UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

**Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam
por *spray congealing***

Simone Vieira Pereira

Ribeirão Preto
2012

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS DE RIBEIRÃO PRETO

Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam
por *spray congealing*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de Concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientada: Simone Vieira Pereira

Orientador: Prof. Dr. Luis Alexandre Pedro de Freitas

Ribeirão Preto

2012

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.

Simone Vieira Pereira

Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam por *spray congealing*.

137 p.: Il.; 30cm.

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos

Orientador: Freitas, Luis Alexandre Pedro de

1. Antiinflamatório 2. Solubilidade 3. Ultrassom 4. Analise térmica
5. *Spray congealing*

FOLHA DE APROVAÇÃO

Simone Vieira Pereira

Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam por *spray congealing*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Área de concentração: Medicamentos e Cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Luis Alexandre Pedro de Freitas

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____ Assinatura: _____

Dedicatória

Dedico, às duas pessoas mais especiais em minha vida, meus pais, Edna e Valmir. Eles sempre estiveram ao meu lado, fazendo o possível e o impossível para que meus sonhos se realizassem.

Ao meu irmão, Rodrigo, pela amizade, paciência, amor, carinho e incentivo.

Ao meu namorado, Fábio, por todo amor, compreensão e dedicação.

Agradecimentos

À Deus pela dádiva da vida e por me guiar e me ensinar a vencer os obstáculos ao invés de parar diante deles.

Aos meus pais, Edna e Valmir, pelo amor incondicional, incentivo, apoio e presença constante em minha vida. Eles me deram a vida e me ensinaram a vivê-la com honestidade, dignidade e sinceridade. Foram sempre meus melhores amigos, a base da minha vida, meu porto seguro.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Luis Alexandre Pedro de Freitas, pelos valiosos ensinamentos, palavras sábias, atenção, paciência, confiança e amizade.

Ao meu irmão, Rodrigo, pelo amor, amizade sincera e ajuda sempre que precisei. Digo, obrigada pela força que você sempre me deu. Por passar comigo noites em claro e por me ouvir durante horas.

Ao meu namorado, Fábio, pelo amor, carinho, paciência e dedicação. Por estar sempre ao meu lado, me ajudando e me confortando com suas palavras sábias.

Aos meus avós e toda a minha família que mesmo longe sempre me apoiaram e torceram por mim.

Às amigas de vários anos, Juliana Maria, Marcela Alvarenga, Carolzinha, Franciane e Maria Augusta, por estarem comigo a tantos anos, dividindo grandes e importantes momentos. Obrigada meninas pelo amor, apoio, força, dedicação, compreensão e amizade.

Aos meus amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Física Industrial: Bia, Luciana, Marcela, Ana Rita, Tâmara, Rodrigo e Wellington pela amizade e ajuda durante todos estes anos.

Às minhas amigas e companheiras de república, Daiane, Mariana, Madeleine, Nayara e Violeta, pelos grandes momentos compartilhados juntas e por terem se tornado grandes amigas.

Aos técnicos de laboratório da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto por toda a ajuda na execução deste trabalho. Agradeço em especial ao Luiz Henrique Cenzi, que além de sempre me ajudar se tornou um grande amigo e colega de trabalho.

Aos funcionários da seção de pós-graduação da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Eleni, Rafael e Rosana, pela dedicação, ajuda e assistência.

À Fundação Ezequiel Dias (FUNED), em especial, à Jamile, pela amizade e pela disponibilidade e ajuda nos estudos de DSC.

Aos professores, Guilherme Martins Gelfuso, Marilisa Guimarães Lara e Cristiane Masetto Gaitani, pelas valiosas sugestões e dicas que contribuíram para o enriquecimento e melhoria deste trabalho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo auxílio financeiro concedido.

À todos, que direta ou indiretamente, participaram desta etapa e contribuíram para a realização deste trabalho,

Muito Obrigada!

*"É bom olhar pra trás
e admirar a vida que soubemos fazer
É bom olhar pra frente, é bom nunca é igual."*

Nando Reis

RESUMO

PEREIRA, S. V. **Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam por *spray congealing***. 2012. 137f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

O piroxicam (PRX) é um antiinflamatório não esteroide com propriedades analgésicas, antiinflamatórias e antipiréticas pertencente à classe II do SCB. Fármacos desta classe apresentam como etapa limitante da sua absorção a sua dissolução, uma vez que possuem baixa solubilidade e alta permeabilidade. Assim, o aumento da solubilidade e da taxa de dissolução do PRX promoveria um aumento da absorção e biodisponibilidade deste fármaco. Várias técnicas tem sido utilizadas para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis. Dentre estas a dispersão sólida, é uma das mais eficazes. Apesar de existirem vários métodos para o preparo de dispersões sólidas, o *spray congealing* é uma técnica muito vantajosa que vem cada vez mais ganhando atenção. O objetivo do presente estudo foi produzir e avaliar dispersões sólidas de PRX utilizando diferentes carreadores, a fim de escolher aquela que, além de aumentar a solubilidade deste fármaco, fosse a mais adequada para a produção de micropartículas de PRX por *spray congealing*. As dispersões sólidas foram produzidas pelo método da fusão, na presença e ausência de um sonificador/misturador ultrassônico. Para avaliar a influência da mistura ultrassônica na solubilidade do PRX foi utilizado um planejamento fatorial completo onde as variáveis estudadas foram o tempo e a potência da sonicção. Foram produzidas dispersões sólidas contendo 10, 15 e 20% (m/m) de PRX utilizando diferentes carreadores. Todas as dispersões sólidas promoveram um aumento significativo na solubilidade do PRX em relação ao fármaco puro. A dispersão sólida de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (1:8:1) sonicada por 10 minutos e 475 W de potência foi a escolhida para a produção das micropartículas por *spray congealing*, pois apresentou uma solubilidade 4 vezes maior que a do PRX puro, além de ter mostrado uma taxa de dissolução maior e mais rápida que o fármaco puro. As micropartículas produzidas por *spray congealing* foram obtidas utilizando um planejamento fatorial Box-Benhken, onde as variáveis estudadas foram: temperatura da dispersão de PRX no carreador, porcentagem de Poloxamer 407 presente na amostra e vazão de atomização da dispersão. As análises de difração de raios-X, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial e infravermelho das amostras mostraram que não houve degradação do fármaco durante o processo e que a temperatura e a sonicção da dispersão durante sua produção, possivelmente promovem a formação da forma II do PRX além uma maior interação entre o PRX e os carreadores. As micropartículas apresentaram forma irregular, diâmetro médio de 72,365 a 120,628 μm , fluxo de excelente a moderado, teor de fármaco entre 77,5 e 99,2 % e solubilidade 2,5 a 5,4 vezes maior que o PRX puro. As análises estatísticas mostraram que as variáveis estudadas pelo planejamento fatorial Box-Behnken aplicado no *spray congealing*, influenciaram no Índice de Carr, Fator de Hausner e solubilidade destas micropartículas, mas não exerceram influência sobre o ângulo de repouso, teor de fármaco e diâmetro médio das mesmas. Os perfis de dissolução obtidos para as micropartículas mostraram um aumento na velocidade e na taxa de dissolução do PRX quando comparado com o fármaco puro e as misturas físicas e dispersões sólidas do mesmo. Diante desses resultados pode-se concluir que a técnica de *spray congealing* apresentou resultados muito bons, sendo uma técnica eficiente, rápida e muito promissora para a preparação de dispersões sólidas microparticuladas que visam o aumento da solubilidade e dissolução de fármacos pouco solúveis.

Palavras-chave: Antiinflamatório, Solubilidade, Ultrassom, Análise térmica, *Spray congealing*

ABSTRACT

PEREIRA, S. V. **Preparation of piroxicam microparticulated solid dispersions by spray congealing**. 2012. 137f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

Piroxicam (PRX) is a non-steroidal anti-inflammatory drug that presents low solubility but high permeability. When administered orally, drugs of this nature have their absorption limited by their dissolution. By increasing the solubility of PRX it is possible to increase its bioavailability. Several techniques have been proposed to increase the solubility of low-solubility drugs. Among these techniques, solid dispersions have been the most successful. There are several ways to make solid dispersions. Spray congealing has gained attention as a very advantageous method for fabricating solid dispersions. The current work was aimed at producing and characterizing PRX solid dispersions made by spray congealing. In order to do this, several candidates for forming the melt for spray congealing were studied. Solid dispersions made using the fusion method to analyze the effect on the solubility of PRX. The influence of the use of an ultrasonic probe was also studied on the solubility of PRX was also studied. The mixture PRX, PEG 4000 and Poloxamer 407 in a ratio of 1:8:1 was chosen to use with the spray congealing method. It was also determined that the use of a 500W ultrasonic mixer at 95% of capacity during 10 minutes had positive results on the solubility of PRX. The resulting solid dispersions using the ultrasonic mixer had a solubility 4 times greater than pure PRX. Micro-particles of the PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 melt were fabricated varying the dispersion temperature, Poloxamer 407 content and melt flow. The influence of the variables was studied using a Box-Benhken factorial design. X-Ray diffraction, thermal gravimetric analysis, differential scanning calorimetry and infrared analysis of the samples were used to show that the fabrication process, including ultrasonic mixture, do not degrade the drug. The process does, however, promote the formation of a second form of PRX and a higher interaction between the drug and the polymers. The resulting micro-particles had irregular shapes and average diameter from 72 to 120 μm . They also presented moderate to excellent flowability, drug content between 77.5 to 99.2% and an increase in solubility between 2.5 and 5.4 times when compared to pure PRX. Statistical analysis shows that the variables analyzed using the Box-Behnken factorial design had a statistically significant influence over the Carr index and the Hausner ratio as well as over the solubility of the micro-particles. The variables, however, had no effect over the angle of repose, drug content and average particle diameter. The measured dissolution profiles show an increase in the speed and ratio of dissolution of PRX when compared to the pure drug, physical mixtures and solid dispersions made by the fusion method. From these results one can conclude that spray congealing is a fast, efficient and promising technique for the fabrication of micro-particulate solid dispersions that aim to increase solubility and dissolution of a low-solubility drug.

Key-words: Anti-inflammatory, Solubility, Ultrasound, Thermal analysis, Spray congealing

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fórmula estrutural do Piroxicam (USP 30, 2007).....	29
Figura 2. Micrografias ópticas de cristais das formas polimórficas I e II do PRX (ROCHA; POPPI, 2010).....	30
Figura 3. Difrátogramas de raios-X de pó das formas cristalina do PRX: (1) forma I, (2) forma II e (3) forma III (ROCHA; POPPI, 2010).....	31
Figura 4. Fórmula estrutural do polietilenoglicol (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005)	37
Figura 5. Fórmula estrutural do poloxamer (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005).	39
Figura 6. Esquema do processo de <i>spray congealing</i>	44
Figura 7. Representação esquemática dos pontos do planejamento Box-Benhken no cubo multidimensional (modificado de FERREIRA et al., 2007).	49
Figura 8. Esquema da homogeneização com sonicator ultrassônico.....	59
Figura 9. Esquema representativo para medida do ângulo de repouso (MARTINS, 2010)	64
Figura 10. Curva de calibração do piroxicam em água e em meio gástrico simulado sem pepsina por espectrofotometria UV-Vis em 359 e 333 nm.	72
Figura 11. Solubilidade em água do piroxicam, em µg/mL, presente nas dispersões sólidas e misturas físicas deste fármaco em comparação com o fármaco puro. Pol.80 - Polissorbato 80. Pol.407 - Poloxamer 407. *100% de potência corresponde a 500 Watts.....	77
Figura 12. Solubilidade de dispersões sólidas de PRX em função do tempo e da potência da sonicação. Exp - experimentos referentes ao planejamento fatorial aplicado no sonicator ultrassônico.....	77
Figura 13. Gráfico de superfície de resposta da solubilidade das dispersões sólidas em função do tempo e da potência da sonicação.....	78
Figura 14. Difrátograma comparativo do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL), mistura física (MF), dispersão sólida sem o uso do sonicator (DS) e dispersão sólida sonicada a 95% de potência por 10 minutos (DSS), produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG4000:Poloxamer407.	80
Figura 15. Curva termogravimétrica do PRX.....	81
Figura 16. Curva termogravimétrica do PEG 4000.....	82
Figura 17. Curva termogravimétrica do Poloxamer 407.	82
Figura 18. Curvas termogravimétricas comparativas do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL), mistura física (MF), dispersão sólida sem o uso do sonicator (DS) e dispersão sólida sonicada por 10 minutos à 95% de potência (DSS) produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG4000:Poloxamer407.....	83

Figura 19. Termograma do PRX obtido por DSC.	84
Figura 20. Termograma do PEG 4000 obtido por DSC.	85
Figura 21. Termograma do Poloxamer 407 obtido por DSC.	86
Figura 22. Termograma obtido por DSC da mistura física de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.	86
Figura 23. Termograma obtido por DSC da dispersão sólida sem uso de sonicator (curva 1) e da dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência (curva 2), produzidas com PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.	87
Figura 24. Espectro de vibração de infravermelho do PRX.	89
Figura 25. Espectro de vibração de infravermelho do PEG 4000.	90
Figura 26. Espectro de vibração de infravermelho do Poloxamer 407.	90
Figura 27. Espectro de vibração de infravermelho da mistura física de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.	91
Figura 28. Espectro de vibração de infravermelho da dispersão sólida de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de (1:8:1) produzida sem a utilização do sonicator ultrassônico.	92
Figura 29. Espectro de vibração de infravermelho da dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência produzida com PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.	92
Figura 30. Fotomicrografias do PRX obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Aumento de 500 vezes (A) 1000 vezes (B) e 3000 vezes (C).	93
Figura 31. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da dispersão sólida de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de (1:8:1) produzida sem a utilização do sonicator ultrassônico. Aumento de 500 vezes (A) e 1000 vezes (B).	94
Figura 32. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da dispersão sólida sonicada (por 10 minutos e 95% de potência) de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1. Aumento de 500 vezes (A) e 1000 vezes (B).	94
Figura 33. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> em meio gástrico simulado sem pepsina. PRX - piroxicam puro. MF - mistura física. DS - dispersão sólida sem o uso do sonicator. DSS - dispersão sólida sonicada a 95% de potência por 10 minutos. Os valores representados média da sextuplicata $\pm$ desvio padrão.	95
Figura 34. Distribuição granulométrica das micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.	99
Figura 35. Solubilidade em água do piroxicam, em $\mu\text{g/mL}$, presente nas micropartículas referentes aos 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken, usado na técnica de <i>spray congealing</i> (EXP 1 a EXP 15) em comparação com a solubilidade deste fármaco puro (PRX).	104

Figura 36. Gráfico de superfície de resposta do Índice de Carr (IC) em função da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL) e da temperatura da dispersão (TD).....	107
Figura 37. Gráfico de superfície de resposta do Índice de Carr(IC) em função da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (POL) e da vazão de atomização da dispersão (VAD).	107
Figura 38. Gráfico de superfície de resposta do Fator de Hausner (FH) em função da vazão de atomização da dispersão (VAD) e da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL).	109
Figura 39. Gráfico de superfície de resposta da solubilidade das micropartículas em função da temperatura da dispersão de piroxicam no carreador (TD) e da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL).	111
Figura 40. Difratoograma comparativo do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp 1), 4 (Exp 4), 7 (Exp 7), 8 (Exp 8), 10 (Exp 10) e 15 (Exp 15) do planejamento fatorial Box-Behnken.....	112
Figura 41. Curvas termogravimétricas comparativas do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp 1), 4 (Exp 4), 7 (Exp 7), 8 (Exp 8), 10 (Exp 10) e 15 (Exp 15) do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no <i>spray congealing</i>	113
Figura 42. Termograma obtido por DSC das micropartículas referentes aos experimentos 1 (curva 1), 4 (curva 2), 7 (curva 3), 8 (curva 4), 10 (curva 5) e 15 (curva 6) do planejamento fatorial Box-Behnken.	115
Figura 43. Espectro de vibração de infravermelho das micropartículas referentes aos experimentos 1 (curva 1), 4 (curva 2), 7 (curva 3), 8 (curva 4), 10 (curva 5) e 15 (curva 6) do planejamento fatorial Box-Behnken.....	116
Figura 44. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 1 (1A e 1B) e 7 (7A e 7B). Aumento de 1000 vezes (1A e 7A) e 3000 vezes (1B e 7B).	118
Figura 45. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 4 (4A e 4B) e 8 (8A e 8B). Aumento de 1000 vezes (4A e 8A) e 3000 vezes (4B e 8B).	119
Figura 46. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 10 (10A e 10B) e 15 (15A e 15B). Aumento de 1000 vezes (10A e 15A) e 3000 vezes (10B e 15B).	119
Figura 47. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> comparativo do piroxicam (PRX) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp1), 4 (Exp4), 7 (Exp7), 8 (Exp8), 10 (Exp10) e 15 (Exp15) do planejamento fatorial Box-Behnken. A dissolução foi realizada em meio gástrico simulado sem pepsina e os valores representam média da sextuplicata $\pm$ desvio padrão.....	120

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sistema de Classificação Biofarmacêutico (AMIDON et al.,1995).	33
Tabela 2. Planejamento fatorial para produção de dispersões sólidas utilizando o sonificador ultrassônico.	60
Tabela 3. Parâmetros do processo de <i>spray congealing</i> com valores fixos.....	60
Tabela 4. Planejamento fatorial do tipo Box-Behnken para a produção das dispersões sólidas microparticuladas de PRX por <i>spray congealing</i>	61
Tabela 5. Propriedade de fluxo conforme ângulo de repouso (USP 30, 2007).	65
Tabela 6. Propriedade de fluxo com relação ao Índice de Carr e Fator de Hausner (USP 30, 2007).	66
Tabela 7. Análise da precisão e exatidão intra e inter-corrida do método analítico de quantificação do PRX em água por espectrofotometria UV-Vis em 359 nm.	73
Tabela 8. Análise da precisão e exatidão intra e inter-corrida do método analítico de quantificação do PRX em meio gástrico simulado sem pepsina por espectrofotometria UV-Vis em 333 nm.	74
Tabela 9. Análise estatística da solubilidade do PRX em água em função do tempo e da potência da sonicação.	78
Tabela 10. Dados da termogravimetria do fármaco e polímeros isolados e das dispersões sólidas e misturas física produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX PEG 4000:Poloxamer 407	83
Tabela 11. Dados dos perfis calorimétricos das dispersões sólidas e misturas física produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX PEG 4000:Poloxamer 407 e do fármaco e polímeros isolados	88
Tabela 12. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> em meio gástrico simulado sem pepsina do PRX puro e das dispersões sólidas e misturas física produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407.	95
Tabela 13. Valores do diâmetro médio (D_{50}) obtidos para as micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.	98
Tabela 14. Valores de ângulo de repouso obtidos para as micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.	100
Tabela 15. Densidades aparente e compactada, Índice de Carr e Fator de Hausner das micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.	101
Tabela 16. Teor de fármaco presente nas micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.	102

Tabela 17. Solubilidade do PRX presente nas micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i> utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.	103
Tabela 18. Análise estatística do diâmetro médio das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	105
Tabela 19. Análise estatística do ângulo de repouso das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	105
Tabela 20. Análise estatística do Índice de Carr das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	106
Tabela 21. Análise estatística do Fator de Hausner das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	108
Tabela 22. Análise estatística do teor de fármaco presente nas micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	109
Tabela 23. Análise estatística da solubilidade das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de <i>spray congealing</i>	110
Tabela 24. Dados da termogravimetria do fármaco e polímeros isolados e das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no <i>spray congealing</i>	114
Tabela 25. Dados dos perfis calorimétricos das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no <i>spray congealing</i> em comparação com os obtidos para o fármaco e polímeros isolados.....	115
Tabela 26. Tabela comparativa dos valores das bandas (cm^{-1}) referente ao estiramento da amida (–NH) ou enol (–OH) obtidos para as micropartículas dos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no <i>spray congealing</i>	117
Tabela 27. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> em meio gástrico simulado sem pepsina do piroxicam puro (PRX) e das micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp1), 4 (Exp4), 7 (Exp7), 8 (Exp8), 10 (Exp10) e 15 (Exp15) do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no <i>spray congealing</i>	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AINE	Antiinflamatório não esteroideal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CIVIV	Correlação <i>in vitro-in vivo</i>
CV	Coeficiente de variação
DS	Dispersão sólida sem sonicção
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DSS	Dispersão sólida sonicada
D ₅₀	Diâmetro médio
EHL	Equilíbrio hidrofílico lipofílico
Exp	Experimento
FH	Fator de Hausner
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho
IC	Índice de Carr
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
P	Potência
PEG	Polietilenoglicol
POL	Poloxamer 407
PRX	Piroxicam
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutico
TD	Temperatura da dispersão de PRX no carreador
T	Tempo
TF	Teor de fármaco
TGA	Análise termogravimétrica
VAD	Vazão de atomização da dispersão
%POL	Porcentagem de Poloxamer 407 na amostra
α	Ângulo de repouso
pa	Densidade aparente
pc	Densidade compactada
ΔH	Variação de entalpia

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	22
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	27
2.1. Piroxicam.....	27
2.1.1. Polimorfismo	29
2.2. Formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral	32
2.3. Dispersões sólidas.....	35
2.3.1. Carreadores.....	36
2.3.1.1. Polietilenoglicóis	36
2.3.1.2. Gelucires®	37
2.3.1.3. Poloxamers	38
2.3.1.4. Emulsificantes	39
2.3.2. Classificação das dispersões sólidas.....	40
2.3.3. Produção das dispersões sólidas	42
2.4. <i>Spray congealing</i>	43
2.5. Caracterização de dispersões sólidas e micropartículas	46
2.6. Planejamento Experimental.....	48
2.7. Validação de métodos analíticos	49
2.8. Ultrassom.....	50
3. OBJETIVOS	54
3.1. Objetivo geral	54
3.2. Objetivos específicos	54
4. MATERIAL E MÉTODOS	56
4.1. Quantificação do Piroxicam por espectrofotometria UV-Vis	56
4.2. Produção das misturas físicas de PRX	58
4.3. Produção das dispersões sólidas de PRX pelo método da fusão	58
4.4. Produção das micropartículas de PRX por <i>spray congealing</i>	60
4.5. Solubilidade das misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas	62
4.6. Avaliação das micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i>	63
4.6.1. Distribuição granulométrica das micropartículas	63

4.6.2. Propriedades de fluxo das micropartículas: Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner.....	64
4.6.2.1. Ângulo de Repouso	64
4.6.2.2. Índice de Carr e Fator de Hausner.....	65
4.6.3. Teor de fármaco presente nas micropartículas	67
4.7. Caracterização das misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas.....	67
4.7.1. Difração de Raios-X de pó	68
4.7.2. Termogravimetria (TGA)	68
4.7.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	68
4.7.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)	68
4.7.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	68
4.7.6. Perfil de dissolução <i>in vitro</i>	69
4.8. Forma de análise dos resultados	69
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	72
5.1. Quantificação do Piroxicam por espectrofotometria UV-Vis	72
5.2. Produção das dispersões sólidas de piroxicam	74
5.3. Avaliação da solubilidade das misturas físicas e dispersões sólidas	75
5.4. Análise estatística das variáveis estudados no sonicador ultrassônico e a solubilidade das dispersões sólidas sonificadas	78
5.5. Caracterização das misturas físicas e dispersões sólidas.....	79
5.5.1. Difração de Raios-X	79
5.5.2. Termogravimetria (TGA)	81
5.5.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	84
5.5.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)	89
5.5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	92
5.5.6. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> da mistura física e dispersões sólidas	95
5.6. Preparo das micropartículas por <i>spray congealing</i>	97
5.7. Avaliação das micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i>	97
5.7.1. Distribuição granulométrica das micropartículas	97
5.7.2. Propriedades de fluxo das micropartículas: Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner.....	99
5.7.2.1. Ângulo de Repouso	99
5.7.2.2. Índice de Carr e Fator de Hausner.....	100
5.7.2.3. Correlação entre o fluxo das micropartículas e o ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner obtidos para as mesmas	101
5.7.3. Teor de fármaco presente nas micropartículas	102

5.7.4. Solubilidade das micropartículas.....	103
5.8. Análise estatística das micropartículas produzidas por <i>spray congealing</i>	104
5.8.1. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e o tamanho das micropartículas	104
5.8.2. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e o Ângulo de Repouso das micropartículas	105
5.8.3. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e o Índice de Carr das micropartículas	106
5.8.4. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e o Fator de Hausner das micropartículas	108
5.8.5. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e o Teor de Fármaco das micropartículas	109
5.8.6. Análise estatística das variáveis estudados no processo de <i>spray congealing</i> e a Solubilidade das micropartículas.....	110
5.9. Caracterização das micropartículas	111
5.9.1. Difração de Raios-X de pós das micropartículas.....	112
5.9.2. Termogravimetria (TGA) das micropartículas	113
5.9.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das micropartículas	114
5.9.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) das micropartículas.....	115
5.9.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas	118
5.9.6. Perfil de dissolução <i>in vitro</i> das micropartículas.....	120
6. CONCLUSÕES.....	124
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	128

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O piroxicam, PRX, é um antiinflamatório não esteroidal (AINE) que possui propriedades analgésicas, antiinflamatórias e antipiréticas. É bastante utilizado no tratamento da artrite reumatóide, gota aguda, inflamação não reumática e osteoartrite (RANG et al., 2007; SANTOS et al., 2011).

Devido ao aumento considerável na utilização de analgésicos e antiinflamatórios nos últimos quinze anos, o número de pesquisas e estudos recentes sobre estes fármacos tem aumentado consideravelmente. Atualmente, os AINEs estão entre os medicamentos mais prescritos no mundo, sendo utilizados sob diversas formulações (SANTOS et al., 2011). No Brasil a situação não é diferente, uma vez que os AINEs são os medicamentos mais utilizados pela população brasileira (MOTA et al., 2010). Além disso, pesquisas estimam que nos próximos 25 anos, o número de pessoas afetadas e as consequências sociais relacionadas à artrite aumentarão em 40% nos EUA. Isso sugere um aumento significativo no uso de PRX (HELMICK et al., 2008).

Devido a identificação de diversas outras funções do PRX, o interesse farmacológico e terapêutico deste fármaco tem aumentado consideravelmente. Estudos recentes tem demonstrado que o PRX pode ser utilizado para quimioprevenção, quimiosupressão, sensibilização UV, proteção UV e como antioxidante (ABBASPOUR; MIRZAJANI, 2007).

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) proposto por Amidon et al. (1995), o PRX é classificado como fármaco de classe II, apresentando baixa solubilidade em pH fisiológico e alta permeabilidade pela membrana intestinal (AMIDON et al., 1995; WU et al., 2009). Portanto, quando administrado por via oral, a etapa limitante de sua absorção é sua baixa hidrossolubilidade, a qual é responsável pela baixa absorção na administração por via oral do fármaco, necessitando de elevadas doses administradas para atingir o efeito desejado (DHIRENDRA et al., 2009).

Para que seja possível uma maior absorção e uma diminuição da dose oral administrada destes fármacos, muitos estudos tem sido realizados na tentativa de aumentar a solubilidade dos fármacos de classe II (CHILDS; HARDCASTLE, 2007; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; MACHADO, 2011). No entanto, o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis ainda é um grande desafio para os pesquisadores (FINI; CAVALLARI; OSPITALI, 2008). Nesse contexto, o PRX vem sendo amplamente utilizado como fármaco modelo nas pesquisas sobre a melhora da solubilidade de fármacos de classe II (VIEIRA, 2008).

Várias técnicas de fabricação tem sido estudadas com o objetivo de promover um aumento da solubilidade dos fármacos, acelerar sua taxa de dissolução e assim melhorar sua biodisponibilidade oral. Dentre estas técnicas se destacam: a redução do tamanho de partícula, formação de sais e complexos, alteração da cristalinidade de um fármaco e preparo de dispersões sólidas do fármaco com um carreador hidrossolúvel. O uso de dispersões sólidas é uma técnica bastante citada na literatura, além de ser considerada uma das mais eficazes para o aumento da liberação de fármacos pouco solúveis é também uma das mais utilizadas (LEUNER; DRESSMAN, 2000; KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; BABU; AREEFULLA; MALLIKARJUN, 2010).

Dispersão sólida é definida como uma forma farmacêutica em que as substâncias ativas são dispersas em uma matriz/carreador sólido, biologicamente inerte e geralmente hidrofílico (DAMIAN et al., 2000; FLORENCE; ATTWOOD, 2003; SETHIA; SQUILLANTE, 2003). A escolha do carreador utilizado deve ser compatível com a finalidade do estudo, uma vez que são as propriedades dos polímeros as responsáveis pelo perfil de liberação do fármaco (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; MACHADO 2011).

Para a obtenção das dispersões sólidas são encontradas na literatura pesquisas envolvendo diferentes métodos. Os mais comuns são: método de fusão/solidificação e o método de evaporação do solvente (SERAJUDDIN, 1999; DHIRENDRA et al., 2009; WU et al., 2009; SETHURAMAN et al., 2011). No entanto, pelo fato destes métodos apresentarem desvantagens, outros métodos mais vantajosos tem surgido, como é o caso do *spray congealing* (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Diante deste contexto, devido às suas grandes vantagens, como o maior controle sobre as variáveis do processo e facilidade da transposição de escala, o *spray congealing*, foi a técnica escolhida para a realização deste estudo.

Spray congealing, também denominado *spray chilling* ou *spray cooling* é uma tecnologia relativamente nova na área farmacêutica, aplicada na produção de micropartículas (ALBERTINI et al., 2008; MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008; ILIC et al., 2009). A técnica consiste da atomização do ativo disperso ou dissolvido em um carreador fundido, levando à formação de gotículas que se solidificam ao entrarem em contato com o ar frio. Essa solidificação forma as dispersões sólidas microparticuladas, ou também denominadas micropartículas, que são então coletadas (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

O *spray congealing* tem ganhado considerável atenção devido a vantagens como segurança, rapidez, facilidade na transposição de escala e alta eficiência de encapsulação. Além disso, trata-se de uma técnica ambientalmente correta, evitando o uso de solventes

orgânicos e aquosos (ALBERTINI et al., 2008; SILVA et al., 2003; PASSERINI et al., 2006; MACKAPLOW; ZARRAGA; MORRIS, 2006; ILIC et al., 2009).

Outro fato interessante é que o *spray congealing* tem demonstrado ótimos resultados com relação a estudos de perfis de dissolução *in vitro* de fármacos pouco solúveis. Isto porque as dispersões sólidas microparticuladas produzidas por esta técnica tem exibido um aumento significativo da solubilidade e da taxa de dissolução quando comparado com o fármaco puro (FINI; CAVALLARI; OSPITALI, 2008; PASSERINI et al., 2006; MACHADO, 2011). Este fato é de grande importância, pois o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis ainda é um grande desafio para os pesquisadores (FINI, CAVALLARI; OSPITALI, 2008).

Diante do exposto, verifica-se que é de grande interesse o desenvolvimento de metodologias de preparação de dispersões sólidas microparticuladas de PRX utilizando a técnica de *spray congealing*. Assim, este estudo teve como objetivo produzir e avaliar dispersões sólidas de PRX utilizando diferentes carreadores, a fim de escolher o carreador mais adequado para a produção de dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing*. Além disso, objetivou-se aumentar a solubilidade deste fármaco por meio da técnica de *spray congealing* e ainda caracterizar e avaliar as micropartículas de PRX obtidas por esta técnica.

Para possibilitar que todos estes objetivos fossem alcançados o presente trabalho foi constituído por três etapas. A fim de possibilitar um melhor entendimento do presente estudo, uma breve explicação destas etapas é apresentada a seguir.

Na primeira etapa foi estudado o aumento da solubilidade em água do PRX. Este estudo foi feito por meio da produção de dispersões sólidas, pelo método da fusão, utilizando-se diferentes carreadores. Como a dispersão sólida de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (1:8:1) apresentou a maior solubilidade esta foi a escolhida para a ser utilizada na segunda etapa do trabalho.

A segunda etapa consistiu em se estudar a influência da homogeneização/sonicação ultrassônica sobre a solubilidade das dispersões sólidas. Com o auxílio de um planejamento fatorial completo foi verificado que a solubilidade é influenciada pelo tempo e a potência da sonicação. Em função da dispersão sólida de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (1:8:1) sonicado por 10 minutos e 475 W ter promovido o maior aumento da solubilidade do PRX esta foi avaliada e caracterizada. Devido aos bons resultados obtidos na avaliação e caracterização desta dispersão, a mesma foi escolhida para a realização da terceira e última etapa do estudo, que consistiu da produção de dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing*.

As micropartículas produzidas por *spray congealing* foram então obtidas utilizando um planejamento fatorial Box-Benhken, onde três variáveis foram estudadas. Por fim, estas micropartículas foram avaliadas e caracterizadas, e a influência das variáveis estudadas sobre as características das micropartículas foi verificada por meio de análises estatísticas.

Revisão Bibliográfica

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguir é apresentada uma revisão bibliográfica dos principais assuntos relacionados ao desenvolvimento deste trabalho. Inicialmente há uma abordagem sobre o piroxicam, fármaco modelo utilizado na execução do trabalho. Em seguida é feita uma breve descrição das formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral ressaltando a importância da solubilidade, biodisponibilidade e sistema de classificação biofarmacêutico. Posteriormente são apresentados os principais conceitos sobre as dispersões sólidas, seguido pela revisão sobre a técnica de obtenção de dispersões sólidas microparticuladas por *spray congealing*. Finalmente, é feita uma pequena abordagem sobre caracterização de dispersões sólidas e micropartículas, planejamento experimental, validação de métodos analíticos e a técnica de ultrassom.

2.1. Piroxicam

O piroxicam (PRX) é um antiinflamatório não esteroide (AINE) derivado do oxicam. Possui propriedades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas e age por meio da inibição, não seletiva, das enzimas ciclooxigenases COX-1 e COX-2. É utilizado no tratamento de diversas doenças, tais como artrite reumatóide, osteoartrite, distúrbios musculoesqueléticos, gota, dismenorréia primária, endometriose e cisto hemorrágico (SANTOS et al., 2011; RANG et al., 2007).

Segundo a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) os medicamentos referência do PRX presentes no mercado brasileiro são o Feldene[®], produzido pela Pfizer, e o Floxicam[®], produzido pela Neoquímica. O primeiro pode ser encontrado nas formas farmacêuticas de cápsula, comprimidos solúveis, comprimidos de dissolução instantânea, supositórios, solução injetável e gel. O Floxicam[®] por sua vez é encontrado apenas em cápsula (BRASIL, 2011).

Devido ao aumento considerável na utilização de analgésicos e antiinflamatórios nos últimos quinze anos, o número de pesquisas e estudos recentes sobre estes fármacos tem aumentado consideravelmente. Atualmente, os AINEs estão entre os medicamentos mais prescritos no mundo, sendo utilizados sob diversas formulações (SANTOS et al., 2011). Estudos demonstram que no Brasil isso não é diferente, uma vez que os AINEs são os medicamentos mais utilizados pela população brasileira (MOTA et al., 2010).

A artrite e outras doenças reumáticas são um grande e crescente problema de saúde pública. Em adultos, a artrite é a principal causa de incapacidade. Estudos mostram que nos

próximos 25 anos o número de pessoas afetadas e as consequências sociais relacionadas à artrite estão estimadas para aumentar em 40% nos EUA. Isso sugere um aumento ainda maior no uso de PRX e dos demais AINEs (HELMICK et al., 2008).

A maioria dos AINEs apresenta efeitos colaterais drásticos na mucosa gástrica, como hemorragia e úlcera. No entanto, apesar do PRX ser um AINE de longa duração, este possui efeitos colaterais limitados na mucosa gástrica, tornando-se um fármaco de grande interesse terapêutico e farmacológico (ABBASPOUR; MIRZAJANI, 2007; RANG et al., 2007).

Além das atividades antiinflamatórias, analgésicas e antipiréticas, foi descoberto recentemente que o PRX apresenta várias outras funções tais como quimioprevenção, quimiosupressão, sensibilização UV, proteção UV e poder antioxidante (ABBASPOUR; MIRZAJANI, 2007). Estudos *in vitro* e *in vivo* mostram que o PRX tem apresentado significativa atividade antitumoral. Tal atividade pode ser mais potencializada se o PRX for combinado com agentes quimioterápicos como cisplatina, difluormetilaornitina (DFMO), sulindaco, ciclofosfamida, doxorubicina, carboplatina, gencitabina, entre outros (VERDINA et al., 2008; SPUGNINI et al., 2006; GUILFORD; PEZZUTO, 2008; SPUGNINI et al., 2008; JACOBY et al., 2000; BALDI et al., 2011).

Por apresentar baixa solubilidade em pH fisiológico, quando administrado por via oral o PRX possui absorção lenta e irregular, demorando de três a cinco horas após a administração, para alcançar níveis plasmáticos máximos. Assim, quando administrado por via oral apresenta um atraso no aparecimento dos efeitos antiinflamatório e analgésico e uma ação terapêutica prolongada (PRABHU; ORTEGA; MA, 2005; CHILDS; HARDCASTLE, 2007).

O PRX apresenta uma alta ligação às proteínas plasmáticas (99%) e uma longa meia vida de eliminação, com média de 50 horas (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2002; PRABHU; ORTEGA; MA, 2005). Por ser amplamente metabolizado pelo fígado, apenas 5% da dose diária é eliminada pela urina e fezes na forma inalterada. Sua metabolização ocorre principalmente pela hidroxilação do anel piridil e subsequente conjugação com ácido glicurônico (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2002; RANG et al., 2007).

A dose oral diária administrada depende da finalidade do tratamento. Para doenças reumáticas e osteoartrite a dose inicial de PRX recomendada é de 20 mg por dia, podendo variar de 10 a 30mg. Em problemas musculoesqueléticos agudos recomendam-se doses diárias iniciais de 40 mg por dois dias, seguidas por doses diárias de 20 mg por uma ou duas semanas. Para o tratamento da gota a dose diária usual é de 40mg durante cinco a sete dias (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2002; RANG et al., 2007).

Os efeitos adversos apresentados pelo PRX são dor e desconforto abdominal, estomatite, constipação, diarreia, anorexia, indigestão, sangramento gastrointestinal, úlcera, edema, pancreatite, insuficiência cardíaca, infarto do miocárdio e fotossensibilidade (KOROLKOVAS; FRANÇA, 2002; RANG et al., 2007).

O PRX apresenta-se como um pó, inodoro, quase branco a castanho claro ou amarelo claro. Forma um monohidratado amarelo. É muito pouco solúvel em água, ácidos diluídos e outros solventes orgânicos e pouco solúvel em álcool e soluções alcalinas aquosas. Possui massa molecular de 331,35 g/mol, fórmula molecular $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ e fórmula estrutural conforme mostrado na Figura 1 (USP 30, 2007).

Figura 1. Fórmula estrutural do Piroxicam (USP 30, 2007)

O PRX é classificado como fármaco de classe II, de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB). Todos os fármacos pertencentes a esta classe, assim como o PRX, apresentam baixa solubilidade em pH fisiológico e alta permeabilidade pela membrana intestinal (AMIDON et al., 1995; CHILDS; HARDCASTLE, 2007; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; WU et al., 2009).

2.1.1. Polimorfismo

Muitos fármacos apresentam polimorfismo, o qual é definido como a capacidade de uma substância existir em duas ou mais formas cristalinas que possuem diferentes arranjos e ou conformações das moléculas na rede cristalina (ROCHA; POPPI, 2010). Por possuírem diferentes unidades celulares, as formas polimórficas normalmente apresentam diferentes propriedades. Sendo assim, o conhecimento das diversas formas cristalinas de um fármaco é de grande importância uma vez que, as propriedades físicas dos sólidos bem como seu arranjo cristalino geralmente afetam fatores como taxa de dissolução, solubilidade, estabilidade química e eficácia dos fármacos (CHILDS; HARDCASTLE, 2007; ROCHA; POPPI, 2010). Por exemplo, já é conhecido que formas amorfas ou metaestáveis possuem uma taxa de dissolução mais rápida devido à sua maior energia interna e maior movimento molecular, que

melhoram suas propriedades termodinâmicas em relação às formas cristalinas (VALIZADEH; ZAKERI-MILANI; BARZEGAR-JALALI, 2007).

Na literatura o PRX é descrito como um fármaco que apresenta polimorfismo. Apesar de muitos estudos já terem sido realizados, o número e a nomenclatura das formas polimórficas do PRX, bem como o completo padrão das ligações de hidrogênio de suas moléculas na forma cristalina ainda não estão completamente determinadas, sendo uma fonte de confusão e conflitos entre muitos autores (SHETH et al., 2004). Dessa maneira, podem ser encontradas na literatura quatro diferentes formas polimórficas e uma pseudopolimórfica (monohidratada) para este fármaco (VRECER; SRCIC; SMID-KORBAR, 1991; SHETH et al., 2004).

As duas formas polimórficas do PRX mais conhecidas e discutidas, e que estão indexadas no Cambridge Structural Database (CSD), são as formas I e II (Figura 2). A forma I, também conhecida como forma A, β e forma cúbica, é a mais comumente encontrada nas matérias primas de PRX. Já a forma II, também denominada forma B, α , α_1 , α_2 , e forma de agulha, apesar de não ser a predominante nas matérias primas, parece ser a mais estável de todas. Assim, muitos processos, bem como o tempo de estocagem proporcionam o aparecimento da forma II (VRECER; VRBINC; MEDEN, 2003; TADDEI; TORREGGIANI; SIMONI, 2001; SHETH et al., 2004; VALIZADEH; ZAKERI-MILANI; BARZEGAR-JALALI, 2007).

Forma I

Forma II

Figura 2. Micrografias ópticas de cristais das formas polimórficas I e II do PRX (ROCHA; POPPI, 2010).

As formas polimórficas I e II são energeticamente semelhantes, apresentando a mesma estrutura intramolecular. No entanto, possuem diferentes ligações de hidrogênio intra e intermolecular, o que faz com que seus pontos de fusão sejam um pouco diferente: 202,6°C

para a forma I e 199,7°C para a forma II (VRECER; SRCIC; SMID-KORBAR, 1991; VRECER; VRBINC; MEDEN, 2003; TADDEI; TORREGGIANI; SIMONI, 2001; SHETH et al., 2004).

A forma pseudopolimórfica (monohidratada) é obtida da forma I ou II por meio de uma rotação interna e transferência de prótons (TADDEI; TORREGGIANI; SIMONI, 2001). O ponto de fusão deste pseudopolimorfo é 202,01°C (VRECER; SRCIC; SMID-KORBAR, 1991; VRECER; VRBINC; MEDEN, 2003).

Apesar de ainda não ser muito estudada, já se sabe que a forma polimórfica III do PRX é muito instável (rapidamente se transforma em outro polimorfo) e pode ser produzida por meio da cristalização de uma solução saturada de PRX em álcool absoluto. Acredita-se que seu ponto de fusão seja 178,4°C, um pouco mais baixo que os demais polimorfos deste fármaco. (VRECER; SRCIC; SMID-KORBAR, 1991; VRECER; VRBINC; MEDEN, 2003; VALIZADEH; ZAKERI-MILANI; BARZEGAR-JALALI, 2007; ROCHA; POPPI, 2010).

O método mais utilizado para a análise estrutural de um fármaco é a difração de raios X realizada com o pó ou o cristal do material. Porém, cabe ressaltar que espectroscopia de infravermelho, microscopia, espectroscopia por ressonância magnética, análise termogravimétrica e calorimetria exploratória diferencial são métodos que também permitem a identificação de diferentes formas polimórficas de um fármaco (ROCHA; POPPI, 2010; ROCHA et al., 2011). Os difratogramas das forma I, II e III do PRX obtidos por difração de raios-X de pó é apresentado na Figura 3.

Figura 3. Difratogramas de raios-X de pó das formas cristalina do PRX: (1) forma I, (2) forma II e (3) forma III (ROCHA; POPPI, 2010).

De acordo com Vrecer, Vrbinc e Meden (2003), os picos dominantes em 2θ das três formas polimórficas apresentadas na Figura 3 são: 8,99; 14,46; 17,67; 21,83 e 27,36 para a forma I, 8,99; 15,76; 23,02 e 25,85° para a forma II e 8,99; 12,86; 18,22; 24,88; 28,52 e 29,22° para a forma III (VRECER; VRBINC; MEDEN, 2003).

2.2. Formas farmacêuticas sólidas administradas por via oral

Em se tratando de via de administração oral, as formas farmacêuticas sólidas são as mais simples e apresentam muitas vantagens sobre outros tipos de formas de administração, como maior estabilidade, dosagem precisa e fácil produção. Diante desta premissa, atualmente a maioria dos novos fármacos em desenvolvimento são utilizados como formas sólidas (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Para que um fármaco promova sua ação, o mesmo deve ser absorvido pelo organismo. A absorção de um fármaco administrado por via oral ocorre em duas etapas. Primeiro há sua dissolução nos fluidos gástrico e/ou intestinal. Em seguida ocorre a permeação do fármaco já dissolvido pela membrana gastrointestinal chegando à circulação sistêmica. Dessa maneira, a biodisponibilidade oral de um fármaco é determinada pelo processo mais lento (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Assim tem-se que um fármaco que apresenta pequena solubilidade, e consequentemente baixa dissolução, terá como etapa limitante de sua absorção a dissolução nos meio gástrico e/ou intestinal (DHIRENDRA et al, 2009).

Dissolução de um fármaco é o processo pelo qual, suas moléculas abandonam o estado sólido e entram no solvente formando uma solução (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; BABU; AREEFULLA; MALLIKARJUN, 2010). Em um sentido mais abrangente, dissolução é definida como um ensaio que permite a previsão da liberação de um fármaco por unidade de tempo em uma quantidade de solvente pré-estabelecida. Assim, a dissolução de um fármaco pode ser descrita pela equação modificada de Noyes-Whitney (Equação 1) (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

$$\frac{dC}{dt} = K \frac{DS}{Vh} (C_s - C_t)$$

Equação 1

onde dC/dt é a taxa de dissolução; K é o coeficiente de dissolução ou de transferência de massa; D é coeficiente de difusão do fármaco; S é a área de superfície disponível para dissolução; V é o volume do meio de dissolução; h é a espessura da camada de difusão (camada limítrofe que separa a camada de superfície do composto com o meio); C_s é a

concentração de saturação (solubilidade máxima) do fármaco no material do núcleo; C_t é a concentração do fármaco no meio, no tempo t .

Para se obter valores confiáveis da taxa de liberação de um fármaco, os ensaios de dissolução devem sempre ser realizados em condição *sink*, ou seja, a concentração do fármaco no solvente não pode afetar a velocidade de dissolução. Portanto, as determinações da velocidade de dissolução de um fármaco devem ser feitas utilizando um volume do meio de dissolução suficientemente grande de modo que a concentração do fármaco no meio (C_t) seja muito menor que a concentração de saturação do fármaco (C_s). Normalmente C_t deve ser menor que 10% de C_s (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002; AULTON, 2005).

Como a absorção de um fármaco ocorre apenas quando o mesmo se encontra em solução, os estudos da solubilidade de um fármaco bem como sua dissolução são parâmetros essenciais nos estudos de pré-formulação. Além disso, os ensaios de dissolução são muito relevantes, por preverem de forma eficaz o comportamento *in vivo* da formulação farmacêutica, resultando na diminuição do número de estudos clínicos necessários (BABU; AREEFULLA; MALLIKARJUN, 2010; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

O SCB é uma ferramenta científica utilizada para classificar os fármacos com relação à sua solubilidade e permeabilidade. Este sistema foi proposto por Amidon et al. (1995) e colaboradores e atualmente é utilizado por diversos órgãos como instituições acadêmicas, autoridades públicas, e indústrias farmacêuticas (AMIDON et al., 1995; CHAVDA; PATEL; ANAND, 2010). O SCB classifica os fármacos em quatro classes como mostrado na Tabela 1. Este esquema de classificação propõe uma correlação da dissolução *in vitro* e da biodisponibilidade *in vivo* do fármaco, denominado por correlação *in vitro-in vivo* ou CIVIV. Esta correlação CIVIV se baseia no fato de que a dissolução e a permeabilidade gastrointestinal do fármaco são os parâmetros fundamentais para o controle da taxa e da extensão da sua absorção no organismo (AMIDON et al., 1995).

Tabela 1. Sistema de Classificação Biofarmacêutico (AMIDON et al., 1995).

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Correlação <i>in vitro</i> - <i>in vivo</i>
I	Alta	Alta	Existente se a taxa de dissolução é mais lenta que a velocidade de esvaziamento gástrico.
II	Baixa	Alta	Existente se a velocidade de dissolução <i>in vitro</i> for similar a dissolução <i>in vivo</i> .
III	Alta	Baixa	Limitada ou inexistente.
IV	Baixa	Baixa	Limitada ou inexistente.

Como mencionado previamente, o PRX é classificado pelo SCB como fármaco de classe II. (AMIDON et al., 1995; CHILDS; HARDCASTLE, 2007). Dessa maneira, a solubilidade juntamente com a taxa de dissolução deste fármaco representam fatores cruciais e limitantes para sua absorção e biodisponibilidade oral. Assim, para possibilitar uma maior absorção, um início mais rápido da ação farmacológica e ainda uma diminuição da dose oral administrada deste fármaco é preciso aumentar sua solubilidade (CHILDS; HARDCASTLE, 2007; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

Embora a via de administração oral seja a mais comum, pode ser um método ineficiente para muitos fármacos, como aqueles que apresentam baixa solubilidade (PRABHU; ORTEGA; MA, 2005; DHIRENDRA et al., 2009). De fato, fármacos pouco solúveis administrados por esta via não são completamente liberados no trato gastrointestinal, o que culmina com uma baixa absorção e biodisponibilidade do mesmo, resultando em uma eficiência reduzida (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

A baixa solubilidade dos fármacos e consequentemente sua limitada absorção é um dos principais problemas no desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida de administração oral, visto que isso pode levar a uma baixa biodisponibilidade (DAMIAN et al., 2000; DHIRENDRA et al., 2009). Portanto, um dos grandes desafios atuais da indústria farmacêutica está relacionado às estratégias que melhoram a solubilidade aquosa dos fármacos (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Devido ao aumento considerável do número de fármacos com baixa solubilidade e ao crescente desenvolvimento de formulações de administração oral, várias técnicas tem sido estudadas com o objetivo de promover um aumento da solubilidade dos fármacos, acelerar sua taxa de dissolução e assim melhorar sua biodisponibilidade oral. Dentre estas técnicas se destacam: a redução do tamanho de partícula, formação de sais e complexos, alteração da cristalinidade de um fármaco e preparo de dispersões sólidas do fármaco com um carreador hidrossolúvel. O uso de dispersões sólidas é uma técnica bastante citada na literatura, e além de ser considerada uma das mais eficazes para o aumento da liberação de fármacos pouco solúveis é também uma das mais utilizadas (LEUNER; DRESSMAN, 2000; KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; BABU; AREEFULLA; MALLIKARJUN, 2010).

2.3. Dispersões sólidas

O termo dispersão sólida foi utilizado pela primeira vez em 1971 por Chiou e Riegelman para caracterizar: i) misturas de fármacos pouco hidrossolúveis e carreadores hidrofílicos, com o objetivo de aumentar a velocidade de dissolução; ii) misturas de um fármaco hidrossolúvel com carreadores pouco solúvel em água com objetivo de retardar a liberação (CRAIG, 2002; BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001). Atualmente é definida como formas farmacêuticas em que uma ou mais substâncias ativas são dispersas em uma matriz/carreador biologicamente inerte e compatível (DAMIAN et al., 2000; FLORENCE; ATTWOOD, 2003; SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Como dispersões sólidas abrangem uma grande diversidade de sistemas, elas podem ser produzidas com diferentes finalidades, tais como alterar as propriedades do estado sólido, acelerar a velocidade de dissolução, retardar a liberação do fármaco, aumentar o coeficiente de solubilidade e melhorar a estabilidade do fármaco. Dessa maneira, é imprescindível a escolha do carreador e do método de produção mais adequados, uma vez que o tipo de dispersão e seu comportamento vão depender das propriedades dos carreadores e fármacos, bem como do método de preparação utilizado (WEUTS et al., 2005; BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001; MACHADO, 2011).

Como mencionado anteriormente, embora as dispersões sólidas possam ser utilizadas para diversas finalidades resultando em uma série de potenciais vantagens, este sistema tem sido um método bastante atrativo e estudado para aumentar a taxa de dissolução e solubilidade de fármacos pouco solúveis em água (CRAIG, 2002; DAMIAN et al., 2000; DHIRENDRA et al., 2009). Assim, a maioria destes sistemas é produzido com carreadores hidrofílicos, os quais são capazes de promover uma liberação *in vitro* aumentada, quando comparada a outras formas farmacêuticas convencionais (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

Os mecanismos responsáveis pelo aumento da solubilidade e taxa de dissolução dos fármacos pouco hidrossolúveis promovidos pelas dispersões sólidas são vários. Dentre estes se encontram: i) redução do tamanho de partículas e aumento de área superficial do fármaco; ii) formação de amorfos ou de uma forma metaestável; iii) redução da agregação e aglomeração; iv) efeito solubilizante ou co-solvente do carreador sobre o fármaco; v) aumento da molhabilidade e solubilidade aquosa do fármaco (LEUNER; DRESSMAN, 2000; BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001; ABDUL-FATTAH; BHARGAVA, 2002; VERHEYEN et al., 2004; KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005). No entanto, apesar de já existir um grande número de estudos envolvendo dispersões sólidas, ainda são necessárias pesquisas

para descrever ao certo quais os mecanismos que atuam em cada dispersão e como estes promovem o aumento da solubilidade e dissolução (CRAIG, 2002).

2.3.1. Carreadores

A escolha do carreador a ser utilizado deve ser bastante criteriosa. O critério de seleção deve levar em conta a finalidade da dispersão sólida, bem como a necessidade dos carreadores serem farmacologicamente inertes e não tóxicos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Devido à incorporação de fármacos em carreadores hidrofílicos ter sido frequentemente relacionada com o aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis, polímeros hidrofílicos, como polietilenoglicóis (PEGs) e polivinilpirrolidona (PVP), tem sido amplamente investigadas e utilizadas como carreadores em dispersões sólidas que objetivam aumentar a biodisponibilidade do fármaco. Diversos outros carreadores como excipientes lipofílicos e materiais de baixo peso molecular como açúcares (manitol, sorbitol), ácido cítrico e uréia podem ser utilizados para produzir dispersões sólidas com diferentes finalidades (DAMIAN et al., 2000; BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001; VIEIRA, 2008; CRAIG, 2002; SAVOLAINEN et al., 2002).

Ultimamente, as moléculas de baixo peso molecular tem encontrado baixa aceitação como carreadores. Essa rejeição está relacionada em parte com o fato destas moléculas promoverem um menor aumento da dissolução, quando comparadas com os polímeros hidrofílicos. Outra razão para a baixa aceitação está relacionada às suas propriedades intrínsecas que as tornam menos adequadas para o uso que os polímeros, que em geral são fáceis de manusear (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

As seguir são descritos alguns possíveis carreadores para a fabricação de dispersões sólidas de PRX usando o método de *spray congealing*.

2.3.1.1. Polietilenoglicóis

Os PEGs são polímeros de óxido de etileno que possuem peso molecular entre 200 a 300.000, sendo que os mais utilizados para a produção de dispersões sólidas são aqueles cujo peso molecular fica na faixa de 1.500-20.000. São geralmente hidrossolúveis, no entanto esta solubilidade em água é inversamente proporcional ao seu peso molecular (LEUNER; DRESSMAN, 2000). A fórmula estrutural do PEG pode ser vista na Figura 4.

Figura 4. Fórmula estrutural do polietilenoglicol (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005)

Por funcionarem como agentes molhantes e/ou solubilizantes de muitas substâncias, e ainda por apresentarem características como baixo ponto de fusão, grande compatibilidade com muitos fármacos, baixa toxicidade, alta hidrofiliabilidade e alta viscosidade à temperatura ambiente, são muito utilizados como carreadores de dispersões sólidas. (DAMIAN et al., 2000; LEUNER; DRESSMAN, 2000). Dentre os PEGs, os mais utilizados para a produção de dispersões sólidas são os PEGs que possuem peso molecular entre 4000 e 6000. A razão disto é que nestes pesos moleculares, estes polímeros apresentam alta solubilidade em água, não são higroscópicos e apresentam ponto de fusão de aproximadamente 50°C (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Trabalhos realizados tem demonstrado que dispersões sólidas de PEG 4000 e/ou PEG 6000 produzidas utilizando diferentes fármacos como modelo tem promovido um aumento da liberação destes fármacos e conseqüentemente uma maior biodisponibilidade dos mesmos. São encontradas na literatura dispersões sólidas de PEG feitas com piroxicam, oxazepam, nifedipina, carbamazepina, norfloxacin, praziquantel, cetoprofeno, fenitoína, prednisolona, entre outros (LEUNER; DRESSMAN, 2000; FERNÁNDEZ et al., 1992; FERNÁNDEZ et al., 1993; VIEIRA, 2008; MACHADO, 2011).

No estudo realizado por Vieira (2008) foi observado um aumento da solubilidade e da taxa de dissolução do PRX quando dispersões sólidas de PEG 4000 e PEG 6000 foram feitas com este fármaco. Fernández et al. (1993) estudaram dispersões sólidas de PRX utilizando como carreador o PEG 4000. Os resultados mostraram que o PEG 4000 promoveu um aumento da taxa de dissolução quando comparado ao fármaco puro. Um terceiro estudo envolvendo dispersões sólidas de PRX e PEG 4000 foi desenvolvido por Pan, Chen e Chen (2000). Neste os autores verificaram que estas dispersões sólidas apresentaram dissolução mais rápida e uma maior biodisponibilidade que a mistura física correspondente.

2.3.1.2. Gelucires®

Os Gelucires® são glicédeos poliglicolizados saturados que vem sendo bastante utilizados para a produção de dispersões sólidas. São compostos sólidos cerosos constituídos

de mono, di ou tri glicerídeos e mono e di ésteres de ácido graxo de polietilenoglicol. Estes glicerídeos possuem caráter anfifílico e são caracterizados pelo seu ponto de fusão e seu equilíbrio hidrofílico lipodílico (EHL) (DAMIAN et al., 2000; KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

Existem diversos Gelucires[®] dependendo da natureza e da proporção de cada componente. A escolha de qual utilizar depende do objetivo que se pretende alcançar. Assim, quando o objetivo é diminuir a taxa de dissolução do fármaco utiliza-se para a produção das dispersões sólidas Gelucires[®] com baixo EHL. Por outro lado, quando o intuito é obter uma rápida liberação do fármaco deve-se utilizar os Gelucires[®] que possuem alto EHL. Dois compostos deste grupo que tem sido estudados e utilizados para produzir dispersões sólidas visando aumentar a solubilidade de fármacos são o Gelucire[®] 44/14 e o Gelucire[®] 50/13. (KARATAS; YÜKSEL; BAYKARA, 2005).

Karatas, Yüksel e Baykara (2005), estudaram o aumento da solubilidade e da taxa de dissolução do PRX utilizando Gelucire[®] 44/14. Os autores verificaram que este carreador foi muito eficiente, promovendo um aumento de 20 vezes na solubilidade em água do PRX. Um estudo anterior, feito por Yüksel et al. (2003), utilizando Gelucire[®] 44/14 já havia demonstrado que dispersões sólidas com esse polímero aumentaram a biodisponibilidade do PRX em humanos.

Martins (2010) avaliou a utilização de Gelucire[®] 50/13 em dispersões sólidas de carbamazepina. O autor verificou que este carreador foi eficiente na melhora da solubilidade aquosa do fármaco. As dispersões sólidas usando Gelucire[®] 50/13 foram capazes de aumentar 2,7 vezes a solubilidade da carbamazepina quando comparado com o fármaco puro.

2.3.1.3. Poloxamers

Poloxamers são blocos de copolímeros derivados da polimerização sequencial do óxido de propileno e óxido de etileno. Por possuírem atividade surfactante são muito utilizados na indústria farmacêutica. Possuem uma estrutura do tipo “ABA”, onde o “B” representa a parte central, constituída por um bloco hidrofóbico de óxido de polipropileno e o “A” corresponde aos dois blocos hidrofílicos de óxido de polietileno, que ficam lateralmente ligados à parte central (CHUTIMAWORAPAN et al., 2000; SHARMA et al., 2009). A estrutura “ABA” do poloxamer é apresentada na Figura 5.

Figura 5. Fórmula estrutural do poloxamer (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005).

Os poloxamers podem ser formados por meio da combinação de blocos de diferentes pesos moleculares, o que leva a uma grande variedade de tipos como Poloxamer 407, 338, 237, 188 e 124. O Poloxamer 407, também denominado Pluronic[®] ou Lutrol[®] F127NF é constituído por blocos de polioxietileno e polipropileno. Possui EHL de 18 a 23 e por ter potencial atividade solubilizante tem sido muito utilizado como carreador em dispersões sólidas que visam o aumento da solubilidade de um fármaco pouco hidrossolúvel (CHUTIMAWORAPAN et al., 2000).

Shin e Cho (1997) observaram que a solubilidade do PRX em água aumentou onze vezes quando Poloxamer 407 foi utilizado como carreador na concentração de 22,5% (m/m). Outro trabalho realizado por Chutimaworapan et al. (2000) mostrou que dispersões sólida de nifedipina e Poloxamer 407 na proporção de 1:10 promoveu um aumento considerável na taxa de dissolução deste fármaco.

2.3.1.4. Emulsificantes

Emulsificantes também tem sido utilizados em dispersões sólidas a fim de estabilizá-las e aumentar a liberação dos fármacos (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). No entanto, devido aos seus efeitos tóxicos, que podem levar a problemas como danos à mucosa gástrica, os emulsificantes são geralmente utilizados em combinação com outro carreador, como um polímero. Exemplos de emulsificantes que tem sido utilizados são os polissorbato 80 e o laurilsulfato de sódio (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Polissorbato 80 (também conhecido pelo nome comercial Tween[®] 80) é um éster de ácido graxo de polietileno sorbitano. Em formulações farmacêuticas pode ser utilizado como agente emulsificante, solubilizante e molhante (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005). No entanto, para formulações de uso interno, a quantidade máxima de polissorbato que pode ser utilizado como agente solubilizante ou molhante de fármacos pouco solúveis é, respectivamente, 10% e 3% (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2005). Quando misturado com PEG sólido, o polissorbato 80 tem sido designado como um carreador alternativo de superfície ativa (DHIRENDRA et al., 2009).

Dispersões sólidas produzidas com uma mistura de PEG e polissorbato 80 tem demonstrado aumento significativo da dissolução e biodisponibilidade do fármaco (DHIRENDRA et al., 2009). Um estudo feito com dispersão sólida de naproxeno em PEG 4000, 6000 e 20000 mostrou que quando Tween[®] 80 foi adicionado a este sistema, houve um aumento na liberação deste fármaco (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Outro estudo realizado por Joshi et al. (2004) mostrou que dispersões sólidas feitas com uma mistura de PEG 3350 e polissorbato 80 aumentou 21 vezes a biodisponibilidade de um novo fármaco pouco solúvel desenvolvido pela Bristol-Myers Squibb.

O aumento da solubilidade e da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis que as dispersões sólidas podem promover depende de vários fatores. Um dos mais relevantes são as propriedades dos carreadores, tais como sua taxa de dissolução e solubilidade em água. Assim, a escolha do carreador é uma etapa imprescindível para alcançar o objetivo pretendido. A utilização de um carreador adequado pode aumentar em várias ordens de grandeza a velocidade de dissolução do fármaco em questão (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Além da escolha do carreador, um fator muito importante para o aumento da solubilidade e/ou dissolução é a proporção de fármaco-carreador. Esta proporção deve ser estudada e otimizada para cada combinação de fármaco e polímero, a fim de alcançar uma taxa de dissolução ideal. Por exemplo, para fármacos que possuem baixa solubilidade uma maior fração de carreador é necessário para permitir que o fármaco se solubilize. Por outro lado, quando o fármaco possui alta solubilidade em água, a proporção do mesmo no carreador pode ser maior (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

2.3.2. Classificação das dispersões sólidas

De acordo com suas propriedades físico-químicas e a disposição molecular de seus constituintes as dispersões sólidas podem ser classificadas em diferentes tipos, sendo os mais comuns as misturas eutéticas e as soluções sólidas (LEUNER; DRESSMAN, 2000; CRAIG, 2002; SETHIA; SQUILLANTE, 2003; DHIRENDRA et al., 2009).

A mistura eutética, produzida pela primeira vez em 1961 por Sekiguchi e Obi, foi o primeiro tipo de dispersão sólida produzida a fim de aumentar a velocidade de dissolução de fármacos pouco solúveis (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Misturas eutéticas simples são constituídas por dois compostos que quando estão no estado líquido são completamente miscíveis, mas quando se encontram no estado sólido possuem limitada miscibilidade. Assim, quando as dispersões sólidas são classificadas como misturas eutéticas, o fármaco esta

presente como uma fase separada dentro do carreador (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

As misturas eutéticas sólidas são preparadas por meio do resfriamento rápido da mistura dos dois compostos fundidos, gerando uma mistura física de cristais muito pequenos. Isso promove o aumento da área superficial, o que resulta em uma melhor taxa de dissolução e, conseqüentemente, uma melhor biodisponibilidade (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

As soluções sólidas, independentemente do número de compostos, são constituídas por apenas uma fase homogênea, pois o “soluto”, no caso o fármaco, encontra-se molecularmente disperso no “solvente”, no caso o carreador. Portanto, nestas soluções sólidas o tamanho das partículas do fármaco, por estarem em níveis moleculares, promovem um aumento da taxa de dissolução e biodisponibilidade (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

As soluções sólidas podem ser classificadas baseando-se em dois critérios. Com relação à sua miscibilidade podem ser contínuas ou descontínuas. Já de acordo com a maneira que o fármaco encontra-se distribuído no carreador há soluções sólidas substitucionais, intersticiais ou amorfas (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

As dispersões sólidas também podem ser classificadas de acordo com a composição dos seus carreadores. Diante desta classificação tem-se: dispersões sólidas de primeira geração, segunda geração e terceira geração (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Dispersões sólidas de primeira geração são aquelas que utilizam carreadores cristalinos como açúcares e uréia. Este grupo tem a desvantagem de formar dispersões sólidas cristalinas, que por serem termodinamicamente estáveis não liberam o fármaco tão rapidamente como as dispersões amorfas (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Ao contrário do primeiro grupo, as dispersões de segunda geração são constituídas por carreadores amorfos, que geralmente são polímeros. Este sistema permite a rápida liberação do fármaco, pois além de possibilitar a formação de formas amorfas do fármaco e carreador, são capazes de reduzir o tamanho de partícula do fármaco e aumentar sua molhabilidade (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007).

Dispersões sólidas de terceira geração, também conhecidas como dispersões ternárias, contêm como carreador: um surfactante, uma mistura de polímeros e surfactantes, ou uma mistura de polímeros. Estes carreadores normalmente são alto-emulsionantes ou possuem atividade de superfície. Isso faz com que as dispersões ternárias sejam capazes de promover um aumento da dissolução e da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis. Permite, e

ainda evitar a recristalização do fármaco aumentando a estabilidade da dispersão (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; SHANBHAG et al., 2008).

Os surfactantes mais comumente utilizados são Gelucire[®] 44/14, polissorbato 80, poloxamer 407, inulina e Compritol[®] 888 ATO (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Estes surfactantes tem sido bastante utilizados em associação com polímeros. Por exemplo, no trabalho de Dannenfelser et al. (2004) foram produzidas dispersões sólidas utilizando como carreadores uma mistura de PEG e polissorbato 80.

Como as dispersões sólidas ternárias, utilizam mais de um carreador, estas permitem um melhor ajuste da formulação e, consequentemente, um maior aumento da dissolução e biodisponibilidade quando comparadas às dispersões sólidas de primeira e segunda geração. No entanto, em função do grande número de polímeros e surfactantes atualmente disponíveis, a escolha dos carreadores, as combinações a serem feitas e as proporções a serem utilizadas é uma tarefa que requer extensa pesquisa (SHANBHAG et al., 2008).

2.3.3. Produção das dispersões sólidas

Existem vários métodos para o preparo de dispersões sólidas. Os métodos convencionais mais comuns são: o método de evaporação do solvente e o método de fusão (SERAJUDDIN, 1999; DHIRENDRA et al., 2009; LEUNER; DRESSMAN, 2000; WU et al., 2009; SETHURAMAN et al., 2011).

A produção de dispersões sólidas pelo método da evaporação do solvente consiste na dissolução do fármaco e do carreador em um solvente comum que depois é evaporado produzindo um resíduo sólido. Apesar de este método evitar a degradação térmica do fármaco e/ou carreador, o mesmo apresenta desvantagens, tais como o uso de solventes em sua maioria, tóxicos e prejudiciais ao meio ambiente e a dificuldade em se encontrar um solvente que solubilize tanto o fármaco pouco solúvel em água quanto o carreador hidrossolúvel (SETHIA; SQUILANTE, 2003; LEUNER; DRESSMAN, 2000; SERAJUDDIN, 1999; DHIRENDRA et al., 2009).

O método da fusão foi o primeiro descrito no início da década de 1960 por Sekiguchi and Obi. Neste método, a mistura de fármaco e carreador é fundida e em seguida resfriada bruscamente. A massa sólida resultante é triturada obtendo-se a dispersão sólida. O aquecimento leva à supersaturação, e o rápido resfriamento do material fundido resulta no aprisionamento do fármaco na matriz carreadora solidificada. Dessa forma, a estrutura das dispersões sólidas obtidas por este método será afetada pela taxa de resfriamento e pelo grau de supersaturação (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

Apesar do método de fusão ser simples e econômico, o mesmo é limitado pela miscibilidade do fármaco e carreador na forma fundida e só pode ser aplicado para carreadores com baixo ponto de fusão. Além disso, este método pode ser limitado pela sensibilidade térmica dos componentes da formulação e pela necessidade do fármaco e carreador serem miscíveis na forma fundida (SERAJUDDIN, 1999; SETHIA; SQUILANTE, 2003; WU et al., 2009). Devido a estas desvantagens, outros métodos mais vantajosos tem surgido, principalmente, por meio da modificação do processo de fusão. Um exemplo é o *spray congealing* (SETHIA; SQUILANTE, 2003).

Embora possa ser encontrado um grande número de pesquisas envolvendo dispersões sólidas, sua aplicação em formas farmacêuticas comerciais ainda tem sido muito limitada e escassa. No mercado, medicamentos feitos utilizando dispersões sólidas, como é o caso do Gris-PEG[®] da Novartis (griseofulvina em polietilenoglicol), Cesamet[®] da Lilly (nabilona em povidona) e Sporanox[®] da Janssen (itraconazol em polietilenoglicol e hidroxipropilmetilcelulose), ainda são pouco encontrados e comercializados (SERAJUDDIN, 1999; LEUNER; DRESSMAN, 2000; CRAIG, 2002; SHANBHAG et al., 2008).

As razões para a pequena comercialização de produtos contendo dispersões sólidas estão relacionadas a problemas que envolvem diversos fatores, tais como o método de preparação destas dispersões. Os métodos tradicionais de preparação apresentam diversas limitações e desvantagens como, por exemplo, dificuldades de reprodutibilidade das propriedades físico-químicas, baixa estabilidade das dispersões produzidas e dificuldade na transposição de escala. Assim diante deste contexto e devido às suas próprias vantagens, como o maior controle sobre as variáveis do processo e facilidade da transposição de escala, o *spray congealing* é uma técnica que vem cada vez mais ganhando atenção para a produção de dispersões sólidas (SERAJUDDIN, 1999; BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001; SETHIA; SQUILANTE, 2003; ALBERTINI et al., 2008).

2.4. *Spray congealing*

Spray congealing, também denominado *spray chilling* ou *spray cooling*, é uma técnica relativamente nova utilizada para a produção de dispersões sólidas. (ALBERTINI et al., 2008; MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008; ILIC et al., 2009). De maneira resumida, consiste na atomização da solução ou suspensão do fármaco no carreador fundido, levando à formação de gotículas que se solidificam ao entrarem em contato com o ar frio (SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Como as partículas sólidas formadas por esta técnica são muito

pequenas, da ordem de micrômetros, elas são denominadas micropartículas ou dispersões sólidas microparticuladas (ILIC et al., 2009).

Micropartículas são definidas como sendo pequenas partículas sólidas, com tamanho que varia entre 1 e 1000 μm , e são divididas em microcápsulas e microesferas. A primeira é um sistema reservatório que contém a substância ativa revestida por polímeros enquanto que a segunda é um sistema matricial onde o fármaco se encontra uniformemente disperso e/ou dissolvido numa rede polimérica (SILVA et al., 2003; ILIC et al., 2009).

A produção das micropartículas por *spray congealing* consiste de várias etapas. Primeiro, as partículas sólidas do fármaco são dispersas no carreador fundido (geralmente 10°C acima do ponto de fusão do mesmo). Em seguida, a dispersão obtida é atomizada através de um bico atomizador gerando gotículas. Estas entram em contato com uma corrente de ar frio o que causa sua solidificação, formando as dispersões sólidas microparticuladas, também denominada ao longo deste trabalho de micropartículas. Para facilitar o entendimento do processo um esquema do mesmo é apresentado na Figura 6 (PASSERINI et al., 2002; MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008; MACKAPLOW; ZARRAGA; MORRIS, 2006; ILIC et al., 2009).

Figura 6. Esquema do processo de *spray congealing*.

A atomização da dispersão de fármaco e carreador fundido pode ser realizada por diferentes tipos de dispositivos, tais como: atomizador rotativo, atomizador de bicos de pressão, atomizador ultrassônico e atomizador de bico pneumático ou duplo-fluído. Este

último é um dos mais utilizados no processo de *spray congealing* devido à sua versatilidade e à maior precisão na formação das gotículas. O controle mais preciso da formação das gotículas ocorre uma vez que o diâmetro do orifício do bico, a pressão do ar e a vazão da dispersão podem ser variados independentemente (ILIC et al., 2009). No entanto, uma desvantagem de todos os atomizadores é a dificuldade da atomização de fluídos muito viscosos, como é o caso das dispersões que apresentam mais de 30% (m/m) de ativo (ALBERTINI et al., 2008).

Devido à tensão superficial que atua sobre as gotículas antes de sua solidificação, as micropartículas produzidas por *spray congealing* são frequentemente microesferas não porosas e com superfícies lisas, o que resulta em boas propriedades de fluxo (MACKAPLOW; ZARRAGA; MORRIS, 2006; ILIC et al., 2009). Este fato constitui uma das vantagens do *spray congealing*, pois uma boa escoabilidade é indispensável para a produção de formas farmacêuticas sólidas como cápsulas e comprimidos (ILIC et al., 2009; ALBERTINI et al., 2008).

Spray congealing produz dispersões sólidas que podem ser utilizadas para muitas finalidades (ILIC et al., 2009). A escolha de um carreador adequado associado à padronização de outras variáveis e parâmetros desta técnica permite sua utilização para promover uma liberação sustentada de fármacos, bem como aumentar a velocidade de dissolução, biodisponibilidade e estabilidade. (MACKAPLOW; ZARRAGA; MORRIS, 2006; MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008).

O uso do *spray congealing* aparece, a cada dia, com mais frequência na literatura científica, mostrando-se uma técnica promissora que tem demonstrado ótimos resultados com relação a estudos de perfis de dissolução *in vitro* de fármacos pouco solúveis (MCCARRON; DONNELLY; AL-KASSAS, 2008; PASSERINI et al., 2006; FINI; CAVALLARI; OSPITALI, 2008). Diversos trabalhos tem utilizado a técnica de *spray congealing* para aumentar a solubilidade e a taxa de dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis por meio da produção de dispersões sólidas microparticuladas dos mesmos em carreadores solúveis em água (ILIC et al., 2009).

Passerini et al. (2002) e Martins (2010), produziram dispersões sólidas microparticuladas de carbamazepina em Gelucire[®] 50/13 pela técnica de *spray congealing*. Os resultados de ambos os estudos revelaram um aumento significativo da solubilidade e da taxa de dissolução *in vitro* deste fármaco. Utilizando esta mesma técnica e o mesmo carreador, Passerini et al. (2006), também conseguiram aumentar a dissolução *in vitro* do praziquantel, fármaco pouco hidrossolúvel. Ainda, o trabalho de Machado (2011) mostrou que

micropartículas de praziquantel em PEG 6000 produzidas por *spray congealing* aumentou 62,6 a 79% a solubilidade do fármaco em relação ao praziquantel puro.

Como já dito, a grande utilização do *spray congealing* está relacionada, principalmente, com as inúmeras vantagens apresentadas por esta técnica quando comparada às tradicionais. Assim como algumas vantagens do *spray congealing* pode-se citar: facilidade de transposição de escala e produção em larga escala; possibilidade de ser utilizada com fármacos termolábeis; grande controle sobre as variáveis do processo, técnica simples, reprodutível, segura, rápida e ambientalmente correta devido a não utilização de solventes; produção de micropartículas na maioria das vezes esféricas; e alta eficiência de encapsulação independentemente dos parâmetros do processo (EMAS; NYQVIST, 2000; PASSERINI et al., 2006; MACKAPLOW; ZARRAGA; MORRIS, 2006; SILVA et al., 2003; ALBERTINI et al., 2008; ILIC et al., 2009).

Existem diversas variáveis no processo de *spray congealing*. Dentre estas, as mais importantes incluem a temperatura do material fundido (dispersão), vazão de atomização da dispersão, temperatura do ar de resfriamento e temperatura e pressão do ar de atomização. Outro fator deste processo que também merece destaque é a eficiência de atomização da mistura fundida. Contudo, embora estas variáveis exerçam grande influência no produto final, ainda há poucos estudos na literatura disponível que retratam o efeito das mesmas sobre o processo de *spray congealing* (ILIC et al., 2009).

2.5. Caracterização de dispersões sólidas e micropartículas

A caracterização de uma dispersão sólida e/ou micropartícula é uma etapa importante durante o desenvolvimento de uma formulação farmacêutica. Em geral, esse processo é utilizado para comparação entre as características do fármaco puro, da mistura física e da dispersão sólida e/ou micropartículas, visando avaliar as vantagens em se preparar as dispersões sólidas e micropartículas (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Dispersões sólidas e micropartículas podem ser caracterizadas por diferentes técnicas. No entanto a utilização de apenas uma técnica é insuficiente para a caracterização completa das mesmas (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Assim, normalmente são utilizadas técnicas termoanalíticas, difração de raios X, espectroscopia de infravermelho, ensaio de dissolução *in vitro* e microscopia para uma caracterização completa (SETHIA; SQUILANTE, 2003).

As técnicas termoanalíticas são todas aquelas que avaliam as características do sistema em função da temperatura (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Estas técnicas apresentam vantagens como versatilidade, utilização de pequena quantidade de amostras, identificação de

vários eventos em um único ensaio e ainda não necessitam de uma preparação prévia das amostras, dispensando o uso de solventes. No entanto, as amostras analisadas não podem ser reaproveitadas para outros estudos (MARTINS, 2010). Dentre as técnicas termoanalíticas a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a análise termogravimétrica (TGA) são bastante conhecidas e utilizadas na caracterização de dispersões sólidas (MACHADO, 2011).

As análises realizadas por DSC são rápidas e feitas por meio da medida da diferença de energia fornecida à substância em estudo e a um material de referência, termicamente inerte, enquanto ambos são submetidos a uma taxa de aquecimento constante. Esta técnica permite determinar as variações de entalpia sofridas pela amostra e as temperaturas em que os eventos térmicos ocorrem, possibilitando avaliar a estabilidade térmica, pureza, presença de possíveis interações entre fármaco/excipientes, e possíveis mudanças na estrutura cristalina da amostra (DHIRENDRA et al., 2009; MARTINS, 2010).

TGA baseia-se no estudo da variação de massa de uma amostra, em função da temperatura ou tempo, quando a mesma é submetida a uma programação controlada de temperatura. Com essa análise é possível verificar as alterações que a temperatura pode causar nas substâncias e então determinar a temperatura de decomposição das mesmas (MARTINS, 2010; MACHADO, 2011).

As análises de difração de raios X permitem a identificação das formas cristalinas presentes em uma substância (DHIRENDRA et al., 2009). Assim, se as dispersões sólidas são submetidas a estas análises é possível identificar a presença de formas cristalinas e/ou amorfas referentes ao fármaco e ao polímero. Isso é muito importante, pois diferentes formas polimórficas podem apresentar diferentes propriedades e características (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Espectroscopia de infravermelho permite avaliar possíveis mudanças que possam ocorrer nas ligações entre grupos funcionais do fármaco durante a produção da dispersão sólida. Portanto, esta técnica pode ser utilizada para detectar possíveis interações entre o fármaco e o carreador (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SETHIA; SQUILANTE, 2003).

O ensaio de dissolução permite avaliar a taxa de liberação *in vitro* do fármaco fornecendo informações úteis para o desenvolvimento de uma formulação para administração oral. No caso da produção de dispersões sólidas que objetivam um aumento da solubilidade do fármaco, a realização do ensaio de dissolução é imprescindível uma vez que é este o responsável por avaliar se a dispersão sólida promoveu um aumento na solubilidade e na taxa de dissolução do fármaco. É importante salientar que o ensaio de dissolução não deve ser feito

apenas para a dispersão sólida, mas também para o fármaco puro e a mistura física, pois estas duas servirão de comparação (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Com relação à microscopia, uma das mais utilizadas é a microscopia eletrônica de varredura (MEV). Esta é utilizada para o estudo da morfologia do fármaco e do carreador. Além disso, esta técnica permite a visualização de como as partículas do fármaco estão dispersas no carreador e, eventualmente, o polimorfismo do fármaco (SETHIA; SQUILANTE, 2003).

Como pode ser visto acima, existem muitas técnicas que podem ser utilizadas para a caracterização de dispersões sólidas e micropartículas. No entanto, apesar destas diversas tecnologias e da simplicidade química destes sistemas, ainda existem inúmeras perguntas com relação à natureza física dos mesmos (CRAIG, 2002).

2.6. Planejamento Experimental

O planejamento experimental é uma ferramenta valiosa quando se pretende estudar muitas variáveis (fatores) de um processo, pois possibilita a obtenção de um maior número de informações utilizando um menor número de experimentos (FERREIRA et al., 2007).

Os planejamentos experimentais são representados por uma notação exponencial (X^n), onde a base, X , indica o número de níveis em estudo e o expoente, n , o número de fatores a ser estudado. Para os fatores em estudo são estipulados valores, que serão chamados de níveis. Estes níveis são codificados como -1, 0 e 1, correspondendo aos níveis baixo, intermediário e alto, respectivamente (BARROS; SCARMINIO; BRUNS, 2003; MACHADO, 2011).

Alguns exemplos de planejamentos experimentais são os planejamentos fatoriais completo e fracionário. Planejamento fatorial é definido como aquele em que todos os fatores estudados variam de forma constante e planejada (RODRIGUES; IEMMA, 2009; MARTINS, 2010).

Planejamento fatorial completo é aquele que utiliza todas as combinações possíveis entre os diferentes fatores. Dessa forma, este procedimento apresenta a desvantagem de ser demorado e de alto custo. Já o planejamento fatorial fracionado, ao contrário do primeiro, otimiza o número de ensaios sem acarretar em perda de informações importantes para o estudo, sendo mais rápido e econômico em relação ao completo. Os planejamentos fatoriais fracionados são usados quando o número de fatores estudados é grande e não se conhece ainda a relação completa destes fatores nas respostas obtidas (RODRIGUES; IEMMA, 2009; MARTINS, 2010; MACHADO, 2011).

A escolha do tipo de planejamento que melhor se adéqua às condições experimentais do estudo é um fator de grande importância. Por exemplo, o planejamento fatorial do tipo Box-Behnken é bastante indicado quando se quer utilizar uma metodologia de superfície de resposta num estudo de três fatores em três níveis (BOX; BEHNKEN, 1960; BORINI, 2007; PAGLIARUSSI; BASTOS; FREITAS, 2006; MARTINS, 2010; MACHADO, 2011).

O planejamento Box-Behnken consiste de um modelo quadrático independente, em que as combinações dos fatores são referentes aos pontos médios das arestas de um cubo tridimensional e às réplicas do ponto central, como ilustrado na Figura 7. Este planejamento permite a elaboração de um modelo polinomial de segunda ordem para caracterizar e/ou otimizar um processo com um número de experimentos reduzidos (CHOPRA et al., 2007; PAIVA, 2006; FERREIRA et al., 2007). Assim, o planejamento Box-Behnken não contém todas as combinações possíveis entre os diferentes fatores. Isso é vantajoso visto que evita a realização de experimentos desnecessários em condições extremas, o que pode fornecer resultados insatisfatórios (GUO et al., 2008; MACHADO, 2011).

Figura 7. Representação esquemática dos pontos do planejamento Box-Behnken no cubo multidimensional (modificado de FERREIRA et al., 2007).

2.7. Validação de métodos analíticos

Para garantir a confiabilidade de um método analítico são necessárias verificações, denominadas de validação. A validação de um método é realizada com o objetivo de garantir, por meio de estudos experimentais, a adequação do método escolhido à sua finalidade, assegurando a confiabilidade dos resultados obtidos (EURACHEM, 2002; BRASIL, 2003; MACHADO, 2011).

A validação de um método é feita por meio de vários parâmetros analíticos. Como exemplos destes parâmetros tem-se a linearidade, seletividade, precisão e exatidão (BRASIL, 2003).

Linearidade é a capacidade de um método analítico em demonstrar, dentro de um intervalo específico, que os resultados obtidos experimentalmente são diretamente proporcionais à concentração de analito na amostra. É recomendado que a determinação da linearidade seja feita através da análise de no mínimo cinco concentrações diferentes. Os resultados obtidos devem ser tratados por métodos estatísticos apropriados, demonstrando o coeficiente de correlação (r) e a intersecção com o eixo Y garantindo a proporcionalidade dos resultados obtidos (BRASIL, 2003; USP 30, 2007).

Seletividade ou especificidade é definida como a capacidade que o método possui em quantificar exatamente um composto em presença de outros componentes como impurezas, produtos de degradação ou componentes da matriz. Assim um método só é considerado seletivo se os resultados obtidos para o analito não são afetados por possíveis interferentes presentes na amostra (BRASIL, 2003).

Precisão consiste na avaliação da proximidade dos resultados fornecidos por uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A precisão mostra a capacidade do método em produzir o mesmo resultado sempre que o procedimento é executado (BRASIL, 2003; USP 30, 2007; RIBANI, 2004). Já a exatidão de um método representa a proximidade entre os resultados obtidos experimentalmente e o seu valor real (BRASIL, 2003).

2.8. Ultrassom

O ultrassom tem sido amplamente utilizado nas mais variadas áreas, como engenharia, biologia, bioquímica, odontologia, medicina, geologia, química e farmacêutica. Já é bem conhecida a sua utilização na ruptura celular, na limpeza de materiais, no tratamento e diagnóstico de doenças, na síntese orgânica e cristalização de substâncias e na extração de compostos (MASON; LORIMER, 1989; JAMBRAK et al., 2008; COSTA et al., 2011). No entanto, a aplicação do ultrassom para promover um aumento da solubilidade e dissolução de sólidos pouco solúveis é relativamente recente (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000; KANNAN; PATHAN, 2004; SANDILYA; KANNAN, 2010).

O aumento da solubilidade e da dissolução de sólidos promovida pelo ultrassom, tem despertado o interesse de vários setores como o farmacêutico, a engenharia química, e a engenharia de alimentos. No setor farmacêutico, a melhora da dissolução e solubilidade de um sólido pouco solúvel em um solvente promovida pelo ultrassom beneficia tanto a extração de substâncias ativas bem como a dissolução e solubilidade de compostos farmacêuticos (SANDILYA; KANNAN, 2010).

A ação do ultrassom sobre as substâncias se dá por meio de processos mecânicos e químicos promovidos pela cavitação acústica. Efeitos mecânicos são causados por ondas de choque ou microjatos formados durante a cavitação. Já os efeitos químicos são devido à implosão de microbolhas, que geram radicais livres com uma grande propensão para reação (JAMBRAK et al., 2010; SUSLICK, 1990; HAGENSON; DORAISWAMY, 1998). A cavitação também eleva pontualmente a temperatura da solução, o que também ajuda no aceleração das reações (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000).

O ultrassom é uma onda acústica com frequência superior ao limite do ouvido humano. Um limite arbitrário de 20 kHz é geralmente usado como limite mínimo para o ultrassom. Ondas acústicas promovem a transferência de energia sem promover a transferência de massa. No caso de um fluido, uma onda acústica é caracterizada por um aumento seguido de uma diminuição na pressão local do fluido (MORTIMER, 1982).

A cavitação é um efeito que ocorre em líquidos e pode ser definida de maneira ampla como o aparecimento, expansão e redução de novas superfícies em um fluido (NEPPIRAS, 1980). A cavitação acústica considerada no presente trabalho consiste de três etapas: formação, crescimento e violento colapso de pequenas bolhas em um líquido. De maneira simplificada, as ondas acústicas geradas pelo aparelho de ultrassom levam a pressão em um ponto do fluido a um valor inferior à pressão de vapor do fluido. Isso gera uma bolha. Como a onda se move pelo meio, a pressão no local da bolha volta a subir, gerando o colapso dessa bolha (JAMBRAK et al., 2010; SUSLICK, 1990).

Como dito anteriormente o ultrassom tem aumentando significativamente a solubilidade de sólidos pouco solúveis em um determinado sistema. A explicação para tal fato parece estar relacionada com a indução de uma supersaturação do sólido pouco solúvel no sistema líquido (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000; SANDILYA; KANNAN, 2010). Existem duas conjunturas para a causa dessa supersaturação, ambas ligadas à cavitação induzida pelo aparelho de ultrassom levantadas por Thompson e Doraiswamy (2000).

Uma das conjunturas é que quando a bolha implode, o fluido que ocupa o espaço da bolha fica no estado supercrítico devido à alta pressão e temperatura local. Quando uma bolha implode pode gerar uma pressão de 300 atm e temperaturas de 5000 K. Como solutos pouco solúveis em um líquido podem se tornar solúveis no mesmo líquido quando este se encontra no estado supercrítico, conjectura-se que parte do soluto é dissolvido nesses pontos. O solvente retém uma memória dessa solubilidade mais alta, o que resulta numa solubilidade acima do limite da solução (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000).

A segunda conjuntura se baseia no efeito Gibbs-Thomson. De maneira simples esse efeito pode ser verificado como a dissolução continuada de pequenas partículas de soluto, menores que 1 μm , mesmo após o limite de solubilidade ser atingido. Esse efeito está ligado à tensão superficial do líquido. De maneira resumida, o nível energético necessário para manter várias superfícies pequenas ao redor de várias partículas pequenas de soluto é maior que o nível energético necessário para se ter uma única superfície ao redor de uma partícula grande com o mesmo volume. Isso leva à dissolução de pequenas partículas para posterior decantação de partículas maiores (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000).

Nessa segunda conjuntura a cavitação ajuda ao gerar pequenas ondas de choque durante a implosão. Essas ondas de choque disparam pequenas partículas próximas à implosão em grande velocidade. O choque entre essas partículas aceleradas e outras partículas do soluto gera uma fragmentação das partículas em partículas menores. No caso em que as partículas são muito maiores que as bolhas, as implosões geram microjatos que corroem a superfície da partícula de soluto, também gerando partículas bem menores (THOMPSON; DORAISWAMY, 2000).

Como pode ser concluído desta revisão da literatura, o PRX é um potente AINE que tem sido cada vez mais utilizado para diversas finalidades. No entanto, como é um fármaco de classe II, o PRX apresenta baixa solubilidade, que, na maioria das vezes, é responsável pela pequena e irregular absorção deste fármaco por via oral. Em função dos fármacos pertencentes a esta classe apresentarem uma boa correlação *in vitro* – *in vivo*, estudos tem sido realizados com objetivo de aumentar sua solubilidade e taxa de dissolução e, consequentemente promover uma maior absorção e biodisponibilidade dos mesmos. Para isto, a produção de dispersões sólidas com carreadores hidrossolúveis é uma técnica promissora, e que se torna ainda mais eficiente, rápida e segura quando associada à preparação de micropartículas usando o *spray congealing*. Considerando todo o contexto, este trabalho teve como objetivo produzir, avaliar e caracterizar dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing* na tentativa de aumentar a sua solubilidade, taxa de dissolução e consequentemente a biodisponibilidade deste fármaco.

Objetivos

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

O objetivo deste estudo foi produzir, avaliar e caracterizar dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam obtidas por *spray congealing*.

3.2. Objetivos específicos

- Produzir misturas físicas e dispersões sólidas de PRX com diferentes carreadores, usando a técnica de fusão, com a finalidade de avaliar a influência dos carreadores sobre a solubilidade deste fármaco em água.
- Estudar, por meio de um planejamento fatorial completo, o processo de mistura ultrassônica e suas influências na solubilidade do PRX em água.
- Avaliar e caracterizar as dispersões sólidas e as misturas físicas de PRX que apresentaram maior solubilidade em água, com o intuito de verificar se houve alterações significativas do fármaco e se o processo de obtenção de dispersões sólidas, pelo método da fusão, foi termicamente seguro.
- Produzir, por *spray congealing*, dispersões sólidas microparticuladas contendo PRX.
- Utilizar o planejamento experimental Box-Benhken no processo de *spray congealing* para estudar as variáveis do processo e suas influências nas micropartículas de PRX.
- Avaliar e caracterizar as dispersões sólidas micropartículas de PRX obtidas no processo de *spray congealing*.

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

O piroxicam foi obtido da Pharmanostra Ltda (Brasil). O Gelucire[®] 50/13 e Gelucire[®] 44/14 foram fornecidos pela Gattefossé Co. (França). O PEG 6000, PEG 4000 e Polissorbato 80 foram obtidos da Henrifarma Ltda (Brasil) e o Poloxamer 407 da Viafarma Ltda (Brasil).

Os principais equipamentos utilizados foram:

- Balança analítica e semi-analítica Explorer, Ohaus INC (EUA)
- Espectrofotômetro UV-Vis modelo M 330, Camspec Ltd. (Reino Unido);
- Sonicador ultrassônico modelo DES500, Unique Group (Brasil);
- Difrator de raios-X modelo D5005, Siemens Co. (EUA);
- *Spray congealing* o qual consiste de um aparelho de *spray dryer* modelo MSD 0.5, Labmaq do Brasil Ltda (Brasil) acoplado a um sistema de resfriamento de ar;
- Vibrador de tamises modelo 01/02 Bertel Ltda (Brasil);
- Aparelho de DSC modelo DSC 822e 500, Mettler Toledo (EUA - Suíça);
- Aparelho de TGA modelo TGA-50, Shimadzu Co. (Japão);
- FT-IR modelo Protegé 460, Nicolet Ltd. (EUA);
- Microscópio eletrônico de varredura modelo SS-550, Shimadzu Co. (Japão);
- Dissolutor modelo NE299/6, Nova Ética Ltda (Brasil).

4.1. Quantificação do Piroxicam por espectrofotometria UV-Vis

Para identificar o comprimento de onda de máxima absorção do PRX no espectrofotômetro UV-Vis, foi feita uma varredura entre 250-400nm a partir de uma solução de 10 µg/mL de PRX em água e em meio gástrico simulado sem pepsina.

Com o objetivo de garantir a qualidade, segurança e confiabilidade da quantificação do PRX realizada pela metodologia analítica por espectrofotometria UV-Vis, a mesma foi validada. A validação foi realizada conforme descrito pela ANVISA, no “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”, e foi baseada nos parâmetros analíticos de linearidade, seletividade, precisão e exatidão (BRASIL, 2003).

• *Linearidade*

A avaliação da linearidade do método foi feita construindo uma curva analítica do PRX em água e outra em meio gástrico simulado sem pepsina. Para a construção das curvas analíticas foi preparada uma solução estoque de 0,5mg/mL de piroxicam em metanol (USP 30, 2007). A partir desta solução estoque foram feitas, diluições em água e em meio gástrico

simulado sem pepsina obtendo soluções com as concentrações de 3, 5, 10, 15 e 18 µg/mL de PRX em água e 2, 4, 6, 8, 10 e 12 µg/mL de PRX em meio gástrico simulado sem pepsina. Estes dois procedimentos foram realizados em triplicata.

Utilizando a relação entre as concentrações e suas respectivas absorbâncias, foram construídas as curvas analíticas. A análise estatística dos dados foi feita utilizando o método de regressão dos mínimos quadrados e expressa pela equação de primeira ordem $y = ax + b$. As faixas lineares foram calculadas usando o coeficiente de correlação linear (r), com valor mínimo aceitável de 0,99 (BRASIL, 2003).

- **Seletividade**

A fim de avaliar a seletividade do método, foi estudada a interferência dos carreadores utilizados no estudo na quantificação do PRX por espectrofotometria UV-Vis, em comprimento de onda de 359 nm e 333 nm. Para isto foram preparadas, em triplicata, soluções, em água e em meio gástrico simulado sem pepsina, contendo as mesmas concentrações de carreadores utilizadas nas amostras de misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas produzidas. As soluções foram filtradas, em filtro de membrana Millipore 0,22µm, antes de cada leitura no espectrofotômetro UV-Vis. ($\lambda = 359$ nm e 333 nm).

- **Precisão**

Para verificar a precisão intra-corrida e inter-corrida foram utilizadas três concentrações diferentes (baixa, média e alta), dentro do intervalo linear. As concentrações analisadas foram 3, 10 e 18 µg/mL de PRX em água e 2, 8 e 12 µg/mL de PRx em meio gástrico simulado sem pepsina. Cada concentração foi feita em triplicata e as análises foram realizadas em três dias consecutivos. Os resultados obtidos foram expressos por meio do coeficiente de variação (CV), de acordo com a Equação 2:

$$CV(\%) = \left(\frac{DP}{CME} \right) \times 100$$

Equação 2

onde CV corresponde ao coeficiente de variação, DP ao desvio padrão e CME à concentração média experimental.

Os cálculos foram feitos considerando 5% como sendo o valor máximo para o coeficiente de variação (BRASIL, 2003).

- **Exatidão**

A exatidão intra e inter-corrida do método foi analisada utilizando as mesmas concentrações de 3, 10 e 18 µg/mL de PRX em água e de 2, 8 e 12 µg/mL de PRx em meio gástrico simulado sem pepsina. As concentrações foram feitas em triplicata e as análises foram realizadas em três dias consecutivos. Os resultados foram expressos por meio da relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, como pode ser visto na Equação 3. O desvio máximo aceitável foi de 5% (BRASIL, 2003).

$$Exatidão(\%) = \left(\frac{CME}{CT} \right) \times 100$$

Equação 3

Na equação acima CME é a concentração média experimental e CT a concentração teórica.

4.2. Produção das misturas físicas de PRX

Misturas físicas nas concentrações de 10 15 e 20% (m/m) de PRX foram produzidas utilizando os seguintes carreadores: Gelucire® 50/13, PEG 6000, PEG 4000 e mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 na proporção de 8:1.

Para o preparo das misturas físicas, os polímeros foram triturados em um triturador, tamizados para um tamanho entre 600-710µm e misturados a quantidades suficientes de PRX. Em seguida, cada mistura foi homogeneizada manualmente, em recipiente adequado, por 10 minutos.

4.3. Produção das dispersões sólidas de PRX pelo método da fusão

As dispersões sólidas de PRX foram produzidas nas concentrações de 10, 15 e 20% (m/m) de PRX utilizando os polímeros Gelucire® 50/13, PEG 6000, PEG 4000, e mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 na proporção de 8:1 respectivamente. Duas dispersões sólidas adicionais, na concentração de 10% de PRX, foram produzidas. A primeira foi feita usando como carreador uma mistura de PEG 4000 e Polissorbato 80 na proporção de 1:8:1 (PRX:PEG4000:Polissorbato80) e a segunda uma mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 na proporção de 1:8,5:0,5 (PRX:PEG4000:Poloxamer407).

O preparo das dispersões sólidas foi feito utilizando o método da fusão. O carreador foi aquecido a uma temperatura de aproximadamente 10°C acima do seu ponto de fusão.

Após a completa fusão do carreador o PRX foi adicionado e a amostra foi homogeneizada. Em seguida, o material fundido foi refrigerado a uma temperatura de aproximadamente -12°C por 24 horas. Posteriormente, cada amostra foi triturada, por meio de um triturador, e tamisada para que o tamanho das partículas ficasse entre 600 e $710\mu\text{m}$.

A homogeneização do PRX ao carreador fundido foi realizada de duas formas. Na primeira, o PRX foi misturado ao carreador por meio de uma agitação manual com auxílio de um bastão de vidro. Já na segunda, a mistura do fármaco e carreador foi feita por sonicação (Figura 8). Assim, as amostras foram submetidas à ação de um sonicador ultrassônico (também conhecido como homogeneizador ultrassônico e/ou ultrassom de haste) com frequência ultrassônica de 19 KHz, por 10 minutos a uma potência de 100% (500 W) antes de serem resfriadas.

Figura 8. Esquema da homogeneização com sonicador ultrassônico.

Para uma análise mais precisa da interferência da sonicação na solubilidade do PRX em água, foi realizada um planejamento fatorial completo, com três níveis e duas variáveis, e mais duas replicatas no ponto central, totalizando 11 experimentos (3^2+2). A Tabela 2 mostra as duas variáveis escolhidas para serem analisadas (tempo e potência) e os níveis selecionados na sua forma codificada, -1 (nível baixo), 0 (nível médio) e 1 (nível alto) e nos seus valores reais.

Tabela 2. Planejamento fatorial para produção de dispersões sólidas utilizando o sonicador ultrassônico.

Experimento	Tempo (codificado)	Potência (codificado)	Tempo (minutos)	Potência (%)
1	-1	-1	2	25
2	-1	0	2	60
3	-1	1	2	95
4	0	-1	6	25
5	0	0	6	60
6	0	1	6	95
7	1	-1	10	25
8	1	0	10	60
9	1	1	10	95
10	0	0	6	60
11	0	0	6	60

*100% de potência corresponde a 500 Watts.

4.4. Produção das micropartículas de PRX por *spray congealing*

Para o preparo das micropartículas de PRX por *spray congealing* foi utilizado um *spray dryer* (modelo MSD 0.5, Labmaq do Brasil Ltda) modificado, acoplado a um sistema de resfriamento de ar. Em todos os experimentos o aparelho operou utilizando o modo co-corrente e um bico atomizador duplo fluido, com orifício de saída de 1,2 mm. Os fatores do processo descritos na Tabela 3 permaneceram fixos em todos os experimentos. A temperatura do ar de saída foi controlada durante todo o tempo, ficando em $18 \pm 2^\circ\text{C}$ em todos os experimentos.

Tabela 3. Parâmetros do processo de *spray congealing* com valores fixos.

Parâmetros	Valores fixos
Concentração de PRX no carreador	10%
Pressão do ar de resfriamento	3 bar
Temperatura da fita aquecedora	100°C
Temperatura do banho de óleo vegetal	150°C
Vazão do ar de atomização	50 L/min
Pressão de atomização	6 bar
Vazão do ar de resfriamento	1,0 m ³ /min

A preparação das micropartículas foi realizada utilizando um planejamento fatorial do tipo Box-Behnken com três níveis (-1, 0, 1) e três variáveis (X_1 , X_2 , X_3), resultando em um total de 15 experimentos (BOX, HUNTER, HUNTER, 1978). As variáveis escolhidas para serem analisadas foram temperatura da dispersão de PRX no carreador (TD), a porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL) e vazão de atomização da dispersão (VAD). A Tabela 4 mostra estas três variáveis estudadas com os seus níveis na forma codificada, -1 (nível baixo), 0 (nível médio) e 1 (nível alto), e não codificada, onde X_1 , X_2 , X_3 , correspondem aos valores codificados de temperatura da dispersão de PRX no carreador, porcentagem de Poloxamer 407 na amostra e vazão de atomização da dispersão, respectivamente.

Tabela 4. Planejamento fatorial do tipo Box-Behnken para a produção das dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing*.

Experimento	X_1	X_2	X_3	TD (°C)	%POL (m/m)	VAD (mL/min)
1	-1	-1	0	70	10	4
2	1	-1	0	110	10	4
3	-1	1	0	70	30	4
4	1	1	0	110	30	4
5	-1	0	-1	70	20	2
6	1	0	-1	110	20	2
7	-1	0	1	70	20	6
8	1	0	1	110	20	6
9	0	-1	-1	90	10	2
10	0	1	-1	90	30	2
11	0	-1	1	90	10	6
12	0	1	1	90	30	6
13	0	0	0	90	20	4
14	0	0	0	90	20	4
15	0	0	0	90	20	4

* X_1 - TD codificado. X_2 - %POL codificado. X_3 - VAD codificado TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. %POL - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão.

Todas as dispersões sólidas microparticuladas de PRX produzidas por *spray congealing* foram feitas utilizando a concentração de 10% de PRX (m/m). Dessa maneira, os

valores de 10, 20 e 30 de %POL (m/m) presentes na Tabela 4 correspondem, a formulações de 1:8:1, 1:6:3 e 1:7:2 de PRX:PEG4000:Poloxamer 407, respectivamente.

Para o preparo das micropartículas, primeiramente foram pesadas, separadamente, quantidades suficientes de PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407 para cada experimento. Em seguida PEG 4000 e Poloxamer 407 foram misturados e fundidos. No material fundido foi adicionado gradualmente o PRX. A homogeneização do PRX ao carreador foi feita por um sonicador ultrassônico por 10 minutos a 95% (475 W) de potência. As misturas foram mantidas, por todo o tempo, às temperaturas de 70, 90 e 110°C conforme o planejamento fatorial da Tabela 4.

O material fundido e já homogeneizado foi mantido em um banho de glicerina nestas mesmas temperaturas correspondentes. Após o equilíbrio térmico entre a amostra e o banho ter sido alcançado, a amostra foi bombeada até o bico atomizador por uma bomba peristáltica de vazão controlada.

Com a finalidade de evitar que a amostra solidificasse antes de ser pulverizada, o bico atomizador, a mangueira de silicone e a cabeça da bomba foram mantidos aquecidos, durante todo o tempo. O primeiro foi aquecido pela circulação de óleo quente na camisa do extensor do bico atomizador (proporcionado por uma segunda bomba peristáltica). Já a mangueira de silicone e a cabeça da bomba tiveram seu aquecimento mantido por uma fita aquecedora (Fisatom Ltda, Brasil) e uma manta elétrica, respectivamente.

No bico atomizador pneumático a mistura foi então pulverizada na câmara, onde, devido à presença do fluxo de ar de resfriamento ($\sim 18^{\circ}\text{C}$), houve a solidificação das gotículas, formando as micropartículas. Estas foram coletadas, com o auxílio de um ciclone, em um frasco coletor.

4.5. Solubilidade das misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas

A análise da solubilidade do PRX em água foi feita para todas as misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas produzidas. A solubilidade do PRX puro foi usada para comparação. A realização do ensaio de solubilidade foi baseado na metodologia de Damian et al. (2000).

Para que a saturação do meio fosse garantida em todos os experimentos, os ensaios de solubilidade foram realizados usando uma concentração teórica de 2 mg/mL de PRX em água. Dessa maneira, quantidades variadas das dispersões sólidas, misturas físicas e PRX foram pesadas e adicionadas a um Erlenmeyer contendo 10mL de água. A quantidade de cada amostra foi variada de modo a sempre adicionar 20 mg de PRX ao Erlenmeyer. As amostras

foram mantidas à temperatura de $37 \pm 2^\circ\text{C}$ e sob agitação magnética por 48 horas. Após este período as amostras foram filtradas em filtro de membrana Millipore de $0,22 \mu\text{m}$ e suas absorbâncias foram determinadas em espectrofotômetro UV-Vis em comprimento de onda de 359 nm. A quantidade de PRX solubilizado foi calculada usando uma curva analítica de calibração do PRX em água. Os experimentos foram realizados em triplicata.

4.6. Avaliação das micropartículas produzidas por *spray congealing*

Para a avaliação das dispersões sólidas microparticuladas de PRX produzidas por *spray congealing*, foram realizados ensaios com todos os 15 microparticulados obtidos seguindo o planejamento fatorial Box-Behnken estudado no *spray congealing*. Os ensaios realizados foram: distribuição granulométrica; propriedades de fluxo (ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner); e teor de fármaco presente nas micropartículas.

4.6.1. Distribuição granulométrica das micropartículas

A distribuição granulométrica das micropartículas foi realizada por meio da análise do diâmetro médio (D_{50}) das mesmas. Esta característica é importante porque, além de interferir significativamente na absorção de um fármaco, é um dos fatores responsáveis pela uniformidade ideal do fármaco em formas farmacêuticas sólidas (ANSEL, POPOVIC, ALLEN JR, 2000).

Existem diferentes métodos para a determinação do tamanho de partícula. No presente estudo foi utilizado o método da tamisação, uma vez que este método é o mais utilizado para a avaliação quantitativa da distribuição de tamanho das partículas devido a sua fácil execução. (ANSEL, POPOVIC, ALLEN JR, 2000).

A distribuição granulométrica foi realizada para as micropartículas referentes a todos os 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken estudado no *spray congealing* e foi feita por meio de um conjunto de tamises (Bertel Ltda) com aberturas de malha de 25, 45, 63, 106, 150, 250, 355 e $500 \mu\text{m}$. Todos os experimentos foram realizados em triplicata e com 0,5 g de amostra.

Para a determinação do tamanho das micropartículas, primeiramente, cada tamis foi pesado separadamente. Em seguida, o conjunto de tamises foi montado em um vibrador de tamises (Bertel Ltda, Brasil) modelo 01/02 e a amostra foi adicionada sobre o conjunto de tamises. A vibração foi realizada por 10 minutos e com intensidade controlada no nível 8. Após este tempo, cada tamis foi novamente pesado. A massa referente às micropartículas

retidas em cada malha foi determinada pela diferença entre a massa do tamis contendo as micropartículas e a massa do tamis vazio. A partir desses dados foram calculadas as porcentagens de distribuição granulométrica relativa e acumulativa. O diâmetro médio das partículas (D_{50}) foi obtido a partir da Equação 4.

$$D_{50}(\mu m) = \frac{\sum_i^n (M_i \% \times T_i)}{100}$$

Equação 4

onde $M_i\%$ é a massa, em porcentagem, da amostra retida no tamis e T_i é o tamanho da abertura da malha do tamis, em μm .

4.6.2. Propriedades de fluxo das micropartículas: Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner

Devido ao grande uso de formas farmacêuticas sólidas nas indústrias farmacêuticas, existem na literatura diversos métodos utilizados para estudar as propriedades de fluxo dos pós farmacêuticos. No entanto, pelo fato dos pós apresentarem um comportamento multifacetado, nenhum método sozinho consegue caracterizar adequadamente suas propriedades de fluxo. Assim o estudo das propriedades de fluxo das dispersões sólidas microparticuladas de PRX produzidas por *spray congealing* foi realizado por meio de três métodos: Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner (USP 30, 2007). Essas análises foram realizadas para os 15 experimentos do planejamento fatorial Box Behnken aplicado na produção das micropartículas por *spray congealing*.

4.6.2.1. Ângulo de Repouso

A análise do ângulo de repouso (α) das micropartículas obtidas por *spray congealing* foi realizada por meio de um sistema composto por um funil de abertura (diâmetro interno) de 11,5 mm e uma base de diâmetro de 36,1 mm, que funcionou como um suporte para a amostra. A altura da saída do funil com relação à base foi fixada em 38,0 mm (Figura 9).

Figura 9. Esquema representativo para medida do ângulo de repouso (MARTINS, 2010)

Para a determinação do ângulo de repouso 1,0 g de amostra, previamente pesada, foi colocada no funil e a altura do cone formado pela amostra foi medida com o auxílio de um paquímetro. As análises foram realizadas em quintuplicata para cada experimento e o ângulo de repouso foi calculado como mostra a Equação 5:

$$\tan(\alpha) = \frac{h}{r}$$

Equação 5

onde, h é a altura do cone formado pela amostra (mm); e r o raio da base circular (mm).

De acordo com os valores do ângulo de repouso obtidos, cada experimento teve sua propriedade de fluxo classificada de excelente a extremamente ruim conforme a classificação da USP, 30 (2007) mostrada na Tabela 5.

Tabela 5. Propriedade de fluxo conforme ângulo de repouso (USP 30, 2007).

Propriedade de fluxo	Ângulo de repouso (°)
Excelente	25 – 30
Bom	31 – 35
Moderado	36 – 40
Tolerável	41 – 45
Ruim	46 – 55
Muito ruim	56 – 65
Extremamente ruim	> 66

4.6.2.2. Índice de Carr e Fator de Hausner

Para a determinação do Índice de Carr (IC) e Fator de Hausner (FH) das micrpartículas de PRX produzidas por *spray congealing* foi feito, primeiramente, a análise das densidades aparente e compactada das mesmas. Os testes para determinação das densidades aparente e compactada foram realizados em triplicata.

Para a determinação das densidades adicionou-se 1,0 g de amostra previamente tamisada em uma proveta graduada de 10 mL e determinou-se o volume inicial (V0) ocupado pela mesma na proveta. A tamisação da amostra é feita para dispersar possíveis aglomerados que possam se formar durante a estocagem.

A densidade aparente (ρ_a) foi obtida pela razão da massa de amostra adicionada à proveta (1,0 g) e seu respectivo volume ocupado (mL), como mostrado na Equação 6.

$$\rho_a \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{massa da amostra}}{\text{volume inicial}}$$

Equação 6

Para se obter a densidade compactada (ρ_c) a mesma amostra, ainda na proveta, foi submetida à compactação manual até o volume final (V_f) permanecer constante. Utilizando este volume final (mL) e a massa da amostra original (1,0 g), foi calculada a densidade compactada como indicado a Equação 7.

$$\rho_c \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right) = \frac{\text{Massa da amostra}}{\text{Volume final}}$$

Equação 7

Apesar de existirem algumas variações nos métodos de determinação do Índice de Carr e Fator de Hausner, o procedimento básico é a medida do volume aparente (V_0) e do volume compactada (V_f) ou da densidade aparente (ρ_a) e da densidade compactada (ρ_c). Assim, o Índice de Carr (IC) e o Fator de Hausner (FH) foram calculados a partir dos valores das densidades aparente (ρ_a) e compactada (ρ_c) conforme a Equação 8 e a Equação 9.

$$IC(\%) = \left(\frac{\rho_c - \rho_a}{\rho_c} \right) \times 100$$

Equação 8

$$FH = \frac{\rho_c}{\rho_a}$$

Equação 9

Os valores gerados pelas duas equações acima permitiram classificar o fluxo das micropartículas de excelente a extremamente ruim. A classificação do Índice de Carr e do Fator de Hausner é dada pela escala representada na Tabela 6 (USP 30, 2007).

Tabela 6. Propriedade de fluxo com relação ao Índice de Carr e Fator de Hausner (USP 30, 2007).

Índice de Carr (%)	Propriedade de fluxo	Fator de Hausner
10	Excelente	1,00 – 1,11
11 – 15	Bom	1,12 – 1,18
16 – 20	Moderado	1,19 – 1,25
21 – 25	Tolerável	1,26 – 1,34
26 – 31	Ruim	1,35 – 1,45
32 – 37	Muito ruim	1,46 – 1,59
> 38	Extremamente ruim	> 1,60

4.6.3. Teor de fármaco presente nas micropartículas

A determinação do teor de fármaco (PRX) foi feita para as micropartículas referentes a todos os 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*. Para a realização do ensaio quantidades suficientes de micropartículas para se obter uma concentração teórica de 10 µg/mL de PRX foram adicionadas a 30 mL de metanol:meio gástrico simulado sem pepsina na proporção de 2:3 respectivamente. As amostras foram mantidas por 30 minutos em banho de ultrassom e posteriormente filtradas, em filtro de membrana Millipore de 0,22 µm, e lidas em espectrofotômetro UV-Vis em 333 nm. A quantidade de PRX extraída de cada experimento foi calculada usando uma curva analítica de calibração do PRX em metanol:meio gástrico simulado sem pepsina (2:3). Todas as análises foram realizadas em triplicata.

O teor de fármaco presente nas micropartículas foi calculado por meio da Equação 10:

$$TF(\%) = \left(\frac{Q_{obtida}}{Q_{teórica}} \right) \times 100$$

Equação 10

onde, TF% é o teor de fármaco (PRX), em porcentagem, presente nas micropartículas; Q_{obtida} é a concentração de PRX extraída das micropartículas; $Q_{teórica}$ é a concentração de PRX teoricamente presente nas micropartículas (10 µg/mL).

4.7. Caracterização das misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas

A caracterização das misturas físicas e dispersões sólidas foi realizada para três amostras contendo PRX:PEG4000:Poloxamer407 nas proporções de 1:8:1. Estas amostras foram: uma mistura física, uma dispersão sólida produzida sem o sonificador ultrassônico e uma dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência. Já a caracterização das dispersões sólidas microparticuladas foi feita por meio das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado na técnica de *spray congealing*. Como meio de comparação, foi realizado também a caracterização do PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407 puro.

Os ensaios realizados para a caracterização foram difração de raios-X de pó, termogravimetria, calorimetria exploratória diferencial, espectroscopia de infravermelho, microscopia eletrônica de varredura e perfil de dissolução *in vitro*.

4.7.1. Difração de Raios-X de pó

As análises de difração de raios-X de pó foram realizadas por meio de um difratômetro de raios-X, modelo D5005 Bruker-Siemens, equipado com fonte selada de cobre ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) e filtro de níquel. As análises foram realizadas entre 5° e 70° com ângulos de incidência 2θ , velocidade angular de $0,02^\circ/\text{s}$, voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA.

4.7.2. Termogravimetria (TGA)

As análises termogravimétricas foram feitas pesando aproximadamente 4mg de cada amostra em cadinho de platina. Em seguida cada cadinho foi selado e submetido à análise termogravimétrica no aparelho de TGA modelo TGA-50, Shimadzu Co. Os experimentos foram realizados sob taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ até 500°C utilizando atmosfera de nitrogênio na vazão de 50 mL/min. Os dados obtidos foram analisados através do software TA60 da SHIMADZU.

4.7.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As amostras foram analisadas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) usando um DSC 822e 500 (Mettler Toledo, EUA). Para análise, aproximadamente 3 mg de cada amostra foram pesados em cadinho de alumínio que foram selados e colocados no aparelho para análise. Os termogramas das amostras foram obtidos em atmosfera de nitrogênio a 50 mL/min, sob taxa de aquecimento de $10^\circ\text{C}/\text{min}$, realizado em um intervalo de temperatura de 30 a 300°C . Os resultados obtidos foram avaliados pelo software STAR[®] SW 8.10.

4.7.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

Espectros de infravermelho foram obtidos utilizando um FT-IR Nicolet modelo Protegé 460. Cada amostra foi misturada com brometo de potássio (KBr) em gral de quartzo e prensadas em uma miniprensa gerando discos translúcidos que foram utilizados para as análises. Os experimentos foram feitos no intervalo de número de ondas de $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

4.7.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O estudo morfológico do PRX, das dispersões sólidas e das micropartículas foi realizado por microscopia eletrônica de varredura (MEV). Inicialmente as amostras receberam banho de ouro por 80 segundos no equipamento BAL-TEC modelo SCD050 sputter coater,

Fürstentum Liechtenstein. Em seguida foram colocadas no microscópio eletrônico de varredura SS-550 (Shimadzu Co., Japão) para a captura das imagens.

4.7.6. Perfil de dissolução *in vitro*

Para que em todos os ensaios de dissolução fossem mantidas as condições *sink*, primeiramente foi realizado o estudo da solubilidade do PRX em meio gástrico simulado sem pepsina. Assim, um excesso de fármaco foi adicionado em um Erlenmeyer contendo 10 mL deste meio. Estas amostras foram mantidas a $37 \pm 2^\circ\text{C}$ e sob agitação durante 48 horas. Após este período, as amostras foram filtradas em filtro de membrana Millipore de $0,22\ \mu\text{m}$ e suas absorbâncias foram medidas em espectrofotômetro UV-Vis, utilizando comprimento de onda de 333 nm. A quantidade de PRX solubilizado foi então calculada usando a curva analítica de calibração de PRX em meio gástrico simulado sem pepsina.

Os ensaios de dissolução *in vitro* foram realizados adaptando-se a metodologia de dissolução do PRX em cápsula da USP 30 (2007) e utilizando o aparato de tipo pá (aparato 2). Para garantir as condições *sink*, em cada cuba de dissolução foi adicionado quantidade de amostra equivalente a $8 \pm 0,1\ \text{mg}$ de PRX. No caso das micropartículas, a quantidade de amostra utilizada levou em consideração, além das condições *sink*, o teor de fármaco obtido para cada experimento.

Os ensaios foram realizados por 60 minutos em 900 mL de meio gástrico simulado sem pepsina e a velocidade de rotação das pás foi 50 rpm. Durante os experimentos, alíquotas de 5 mL foram retiradas nos tempos de 2,5; 5; 10; 20; 30; 45 e 60 minutos e repostas com meio de dissolução nesta mesma quantidade para manter o volume total constante. As alíquotas coletadas foram filtradas em filtro de membrana Millipore $0,22\ \mu\text{m}$ e quantificadas por espectrofotometria UV-Vis em comprimento de onda de 333 nm. A quantidade de fármaco dissolvido foi então calculada usando uma curva analítica de calibração de PRX em meio gástrico simulado sem pepsina.

4.8. Forma de análise dos resultados

A análise estatística dos dados foi realizada pela análise de variância por superfície de resposta e foi aplicada às variáveis dos planejamentos experimentais utilizados. Assim, a análise estatística foi aplicada nas variáveis estudadas no planejamento fatorial utilizado no sonificador ultrassônico (tempo e potência) em relação à solubilidade das dispersões sólidas e também nas variáveis do planejamento fatorial Box-Behnken utilizadas na produção das

micropartículas por *spray congealing* (TD, %POL e VAD) em relação aos resultados obtidos para tamanho das micropartículas, ângulo de repouso, Índice de Carr, Fator de Hausner, solubilidade e teor de fármaco dos microparticulados.

Os dados foram analisados estatisticamente pelo software *Statística 7* (Statsoft, EUA) com o módulo visual *General Linear Model* com o objetivo de verificar quais as melhores condições operacionais do *spray congealing*, bem como identificar as condições mais adequadas do sonificador ultrassônico para o aumento da solubilidade. Foram considerados valores significantes apenas aqueles que obtiveram $p < 5\%$.

Resultados e Discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Quantificação do Piroxicam por espectrofotometria UV-Vis

A espectrofotometria UV-Vis é uma técnica bastante utilizada para a quantificação de determinadas substâncias, como os fármacos, por exemplo. Isso acontece devido à simplicidade e ao baixo custo apresentado por esta técnica quando comparada a outras de maior grau de complexidade (JEFERRY et al., 1992).

Para garantir que as leituras realizadas no espectrofotômetro UV-Vis seriam feitas no comprimento de onda de máxima absorção do PRX foi feita a varredura espectral utilizando uma solução de PRX em água e outra em meio gástrico simulado sem pepsina. O comprimento de onda de máxima absorção encontrado foi de 359 nm para a água e 333 nm quando foi utilizado o meio gástrico. No estudo de Karatas, Yüksel, e Baykara (2005) estes mesmos comprimentos de onda foram utilizados para as quantificações de PRX em água e meio gástrico simulado sem pepsina, o que mostra que o valor encontrado na varredura espectral está em conformidade com a literatura. Dessa maneira, estes foram os comprimentos de onda selecionados para as quantificações de PRX por espectrofotometria UV-Vis.

A metodologia analítica por espectrofotometria UV-Vis utilizada para a quantificação de PRX em água e em meio gástrico simulado foi validada. A validação foi realizada baseando nos parâmetros analíticos de linearidade, seletividade, precisão e exatidão.

- **Linearidade**

Para a avaliação da linearidade do método, foi construída uma curva analítica em água e uma em meio gástrico simulado sem pepsina, como pode ser visto na Figura 10.

Figura 10. Curva de calibração do piroxicam em água e em meio gástrico simulado sem pepsina por espectrofotometria UV-Vis em 359 e 333 nm.

As análises estatísticas dos dados feitas utilizando o método de regressão dos mínimos quadrados são apresentadas na Figura 10. O coeficiente de correlação linear (r) obtido para a curva de calibração em água foi 0,9968, enquanto o obtido para a curva de calibração em meio gástrico simulado sem pepsina foi 0,9960. Estes valores mostram que o método é linear nas concentrações estudadas (3 a 18 $\mu\text{g/mL}$ de PRX em água e 2 a 12 $\mu\text{g/mL}$ de PRX em meio gástrico), uma vez que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) é 0,99 (BRASIL, 2003). Isto por sua vez permite assegurar que as absorbâncias obtidas para cada amostra dentro desta faixa são diretamente proporcionais à quantidade de PRX presente na mesma.

• Seletividade

A seletividade do método foi avaliada analisando o grau de interferência dos carreadores usados neste estudo na quantificação do PRX por espectrofotometria UV-Vis em 359 e 333 nm. Os resultados obtidos mostraram que o método foi seletivo para a quantificação de PRX na presença de todos os carreadores estudados, exceto para o Gelucire® 50/13, que apresentou absorbância significativa nestes comprimentos de onda.

Para que descontar as interferências deste polímero na leitura da amostra, utilizou-se o mesmo método adotado por Karatas, Yüksel e Baykara (2005). Assim nas misturas físicas e dispersões sólidas feitas com Gelucire® 50/13, utilizou como branco este polímero, em água ou meio gástrico, contendo a concentração correspondente a cada mistura física e dispersão sólida.

• Precisão e exatidão

Foi verificada a precisão e a exatidão intra e inter-corrida do método analítico de quantificação por espectrofotometria UV-Vis do PRX em água (Tabela 7) e em meio gástrico simulado sem pepsina (Tabela 8).

Tabela 7. Análise da precisão e exatidão intra e inter-corrida do método analítico de quantificação do PRX em água por espectrofotometria UV-Vis em 359 nm.

	Concentração teórica ($\mu\text{g/mL}$)	Concentração média experimental ($\mu\text{g/mL}$)	Precisão (CV%)	Exatidão (%)
<i>Intra-corrida</i>				
	3	$2,988 \pm 0,016$	0,521	99,611
	10	$10,221 \pm 0,081$	0,791	102,210
	18	$17,499 \pm 0,027$	0,154	97,215
<i>Inter-corrida</i>				
	3	$3,051 \pm 0,081$	2,650	101,707
	10	$9,960 \pm 0,095$	0,950	99,605
	18	$17,633 \pm 0,108$	0,611	97,964

*Concentração média experimental $\pm$ desvio padrão ($\mu\text{g/mL}$)

Tabela 8. Análise da precisão e exatidão intra e inter-corrida do método analítico de quantificação do PRX em meio gástrico simulado sem pepsina por espectrofotometria UV-Vis em 333 nm.

	Concentração teórica (µg/mL)	Concentração média experimental (µg/mL)	Precisão (CV%)	Exatidão (%)
<i>Intra-corrida</i>				
	2	2,029 ± 0,014	0,670	101,451
	8	8,178 ± 0,036	0,439	102,225
	12	11,566 ± 0,027	0,235	96,386
<i>Inter-corrida</i>				
	2	2,045 ± 0,024	1,151	102,235
	8	8,170 ± 0,049	0,600	102,127
	12	11,551 ± 0,047	0,407	96,255

*Concentração média experimental ± desvio padrão (µg/mL)

Analisando os dados da Tabela 7 e Tabela 8 pode-se observar que o método utilizado é preciso e exato, uma vez que nenhum dos valores obtidos para o coeficiente de variação (CV%) foi maior que 5% e todos os valores obtidos para a exatidão ficaram entre 95-105% (BRASIL, 2003). É, portanto, possível garantir que os resultados de concentração de PRX obtidos pelo método em estudo estavam muito próximos dos valores reais.

Diante dos resultados de linearidade, seletividade, precisão e exatidão, obtidos para a metodologia analítica por espectrofotometria UV-Vis para a quantificação de PRX, pode-se garantir a qualidade e a confiabilidade analítica dos resultados obtidos.

5.2. Produção das dispersões sólidas de piroxicam

Dispersões sólidas de 10, 15 e 20% (m/m) de PRX foram feitas pelo método da fusão utilizando diferentes carreadores (Gelucire[®] 50/13, PEG 6000, PEG 4000 e Poloxamer 407) e misturas de carreadores (como PEG4000:Poloxamer 407 e PEG 4000:Polissorbato 80), em variadas proporções. Houve também a tentativa da produção de dispersões sólidas de PRX utilizando o Gelucire[®] 44/14 como carreador. Porém, a produção da mesma foi inviável, uma vez que foi impossível triturá-la devido ao baixo ponto de fusão deste polímero.

Primeiramente foram produzidas dispersões sólidas de 10, 15 e 20% de PRX utilizando como carreadores Gelucire[®] 50/13, PEG 6000 e PEG 4000. Como as dispersões sólidas contendo o Gelucire[®] 50/13 não aumentaram a solubilidade do PRX em água, e ainda

devido ao fato deste polímero ter apresentado interferência na leitura do PRX ($\lambda = 359$ e 333 nm), este carreador foi descartado.

Como as dispersões sólidas de 10, 15 e 20% (m/m) de PRX em PEG 4000 e PEG 6000 apresentaram um aumento na solubilidade do PRX em água, o segundo passo foi a produção destas dispersões usando um ultrassom de haste (sonicador) na potência máxima do equipamento (100% = 500W) durante 10 minutos. Este tempo foi determinado por meio de estudos preliminares, onde foi observado que um tempo maior de mistura provocava mudanças nas propriedades organolépticas do PRX, como cor e odor.

Com a realização do teste de solubilidade para estas amostras, foi verificado que as dispersões sólidas contendo 10% (m/m) de PRX em PEG 4000 foram as que apresentaram uma maior solubilidade. Dessa maneira, ficou determinado que as próximas dispersões sólidas seriam produzidas utilizando sonicador e 10% de PRX em PEG 4000.

Estudos recentes demonstram que dispersões sólidas ternárias, produzidas com carreadores que possuam características surfactantes, tem conduzido a um aumento na solubilidade de diversos fármacos. Dentre estes carreadores estão o Gelucire® 44/14, polissorbato 80 e Poloxamer 407 (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). Diante desta premissa, foram feitas dispersões sólidas sonicadas contendo 10% de piroxicam em misturas de PEG4000:Polissorbato80 e PEG4000:Poloxamer407. A concentração de polissorbato 80 usado foi de apenas 10%, pois de acordo com Rowe, Sheskey e Owen (2005) uma formulação para uso interno pode conter no máximo 10% deste tensoativo.

Após estudo de solubilidade foi verificado que a dispersão sólida sonicada de PRX:PEG4000:Poloxamer407 (1:8:1) apresentou uma maior solubilidade quando comparada àquelas que continham PRX:PEG4000:Polissorbato80 (1:8:1). Dessa forma, a dispersão sólida sonicada de PRX:PEG4000:Poloxamer407 (1:8:1) foi a escolhida para a realização da próxima etapa, a qual consistiu da preparação destas dispersões sólidas variando as condições do sonicador, de acordo com um planejamento fatorial completo de três níveis e duas variáveis (3^2+2), como mostrado na Tabela 2.

5.3. Avaliação da solubilidade das misturas físicas e dispersões sólidas

O estudo de solubilidade foi realizado com o objetivo de verificar e comparar a influência dos carreadores e do processo de preparação das dispersões sólidas no aumento da solubilidade do PRX. Este estudo foi realizado com as misturas físicas, dispersões sólidas e o PRX. A solubilidade das misturas físicas foi feita a fim de verificar se o processo de obtenção

das dispersões sólidas foi eficaz no aumento da solubilidade. O PRX por sua vez foi utilizado como um controle, ou seja, para verificar o quanto a solubilidade aumentou.

Os resultados deste estudo são apresentados na Figura 11 onde pode ser verificado que todas as misturas físicas, dispersões sólidas e dispersões sólidas sonicadas apresentaram um aumento da solubilidade em água quando comparado ao fármaco puro. Todas as misturas físicas proporcionaram uma solubilidade menor ou no máximo igual ao da respectiva dispersão sólida (Figura 11). Esse fato demonstra que geralmente, para que a melhora da solubilidade de fármacos poucos solúveis seja mais acentuada, não basta uma completa mistura do fármaco com o carreador hidrofílico. É necessário que haja uma interação maior entre ambos, o que ocorre, por exemplo, quando é feita uma dispersão sólida.

A concentração de fármaco presente nas dispersões sólidas ou misturas físicas foi outro fator que, na maioria dos casos, demonstrou interferir na solubilidade do fármaco. Por exemplo, foi verificado que para quase a totalidade das misturas físicas e dispersões sólidas contendo 10% de PRX (m/m) a solubilidade foi maior se comparado às dispersões sólidas e misturas físicas de 15 e 20% (m/m) que possuem o mesmo carreador e processo de produção (Figura 11).

A premissa de que dispersões sólidas de terceira geração promovem um aumento ainda maior da solubilidade, como citado por Vasconcelos, Sarmiento, e Costa (2007), foi comprovada ser verdadeira para o PRX apenas quando a mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 foi utilizada. No entanto, para a dispersão sólida ternária de PRX produzida com mistura de PEG 4000 e polissorbato 80 a mesma não foi verdadeira, pois os valores de solubilidade das dispersões sólidas sonicadas de PRX:PEG4000 (1:9), $45,81 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$, e de PRX:PEG4000:polissorbato80 (1:8:1), $44,95 \pm 0,41 \mu\text{g/mL}$, foram bastante semelhantes (Figura 11). A explicação desse fato provavelmente está na diferença que existe entre as características surfactantes destes dois compostos, Poloxamer 407 e polissorbato 80, adicionado à diferente influência do sonicador sobre os mesmos.

Os valores de solubilidade de $56,36 \pm 0,45 \mu\text{g/mL}$ e $34,38 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$ obtidos, respectivamente, para as dispersões sólidas de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (1:8:1) produzidas usando ou não o sonicador mostraram que o uso do ultrassom na produção de dispersões sólidas pode acentuar o aumento da solubilidade do PRX em água (Figura 11). Novamente, esse aumento provavelmente está relacionado com a supersaturação do sistema devido à cavitação que é gerada durante a homogeneização ultrassônica (ver item 2.8).

Figura 11. Solubilidade em água do piroxicam, em $\mu\text{g/mL}$, presente nas dispersões sólidas e misturas físicas deste fármaco em comparação com o fármaco puro. Pol.80 - Polissorbato 80. Pol.407 - Poloxamer 407. *100% de potência corresponde a 500 Watts.

O teste de solubilidade de todas as onze dispersões sólidas produzidas seguindo o planejamento fatorial completo (3^2+2) mostrou que a solubilidade do PRX variou de $17,58 \pm 0,38 \mu\text{g/mL}$ à $53,80 \pm 0,62 \mu\text{g/mL}$, como pode ser visto na Figura 12.

Figura 12. Solubilidade de dispersões sólidas de PRX em função do tempo e da potência da sonicação. Exp - experimentos referentes ao planejamento fatorial aplicado no sonicator ultrassônico.

Todas as dispersões sólidas deste planejamento apresentaram maior solubilidade em água que o PRX puro ($13,27 \pm 0,14 \mu\text{g/mL}$). Além disso, a dispersão sólida com maior

solubilidade (10 minutos e 95% de potência) exibiu uma solubilidade do PRX em água quatro vezes maior que a deste fármaco puro (Figura 12).

5.4. Análise estatística das variáveis estudados no sonificador ultrassônico e a solubilidade das dispersos sólidas sonicadas

A análise estatística mostrou que o termo linear do tempo (T), o termo linear da potência (P) e a interação dos termos (TxP) exerceram influência significativa ($P < 5\%$) na solubilidade do PRX em água (Tabela 9).

Tabela 9. Análise estatística da solubilidade do PRX em água em função do tempo e da potência da sonicação.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
T	234,375	1	234,375	48,0197	0,096035^a
T ²	4,059	1	4,059	0,8316	40,36304
P	701,785	1	701,785	143,7845	0,007115^a
P ²	27,910	1	27,910	5,7183	6,228709
T x P	144,240	1	144,240	29,5525	0,28575^a
Erro	24,404	5	4,881		

*T- Tempo; P- Potência. ^a Significante com $P < 5\%$.

A Figura 13 mostra a superfície de resposta da solubilidade do PRX em água em função do tempo e da potência utilizados na sonicação.

Figura 13. Gráfico de superfície de resposta da solubilidade das dispersões sólidas em função do tempo e da potência da sonicação.

A análise visual desta superfície de resposta mostra que ambas as variáveis estudadas influenciaram positivamente sobre a solubilidade do PRX em água. A explicação mais provável para tal fato é que quanto maior o tempo de ação do ultrassom e a potência utilizada, maior é o efeito da cavitação sobre o sistema.

5.5. Caracterização das misturas físicas e dispersões sólidas

Como a dispersão sólida de PRX:PEG4000:Poloxamer407 (1:8:1) obtida por sonicação de 10 minutos com potência de 95% (475 W) foi a que apresentou o melhor e mais significativo aumento na solubilidade do PRX, esta foi escolhida para a continuidade do trabalho e a execução das demais análises, tais como difração de raios-X, TGA, DSC, infravermelho e MEV. Para servir como base de comparação, e permitir avaliar a influência do processo e dos polímeros sobre a solubilidade, essas análises foram realizadas também para a mistura física e a dispersão sólida não sonicada de PRX:PEG4000:Poloxamer407 (1:8:1).

5.5.1. Difração de Raios-X

A difração de raios-X de pós foi utilizada no estudo com o objetivo de avaliar se os métodos utilizados para a produção das dispersões sólidas (método da fusão e *spray congealing*), a sonicação e/ou os carreadores utilizados influenciaram na cristalinidade do PRX. Analisando o difratograma do PRX, apresentado na Figura 14, pode-se observar picos de maiores intensidades nos ângulos 8,66; 11,68; 12,54; 14,52; 15,78; 16,68; 17,72; 21,78; 22,50; 26,80; 27,42 e 27,88°. Todos os picos, exceto o 15,78°, foram similares aos encontrados por Fernández et al. (1992), Tantishaiyakul, Kaewnopparat e Ingkatawornwong (1999), Vieira (2008), Wu et al. (2009) e Valizadeh, Zakeri-Milani e Barzegar-Jalali (2007) e indicam a forma cúbica, polimorfo I, do PRX. De acordo com o estudo realizado por Vrecer, Vrbinc e Meden (2003), o pico 15,78° parece indicar a presença da forma II (agulha) do PRX.

O difratograma do PEG 4000 mostrou dois picos característicos de alta intensidade, em 19,30 e 23,42°. Já o Poloxamer 407 apresentou um difratograma padrão, com dois picos característica em 19,14 e 23,34°, como pode ser visto na Figura 14. Estes valores encontrados para o PEG 4000 e Poloxamer 407 foram muito parecidos com os encontrados por Chutimaworapan et al. (2000).

Nas misturas físicas, os picos referentes ao PRX foram muito semelhantes aos presentes no difratograma do fármaco puro, o que indica a forma cristalina do PRX se

manteve a mesma. No entanto os difratogramas das dispersões sólidas foram diferentes dos difratogramas do PRX e da mistura física.

Figura 14. Difratoograma comparativo do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL), mistura física (MF), dispersão sólida sem o uso do sonicator (DS) e dispersão sólida sonicada a 95% de potência por 10 minutos (DSS), produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG4000:Poloxamer407.

Como pode ser observado na Figura 14, nas dispersões sólidas os picos referentes ao PRX foram muito mascarados pelos sinais do PEG 4000, uma vez que este polímero estava em uma quantidade muito maior. No entanto, alguns picos referentes a forma I do PRX podem ser observados.

Ainda com base nos resultados apresentados na Figura 14 é possível notar uma ligeira diferença entre os difratogramas da dispersão sólida sem sonicação e da dispersão sólida sonicada. No difratograma da dispersão sólida sem sonicação ainda é possível identificar os picos em 8,66; 14,52 e 17,72° referentes à forma I do PRX. Apesar de pequeno, é possível observar também neste difratograma o pico em 15,78°, que possivelmente é referente a forma II do PRX. Já ao analisar o difratograma da dispersão sólida sonicada os picos referentes à forma I do PRX estão bem mais atenuados sendo difícil identificar a maioria deles. No entanto, o pico em 15,78° pode ser identificado e é mais acentuado que o seu respectivo no difratograma da dispersão sólida sem sonicação.

Como já mencionado neste trabalho, a solubilidade das formas amorfas são maiores que a de uma forma cristalina. Assim, diante dos resultados apresentados no parágrafo anterior e devido ao fato da solubilidade da dispersão sólida sonicada ter sido maior que a da dispersão sólida sem sonicação, pode-se concluir que a atenuação dos picos no difratograma

da dispersão sólida sonicada provavelmente está relacionada com: i) diminuição da cristalinidade do PRX e consequente aumento da quantidade de amorfos; e/ou ii) transformação da forma polimórfica I do PRX para uma forma mais estável, como a forma II (metaestável). Para se tirar uma conclusão mais precisa é necessário produzir dispersões sólidas sonicadas e sem sonicação com uma maior quantidade de PRX e menor quantidade de PEG 4000.

5.5.2. Termogravimetria (TGA)

TGA é uma técnica que identifica a temperatura de degradação dos materiais analisados, indicando sua estabilidade térmica. Assim, esta técnica foi utilizada com o objetivo de verificar se o fármaco e os polímeros utilizados no presente estudo resistiriam ao processo de obtenção de dispersões sólidas, uma vez que neste processo os materiais foram submetidos ao aquecimento térmico. As análises de TGA do PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407 foram realizadas uma vez que as dispersões sólidas são fabricadas com estes compostos. Uma análise termogravimétrica também foi realizada para a mistura física para determinar se o processo de fabricação das dispersões sólidas promoveu uma interação entre o fármaco e os carreadores.

A Figura 15 mostra o comportamento termogravimétrico do PRX. O fármaco apresentou uma única etapa de decomposição que iniciou à temperatura de 195,54°C terminando em 473,31°C com uma perda de massa de 92,367%.

Figura 15. Curva termogravimétrica do PRX.

A Figura 16 e a Figura 17 mostram os comportamentos termogravimétricos dos polímeros PEG 4000 e Poloxamer 407, respectivamente. Ambos apresentaram uma única etapa de decomposição.

Figura 16. Curva termogravimétrica do PEG 4000

Figura 17. Curva termogravimétrica do Poloxamer 407.

Para o PEG 4000, a etapa de decomposição teve início em 188,31°C e término em 425,12°C, apresentando uma perda de massa de 99,863% (Figura 16). Já a etapa de decomposição do Poloxamer 407 iniciou em 170,89°C e terminou em 409,69°C, apresentando uma perda de massa de 94,132%. (Figura 17).

A Figura 18 mostra os comportamentos termogravimétricos das dispersões sólidas feitas sem sonificador, das dispersões sólidas sonicadas (10 minutos à potência de 95%) e da mistura física. Todas as amostras são de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 nas proporções de

1:8:1. Os resultados do PRX, do PEG 4000 e do Poloxamer 407 puro também foram adicionados para comparação.

Figura 18. Curvas termogravimétricas comparativas do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL), mistura física (MF), dispersão sólida sem o uso do sonicador (DS) e dispersão sólida sonicada por 10 minutos à 95% de potência (DSS) produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG4000:Poloxamer407.

Com base nos resultados apresentados na Figura 18, pode-se observar que todas as amostras apresentaram comportamento semelhante ao do PEG 4000. A análise desta figura, juntamente com os dados apresentados na Tabela 10, permite concluir que as amostras não sofreram nenhum tipo de degradação até aproximadamente 185°C. Como as amostras foram fundidas a aproximadamente 70°C, isso mostra que o processo de obtenção de dispersão sólida pelo método de fusão usado no presente trabalho foi adequado para esses materiais.

Tabela 10. Dados da termogravimetria do fármaco e polímeros isolados e das dispersões sólidas e misturas físicas produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX PEG 4000:Poloxamer 407

Amostras estudadas	Decomposição térmica (°C)	Massa residual (%)
PRX	195,54 – 473,31	7,633
PEG 4000	188,31 – 425,12	0,137
Poloxamer 407	170,89 – 409,69	5,868
Mistura Física	188,91 – 425,41	9,456
Dispersão sólida sem sonicção	185,02 – 423,59	3,606
Dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência	191,48 – 425,43	2,556

5.5.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de DSC foi utilizada para verificar se houve interações entre o PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407 nas dispersões sólidas e mistura física produzidas com PRX:PEG4000:Poloxamer407 na proporção de 1:8:1. Em adição, a análise de DSC da mistura física foi feita com o objetivo de verificar se o processo de preparo das dispersões sólidas promoveu mudanças significativas no perfil térmico de seus constituintes.

A Figura 19 mostra o perfil calorimétrico obtido para o PRX onde é possível observar a presença de dois eventos. O primeiro é um evento endotérmico que se inicia a 200,05°C e termina a 203,83°C, apresentando um pico endotérmico máximo a 201,44°C com entalpia (ΔH) igual a -102,66 J/g. Este evento está relacionado à fusão do PRX e os valores encontrados no presente trabalho são bem próximos aos obtidos por Fernández et al. (1992), Karatas, Yüksel e Baykara (2005) e Wu et al. (2009) onde foram obtidos picos endotérmicos do PRX respectivamente à 201,5°C, 201,95°C e 202°C.

Figura 19. Termograma do PRX obtido por DSC.

De acordo com Vrečer, Srcic e Smid-Korbar (1991) e Vrečer, Vrbinc e Meden (2003), o ponto de fusão da forma polimórfica I do PRX é aproximadamente 202,6°C, enquanto que o da forma II é aproximadamente 199,7°C. Os resultados obtidos no presente estudo mostraram que a fusão do PRX iniciou a 200,05°C – temperatura próxima à de fusão da forma II – e terminou à 203,83°C – temperatura próxima à de fusão do polimorfo I. Além disso, com os

dados obtidos é possível observar que o pico endotérmico máximo obtido ($201,44^{\circ}\text{C}$) é um valor intermediário entre as temperaturas de fusão dos polimorfos I e II do PRX. Dessa forma, pelos valores do termograma do PRX é provável que este fármaco esteja presente na forma polimórfica I e II. Esses resultados são coerentes com os resultados de difração de raios-X obtidos para o PRX.

O segundo evento que aparece no termograma do PRX (Figura 19) é um pico exotérmico à $251,32^{\circ}\text{C}$ com entalpia igual a $138,58\text{J/g}$. De acordo com os resultados obtidos na análise termogravimétrica do PRX e os dados obtidos por Vieira (2008), este pico refere-se à degradação do fármaco.

A Figura 20 mostra perfil calorimétrico do PEG 4000 onde se observa um único pico endotérmico a $61,23^{\circ}\text{C}$, com intervalo de $56,96$ a $65,58^{\circ}\text{C}$ e entalpia igual a $-177,43\text{ J/g}$. Este evento endotérmico é referente à fusão do PEG 4000 e o valor obtido é bem próximo ao retratado na literatura para este polímero, de $57 - 62^{\circ}\text{C}$ (CHUTIMAWORAPAN et al., 2000). A presença deste evento indica a existência de PEG 4000 na forma cristalina, o que é consistente com o aparecimento de picos de difração no difratograma de raios-X obtido para este polímero.

Figura 20. Termograma do PEG 4000 obtido por DSC.

A Figura 21 mostra o perfil calorimétrico do Poloxamer 407, apresentando pico endotérmico a $56,28^{\circ}\text{C}$, com intervalo de $53,74 - 60,11^{\circ}\text{C}$ e entalpia de $-110,69\text{ J/g}$. Este evento endotérmico se refere à fusão do Poloxamer 407. O valor obtido é próximo aos encontrados nos

estudos de Kim et al. (2006) e Newa et al. (2008), onde este polímero apresentou pico endotérmico de fusão em 55°C e 57,29°C respectivamente.

Figura 21. Termograma do Poloxamer 407 obtido por DSC

Os perfis calorimétricos da mistura física, e das dispersões sólidas sonicada (por 10 minutos a 95% de potência) e não sonicada são mostrados na Figura 22 e na Figura 23. Em todos os casos as amostras são de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (1:8:1).

Figura 22. Termograma obtido por DSC da mistura física de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.

Figura 23. Termograma obtido por DSC da dispersão sólida sem uso de sonicator (curva 1) e da dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência (curva 2), produzidas com PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.

Analisando a Figura 22 e a Figura 23 verifica-se que o pico endotérmico referente à fusão do PRX (201,44°C) não foi detectado em nenhuma das amostras estudadas. Este fato também ocorreu nos trabalhos de Vieira (2008), Fernández et al. 1992, Wu et al. (2009), Chutimaworapan et al. (2000), Kim et al. (2006), Newa et al. (2008), Martins (2010) e Machado (2011), onde o pico referente à fusão do fármaco não apareceu nas misturas físicas e/ou dispersões sólidas produzidas com pequena concentração de fármaco.

O desaparecimento do evento térmico referente à fusão do PRX na mistura física e dispersões sólidas estudadas pode ter ocorrido devido a dois fatores: i) os carreadores utilizados (PEG 4000 e Poloxamer 407) se fundem em uma temperatura menor que o PRX o que pode ter promovido a solubilização do fármaco nestes polímeros e ii) a pequena quantidade de PRX nas amostras pode ter impossibilitado a detecção do seu ponto de fusão.

A análise da Figura 22 permite verificar que a mistura física de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 apresentou dois eventos endotérmicos. O primeiro pico endotérmico correu em 52,85°C e apresentou entalpia de -4,00 J/g. Este pico, apesar de ter aparecido em uma temperatura um pouco inferior à obtida para a fusão do Poloxamer 407 (56,28°C), é bem próximo à temperatura em se inicia a fusão deste polímero (53,74°C) como pode ser verificado na Tabela 11. Dessa maneira, este primeiro pico presente no termograma da

mistura física provavelmente se refere à fusão do Poloxamer 407. O baixo valor de entalpia obtido (-4 J/g) quando comparado ao obtido para o Poloxamer 407 isolado ($\Delta H = -110,69$ J/g) é devido a pequena quantidade de Poloxamer 407 (10%) presente na mistura física.

O segundo pico endotérmico que apareceu no termograma da mistura física (Figura 22) ocorre a $60,97^{\circ}\text{C}$ e possui entalpia igual a -99,45 J/g. Este pico se refere à fusão do PEG 4000 presente em 80% na mistura física. No entanto, como mostrado na Tabela 11, sua temperatura foi menor na mistura física quando comparado ao PEG 4000 analisado isoladamente devido à presença do Poloxamer 407, que se funde em uma temperatura menor, acelerando a fusão do PEG 4000.

A análise da Figura 23 mostra que as duas dispersões sólidas estudadas apresentaram apenas um pico endotérmico referente à fusão dos carreadores (PEG 4000 e Poloxamer 407). A presença de um único evento endotérmico revela que nas dispersões sólidas houve uma interação entre os dois polímeros, PEG 4000 e Poloxamer 407, o que não ocorreu na mistura física. Esta interação parece ter sido um pouco maior na dispersão sólida sonicada, pois embora os picos endotérmicos de ambas as dispersões apresentem temperatura e entalpia bem semelhantes (Tabela 11), o pico da dispersão sólida sonicada apresentou um alargamento considerável.

Tabela 11. Dados dos perfis calorimétricos das dispersões sólidas e misturas física produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX PEG 4000:Poloxamer 407 e do fármaco e polímeros isolados

Amostras estudadas	Evento térmico 1		Evento térmico 2	
	Pico ($^{\circ}\text{C}$) (Início – Término)	Entalpia (J/g)	Pico ($^{\circ}\text{C}$) (Início – Término)	Entalpia (J/g)
PRX	201,44 (200,05 – 203,83)	-102,66	251,32 (239,22 – 264,43)	138,56
PEG 4000	61,23 (56,96 – 65,58)	-177,43	—	—
Poloxamer 407	56,28 (53,74 – 60,11)	-110,69	—	—
MF	52,85 (51,73 – 53,81)	-4,00	60,97 (57,83 – 63,22)	-99,45
DS	60,39 (57,37 – 62,42)	-143,22	—	—
DSS	59,31 (55,30 – 61,39)	-145,76	—	—

MF: mistura física; DS: dispersão sólida sem sonicação; DSS: dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência

5.5.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

A análise de espectroscopia de infravermelho (FTIR) foi realizada com o objetivo de avaliar as possíveis interações entre o PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407. Para isso foram avaliadas duas dispersões sólidas e uma mistura física (todas contendo PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1). Foi realizado também o estudo de FTIR para o PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407 isolados, para comparação.

As duas formas polimórficas do PRX, forma I e II, apresentam espectro de FTIR bem semelhantes. Segundo Mihalic et al. (1986), a diferença mais significativa no espectro de infravermelho do PRX referente a estas duas formas polimórficas está relacionada à banda de estiramento da amida –NH ou enol –OH, que tem vibração em 3385 cm^{-1} para a forma II (agulha) e 3330 cm^{-1} para a forma I (cúbica) (MIHALIC et al., 1986; FERNÁNDEZ et al., 1992, VRECER; SRCIC; SMID-KORBAR, 1991; TANTISHAIYAKUL; KAEWNOPPARAT; INGKATAWORNWONG, 1996; VALIZADEH; ZAKERI-MILANI; BARZEGAR-JALALI, 2007).

O espectro de vibração do PRX é apresentado na Figura 24, onde pode ser observado uma banda de estiramento da amida –NH ou enol –OH com alta absorbância em $3338,78\text{ cm}^{-1}$, mostrando a presença da forma I (cúbica) e outra, de menor intensidade, em $3394,71\text{ cm}^{-1}$, que provavelmente indica a presença da forma II (agulha) do PRX. Estes resultados estão de acordo com os resultados da difração de raios-X e do DSC do PRX.

Figura 24. Espectro de vibração de infravermelho do PRX.

A Figura 25 mostra o espectro de vibração do PEG 4000. Este polímero apresentou bandas características de deformação axial simétrica e assimétrica de C-H em $2899,01\text{ cm}^{-1}$ e

2949,16 cm^{-1} (MOOTER et al, 1998; SILVA, 2008). A deformação angular simétrica do plano C-H alifático ocorreu em 1469,76 cm^{-1} . Entre 1153,43 e 1076,28 cm^{-1} ocorrem estiramentos de C-O (SILVA, 2008; CHUTIMAWORAPAN et al., 2000).

Figura 25. Espectro de vibração de infravermelho do PEG 4000.

O espectro de vibração obtido para o Poloxamer 407 é apresentado na Figura 26. Pode ser observado que os perfis espectroscópicos de infravermelho dos dois polímeros utilizados, PEG 4000 e Poloxamer 407, são bem semelhantes, variando pouco os valores das bandas apresentadas por ambos os polímeros.

Figura 26. Espectro de vibração de infravermelho do Poloxamer 407.

Segundo Vyas et al. (2009) o espectro de infravermelho do Poloxamer 407 é caracterizado pelos principais picos de absorção em 2891 cm^{-1} , referente ao estiramento de C-

H alifático, em 1343 cm^{-1} referente ao dobramento planar de O-H, e em 1111 cm^{-1} que corresponde ao estiramento de C-O. Com base na Figura 26, verifica-se que no presente estudo os valores obtidos para estes principais picos foram muito semelhantes aos descritos na literatura. Nas medidas realizadas as bandas ocorreram em $2908,65\text{ cm}^{-1}$ (estiramento de C-H alifático), $1344,38\text{ cm}^{-1}$ (dobramento planar de O-H) e $1118,78\text{ cm}^{-1}$ (estiramento de C-O).

Pode-se observar pelas medidas da mistura física e das dispersões sólidas estudadas que diferenças significantes ocorrem apenas nas regiões de estiramento de -NH ou -OH. O espectro de infravermelho da mistura física mostra apenas uma somatória dos espectros do PRX e dos carreadores utilizados (PEG 4000 e Poloxamer 407), indicando a ausência de interação entre fármaco e polímeros. Em função da maior proporção de carreadores há a predominância dos espectros dos mesmos. Assim, a banda que aparece em $3343,97\text{ cm}^{-1}$, referente à forma I do PRX, é mascarada pela banda referente aos carreadores.

Figura 27. Espectro de vibração de infravermelho da mistura física de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.

O FTIR da dispersão sólida produzida sem uso do sonicador ultrassônico (Figura 28) também revela que não houve interação entre o PRX e os polímeros PEG 4000 e Poloxamer 407, uma vez que houve apenas uma somatória dos espectros do fármaco e polímeros. Embora nesta figura também haja a predominância dos espectros referentes aos polímeros, a banda que aparece em $3340,71\text{ cm}^{-1}$, referente a forma I do PRX, é bem intensa e de fácil visualização.

Figura 28. Espectro de vibração de infravermelho da dispersão sólida de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de (1:8:1) produzida sem a utilização do sonicador ultrassônico.

O espectro de vibração de infravermelho da dispersão sólida sonicada apresentado na Figura 29 mostra que a banda que aparece em 3346,50 cm⁻¹ apesar de estar um pouco deslocada e ser menos intensa que a da dispersão sólida sem sonicção provavelmente se refere também à forma I do PRX. Este deslocamento que ocorreu pode ser devido a uma interação entre o fármaco e os polímeros.

Figura 29. Espectro de vibração de infravermelho da dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência produzida com PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1.

5.5.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi utilizada para se estudar a morfologia do PRX bem como da dispersão sólida produzida sem a utilização do sonicador ultrassônico e da

dispersão sólida sonicada por 10 minutos e 95% de potência (ambas de PRX:PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1).

A fotomicrografia referente ao PRX na Figura 30 mostra que este fármaco está presente predominantemente em sua forma polimórfica I (cúbica). No entanto, apesar de estar em menor quantidade, ainda podem ser observados alguns cristais em forma de agulha (forma II), como os encontrados por Rocha e Poppi (2010) e Wu et al. (2009). A presença das duas formas polimórficas é coerente com os dados obtidos pela difração de raios-X, DSC e FTIR para o PRX.

Figura 30. Fotomicrografias do PRX obtidas por microscopia eletrônica de varredura. Aumento de 500 vezes (A) 1000 vezes (B) e 3000 vezes (C).

As duas dispersões sólidas estudadas (sonicada e não sonicada) de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1 apresentaram formas irregulares (Figura 31 e Figura 32). Além disso, na Figura 31A e Figura 32A (aumento de 500 vezes) pode ser observado que em ambas as dispersões sólidas produzidas o tamanho dos cristais de PRX são menores quando comparados ao fármaco puro. Este fato provavelmente explica a maior solubilidade apresentada pelas dispersões sólidas em relação ao PRX puro.

Figura 31. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da dispersão sólida de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de (1:8:1) produzida sem a utilização do sonicador ultrassônico. Aumento de 500 vezes (A) e 1000 vezes (B).

Figura 32. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura da dispersão sólida sonicada (por 10 minutos e 95% de potência) de PRX: PEG 4000: Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1. Aumento de 500 vezes (A) e 1000 vezes (B).

5.5.6. Perfil de dissolução *in vitro* da mistura física e dispersões sólidas

O perfil de dissolução *in vitro* foi realizado em meio simulado sem pepsina e foi determinado para a mistura física, dispersão sólida sem sonicação e dispersão sólida sonicada (10 minutos e 95% de potência) produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407. Para servir como comparação, foi determinado também o perfil de dissolução do PRX puro. Os resultados obtidos para as amostras estudadas são apresentados na Figura 33 e Tabela 12.

Figura 33. Perfil de dissolução *in vitro* em meio gástrico simulado sem pepsina. PRX - piroxicam puro. MF - mistura física. DS - dispersão sólida sem o uso do sonicador. DSS - dispersão sólida sonicada a 95% de potência por 10 minutos. Os valores representados média da sextuplicata $\pm$ desvio padrão.

Tabela 12. Perfil de dissolução *in vitro* em meio gástrico simulado sem pepsina do PRX puro e das dispersões sólidas e misturas física produzidas na proporção de 1:8:1 de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407.

Taxa de liberação de piroxicam (%)				
Tempo (minutos)	PRX	MF	DS	DSS
0	0	0	0	0
2,5	0	2,03 $\pm$ 0,88	40,17 $\pm$ 0,61	69,77 $\pm$ 0,45
5	3,70 $\pm$ 0,17	13,11 $\pm$ 0,45	62,72 $\pm$ 0,95	92,13 $\pm$ 0,95
10	32,23 $\pm$ 3,02	51,34 $\pm$ 1,51	76,74 $\pm$ 0,51	100,26 $\pm$ 0,51
20	52,81 $\pm$ 1,77	84,48 $\pm$ 1,96	98,11 $\pm$ 0,17	106,93 $\pm$ 0,17
30	64,87 $\pm$ 1,48	92,81 $\pm$ 6,82	100,46 $\pm$ 1,19	107,13 $\pm$ 0,17
45	73,11 $\pm$ 1,99	95,46 $\pm$ 1,22	101,93 $\pm$ 0,17	107,62 $\pm$ 0,29
60	77,42 $\pm$ 0,90	98,40 $\pm$ 0,74	103,70 $\pm$ 1,70	110,66 $\pm$ 1,70

*Concentração média experimental $\pm$ desvio padrão (%). PRX - piroxicam puro. MF - mistura física. DS - dispersão sólida sem o uso do sonicador. DSS - dispersão sólida sonicada a 95% de potência por 10 minutos.

Segundo a USP 30 (2007), não menos que 75% do fármaco deve ser liberado em 45 minutos durante o estudo de dissolução em meio gástrico simulado sem pepsina. De acordo com a Tabela 12 um valor bem próximo a esse foi obtido, uma vez que em 45 minutos houve a liberação de $73,11 \pm 1,99 \%$. No entanto, pode ser observado que mesmo após 60 minutos não há a liberação total do PRX. A baixa liberação do fármaco, em função de sua solubilidade, é responsável pela baixa absorção do fármaco no trato gastro intestinal, como já discutido anteriormente neste trabalho.

Após 2,5 minutos, pode-se observar que o PRX ainda não é liberado, ao passo que na mistura física, dispersão sólida sem sonicação e dispersão sólida sonicada a liberação é de $2,03 \pm 0,88\%$, $40,17 \pm 0,61\%$ e $69,77 \pm 0,45\%$ respectivamente. Em 5 minutos a mistura física, a dispersão sólida sem sonicação e a dispersão sólida sonicada liberaram, respectivamente, 3,5; 16,9 e 24,9 vezes mais que o PRX. Ainda, no último tempo analisado, 60 minutos, a mistura física, e as duas dispersões tiveram uma liberação aproximadamente 1,3 vezes maior que o PRX puro (Tabela 12). De acordo com estes dados e a análise da Figura 33 verifica-se que a mistura física e as duas dispersões sólidas estudadas foram capazes de acelerar a liberação do fármaco além de aumentar a quantidade de PRX que é liberada. Este fato pode ser explicado pela presença dos polímeros hidrofílicos PEG 4000 e Poloxamer 407 adicionado à característica surfactante do Poloxamer 407, como já explicado anteriormente neste estudo.

Apesar de a mistura física ter aumentado a liberação do fármaco, esta só foi total (100%) nas dispersões sólidas (Tabela 12). Isso mostra que uma maior interação entre fármaco e carreador hidrossolúvel promove um aumento da liberação do fármaco.

Com relação ao aumento da velocidade de liberação do PRX observou-se que este foi mais proeminente na dispersão sólida sonicada, uma vez que esta mostrou uma liberação de $69,77 \pm 0,45\%$ de PRX em apenas 2,5 minutos e uma liberação total $100,26 \pm 0,51\%$ em 10 minutos ao passo que no tempo de 2,5 minutos, a mistura física e a dispersão sólida apresentaram, respectivamente, uma liberação de $2,03 \pm 0,88\%$ e $40,17 \pm 0,61$ (Tabela 12). Tal fato demonstra que o grau de interação entre o PRX e os carreadores hidrossolúveis também interferiu positivamente na velocidade de liberação do fármaco. Assim, como a dispersão sólida sonicada possui uma maior interação, uma vez que se utiliza o sonificador ultrassônico, esta apresentou a maior velocidade de liberação.

Diante destes resultados pode-se verificar que as dispersões sólidas possibilitaram uma maior e mais rápida liberação do fármaco do que as misturas físicas, provando que as dispersões sólidas realmente são uma boa escolha para a melhoria da taxa de dissolução de

fármacos pouco solúveis, como o PRX. Assim, é possível esperar que uma formulação farmacêutica sólida contendo as dispersões sólidas (sonicada e não sonicada) estudadas promoveria uma maior e mais rápida absorção do PRX culminando com a diminuição da dose necessária e com um efeito mais rápido deste fármaco. Além disso, isso seria mais acentuado nas formulações contendo a dispersão sólida sonicada. Porém devido a dificuldade da produção em escala industrial das dispersões sólidas produzidas pelos métodos tradicionais, como o método da fusão, e devido a inúmeras vantagens que a técnica de *spray congealing* proporciona, esta dispersão sólida sonicada foi produzida *spray congealing* e posteriormente caracterizada.

5.6. Preparo das micropartículas por *spray congealing*

Ao analisar os resultados obtidos para as dispersões sólidas e misturas físicas, verificou-se que a dispersão sólida de PRX:PEG4000:Poloxamer407 (1:8:1) obtida por sonicação nas condições de 10 minutos e potência de 95% (475 W) foi a que apresentou um melhor e mais significativo aumento na solubilidade do PRX. Assim, as micropartículas foram produzidas com 10% de PRX em uma mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 e a homogeneização do fármaco e carreadores foi feita utilizando o sonicador ultrassônico por 10 minutos e 95% de potência. Para que pudesse ser estudada a influência do Poloxamer 407 sobre a solubilidade do PRX as micropartículas de PRX, PEG 4000 foram produzidas com 10, 20 e 30% de Poloxamer 407, isto é, nas proporções de 1:8:1, 1:7:2 e 1:6:3 de PRX:PEG 4000:Poloxamer 407 (Tabela 4).

Como dito acima a produção destas micropartículas por *spray congealing* foi feita seguindo um planejamento fatorial Box-Behnken, onde foram estudadas as influências de três variáveis. Assim além da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra, as outras duas variáveis estudadas foram a temperatura da dispersão de PRX no carreador e vazão de atomização da dispersão.

5.7. Avaliação das micropartículas produzidas por *spray congealing*

5.7.1. Distribuição granulométrica das micropartículas

Os resultados do diâmetro médio (D_{50}) obtidos para as micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken são apresentados na Tabela 13.

Estes valores mostram que o D_{50} variou de 72,365 a 120,628 μm . Esta faixa de tamanho está próxima a de outros estudos encontrados na literatura para obtenção de micropartículas por *spray congealing*. Cavallari et al. (2007), em seu estudo sobre a obtenção de micropartículas de indometacina por *spray congealing* e *freeze drying*, obtiveram microparticulados com tamanho médio entre 100 a 200 μm , enquanto que Martins (2010), obteve uma faixa de tamanho de 53,09 a 78,75 μm para micropartículas de carbamazepina produzidas por *spray congealing*.

Tabela 13. Valores do diâmetro médio (D_{50}) obtidos para as micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.

Experimento	Diâmetro médio (μm)
1	73,600
2	72,365
3	113,053
4	78,876
5	111,185
6	98,431
7	120,628
8	92,394
9	110,178
10	109,467
11	109,385
12	106,210
13	83,051
14	108,150
15	106,976

Esta faixa de tamanho obtida no estudo é considerada apropriada, uma vez que partículas muito pequenas tendem a se aglomerar prejudicando a liberação do ativo e as propriedades de fluxo do pó atrapalhando a produção de comprimidos e cápsulas.

A Figura 34 mostra a distribuição granulométrica das micopartículas referentes aos 15 experimentos. Pode-se notar que a distribuição do tamanho das micropartículas é do tipo Gaussiano, apresentando uma faixa de distribuição semelhante para todos os experimentos.

Figura 34. Distribuição granulométrica das micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.

5.7.2. Propriedades de fluxo das micropartículas: Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner

O estudo das propriedades de fluxo das dispersões sólidas microparticuladas produzidas por *spray congealing* foi realizado, uma vez que essas propriedades influenciam diretamente na produção de formas farmacêuticas sólidas. Por exemplo, nas indústrias farmacêuticas, as propriedades de fluxo de formas farmacêuticas sólidas, como os pós são, geralmente, utilizadas para correlacionar as propriedades de compressão e escoabilidade destes pós com a produção de comprimidos e cápsulas. (USP 30, 2007)

5.7.2.1. Ângulo de Repouso

De acordo com Aulton (2005) o ângulo de repouso além de permitir a caracterização das propriedades de fluxo de um sólido, está relacionado com o atrito existente entre as partículas constituintes do mesmo. Ângulo de repouso pequeno corresponde a um bom fluxo do sólido e a um baixo atrito entre as partículas constituintes do mesmo. (AULTON, 2005).

Os valores obtidos no estudo para o ângulo de repouso (α) variaram de $27,605 \pm 0,420^\circ$ a $33,181 \pm 0,469^\circ$. Esses valores indicam que o fluxo das dispersões sólidas microparticuladas produzidas por *spray congealing* foi de excelente a bom conforme a classificação feita pela USP 30 (2007) mostrada na Tabela 5. Assim, pode-se concluir que o atrito existente entre as micropartículas, é baixo. Isso é, provavelmente, devido às

micropartículas produzidas por *spray congealing* terem apresentado uma conformação que apesar de irregular tende à forma esférica, como é apresentado no item 5.9.5.

O ângulo de repouso referente a cada micropartícula obtida por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken esta apresentado na Tabela 14.

Tabela 14. Valores de ângulo de repouso obtidos para as micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Benhken.

Experimento	Ângulo de repouso (°)
1	27,605 ± 0,420
2	32,377 ± 0,350
3	30,809 ± 0,414
4	33,181 ± 0,469
5	32,282 ± 0,597
6	32,756 ± 0,583
7	32,648 ± 0,866
8	31,627 ± 0,611
9	32,761 ± 0,677
10	32,499 ± 0,442
11	31,710 ± 0,413
12	32,535 ± 0,345
13	32,081 ± 0,281
14	32,810 ± 0,519
15	32,864 ± 0,493

*Media do ângulo de repouso ± desvio padrão (°)

5.7.2.2. Índice de Carr e Fator de Hausner

Para que o Índice de Carr (IC) e o Fator de Hausner (FH) pudessem ser estudados, foram determinadas as densidades aparentes livre (pa) e compactada (pc) das micropartículas referentes a todos os 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken, aplicado na produção das dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing*. Na Tabela 15 pode-se observar que a pa das micropartículas variou de 0,363 a 0,484 g/mL ao passo que a pc ficou no intervalo de 0,388 a 0,518 g/mL.

Os valores do IC e do FH, de cada micropartícula, obtidos por meio dos resultados das suas ρ_a e ρ_c são mostrados na Tabela 15.

Tabela 15. Densidades aparente e compactada, Índice de Carr e Fator de Hausner das micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.

Experimento	ρ_a (g/mL)	ρ_c (g/mL)	IC (%)	FH
1	0,476	0,500	4,762	1,050
2	0,363	0,388	6,494	1,069
3	0,429	0,462	7,150	1,077
4	0,441	0,469	5,886	1,063
5	0,469	0,484	3,130	1,032
6	0,437	0,494	11,472	1,130
7	0,484	0,518	6,457	1,069
8	0,406	0,477	14,962	1,176
9	0,462	0,477	3,177	1,033
10	0,429	0,484	11,440	1,129
11	0,417	0,500	16,667	1,200
12	0,441	0,462	4,416	1,046
13	0,406	0,500	18,889	1,233
14	0,406	0,492	17,581	1,213
15	0,406	0,492	17,581	1,213

* ρ_a = densidade aparente; ρ_c = densidade compactada; IC = Índice de Carr; FH = Fator de Hausner

Como indicado na Tabela 15, os resultados do IC obtidos para as micropartículas ficaram entre 3,130 e 18,889% enquanto que o FH das mesmas variou de 1,032 a 1,233. Esses valores indicam que o fluxo destas micropartículas, com relação a estes dois parâmetros, foi de excelente a moderado de acordo com a classificação da USP 30 (2007) apresentado na Tabela 6.

5.7.2.3. Correlação entre o fluxo das micropartículas e o ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner obtidos para as mesmas

De acordo com os resultados expostos nos itens 5.7.2.1 e 5.7.2.2 o fluxo das dispersões sólidas microparticuladas de PRX produzidas por *spray congealing* foi classificado como

excelente a bom, quando o parâmetro utilizado para a classificação foi o ângulo de repouso, e de excelente a moderado quando o IC e o FH foram os parâmetros considerados.

5.7.3. Teor de fármaco presente nas micropartículas

O teor de fármaco presente nas micropartículas referentes aos 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken, usado na produção das dispersões sólidas microparticuladas de PRX por *spray congealing* é apresentado na Tabela 16.

Tabela 16. Teor de fármaco presente nas micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.

Experimento	Teor de fármaco (%)
1	91,856 ± 1,988
2	89,038 ± 2,002
3	92,062 ± 1,443
4	95,086 ± 1,601
5	86,495 ± 0,412
6	77,491 ± 1,548
7	99,210 ± 2,271
8	87,251 ± 2,794
9	80,928 ± 2,575
10	91,924 ± 1,960
11	88,970 ± 1,688
12	89,656 ± 1,373
13	85,258 ± 1,091
14	87,869 ± 1,601
15	92,612 ± 1,325

*Media do teor de fármaco ± desvio padrão (%)

Os resultados obtidos para o teor de fármaco variaram de 77,491 a 99,210 % (Tabela 16) o que mostra que os valores obtidos experimentalmente foram próximos ao valor teórico do fármaco. A proximidade entre estes valores indica uma boa eficiência da técnica de *spray congealing*.

5.7.4. Solubilidade das micropartículas

O estudo de solubilidade foi realizado para as micropartículas referentes a todos os 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken, usado na técnica de *spray congealing*. Este estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a solubilidade das micropartículas em água, bem como comparar o provável aumento da solubilidade do PRX promovido por estas com o aumento que foi promovido pelas misturas físicas e dispersões sólidas.

A solubilidade das micropartículas variou de $32,92 \pm 0,65$ à $72,16 \pm 1,06$ $\mu\text{g/mL}$ (Tabela 17), indicando que todas as micropartículas promoveram um aumento da solubilidade, em água, do PRX, quando comparado ao fármaco puro ($13,27 \pm 0,14$ $\mu\text{g/mL}$). Assim, pode-se notar que as micropartículas aumentaram 2,5 a 5,4 vezes a solubilidade do PRX em água se comparado à solubilidade deste fármaco puro.

Tabela 17. Solubilidade do PRX presente nas micropartículas produzidas por *spray congealing* utilizando o planejamento fatorial Box-Behnken.

Experimento	Solubilidade do PRX em água ($\mu\text{g/mL}$)
1	$34,480 \pm 0,583$
2	$35,773 \pm 0,809$
3	$36,420 \pm 0,583$
4	$42,566 \pm 0,647$
5	$48,981 \pm 1,052$
6	$44,507 \pm 0,647$
7	$54,426 \pm 0,891$
8	$41,703 \pm 1,192$
9	$41,003 \pm 0,337$
10	$72,162 \pm 1,060$
11	$41,811 \pm 0,729$
12	$44,614 \pm 0,654$
13	$34,426 \pm 0,814$
14	$33,348 \pm 0,809$
15	$32,916 \pm 0,654$

*Media da solubilidade do PRX em água $\pm$ desvio padrão ($\mu\text{g/mL}$).

Para facilitar a visualização do aumento da solubilidade do PRX promovido pelas micropartículas é apresentado a Figura 35, que mostra a solubilidade dos 15 microparticulados em comparação com o PRX puro.

Figura 35. Solubilidade em água do piroxicam, em µg/mL, presente nas micropartículas referentes aos 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken, usado na técnica de *spray congealing* (EXP 1 a EXP 15) em comparação com a solubilidade deste fármaco puro (PRX).

5.8. Análise estatística das micropartículas produzidas por *spray congealing*

A análise estatística foi realizada com o objetivo de avaliar a influência das variáveis estudadas no planejamento fatorial Box-Behnken – usado para a produção de micropartículas por *spray congealing* – sobre o diâmetro médio, ângulo de repouso, Índice de Carr, Fator de Hausner, teor de fármaco e solubilidade dos microparticulados obtidos neste processo.

Para um melhor entendimento, os resultados obtidos para a interação entre as variáveis do planejamento (temperatura da dispersão, porcentagem de Poloxamer 407 na amostra e vazão de atomização da dispersão) e as características das micropartículas foram apresentados em itens separados, como apresentado abaixo.

5.8.1. Análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o tamanho das micropartículas

A análise estatística mostrou que as variáveis estudadas no planejamento não influenciaram significativamente ($p < 5\%$) no diâmetro médio das micropartículas produzidas por *spray congealing*, como mostra a Tabela 18.

Tabela 18. Análise estatística do diâmetro médio das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	729,62	1	729,62	5,0452	7,4637
TD ²	302,69	1	302,69	2,0930	20,7617
%POL	221,55	1	221,55	1,5320	27,0765
%POL ²	127,62	1	127,62	0,8825	39,0651
VAD	0,06	1	0,06	0,0004	98,4377
VAD ²	861,04	1	861,04	5,9539	5,8649
TD x %POL	272,25	1	272,25	1,8825	22,8402
TD x VAD	59,29	1	59,29	0,4100	55,0167
%POL x VAD	1,56	1	1,56	0,0108	92,1254
Erro	723,09	5	144,62		0

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. POL % - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão.

5.8.2. Análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o Ângulo de Repouso das micropartículas

Os resultados obtidos pela análise estatística mostram que, o ângulo de repouso das micropartículas, também é uma característica que não é influenciada pelas variáveis estudadas no planejamento fatorial Box Behnken. Isso pode ser comprovado analisando a Tabela 19, uma vez que todos os valores apresentaram *p* maior que 5%.

Tabela 19. Análise estatística do ângulo de repouso das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	5,780	1	5,780	3,007	14,3422
TD ²	2,438	1	2,438	1,268	31,1232
%POL	2,645	1	2,645	1,376	29,3593
%POL ²	2,147	1	2,147	1,117	33,8946
VAD	0,500	1	0,500	0,260	63,173
VAD ²	1,067	1	1,067	0,555	48,9792
TD x %POL	1,323	1	1,323	0,688	44,4601
TD x VAD	0,562	1	0,562	0,293	61,174
%POL x VAD	0,303	1	0,303	0,157	70,7939
Erro	9,610	5	1,922		

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. POL % - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão.

5.8.3. Análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o Índice de Carr das micropartículas

A análise estatística realizada mostrou que o termo quadrático da temperatura de dispersão (TD^2), o termo quadrático da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra ($\%POL^2$) e a interação entre a porcentagem de Poloxamer 407 na amostra e a vazão de atomização da dispersão ($\%POL \times VAD$) influenciaram de maneira significativa ($P < 5\%$) no Índice de Carr das micropartículas de PRX (Tabela 20).

Tabela 20. Análise estatística do Índice de Carr das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	37,4113	1	37,4113	4,7321	8,1591
TD^2	129,2564	1	129,2564	16,3495	0,9889^a
$\%POL$	0,6612	1	0,6612	0,0836	78,4031
$\%POL^2$	133,6626	1	133,6626	16,9068	0,9248^a
VAD	22,4450	1	22,4450	2,8390	15,2814
VAD^2	35,2926	1	35,2926	4,4641	8,8303
TD x $\%POL$	2,2500	1	2,2500	0,2846	61,6555
TD x VAD	0,0025	1	0,0025	0,0003	98,65
$\%POL \times VAD$	105,0625	1	105,0625	13,2892	1,4819^a
Erro	39,5292	5	7,9058		

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. POL % - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão. ^a Significante com $P < 5\%$

A interferência do termo quadrático da temperatura de dispersão (TD^2) e do termo quadrático da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra ($\%POL^2$) sobre Índice de Carr (IC) é mostrada na Figura 36. A análise visual desta figura permite observar que o Índice de Carr sofre maior interferência de TD^2 e $\%POL^2$ em valores intermediários dos mesmos.

Figura 36. Gráfico de superfície de resposta do Índice de Carr (IC) em função da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL) e da temperatura da dispersão (TD).

A Figura 37 mostra a superfície de resposta do IC das micropartículas de PRX em função da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL) e da vazão de atomização da dispersão (VAD). A análise visual desta superfície de resposta mostra que estas duas variáveis influenciaram positivamente sobre o Índice de Carr. Assim, como mostrado nesta mesma figura, quanto maior os valores de %POL e de VAD maior o Índice de Carr.

Figura 37. Gráfico de superfície de resposta do Índice de Carr (IC) em função da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (POL) e da vazão de atomização da dispersão (VAD).

5.8.4. Análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o Fator de Hausner das micropartículas

A análise estatística mostrou que, com nível de significância a 5%, o Fator de Hausner foi influenciado pelo termo quadrático da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL²), pelo termo linear e quadrático da vazão de atomização da dispersão (VAD e VAD²) e pela interação entre a porcentagem de Poloxamer 407 na amostra e a vazão de atomização da dispersão (%POL x VAD). Os resultados desta análise estatística são apresentados na Tabela 21.

Tabela 21. Análise estatística do Fator de Hausner das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	0,005000	1	0,005000	3,333	12,746
TD ²	0,005192	1	0,005192	3,462	12,189
%POL	0,001250	1	0,001250	0,833	40,318
%POL ²	0,014423	1	0,014423	9,615	2,683^a
VAD	0,011250	1	0,011250	7,500	4,086^a
VAD ²	0,014423	1	0,014423	9,615	2,683^a
TD x %POL	0,000000	1	0,000000	0,000	100,000
TD x VAD	0,000000	1	0,000000	0,000	100,000
%POL x VAD	0,022500	1	0,022500	15,000	1,173^a
Erro	0,007500	5	0,001500		

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. % POL – porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão. . ^a Significante com p< 5%.

A Figura 38 mostra a superfície de resposta do Fator de Hausner em função da vazão de atomização da dispersão (VAD) e da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL). A análise visual desta superfície de resposta mostra que estas duas variáveis influenciaram de forma não-linear o Fator de Hausner, pois os termos quadráticos foram significantes. A análise desta superfície permite ainda observar que quanto maior os valores de VAD e %POL utilizados maior foi o Fator de Hausner obtido. A análise estatística também comprovou que há interação entre os dois fatores, tornando mais complexa a previsão de Fator de Hausner para as micropartículas. Como os FH menores são os que indicam melhor fluxo, as áreas verdes na superfície seriam as mais adequadas, e são ligadas a condições de combinação de alta VAD com baixa %POL, e também vice-versa.

Figura 38. Gráfico de superfície de resposta do Fator de Hausner (FH) em função da vazão de atomização da dispersão (VAD) e da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL).

5.8.5. Análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o Teor de Fármaco das micropartículas

A análise estatística das variáveis estudados no processo de *spray congealing* e o os resultados do obtidos para o teor de fármaco presente nas micropartículas são mostrados na Tabela 22.

Tabela 22. Análise estatística do teor de fármaco presente nas micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	100,11	1	100,11	4,0961	9,89
TD ²	23,93	1	23,93	0,9791	36,79
%POL	41,40	1	41,40	1,6941	24,98
%POL ²	12,35	1	12,35	0,5055	50,89
VAD	53,56	1	53,56	2,1915	19,89
VAD ²	9,50	1	9,50	0,3888	56,03
TD x %POL	26,01	1	26,01	1,0642	34,96
TD x VAD	2,10	1	2,10	0,0860	78,11
%POL x VAD	8,41	1	8,41	0,3441	58,30
Erro	122,20	5	24,44		

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. %POL - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão.

De acordo com os dados apresentados na Tabela 22, pode ser observado que as três variáveis estudadas no processo de *spray congealing*, através do planejamento fatorial Box Behnken, não influenciaram significativamente ($p < 5\%$) no teor de fármaco presente nas micropartículas.

5.8.6. Análise estatística das variáveis estudadas no processo de *spray congealing* e a Solubilidade das micropartículas

Para verificar se o processo de *spray congealing* exerceu influência significativa sobre a solubilidade das micropartículas foi realizada a análise estatística das variáveis estudadas neste processo e a solubilidade obtida para as micropartículas. Os dados resultantes desta análise são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Análise estatística da solubilidade das micropartículas em função das variáveis estudadas no processo de *spray congealing*.

Variáveis estudadas	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P (%)
TD	216,60	1	216,60	9,3499	0,4255^a
TD ²	1935,33	1	1935,33	83,5419	0,0001^a
%POL	681,60	1	681,60	29,4225	0,0004^a
%POL ²	107,69	1	107,69	4,6488	3,8031^a
VAD	35,04	1	35,04	1,5126	22,6940
VAD ²	4,58	1	4,58	0,1977	65,9299
TD x %POL	603,50	1	603,50	26,0512	0,0012^a
TD x VAD	51,25	1	51,25	2,2124	14,5856
%POL x VAD	17,28	1	17,28	0,7459	39,3651
Erro	810,81	35	23,17		

* TD - temperatura da dispersão de piroxicam no carreador. %POL - porcentagem de Poloxamer 407 na amostra. VAD - vazão de atomização da dispersão. ^a Significante com $P < 5\%$.

A Tabela 23 mostrou que, com nível de significância a 5%, a solubilidade foi influenciada pelo termo linear e quadrático da temperatura da dispersão de piroxicam no carreador (TD e TD²), pelo termo linear e quadrático da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL e %POL²) e pela interação entre a temperatura da dispersão de piroxicam no carreador e a porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (TD x %POL). A Figura 39 permite uma melhor visualização da influência destas variáveis sobre a solubilidade das micropartículas.

Figura 39. Gráfico de superfície de resposta da solubilidade das micropartículas em função da temperatura da dispersão de piroxicam no carreador (TD) e da porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL).

A análise visual da superfície de resposta apresentada na Figura 39 mostra que quanto maior os valores de %POL e TD utilizados maior é a solubilidade da micropartícula. O aumento da porcentagem de Poloxamer 407 (%POL) promoveu um aumento da solubilidade, pois este polímero possui propriedades surfactantes, fato que ajuda na solubilização do fármaco no meio. Já a influência positiva da TD na solubilidade provavelmente se deve ao fato de temperaturas maiores proporcionarem um aumento e uma aceleração na interação entre o fármaco e os carreadores. No entanto, a previsão da solubilidade para as micropartículas é muito complexa uma vez que pela análise estatística foi demonstrado haver uma interação entre estas duas variáveis, %POL e TD (Tabela 23).

5.9. Caracterização das micropartículas

Para a caracterização foram selecionados 6 microparticulados dentre os 15 experimentos do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*. As micropartículas selecionadas foram referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15. Estas foram escolhidas para que uma amostra representativa das variáveis estudadas no planejamento fatorial Box-Behnken (TD, %POL, VAD) pudesse ser caracterizada e também, uma análise mais precisa da influência destas variáveis sobre as características das micropartículas pudesse ser realizada.

5.9.1. Difração de Raios-X de pós das micropartículas

Os difratogramas obtidos para as seis micropartículas analisadas em comparação com os difratogramas do PRX, PG 4000 e Poloxamer 407 estudados no presente trabalho são apresentados na Figura 40.

Figura 40. Difratograma comparativo do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp 1), 4 (Exp 4), 7 (Exp 7), 8 (Exp 8), 10 (Exp 10) e 15 (Exp 15) do planejamento fatorial Box-Behnken.

Com base na Figura 40 pode-se observar que os difratogramas das seis micropartículas analisadas foram bem semelhantes entre si. Em todos é possível visualizar a presença de alguns picos referentes ao PRX, embora estes apareçam atenuados pelos sinais dos polímeros, os quais estavam em uma quantidade muito maior quando comparados ao fármaco.

Apesar da semelhança entre todos os difratogramas pode-se notar que com relação aos picos referentes ao fármaco, a semelhança é ainda maior entre as micropartículas que foram produzidas utilizando a mesma TD (temperatura da dispersão de PRX no carreador). Portanto, é possível observar uma grande semelhança entre os difratogramas dos experimentos 1 e 7 (TD = 70°C), experimentos 4 e 8 (TD = 110°C) e entre os experimentos 10 e 15 (TD = 90°C). Por exemplo, nos difratogramas dos experimentos 10 e 15 os picos referentes ao piroxicam são bem evidentes e aparecem em 8,74; 14,76 e 17,88°. Nos experimentos 1 e 7, embora estes picos estejam atenuados ainda é possível visualizá-los em 9,08°. Já nos experimentos 4 e 8 é difícil a verificação dos picos referentes ao PRX. (Figura 40). Isso mostra que a TD foi uma variável que exerceu considerável influência na cristalinidade do PRX. Já as outras duas variáveis estudadas no planejamento fatorial Box-Behnken parece não ter influência sobre a cristalinidade do PRX.

Um outro fato que pode ser observado em relação à Figura 40 é que nos difratogramas dos experimentos 1, 7, 10 e 15 o pico referente à forma II do PRX (em aproximadamente 15°) está presente o que não ocorre nos difratogramas dos experimentos 4 e 8. Além disso, é possível verificar que este pico é mais proeminente nos experimentos 10 e 15, o que pode estar relacionado com a maior solubilidade obtida no experimento 10. No entanto, é importante ressaltar que, como foi apresentado no item 5.8.6 a solubilidade das micropartículas não foi influenciada apenas pela TD, mas também pela porcentagem de Poloxamer 407 na amostra (%POL) e também a interação entre estes dois termos, o que justifica a diferença entre a solubilidade dos experimentos 10 e 15.

5.9.2. Termogravimetria (TGA) das micropartículas

As análises termogravimétricas das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing* foram realizadas para verificar se o PRX, o PEG 4000 e o Poloxamer 407 continuaram estáveis após o processo de produção destas micropartículas, uma vez que neste processo os materiais foram submetidos ao aquecimento térmico.

Os comportamentos termogravimétricos destas seis micropartículas em comparação com os do PRX, PEG 4000 e Poloxamer 407, estão apresentados na Figura 41. Esta figura mostra que todas as seis micropartículas estudadas apresentaram comportamento semelhante ao do PEG 4000, que é o constituinte em maior porcentagem nas micropartículas.

Figura 41. Curvas termogravimétricas comparativas do piroxicam (PRX), PEG 4000 (PEG), Poloxamer 407 (POL) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp 1), 4 (Exp 4), 7 (Exp 7), 8 (Exp 8), 10 (Exp 10) e 15 (Exp 15) do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*.

A análise da Figura 41 e dos resultados de TGA apresentados na Tabela 24 evidenciam que as micropartículas analisadas não sofreram nenhum tipo de degradação até aproximadamente 185°C. Isso mostra que a técnica de *spray congealing* é segura e adequada para a produção destas micropartículas, uma vez que garantiu a estabilidade térmica do PRX e dos polímeros utilizados (PEG 4000 e Poloxamer 407).

Tabela 24. Dados da termogravimetria do fármaco e polímeros isolados e das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*.

Amostras estudadas	Decomposição térmica (°C)	Massa residual (%)
PRX	195,54 – 473,31	7,633
PEG 4000	188,31 – 425,12	0,137
Poloxamer 407	170,89 – 409,69	5,868
Experimento 1	186,72 – 426,71	5,709
Experimento 4	197,01 – 424,29	2,592
Experimento 7	191,91 – 420,19	0,017
Experimento 8	185,21 – 425,69	2,681
Experimento 10	186,19 – 425,39	4,991
Experimento 15	185,13 – 425,77	1,986

5.9.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) das micropartículas

O estudo de DSC foi realizado para as micropartículas afim de verificar se o processo de produção das mesmas por *spray congealing* promoveu mudanças significativas no perfil térmico do PRX e dos polímeros usados (PEG 4000 e Poloxamer 407). A Figura 42 mostra as curvas de DSC obtidas para as seis micropartículas analisadas.

Todas as micropartículas apresentaram perfis calorimétricos semelhantes, como pode ser verificado na Figura 42 e Tabela 25. Estes perfis são caracterizados pela presença de apenas um pico endotérmico referente à fusão dos polímeros (PEG 4000 e Poloxamer 407). Assim, como ocorreu para a mistura física e dispersões sólidas de PRX:PEG 4000 e Poloxamer 407 na proporção de 1:8:1, nas curvas de DSC das micropartículas também houve o desaparecimento do pico endotérmico de fusão do PRX (~ 201°C). Este desaparecimento como já discutido anteriormente, também deve ser devido à pequena quantidade de PRX que impossibilita a detecção do seu ponto de fusão ou devido a solubilização do fármaco no polímero fundido durante a análise.

Figura 42. Termograma obtido por DSC das micropartículas referentes aos experimentos 1 (curva 1), 4 (curva 2), 7 (curva 3), 8 (curva 4), 10 (curva 5) e 15 (curva 6) do planejamento fatorial Box-Behnken.

Tabela 25. Dados dos perfis calorimétricos das micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing* em comparação com os obtidos para o fármaco e polímeros isolados

Pico endotérmico de fusão			
Amostras estudadas	Pico (°C)	Início e Término do pico (°C)	Entalpia (J/g)
PRX	201,44	200,05 – 203,83	-102,66
PEG 4000	61,23	56,96 – 65,58	-177,43
Poloxamer 407	56,28	53,74 – 60,11	-110,69
Experimento 1	57,58	54,37 – 60,00	-147,75
Experimento 4	56,65	54,42 – 60,21	-133,07
Experimento 7	56,31	53,15 – 58,67	-142,64
Experimento 8	57,30	54,49 – 60,83	-145,59
Experimento 10	57,68	55,09 – 60,18	-137,02
Experimento 15	57,75	55,24 – 61,12	-144,91

5.9.4. Espectroscopia de Infravermelho (FTIR) das micropartículas

O estudo de FTIR das micropartículas foi realizado para verificar se o processo de produção destas micropartículas, por *spray congealing*, promoveu uma interação entre o PRX

e os polímeros utilizados (PEG 4000 e Poloxamer 407). Este estudo permitiu ainda analisar se as variáveis estudadas no planejamento fatorial Box-Behnken, utilizado no *spray congealing*, influenciaram nesta interação entre fármaco e polímero.

Os espectros de FTIR obtidos para as micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing* é apresentado na Figura 43.

Figura 43. Espectro de vibração de infravermelho das micropartículas referentes aos experimentos 1 (curva 1), 4 (curva 2), 7 (curva 3), 8 (curva 4), 10 (curva 5) e 15 (curva 6) do planejamento fatorial Box-Behnken.

A análise da Figura 43 permite observar que, assim como ocorreu para as dispersões sólidas e mistura física, os espectros das micropartículas mostraram uma somatória das bandas referentes ao PRX e aos carreadores utilizados (PEG 4000 e Poloxamer 407), com uma predominância das bandas referentes aos polímeros devido a maior proporção dos mesmos. Além disso, é possível verificar que embora os espectros de FTIR das

micropartículas tenham sido muito semelhantes, diferenças substanciais entre eles ocorreram na banda de estiramento da amida (–NH) ou enol (–OH) do PRX.

A Tabela 26 compara os valores obtidos em cada espectro de FTIR das micropartículas para a banda estiramento de –NH ou –OH do PRX.

Tabela 26. Tabela comparativa dos valores das bandas (cm^{-1}) referente ao estiramento da amida (–NH) ou enol (–OH) obtidos para as micropartículas dos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*.

Amostras estudadas	Número de ondas (cm^{-1}) da banda referente ao estiramento de –NH ou –OH
PRX	3338,78
Experimento 1	3346,50
Experimento 4	3363,86
Experimento 7	3348,42
Experimento 8	3365,78
Experimento 10	3344,57
Experimento 15	3342,68

Na Tabela 26 pode ser verificado que em todas as micropartículas os valores obtidos para a banda referente ao estiramento de –NH ou –OH aparecem deslocados. Este deslocamento também ocorreu na dispersão sólida sonicada ($3346,50 \text{ cm}^{-1}$) e como já descrito anteriormente pode estar relacionado a uma possível interação entre o fármaco e os polímeros.

Os valores da banda de estiramento da amida ou enol obtidos para as micropartículas produzidas com a mesma TD (temperatura da dispersão de PRX no carreador) foram muito próximos (Tabela 26). Assim, analisando esta tabela é possível observar uma grande semelhança entre os valores obtidos para os experimentos 1 e 7 (TD = 70°C), experimentos 4 e 8 (TD = 110°C) e entre os experimentos 10 e 15 (TD = 90°C).

A análise da Tabela 26 juntamente com a Figura 43 mostram que quanto maior foi a TD utilizada, maior foi o deslocamento da banda e menor sua intensidade. Assim, pode-se concluir que a TD exerceu uma influência positiva sobre a interação entre os polímeros (PEG 4000 e Poloxamer 407), ou seja, quanto maior a TD, maior a interação entre o PRX e o PEG 4000 e o Poloxamer 407. É importante mencionar que as outras duas variáveis estudadas (%POL e VAD) no processo de produção de micropartículas por *spray congealing* parece não ter exercido influência significativa na interação entre fármaco e carreador.

5.9.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) das micropartículas

O estudo da morfologia das micropartículas obtidas por *spray congealing* foi realizado por microscopia eletrônica de varredura, e as fotomicrografias obtidas são apresentadas na Figura 44, Figura 45 e Figura 46.

Estas figuras mostram que as micropartículas apresentaram forma irregular e se aglomeram umas com as outras. Nos trabalhos de Martins (2010) e Machado (2011) a morfologia das micropartículas produzidas por *spray congealing* foram semelhantes. Segundo estes autores a provável explicação para a irregularidade e aglomeração das micropartículas é o fato da temperatura do ar de resfriamento, durante o processo de *spray congealing*, não ter sido baixa o suficiente a tempo de solidificar as gotículas formadas pelo bico atomizador antes que as mesmas se chocassem.

Apesar de irregulares, todas as micropartículas tenderam à forma esférica (Figura 44, Figura 45 e Figura 46), diferente do que ocorreu para as dispersões sólidas e mistura física estudadas. Assim, as micropartículas terão melhores propriedades de fluxo que as dispersões sólidas. Isto é uma grande vantagem, visto que o fluxo é um fator muito importante para a produção de formas farmacêuticas como cápsulas e comprimidos.

Figura 44. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 1 (1A e 1B) e 7 (7A e 7B). Aumento de 1000 vezes (1A e 7A) e 3000 vezes (1B e 7B).

Figura 45. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 4 (4A e 4B) e 8 (8A e 8B). Aumento de 1000 vezes (4A e 8A) e 3000 vezes (4B e 8B).

Figura 46. MEV das micropartículas referentes aos experimentos 10 (10A e 10B) e 15 (15A e 15B). Aumento de 1000 vezes (10A e 15A) e 3000 vezes (10B e 15B).

Com base nas micrografias apresentadas apenas as micropartículas produzidas com uma TD de 90°C apresentaram os cristais de PRX, os quais apareceram sob a forma I (cúbica) e II (agulha). No entanto, o não aparecimento destes cristais nas demais micropartículas não significa que o PRX esteja presente apenas na forma amorfa, uma vez que nestas, o fármaco pode não ter aparecido devido a seu recobrimento total pelos polímeros, fato que não ocorreu para os experimentos 10 e 15.

5.9.6. Perfil de dissolução *in vitro* das micropartículas

O perfil de dissolução *in vitro* em meio simulado sem pepsina realizado para as micropartículas referentes aos experimentos 1, 4, 7, 8, 10 e 15 do planejamento fatorial Box-Behnken é apresentado na Figura 47 e na Tabela 27. A fim de possibilitar uma comparação é apresentado também o perfil de dissolução do PRX puro.

Figura 47. Perfil de dissolução *in vitro* comparativo do piroxicam (PRX) e micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp1), 4 (Exp4), 7 (Exp7), 8 (Exp8), 10 (Exp10) e 15 (Exp15) do planejamento fatorial Box-Behnken. A dissolução foi realizada em meio gástrico simulado sem pepsina e os valores representam média da sextuplicata $\pm$ desvio padrão.

Na Tabela 27 e na Figura 47 pode ser observado que todas as seis micropartículas estudadas apresentaram um perfil de dissolução semelhantes, liberando mais que 75% do PRX em apenas 2,5 minutos. Assim, as micropartículas foram capazes de aumentar ainda mais a velocidade de liberação do fármaco quando comparado com a mistura física, dispersão sólida sem sonicação e dispersão sólida sonicada que apresentaram liberação respectivamente de 2,0%, 40,2% e 69,8% em 2,5 minutos. Dessa maneira, as formulações farmacêuticas sólidas

feitas com estas micropartículas devem promover uma absorção mais rápida do PRX levando a uma ação farmacológica mais rápida do fármaco.

Tabela 27. Perfil de dissolução *in vitro* em meio gástrico simulado sem pepsina do piroxicam puro (PRX) e das micropartículas referentes aos experimentos 1 (Exp1), 4 (Exp4), 7 (Exp7), 8 (Exp8), 10 (Exp10) e 15 (Exp15) do planejamento fatorial Box-Behnken utilizado no *spray congealing*.

Taxa de liberação de piroxicam (%)							
Tempo (minutos)	PRX	EXP1	EXP4	EXP7	EXP8	EXP10	EXP15
0	0	0	0	0	0	0	0
2,5	0	79,7±0,9	86,9±1,1	77,8±0,9	76,9±5,5	88,9±7,9	77,4±5,6
5	3,7±0,2	93,4±0,4	101,7±0,8	103,9±1,8	94,1±4,5	102,1±6,9	95,6±4,6
10	32,2±3,0	97,6±1,6	108,1±0,7	104,8±3,8	97,9±4,0	105,3±8,7	99,2±4,7
20	52,8±1,8	104,3±2,8	112,2±1,0	107,1±2,4	104,3±4,8	107,4±9,5	102,9±1,1
30	64,9±1,5	106,2±0,3	112,4±1,1	110,2±2,5	104,6±3,3	110,7±1,7	105,2±2,3
45	73,1±2,0	109,7±1,6	113,6±0,4	110,4±2,0	106,8±3,8	111,3±2,2	106,9±2,4
60	77,4±1,0	110,3±0,5	113,7±1,2	113,9±5,3	107,2±3,4	111,5±0,8	111,8±0,9

*Concentração média experimental ± desvio padrão (%)

O fato das micropartículas terem liberado o PRX mais rapidamente que a mistura física e a dispersão sólida sem sonicação é em função de haver uma maior interação entre o carreador e o fármaco nas micropartículas do que na mistura física e dispersão sólida sem sonicação, uma vez que as micropartículas foram produzidas utilizando o sonicador ultrassônico. Já a maior velocidade de liberação do PRX pelas micropartículas com relação à dispersão sólida é devido ao fato da técnica de *spray congealing* produzir dispersões sólidas microparticuladas, ou seja, dispersões sólidas que possuem um tamanho de partícula bem menor que as produzidas pelo método da fusão.

As micropartículas, além de terem promovido uma liberação mais rápida do fármaco, foram capazes também de aumentar a quantidade de fármaco liberado. Como já discutido anteriormente para as misturas físicas e dispersões sólidas, este aumento nas micropartículas é devido a grande solubilidade em água do PEG 4000 e do Poloxamer 407 adicionada as características surfactantes do Poloxamer 407. Considerando o tempo de 60 minutos, onde ocorre a máxima liberação, as micropartículas aumentaram em média 1,5 vezes a quantidade de PRX liberado em relação às dispersões sólidas sonicadas.

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que a técnica de *spray congealing* promove uma liberação mais rápida de PRX e um aumento da quantidade deste fármaco que é liberado, o que provavelmente culminará com uma diminuição da dose de PRX que deve ser administrada e com um efeito mais rápido deste fármaco. Além disso, em função das micropartículas terem apresentado melhores resultados de dissolução que as dispersões sólidas produzidas pelo método da fusão adicionadas à vantagens apresentadas pela técnica de *spray congealing*, como a facilidade de transposição de escala esta técnica é muito promissora para o aumento da solubilidade e dissolução de fármacos pertencentes à classe II do SCB, como é o caso do PRX.

Conclusões

6. CONCLUSÕES

Na primeira parte do trabalho, onde foi estudado o aumento da solubilidade em água do PRX por meio da produção de dispersões sólidas pelo método da fusão, verificou-se que a maior solubilidade do fármaco foi obtida quando se utilizou como carreador uma mistura de PEG4000: Poloxamer 407 na proporção de 8:1. Além disso, foi observado que a dispersão que continha 10% de PRX em PEG4000: Poloxamer 407 (8:1) apresentou maior solubilidade que as que continham 15 e 20% neste mesmo carreador.

Na segunda etapa do presente estudo foi observado que a homogeneização ultrassônica influencia na solubilidade das dispersões sólidas. Assim, nas dispersões sólidas em que a homogeneização do fármaco e carreador foi feita com auxílio de um sonificador ultrassônico foi verificado, pelas análises estatísticas dos dados que as variáveis estudadas (tempo e potência) exerceram influência significativa na solubilidade do PRX. Além disso, foi observado que a dispersão sólida de PRX: PEG4000: Poloxamer 407 foi capaz de aumentar 4 vezes a solubilidade do PRX, quando foi utilizado um tempo de 10 minutos e uma potência de 95% (475 W).

Os ensaios de dissolução *in vitro* mostraram que as dispersões sólidas liberaram toda a quantidade de PRX contida na formulação enquanto que o ensaio realizado com o fármaco puro liberou apenas 77,4%, provando que as dispersões sólidas são uma boa escolha para o aumento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis. Além disso, a dispersão sólida sonicada liberou completamente o fármaco em apenas 10 minutos, ao passo que na dispersão sólida sem sonicação isso veio ocorrer só após 30 minutos. Tal fato mostra que se durante a produção de dispersões sólidas a homogeneização do fármaco e carreador for feita por meio de um sonificador ultrassônico pode haver um aumento ainda mais acentuado da velocidade de liberação do fármaco o que culminará com uma absorção mais rápida do mesmo.

Devido aos bons resultados de solubilidade e dissolução *in vitro* apresentados pela dispersão sólida sonicada de PRX: PEG4000: Poloxamer 407 (1:8:1), a terceira parte do presente estudo (produção de dispersões sólidas microparticuladas por *spray congealing*) foi feita utilizando-se 10% de PRX e uma mistura de PEG4000: Poloxamer 407. A produção das micropartículas por *spray congealing* foram feitas seguindo um planejamento fatorial Box-Behnken onde as três variáveis estudadas foram a temperatura da dispersão de piroxicam no carreador, porcentagem de poloxamer presente na amostra e vazão de atomização da dispersão.

A caracterização físico-química das misturas físicas, dispersões sólidas e micropartículas realizadas por meio de análises de difração de raios-X de pó, TGA, DSC, infravermelho e MEV mostraram que a temperatura e a sonicação da dispersão durante sua produção, possivelmente promovem a formação da forma cristalina II (agulha) do PRX, além de uma maior interação entre o PRX e PEG 4000 e o Poloxamer 407. Em adição, os dados destas análises mostraram que não houve degradação do fármaco durante o processo de produção das dispersões sólidas e micropartículas, demonstrando que a obtenção de dispersões sólidas com essa composição de fármaco/carreador é termicamente segura. Ainda, a análise morfológica por MEV das micropartículas permitiu observar que as mesmas embora tenderam para uma conformação esférica, apresentaram forma irregular e superfície rugosa com a presença de cristais de PRX em algumas delas.

O estudo da distribuição granulométrica mostrou que o diâmetro médio das micropartículas variou de 72,365 a 120,628 μm , o qual é considerado apropriado para uma boa solubilidade e dissolução. A análise das propriedades de fluxo das micropartículas foi classificado como excelente a moderado. Quanto à solubilidade foi observado que as micropartículas aumentaram 2,5 a 5,4 vezes a solubilidade do PRX em água se comparado à solubilidade deste fármaco puro, o que foi maior que o aumento proporcionado pelas dispersões sólidas e misturas físicas.

As análises estatísticas mostraram que as variáveis estudadas pelo planejamento fatorial Box-Behnken na produção de micropartículas por *spray congealing*. (TD, %POL e VAD) influenciaram no Índice de Carr, Fator de Hausner e solubilidade destas micropartículas. No entanto, não apresentaram influência sobre o ângulo de repouso, o teor de fármaco e diâmetro médio das micropartículas.

As micropartículas apresentaram semelhantes perfis de dissolução, onde mais que 75% de PRX foram liberados em apenas 2,5 minutos. Como neste tempo o fármaco puro não foi capaz de liberar nenhuma quantidade e a mistura física, a dispersão sólida sem sonicação e a dispersão sólida sonicada apresentaram liberação respectivamente de 2,0%, 40,2% e 69,8% pode ser observado que as micropartículas promoveram uma maior velocidade de liberação do PRX. Além disso, as micropartículas foram capazes de aumentar também a quantidade de fármaco liberado, uma vez que estas promoveram uma liberação total do fármaco enquanto que o fármaco puro liberou uma quantidade máxima de 77,4%.

Com todos os resultados obtidos é possível concluir que a técnica de *spray congealing* foi muito eficiente para o aumento da solubilidade e dissolução do PRX quando uma mistura de PEG 4000 e Poloxamer 407 foi utilizada como carreador. Assim, é bem provável que

formulações que contenham estas micropartículas promovam uma maior e mais rápida absorção do PRX culminando com a diminuição da dose necessária e com um efeito mais rápido deste fármaco. Portanto, em função de suas vantagens como a facilidade de transposição de escala e de ser um método ambientalmente correto e altamente seguro o *spray congealing* é uma técnica muito promissora para a produção de micropartículas que visem o aumento da solubilidade e dissolução de fármacos pouco solúveis.

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBASPOUR, A.; MIRZAJANI, R. Electrochemical monitoring of piroxicam in different pharmaceutical forms with multi-walled carbon nanotubes paste electrode. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 44, p. 41-48, 2007.

ABDUL-FATTAH, A. M.; BHARGAVA, H. N. Preparation and in vitro evaluation of solid dispersions of halofantrine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 235, p. 17-33, 2002.

ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PATTARINO, F.; RODRIGUEZ, L. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 348-357, 2008.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, p.413-420, 1995.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN JR., L. V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberações de fármacos**. 6 ed. São Paulo. Editora premier, 2000.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Atmed, 2005.

BABU, V. R.; AREEFULLA, S. H.; MALLIKARJUN, V. Solubility and dissolution enhancement: An overview. **Journal of Pharmacy Research**, v. 3, p. 141-145, 2010.

BALDI, A.; PICCOLO, M. T.; BOCCCELLINO, M. R.; DONIZETTI, A.; CARDILLO, I.; LA PORTA, R.; QUAGLIUOLO, L.; SPUGNINI, E. P.; CORDERO, F.; CITRO, G.; MENEGOZZO, M.; CALOGERO, R. A.; CRISPI, S. Apoptosis is Induced by Piroxicam plus Cisplatin Combined Treatment Is Triggered by p21 in Mesothelioma. **Plos One**, v.6, p. 1-11, 8 ed., 2011.

BARROS, N. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2 ed. Campinas. Editora da UNICAMP. 2003.

BORINI, G. B. **Revestimento de partículas por solidificação de material fundido em leitos de jorro e fluidizado: estudos de processo, caracterização das partículas e preparo de comprimidos**. 2007. 131f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2007.

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new Three-Level Designs for the study of quantitative variables. **Technometrics**, v.2, p. 445-475, 1960.

BOX, M. J.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. Statistics for Experimenters: An Introduction to Design. New York: **John Wiley & Sons**, 1978.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**. RE nº 899, de 29 de maio de 2003, Brasília, 2003.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA. **Lista de Medicamentos de referência**, 2011. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 04 Jan. 2012.

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

CAVALLARI, C.; LUPPI, B.; PIETRA, A. B.; RODRIGUEZ, L.; FINI, A. Enhanced Release of Indomethacin from PVP/Stearic Acid Microcapsules Prepared Coupling Co-freeze-drying and Ultrasound Assisted Spray-congealing Process. **Pharmaceutical Research**, v. 24; n. 3; p. 521-529; 2007.

CHAVDA, H. V.; PATEL, C. N.; ANAND, I. S. Biopharmaceutics classification system. **Systematic Reviews in Pharmacy**, v.1, p. 62-69, 2010.

CHILDS, S. L.; HARDCASTLE, K. I. Cocrystals of piroxicam with carboxylic acids. **Crystal Growth & Design**, v. 7, n. 7, p. 1291-1304, 2007.

CHOPRA, S.; MOTWANI, S. K.; IQBAL, Z.; TALEGAONKAR, S.; AHMAD, F., J.; KHAR, R., K. Optimisation of polyherbal gels for vaginal drug delivery by Box-Benhken statistical design. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 120-131, 2007.

CHUTIMAWORAPAN, S.; RITTHIDEJ, G. C.; YONEMOCHI, E.; OGUCHI, T.; YAMAMOTO, K. Effect of Water-Soluble Carriers on Dissolution Characteristics of Nifedipine Solid Dispersions. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 11, p. 1141–1150, 2000.

COSTA, F. S. O.; ARAÚJO JÚNIOR, C. A.; SILVA, E. J.; BARA, M. T. F.; LIMA, E. M.; VALADARES, M. C.; MARRETO, R. N. Impact of ultrasound-assisted extraction on quality and photostability of the *Pothomorphe umbellata* extracts. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 18, p. 1002-1007, 2011.

CRAIG, D.Q.M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 231, p. 131-144, 2002.

DAMIAN, F.; BLATON, N.; NAESENS, L.; BALZARINI, J.; KINGET, R.; AUGUSTIJNS, P.; MOOTER, G. Physicochemical characterization of solid dispersions of the antiviral agent UC-781 with polyethylene glycol 6000 and gelucire 44/14. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 4, p. 311-322, 2000.

DANNENFELSER, R.; HE, H.; JOSHI, Y.; BATEMAN, S.; SERAJUDDIN, A. T. M. Development of Clinical Dosage Forms for a Poorly Water Soluble Drug I: Application of Polyethylene Glycol – Polysorbate 80 Solid Dispersion Carrier System. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 93, n. 5, p. 1165-1175, 2004.

DHIRENDRA, K.; LEWIS, S.; UDUPA, N.; ATIN, K.; Solid dispersions: a review, **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, p. 234-246, 2009.

EMAS, M.; NYQVIST, H. Methods of studying aging and stabilization of spray-congealed solid dispersions with carnauba wax. I. Microcalorimetric investigation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 197, p. 117-127, 2000.

EURACHEM. **Guia para qualidade em química analítica**. UNESCO/ANVISA. Edição 2002.

FERNÁNDEZ, M.; MARGARIT, M. V.; RODRÍGUEZ, I. C.; CEREZO, A. Dissolution kinetics of piroxicam in solid dispersions with polyethylene glycol 4000. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 98, p. 29-35, 1993.

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

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; REIS, P. S.; SOUZA, A. S.; SANTOS, W. N. L. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods. **Analytica Chimica Acta**, v. 597, p. 179-186, 2007.

FINI, A.; CAVALLARI, C.; OSPITALI, F. Raman and thermal analysis of indomethacin/PVP solid dispersion enteric microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, p. 409-420, 2008.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. Tradução Zuleika Rothschild et al. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, p. 37-60, 2003.

GUILFORD, J. F.; PEZZUTO, J. M. Mechanisms of Cancer Chemopreventive Agents: A Perspective. **Planta Medica**, v. 74, p. 1644-1650, 2008.

GUO, C.; STINE, K., J.; KAUFFMAN, J., F.; DUOB, W., H. Assessment of the influence factors on in vitro testing of nasal sprays using Box-Benhken experimental desing. **European Journal of pharmaceutical sciences**, v. 35, p. 417-426, 2008.

HAGENSON, L. C.; DORAISWAMY, L. K. Comparison of the effects of ultrasound and mechanical agitation on a reacting solid-liquid system. **Chemical Engineering Science**, v. 53, n. 1, p. 131-148, 1998.

HELMICK, C. G.; FELSON, D. T.; LAWRENCE, R. C.; GABRIEL, S.; HIRSCH, R.; KWOH, C. K.; LIANG, M. H.; KREMERS, H. M.; MAYES, M. D.; MERKEL, P. A.; PILLEMER, S. R.; REVEILLE, J. D.; STONE, J. H. Estimates of the Prevalence of Arthritis and Other Rheumatic Conditions in the United States (Part I). **Arthritis & Rheumatism**, American College of Rheumatology, n. 1, v. 58, p. 15-25, 2008.

ILIC, I.; DREU, R.; BURJAK, M.; HOMAR, M.; KERC, J.; SRCIC, S. Microparticle size control and glimepiride microencapsulation using spray congealing technology. **International Journal Pharmaceutics**, v. 381, p. 176-183, 2009.

JACOBY, R. F.; COLE, C. E.; TUTSCH, K.; NEWTON, M. A.; KELLOFF, G.; HAWK, E. T.; LUBET, R. A. Chemopreventive Efficacy of Combined Piroxicam and Difluoromethylornithine Treatment of Apc Mutant Min Mouse Adenomas, and Selective Toxicity against Apc Mutant Embryos. **Cancer Research**, v. 60, p. 1864-1870, 2000.

JAMBRAK, A. R.; MASON, T. J.; LELAS, V.; HERCEG Z.; HERCEG, I. L. Effect of ultrasound treatment on solubility and foaming properties of whey protein suspensions **Journal of Food Engineering**, v. 86, p. 281-287, 2008.

JAMBRAK, A. R.; MASON, T. J.; LELAS, V.; KREŠIĆ, G. Ultrasonic effect on physicochemical and functional properties of α -lactalbumin. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 254-262, 2010.

JEFERRY, G. H.; BASSET, J.; MENDHAM, J.; DENNEY, R. C. **Vogel: análise química quantitativa**. 5 ed. LTC Editora, Rio de janeiro, 1992.

JOSHI, H. N.; TEJWANI, R. W.; DAVIDOVICH, M.; SAHASRABUDHE, V. P.; JEMAL, M.; BATHALA, M. S.; VARIA, S. A.; SERAJUDDIN, A. T. M. Bioavailability enhancement of a poorly water-soluble drug by solid dispersion in polyethylene glycol-polysorbate 80 mixture. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 251–258, 2004.

KANNAN, A.; PATHAN, S. K. Enhancement of solid dissolution process. **Chemical Engineering Journal**, v. 102, p. 45-49, 2004.

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

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

KOROLKOVAS, A.; FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

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

MACHADO, M. O. **Obtenção de micropartículas contendo dispersões sólidas de praziquantel por spray congealing**. 2011. 120f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2011.

MACKAPLOW, M. B.; ZARRAGA, I. E.; MORRIS, J. F. Rotary spray congealing of a suspension: Effect of disk speed and dispersed particle properties. **Journal of Microencapsulation**, v. 23, n. 7, p. 793-809, 2006.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 38, n. 4, p. 375-399, 2002.

MARTINS, R. M. **Desenvolvimento de disperses sólidas microparticuladas contendo carbamazepina por spray congealing**. 2010. 166f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2010.

MASON, T. J.; LORIMER, J. P. An introduction to sonochemistry. **Endsavow New Series**, v. 13, n. 3, p. 123-128, 1989.

MCCARRON, P. A.; DONNELLY, R. F.; AL-KASSAS R. Comparison of a novel spray congealing procedure with emulsion-based methods for the microencapsulation of water-soluble drugs in low melting point triglycerides. **Journal of Microencapsulation**, v. 25, p. 365-378, 2008.

MIHALIC, M., HOFMAN, H.; KUFTINEC, J.; KRILE, B.; CAPLAR, V.; KAJFEZ, F.; BLAZEVIC, N. Piroxicam. **Analytical Profiles of Drug Substances**, San Diego, v. 15, p. 509-531, 1986.

MOOTER, G. V.; AUGUSTIJNS, P.; BLATON, N.; KINGET, R. Physico-chemical characterization of solid dispersions of temazepam with polyethylene glycol 6000 and PVP K30. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 164, p. 67-80, 1998.

MORTIMER, A. J. Physical Characteristics of Ultrasound. Inc: REPACHOLLI, M. H.; E BENWELL, D. A. **Essentials of Medical Ultrasound: A Practical Introduction to the Principles, Techniques and Biomedical Applications**. Clifton: Humana Press Inc. Capítulo1, p. 1-32, 1982.

MOTA, P. M.; LIMA, A. L. Z.; COELHO, E.; PAULA, E. M. X.; FURINI, A. A. C. Estudo sobre a utilização de antiinflamatórios não esteroidais prescritos em receitas para idosos da região Noroeste Paulista. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 2, p. 157-163, 2010.

NEPPIRAS, E. A. Acoustic cavitation. **Physics Reports**, v. 61, n. 3, p. 159-251, 1980.

NEWA, M.; BHANDARI, K. H.; OH, D. H.; KIM, Y. R.; SUNG, J. H.; KIM, O. J.; WOO, J. S.; CHOI, H. G.; YONG, C. S. Enhanced Dissolution of Ibuprofen Using Solid Dispersion with Poloxamer 407. **Archives of Pharmacal Research**, v. 31, n. 11, p. 1497-1507, 2008.

PAGLIARUSSI, R. S., BASTOS, J. K.; FREITAS, L. A. P. Fluid bed drying of Guarana (*Paullinia cupana* HBK) extract: effect of process factors on caffeine content. **AAPS PharmaSciTech**, 7 (2), article - 54, 2006.

PAIVA, A. P. **Metodologia de superfície de resposta e análise de componentes principais em otimização de processos de manufatura com múltiplas respostas correlacionadas**. 2006. 257f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica), Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, 2006.

PAN, R.; CHEN, J.; CHEN, R. R. Enhancement of Dissolution and Bioavailability of Piroxicam in Solid Dispersion Systems. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 26, n. 9, p. 989–994, 2000.

PASSERINI, N.; ALBERTINI, B.; PERISSUTTI, B.; RODRIGUEZ, L. Evaluation of melt granulation and ultrasonic *spray congealing* as techniques to enhance the dissolution of praziquantel. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 318, p. 92-102, 2006.

PASSERINI, P.; PERISSUTTI, B.; MONEGHINI, M.; VOINOVICH, D.; ALBERTINI, B.; CAVALLARI, C.; RODRIGUEZ, L. Characterization of carmazepine-gelucire 50/13 microparticles prepared by a spray-congealing process using ultrasounds. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, p. 699-707, 2002.

PRABHU, S.; ORTEGA, M.; MA, C. Novel lipid-based formulations enhancing the in vitro dissolution and permeability characteristics of a poorly water-soluble model drug, piroxicam. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 301, p. 209-216, 2005.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; FLOWER, R. J. **Farmacologia**. 6 ed. Rio de Janeiro. Elsevier, 2007.

RIBANI, M. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

ROCHA, W. F. C.; POPPI, R. J. Multivariate control charts based on net analyte signal (NAS) for characterization of the polymorphic composition of Piroxicam using near infrared spectroscopy. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 21-26, 2010.

ROCHA, W. F. C.; SABIN, G. P.; MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Quantitative analysis of piroxicam polymorphs pharmaceutical mixtures by hyperspectral imaging and chemometrics. **Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 106, p. 198-204, 2011.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamentos de experimentos e otimização de processos**; Campinas, SP. Casa do Espírito Amigo Fé e Amor, 2 ed. 2009.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; OWEN, S. O. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Publications division of the Royal Pharmaceutical Society of Great Britain. Pharmaceutical Press. APhA Publications. 5 ed., 2005.

SANDILYA, D. K.; KANNAN, A. Effect of ultrasound on the solubility limit of a sparingly soluble solid. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 427-434, 2010.

SANTOS, H. C. O.; TACON, K. C. B.; CUNHA, L. C. C.; CASTRO, E. C.; AMARAL, W. N. Efeito analgésico do piroxicam para tratamento de dor aguda induzida. **Revista Brasileira de Clínica Médica**, v. 9, n. 2, p. 117-120, 2011.

SAVOLAINEN, M.; KHOO, C.; GLAD, H.; DAHLQVIST, C.; JUPPO, A.M. Evaluation of controlled-release polar lipid microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, p. 151-161, 2002.

SERAJUDDIN, A. T. M. Solid Dispersion of poorly water-soluble: early promises, subsequent problems, and recents breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 10, p. 1058-1066, 1999.

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

SETHURAMAN, S.; ARUNACHALAM, A.; KARTHIKEYAN, M.; KONAM, K.; PRASAD, P. H.; SENTHILRAJ, R. Formation and Characterization of Solid Dispersion of Piroxicam. **International Journal of Preclinical and Pharmaceutical Research**, v. 2, p. 1-6, 2011.

SHANBHAG, A.; RABEL, S.; NAUKA, E.; CASADEVALL, G.; SHIVANAND, P.; EICHENBAUM, G.; MANSKY, P. Method for screening of solid dispersion formulations of low-solubility compounds—Miniaturization and automation of solvent casting and dissolution testing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 351, p. 209-218, 2008.

SHARMA, D.; SONI, M.; KUMAR, S.; GUPTA, G. D. Solubility Enhancement – Eminent Role in Poorly Soluble Drugs. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 2, p. 220-224, 2009.

SHETH, A. R.; BATES, S.; MULLER, F. X.; GRANT, D. J. W. Polymorphism in Piroxicam. **Crystal Growth & Design**, v. 4, n. 6, p. 1091-1098, 2004.

SHIN, S. C.; CHO, C. W. Physicochemical Characterizations of Piroxicam-Poloxamer Solid Dispersion. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 2, n. 4, p. 403-407, 1997.

SILVA, A. A. **Preparação e caracterização de granulados contendo dispersão sólida de praziquantel obtidos por fusão/solidificação em leito de jorro fluidizado**. 2008. 158f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

SILVA, C.; RIBEIRO, A.; FERREIRA, D.; VEIGA, F. Administração oral de peptídeos e proteínas: II. Aplicação de métodos de microencapsulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 39, p. 01-20, 2003.

SPUGNINI, E. P.; CARDILLO, I.; VERDINA, A.; CRISPI, S.; SAVIOZZI, S.; CALOGERO, R.; NEBBIOSO, A.; ALTUCCI, L.; CORTESE, G.; GALATI, R.; CHIEN, J.; SHRIDHAR, V.; VINCENZI, B.; CITRO, G.; COGNETTI, F.; SACCHI, A.; BALDI, A. Piroxicam and cisplatin in a mouse model of peritoneal mesothelioma. **Clinical Cancer Research**, v. 12, n. 20, p. 6133-6143, 2006.

SPUGNINI, E. P.; CRISPI, S.; SCARABELLO, A.; CARUSO, G.; CITRO, G.; BALDI, A. Piroxicam and intracavitary platinum-based chemotherapy for the treatment of advanced mesothelioma in pets: preliminary observations. **Journal of Experimental & Clinical Cancer Research**, v. 27, n. 6, 2008.

SUSLICK, K. S. Sonochemistry. **Science**, v. 247, p. 1439-1445, 1990. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org>>. Acesso em: 5 Jan. 2012.

TADDEI, P.; TORREGGIANI, A.; SIMONI, R. Influence of Environment on Piroxicam Polymorphism: Vibrational Spectroscopic Study. **Biopolymers (Biospectroscopy)**, v. 62, p. 68-78, 2001.

TANTISHAIYAKUL, V.; KAEWNOPPARAT, N.; INGKATAWORNWONG, S. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 181, p. 143-151, 1999.

THOMPSON, L. H.; DORAISWAMY, L. K. The rate enhancing effect of ultrasound by inducing supersaturation in a solid-liquid system. **Chemical Engineering Science**, v. 55, p. 3085-3090, 2000.

UNITED STATES PHARMACOPEIA **USP 30 – NF25**. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2007.

VALIZADEH, H.; ZAKERI-MILANI, P.; BARZEGAR-JALALI, M. Preparation and Characterization of Solid Dispersions of Piroxicam with Hydrophilic Carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 33, p. 45-56, 2007.

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

VERDINA, A.; CARDILLO, I.; NEBBIOSO, A.; GALATI, R.; MENEGOZZO, S.; ALTUCCI, L.; SACCHI, A.; BALDI, A. Molecular analysis of the effects of Piroxicam and Cisplatin on mesothelioma cells growth and viability. **Journal of Translational Medicine**, v. 6, n. 27, 2008. Disponível em: <<http://www.translational-medicine.com/content/6/1/27>>. Acesso em: 25 Jun. 2011.

VERHEYEN, S.; BLATON, N.; KINGET, R.; VAN DEN MOOTER, G. Pharmaceutical performance of solid dispersions containing poly(ethylene Glycol) 6000 and diazepam or temazepam. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 76, p. 405-416, 2004.

VIEIRA, M. M. S. **Obtenção de grânulos contendo piroxicam através de dispersão sólida por fusão/solidificação em leito fluidizado**. 2008. 103f. Dissertação (Mestrado em Ciências), Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

VRECER, F.; SRCIC, S.; SMID-KORBAR, J. Investigation of piroxicam polymorphism. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 68, p. 35-41, 1991.

VRECER, F.; VRBINC, M.; MEDEN, A. Characterization of piroxicam crystal modifications. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 256, p. 3-15, 2003.

VYAS, V.; SANCHETI, P.; KAREKAR, P.; SHAH, M.; PORE, Y. Physicochemical characterization of solid dispersion systems of tadalafil with poloxamer 407. **Acta Pharmaceutica**, v. 59, p. 453-461, 2009.

WEUTS, I.; KEMPEN, D.; VERRECK, G.; PEETERS, J.; BREWSTER, M.; BLATON, N.; MOOTER, G. V. Salt formation in solid dispersions consisting of polyacrylic acid as a carrier and three basic model compounds resulting in very high glass transition temperatures and constant dissolution properties upon storage. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, p. 387-393, 2005.

WU, K.; LI, J.; WANG, W.; WINSTEAD, D. A. Formation and Characterization of Solid Dispersions of Piroxicam and Polyvinylpyrrolidone Using Spray Drying and Precipitation with Compressed Antisolvent. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, n. 7, p. 2422-2431, 2009.

YÜKSEL, N.; KARATAŞ, A.; ÖZKAN, Y.; SAVAŞER, A.; ÖZKAN, S. A.; BAYKARA, T. Enhanced bioavailability of piroxicam using Gelucire 44/14 and Labrasol: in vitro and in vivo evaluation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 56, p. 453-459, 2003.