulation of poorly water-soluble Gemfibrozil applying power ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry**. v.19, p. 286-291, 2012.
- AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**. v.12, p. 413-420, 1995.
- ASARE-ADO, K.; SUPUK, E.; AL-HAMIDI, H.; OWUSU-WARE, S.; NOKHODCHI, A.; CONWAY, B. R. Triboelectrification and dissolution property enhancements of solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**. v.485, p. 306-316, 2015.
- BAGHEL, S.; CATHCART, H.; O'REILLY, J.N. Polymeric Amorphous Solid Dispersions: A Review of Amorphization, Crystallization, Stabilization, Solid-State Characterization, and Aqueous Solubilization of Biopharmaceutical Classification System Class II Drugs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.105, p. 2527-2544, 2015.
- BAHETI, A.; KUMAR, L.; BANSAL, A. Excipients used in lyophilization of small molecules. **Journal of Excipients and Food Chemicals**. v.1, p. 41-54, 2010.

BAIRD, J. A.; TAYLOR, L. S. Evaluation of amorphous solid dispersion properties using thermal analysis techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 64, p. 396–421, 2012.

BASF. **Technical information - Kollidon® CL-SF**. 2014 Disponível em: <http://www.rumapel.com.ar/pharma_excipientes/ficha_tecnica/Kollidon%20CL%20CL-F%20CL-SF%20CL-M.pdf>. Acesso em: 7 fev 2017.

BASF. **Technical information - Kollidon® VA 64**. 2014 Disponível em: <http://www.rumapel.com.ar/pharma_excipientes/ficha_tecnica/Kollidon%20VA%2064.pdf> Acesso em: 7 fev. 2017.

BASF. **Technical information - Lutrol® F68**. 2012 Disponível em: <http://www.rumapel.com.ar/pharma_excipientes/ficha_tecnica/Kolliphor_P_Grades.pdf>. Acesso em: 7 fev 2017.

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

BRAGA, M.B.; LANGER, A.; LEITER, L.A. Recommendations for management of dyslipidemia in high cardiovascular risk patients. **Experimental Clinical Cardiology**. v.13, p. 71-74, 2008.

BOIX, Y. F.; VICTÓRIO, C. P.; LAGE, C. L. S.; KUSTER, R. M. Volatile compounds from *Rosmarinus officinalis* L. and *Baccharis dracunculifolia* Dc. growing in southeast coast of Brazil. **Química Nova**. v.33, p. 255-257, 2010.

BUNACIU, A. A.; ABOUL-ENEIN, H. Y.; FLESCHEIN, S. Application of Fourier transform infrared spectrophotometry in pharmaceutical drugs analysis. **Applied Spectroscopy Reviews**. v.45, p. 206-219, 2010.

CAVALLARI, C.; FINI, A.; CESCHEL, G. Design of olanzapine/lutrol solid dispersions of improved stability and performances. **Pharmaceutics**. v.5, p. 570-590, 2013.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug-excipient compatibility screening role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**. v.87, p. 82–97, 2014.

CHAUDHARI, P. D. PHATAK, A. A.; DESAI, U. A Review: Coprocessed excipients - an alternative to Novel. **International Journal of Pharmaceutical and Chemical Sciences**. v.1, p. 1480–1498, 2012.

CHEN, Y.; LIN, P.; TANG, M.; CHEN, Y. Solid solubility of antilipemic agents and micronization of gemfibrozil in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**. v.52, p. 175-182, 2010.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Science**. v. 13, p. 123-133, 2001.

CUFFINI, S. L.; PITALUGA JUNIOR, A.; TOMBARI, D.; Polimorfismo em fármacos. In: STORPITIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. p. 21-31, 2011.

DAS, S.K., ROY, S., KALIMUTHU, Y., KHANAM J., NANDA, A. Solid dispersions: an approach to enhance the bioavailability of poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmacology and Pharmaceutical Technology**. v.1, p. 37 – 46, 2012.

DJURIS, J.; IOANNIS, N.; IBRIC, S.; DJURIC, Z.; KACHRIMANIS, K. Effect of composition in the development of carbamazepine hot-melt extruded solid dispersions by application of mixture experimental design. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v.66, p. 232-243, 2014.

ELIKIR, G. D. Oportunidades y desafíos en el manejo de las dislipidemias. **Salud(i)Ciencia**. v.18, p. 62-66, 2010.

FANTON, A. C. **Produção e avaliação de dispersões sólidas de genfibrozila por liofilização: estudo de compatibilidade com os excipientes e caracterização das partículas**. 2015, 75f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Processos). Universidade da Região de Joinville – UNIVILLE, Santa Catarina, 2015.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5. ed. 2v. Brasília: ANVISA, 2010.

GARCÍA-ARIETA, A. Interactions between active pharmaceutical ingredients and excipients affecting bioavailability: impacto on bioequivalence. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.65, p. 89-97, 2014.

GHADERI, R.; ARTURSSON, P.; CARLFORS, J. Preparation of biodegradable microparticles using solution-enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS). **Pharmaceutical Research**. v.16, p. 676-681, 1999.

GOMES, M.N.; MACIEL, M.G.; TORRES, R.S.; BARBOSA, S.N.A.A. Relação entre variáveis antropométricas, bioquímicas e hemodinâmicas de pacientes cardiopatas. **Internacional Journal of Cardiovascular Sciences**. v.28, p. 392-399, 2015a.

GOMES, T.A.; COSTA, S.P.M.; MEDEIROS, G.C.R., SILVA, C.R.; LYRA, M.A.M.; SILVA, K.E.R.; ALBUQUERQUE, M.M., SILVA, R.M.F., NETO, P.J.R. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antirretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.36, p. 239-249, 2015b.

GOODMAN, L.S.; BRUNTON, L.L.; CHABNER, B.A.; KNOLLMANN, J.C. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 11 ed. Porto Alegre: McGraw-Hill, 2012.

GUO, Y.; SHALAEV, E.; SMITH, S. Physical stability of pharmaceutical formulations: solid-state characterization of amorphous dispersions. **Trends in Analytical Chemistry**. v.49, p. 137–144, 2013.

GUPTA, S.; SAINI, L. Effect of lyophilization and polymer compositions on solubility of aceclofenac solid dispersions. **Journal of Advanced Pharmacy Education & Research**. v.2, p. 113-119, 2011.

GURUNATH, S.; KUMAR, S.; BASAVARAJ, N.K.; PATIL, P.A. Amorphous solid dispersion method for improving oral bioavailability of poorly water soluble drugs. **Journal of Pharmacy Research**. v.6 p. 476-480, 2013.

HANCOCK, B.C.; CARLSON, G.T.; LADIPO, D.D.; LANGDON, B.A.; MULLARNEY, M.P. Comparison of the mechanical properties of the crystalline and amorphous forms of a drug substance. **International Journal of Pharmaceutics**. v.241, p. 73-85, 2002.

HORTER, D.; DRESSMAN, J.B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.46, p. 75–87, 2001.

HUANG, Q., WANG, J., CHEN, G., SHEN, Z., CHEN, J., YUN, J. Micronization of gemfibrozil by reactive precipitation process. **International Journal of Pharmaceutics**. v.360, p. 58-64, 2008.

HUANG, Y.; DAI, W. G. Fundamental aspects of solid dispersion technology for poorly soluble drugs. **Acta Pharmaceutica Sinica B**. v.4, p. 18–25, 2014.

HUI, W.; XIURONG, H.; JINHAO, Z.; SHAOJUN, Q. **Gemfibrozil polymorphism and preparation method thereof**. CN Pat.101555202 A, 14 out. 2009. 8p.

INGVARSSON, P.T.; YANG, M.; NIELSEN, H.M.; RANTANEN, J.; FOGED, C. Stabilization of liposomes during drying. **Expert opinion on drug delivery**. v.8, p. 375-388, 2011.

JAMBHEKAR, S.S.; BREEN, P.J. Drug dissolution: significance of physicochemical properties and physiological conditions. **Drug Discovery Today**. v.18, p. 1173-1184, 2013.

JANNIN, V.; MUSAKHANIAN, J.; MARCHAUD, D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. **Advanced drug delivery reviews**. v.60, p. 734-746, 2008.

JUNYAPRASERT, V.B.; MORAKUL, B. Nanocrystals for enhancement of oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical sciences**, v.10, p. 13 – 23, 2015.

KADRI, A.; ZARAI, Z., CHOBBA, I.B. BÉKIR, A.; GHARSALLAH, N., DAMAK, M.; GDOURA, R. Chemical constituents and antioxidant properties of Rosmarinus

officinalis L. essential oil cultivated from the South-Western of Tunisia. **Journal of Medicinal Plants Research**. v.5, p. 6502-6508, 2011.

KASPER, J.C.; FRIESS, W. The freezing step in lyophilization: physico-chemical fundamentals, freezing methods and consequences on process performance and quality attributes of biopharmaceuticals. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics : Official Journal of Arbeitsgemeinschaft für Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.** v.78, p. 248–63, jun. 2011.

KASPER, J.C.; WINTER, G.; FRIESS, W. Recent advances and further challenges in lyophilization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v.85, p. 162–169, 2013.

KAUR, R.; KUMAR, S. A review on solid dispersion and latest approaches used to improve solubility of poorly water soluble drugs. **World Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.4, p. 62-67, 2016.

KAWABATA, Y; WADA, K; NAKATANI, M; YAMADA, S; ONOUE, S. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**. v.420, p. 1-10, 2011.

KHADKA, P.; RO, J.; KIM, H.; KIM, I.; KIM, J.T.; KIM, H.; CHO, J.M.; YUN, G.; LEE, J. Pharmaceutical particle technologies: an approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.9, p. 304-316, 2014.

KIBBE, A.H. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 3. ed. American Pharmaceutical Association, 2000.

KIPP, J.E. The role of solid nanoparticle technology in the parenteral delivery of poorly water-soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**. v.284, p. 109–122, 2004.

KOHLI, K.; CHOPRA, S.; DHAR, D.; ARORA, S.; KHAR, R.K. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. **Drug Discovery Today**. v.15, p. 21-22, 2010.

KOLAŠINAC, N. Solubility enhancement of desloratadine by solid dispersion in poloxamers. **International journal of pharmaceutics**. v.436, p. 161–70, 2012.

KURKOV, S.V.; LOFTSSON, T. Cyclodextrins. **International Journal of Pharmaceutics**, v.453, p. 167-180, 2013.

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

LYRA, M.A.M.; ALVES, L.D.S.; FONTES, D.A.F.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; ROLIM-NETO, P.J. Ferramentas analíticas aplicadas à caracterização de complexos de inclusão fármaco-ciclodextrina. **Revistas de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.31, p. 117-124, 2010.

MARTINAC, A.; FILIPOVIĆ-GRČIĆ, J.; BARBARIĆ, M.; ZORC, B.; VOINOVICH, D.; JALŠENJAK, I. Gemfibrozil encapsulation and release from microspheres and macromolecular conjugates. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 17, p. 207-216, 2002.

MAULVI, F.A.; DALWADI, S.J.; THAKKAR, V.T.; SONI, T.G.; GOHEL, M.C.; GANDHI, T.R. Improvement of dissolution rate aceclofenac by solid dispersion technique. **Powder Technology**. v.207, p. 47-54, 2011.

MIHAYLOVA, B.; EMBERSON, J.; BLACKWELL, L; KEECH, A.; SIMES, J.; BARNES, E.H.; VOYSEY, M; GRAY, A.; COLLINS, R.; BAIGENT, C. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. **The Lancet**. v.380, p. 581-590, 2012.

MILLER, J. A randomized, double-blind study of gemfibrozil for the treatment of protease inhibitor-associated hypertriglyceridaemia. **AIDS**. v.16, n. 16, p. 2195–2200, 2002.

MORAIS, A.R.V.; ALENCAR, E.N.; XAVIER JÚNIOR, F.H.; OLIVEIRA, C.M.; MARCELINO, H.R.; BARRATT, G.; FESSI, H.; EGITO, E.S.T.; ELAISSARI, A. Freeze-drying of emulsified systems: A review. **International Journal of Pharmaceutics**. v.503, p. 102-114, 2016.

MOSTAZA, J.M.; LAHOZ, C. Nuevas pautas en el tratamiento de las dislipidemias. **Medicina Clínica**. v.142, p.306-309, 2014.

MULINACCI, N.; INNOCENTI, M.; BELLUMORIA, M.; GIACCHERINIA, C.; MARTINIB, V.; MICHELOZZI, M. Storage method, drying processes and extraction procedures strongly affect the phenolic fraction of rosemary leaves: An HPLC/DAD/MS study. **Talanta**. v.85, p. 167–176, 2011.

NAIK, U.J.B.; MOKALE, V.J. Preparation of freeze-dried solid dispersion powder using mannitol to enhance solubility of lovastatin and development of sustained release tablet dosage form. **American Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology**. v.1, p. 11-26, 2014.

NASCIMENTO, P.F.C.; NASCIMENTO, A.C.; RODRIGUES, C.S.; ANTONIOLLI, A.A.; SANTOS, P.O.; BARBOSA JUNIOR, A.M.; TRINDADE, R.C. Antimicrobial activity of the essentials oils: a multifactor approach of the methods. **Revista Brasileira Farmacognosia**. v.17, p. 108-113, 2007.

NIREESHA, G.R; DIVYA, L.; SOWMYA, C.; VENKATESHAN, N.; BABU, M.N.; LAVAKUMAR, V. Lyophilization/freeze drying- An review. **International journal of novel trends in pharmaceutical sciences**. v.3, p. 87-93, 2013.

NOKHODCHI, A.; HENTZSCHEL, C.M.; LEOPOLD; C.S. Drug release from liquid solid systems: speed it up, slow it down. **Expert Opinion Drug Delivery**. v.8, p. 191-205, 2011.

PINA, M.F.; ZHAO, M.; PINTO, J.F.; SOUSA, J.J.; CRAIG, D.Q.M. The influence of drug physical state on the dissolution enhancement of solid dispersions prepared via hot-melt extrusion: a case study using olanzapine. **Journal of pharmaceutical sciences**. v.103, p. 1214-1223, 2014.

POKHARKAR, V.B; MANDPE L.P.; PADAMWAR, M.N.; AMBIKE, A.A.; MAHADIK, K. R., PARANDKAR, A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low T_g drug. **Powder technology**. v.167, p. 20-25, 2006.

REY, L.; MAY, J.C. **Freeze drying/lyophilization of pharmaceutical and biological products**. 3. ed. London: Informa Healthcare, 2010.

RODRIGUEZ-ALLER, M.; GUILLARME, D.; VEUTHEY, J.; GURNY, R. Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v.30, p. 342-351, 2015.

ROTLAN, N.; LLAVERIAS, G.; JULVE, J.; JAUHAINEN, M.; CALPE-BERDIEL, L.; HERNÁNDEZ, C.; SIMÓ, R.; BLANCO-VACA, F.; ESCOLÁ-GIL, J.C. Differential effects of gemfibrozil and fenofibrate on reverse cholesterol transport from macrophages to feces *in vivo*. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**. v.1811, p. 104–110, 2011.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; OWEN, S.C.; Handbook of Pharmaceutical Excipients, 6 ed., Pharmaceutical Press: London, 2009.

SAMI, F.; PHILIP, B.; PATHAK, K. Effect of auxiliary substances on complexation efficiency and intrinsic dissolution rate of gemfibrozil- β -CD complexes. **American Association of Pharmaceutical Scientists**. v.11, p. 27-35, 2010.

SAHEBKAR, A.; WATTS, G.F. Fibrate therapy and circulating adiponectin concentrations: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. **Atherosclerosis**. v.230, p. 110–20, 2013.

SEDIGHI, R.; ZHAO, Y., YERKE, A., SANG, S. Preventive and protective properties of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) in obesity and diabetes mellitus of metabolic disorders: a brief review. **Current Opinion in Food Science**. v.2, p. 58-70, 2015.

SHARMA, D.K.; JOSHI, S.B. Solubility enhancement strategies for poorly water-soluble drugs in solid dispersions: a review. **Asian Journal Pharmaceutical**. v.1, p. 9-19, 2007.

SINGH, S., BAGHEL, R.S., YADAV, L. A review on solid dispersion. **International Journal of Pharmacy & Life Sciences**. v.9, p. 1078-1095, 2011.

SONG, C.K.; YOON, I.; KIM, D. Poloxamer-based solid dispersions for oral delivery of docetaxel: Differential effects of F68 and P85 on oral docetaxel bioavailability. **International journal of pharmaceutics**. v.507, p. 102-108, 2016.

STUART, B. Infrared Spectroscopy: Fundamentals and Applications. John Wiley & Sons, 2004.

SZÜTS, A.; LÁNGA, P.; AMBRUS, R.; KISS, L.; DELI, M.A.; SZABÓ-RÉVÉSZ P. Applicability of sucrose laurate as surfactant in solid dispersions prepared by melt technology. **International Journal of Pharmaceutics**. v.410, p. 107-110, 2011.

TACHIBANA, T.; NAKAMURA, A. A method for preparing an aqueous colloidal dispersion of organic materials by using water soluble polymers: Dispersion of beta-carotene by polyvinylpyrrolidone," **Colloid and Polymer Science**. v.203, p. 130-133, 1965.

TANG, X.; PIKAL, M.J. Design of Freeze-Drying Processes for Pharmaceuticals: Practical Advice. **Pharmaceutical Research**. v.21, p. 191–200, 2004.

TAYLOR, L.S.; ZOGRAFI, G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. **Pharmaceutical research**. v.14, p. 1691-1698, 1997.

TODD, P. A.; WARD, A. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in dyslipidaemia. **Drugs**. v. 36, p. 314-339, 1988.

TOWNSEND, N.; NICHOLS, M.; SCARBOROUGH, P.; RAYNER, M. Cardiovascular disease in Europe-epidemiological update 2015. **European Heart Journal**. v.36, p. 2696-2705, 2015.

U. S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA). Guidance for Industry: Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. F.D.A, p. 17, 1997.

VANDANA, K.R.; PRASANNA RAJU, Y.; HARINI CHOWDARY, V.; SUSHMA, M.; VIJAY KUMAR, N. An overview on in situ micronization technique – an emerging novel concept in advanced drug delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**. v.22, p. 283-289, 2014.

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

VILLANOVA, J.C.O.; ORÉFICE, R.L.; CUNHA, A.S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e tecnologia**. v.20, p. 51 64, 2010.

VILLAR, A.M.S.; NAVEROS, B.C.; CAMPMANY, A.C.C.; TRENCHS, M.A.; ROBERT, C.B.; BELLOWA, L.H. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. **International Journal of Pharmaceutics**. v.431, p. 161–75, 2012.

VO, C.L.N.; PARK, C.; LEE, B.J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European journal of pharmaceuticals and biopharmaceutics**. v.85, p. 799–813, 2013.

XAVIER, H.T.; IZAR, M.C.; FARIA, N.J.R.; ASSAD, M.H.; ROCHA, V.Z.; SPOSITO, A.C. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v.101, p.1-22, 2013.

YASUJI, T.; TAKEUCHI, H., KAWASHIMA, Y. Particle design of poorly watersoluble drug substances using supercritical fluid technologies. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v.60, p. 388–398, 2008.

ZANELLA, C.A.; TREICHEL, H.; CANSIAN, R.L.; ROMAN, S.S. The effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) (Lamiaceae) in animal models of memory. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**. v.48, p. 389-397, 2012.

ZARMPPI, P.; FLANAGAN, T.; MEEHAN, E.; MANN, J.; FOTAKI, N. Biopharmaceutical aspects and implications of excipient variability in drug product performance. **European Journal of Pharmaceuticals and Biopharmaceutics**. v.111, p. 1-15, 2017.

ZHU, Q.; HARRIS, M.T.; TAYLOR, L.S. Modification of crystallization behavior in drug/polyethylene glycol solid dispersions. **Molecular Pharmaceutics**. v.9, p. 546-553, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. World Health statistics 2012. **World Health Organization: Genebra**, 2012.