UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Título do trabalho

Antonio Sousa Santos

Ribeirão Preto

2008

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona.

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Aplicadas à Farmácia para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientado(a): Antonio Sousa Santos
Orientador: Newton Lindolfo Pereira

Ribeirão Preto

2008

FICHA CATALOGRÁFICA

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Santos, Antonio Sousa

Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona. Ribeirão Preto, 2008.

86 p.: il.; 30 cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Pereira, Newton Lindolfo.

1. Hidroclorotiazida. 2. Dispersões sólidas. 3. Polivinilpirrolidona 4. Dissolução. 5. Estado sólido.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Antonio Sousa Santos

Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona.

Tese de Doutorado apresentada ao
Programa de Pós-Graduação em
Biociências Aplicadas à Farmácia
para obtenção do Título de Doutor
em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Medicamentos
e Cosméticos.

Orientador: Newton Lindolfo Pereira

Aprovado em:

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

DEDICATORIA

AGRADECIMENTOS

RESUMO

SANTOS A, S.. Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona. 2008. 90f. Tese (Doutorado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

Fármacos pouco solúveis tendem a possuir baixa biodisponibilidade. Diversos métodos têm sido estudados para promover o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis. As dispersões sólidas têm sido pesquisadas como uma estratégia de aumentar a solubilidade e, portanto a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, entretanto, os mecanismos pelos quais ocorre o aumento da solubilidade desses fármacos ainda não foram completamente elucidados e parecem variar da combinação do fármaco e do polímero, bem como do método de obtenção empregado. No presente estudo, utilizaram-se técnicas de caracterização do estado sólido, baseadas na interação da energia térmica e eletromagnética radiante com a matéria. Foi detectado que as interações que ocorrem entre a hidroclorotiazida e a polivinilpirrolidona se devem a ligações de hidrogênio que mantêm o fármaco disperso na matriz amorfa do polímero provocando um aumento da solubilidade em água.

Palavras-chave: Hidroclorotiazida. Dispersões sólidas. Polivinilpirrolidona. Dissolução. Estado sólido.

ABSTRACT

Santos, A.S. **Physical - chemistry characterization hydrochlorothiazide – polyvinylpyrrolidone solid dispersion of hydro.** 2006. 000f. Thesis (Doctoral). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, **2006**.

Poorly water-soluble drug frequently has low bioavailability. Solid dispersions have been used to improve the solubility and bioavailability of poorly water-soluble drugs. However, the mechanisms underlying this phenomenon have not been show yet. In this study solid dispersions with hydrochlorothiazide and polyvinylpyrrolidone was prepared by evaporation method and characterized by dissolution test, differential scanning calorimetry and powder X – Ray diffraction, in order to elucidate the mechanisms underlying the water – solubility improve of drug. Our results show the polymer increasing the drug solubility by hydrogen bonding forming glassy solutions.

Key-words: Hydrochlorothiazide. Solid dispersions. Polyvinylpyrrolidone. Dissolution. Solid state.

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

SUMÁRIO

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	iii
Lista de Tabelas	
Lista de Abreviaturas e siglas	
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 Obtenção de sólidos	1
1.2 Propriedades do estado sólido	3
1.2.1 Cristalinidade	3
1.2.2 Transição de fase	5
1.2.3 Solubilidade	6
1.3 Métodos de caracterização de sólidos	7
1.3.1 Métodos espectrais	7
1.3.2 Espectroscopia de infravermelho	10
1.3.3 Difração de raios X	11
1.3.4 Análises térmicas	12
1.3.5 Dissolução	14
1.4 Classificação biofarmacêutica	20
1.5 Dispersões sólidas	21
1.6 A polivinilpirrolidona como carreador hidrossolúvel	24
1.7 A hidroclorotiazida como um fármaco pouco hidrossolúvel	25
1.8 Métodos de quantificação da hidroclorotiazida	26
1.9 Espectrofotometria no ultravioleta	27
1.10 Validação de métodos analíticos	27
2. OBJETIVOS	28
2.1 Objetivos gerais	33
2.2 Objetivos específicos	33
3. MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 Obtenção das dispersões sólidas e misturas físicas	34
3.2 Análise termogravimétrica	34
3.3 Análise calorimétrica diferencia exploratória	35
3.4 Medidas de difração de raios X	35
3.5 Espectroscopia de infravermelho	35
3.6 Varredura espectrofotométrica na região do ultravioleta	35

3.7	Confecção da curva de padronização	36
3.8	Determinação dos limites de detecção e quantificação	36
3.9	Determinação das curvas de dissolução	36
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	37
	Cristalinidade	38
	Interações moleculares	66
	Quantificação do fármaco	73
	Solubilidade e dissolução	76
5.	CONCLUSÕES	82
6.	REFERÊNCIAS	83

1. INTRODUÇÃO

1.1. OBTENÇÃO DE SÓLIDOS

Os livros texto clássicos, geralmente consideram que a matéria se encontra em três estados fundamentais: sólido, líquido e gasoso. Entretanto, atualmente admite-se que existam outros dois estados: o estado de plasma, caracterizado por uma nuvem gasosa de átomos e elétrons altamente aquecidos, utilizado em alguns instrumentos analíticos; e o estado hipotético de metal super denso. Os estados da matéria são determinados por dois fatores: a intensidade das forças intermoleculares e a temperatura.

A temperatura representa a energia cinética média das moléculas envolvida principalmente com movimento de translação, ou seja, mudança de posição em um dado sistema físico-químico. Por outro lado, as forças intermoleculares podem ser atrativas ou repulsivas e é responsável por manter uma distância entre as moléculas, essa distância será fundamental para a configuração do volume da matéria.

No estado gasoso, o movimento de translação das moléculas é maior que as forças intermoleculares atrativas. No estado líquido as partículas possuem movimento de translação suficientemente amplo para superar as forças que mantêm as moléculas unidas, mas essa energia translacional não é suficiente para separar totalmente as moléculas, resultando em uma porção com volume definido, mas forma indefinida. Por outro lado, o estado sólido se caracteriza por suas partículas se manterem em relativamente fixas graças às interações intermoleculares que são maiores que a energia cinética translacional.

Evidentemente essa descrição é relativamente aproximada e presta-se a fins didáticos, uma vez que se baseia em dados macroscópicos para descrever fenômenos microscópicos. Portanto, uma abordagem mais realista baseia-se na mecânica estatística, que introduz o conceito de *ensemble*.

Segundo a mecânica estatística, um *ensemble* canônico consiste de N_g sistemas discretos, que possuem o mesmo número de moléculas, volume (V) e estado termodinâmico (E_f). À medida que o número N_g torna-se maior, o valor médio das propriedades mecânicas, observável macroscopicamente, torna-se igual ao valor médio do ensemble. Além disso, propriedades não mecânicas, como temperatura e entropia, podem ser calculadas a partir de relações termodinâmicas clássicas.

Outro aspecto a ser levado em consideração é que a mecânica estatística considera que nas condições usuais, a probabilidade de duas partículas se encontrarem no mesmo estado energético é muito baixa.

Nas condições usuais de temperatura e pressão, a maioria dos fármacos se encontra no estado sólido, conseqüentemente as propriedades do estado sólido assumem grande importância na área farmacêutica.

As moléculas nas partículas sólidas se encontram unidas por forças intermoleculares. Dessa forma, quaisquer perturbações na estrutura de um sólido dependerão fortemente da energia necessária para alterar as ligações intermoleculares, envolvendo parâmetros cinéticos e termodinâmicos.

Existem duas maneiras fundamentais de obter a matéria no estado sólido: a partir do resfriamento da matéria líquida fundida, até uma temperatura abaixo do seu ponto de fusão. Esse método geralmente dá bons rendimentos, mas possui o inconveniente de não ser adequado para substâncias que se decompõem em temperaturas abaixo ou próximas ao ponto de fusão.

O outro método consiste da precipitação do soluto, a uma dada concentração em uma solução, fazendo com que esta ultrapasse o ponto de saturação. Geralmente esse método envolve alterações nas condições de temperatura ou de pressão, uma vez que a concentração de saturação depende dessas duas variáveis, de modo que concentrações acima do ponto de saturação sob determinadas condições de temperatura e pressão, normalmente leva à precipitação do soluto.

Portanto os métodos de precipitação do soluto geralmente envolvem:

- Remoção do líquido solvente por aquecimento, redução da pressão ou ambos.
- Resfriamento da solução para reduzir a concentração de saturação, uma vez que geralmente a solubilidade é diretamente proporcional à temperatura.
- Adição de um líquido miscível com a solução, que seqüestre as moléculas do solvente, possibilitando a aglutinação das moléculas do soluto (efeito *salting out*).

Evidentemente as soluções supersaturadas constituem exceção a essa regra, entretanto, essas soluções constituem sistemas metaestáveis e tendem a transformar-se em soluções saturadas.

1.2. PROPRIEDADES DO ESTADO SÓLIDO

1.2.1. Cristalinidade

O grau de organização das moléculas em uma partícula sólida varia de um extremo de alta simetria e ordenamento que caracteriza o estado cristalino, até um alto grau de desordem típico do estado amorfo, podendo existir em estados intermediários de cristalinidade.

No sólido cristalino, as moléculas se agrupam em arranjos que se repetem indefinidamente, assumindo padrões conhecidos como hábitos cristalinos que reproduzem um arranjo básico denominado por célula unitária. A célula unitária é o arranjo formado pelo menor número de átomos possível, que ao ser replicado nas três direções constituirá o retículo cristalino, desse modo pode ser considerada como uma geratriz da estrutura reticular.

Os comprimentos das arestas que compõem a célula unitária são designados por **a**, **b**, **c**; e os ângulos entre as arestas são α (entre **b** e **c**), β (entre **a** e **c**), γ (entre **a** e **b**). Por convenção, **c** se situa paralelamente ao eixo de maior ângulo de rotação, desse modo, normalmente $\mathbf{c} \leq \mathbf{a} \leq \mathbf{b}$ e α e $\beta \geq 90^\circ$. O quadro I fornece os sete sistemas de arranjos cristalinos.

Quadro I. Sistemas cristalinos e as dimensões das respectivas células unitárias.

SISTEMA CRISTALINO	EIXOS DA CÉLULA UNITÁRIA	ÂNGULOS DA CÉLULA UNITÁRIA
Triclínico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma$
Monoclínico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$	$\alpha = \gamma = 90^\circ \neq \beta$
Tetragonal	$\mathbf{a} = \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrômbico	$\mathbf{a} \neq \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Romboedro (Trigonal)	$\mathbf{a} = \mathbf{b} = \mathbf{c}$	$\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ$ e $< 120^\circ$
Cúbico	$\mathbf{a} = \mathbf{b} = \mathbf{c}$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Hexagonal	$\mathbf{a} = \mathbf{b} \neq \mathbf{c}$	$\alpha = \beta = 90^\circ, \gamma = 120^\circ$

Na figura 1 estão representados os mesmos sistemas cristalinos, na forma de poliedros.

Sólidos amorfos são aqueles cuja estrutura não possui arranjo repetitivo dos átomos, típico dos sólidos cristalinos, exibindo um alto grau de desorganização, embora eventualmente possa demonstrar algum nível de organização em curta distância. Os materiais amorfos no estado sólido são denominados por vidros e às vezes são considerados como líquidos super resfriados. Geralmente são formados a partir da cristalização brusca ou de forma dependente da estrutura das moléculas que constituem o material.

Cúbic

Romboédric

Hexagon

Tetragonal

Monoclínico

Ortorrômbic

Triclinico

Figura 1- Representação dos sete sistemas cristalinos de sólidos.

Os vidros em altas temperaturas se comportam como líquidos, os seus átomos vibram e se tornam altamente móveis e assumem a forma do recipiente que os contém.

1.2.2. Transição de fase

À medida que o conteúdo de calor (entalpia) de um sólido aumenta, este tende a passar para o estado líquido e subsequente para o gasoso. Essas transformações são acompanhadas por um aumento do grau de desordem (entropia). Eventualmente a entropia e a entalpia se contrapõem.

À medida que a temperatura diminui, os átomos passam a vibrar em menor amplitude e ficam mais próximos, resultando na redução do volume específico decorrente dessa contração. Essa redução no volume específico de um líquido é linear em relação à redução da temperatura e ocorre em todos os líquidos.

Quando uma substância simples no estado líquido é resfriado lentamente até uma temperatura abaixo do seu ponto de congelamento, ponto de fusão, os átomos se aproximam de modo que se tornam relativamente imóveis em relação uns aos outros, formando uma estrutura cristalina com um empacotamento altamente eficiente, reduzindo o volume específico de forma brusca e acentuada. Por outro lado, quando se trata de uma mistura no estado sólido, a transição do estado líquido para o sólido ocorre de forma mais suave. O resfriamento subsequente dessa mistura resulta concomitantemente na redução do volume específico, porém a relação ocorre com uma inclinação mais suave que a observada no estado líquido.

A matéria fundida formadora de vidro, quando resfriada, sofre uma mudança na inclinação da curva (Temperatura $\times$ Volume específico), mas diferentemente dos sólidos cristalinos, não apresentam nenhuma diminuição brusca no volume específico. Desse modo, se considera que os materiais vítreos não possuem um ponto de fusão definido, tornando-se líquidos lenta e gradativamente à medida que são aquecidos. A temperatura em que essa transição ocorre é denominada por temperatura de transição vítrea pode ser medida de diferentes formas.

1.2.3. Solubilidade

Solubilidade é o termo usado para designar a quantidade de moléculas da matéria sólida que são transferidas para um meio solvente circundante, quando se estabelece o equilíbrio cinético, formando uma mistura tão homogênea que a probabilidade de se encontrar uma molécula ou íon do soluto, seja constante por todo o seu volume. Essa mistura é conhecida por solução e quando a quantidade de soluto ultrapassa o valor da solubilidade, dizemos que a solução se encontra saturada. No equilíbrio cinético que se estabelece nas soluções saturadas, a velocidade de dissolução é equivalente à velocidade de cristalização, ou seja, a migração das moléculas do soluto em direção ao excesso de material sólido.

Sob condições especiais é possível preparar soluções em que a quantidade de soluto ultrapassa o limite de solubilidade. Entretanto, esses sistemas são considerados como termodinamicamente meta estáveis, onde pequenos acréscimos de energia são suficientes para vencer a barreira que impede a transformação para a forma termodinamicamente mais estável. Um sistema metaestável pode ser comparado com uma bola de gude que se move por uma declividade e encontra uma pequena saliência que a impede de prosseguir para mais abaixo, entretanto, uma pequena perturbação é suficiente para fazê-la rolar novamente rumo à posição de menor energia potencial (esquema 1).

Esquema 1 – Representação de um sistema metaestável.

1.3. MÉTODOS DE CARACTERIZAÇÃO DE SÓLIDOS

Os métodos empregados para caracterizar as substâncias no estado sólido, e seu comportamento em meio aquoso pode ser realizado “in vitro” ou “in vivo”. Ambas as abordagens possuem vantagens e limitações. No presente trabalho, o enfoque será prioritário sobre os métodos “in vitro” que visa fundamentalmente abordar os processos biofarmacêuticos.

Geralmente empregam técnicas espectrais que se baseiam na interação da matéria condensada com a energia radiante, constituinte do espectro eletromagnético, ou utilizam técnicas de observação do comportamento da substância quando submetidas ao calor ou à ação de solventes.

Tradicionalmente diferentes modalidades da espectroscopia de infravermelho, e as técnicas baseadas na difração de raios X, têm sido utilizadas como ferramentas analíticas com a finalidade de abordar os aspectos estruturais das dispersões sólidas e seus componentes. Além dos métodos espectrométricos, diferentes modalidades de análise térmica também constituem ferramentas fundamentais para o estudo de aspectos estruturais e o comportamento dessas formulações em meio aquoso. As técnicas termoanalíticas mais frequentemente empregadas são: a termogravimetria, a calorimetria diferencial e as análises termomecânicas. O comportamento das dispersões sólidas em meio aquoso, pode ser avaliado com o auxílio das termoanálises, mas os ensaios de dissolução e de permeação se mostram mais exequíveis para responder a maioria das perguntas que envolvem as interações de sólidos com solventes no estado líquido. Esses métodos frequentemente envolvem uma etapa analítica, requerendo a aplicação de alguma das diferentes técnicas cromatográficas ou espectrofotométricas (Öster e Immergut, 1954; Doherty e York, 1987, Taylor e Zografi, 1997).

1.3.1. Métodos espectrais

A radiação eletromagnética é uma forma de energia que se transmite no vácuo à velocidade de 300.000 km/s. Entretanto, essa velocidade (v) se relaciona com a frequência (ν), e o comprimento de onda (λ). Essas variáveis se relacionam entre si através das equações:

$$\nu = \frac{c}{\lambda} \quad (1)$$

$$E = h\nu \quad (2)$$

Quanto maior a frequência, maior será a energia (E) da radiação e menor o comprimento de onda, conforme pode se deduzir das equações (1) e (2). Em algumas modalidades de espectroscopia, devido às magnitudes de escala envolvidas, torna-se mais conveniente o uso do inverso do comprimento de onda, conhecido como número de onda ($\tilde{\nu}$), que é expresso em centímetros recíprocos (cm^{-1}).

A transição é quantizada e ocorre quando a radiação possui a energia necessária, portanto o comprimento de onda funcionará como um fator de seletividade. Além disso, a absorção será diretamente proporcional ao número de centros absorventes. A presença de radiação é necessária para induzir uma alteração no nível de energia de uma molécula. Essas alterações são determinadas pelas restrições decorrentes da natureza quantizada da radiação eletromagnética. Frequentemente a energia é absorvida apenas se a frequência da radiação corresponde aos componentes da frequência molecular. Outro aspecto a ser considerado é que o comprimento da absorção máxima (λ_{max}) depende da estrutura total da molécula.

A faixa total da radiação eletromagnética é dividida arbitrariamente em regiões. Radiações de diferentes comprimentos de onda ao interagirem com as moléculas são absorvidas e pode provocar transição eletrônica ou alteração na energia cinética da molécula, se convertendo em energia vibracional, rotacional ou translacional.

Quadro II – Regiões do espectro eletromagnético e seus respectivos comprimentos de onda.

λ (m)	$\bar{\nu}$	Faixa espectral	Interação
$\leq 10^{-10}$	10^8	Raios gama	Nucleares
10^{-10} a 10^{-9}	10^8 a 10^7	Raios X	Elétrons internos
10^{-9} a 4×10^{-7}	10^7 a $2,5 \times 10^4$	Ultravioleta	Elétrons externos
4×10^{-7} a 8×10^{-7}	$2,5 \times 10^4$ a $1,25 \times 10^4$	Visível	Elétrons externos
8×10^{-7} a 10^{-3}	$1,25 \times 10^4$ a 10	Infravermelho	Vibração molecular
10^{-3} a 2×10^{-1}	10 a 500	Microondas	Rotação molecular
$\geq 2 \times 10^{-1}$	≤ 500	Ondas de rádio	Alteração do spin

A região de menor comprimento de onda no espectro eletromagnético que provoca interações reversíveis com os átomos situa-se na faixa de 0,1 a 1 nm e é denominada por raios X. Quando as moléculas são irradiadas com fótons nessa região, ocorre o deslocamento dos elétrons nas camadas internas, à medida que esses elétrons retornam ao estado normal, emitem raios X com frequência que depende do tipo de átomo. Desse modo, o espectro de raios X é produzido a partir da expulsão de elétrons com os menores números quânticos dos átomos irradiados. Essa lacuna é preenchida por elétrons das camadas superiores. Quando a lacuna produzida na camada K é preenchida por um elétron proveniente da camada L, a radiação é denominada por $K\alpha$.

A radiação ultravioleta de interesse nas análises químicas por espectrofotometria compreende os comprimentos de onda de 180 a 380 nm. Essa radiação interage com os elétrons presentes nos orbitais das moléculas, sendo absorvida de modo que tais passam para um estado de maior energia – estado excitado – e por isso essa modalidade analítica é também conhecida como espectrofotometria de absorção molecular.

A espectroscopia de ultravioleta possui utilidade limitada na identificação e caracterização de formulações farmacêuticas no estado sólido, entretanto, é uma técnica poderosa quando se deseja quantificar pequenas moléculas, principalmente fármacos em diversas matrizes. Portanto os detalhes da aplicação analítica dessa região do espectro serão tratados posteriormente.

A faixa de radiação do espectro eletromagnético correspondente aos comprimentos de onda que vão de 800 nm a 0,5 mm é denominada por radiação infravermelha.

1.3.2. Espectroscopia de infravermelho

O espectro de infravermelho foi descoberto no início do século XIX por Herschel, quando ele espalhou a luz do sol através de um prisma e mediu as temperaturas de cada cor, percebendo que o termômetro acusava aumento de temperatura apenas quando foi deslocado para além do vermelho. Sugerindo que uma radiação invisível que era responsável pelo calor da luz solar.

O espectro de infravermelho é classificado em infravermelho próximo na região de 0,8 a 2,5 μm ($12500 - 4000 \text{ cm}^{-1}$); infravermelho médio na região de 2,5 a 50 μm ($4000 - 200 \text{ cm}^{-1}$) e infravermelho distante na faixa de 50 μm a 1 mm ($200 - 10 \text{ cm}^{-1}$), respectivamente. O infravermelho próximo tem sido empregado principalmente em aplicações quantitativas, enquanto o infravermelho mediano classicamente tem sido utilizado para a identificação e elucidação estrutural de compostos orgânicos.

Os espectros de infravermelho geralmente são representados de modo que a porcentagem de transmitância aparece como uma função do número de onda, que é o inverso do comprimento de onda. Essa representação se mostra conveniente em decorrência da proporção direta entre o número de onda e a energia da radiação.

Nas moléculas orgânicas, as ligações interatômicas vibram constantemente, resultando em deformações axiais (estiramentos e torções) e deformações angulares. Os níveis de energia dessas vibrações são quantizados e a interação com radiação no infravermelho pode provocar alterações devido ao fenômeno de ressonância. Para isso, o comprimento de onda da radiação deve possuir energia equivalente àquela necessária para a transição, e a molécula deve ter um dipolo variável. Quanto maior a variação no dipolo, maior a intensidade da absorção, desse modo, o espectro de infravermelho de compostos com os mesmos grupos funcionais apresentam picos de absorção aproximadamente na mesma faixa de frequência.

A espectroscopia de infravermelho tem sido muito utilizada para identificar a natureza e a extensão das interações químicas que ocorrem em dispersões sólidas (Van den Mooter et al., 1998). A utilização desse método parte da premissa que a mistura de dois componentes em nível molecular deverá ocasionar mudanças nas oscilações do dipolo das moléculas, essas

mudanças se manifestam no espectro sob a forma de alterações na frequência e na largura das bandas dos grupos interagentes.

Em outras palavras: se os grupos funcionais do fármaco e do polímero interagem, então o espectro de infravermelho dos grupos deverá apresentar as bandas deslocadas e achatadas quando comparadas com os espectros individuais dos componentes da mistura. Taylor e Zografi (1997) utilizaram esta estratégia para identificar ligações hidrogênio entre a carboxila da indometacina e o oxigênio da carbonila PVP em dispersões sólidas obtidas por coprecipitação em metanol.

A espectroscopia de infravermelho pode se tornar uma técnica especialmente poderosa quando associada a outros métodos espectroscópicos como a ressonância magnética, como se pode ver no trabalho realizado por Doherty e York (1987), onde os autores utilizaram essas técnicas em conjunto com modelagem molecular para determinar a geometria das ligações de hidrogênio entre a furosemida e a PVP.

1.3.3. Difração de raios X

Os experimentos conduzidos por Von Laue e colaboradores no começo de século XX levaram à conclusão que os raios X descobertos por Röntgen no final do século XIX, se tratava de uma radiação eletromagnética com comprimento na faixa de 1 angstrom, e devido à sua natureza ondulatória poderia sofrer difração ao passar por um cristal e atingiam uma chapa fotográfica. Os autores conseguiram mostrar que os padrões de difração deviam-se à ação do cristal como uma grade difração com dimensões equivalentes às distâncias interatômicas.

Posteriormente, Bragg estudando a estrutura de cristais com o auxílio de raios X, postulou que os raios X eram refletidos a partir dos planos dos átomos dentro da rede cristalina e as cristas de duas ondas incidentes sobre um retículo permanecerão em fase serão refletidas apenas a partir de certos ângulos de incidência.

Podem ser obtidos difratogramas de um único cristal ou de materiais pulverizados. Esses últimos podem ser acondicionados em capilares ou na forma de pastilhas semi compactas. Cada composto cristalino fornece um perfil de difração característico, constituído por picos, equivalentes às cristas em fase da radiação incidente. A partir do padrão do difratograma e da área total sob os picos de difração, torna-se possível identificar a forma

cristalina e o grau de cristalinidade de uma amostra respectivamente. Por outro lado, sólidos amorfos exibem um difratograma sem picos definidos.

A difração de raios X tem se mostrado uma ferramenta indispensável na caracterização do grau de cristalinidade de sólidos, e tem sido usado em praticamente todos os trabalhos que envolvem a caracterização das dispersões sólidas (Corrigan, Holohan e Sabra, 1984, Kounterelis e Markopoulou, 1992; Van den Mooter, 2001).

1.3.4. Análises térmicas

Os métodos térmicos de análise são constituídos por técnicas que medem variação das propriedades físico-químicas das substâncias, incluindo as mudanças de peso ou de energia, em função da temperatura.

As técnicas mais utilizadas na caracterização de sólidos farmacêuticos são: termogravimetria, análise térmica diferencial e calorimetria diferencial exploratória.

A termogravimetria mede a mudança de peso em função da temperatura. O aparelho empregado para realizar essa técnica consiste de uma balança de precisão contida em um forno com atmosfera controlada, e programado para variar a temperatura, à medida que se registra continuamente a massa da amostra. Os métodos termogravimétricos são muito úteis para quantificar elementos voláteis, infelizmente essas técnicas são limitadas para identificar tais compostos. Além disso, pode-se determinar por termogravimetria as temperaturas de decomposição de substâncias orgânicas e inorgânicas.

Os registros podem ser expressos como um gráfico da massa em função da temperatura ou do tempo. Essa curva pode também ser expressa como a primeira derivada da massa. Em ambos os casos, as regiões horizontais indicam temperaturas em que não ocorrem alterações da massa, enquanto nas partes curvas ocorre perda, de peso. Eventualmente pode ocorrer acréscimo de peso, quando a atmosfera é composta por um gás não inerte. Além disso, a geometria do forno pode contribuir significativamente para a variabilidade dos dados obtidos de aparelho para outro, devido às diferenças nas correntes de convecção de um aparelho para outro.

Deve-se levar em consideração, que a velocidade de aquecimento pode influenciar profundamente o perfil do gráfico, especialmente quando se trata de reações irreversíveis.

Outro aspecto que deve ser considerado nos métodos termoanalíticos é a quantidade de amostra e o formato do cadinho. De modo geral se prefere os cadinhos baixos em forma de

prato para facilitar a difusão dos gases liberados; e a quantidade de amostra não pode ser tão grande que também dificulte a difusão desses gases.

As técnicas diferenciais mais usuais são a análise térmica diferencial (DTA) e a calorimetria diferencial exploratória (DSC). Na DTA, um cadinho contendo um material de referência, geralmente a α – alumina, e outro contendo a amostra; são aquecidos, e a diferença de temperatura entre os dois cadinhos é continuamente registrada em função da temperatura programada ou do tempo.

Quando a amostra não se altera quimicamente não ocorre diferença de temperatura entre a amostra e a referência. Por outro lado, se ocorrer alguma alteração física ou química, observa-se uma diferença de temperatura (ΔT) entre os dois cadinhos. Se ocorrer um processo endotérmico a temperatura da amostra fica abaixo da temperatura da referência até que a mudança se complete por toda a amostra, voltando esta a atingir novamente a temperatura do cadinho de referência.

Na maioria das vezes, mudanças físicas, como a fusão, evaporação, transição vítrea, resultam em picos endotérmicos; enquanto reações, principalmente os processo de decomposição, resultam em picos exotérmicos.

A outra técnica diferencial consagrada pelo uso é a calorimetria exploratória diferencial, também conhecida como DSC, devido ao termo utilizado em língua inglês *Differential Scanning Calorimetry*. Os aparelhos de DSC podem assumir duas configurações básicas, embora a informações fornecidas sejam idênticas: DSC de compensação de energia, e DSC por fluxo de calor.

A DSC com compensação de energia mede a quantidade de energia necessária para manter a temperatura da amostra igual à temperatura do material de referência, também obedecendo a um programa ascendente ou descendente de temperatura. Por sua vez, os aparelhos que operam por fluxo de calor medem a diferença no fluxo de calor que atinge os cadinhos, através de termopares, à medida que suas respectivas temperaturas são alteradas.

Os aparelhos de fluxo de calor são mais utilizados atualmente, uma vez que o material de referência e a amostra são mantidos em uma mesma câmara de aquecimento, reduzindo o ruído decorrente de variações térmicas.

Eventualmente podem ser realizados estudos isotérmicos, mas geralmente os resultados são registrados na forma de um gráfico da energia em função do tempo ou da temperatura programada. Adicionalmente, pode-se obter a curva derivada, facilitando a medida da área do

pico que representa a medida da quantidade total de energia absorvida ou liberada na transição.

Quando ocorre uma transição endotérmica, a energia absorvida pela amostra é compensada pelo aumento da energia que ela absorve para manter nula a diferença de temperatura em relação à referência.

Os métodos de análise térmica têm sido muito empregados na caracterização de mistura de polímeros com fármacos, geralmente para determinar a temperatura e a entalpia de fusão e de recristalização, assim como a temperatura de transição vítrea, que são parâmetros que ajudam a elucidar as interações que ocorrem na formulação e permitem avaliar a cristalinidade do material (Chiou e Niazi, 1973; Menon et al., 2002; Gupta, Chawla e Bansal, 2004; Van Drooge et al., 2006).

Os picos de fusão de compostos puros, geralmente são bem definidos e as respectivas bases são estreitas, sugerindo pureza e cristalinidade, entretanto, as misturas de sólidos geralmente apresentam picos mais largos, por outro lado os sólidos amorfos não possuem pico de fusão fazendo com que os termogramas obtidos ajudem a identificar classificar a amostra, aproximadamente quanto ao grau de cristalinidade, embora esse método não seja sensível o suficiente para a obtenção de dados quantitativos. Adicionalmente, a entalpia de fusão pode ser calculada através da área do pico.

1.3.5. Dissolução

A dissolução é o processo pelo qual um sólido, parcialmente solúvel, se dissolve em um líquido. Em um artigo clássico de 1897, Noyes e Whitney sugeriram que a dissolução de um sólido é determinada pela taxa de difusão de uma camada extremamente fina de solução saturada que se forma nas adjacências da superfície do sólido. A partir dos resultados experimentais os autores derivaram a equação 1, onde $\frac{dC}{dt}$ é a taxa de dissolução do sólido, K é a constante de proporcionalidade e C_t é a concentração no tempo t e C_s é solubilidade. Portanto o termo $(C_s - C_t)$ representa o gradiente de concentração entre a superfície a camada de difusão e o seio da solução.

$$\frac{dC}{dt} = K(C_s - C_t) \quad (3)$$

Nos seus experimentos, Noyes e Whitney mantiveram a área superficial (A) constante, desse modo, a equação posteriormente foi modificada para:

$$\frac{dC}{dt} = k_1 A (C_s - C_t) \quad (4)$$

O mecanismo proposto para explicar essa relação envolve a dissolução inicial do sólido, formando uma fina camada estagnada de solução saturada, com espessura h , adjacente às faces do cristal, ocorrendo em seguida, a difusão das partículas do soluto através dessa camada em direção ao líquido circundante. Esse segundo estágio constitui a etapa limitante da velocidade do processo e é fortemente influenciado pelo coeficiente de difusão do soluto através da camada ao redor da partícula.

Os processos de difusão resultam da tendência que as moléculas possuem de reduzir o gradiente de concentração irreversivelmente, pelo fluxo espontâneo de matéria de uma região mais concentrada para outra mais diluída, aumentando a entropia total do sistema e reduzindo portanto a energia livre.

A difusão de pequenas moléculas pode ser modelada em um meio hipotético em uma seção cilíndrica contendo um compartimento de volume V , área seccional A , e comprimento dx entre, dois setores contíguos onde um contém uma solução de concentração C_1 e outro

setor contendo uma solução mais diluída, de concentração C_2 , o fluxo de matéria J (mols. $m^{-2} \cdot s^{-1}$) do primeiro volume para o segundo será diretamente proporcional ao gradiente de concentração $\left(\frac{dC}{dx}\right)$. Portanto, segundo Fick é possível propor um modelo matemático para descrever o processo, introduzindo a constante D conhecida como coeficiente de difusão:

$$J \propto \left(\frac{dC}{dx}\right)$$

$$J \propto A$$

$$J = -DA \left(\frac{dC}{dx}\right) \quad (5)$$

O sinal negativo deve-se ao fato da transferência de massa ocorrer no sentido oposto ao gradiente de concentração, ou seja: os valores absolutos de ambos os parâmetros são diretamente proporcionais, mas quando o gradiente de concentração assumir valores negativos o fluxo deverá assumir valores positivos, até um ponto de equilíbrio em que o gradiente será nulo e o fluxo em ambos os sentidos se equivalerão, resultando em um fluxo total igual a zero.

A partir da primeira lei da difusão de Fick, pode-se obter a equação 6, incorporando o volume total da solução (V).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA}{Vh} k_2 (C_s - C_t) \quad (6)$$

A equação 6 relaciona a velocidade de dissolução com a taxa intrínseca de dissolução k_2 . Tanto D quanto a concentração no ponto de solubilidade (C_s), expressa na equação 6, são característicos de cada composto, e C_t é a concentração no seio da solução no tempo t .

As equações, 3 a 6 foram obtidas a partir de experimentos *in vitro* e não possuíam uma abordagem biofarmacêutica, na medida em que não tendia a correlacionar o comportamento de dissolução de sólidos em sistemas artificiais e as condições nos sítios de absorção de fármacos. Desse modo, a influência da farmacologia foi assimilada a partir da utilização do conceito de bacia de drenagem (*sink conditions*).

O conceito de condição *sink* parte do pressuposto que o trato gastrointestinal age como um meio de drenar o fármaco recém dissolvido, impedindo a tendência de reduzir o gradiente de concentração previsto no modelo teórico, de modo que à medida que o fármaco é dissolvido a partir da forma farmacêutica, o mesmo é removido imediatamente pelos processos absorptivos. Para simular tal fenômeno, os experimentos *in vitro* são realizados com grandes volumes de solvente de tal maneira que a concentração no meio dissolutor não atinja mais 15% da solubilidade do fármaco.

Nas condições *sink*, o valor de C_t torna-se desprezível diante de C_s , reduzindo a equação 6 a:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA}{Vh} k_2 C_s \quad (7)$$

Uma vez que os valores de D , e C_s são constantes e característicos de cada substância, podem ser incorporados a k_2 , resultando na equação:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{A}{Vh} k_3 \quad (6)$$

O modelo de Noyes e Whitney também sofre a limitação de ser concebido a partir do pressuposto de que a superfície do sólido permanece constante no decorrer de todo o processo de dissolução. Considerando essa limitação, Hixson e Crowell (1931) propuseram um modelo que considera a lei obtida por Noyes e Whitney como um caso particular de uma lei mais geral, conhecida como lei da raiz cúbica.

Considerando w_0 como a massa do cristal, de densidade d , no início do processo de dissolução (tempo igual t_0); sendo w a massa do cristal no tempo t e w_s a massa do sólido, necessária para saturar um volume V da solução, tem-se que a velocidade de dissolução $\frac{dw}{dt}$ será proporcional à área de superfície e a diferença entre a concentração de saturação (C_s) e a concentração no tempo t , portanto definida pela equação (7):

$$\frac{dw}{dt} = -K_2 S(C_s - c_t) \quad (7)$$

Rearranjando a equação (7) de modo que a massa dissolvida ($w_0 - w$) seja descrita em função da área de superfície, obtemos:

$$V \left(\frac{dw}{dt} \right) = -K_2 S(w_s - w_0 + w) \quad (8)$$

Assumindo que o cristal não mude de forma durante o processo de dissolução, a variação na sua área de superfície será proporcional ao seu volume (v) elevado a $2/3$ de modo que:

$$S \propto v^{2/3}$$

Uma vez que $v = w/d$, tem-se que:

$$S = K_s w^{2/3} \quad (9)$$

Onde K_s é uma constante que envolve a forma e a densidade do cristal.

Substituindo S na equação (8) e $(w_s - w_0)$ por g , para facilitar os cálculos, temos:

$$V \left(\frac{dw}{dt} \right) = -K_1 w^{2/3} (g + w) \quad (10)$$

Onde K_1 é uma constante combinada. Essa equação pode ser rearranjada e integrada para obter a seguinte equação:

$$w_0^{1/3} - w^{1/3} = K_1 t \quad (11)$$

Os testes de dissolução “in vitro” permitem comparar formulações de diferentes lotes ou diferentes composições e constituem etapa fundamental no desenvolvimento e controle de qualidade das preparações farmacêuticas. Habitualmente os ensaios de dissolução “in vitro” são influenciados pela solubilidade do fármaco no meio solvente, distribuição do tamanho de partículas, forma farmacêutica e excipientes utilizados. Os métodos de dissolução de formas farmacêuticas atualmente são descritos em diversas farmacopéias e na literatura científica em geral.

Os dispositivos utilizados para a determinação da velocidade de dissolução geralmente promovem a mistura dos constituintes por convecção natural ou convecção forçada. Esses métodos geralmente utilizam pás ou cestas rotatórias que deslocam o meio solvente ou o soluto e são descritos nas farmacopéias com as dimensões bem definidas. Entretanto, deve-se

lembrar que esses métodos não simulam realisticamente as fisiológicas por dois motivos principais: as composições do fluido utilizado nos testes não reproduzem fielmente os fluido do trato gastrointestinal e as condições de agitação “in vitro”, ao promover a homogeneização, desviam da dinâmica de transporte de massa que ocorre fisiologicamente.

Freqüentemente tenta-se compensar o primeiro fator utilizando fluidos contendo enzimas como tripsina, e pepsina, ácido clorídrico, tampões fosfato e bicarbonato e ácidos biliares, de modo que minimize a diferença entre as condições observadas no ensaio e aquelas observadas no meio biológico. Por outro lado, a dinâmica de homogeneização já é mais difícil de simular uma vez que no trato gastrointestinal.

1.4. CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA DE FÁRMACOS

A biodisponibilidade dos fármacos pouco hidrossolúveis, geralmente é limitada pela velocidade de dissolução. Essa propriedade é tão importante que atualmente é utilizado como um dos critérios de classificação biofarmacêutica, conforme exposto no quadro **III** (Amidon, 1995; Löbenberg e Amidon, 2000; Kasim et al. 2004).

Quadro III – Sistema de classificação biofarmacêutica de fármacos, com base na solubilidade e permeabilidade.

Classe	Solubilidade	Permeabilidade
I	Alta	Alta
II	Baixa	Alta
III	Alta	Baixa
IV	Baixa	Baixa

A solubilidade de fármacos é controlada pela área superficial que a partícula apresenta para dissolução (Noyes e Whitney, 1897). Um dos métodos mais utilizados na indústria farmacêutica para aumentar a solubilidade de tais fármacos é a formação de um sal hidrossolúvel. Entretanto, o sal formado algumas vezes pode se converter na forma não dissociada que por sua vez possui baixa solubilidade intrínseca, ou ainda reagir com gás carbônico gerando carbonatos pouco solúveis, que acumulam na superfície da forma farmacêutica limitando a sua dissolução (Bloch e Spieser, 1987).

Outra forma de aumentar a solubilidade é através da redução do tamanho de partículas que pode ser obtida por moagem direta (Liversidge e Cundy, 1995), micronização ou secagem por nebulização. Entretanto, apesar da redução dos tamanhos de partículas consistirem de processos relativamente simples, isso não implica em necessariamente uma maior velocidade de dissolução ou biodisponibilidade. Partículas muito finas tendem a aglomerar e se agregar da devido à sua alta energia de superficial e às forças de van der Waals entre as moléculas apolares. Adicionalmente, as partículas finas possuem baixa capacidade de umectação que restringe severamente o processo de dissolução, principalmente em função da adsorção de

bolhas de ar. Além disso, se o fármaco apresentar comportamento plástico, a redução do tamanho das partículas por métodos de cominuição mecânica será dificultada.

1.5. DISPERSÕES SÓLIDAS

Em 1961, Sekiguchi e Obi propuseram pela primeira vez a formulação de uma mistura eutética para conseguir aumentar a velocidade de dissolução de um fármaco pouco solúvel. Nesse trabalho pioneiro, os autores prepararam um mistura eutética contendo sulfatiazol como modelo de fármaco pouco solúvel, e uréia como carreador hidrossolúvel. Ao serem expostas à água, as misturas eutéticas foram capazes de liberar o fármaco mais rapidamente, na forma de uma dispersão fina. Adicionalmente, as formas farmacêuticas obtidas a partir das misturas eutéticas, apresentaram maior biodisponibilidade que as formas convencionais.

Atualmente se prefere utilizar polímeros hidrossolúveis como carreadores, devido à baixa toxicidade e aplicabilidade geral para a maioria dos fármacos (Matsumoto e Zografi, 1999; Serajuddin, 1999).

Chiou e Riegelman (1971) foram os primeiros a utilizar o termo “*dispersão sólida*” para denominar sistemas, contendo um fármaco pouco hidrossolúvel distribuído em uma matriz hidrofílica no estado sólido, preparados por fusão ou co-precipitação. Nesses sistemas a escolha do carreador é de suma importância para as características de dissolução do fármaco disperso. Um fármaco pouco solúvel combinado com um carreador hidrossolúvel resulta em um sistema de liberação rápida enquanto um fármaco hidrossolúvel quando combinado com um carreador levemente solúvel, resulta no atraso da liberação do fármaco (Chemtob et al. 1987).

O polímero carreador pode ser cristalino ou amorfo e o fármaco pode estar disperso molecular em partículas cristalinas ou amorfas. As dispersões sólidas cristalinas podem ser constituídas por misturas eutéticas, que consistem de dois componentes são completamente miscíveis no estado líquido, mas que possuem miscibilidade limitada no estado sólido. As misturas eutéticas restringem-se a uma proporção específica dos componentes da mistura que solidificam simultaneamente na forma de cristais muito finos. Quando o carreador de uma dispersão sólida cristalina é dissolvido em um ambiente aquoso, este libera cristais diminutos do fármaco, que devido à alta superfície específica, exibe uma velocidade de dissolução visivelmente aumentada.

As soluções sólidas cristalinas podem ainda, ser substitucionais; onde o soluto substitui as moléculas do solvente na estrutura da partícula e geralmente ocorrem quando o tamanho da

molécula do fármaco é maior que 85% do tamanho das moléculas do carreador. Quando o tamanho das moléculas do soluto é 60% menor que o tamanho das moléculas do solvente, observa-se a formação de soluções intersticiais, nas quais o fármaco ocupa o espaço intersticial da estrutura da partícula, acomodando-se entre as moléculas do polímero, conforme é mostrado na figura no esquema 3.

Esquema 3 – Representação das estruturas características de soluções sólidas, onde as circunferências brancas representam as moléculas do solvente e as pretas representam as moléculas do soluto.

Geralmente as dispersões sólidas preparadas mais freqüentemente são amorfas e podem ser classificadas como suspensões sólidas, onde o fármaco se encontra disperso na matriz na forma de agregados, e soluções sólidas: onde o fármaco se encontra disperso de modo homogêneo em níveis moleculares.

Como foi dito acima, na grande maioria das vezes, as dispersões sólidas são obtidas por fusão ou coprecipitação. No primeiro caso, a mistura é fundida e rapidamente resfriada, de modo a obter a supersaturação do fármaco, cujas moléculas ficam aprisionadas entre as moléculas do carreador, devido ao rápido resfriamento que não permite a nucleação do soluto (Chiou e Riegelman, 1971). Além disso, o resfriamento rápido do carreador é acompanhado pelo aumento da viscosidade do mesmo, que contribui para limitar o movimento das moléculas do fármaco na matriz.

A obtenção de dispersões sólidas pelo método da fusão pode ser limitada pela sensibilidade térmica dos constituintes da formulação, desse modo, o método de coprecipitação representa uma alternativa interessante, especialmente quando se trata de fármacos ou polímeros com alto ponto de fusão. Nesse método, os componentes da

formulação são dissolvidos em um solvente comum aos dois, em seguida esse solvente é evaporado (Chemtob e cols, 1987). Entretanto, a escolha do solvente pode ser difícil, uma vez que este deve solubilizar simultaneamente um carreador hidrofílico e um fármaco hidrofóbico. Além disso, a remoção desse solvente deve ser completa, devido à toxicidade dos solventes orgânicos, e pode complicar o processo de evaporação, limitando o uso da coprecipitação na obtenção de dispersões sólidas.

Na tentativa de superar os limites associados aos métodos tradicionais de obtenção de dispersões sólidas, vários autores vêm tentando desenvolver novos métodos tais como: extrusão (Broman, Khoo e Taylor, 2001; Sprockel et al., 1997), cominuição simultânea (Sugimoto et al., 1998); leito fluidizado (Ho et al., 1996), spray drying (Corrigan, Holohan e Sabra, 1984) . Entretanto, a maioria desses métodos ainda obedece aos mesmos princípios físicos de transferência de calor e de massa que os métodos tradicionais descritos acima.

1.6. A POLIVINILPIRROLIDONA COMO CARREADOR HIDROSSOLÚVEL.

A polivinilpirrolidona comumente conhecida como PVP ou povidone (1), é um polímero altamente hidrofílico encontrado no mercado com especificações de peso molecular médio que pode variar de 2,5 a 3000 KDa, expresso como uma função do valor **K**, o polímero empregado nesse trabalho possui valor de K igual a 30 com peso molecular médio equivalente a 50 KDa (Leuner e Dressman, 2000). Esse polímero é extensivamente utilizado como excipiente farmacêutico, em combinação com uma ampla variedade de fármacos, sendo empregado em diversas formas farmacêuticas com finalidades diferentes.

Essa versatilidade associada a uma baixa toxicidade fundamenta o uso da PVP na obtenção de dispersões sólidas. A PVP apresenta uma temperatura de transição vítrea relativamente alta, acima de 110° C, que limita o seu uso na obtenção de dispersões sólidas pelo método da fusão. Entretanto, devido à sua solubilidade em uma ampla variedade de solventes, esse polímero é amplamente empregado e estudado na obtenção de dispersões sólidas pelo método da evaporação do solvente.

Alguns estudos têm mostrado que a PVP inibe a cristalização em dispersões sólidas. Acredita-se que o polímero ao interagir com as moléculas do fármaco, principalmente por ligações de hidrogênio, inibe a nucleação e conseqüentemente a cristalização (Ford, 1986; Taylor e Zografi, 1997, Gupta et al., 2005).

1.7. A HIDROCLOROTIAZIDA COMO UM FÁRMACO POUCO HIDROSSOLÚVEL.

A hidroclorotiazida, 6-cloro-3,4-dihidro-7-sulfonamida-2H-1,2,4-benzotiadiazina 1,1-dióxido (2) é um diurético da classe das benzo tiadiazidas, foi sintetizada na década de 1950 (de Stevens et al. 1958), e ainda hoje é amplamente utilizada na prática clínica, como anti hipertensivo, diurético e na redução do edema associado à insuficiência cardíaca congestiva.

A síntese da hidroclorotiazida representou a coroação de um esforço realizado na década de 1950 do século XX, onde inicialmente os diuréticos mais eficazes eram compostos organomercuriais. A procura subsequente por compostos menos tóxicos levou á conjugação com purinas, mas esses compostos apresentavam uma marcante redução na eficácia quando comparados aos organomercuriais.

Um avanço significativo; no que diz respeito à segurança e eficácia de diuréticos, emergiu da observação que as sulfonamidas possuíam efeito inibitório sobre anidrase carbônica, levando à síntese da acetazolamida como o primeiro diurético não mercurial ativo por via oral. Posteriormente um efeito dramático foi conseguido com a introdução da clorotiazida e no final da década, a síntese da hidroclorotiazida, estabeleceu os diuréticos tiazídicos como uma inovação terapêutica com desempenho comparável aos mercuriais, mas toxicidade muito menor.

A hidroclorotiazida é administrada por via oral, em doses que variam de 25 a 100 mg, e é apresentada na forma de comprimidos de 25 e 50 mg, podendo estar associada a outros fármacos, como antagonistas beta-adrenérgicos ou diuréticos poupadores de potássio (Hardman e Limbird, 2001).

O fármaco ocorre como cristais brancos, inodoros, com ponto de fusão na faixa de 273 – 275 °C. Sua solubilidade em água é extremamente baixa, enquanto em metanol e etanol possui solubilidade moderada. Por ser um ácido muito fraco com pKa igual a 8,8; a solubilidade da hidroclorotiazida é pouco influenciada pelo pH intestinal.

Apesar de ser amplamente utilizada na prática clínica, a hidroclorotiazida constitui um fármaco de limitada solubilidade (El-Banna, Gholmy e Hammouda, 1986) e permeabilidade, esses parâmetros refletem a sua baixa biodisponibilidade, entretanto, essa biodisponibilidade pode ser aumentada, através de métodos que elevem a velocidade de dissolução do fármaco (Corveleyn e Remon 1998).

Segundo o modelo de classificação biofarmacêutica, proposto por Löbenberg e Amidon (2000) a hidroclorotiazida pode ser considerada como um fármaco de classe IV, em função da sua baixa solubilidade e permeabilidade. Embora, esse mesmo grupo recentemente tenha classificado a hidroclorotiazida como um fármaco de classe III (Kasim et al. 2004), os autores consideraram sua solubilidade como de baixa magnitude.

Desse modo, a obtenção de dispersões sólidas, nas quais a hidrossolubilidade da hidroclorotiazida seja aumentada, e a compreensão dos mecanismos pelos quais esse fenômeno ocorre, são importantes tanto do ponto de vista clínico, quanto do ponto de vista teórico, uma vez que podem contribuir para elucidar diversas interações físico-químicas que ocorrem na estrutura íntima de formas farmacêuticas sólidas. Adicionalmente, a hidroclorotiazida consta da relação de medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde e no Brasil da relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), destacando o seu interesse para a saúde pública.

1.8. MÉTODOS DE QUANTIFICAÇÃO DA HIDROCLOROTIAZIDA

Os estudos de pré-formulação, assim como o desenvolvimento de formas farmacêuticas, exigem o desenvolvimento e a validação de métodos capazes de determinar quantitativamente com confiabilidade conhecida. Na literatura têm sido descritos métodos para a dosagem da hidroclorotiazida por espectrofotometria no ultravioleta e por cromatografia líquida de alta eficiência. Os métodos cromatográficos geralmente são mais empregados quando se trata de matrizes biológicas, que por serem mais complexas exigem uma maior seletividade, não obstante o custo ser significativamente elevado. Por outro lado, os métodos espectrofotométricos empregados na literatura envolvem o uso de primeira ou segunda derivada, ou ainda a utilização de calibração multivariada. Esse uso se justifica pelo fato da

hidroclorotiazida se encontrar associada a outros agentes anti hipertensivos na maioria das formas farmacêuticas empregadas na terapêutica. Quando o fármaco se encontra em uma matriz suficientemente limpa, não justifica o uso de técnicas analíticas mais sofisticadas, bem como o uso clarificação da amostra, sendo, no entanto, imprescindível o processo de validação para comprovar a confiabilidade dos resultados obtidos.

Outro aspecto importante, é que os métodos espectrofotométricos na região do ultravioleta são fundamentais, tanto por constituir uma opção analítica por si, quanto por constituir uma etapa preliminar no desenvolvimento de análises por cromatografia líquida de alta eficiência, uma vez que o detector mais empregado nesses métodos é constituído por um espectrofotômetro que opera em faixas de comprimento de onda que abrange a região ultravioleta do espectro eletromagnético.

1.9. ESPECTROFOTOMETRIA NO ULTRAVIOLETA

Nas moléculas orgânicas, os principais centros absorventes de radiação ultravioleta são constituídos por elétrons π , principalmente aqueles envolvidos em duplas ligações. Portanto, moléculas que possuem duplas ligações conjugadas como os compostos aromáticos, e aqueles que ainda possuem pares de elétrons não ligantes como átomos de oxigênio e nitrogênio, provavelmente serão bons absorventes de radiação ultravioleta. Por outro lado, compostos que não possuem esses atributos exigem radiação de maior energia para sofrer as transições, constituindo pobres centros absorventes. Esse aspecto se reveste de importância uma vez que radiações mais energéticas tenderão a ser menos seletivas.

1.10. VALIDAÇÃO DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Atualmente se recomenda a validação de qualquer método utilizado em laboratórios de análise quantitativa de fármacos. O processo de validação visa fundamentalmente determinar o grau de confiabilidade do método através de critérios e parâmetros analíticos cuja ênfase depende da aplicabilidade dos resultados obtidos na rotina de análise.

Os critérios são limites de decisão que de terminam se um valor é aceitável ou não, enquanto os parâmetros são características determinadas quantitativamente a partir de tratamentos estatísticos derivados do desenho experimental elaborado no processo de validação.

Os parâmetros mais utilizados geralmente aferem a concordância e dispersão dos resultados, ou os valores limites e são habitualmente expressos como: seletividade, precisão, exatidão, linearidade e robustez. Esses parâmetros podem ser combinados, subdivididos e detalhados de modo a obter informações mais sutis que permitem avaliar o método em maior profundidade e explorar as suas potencialidades apropriadamente.

Quando as repetições de uma análise produzem resultados próximos entre si, diz-se que esse método é preciso. Quando a precisão está relacionada à reprodução dos resultados dentro de um único lote de análises realizadas sob as mesmas condições por um mesmo analista em um mesmo dia, num mesmo equipamento, denomina-se repetibilidade. Por outro lado, quando a precisão se refere a uma série de análises realizadas em condições diferentes, denomina-se por reprodutibilidade.

Um fato interessante de notar é que na prática a precisão é aferida pela imprecisão, uma vez que é determinada matematicamente pelo coeficiente de variação, também conhecido como desvio padrão relativo, dos valores obtidos nas séries de medidas.

Geralmente se considera que o coeficiente de variação (*CV*) varia exponencialmente com a concentração (*C*) do analito expressa em potência de 10, segundo a equação (12):

$$CV(\%) = 2^{(1-0,5 \log C)} \quad (12)$$

A partir da equação acima se torna possível definir um critério de aceitação compatível com a faixa de concentrações comumente encontrada nas amostras para as quais o método se destina. No caso de análise de fármacos em medicamentos em ensaios *in vitro* e fluidos biológicos, esses valores de concentração situam-se em torno de uma parte por milhão ($C = 10^{-6}$), implicando que o coeficiente de variação máximo aceitável nesse caso seria em torno de 16%.

O parâmetro mais utilizado para caracterizar a concordância de um resultado é a exatidão, também conhecida como acurácia. As medidas de concordâncias ajudam a determinar o grau de proximidade entre os valores obtidos e o valor real ou esperado na análise de uma série de amostras.

É importante ressaltar que o valor real é um valor definido por convenção utilizando estudos inter laboratoriais, ou através de amostras de referência certificadas por fornecedores e instituições de certificação. As amostras de referência são assim definidas a partir de estudos de exaustivos realizados com o fim de determinar a pureza ou a composição de tais materiais, portanto são valores aceitos tacitamente pela comunidade científica.

Uma forma comum de se determinar a exatidão é através de testes de recuperação. Nesses ensaios adiciona-se uma quantidade conhecida do analito e determina-se a quantidade pelo método em estudo. A relação entre o valor encontrado e o valor adicionado, expresso em porcentagem constitui um índice de exatidão do procedimento.

Os valores limites, como o próprio nome já diz, permitem determinar a faixa de concentrações em que os resultados obtidos através do método podem ser considerados confiáveis. Os parâmetros empregados com esse fim são: o limite de detecção e o limite de quantificação que são fortemente influenciados pelo analito, dos interferentes presentes e da natureza da matriz, portanto podem variar significativamente de um material para outro. É importante ter em mente que no limite de detecção só é possível afirmar a presença do analito na amostra, mas o grau de incerteza associada à quantificação, nesse nível de concentração é inaceitavelmente alta, portanto é comumente aceito que o limite de quantificação situe-se em torno de cinco vezes o limite de detecção onde a aceitabilidade do resultado torna-se maior. Quaisquer medidas situadas entre esses valores são consideradas como semi-quantitativas.

O limite de detecção pode ser calculado por diferentes procedimentos:

- O triplo do desvio padrão do branco da amostra, onde se utiliza uma matriz idêntica ao da amostra autêntica, sem o analito.
- A concentração do analito que resulta em um sinal três vezes maior que amplitude da linha de base.
- O desvio padrão do branco da amostra vezes o valor de t (Student) para $(1-\alpha)$ nível de confiança – geralmente α é assumido com 0,05 – e seis graus de liberdade, uma vez que sete medidas são suficientes.

Um procedimento bastante comum de determinar o limite de detecção, principalmente nas análises cromatográficas, é através da concentração do analito cujo sinal equivale a três vezes o desvio padrão de uma única determinação usando 20 medidas do branco. A concentração no limite de detecção (LD) é calculada pela equação:

$$LD = \frac{ks_B}{m} \quad (13)$$

Onde k é um valor numérico escolhido de acordo com o nível de confiança escolhido, geralmente é assumido a valor 3 que equivale a 99,86%; e s_B é o desvio padrão da medida do branco e m é a sensibilidade analítica, que diferencia esse procedimento do primeiro descrito acima.

Ao falar em sensibilidade torna-se necessário introduzir outra ferramenta fundamental nos processos de validação: a faixa de trabalho. Esse parâmetro é obtido a partir da curva de padronização, também conhecida como curva de calibração.

Quando se trata de planejar a confecção de uma curva de padronização, a primeira pergunta que vem á mente do analista é: quantos pontos de calibração e qual o intervalo de concentrações devem ser utilizados?

Formalmente não existe uma regra que determine categoricamente esse procedimento, entretanto, com relação ao intervalo de concentrações é consenso entre os analistas que a média das concentrações mais freqüentes situe-se no ponto médio da curva. Por outro lado, segundo Soares (2006) não há vantagens em se utilizar curvas com mais de seis pontos de calibração, uma vez que a faixa de confiança na aumenta significativamente para curvas com maiores número de pontos.

As curvas de padronização, apesar do nome, geralmente são expressas na forma de retas associadas a uma função linear de modo a diminuir a incerteza associada às curvas derivadas de outras funções matemáticas, uma vez que são necessários apenas dois pontos para se estabelecer uma reta com confiabilidade.

Uma reta de padronização obedece à equação:

$$y = a + bx \quad (14)$$

Onde y corresponde ao sinal analítico e x representa a concentração do analito, o valor de a por sua vez é o ponto em que a reta corta o eixo dos y e b é igual à inclinação da reta e significa a sensibilidade do método.

Numa série de medidas torna-se necessário procedimento de regressão linear, devido ao erro associado às medidas, de modo que o valor de b será calculado pela equação:

$$b = \frac{\sum(x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sum(x - \bar{x})^2} \quad (15)$$

Por outro lado, o valor de a , pode ser calculado a partir da equação:

$$a = \bar{y} - b\bar{x} \quad (16)$$

Para a maioria das curvas de padronização, valor de a deve ser teoricamente igual a zero, entretanto na prática como se trata de uma série de medidas, alguns pontos eventualmente podem divergir desse valor, desse modo torna-se necessário determinar o intervalo de confiança.

Para determinar o intervalo de confiança do parâmetro a pode-se seguir o seguinte algoritmo:

Calcula-se a soma do quadrado dos resíduos (SQR) de a , por meio da equação:

$$SQR = \sum (y - \hat{y})^2 - b^2 \sum (x - \bar{x})^2 \quad (17)$$

A partir da SQR pode-se calcular o desvio padrão dos resíduos pela equação:

$$DPR = \sqrt{\frac{\sum (y - \hat{y})^2 - b^2 \sum (x - \bar{x})^2}{(n - 2)}} \quad (18)$$

Onde n é o número de soluções padrão.

Desse modo, já é possível a amplitude do intervalo de confiança de a , utilizando o valor de t (*Student*) correspondente a 95% de confiança e $n-2$ graus de liberdade, com o auxílio da equação:

$$a \pm t(DPR) \times \sqrt{\left(\frac{1}{n} + \frac{\bar{x}^2}{\sum (x - \bar{x})^2}\right)} \quad (19)$$

Se o intervalo de confiança não inclui o zero, pode ser um forte indicativo da presença de interferentes na matriz.

Uma outra questão que precisa ser abordada no procedimento de regressão linear é o quanto os valores da equação de regressão se encaixam na reta. O parâmetro utilizado para responder essa pergunta é o coeficiente de correlação de Pearson (r) que pode ser calculado pela equação:

$$r = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2 \sum (y - \bar{y})^2}} \quad (20)$$

O valor de r geralmente é expresso com quatro casas decimais e varia de 1 a -1, e quanto mais se aproxima desses dois extremos, indica um bom ajuste, ou seja: uma boa correlação. Se o valor de r for próximo de zero, pode indicar que não existe correlação entre as duas variáveis, podendo ser necessária a transformação dos dados, ou o uso de outro tipo de regressão que não a linear.

Quando o valor de r é elevado ao quadrado, se obtém o coeficiente de determinação, que indica o quanto da variância dos dados pode ser explicada pela regressão linear.

A curva de padronização possui ainda um parâmetro extremamente útil que é o coeficiente angular (b) que indica a inclinação da reta. Por definição em uma equação linear o valor de b deve ser constante por representar a primeira derivada dessa equação e significa o aumento do sinal em decorrência de incrementos na concentração. Portanto, formalmente a inclinação da reta constitui a sensibilidade do método. Desse modo o intervalo de linearidade será definido pela faixa de concentrações em que o coeficiente angular permanece constante. Uma forma de determinar o limite superior da reta de padronização é justamente excluindo os pontos de maiores concentrações até atingir um valor de b que se encaixe dentro do grau de confiança de 95%.

Deve-se tomar cuidado ao utilizar a regressão linear no tratamento de dados analíticos, uma vez que esse procedimento estatístico assume que todos os dados distribuem-se normalmente ao redor da média e a variância se mantém constante independente do nível da variável. Quando se detecta alguma violação a esses pressupostos, deve-se utilizar modelos não lineares e utilizar a transformação dos dados de modo a se obter a homogeneidade das variâncias.

Um parâmetro adicional a ser avaliado é a robustez que é a medida da susceptibilidade do método a pequenas variações que ocorrem durante a rotina de análises, como pequenas mudanças de pH e temperatura. Geralmente a aferição da robustez de um método se torna necessária quando esse método deve ser implementado em laboratórios diferentes, e fornece informações valiosas quanto as potenciais fontes de erro que podem afetar a precisão.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVOS GERAIS

- Padronizar um método de análise quantitativa do fármaco.
- Avaliar as características do estado sólido do fármaco.
- Avaliar as características do estado sólido da polivinilpirrolidona.
- Obter dispersões sólidas de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona.
- Avaliar as características do estado sólido das formulações.
- Propor um modelo explicativo para o mecanismo de dissolução do fármaco em água, quando componente das dispersões sólidas.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar as condições analíticas apropriadas para a dosagem
- Determinação dos parâmetros de confiabilidade do método analítico
- Caracterização estrutural do fármaco
- Caracterização estrutural do polímero
- Obtenção das dispersões sólidas
- Caracterização estrutural das dispersões sólidas
- Determinação da solubilidade e do perfil de dissolução do fármaco isolado e nas dispersões sólidas.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS E DAS MISTURAS FÍSICAS

As dispersões sólidas contendo 10, 20, 30 e 40% de hidroclorotiazida, foram obtidas da seguinte forma: Pesou – se exatamente as quantidades necessárias do fármaco e da polivinilpirrolidona e dissolveu – se em volume de etanol absoluto, equivalente a 25 vezes a massa total de sólidos pesados. Em seguida, a mistura foi submetida a agitação por 24 horas até que todo o sólido fosse dissolvido. Por fim, o solvente foi evaporado em um rotaevaporador, a 50° C, sob pressão reduzida a – 600 mm Hg. O resíduo de solvente foi removido por secagem, em estufa por 24 horas a 50° C, sob pressão reduzida a – 600 mm Hg.

Com a finalidade de avaliar o efeito do processamento sobre as propriedades da hidroclorotiazida, o fármaco foi submetido ao mesmo tratamento descrito acima com a diferença que não foi adicionado o polímero.

Paralelamente foram preparadas misturas físicas contendo 10, 20, 30 e 40% do fármaco. Inicialmente a hidroclorotiazida e a PVP – K30 foram tamisada de modo a selecionar uma distribuição de tamanho de partículas entre 60 e 100 MESH, os pós obtidos foram cuidadosamente pesados de modo a obter as frações ponderais apropriadas. Em seguida os pós foram misturados em gral de porcelana e novamente tamisados para padronizar o tamanho das partículas. As misturas físicas obtidas foram guardadas em dessecador de vidro, contendo sílica gel e cloreto de cálcio anidro, como agentes dessecantes.

3.2. ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Pesaram-se 5 mg de cada amostra em um cadinho de platina; em seguida a amostra foi submetida a um aquecimento até 400° C, sob atmosfera inerte de nitrogênio. Com uma razão de aquecimento de 10° C por minuto.

3.3. ANÁLISE CALORIMÉTRICA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

Pesaram-se 3 – 5 mg de cada amostra em um cadinho de alumínio, que foi selado hermeticamente. Em seguida a amostra foi submetida a um aquecimento até 400° C, sob atmosfera inerte de nitrogênio, com uma razão de aquecimento de 10° C por minuto. Contra um padrão de nitrogênio.

3.4. MEDIDA DA DIFRAÇÃO DE RAIOS – X

A análise por difração dos raios – X foi realizada em um difratômetro universal Carl Zeiss HZG 4C usando um filtro de radiação monocromática Cu K α ($\lambda = 1.54056$). O tubo anódico de raios – X foi operado a 40 KV e 30 mA. As amostras foram acondicionadas em um porta-amostra de alumínio e a deflexão do feixe de raios – X foram medidas de 2° a 50° na escala dos 2 θ , em incrementos de 0,05° /s.

3.5. ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO

Foram pesados 10 mg de cada amostra e pulverizada juntamente com aproximadamente a mesma quantidade de Brometo de Potássio em um almofariz de ágata. Em seguida o pó obtido foi compactado, com o auxílio de uma prensa hidráulica, até que se obtivesse uma pastilha translúcida.

A pastilha obtida foi acondicionada em um espectroscópio de infravermelho, para se proceder a leitura na faixa de 5000 a 400 cm⁻¹.

3.6. VARREDURA ESPECTROFOTOMÉTRICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA

Pesaram-se 10 mg de hidroclorotiazida; transferiu-se para um balão de 100 mL contendo 50 mL de metanol, em seguida a mistura foi submetida a agitação por 15 minutos, para que o sólido fosse dissolvido, por fim o volume foi aferido com água,. Essa solução de 0,1 mg/mL, foi denominada por solução estoque.

500 µL solução estoque transferida para um balão de 10 mL e o volume foi aferido com uma solução aquosa de metanol 50%, formando a solução de trabalho, que por sua vez foi acondicionada em uma cubeta de quartzo de procedeu – se a leitura da absorvância na faixa de 200 a 400 nm.

3.7. CONFECÇÃO DA CURVA DE PADRONIZAÇÃO DA ANÁLISE ESPECTROFOTOMÉTRICA NA REGIÃO DO ULTRAVIOLETA

Foram transferidos 5 mL da solução estoque para um balão volumétrico de 10 mL em seguida o volume foi aferido com uma solução aquosa de metanol 50%. A mistura foi submetida a agitação por 15 minutos, obtendo – se uma solução padrão de 50 µg/mL.

A partir dessa solução, foram realizadas diluições seriadas de modo a obter concentrações finais de 20; 10; 5,0 e 1,0 µg/mL. Em seguida mediu-se a absorvância das amostras a 271 nm, contra um branco de solução aquosa de metanol 50%.

3.8. DETERMINAÇÃO DOS LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Preparou-se uma solução aquosa de metanol a 50%, e zerou-se o espectrofotômetro em 271 nm. Subseqüentemente, 200 mg de PVP K30 foram pesados, dissolvidos em solução aquosa de metanol a 50% e lida a absorvância de 36 alíquotas.

O limite de detecção foi considerado como a concentração, determinada a partir da equação obtida a partir da curva de padronização, correspondente à absorvância equivalente a três vezes o desvio padrão das leituras de absorvância das soluções de PVP 30.

O limite de quantificação, por sua vez, foi calculado como cinco vezes a concentração do fármaco no limite de detecção.

3.9. DETERMINAÇÃO DA CURVA DE DISSOLUÇÃO

As medidas da dissolução foram realizadas adicionando 48 mg de hidroclorotiazida ou quantidades das misturas físicas ou das dispersões sólidas, contendo essa massa do fármaco em um aparelho dissolutor Sotax 7M® mL de água Milli – Q. Os frascos foram submetidos a agitação por 24 horas a 37 ° C. Em seguida alíquotas de 2 mL foram transferidas para uma seringa e filtradas em membranas Millipore® de Nylon de 0,45 µm. Após diferentes

intervalos de tempo, as concentrações de hidroclorotiazida foram determinadas por espectrofotometria na região do ultravioleta a 271 nm.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O desenho racional de formas farmacêuticas depende da compreensão das propriedades físicas e químicas dos seus componentes e seu potencial para interagir entre si e com o ambiente a que eles são expostos. Portanto, foram realizadas análises de caracterização estrutural para fornecer os dados necessários à compreensão das interações dos componentes da formulação entre si e com o ambiente.

Os métodos empregados constituem o elenco de estratégias consagrado pela prática de caracterização do estado sólido e se encontram amplamente descritos na literatura. Entretanto, até o presente momento as técnicas aqui descritas, não haviam sido empregadas simultaneamente na análise do sistema composto por hidroclorotiazida e PVP – K30, com a mesma configuração aqui descrita.

Alguns resultados encontrados foram semelhantes àqueles descritos anteriormente na literatura e outros apresentaram sensível diferença em relação aos achados de outros autores como se poderá ver nessa discussão.

4.1. CRISTALINIDADE

Os resultados da análise termogravimétrica mostram que a hidroclorotiazida permanece estável quimicamente até 310 °C, passando a sofrer perda de massa acima dessa temperatura (figura 2).

A análise térmica diferencial revela uma transição endotérmica no intervalo de 270 °C a 273 °C na forma de pico endotérmico (figura 3), que foi atribuído à fusão do fármaco, exibindo valores próximos aos apresentados na literatura por diversos autores (Aceves – Hernandez, et al., 2006; Menon et al., 2002; Werner et al. 1960), confirmando a identidade do composto e evidenciando o seu grau de pureza. Além disso, foi detectado um processo exotérmico a partir de 310 °C que coincide com a perda de massa observada na termogravimetria, e permite sugerir que o fármaco sofre decomposição a partir dessa temperatura. Essa conclusão é apoiada também pelo estudo de Menon et al. (2002), que estudou o processo de decomposição da hidroclorotiazida através de espectrometria de massas e demonstrou que após a fusão, esse fármaco sofre decomposição através de múltiplas etapas.

Figura 2 – Termograma, obtido por termogravimetria da hidroclorotiazida.

Figura 3 – Termograma, obtido por análise térmica diferencial da hidroclorotiazida.

Adicionalmente, foi realizada uma tentativa de se obter a hidroclorotiazida amorfa por diferentes métodos, sendo um deles o aquecimento do fármaco no aparelho de DSC até a temperatura de 280 °C seguida de uma nova análise, entretanto, ainda assim o fármaco se mostrou cristalino, como se pode ver no termograma representado na figura 4.

Outras duas tentativas de se obter o fármaco amorfo foram realizadas pela dissolução em etanol com posterior secagem do solvente através do rotaevaporador e pela secagem de sua solução alcoólica por spray dryer. Ambas as formas de processamento resultaram em produtos cristalinos, em que os termogramas mostraram perfis qualitativamente semelhantes aos observados no material de partida. Além disso, não foi detectada nenhuma inflexão da linha de base, nem qualquer pico exotérmico anterior ao ponto de fusão, não exibindo, portanto, nem transição vítrea nem cristalização, o que indica que o material já se encontra na forma cristalina.

Esses resultados a formação do material no estado amorfo, contrastando com os resultados de outros autores (Corrigan, Holohan e Sabra 1984; Tajber et al., 2005) que relataram a obtenção da hidroclorotiazida amorfa por spray dryer, embora Corrigan, Holohan e Sabra (1984) tenham relatado que o produto amorfo obtido por eles tenha sofrido cristalização em menos de 24 horas, essas observações geralmente são explicadas sob o ponto de vista termodinâmico considerando que a espontaneidade das transformações dependem da

redução da energia livre (ΔG), e essa por sua vez é função das variações de entalpia (ΔH) e entropia (ΔS), conforme a equação 21:

$$\Delta G = \Delta H - T\Delta S \quad (21)$$

Evidentemente, tanto os nossos resultados quanto os dos autores citados, evidenciam um fato importante: o produto cristalino obtido em soluções etanólicas de hidroclorotiazida, após a evaporação do solvente, é muito estável e favorecido termodinamicamente, dificultando a obtenção do fármaco amorfo, visto que o aumento da entropia decorrente da formação do produto amorfo não supera a diminuição da entalpia associada à formação do cristal.

Essa característica do cristal possivelmente contribui para a sua baixa solubilidade em água, uma vez que esse parâmetro também depende das forças coesivas que mantêm as moléculas unidas, resultando em um sólido com baixa energia interna.

Figura 4 – Termogramas, obtidos por calorimetria diferencial exploratória da hidroclorotiazida padrão e precipitada por rotaevaporação ou por spray dryer.

A partir da tabela 1 pode se notar que ocorreu uma tendência redução da temperatura de fusão, principalmente nas amostras submetidas à secagem por spray dryer, o esses dados

sugerem a ocorrência de polimorfismo, que poderia ser notado, embora nos termogramas não tenha sido observada a ocorrência de um pico de fusão adicional, associada à fusão dos dois polimorfos. É possível que os dois polimorfos tenham pontos de fusão tão próximos que os picos estejam sobrepostos. Portanto a ocorrência de polimorfismo necessitou a confirmação pela análise por difração de raios X.

Tabela 1 – Efeito do processamento sobre a temperatura e o calor de fusão da hidroclorotiazida.

Tratamento	Ponto de fusão (°C)	Calor de fusão (J/g)
Padrão	269,5	109,4
Rotaevaporação	263,1*	107,6
Spray dryer	258,3*	103,8

* Estatisticamente diferente do tratamento padrão com $P < 0,05$

Nos difratogramas apresentados na figura 6, os picos presentes na amostra proveniente do material de partida também são encontrados nas amostras após os diferentes processamentos.

É importante destacar, que a maioria nos estudos anteriores que envolviam o processamento de hidroclorotiazida por spray dryer ou por rotaevaporação, não foi observada a ocorrência de polimorfismo, o que fez com que durante muito tempo se acreditasse que o fármaco se encontra apenas na forma monoclinica descrita por Du Pont e Dideberg em 1972, entretanto, recentemente foi descrito um processo experimental capaz de produzir o polimorfo II precipitado a partir de uma solução do fármaco em acetona, após acrescentar uma solução aquosa de hidroxipropilmetil celulose (Florence et al., 2005).

Posteriormente estudos utilizando métodos de dinâmica molecular sugeriram a existência de no mínimo oito diferentes polimorfos, decorrentes da formação de ligações de hidrogênio entre os grupos amino e os átomos de oxigênio presentes na molécula do fármaco. Alguns exemplos são expostos na figura 5.

Figura 5- Estruturas propostas para polimorfos da hidroclorotiazida

Adicionalmente pode-se notar que não ocorreram diferenças significativas entre os difratogramas obtidos a partir do fármaco tratado por rotaevaporação e por spray dryer, sugerindo que o processamento não é suficiente para comprometer a formação do cristal. Entretanto, nossos experimentos não nos permitem identificar, quais desses polimorfos são favorecidos termodinamicamente, nas condições experimentais aqui empregadas, mas sugerem que o hábito cristalino formado é extremamente estável.

O polimorfismo freqüentemente ocorre em consequência de diferentes condições de cristalização e se reveste de importância na indústria farmacêutica, justamente porque cada polimorfo possui propriedades biofarmacêuticas próprias resultando em perfis terapêuticos distintos e exigindo cuidado no desenvolvimento de formulações. Portanto, a detecção e caracterização de polimorfos é uma etapa constituinte na manipulação de sólidos farmacêuticos. Entretanto, não deixa de ser surpreendente que o polimorfismo de um fármaco tão importante como a hidroclorotiazida tenha levado tantos anos para ser detectado, principalmente quando se considera que sua estrutura indica a multiplicidade de interações possíveis entre os grupos funcionais presentes na molécula.

A explicação mais plausível para essa dificuldade de diferenciar os polimorfos da hidroclorotiazida, seja justamente a estabilidade do polimorfo I, como foi constatado por Aceves – Hernandez et al. em 2006, que envolvia métodos computacionais acoplados a difração de raios X em diferentes temperaturas, e mesmo assim, esses autores não detectaram o fenômeno de polimorfismo no fármaco.

Figura 6 – Difratomogramas da hidroclorotiazida padrão e após precipitação por rotaevaporação e por spray dryer.

Além da caracterização da forma cristalina do fármaco, também foi necessário o estudo da molécula de PVP K30. Inicialmente foi realizada a análise termogravimétrica, onde ficou evidente a termo estabilidade do polímero como pode se notar na figura 7.

Figura 7 – Termograma, obtido por termogravimetria da PVP K30.

Subseqüentemente foi realizada a análise do polímero por calorimetria diferencial de varredura, apresentada na figura 8, onde foi observado que não ocorreu nenhum pico de fusão. Entretanto, ocorreram dois eventos típicos dos termogramas de PVP descritos na literatura (Tantishaiyakul et al., 1996). Inicialmente ocorreu uma transição endotérmica bem ampla entre 20 e 110 °C. Essa endoterma foi detectada por praticamente todos os autores que fizeram DSC da PVP e foi atribuída à perda de água adsorvida, que pode ser corroborada na análise termogravimétrica, pela perda de massa nessa faixa de temperatura. A manutenção da amostra na termobalança por 90 minutos a 110 °C, não foi suficiente para eliminar essa banda, provavelmente em consequência de o polímero ser altamente higroscópico (Sethia e Squillante, 2004).

Figura 8 – Termograma, obtido por calorimetria diferencial exploratória da polivinilpirrolidona.

Uma segunda transição observada no termograma da PVP K30 foi um deslocamento da linha de base, atribuída à temperatura de transição vítrea, que de acordo com Tajber et al. (2005) fica em torno de 129 °C. Entretanto, a partir do gráfico exposto na figura 8, a Tg da PVP K30 foi calculada como 168,3 °C; essa divergência pode ser ocorrer em experimentos para determinação da Tg por DSC convencional, em decorrência da sobreposição do relaxamento estrutural, que é o processo pelo qual o material amorfo paulatinamente tende à cristalização, independente de eventos térmicos. Além disso, a medida da Tg pode ser afetada pela história térmica do material, pela razão de aquecimento, ou ainda pelo parâmetro de medida utilizado, por exemplo; a mudança de capacidade calorífica, volume específico ou viscoelasticidade. Apesar de ser altamente variável, a medida da Tg constitui uma prática extremamente útil e é empregada amplamente na caracterização de polímeros em diferentes áreas. (Yu, 2001).

Recentemente Buckton, Adeniyi, Saunders e Ambarkhane (2006) estudaram o efeito da razão de aquecimento sobre a determinação da Tg da PVP, onde os autores mediram o valor da Tg utilizando razões de aquecimento de 20 a 500 °C/min e obtiveram valores que variavam de 162 a 169 °C, estando, portanto muito próximos dos valores encontrados no presente trabalho, em que a razão de aquecimento foi de 10 °C/min. Além disso, esses autores relataram que a amplitude da transição pode abranger até 12 °C, atestando a dificuldade associada com a medida exata da Tg.

A polivinilpirrolidona, com diferentes faixas de peso molecular, é freqüentemente utilizada na obtenção de dispersões sólidas em decorrência da sua alta solubilidade em água, entretanto, seu valor de Tg relativamente alto e a proximidade do seu ponto de fusão em relação à temperatura de fusão limitam o uso desse excipiente nos métodos de obtenção de dispersões sólidas por fusão, restando apenas os métodos que envolvem evaporação do solvente. Como se pode ver ao comparar as figuras 7 e 8, o polímero de fato começa a sofrer decomposição sem exibir qualquer pico de fusão, o que o caracteriza como um sólido amorfo.

Esse dado pode ser confirmado pelos experimentos de difração de raios X, apresentados na figura 9, em que não se observa a presença de qualquer pico, confirmando os resultados descritos na literatura (Najib, El-Hinnawi e Suleiman, 1988; Gupta et al., 2005; Van den Moter et al., 2001; Kakumanu e Bansal (2002) e Van Drooge et al. (2006)).

Figura 9 – Análise por difração de raios X da PVP K30.

No presente trabalho, as dispersões sólidas foram obtidas por evaporação do solvente, a partir de soluções alcoólicas com diferentes proporções do fármaco e do polímero, essas dispersões obtidas foram comparadas com misturas físicas de composição equivalentes. Como havia sido feito com o polímero e o fármaco puros, foram realizados experimentos com a finalidade de caracterização do estado sólido das preparações obtidas, identificando a presença ou ausência de cristalinidade desses materiais e suas transições térmicas.

Os termogramas obtidos a partir dos ensaios de termogravimetria das misturas físicas e das dispersões sólidas reproduziram os resultados já descritos anteriormente. Quando essas técnicas foram usadas para estudar o comportamento térmico das misturas físicas (figuras 10 a 13), pôde – se observar novamente mesmas transições, sugerindo que nessas preparações não ocorrem interações químicas entre os componentes. A única diferença observada foi uma menor perda de massa decorrente evaporação da umidade residual nas dispersões sólidas, provavelmente como uma consequência de um processo de secagem mais rigoroso realizado com as dispersões sólidas.

Excetuando uma menor perda de umidade, os termogramas das dispersões sólidas são virtualmente idênticos aos das respectivas misturas física, descartando a possibilidade de interações capazes de comprometer a estabilidade do fármaco em decorrência da presença do polímero, como foi descrito por Desai et al. (1996).

Outro aspecto interessante é que quanto maior a concentração do fármaco nas preparações, maior a perda de massa na temperatura de decomposição, indicando que o fármaco sofre degradação, antes do polímero, como também pode se ver ao comparar as figuras 2 e 7.

Figura 10 - Termogramas, obtidos por termogravimetria de mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida em PVP K30, contendo: 10% do fármaco.

Figura 11 - Termogramas, obtidos por termogravimetria de mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida em PVP K30, contendo: 20% do fármaco.

Figura 12 - Termogramas, obtidos por termogravimetria de mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida em PVP K30, contendo: 30% do fármaco.

Figura 13 - Termogramas, obtidos por termogravimetria de mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida em PVP K30, contendo: 40% do fármaco.

A partir dos termogramas obtidos por DSC das misturas físicas pode-se observar a permanência dos picos de fusão da hidroclorotiazida com magnitude proporcional à quantidade do fármaco na formulação, e a temperatura de transição vítrea da PVP foi reproduzida em todas as amostras (figuras 14 a 17). Além disso, a transição endotérmica, decorrente da evaporação da umidade, também foi novamente observada na forma de uma depressão pronunciada. Em contraste, na comparação dos termogramas das misturas físicas com aqueles obtidos a partir das dispersões sólidas, a banda endotérmica se revela bem menor, corroborando a explicação de que essas preparações possuem um menor teor de umidade, e mostra indícios de que ocorre algum tipo de interação química entre os constituintes da formulação, uma vez que o pico de fusão do fármaco foi completamente suprimido, observando-se apenas uma transição vítrea que foi deslocada para valores menores de temperatura como mostra a tabela 2. Sendo essa transição monofásica, pode-se sugerir que o fármaco se encontra totalmente disperso no polímero compondo uma solução amorfa e não uma suspensão, pois se assim o fosse, deveria haver dois valores de Tg.

Tabela 2 – Relação entre a proporção de hidroclorotiazida e a temperatura de transição vítrea (Tg) de dispersões sólidas do fármaco em PVP K30.

Proporção do fármaco na dispersão sólida (%)	Tg (°C)
10	154
20	136,7
30	111,3
40	110,7

Outro fato notável é que nas dispersões sólidas, o valor da Tg diferiu significativamente daquele encontrado no polímero puro e conseqüentemente nas misturas físicas. Portanto, os termogramas permitem sugerir que, nas dispersões sólidas, as moléculas do hidroclorotiazida se encontram envolvidas por uma matriz composta pelo polímero, formando uma solução no estado sólido, e considerando que não foi detectado nenhum pico de fusão, ganha corpo a hipótese de que se trata de uma dispersão amorfa.

Essas dispersões diferem drasticamente daquelas obtidas com outros portadores hidrofílicos, que formam dispersões sólidas cristalinas como polietileno glicol, relatadas por Lin e Cham (1996) e Wulff, Aldén e Craig (1996), ou mesmo com a própria polivinilpirrolidona, como foi descrito por Najib, El – Hinnawi e Suleiman (1988). Esses dados permitem concluir que durante o processamento, foram obtidas dispersões sólidas que muito provavelmente se encontram no estado amorfo. Entretanto, a perda da cristalinidade só foi efetivamente confirmada através de ensaios de difração e raios X.

Figura 14 – Termogramas obtidos por calorimetria diferencial exploratória da mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida a 10% em polivinilpirrolidona.

Figura 15 – Termogramas obtidos por calorimetria diferencial exploratória da mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida a 20% em polivinilpirrolidona.

Figura 16 – Termograma obtido por calorimetria diferencial exploratória da mistura física e da dispersão sólida de hidroclorotiazida a 30% em polivinilpirrolidona.

Figura 17 – Termograma obtido por calorimetria diferencial exploratória da mistura física e dispersão sólida de hidroclorotiazida a 40% em polivinilpirrolidona.

Como foi mencionado no início dessa seção; os dados obtidos a partir da análise por difração de raios X revelam que a hidroclorotiazida utilizada no presente estudo se encontrava no estado cristalino. Essa afirmação fundamenta – se no perfil do difratograma que apresenta picos bem definidos (figura 6). Esse perfil se mostrou coerente com os resultados de Kouterellis e Markopulou (1992) que propuseram um método de análise qualitativa para esse fármaco usando a mesma técnica. Em contraste, na figura 9 pode-se ver que a PVP K30 apresentou um perfil sem picos definidos, típico de substâncias amorfas.

Nos difratogramas das misturas físicas ocorreu a sobreposição dos picos observados para o fármaco e polímero (figuras 18 e 19), observa-se nesses gráficos que a intensidade dos picos diminui à medida que se reduz a porcentagem do fármaco na mistura, indicando que na mistura física a hidroclorotiazida não perde a sua cristalinidade.

Por outro lado, as dispersões sólidas se apresentaram completamente amorfas (figura 20 e 21), sugerindo que as interações químicas resultantes do processamento da formulação alteram profundamente a organização do sistema, subvertendo drasticamente a relação entre a entropia e a entalpia do sistema, de modo favorável à manutenção da hidroclorotiazida no estado amorfo. É importante ressaltar que as dispersões sólidas obtidas por spray dryer apresentaram os mesmos perfis que aquelas oriundas do rotaevaporador.

Esses sólidos geralmente possuem alta energia, mas o grau de desordem é tal que pode ser suficiente para reduzir a energia livre a ponto de tornar a sua formação e manutenção, favorável do ponto de vista termodinâmico. Essa alta entropia é acompanhada de um elevado volume específico, decorrente de interações moleculares não organizadas, contrastando com a simetria observada nos retículos cristalinos.

Figura 18 – Espectros de difração de raios X das misturas físicas da hidroclorotiazida 10 e 20% em polivinilpirrolidona.

Figura 19 – Espectros de difração de raios X das misturas físicas da hidroclorotiazida 30 e 40% em polivinilpirrolidona.

Figura 20 – Espectros de difração de raios X das dispersões sólidas da hidroclorotiazida 10 e 20% em polivinilpirrolidona.

Figura 21 – Espectros de difração de raios X das dispersões sólidas da hidroclorotiazida 30 e 40% em polivinilpirrolidona.

A desorganização molecular da hidroclorotiazida, decorrente da interação com um polímero altamente hidrofílico, evidencia que as dispersões sólidas obtidas constituem um sistema interessante como modelo para estudar o aumento da solubilidade de fármacos pobremente solúveis. Alguns estudos foram realizados nessa direção por Corrigan e Timoney (1975); Corrigan, Timoney e Whelan (1976) e Tajber, Corrigan e Healy (2005). Entretanto, nesses trabalhos as dispersões sólidas foram obtidas por spray dryer e algumas questões ainda carecem de repostas, restando saber se as interações químicas estão envolvidas no aumento da solubilidade da hidroclorotiazida em dispersões sólidas com PVP obtidas por spray dryer, são as mesmas quando obtidas pelo método tradicional.

O uso de dispersões sólidas constitui uma estratégia para aumentar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis, de modo a aumentar-lhes a hidrossolubilidade, nessas dispersões a droga pode se encontrar na forma cristalina, parcialmente cristalina ou totalmente amorfa.

O aumento das propriedades de dissolução observado em misturas eutéticas, que constituem dispersões onde o fármaco se encontra na forma cristalina, pode ser explicado pelo aumento da umectação e a criação de um microambiente. Este fato potencializa a solubilidade das partículas do fármaco em decorrência das pequenas dimensões dos cristais do princípio ativo e das altas concentrações do polímero carreador na microrregião adjacente a estes cristais (Craig, 2002).

Entretanto, em dispersões sólidas, é preferível que o fármaco se encontre no estado amorfo devido à sua maior solubilidade e taxa de dissolução, quando comparado com o material cristalino. Além disso, as soluções vítreas configuram o mais alto nível de redução de tamanho de partícula, onde o princípio ativo se encontra disperso em níveis moleculares no polímero hidrossolúvel que, após ser dissolvido, permite que as moléculas do fármaco, antes aprisionadas na matriz amorfa do polímero, sejam liberadas individualmente no meio de dissolução, sem o gasto de energia, que de outro modo seria necessário para a cisão da estrutura cristalina do princípio ativo (Gupta, Chawla e Bansal, 2004; Leuner e Dressman, 2000).

Apesar dessa vantagem do estado amorfo, sistemas que possuem essa estrutura, possuem alta energia e são metaestáveis, permitindo a recristalização do fármaco principalmente quando a temperatura de transição vítrea do polímero é próxima da temperatura ambiente. Por esse motivo geralmente os polímeros com altos valores de Tg são utilizados mais freqüentemente nessas situações, apesar dos mecanismos moleculares que

fundamentam esse fenômeno, ainda não terem sido completamente desvendados (Pokharhar et al. 2006).

No presente trabalho, o uso da PVP contribui para a manutenção do estado amorfo, uma vez que a T_g do polímero é relativamente alta. Entretanto, pode – se observar que nas dispersões sólidas houve uma redução dos valores da T_g à medida que a concentração do fármaco aumentava. Além disso, em cada formulação a transição exibia perfil monofásico, indicando a perfeita miscibilidade dos componentes.

O valor da T_g da mistura (T_{gmix}) situa – se numa faixa intermediária entre a T_g do fármaco e do polímero segundo equação de Gordon e Taylor:

$$T_{gmix} = \frac{T_{gf} \times w + T_{gp} \times K(1 - w)}{w + K(1 - w)} \quad (22)$$

Onde T_{gf} e T_{gp} são as temperaturas de transição vítrea do fármaco e do polímero respectivamente; w é a fração ponderal do fármaco na mistura e K é uma constante que pode ser calculada pela equação de Couchman e Karasz:

$$K = \frac{\Delta C_{ppol}}{\Delta C_{pfarm}} \quad (23)$$

Nessa equação, os valores de ΔC_p representam as variações na capacidade calorífica dos componentes durante a transição vítrea. Essas equações se aplicam a dispersões sólidas em que os componentes são completamente miscíveis (Van de Drooge et al., 2006).

Alguns autores propõem que a estabilização da droga no estado amorfo se dá principalmente em decorrência de interações específicas entre o fármaco e o polímero. Entretanto, existem evidências de que os sistemas amorfos podem ser estabilizados por um efeito plastificante intrínsecos do polímero. Conseqüentemente, as interações de fármacos pouco solúveis precisam ser investigadas com o auxílio de técnicas como a espectroscopia na região do infravermelho para se obter uma descrição mais conclusiva das interações que estão correndo ao nível molecular entre os componentes da formulação (Najib, El-Hinnawi e Suleiman, 1988).

4.2 INTERAÇÕES MOLECULARES

A espectroscopia no infravermelho foi realizada para caracterizar as possíveis interações da hidroclorotiazida com a PVP – K30 no estado sólido. A partir da estrutura da PVP pode-se sugerir que esse polímero é capaz de atuar como acceptor de próton através do átomo de oxigênio carbonílico ou do nitrogênio pirrólico. Entretanto, essa segunda possibilidade é descartada, devido ao impedimento estérico, ressaltando a importância de se acompanhar as regiões correspondentes às deformações do grupo carbonílico, que apresenta bandas características. Adicionalmente, em decorrência da natureza altamente hidrofílica do polímero, é possível que ocorra a presença de moléculas de água como pode se observar na figura 22, onde é notável a presença de uma ampla banda na região de 3454 cm^{-1} .

O espectro da PVP K30 na figura 23, se mostrou semelhante aos apresentados por Van de Mooter e cols. em 1998, e mais recentemente por Sethia e Squillante (2004) e Zhang et al. (2006), revelando, as bandas em $2954,27\text{ cm}^{-1}$ e $1664,88\text{ cm}^{-1}$, correspondentes às deformações axiais das ligações C–H dos grupos metileno e C=O da carbonila que compõem o anel pirrólico, respectivamente. Como já foi mencionada acima, a banda larga em torno de $3454,32\text{ cm}^{-1}$ foi atribuída à presença de água que confirma a perda de massa observada no experimento de termogravimetria e na depressão endotérmica encontrada nos ensaios de DSC.

Figura 22 – Espectro de infravermelho da polivinilpirrolidona no estado sólido, em pastilha de KBr, na região de 4000 a 2400 cm^{-1} .

Figura 23 – Espectro de infravermelho da polivinilpirrolidona no estado sólido, em pastilha de KBr, na região de 2000 a 1000 cm^{-1} .

O espectro da hidroclorotiazida cristalina (figuras 24 e 25) apresentou um perfil similar àquele encontrado por Werner e colaboradores em 1960 onde se observa a presença de bandas na região entre 3100 e 3400 cm^{-1} , atribuídos a vibrações de deformação axial dos átomos de nitrogênio que compõem a estrutura da molécula.

No estado sólido, as sulfonamidas possuem bandas fortes na região entre 3390 – 3245 cm^{-1} , devido às vibrações de deformação axial da ligação N–H. Sulfonamidas primárias apresentam duas bandas nessa região, uma vez que elas possuem dois prótons que possibilitam vibrações simétricas e assimétricas. Por outro lado, os compostos secundários apresentam somente um pico resultante dessa vibração, uma vez que só possuirão um próton disponível.

Figura 24 – Espectro de infravermelho da hidroclorotiazida no estado sólido, em pastilha de KBr, na região de 4000 a 2400 cm^{-1} .

Além do grupo amino primário sulfamílico, a hidroclorotiazida contém uma ligação N – H adicional pertencente ao grupo amino secundário, que deverá vibrar na faixa de 3300 a 3500 cm^{-1} . Entretanto, ligações de hidrogênio podem deslocar as posições das bandas para frequências menores. Adicionalmente, em cristais de pequenas moléculas orgânicas, os melhores doadores de hidrogênio devem ligar – se aos melhores aceptores de prótons, em outras palavras: os átomos de nitrogênio dos grupos sulfonamida são melhores doadores que o nitrogênio do grupo amino presente no anel.

Com base nas considerações acima, pode-se sugerir que a banda com número de onda de $3392,59\text{ cm}^{-1}$ pode ser atribuída às ligação do nitrogênio da amina secundária – praticamente livre de ligações de hidrogênio devido à sua baixa capacidade de doar próton.

Como foi dito acima, as aminas primárias possuem maior número de graus de liberdade no tocante às vibrações das suas ligações N–H, portanto a banda em $3362,95\text{ cm}^{-1}$ foi atribuída às vibrações simétricas do grupo N–H da sulfonamida primária constituinte do grupo sulfamílico. Por outro lado, o pico com menor número de onda ($3173,46\text{ cm}^{-1}$) pode ser atribuído às vibração assimétricas dessas mesmas ligações. Além disso, o pico encontrado em $3268,83\text{ cm}^{-1}$ foi associado à deformação axial da ligação N – H da sulfonamida secundária presente na porção tiadiazínica (Aceves- Hernandez, 2006).

Adicionalmente, a banda na região de 1602 cm^{-1} é atribuída à sobreposição de bandas de absorção associadas a deformações das ligações – C–N bem como das ligações – C=C do anel aromático. As duas bandas em $1550,57$ e $1217,50\text{ cm}^{-1}$ são associadas às deformações angulares assimétricas dos grupamentos amino primários. As bandas situadas em $1336,12\text{ cm}^{-1}$, 1321 cm^{-1} e 1167 cm^{-1} podem ser associadas ao grupo SO_2 , da sulfonamida, enquanto a banda em 1123 cm^{-1} está associada ao SO_2 do anel heterocíclico.

Figura 25 – Espectro de infravermelho da hidroclorotiazida no estado sólido, em pastilha de KBr, na região de 2000 a 1000 cm^{-1} .

Os resultados expostos na figura 26 e 27 sugerem que espectros das misturas físicas se manifestam como uma somatória dos espectros do fármaco e do polímero, indicando que não houve interação apreciável entre os componentes.

Por outro lado, nas dispersões sólidas pôde-se observar que as alterações mais significativas ocorreram na região de $3200 - 3400 \text{ cm}^{-1}$ e na banda situada em 1558 cm^{-1} , atribuída aos átomos de nitrogênio do grupo sulfonamida, sugerindo que esse grupamento está envolvido em interações com o polímero nas dispersões sólidas.

Figura 26 – Espectros de infravermelho da mistura física de hidroclorotiazida 20% em polivinilpirrolidona no estado sólido, em pastilha de KBr.

Figura 27 – Espectros de infravermelho da dispersão sólida de hidroclorotiazida 20% em polivinilpirrolidona no estado sólido, em pastilha de KBr.

Alguns trabalhos na literatura relatam que na PVP, o principal grupo disponível para formação de ligação de hidrogênio no oxigênio carbonílico (Doherty e York, 1987; Sethia e Squillante, 2004). Além disso, os resultados obtidos concordam com os apresentados por Tajber et al. (2005) que detectaram ligações de hidrogênio entre o nitrogênio do grupo sulfamílico e o oxigênio carbonílico da polivinilpirrolidona, sugerindo que os mecanismos de interação são semelhantes àqueles obtidos por spray dryer. Essa semelhança sugere que diferentes métodos de preparação das dispersões sólidas podem não resultam em diferenças nas interações fármaco-polímero.

Essa conclusão faz sentido uma vez que os princípios físicos de troca de calor e massa nos dois processos são semelhantes, é natural que a magnitude das forças coesivas permaneça constante, contribuindo para a manutenção da hidroclorotiazida no estado amorfo, na dispersão sólida com PVP, onde o fármaco se encontra disperso na forma de solução molecular, resta saber se essa estrutura contribui para o aumento da solubilidade do fármaco em meio aquoso. Portanto a etapa subsequente consistiu da padronização de um método analítico para monitorar a dissolução do fármaco em função do tempo.

4.3. QUANTIFICAÇÃO DO FÁRMACO

Um passo fundamental para responder essas perguntas consiste em determinar a solubilidade da hidroclorotiazida pura. Entretanto esse procedimento não seria possível sem a padronização de um método analítico adequado, o método escolhido foi a espectrofotometria por absorção na região do ultravioleta, uma vez que a hidroclorotiazida, em decorrência de sua estrutura rica em elétron π , absorve significativamente nessa região do espectro eletromagnético, além disso, as matrizes utilizadas nos experimentos subsequentes seriam constituídas por apenas o fármaco e o polímero. Este não apresenta absorção significativa na mesma faixa que o fármaco, proporcionando uma seletividade ao método.

Figura 28 – Espectro UV - visível de solução de hidroclorotiazida 5 µg/ mL em metanol-água (1:1).

A figura 28 apresenta o espectro da hidroclorotiazida onde foram evidenciados dois picos de absorção; um maior a 225 nm e um menor em 271 nm. O comprimento de onda escolhido para realizar as análises foi 271 nm porque no apesar do pico a 225 nm ser mais intenso, nessa região ocorre interferência significativa do solvente.

Na figura 29 se encontra representada a curva de padronização da hidroclorotiazida, onde o coeficiente de correlação foi de 0,9999 evidenciando a linearidade do método desenvolvido.

Figura 29 – Curva de padronização da hidroclorotiazida em metanol 50%, a 271 nm. Cada ponto representa a média de seis determinações.

Considerando que os modelos lineares assumem que as variâncias nos diferentes níveis de uma reta devem ser aproximadamente iguais, a hipótese foi devidamente testada pelo teste Levene e não foram consideradas significativamente diferentes, portanto não foi necessária a transformação dos dados para satisfazer essa condição. Além disso, a análise dos resíduos mostrou que os mesmos se encontram dispersos aleatoriamente por todo o intervalo de concentrações de trabalho, indicando a ausência de erro sistemático significativo (figura 30).

Figura 30 – diagrama de dispersão dos resíduos referentes à regressão da curva de padronização da hidroclorotiazida em metanol 50%, a 271 nm.

Outros parâmetros de desempenho do método a ser avaliado foram: o limite de detecção e o limite de quantificação, para saber se as concentrações obtidas a partir dos experimentos de dissolução se encontravam dentro da faixa de trabalho do método. Desse modo, o método analítico foi considerado satisfatório para a análise do fármaco na determinação do perfil de dissolução das diferentes formulações.

4.4. SOLUBILIDADE E DISSOLUÇÃO

A partir do método padronizado foi determinada a solubilidade da hidroclorotiazida em água, principalmente para estabelecer as condições *sink* necessárias para se determinar o perfil de dissolução do fármaco puro e na presença do polímero em misturas físicas e dispersões sólidas, os resultados obtidos foram apresentados na tabela 3. Portanto, foi realizada a determinação da solubilidade das misturas físicas após 6 horas de agitação. Essa concentração de saturação tem duas finalidades: a primeira está relacionada é orientar as condições experimentais adequadas para determinar o perfil de solubilidade; e a segunda se trata efetivamente de possibilitar o estudo de modelos capazes de descrever a cinética de dissolução do fármaco.

Tabela 3 – Solubilidade, em água, após 6 horas de agitação a 37 °C de misturas físicas de hidroclorotiazida e PVP com diferentes composições ponderais.

% de hidroclorotiazida	Solubilidade (mg/mL)
100	0,764
10	1,93*
20	1,10*
30	0,92*
40	0,94*

Cada valor da solubilidade representa a média de cinco experimentos $\pm$ desvio padrão.

* Estatisticamente diferente da solubilidade do fármaco puro com $P < 0.05$.

A partir da tabela 3, pode-se sugerir que a presença da PVP K30 aumentou significativamente a solubilidade da hidroclorotiazida. É importante ressaltar que apenas não houve diferença estatisticamente significativa entre as misturas com 30 e 40% de hidroclorotiazida. Portanto a PVP exerce um efeito crescente de promoção da solubilidade do fármaco, até uma proporção de 70%, a partir de então, o polímero o efeito facilitatório da solubilização estabiliza. Esse fato pode estar relacionado com o processo de umectação do fármaco pelo polímero. Os experimentos foram baseados nas observações de Baka, Comer, e Takács-Novák, 2007; que encontraram valores encontrados para a solubilidade da hidroclorotiazida e mostraram que quatro horas eram suficientes para provocar a dissolução máxima do fármaco.

Tendo sido determinada a solubilidade da hidroclorotiazida em água, na presença e na ausência de PVP K30, foram realizados os experimentos de dissolução, com o intuito de estudar os aspectos cinéticos do processo.

Observando a figura 31 pode – se ainda concluir que a dissolução do fármaco é crescente nas duas primeiras horas estabilizando a partir de então. O resultado obtido é coerente com os dados apresentados por Kasim et al. (2003) caracterizando o fármaco como pobremente solúvel em água. Considerando que os dados de difração de raios X e de análise térmica indicam que o fármaco cristalizou sob uma forma diferente do material de partida, também foi realizada a curva de dissolução do fármaco recristalizado em rotaevaporador.

Apesar dos resultados indicarem que se trata de produtos com hábitos cristalinos diferentes, não foram observadas diferenças no perfil de dissolução. É interessante notar que os difratogramas, embora possuam os mesmos picos distribuição de tamanhos de partículas, apresentam intensidades relativas distintas, sugerindo que parâmetros como distribuição de densidade eletrônica e área de superfície se mantêm mesmo após o processamento do fármaco.

Um dado que reforça essa hipótese provém da análise por infravermelho, onde também não foram detectadas alterações no espectro de infravermelho da hidroclorotiazida recristalizada, quando comparados com aqueles obtidos com o material de partida não processado (dados não mostrados). Portanto, serão necessários trabalhos posteriores envolvendo técnicas mais sensíveis e possivelmente métodos computacionais para elucidar estruturalmente as mudanças que sofre a hidroclorotiazida, após a recristalização por rotaevaporação e por spray dryer.

Figura 31 – Curva de dissolução da hidroclorotiazida padrão e cristalizada em rotaevaporador. Cada ponto representa a média de cinco determinações.

Considerando que a dissolução da hidroclorotiazida pura em etanol, seguida da evaporação do solvente, não seja suficiente para suprimir a cristalinidade do fármaco, tampouco alterar a sua solubilidade em água, foram obtidas as curvas de dissolução de dispersões sólidas e paralelamente as curvas de dissolução das misturas físicas para tentar elucidar o modelo de liberação do fármaco. Os resultados obtidos foram apresentados na forma de gráfico na figura 32.

Pode-se observar que as dispersões sólidas, a quantidade total de fármaco dissolvido é aumentada em relação às misturas físicas, além disso, a velocidade de dissolução nas dispersões sólidas é sempre maior que nas misturas físicas.

Quando se compara o efeito da composição das dispersões sólidas sobre a dissolução da hidroclorotiazida, se observa que quanto maior a concentração do fármaco, menor a taxa de dissolução, evidenciada pela inclinação da curva

Figura 32 – Curva de dissolução da hidroclorotiazida em misturas físicas (MF) e dispersões sólidas (DS), com 10%, 20% e 40% do fármaco. Cada ponto representa a média de cinco determinações.

Quando esses dados são confrontados com os resultados obtidos nos experimentos anteriores pode-se afirmar que esse aumento da solubilidade do fármaco, deve-se pelo menos em parte à manutenção do estado amorfo por ligações de hidrogênio, que contribui para aumentar a desordem na estrutura do sólido, mas também aumentar-lhe a energia interna.

Uma abordagem mecanística capaz de descrever esse fenômeno pode ser fundamentada no modelo apresentado por Corrigan (1986) que propôs uma explicação em que o aumento na concentração do fármaco retarda a dissolução do polímero, e desse modo limita a velocidade de dissolução da preparação como um todo.

Acrescente-se a isso o incremento na umectância proporcionado pelo polímero, que pode ser evidenciado pelo fato do polímero promover também o aumento na solubilidade do fármaco na mistura física, o que reforça a idéia de que mais que um mecanismo contribui para o aumento da solubilidade do fármaco.

5. CONCLUSÃO

A estrutura de sistemas sólidos dispersos pode ser avaliada por técnicas de análise térmica, como a calorimetria diferencial exploratória. Geralmente os sistemas sólidos amorfos podem ser classificados em três tipos:

O primeiro tipo consiste de soluções sólidas completamente amorfas constituídas por um polímero amorfo em que o fármaco é distribuído em nível molecular, onde a probabilidade de se encontrar uma molécula do fármaco por toda a extensão da matriz polimérica é uniforme. Nesse tipo de dispersões sólidas se observa somente uma temperatura de transição vítrea.

O segundo tipo é uma suspensão totalmente amorfa em que a droga é dispersa na matriz polimérica na forma de agregados amorfos e, portanto são sistemas bifásicos com duas diferentes temperaturas de transição vítrea, sendo uma do polímero e a outra do fármaco.

O terceiro tipo consiste de uma combinação dos dois anteriores onde se encontram duas fases, sendo uma constituída por agregados amorfos do fármaco e a outra fase é composta por um carreador, onde o fármaco se encontra disperso em níveis moleculares.

Geralmente a T_g de uma dispersão sólida homogênea situa-se entre as respectivas temperaturas do fármaco e do polímero, como é descrita na equação de Gordon e Taylor, onde um bom ajuste entre a equação e os dados obtidos experimentalmente indica uma mistura ideal como é o caso das dispersões sólidas obtidas nesse trabalho (Hancock, York e Rowe, 1997).

Com base nos resultados obtidos, pode – se concluir que a formulação de dispersões sólidas de hidroclorotiazida em PVP, pelo método da evaporação do solvente, contribui para o aumento da solubilidade do fármaco em água através da formação de uma solução sólida amorfas, que mantém o sistema estável através de ligações de hidrogênio e de um efeito plastificante, de forma semelhante ao efeito exercido pelo polietileno glicol 6000 sobre benzodiazepínicos (Verheyen et al., 2002).

Finalmente essas formulações podem servir para o desenvolvimento de novas apresentações farmacêuticas que inclusive utilizem menores teores do fármaco, balizando modificações nos esquemas posológicos vigentes. Para tanto, seria necessária a realização de ensaios de biodisponibilidade e estudos de correlação *in vitro* / *in vivo*.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ACEVES – HERNANDEZ J.M.; AGACINO – VALDÉS E.; PAZ M.; HINOJOSA – TORRES J. Experimental and theoretical study of the conformational analysis of hydrochlorothiazide. *J. Mol. Struct.* 2006, vol. 786, p.1 – 8.

AMIDON G.L.; LENNERNÄS H.; SHAH V.P.; CRISON J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutical classification: The correlation in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharm. Res.* 1995, vol. 15, p.413 – 420.

BLOCH D.W.; SPEISER P.P. Solid dispersions – Fundamentals and examples. *Pharm. Acta Helv.* 1987. 62, 23 – 27.

BUCKTON G.; ADENIYI A. A.; SAUNDERS M.; AMBARKHANE A. HyperDSC studies of amorphous polyvinylpyrrolidone in a model wet granulation system. *Int. J.Pharm.*, 2006, vol. 302, p. 61 – 65.

CHEMTOB C.; CHAUMELL J.C.; BRADLEY F.; MALLY F. Dispersions solides: rôle du protocole de fabrication sur leurs caractéristiques physico – chimiques et étude du vieillissement. *Pharm. Acta Helv.* 1987, vol. 62, p.121 – 128.

CHIOU W.L.; RIEGELMAN S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. *J. Pharm. Sci.* 1971, vol. 60, p. 1281 – 1302.

CHIOU W.L.; NIAZI S. Differential thermal analysis and X – Ray diffraction studies of griseofulvin – succinic acid solid dispersions. *J. Pharm. Sci.* 1973, vol. 62, p. 498 – 501.

CORRIGAN O.I. Retardation of polymeric Carrier dissolution of dispersed drugs: Factors influencing the dissolution of solid dispersions containing polyethylene glycols. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 1983, vol. 9, p 1- 20

CORRIGAN O.I.; HOLOHAN E.M.; SABRA K. Amorphous forms of thiazide diuretics prepared by spray drying. *Int. J. Pharm.* 1986, vol. 12, p. 1777 – 1793.

CORRIGAN O.I.; SABRA K.; HOLOHAN E.M. Physicochemical properties of spray dried drugs: Phenobarbitone and hydroflumethiazide. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 1983, vol. 9, p 1- 20.

CORRIGAN O.I.; TIMONEY R.F. The influence of polyvinylpyrrolidone on the dissolution properties of hydroflumethiazide. *J. Pharm. Pharmac.*, 1975, vol. 27, p. 759 – 764.

CORRIGAN O.I., TIMONEY R.F. e WHELAN M.J. The influence of polyvinylpyrrolidone on the dissolution and bioavailability of hydrochlorothiazide. *J. Pharm. Pharmac.*, 1976, vol. 28, p. 703 – 706.

COVERLEYN S.; REMON J.P. Bioavailability of hydrochlorothiazide: Conventional versus freeze dried tablets. *Int. J. Pharm.* 1998, vol. 173, p. 149 – 155.

CRAIG D.M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water – soluble polymers. *Int. J. Pharm.* 2002, vol. 231, p. 131 – 144.

DESAI D.S.; RUBITSKI B.A.; VARIA S.A. ; JAIN N.B. Povidone and poloxamer mediated degradation of hydrochlorothiazide in an antihypertensive combination tablet product., *Int. J. Pharm.*, 1996, vol. 142, p. 61 – 66.

De STEVENS G.; WERNER L.H.; HALAMANDARIS A.; RICCA JR. S.

Dihydrobenzothiadiazine dioxides with potent diuretic effects. *Experientia*. 1958, vol. 14, p. 463.

DOHERTY C. ; YORK P. Evidence for solid and liquid state interactions in a furosemide – polyvinylpyrrolidone solid dispersion. *J. Pharm. Sci.* 1987, vol. 76, p. 731 – 737.

DUPONT, L.; DIDEBERG, O. Structure cristallographica de l'hydrochlorothiazide, C₇H₈ClN₃O₄S₂. *Acta Cryst. B*, 1972, vol.28, p. 2340–2347.

EL – BANNA H.M.; EL – GHOLMY Z.A.; HAMMOUDA Y. Phase diagram and dissolution rate studies on hydrochlorothiazide – urea solid dispersions. *Pharm. Acta Helv.*, 1986, vol. 61, p. 69 – 88.

FLORENCE A.; JOHNSTON A; FERNANDES P.; SHANKLAND K.; STEVENS H.N.E.; OSMUNDSEN S.; MULLEN A.B. Powder study of hydrochlorothiazide form II. *Acta Cryst. E.*, 2005, vol. 61, p. 2798 – 2800.

FORD J.L. The current status of solid dispersions. *Pharm. Acta Helv.*, 1980, vol. 55, p. 244 – 248.

GUPTA P.; CHAWLA G.; BANSAL A.K. Physical stability and solubility advantage from amorphous celecoxib; The role of thermodynamic quantities and molecular mobility. *Mol. Pharm.* 2004, vol. 1, p. 406 – 413.

GUPTA P.; THILAGAVATHI R.; CHAKRABORTI A.K; BANSAL A.K. Role of molecular interaction in stability of celecoxib – PVP amorphous systems. *Mol. Pharm.* 2005. vol. 2: 384 – 391.

HARDMAN W. E LIMBIRD J. **The Goodman and Gilman's pharmacological basis of therapeutic.** McGraw Hill 10^a ed. 2001.

HANCOCK B.C.; YORK P.; ROWE R.C. The use of solubility parameters in pharmaceutical dosage form design. *Int. J. Pharm.*, 1997, vol.148, p. 1 –21.

HIXSON A.W.; CROWELL J.H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *J. Ind. Eng. Chem.*, 1931, vol. 23, p. 923 – 931.

HO H.; SU H.; TSAI T.; SHEU M. The preparation and characterization of solid dispersions on pellets using a fluidized bed system. *Int. J. Pharm.*, 1996, vol.139, p. 223 – 229.

KAKUMANU V.K.; BANSAL A.K. Enthalpy relaxation studies of celecoxib amorphous mixtures. *Pharm. Res.*, 2002, vol.19, p.1873 – 1878.

KASIM N.A.; WHITEHOUSE M.; RAMACHANDRAN C.; BERMEJO M.; LENNERNÄS H.; HUSSAIN A.S.; JUNGINGER H.E.; STAVSHANSKY S.A.; MIDHA K.K; SHAH V.P.; AMIDON G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol. Pharmacol*, 2003, vol.1, p. 85 – 96.

KOUNTERELLIS F.A.; MARKOPOLOU C.K. X – ray characterization of 12 diurectics. *J. Chem. Eng. Data.*, 1992, vol. 37, p.187 – 191.

LEUNER C.; DRESSMAN J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. *Eur. J.Pharm. Biopharm.*, 2000, vol. 50, p. 47 – 60.

LIN C.W.; CHAM T.M., Effect of particle size on the available surface area of nifedipine from nifedipine – polyethylene glycol 6000 solid dispersions. *Int. J. Pharm.*, 1996, vol. 127, p. 261 – 271.

LIVERSIDGE G.G.; CUNDY K.C. Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. *Int. J. Pharm.*, 1995, vol. 125, p. 91 – 97.

LÖBENBERG R. ; AMIDON G.A. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standards. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 2000, vol. 50, p.: 3 – 12.

MATSUMOTO T.; ZOGRAFI G. Physical properties of solid molecular dispersions of indomethacin with polyvinylpyrrolidone and polyvinylpyrrolidone – co – vinyl – acetate in relation to indomethacin crystallization. *Pharm. Res.*, 1999, vol.16, p.1722 – 1728.

MENON D.; EL – RIES M.; ALEXANDER K.S.; RIGA A.; DOLLIMORE D. A thermal analysis study of the decomposition of hydrochlorothiazide. *Instrum. Sci. Technol.*, 2002, vol. 30, p.329 – 340.

NAJIB N.M.; EL – HINNAWI M.A; SULEIMAN M.S. Physicolchemical characterization of ibuprofen – polyvinylpirrolidone dispersions. *Int. J. Pharm.*, 1988, vol.45, p.139 – 144.

NOYES A. A.; WHITNEY W.R. The rate of solution of solid substances in their own solutions. *J. Am. Chem. Soc.* 1897, vol.19, p. 930 – 934.

OSTER G.; IMMERGUT E.H. Ultraviolet and infrared spectral studies of polyvinylpyrrolidone. *J. Pharm. Sci.* 1954, vol. 76, p.1393 – 1396.

PORKHARKAR B.B., MANDPE L.P., PADAMWAR M.N., AMBIKE A.A., MAHADIK K.R. E PARADKAR A. Development, characteriaztions and stabilization of amorphous form of a low Tg drug. *Powder Technol.* 2006, vol. 167, p. 20 – 25.

SEKIGUCHI S.; OBI N. Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that ordinary sulfathiazole in man. *Chem Pharm. Bull.* 1961, vol. 9, p. 866 – 872.

SERAJUDDIN A.T.M. Solid dispersion of poorly water soluble drugs: Early promises, subsequent problems and recent breakthroughs. *J. Pharm. Sci.* 1999, vol. 88, p. 1058 – 1066.

SETHIA. S; SQUILLANTE E. Solid dispersion of carbamazepine in PVP K30 by conventional solvent evaporation and supercritical methods. *Int. J. Pharm.* 1996, 143, p. 59 – 66.

SPROCKEL O.L.; SEN M.; SHIVANAND P.; PRAPAITRAKUL W. A melt extrusion process for manufacturing matrix drug delivery system. . *Int. J. Pharm.* 1997, vol. 155, p. 191 – 199.

SUGIMOTO M.; OKAGAKI T.; NARISAWA S.; KOIDA Y.; NAKAJIMA K. Improvement of dissolution characteristics and bioavailability of poorly water soluble drugs

by novel cogrinding method using water soluble polymer. *Int. J. Pharm.*, p. 1998. 160: 11 – 19.

TAJBER L.; CORRIGAN O.I.; HEALY A.M. Physicochemical evaluation of PVP – thiazide diuretic interactions in co – spray – dried composites – analysis of glass transition composition relationships. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2005, vol. 24, p. 553 – 563.

TANTISHAYAKUL V.; KAEWNOPPARAT N.; INGKATAWORNWONG S. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone K – 30. *Int. J. Pharm.*, 1996, vol. 143, p. 59 – 66.

TAYLOR L.S.; ZOGRAFI G. Spectroscopic characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm. Res.* 1997, vol. 14, p. 1691 – 1698.

VAN DEN MOOTER G.; WUYTS M.; BLATON N.; BUSSON R.; GROBET P.; AUGUSTIJNS P.; KINGET R. Physical stabilisation of amorphous ketoconazole in solid dispersions with polyvinylpyrrolidone K25. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 2001, vol. 12, p. 261 – 269.

VAN DROOGE D.J.; HINRICHS W.L.J.; VISSER M.R. H.W.; FRIJLINK H.W. Characterization of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersions at nano – meter scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques. *Int. J. Pharm.* 2006, vol. 310, p. 220 – 229.

VERHEYEN S.; BLATON N.; KINGET R.; VAN DEN MOOTER G. Mechanism of increased dissolution of diazepam and temazepam from polyethylene glycol 6000 solid dispersions. *Int. J. Pharm.* 2002, vol. 249, p. 45 – 58.

WERNER L.H.; HALAMANDARIS A.; RICCA JR. S.; DORFMAN L.; De STEVENS G. Dihydrobenzothiadiazine and their diuretic properties. *J. Am. Chem. Soc.* 1960, vol. 82: 1161 – 1166.

WULFF M.; ALDÉN M.; CRAIG D.Q.M. An investigation into critical surfactant concentration for solid solubility of hydrophobic drug in different polyethylene glycols. *Int. J. Pharm.*, 1996, vol. 142, p.189 - 198

YAMASHITA K., NAKATE T., OKIMOTO K., OHIKE A., TOKUNAGA Y, IBUKI R, HIGAKI K e KIMURA T. Establishment of new preparation method for solid dispersion formulation of tacrolimus. *Int. J. Pharm.* 2003, vol. 267, p.79 – 91.

YU L. Amorphous pharmaceutical solids: preparation, characterization and stabilization. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 2001, vol. 48, p. 27 – 42.