



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

Aline Silva Guimarães

**DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO EM EUDRAGIT® L-100:
caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos**

Juazeiro-BA

2016



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS**

ALINE SILVA GUIMARÃES

**DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO EM EUDRAGIT® L-100:
caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos**

Dissertação apresentada a Pós-graduação em Ciência dos Materiais da Universidade Federal do Vale do São Francisco - UNIVASF, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. Luciano Augusto Ribeiro de Araújo

Juazeiro- BA

2016

| | |
|-------|--|
| | Guimarães, Aline Silva. |
| G963d | Dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100: caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos / Aline Silva Guimarães. --Juazeiro, 2016. |
| | xvii; 134 f.; il. 29 cm |
| | Dissertação (Mestrado em Ciência dos Materiais) – Universidade Federal do Vale do São Francisco, Campus Juazeiro-BA, 2016. |
| | Orientador: prof. Dr. Luciano Augusto Ribeiro de Araújo. |
| | 1. Polímero. 2. Nifedipino. 3. Fármaco I. Título. II. Araújo, Luciano Augusto Ribeiro de. III. Universidade Federal o Vale do São Francisco. |
| | CDD 620.192 |

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Integrado de Biblioteca SIBI/UNIVASF
Bibliotecário: Renato Marques Alves

PGCM

UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
CIÊNCIA DOS
MATERIAIS

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO

Avenida Antônio Carlos Magalhães, 510 - Santo Antônio. CEP: 48902-300 Juazeiro/BA

Tel/Fax: (74)21027645, www.univasf.edu.br/~cpgcm


COLEGIADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DOS MATERIAIS

*Dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100: caracterização e
comparação de parâmetros farmacocinéticos*

por

Aline Silva Guimarães

Dissertação de mestrado APROVADA em sessão pública no dia 31 de março do ano dois mil e dezesseis perante a banca examinadora constituída pelos seguintes professores:


Prof. Dr. Luciano Augusto de Araújo Ribeiro
(CPGCM-UNIVASF)


Prof. Dr. Arlan de Assis Gonsalves
(CPGCM-UNIVASF)


Profª. Drª. Magaly Andreza Marques de Lyra
(Dpto Farmácia – Faculdade Estácio do Recife)

DEDICATÓRIA

Dedico, primeiramente, a Deus, por me proporcionar o dom da vida, aos meus pais (Jucileide e Geraldo), por estarem sempre ao meu lado, sendo meus maiores incentivadores. A todos que muito me ajudaram na realização deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a **Deus**, por me proporcionar o dom da vida, e sempre me manter com saúde e fé para superar todos os obstáculos.

Aos **meus pais** por serem meus maiores incentivadores, são por eles que faço qualquer sacrifício.

Aos meus irmãos pelo carinho e incentivo (**Bruno, Bianca e Artur**).

Ao meu namorado **Fábio**, pelo incentivo, carinho e paciência.

À querida professora **Larissa Rolim**, pelos os ensinamentos, paciência, dedicação e companheirismo. Por ter se tornado minha mãe científica, me adotando em seu laboratório de forma tão carinhosa, passando todo seu conhecimento.

Ao professor **Luciano Ribeiro**, pela a orientação, paciência e oportunidade.

Ao grupo **CAFMA**, por me receberem, e incentivarem na realização deste trabalho, em especial a **Nathália** por ter sido durante todo esse tempo minha companheira de experimento, abdicando muitas vezes de seu tempo para ajudar o trabalho.

Ao pessoal do **LAFEX**, por me ajudarem nos experimentos com as cobaias, em especial **Pablo e Alice**.

A todos que desde sempre me incentivaram e me deram força, **Toninho**, meu eterno G6 (**Paulinha, Larissa, Josiane, Karina, Dayane**), as minhas amigas de faculdade (**Queli, Tairine, Luana, Rita, Simone**). Ao pessoal do mestrado em Ciências dos materiais pela a ajuda nos estudos (**Paulo Henrique, Gineton**).

Meu muito obrigada!!

“O conhecimento nunca está terminado. É uma teia que vamos tecendo a partir da superação dos limites: eu respeito o limite do outro e estabeleço com ele o pacto do cuidado, ao mesmo tempo em que ambos avançamos. E arrematou: não posso negar o que o outro é e nem encarar o não saber como limite. Toda estranheza cai por terra se dividimos nossas necessidades”.

Padre Fábio de Melo

RESUMO

GUIMARÃES, A.S, **Dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100: caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos.** 2016.134f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais-UNIVASF (Juazeiro-BA), 2016.

O nifedipino (NFD) é um dos principais fármacos de escolha para o tratamento de patologias cardíacas, sendo um bloqueador do canal de cálcio altamente potente, pertencente ao grupo das dihidropiridinas. Porém, este fármaco é praticamente insolúvel em água exibindo assim uma baixa biodisponibilidade depois da administração oral, fato que vem alterar sua eficiência terapêutica. A indústria farmacêutica tem demonstrado grande interesse no desenvolvimento de novos sistemas farmacêuticos, visando à melhoria do perfil farmacocinético de vários fármacos. Vem sendo observado uma utilização crescente de sistemas poliméricos, utilizando a técnica de dispersões sólidas (DS) a qual tem vários mecanismos envolvidos no incremento da solubilidade de fármacos, reduzindo a estrutura cristalina de fármacos e o tamanho de partícula. O Eudragit® L-100 (L-100) é um copolímero entérico e vem sendo bem utilizado por ter solubilidade dependente do pH. Diante disto, objetivou-se realizar a caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos, como perfil de dissolução e taxa de absorção intestinal de DS de NFD em L-100. A obtenção das DS foi através do método de coprecipitação. A fim de evidenciar o comportamento térmico foi utilizada a análise termogravimétrica (TG) acoplada a análise térmica diferencial (DTA). O estudo das características físicas e morfológicas foi realizado, por meio das técnicas de granulometria a laser, microscopia eletrônica de varredura (MEV) e Difração de raios-x (DRX). As interações intermoleculares entre o fármaco e o L-100 foram analisadas através da espectroscopia de infravermelho (FTIR). Paralelamente foi adequada e co-validada uma metodologia de quantificação do nifedipino por CLAE-DAD, seguindo a RE nº 899/03 (ANVISA). O perfil de dissolução e estudo de permeabilidade foi avaliado por meio de testes *in vitro* utilizando três dosagens distintas (20, 30 e 60 mg) tendo como meio de dissolução e encubação solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4. A permeabilidade intestinal foi medida utilizando a técnica do saco intestinal invertido, em segmentos ($8,00 \pm 0,20 \text{ cm}^2$) de íleo isolado de cobaia. A caracterização física e morfológica demonstrou o aumento da porosidade e uniformidade das DS, com a diminuição dos cristais de nifedipino que foi comprovada por DRX. O perfil de liberação *in vitro* as DS, resultaram em um aumento na taxa de dissolução em relação ao fármaco puro, levando em consideração a massa de NFD (30 mg), a taxa de liberação foi mais rápida para as DS ($8,85 \pm 1,7\%$ aos 15 minutos) em relação ao fármaco puro ($0,53 \pm 0,01\%$ ao 15 minutos) evidenciando uma liberação modificada, nos estudos de permeabilidade obteve-se valores para a permeabilidade relativa (Papp) para as DS ($1,55 \pm 0,91 \times 10^{-6}$; $3,11 \pm 1,57 \times 10^{-6}$ e $12,24 \pm 5,60 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$) e para o NFD puro ($1,04 \pm 0,51 \times 10^{-6}$; $1,26 \pm 0,53 \times 10^{-6}$ e $3,76 \pm 0,56 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$) nas dosagens de 20, 30 e 60 mg respectivamente. Os dados foram comparados através de teste t de ANOVA, com significância $p < 0,05$. Portanto, o método de obtenção das DS demonstra ser promissor no incremento de solubilidade do NFD, melhorando sua dissolução e permeabilidade.

Palavras chave: Nifedipino. Eudragit L-100. Dispersões Sólidas. Dissolução. Permeabilidade

ABSTRACT

GUIMARÃES, A.S, **Solid dispersion of nifedipine in Eudragit® L-100: characteristics and comparasion pharmacokinetic parameters.** 2016.134f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências dos Materiais-UNIVASF (Juazeiro-BA), 2016.

Nifedipine (NFD) is a major drug of choice for treating heart failure, being a highly potent calcium channel blocker belonging to the group of dihydropyridines. However, this drug is practically insoluble in water, thus showing a low bioavailability after oral administration, a fact which affects its therapeutic efficacy. The pharmaceutical industry has shown great interest in the development of new drug formulations aimed at improving the pharmacokinetic profile. Has been observed increased use of polymeric systems because of the versatility of its properties such as solid dispersions technique (SD) which has various mechanisms involved in increasing solubility of drugs, converting the crystalline structure of pharmaceuticals in amorphous in structure and reducing the particle size. Eudragit® L-100 (L-100) is an enteric copolymer has been well used by having pH dependent solubility. In view of this, aimed to perform the characterization and comparison of pharmacokinetic parameters such as dissolution profile and intestinal absorption rate of SD of NFD in L-100. Obtaining SD is by coprecipitation method. In order to show the thermal behavior was used thermal gravimetric analysis (TG) coupled to differential thermal analysis (DTA). The study of the physical and morphological characteristics was performed by means of laser granulometry techniques, scanning electron microscopy (SEM) and X-ray Diffraction (XRD). The intermolecular interactions between the drug and L-100 were analyzed by infrared spectroscopy (FTIR). It was adequate in parallel and co-validated methodology for quantifying by HPLC-DAD nifedipine following the SR N° 899/03 (ANVISA). The profile of dissolution and permeability study was evaluated by in vitro tests using three different dosages (20, 30 and 60 mg) having as dissolution medium and incubating the nutrient solution of Krebs (guinea pig ileum) pH 7,4. Intestinal permeability was measured using the technique of reversed intestinal bag, segments ($8.00 \pm 0.20 \text{ cm}^2$) of isolated guinea pig ileum. The physical and morphological characterization demonstrated increased porosity and uniformity of DS with decreasing nifedipino crystals which was confirmed by XRD. The in vitro release profile of the DS resulted in an increase in dissolution rate compared to the pure drug, taking into account the mass of NFD (30 mg), the release rate was faster for the SD ($\pm 8.85 \pm 1.7\%$ at 15 minutes) compared to pure drug ($0.53 \pm 0.01\%$ at 15 minutes) indicating a modified release in the permeability studies was obtained values for the relative permeability (Papp) to DS ($1,55 \pm 0,91 \times 10^{-6}$; $3,11 \pm 1,57 \times 10^{-6}$ and $12,24 \pm 5,60 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$) and pure NFD ($1,04 \pm 0,51 \times 10^{-6}$; $1,26 \pm 0,53 \times 10^{-6}$ and $3,76 \pm 0,56 \times 10^{-6} \text{ cm/s}$) at doses of 20, 30 and 60 mg respectively. Data were compared by t test ANOVA with $p < 0.05$. Therefore, the method of obtaining the SD proves to be promising in increasing the solubility of the NFD, improving its dissolution and permeability.

Keywords: nifedipine. Eudragit L-100. Dispersions Solid. Dissolution. Permeability

LISTA DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Representação esquemática dos sistemas cristalinos fundamentais..... | 26 |
| Figura 2. Vários caminhos paralelos envolvidos na absorção intestinal através das membranas. | 27 |
| Figura 3. Etapas no processo de absorção de fármacos. | 32 |
| Figura 4. Nifedipino atuando no bloqueio dos canais de cálcio através da membrana celular..... | 35 |
| Figura 5. Estrutura química do nifedipino ($C_{17}H_{18}N_2O$)..... | 38 |
| Figura 6. Representação esquemática da distribuição molecular de fármacos em dispersões sólidas, partícula cristalina (A), partícula amorfa (B) e partícula dispersa molecularmente (C)..... | 39 |
| Figura 7. Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de um fármaco com pouca solubilidade em água através das DS em comparação com formas farmacêuticas tradicionais..... | 41 |
| Figura 8. Diferentes Eudragit [®] , e seus pH específicos no TGI. | 45 |
| Figura 9. Estrutura molecular do Eudragit [®] L-100. | 47 |
| Figura 10. Desenho esquemático dos componentes básicos do MEV..... | 50 |
| Figura 11. Organograma do procedimento experimental usado no desenvolvimento de dispersões sólidas de Eudragit [®] L-100 contendo nifedipino..... | 58 |
| Figura 12. Esquema representativo da produção das DS de Eudragit [®] L-100 contendo nifedipino..... | 61 |
| Figura 13. Procedimento experimental no preparo das DS de Eudragit [®] L-100 contendo nifedipino por coprecipitação. | 61 |
| Figura 14. Sistema CLAE-DAD utilizado na adequabilidade método cromatográfico. | 63 |
| Figura 15. Microscópio eletrônico de varredura TESCAN (VEJA 3), utilizado para a obtenção das micrografias. | 68 |
| Figura 16. Metalizadora Quorum (Q1SORES). | 69 |
| Figura 17. Difratômetro INEL (EQUINOX 100) do Laboratório de Microscopia Eletrônica do IPCM – UNIVASF..... | 70 |
| Figura 18. Cobaia (<i>Cavia porcellus</i>). | 73 |

| | |
|---|----|
| Figura 19. Dissolutor <i>homemade</i> utilizado no ensaio de liberação <i>in vitro</i> . (A projeto com o detalhamento dos componentes e dimensões, (B) dissolutor <i>homemade</i> sendo utilizado experimentalmente..... | 76 |
| Figura 20. Segmentos intestinais de íleo em solução de Krebs modificado..... | 77 |
| Figura 21. Sistema utilizado para a perfusão de segmentos intestinais isolados. | 77 |
| Figura 22. Bomba dosadora (MS Tecnopon®)..... | 78 |
| Figura 23. Segmentos intestinais no compartimento receptor, interligado a mangueiras..... | 79 |
| Figura 24. Sacos intestinais invertidos. | 80 |
| Figura 25. Curva analítica referente à adequabilidade do método desenvolvido para a quantificação do nifedipino em Krebs modificado empregando-se CLAE-DAD nas concentrações de 5, 10, 15, 25 e 35 µg/mL. Cada ponto representa a média de três determinações..... | 84 |
| Figura 26. Cromatogramas (CLAE-DAD) de injeções de solução de Krebs modificado (branco) pH 7,4. | 85 |
| Figura 27. Cromatogramas (CLAE-DAD) da solução de nifedipino padrão 1,2 mg/mL em solução de Krebs modificado pH 7,4..... | 86 |
| Figura 28. Cromatogramas (CLAE-DAD) da solução contendo dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100 1,2 mg/mL em solução de Krebs modificado pH 7,4..... | 86 |
| Figura 29. Curva de TG do nifedipino, Eudragit® L100 e das dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L100..... | 89 |
| Figura 30. Curvas térmicas diferenciais do pico de fusão do NFD, L-100 e das DS na razão de aquecimento de 10°C.min ⁻¹ até 600°C. | 91 |
| Figura 31. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (a,b) NFD isolado com aumento de 2500 e 280 vezes, (c,d) Eudragit® L-100 isolado com aumento 200 e 2160 vezes e (e,f) dispersões sólidas de NFD em Eudragit® L-1000 com aumento de 240 e 1800 vezes..... | 93 |
| Figura 32. Microscopia eletrônica de varredura micropartículas de nifedipino em Eudragit® L-100 com aumento de 5000 e 20000 vezes (a, b)..... | 95 |
| Figura 33. EDS das dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100..... | 95 |
| Figura 34. Distribuição do tamanho de partícula para o nifedipino (d ₁₀ =98,48 µm, d ₅₀ =175,2 µm e d ₉₀ =317,5 µm, analisada por difração a laser por via úmida. | 96 |

| | |
|---|-----|
| Figura 35. Distribuição do tamanho de partícula para as dispersões sólidas (d10=3,32µm, d50=34,38µm e d90=114,2µm, analisada por difração a laser por via úmida. | 97 |
| Figura 36. Difratoograma correspondente ao fármaco (NFD) cristalino. | 98 |
| Figura 37. Difratoograma correspondente ao copolímero (Eudragit® L-100)..... | 99 |
| Figura 38. Difratoograma correspondente as dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100. | 100 |
| Figura 39. Espectro FTIR (a) nifedipino puro, (b) copolímero Eudragit® L-100 e (c) dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100. | 102 |
| Figura 40. Estrutura química e sítios de ligação de hidrogênio entre o nifedipino e o Eudragit®L-100; --- representa as ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais. | 103 |
| Figura 41. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 20 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3). | 104 |
| Figura 42. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 30 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3). | 105 |
| Figura 43. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 60 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3). | 105 |
| Figura 44. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo cinético de primeira ordem. | 108 |
| Figura 45. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo cinético de segunda ordem. | 109 |
| Figura 46. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo de Higuchi. | 109 |
| Figura 47. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo de Korsmeyer- Peppas..... | 110 |
| Figura 48. Comparação da permeação cumulativa (µg/mL) do nifedipino puro (■) e complexado na forma de dispersão sólida com Eudragit® L-100 (■) em segmento (8,00±0,20 cm ²) de íleo isolado de cobaia. Expressos como a média das determinações (n), os símbolos e as barras representam (média ± DP), respectivamente. | 111 |

Figura 49. Comparação da permeação cumulativa ($\mu\text{g/mL}$) do NFD puro e complexado na forma de dispersão sólida com L-100 em segmento ($8,00\pm 0,20\text{ cm}^2$) de íleo isolado de cobaia. Expressos como a média das determinações (n), as colunas e as barras representam (média \pm DP), respectivamente. * $p < 0,05$ (ANOVA one-way, seguido de pós-teste de Tukey: Nifedipino puro vs. Dispersões sólidas (NFD + L-100)).
..... 112

Figura 50. Perfis de permeabilidade aparente obtidas através de ensaios de permeabilidade em diferentes concentrações do fármaco nifedipino puro e vinculado as DS. * $p < 0,05$ (ANOVA one-way, seguido de pós-teste de Tukey: Nifedipino puro vs. Dispersões sólidas (nifedipino + Eudragit L-100)). 114

LISTA DE QUADROS

| | |
|--|----|
| Quadro 1. Classificação dos fármacos de acordo com o SCB. | 28 |
| Quadro 2. Representação dos principais tipos de dissolutores adotado pelas principais farmacopeias..... | 56 |
| Quadro 3. Concentração dos reagentes para o preparo da solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias). | 74 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|-----|
| Tabela 1. Solubilidade descritiva por partes de soluto..... | 22 |
| Tabela 2. Abordagens para ampliar a solubilidade de fármacos ou aumentar sua área superficial disponível para dissolução. | 24 |
| Tabela 3. Modelos matemáticos que descrevem a curva de dissolução. | 57 |
| Tabela 4. Condições para a análise cromatográfica do nifedipino a partir da adequabilidade de métodos farmacopeicos. | 62 |
| Tabela 5. Valores de área obtidas na curva analítica do método para quantificação do nifedipino em meio Krebs modificado pH 7,4. | 84 |
| Tabela 6. Precisão Intra-dia e Inter-dias calculada a partir de 3 níveis de concentrações diferentes para a quantificação de nifedipino por CLAE-DAD..... | 87 |
| Tabela 7. Exatidão calculada a partir de 3 níveis de concentrações diferentes em um mesmo dia (Intra-dia) para a quantificação de nifedipino utilizando a técnica cromatográfica CLAE-DAD..... | 88 |
| Tabela 8. Representação dos dados termogravimétricos do nifedipino, Eudragit® L-100 e das DS de NFD em L-100. | 90 |
| Tabela 9. Dados das curvas térmicas diferenciais do pico de fusão do NFD, L-100 e das DS na razão de aquecimento de 10°C/min até 600°C..... | 91 |
| Tabela 10. Vibração de alongamento da NH e C = O em nifedipino na forma cristalina e amorfa. | 101 |
| Tabela 11. Avaliação do percentual de nifedipino liberado em dissolução utilizando como meio solução nutritiva de Krebs modificado pH 7,4. | 106 |
| Tabela 12. Valores (média ± DP) encontrados para a permeabilidade aparente (Papp) nos ensaios de permeabilidade em saco intestinal invertido com o nifedipino puro e na forma de DS. | 113 |

LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|-----------------|---|
| NFD | Nifedipino |
| DS | Dispersões sólidas |
| L-100 | Eudragit® L-100 |
| ® | Marca registrada |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| TG | Termogravimetria |
| DTA | Análise térmica diferencial |
| MEV | Microscópio eletrônico de varredura |
| DRX | Difração de raios-X |
| FTIR | Infravermelho por Transformada de Fourier |
| CLAE | Cromatografia líquida de alta eficiência |
| DAD | Detector com arranjo de diodos |
| ANVISA | Agência Nacional de Vigilância Sanitária |
| RE | Resolução |
| mg | Miligrama |
| cm ² | Centímetro quadrado |
| cm/s | Centímetro por segundo |
| ANOVA | Análise de variância |
| HAS | Hipertensão arterial sistêmica |
| OMS | Organização Mundial da Saúde |
| µg/mL | Micrograma por mililitro |
| ± | Mais ou menos |
| TGI | Trato gastrointestinal |
| Papp | Permeabilidade relativa |
| mg/mL | Micrograma por mililitro |
| log P | Coeficiente de partição |
| FSO | Formas farmacêuticas sólidas orais |
| SCB | Sistema de classificação biofarmacêutica |
| Fa | Fração absorvida |
| P-gp | Glicoproteínas |
| DCV | Doenças cardiovasculares |
| g/mol | Grama por mol |

| | |
|---------------|---|
| μm | Micrômetro |
| HPMC | Hidroxipropilmetilcelulose |
| PVP | Polivinilpirrolidona |
| PEG | Polietilenoglicol |
| nm | Nanômetro |
| DSC | Calorimetria diferencial exploratória |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography |
| EDS | Espectroscopia de energia dispersiva |
| USP | United States Pharmacopeia |
| UNIVASF | Universidade Federal do Vale do São Francisco |
| M | Molar |
| RPM | Rotações por minuto |
| FB | Farmacopeia Brasileira |
| Ed | Edição |
| UV | Ultravioleta |
| VIS | Visíveis |
| LQ | Limite de quantificação |
| LD | Limite de quantificação |
| DP | Desvio padrão |
| CV | Coeficiente de variação |
| DPR | Desvio padrão relativo |
| r^2 | Coeficiente de correlação |
| kV | Quilovolts |
| mA | MiliAmpére |
| IPCM | Instituto de Pós-graduação em Ciência dos Materiais |
| mM | milimolar |
| cm^3 | Centímetro cúbico |
| KBR | Krebs |
| mm | Milímetros |
| ΔH | Varição da energia de entalpia |
| J | Joules |
| d | Diâmetro |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 18 |
| 2 OBJETIVOS | 20 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL | 20 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS | 20 |
| 3 REVISÃO DA LITERATURA | 21 |
| 3.1 PROPRIEDADES DOS SÓLIDOS | 21 |
| 3.2 SOLUBILIDADE | 21 |
| 3.1.2 TAMANHO DE PARTÍCULA | 24 |
| 3.1.3 CRISTALINIDADE: SÓLIDOS CRISTALINOS <i>VERSUS</i> SÓLIDOS AMORFOS | 25 |
| 3.2 PERMEABILIDADE DE FÁRMACOS | 27 |
| 3.2.1. PRINCIPAIS ENSAIOS DE PERMEABILIDADE | 29 |
| 3.2.1.1 TÉCNICA DO SACO INTESTINAL INVERTIDO | 30 |
| 3.3 FORMAS FARMACÊUTICAS SÓLIDAS (FFS) ADMINISTRADAS POR VIA ORAL | 30 |
| 3.4 ABSORÇÃO DE FÁRMACOS | 32 |
| 3.5 HIPERTENSÃO ARTERIAL E OS BLOQUEADORES DOS CANAIS DE CÁLCIO | 33 |
| 3.6 NIFEDIPINO | 35 |
| 3.6.1 <i>Propriedades farmacológicas</i> | 35 |
| 3.6.2 <i>Propriedades físico-químicas</i> | 37 |
| 3.6 DISPERSÃO SÓLIDA | 38 |
| 3.7 TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS | 42 |
| 3.7 <i>Técnica de fusão</i> | 42 |
| 3.7.2 <i>Técnica de Evaporação de solvente</i> | 43 |
| 3.8 CARREADORES | 44 |
| 3.8.1 <i>Polímeros sensíveis ao pH</i> | 44 |
| 3.8.1.1 Eudragit® L-100 | 46 |
| 3.7 TÉCNICAS PARA A CARACTERIZAÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS | 47 |
| 3.7.1 <i>Análise térmica</i> | 48 |
| 3.7.2 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i> | 49 |
| 3.7.3 <i>Análise Granulométrica</i> | 50 |
| 3.7.4 <i>Difração de Raios- X (DRX)</i> | 51 |
| 3.7.5 <i>Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i> | 52 |
| 3.7.6 <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD)</i> | 52 |
| 3.7.8 <i>Estudo da dissolução in vitro</i> | 53 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODOS | 58 |
| 4.1 OBTENÇÃO DAS DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO EM EUDRAGIT® L-100 | 59 |
| 4.1.2 <i>Matéria-prima e reagentes</i> | 59 |
| 4.1.3 <i>Equipamentos</i> | 59 |
| 4.1.4 <i>Procedimento experimental</i> | 59 |
| 4.2 ADEQUABILIDADE DO MÉTODO CROMATOGRÁFICO POR CLAE-DAD PARA A QUANTIFICAÇÃO DO NIFEDIPINO..... | 62 |
| 4.2.1 <i>Parâmetros de validação utilizados na convalidação do método analítico</i> | 64 |
| 4.2.1.1 Especificidade | 64 |
| 4.2.1.2 Linearidade..... | 65 |
| 4.2.1.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)..... | 65 |
| 4.2.1.4 Precisão..... | 66 |
| 4.2.1.5 Exatidão..... | 67 |

| | |
|--|------------|
| 4.3 CARACTERIZAÇÃO FÍSICA E FÍSICO-QUÍMICA DO NIFEDIPINO EM SUA FORMA LIVRE E VINCULADO ÀS DISPERSÕES SÓLIDAS EM EUDRAGIT® L-100 | 68 |
| 4.3.1 <i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV)</i> | 68 |
| 4.3.2 <i>Difração de raios-X</i> | 69 |
| 4.3.3 <i>Granulometria a laser em via úmida</i> | 70 |
| 4.3.4 <i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier</i> | 70 |
| 4.3.5 <i>Termogravimetria (TG) acoplada a análise térmica diferencial (DTA)</i> | 71 |
| 4.4 ENSAIOS <i>IN VITRO</i> | 71 |
| 4.4.1 <i>Substâncias e sais utilizados</i> | 71 |
| 4.4.2 <i>Equipamentos utilizados</i> | 71 |
| 4.4.3 <i>Acessórios utilizados</i> | 72 |
| 4.4.4 <i>Animais</i> | 72 |
| 4.4.5 <i>Aspectos éticos</i> | 73 |
| 4.4.6 <i>Procedimento experimental</i> | 74 |
| 4.4.6.1 <i>Ensaio de dissolução</i> | 74 |
| 4.4.6.2 <i>Obtenção dos segmentos intestinais</i> | 76 |
| 4.4.6.2.1 <i>Perfusão intestinal em segmentos intestinais isolados</i> | 77 |
| 4.4.6.2.2 <i>Técnica do saco intestinal invertido</i> | 79 |
| 4.5 ESTUDOS DE PERMEAÇÃO | 81 |
| 4.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA | 81 |
| 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES | 83 |
| 5.1 DOSEAMENTO DO NIFEDIPINO | 83 |
| 5.2.1 <i>Linearidade</i> | 83 |
| 5.2.3 <i>Seletividade</i> | 85 |
| 5.2.4 <i>Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)</i> | 87 |
| 5.2.6 <i>Exatidão</i> | 88 |
| 5.3.1 <i>Dados Termogravimétricos (TG)</i> | 89 |
| 5.3.2 <i>Análise Térmica Diferencial (DTA)</i> | 90 |
| 5.3.3 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)</i> | 92 |
| 5.3.4 <i>Análise Granulométrica</i> | 96 |
| 5.3.5 <i>Difração Raios X (DRX)</i> | 98 |
| 5.3.6 <i>Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)</i> | 100 |
| 5.4 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO <i>IN VITRO</i> | 104 |
| 5.5 ESTUDO DE PERMEABILIDADE <i>IN VITRO</i> | 110 |
| 5.5.1 <i>Avaliação da permeabilidade Aparente (Papp)</i> | 113 |
| 6 CONCLUSÃO | 116 |
| 7 PERSPECTIVAS | 117 |
| REFERÊNCIAS | 118 |
| APÊNDICES | 130 |
| ANEXOS | 134 |

1 INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é o principal fator de risco para mortalidade das Doenças Cardiovasculares (DVC) (APPEL et al., 2002; SAITO, SARUDA et al., 2006; SAITO et al., 2008). Contribui para 9,4 milhões de mortes anuais por DVC no mundo, segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). Sendo que, no Brasil, a HAS afeta de 22,3 a 43,9% da população adulta (BRASIL, 2006).

O nifedipino (NFD) é um antagonista do canal de cálcio altamente potente pertencente ao grupo das dihidropiridinas, tem sido muito utilizado para tratar angina de peito e hipertensão (SAKURAI e NARUTO, 2008; GARBCZ et al., 2009; HUANG et al., 2011). No entanto pertence à classe de fármacos fracamente solúveis em água (~ 10µg / mL em água a 37°C), oferecendo problemas desafiadores em sua formulação, estando sua pouca solubilidade associada a baixa dissolução, levando a sua baixa biodisponibilidade (HUANG et al., 2007; CHOI et al., 20011; BEIG et al., 2013).

Dentre as técnicas as quais visam melhorar a solubilidade e taxa de dissolução de fármaco pouco solúveis em água, estão a formulação de fármacos utilizando sistemas poliméricos, para a obtenção de nanopartículas, micropartículas, microesferas, coprecipitados e Dispersões Sólidas (DS) (JOSUÉ et al., 2000).

AS DS visam alterar as propriedades do estado sólido mecanismos envolvidos no incremento da solubilidade de fármacos nos fluídos gastrointestinais, convertendo a estrutura cristalina de fármacos em estrutura amorfa e reduzindo o tamanho de partícula (SERAJUDDIN, 1999; LEUNER e DRESSMAN, 2000; CRAIG, 2002; BIKIARIS et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2007; TRAN et al., 2011), podendo promover um sistema de liberação modificada, a depender do tipo de carreador utilizado (SETHIA e SQUILLANTE, 2003). Tornando-se uma estratégia promissora para melhorar a dissolução, permeabilidade/ absorção, biodisponibilidade oral e eficácia terapêutica de fármacos pouco solúveis em água (CHIOU e RIEGELMANT, 1971).

Porém, existem poucos relatos da aplicação das DS em produtos acabados, principalmente na influência das DS na permeabilidade e eventual absorção intestinal de fármacos demonstrando a necessidade de um conhecimento aprofundado desta

técnica na aplicação e comportamento do fármaco neste sistema (LEONARDI et al., 2007).

O sistema na forma DS são obtidos por dois principais métodos, o de fusão e evaporação de solvente (LEUNER e DRESSMAN, 2000).

A maior parte dos carreadores utilizados para formulações de DS são compostos poliméricos hidrófilos (VASCONCELOS et al., 2007), no entanto, o emprego de polímeros entérico pertencente a classe Eudragit®, vem sendo descrito na literatura para aplicação em DS por ter solubilidade dependente do pH (OTH e MOES, 1989; HUANG et al., 2007; OVERHOFF et al., 2007; QI et al., 2008). Podendo controlar liberação até que a formulação alcance a região do TGI, evitando uma possível precipitação prematura do fármaco e beneficiando, conseqüentemente, sua absorção (OVERHOFF et al., 2007).

O L-100 é um copolímero entérico e vem sendo bem utilizado por ter solubilidade dependente do pH, uma vez que é insolúvel em soluções ácidas e liberando lentamente o componente bioativo em soluções neutras ou alcalinas ($6 < \text{pH} < 8$) (de OLIVEIRA; TAVARES et al., 2009).

Para explicar parâmetros morfológicos, estruturais e de estabilidade, diferentes técnicas de caracterização do estado sólidas vêm sendo empregadas para a caracterização de formulações farmacêuticas em desenvolvimento como no caso das DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Torna-se também primordial avaliar, através de testes de dissolução a taxa de liberação do fármaco, por ser um parâmetro essencial no estudo de formulações farmacêuticas, prevendo de forma eficaz o comportamento *in vivo* das mesmas (BABU et al., 2002; MANADAS et al., 2002; SOUZA et al., 2007).

Podendo também ser interessante predizer a permeação do ativo na membrana intestinal, através de vários modelos de permeabilidade *in vitro*, para avaliar a potencial absorção de novos fármacos em fases de descobrimento e desenvolvimento (BALIMANE et al., 2000). O técnica do saco intestinal invertido vem sendo utilizada para este propósito por ser uma técnica relativamente simples e reprodutível (MAHMOND et al., 2002; ROZEHNAL et al., 2012). Normalmente, a permeabilidade do ativo é expressa pelo coeficiente de permeabilidade aparente (Papp), que representa a permeabilidade do fármaco da parte apical para a região basolateral da membrana (LENNERNAS, 1998; VOLPE, 2010).

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Realizar a caracterização e comparação de parâmetros farmacocinéticos, como perfil de dissolução e taxa de absorção intestinal de dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit[®] L-100.

2.2 Objetivos específicos

- Obter dispersões sólidas de nifedipino com o copolímero entérico Eudragit[®] L-100, através do método de coprecipitação;
- Realizar a caracterização morfológica, física e química do fármaco, polímero e das dispersões sólidas;
- Determinar através da covalidação as condições analíticas apropriadas para a confiabilidade do método analítico;
- Comparar o perfil de dissolução *in vitro* do fármaco, quantificando a liberação do fármaco na sua forma isolada e nas dispersões sólidas;
- Comparar a taxa de absorção, através de estudos de permeação, do nifedipino na sua forma isolada e nas dispersões sólidas em segmentos de íleo isolado de cobaias.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Propriedades dos sólidos

Usualmente levando em consideração as condições de temperatura e pressão, a maioria dos fármacos se encontram no estado sólido. Em consequência de tais características, formas farmacêuticas no estado sólido assumem grande importância na área da farmácia (AULTON, 2005). As principais propriedades físico-químicas dos fármacos irão influenciar diretamente na sua maior biodisponibilidade com ação farmacológica desejada com o mínimo de efeitos colaterais.

Estas propriedades serão descritas com maiores detalhes nas seções a seguir, devido ao seu grande impacto no desenvolvimento das DS.

3.2 Solubilidade

A extensão na qual a dissolução ocorre sob um dado de conjuntos experimentais é denominada solubilidade. Podendo ser expressa através de quaisquer unidades de concentração, as quais relacionam massa de soluto por volume de solvente, ambos nas condições máximas de um determinado sólido (MARTINEZ e AMIDON, 2002; AULTON, 2005).

A solubilidade é uma propriedade físico-química importante, principalmente se tratando da solubilidade em sistemas aquosos, para que se possa ter um efeito terapêuticamente eficaz, todo fármaco independente da via de administração deve ter uma solubilidade em água, mesmo que limitada (AULTON, 2005; ANSEL et al., 2013).

Para que penetre na circulação sistêmica, ele deve esta primeiramente em solução não vindo a ter uma absorção incompleta ou errática alterando sua biodisponibilidade. (LEUNER e DRESSMAN, 200; AULTON, 2005; SOUZA et al, 2007).

Outro parâmetro importante é o coeficiente entre dose e solubilidade, que pode ser definido como o volume de fluidos gastrintestinais necessário para dissolver determinada dose farmacêutica (DRESSMAN, 2001). No caso de fármacos “fracamente solúveis”, a solubilidade normalmente é menor que 10 µg/mL. A Tabela 1 apresenta a nomenclatura utilizada para descrever a solubilidade de substâncias

oficiais em termos do número de partes de volume de solvente necessário para solubilizar uma parte de massa do sólido o equivalente a 1 g de um sólido no número de mL do solvente (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010).

Tabela 1. Solubilidade descritiva por partes de soluto.

| Descrição | Massa aproximada de solvente (g) necessária para dissolver 1g de soluto |
|-------------------------|---|
| Muito solúvel | Menos de 1 |
| Livemente solúvel | De 1 a 10 |
| Solúvel | De 10 a 30 |
| Fracamente solúvel | De 30 a 100 |
| Levemente solúvel | De 100 a 1.000 |
| Muito levemente solúvel | De 1.000 a 10.000 |
| Praticamente insolúvel | Mais de 10.000 |

Fonte: FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010.

Sempre houve no mercado alguns medicamentos para a qual a solubilidade apresentou um desafio no desenvolvimento de uma adequada formulação para administração oral. Medicamentos como a fenitoína, griseofulvina, digoxina, sulfatiazol e clorafenicol são imediatamente lembrados (LEUNER e DRESSMAN, 2000).

Segundo Florence e Atwood (2013), diversas são as causas que explicam a importância fundamental em se conhecer como os fármacos se dissolvem para formar uma solução e os fatores que mantêm a solubilidade ou que causam a precipitação dos fármacos. Entre eles, ressalta-se que a condição mínima para que um fármaco seja absorvido levando em consideração que este esteja molecularmente disperso (ou seja, em solução) em qualquer que seja a forma farmacêutica, uma vez que, antes da absorção, através das membranas biológicas, o fármaco precisa encontrar-se solubilizado (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Por conseguinte, um dos principais desafios atuais da indústria farmacêutica está relacionado com estratégias que melhorem a solubilidade de fármacos em água (LEUNER e DRESSMAN, 2000; OHARA et al, 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

Além das propriedades moleculares como hidrossolubilidade e/ ou lipofilicidade que um fármaco apresenta, diversos outros fatores são capazes de afetar a solubilidade para maior dissolução dos fármacos no trato gastrointestinal, dentre os quais podem ser citados o solvente, pKa do fármaco, pH do meio, a temperatura, o tamanho de partícula, forma do fármaco (isto é, sal, forma livre, estado amorfo ou cristalino), excipientes e adjuvantes, processo de fabricação do medicamento, volume e composição dos líquidos no TGI, motilidade e trânsito intestinal. Particularmente, para as DS, o aumento da solubilidade pode ser decorrente da redução do tamanho de partícula e conversão do fármaco para o estado amorfo (CHIOU e RIEGELMAN, 1971; SERAJUDDIN, 1999; BIKIARIS et al., 2005; VASCONCELOS et al., 2007).

Segundo Leuner e Dressman (2000), as principais possibilidades de melhorar a dissolução é aumentar a área de superfície disponível para dissolução, diminuindo o tamanho de partícula e / ou através da otimização das características de molhagem da superfície do composto, para diminuir a espessura da camada limite e aumentar a solubilidade do fármaco através da camada de difusão, garantindo condições de imersão para a dissolução e, por último melhorar a solubilidade aparente do fármaco sob condições fisiologicamente relevantes.

Como pode ser demonstrado na Tabela 2 a opção mais atraente para aumentar a taxa de liberação é a melhoria da solubilidade são através das formulações nas seguintes abordagens.

Tabela 2. Abordagens para ampliar a solubilidade de fármacos ou aumentar sua área superficial disponível para dissolução.

| |
|---|
| <i>I – Modificações físicas</i> |
| Tamanho de partículas |
| Micronização |
| Nanossuspensões |
| Modificação da estrutura cristalina |
| Polimorfos |
| Pseudopolimorfos (incluindo solvatos) |
| Complexação / solubilização |
| Uso de surfactantes |
| Uso de ciclodextrinas |
| Dispersões de drogas em transportadores |
| Misturas eutéticas |
| Dispersões sólidas (não molecular) |
| Soluções sólidas |
| <i>II – Modificações químicas</i> |
| Pró-fármacos |
| Sais |

Fonte: LEUNER; DRESSMAN, 2000.

3.1.2 Tamanho de partícula

O tamanho de partícula irá influenciar nas características físicas e químicas do medicamento, incluindo a velocidade de dissolução, a biodisponibilidade, a uniformidade do conteúdo e a estabilidade, assim como pode afetar a formulação e na eficácia terapêutica. Principalmente quando se trata da influência significativa do efeito de tamanho de partícula nos perfis de absorção oral de certos fármacos (AULTON, 2005; ANSEL et al., 2013).

Interferindo também no perfil de dissolução, a redução do tamanho de partícula conduz a um aumento de superfície específica do pó, ou seja, da relação da área de superfície por unidade de peso. Tanto as velocidades de dissolução e de absorção do fármaco como a uniformidade de conteúdo e estabilidade da forma farmacêutica são dependentes do grau de variação do tamanho da partícula, da distribuição de tamanho e das interações entre as superfícies sólidas (LEUNER e DRESSMAN, 2000).

No caso de fármacos pouco solúveis a influência do controle do tamanho de partícula tem sua influência aumentada na sua biodisponibilidade (VASCONCELOS et al., 2007). Quanto mais reduzido o diâmetro da partícula, maior a superfície de contato entre o sólido e o solvente, vários fármacos hidrofóbicos, os quais são muito

ativos quando administrados pela via parenteral, são praticamente ineficazes quando administrados por via oral, devido a sua baixa velocidade de dissolução e à sua baixa absorção (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; ASHFORD, 2005).

Redução de tamanho de partículas é geralmente obtida por: (a) trituração e moagem convencional; (b) moagem de esferas; (c) micronização por energia fluida; (d) precipitação controlada pela mudança de solventes ou temperatura, aplicação das ondas de ultrassons, e secagem por pulverização e (e) administração de soluções líquidas a partir do qual, mediante diluição com fluidos gástricos, o fármaco dissolvido precipita em partículas muito finas (CHIOU e RIEGELMAN, 1971).

Segundo Huang et al. (2007), normalmente há dois passos para a formulação de uma forma de farmacêutica de liberação controlada de fármacos pouco solúvel em água. No caso do desenvolvimento de FSO de liberação controlada para o nifedipino foram utilizadas tecnologias diferentes, tal como redução de tamanho de partícula ou dispersão sólida de fármacos com polímeros para melhorar a sua taxa de dissolução (CHIOU e RIEGELMAN, 1971).

3.1.3 Cristalinidade: sólidos cristalinos *versus* sólidos amorfos

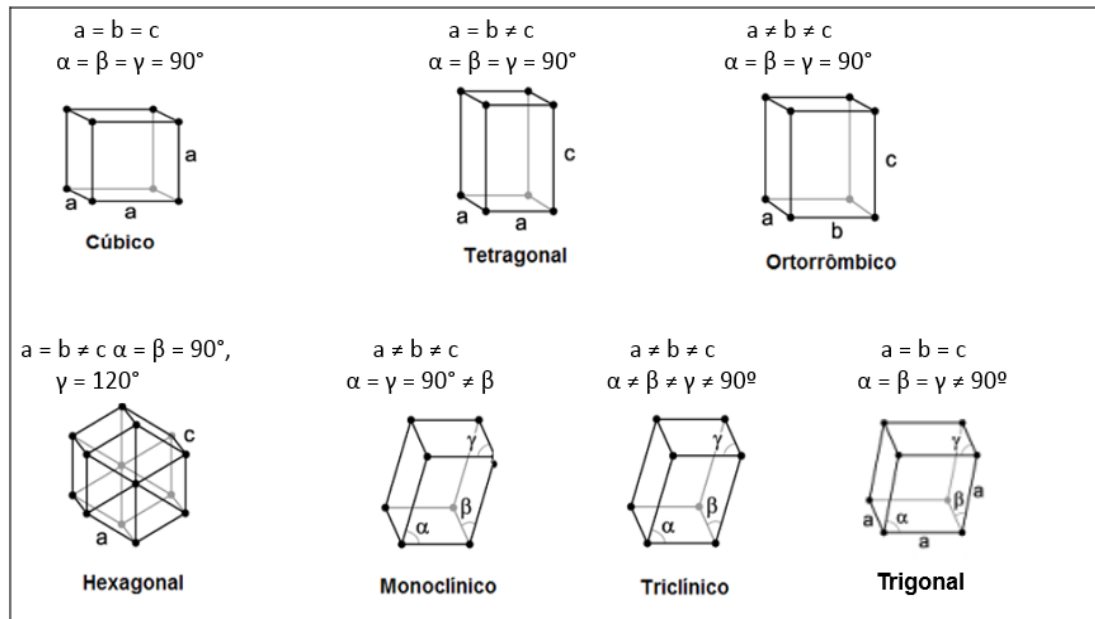
As substâncias no estado sólido podem se apresentar cristalina ou amorfa ou uma combinação de ambas.

As características cristalinas de um fármaco são consideradas importantes para sua formulação e manipulação, estabilidade química e vem sendo demonstrado recentemente a sua interferência na atividade biológica, já que afetam sua solubilidade influenciando em diferenças na extensão da absorção do fármaco (AULTON, 2005; ANSEL et al., 2013).

Os sólidos cristalinos são aqueles que átomos, íons ou moléculas apresentam um arranjo periódico e caracterizado pela repetição de átomos ou moléculas em uma estrutura tridimensional regular. Cada um representa uma vizinhança idêntica no cristal denominadas de células unitárias, as quais constituem por repetições, os diferentes retículos cristalinos denominados como triclinico, monoclinico, ortorrômbico, trigonal, tetragonal, hexagonal e cúbico (Figura 1).

As dimensões da célula unitária são caracterizadas por parâmetros de rede compostos por três eixos cristalográficos, a , b e c , e pelos ângulos entre eles, α , β e γ (BROWN et al., 2005).

Figura 1. Representação esquemática dos sistemas cristalinos fundamentais.



Fonte: adaptado de KUMINEK, 2014.

Diferente dos sólidos cristalinos os sólidos amorfos não apresentam ordem tridimensional de longo alcance, apresentando suas moléculas constituintes aleatoriamente distribuídas no espaço e suas interações com moléculas vizinhas, não são repetidas com nenhuma regularidade, por toda a amostra (AULTON, 2005).

Geralmente amostras amorfas e com baixa cristalinidade exibem maiores valores de solubilidade o que irá resultar em uma maior taxa de dissolução do que as amostras cristalinas devido à sua alta mobilidade molecular e elevadas energias metaestáveis do estado amorfo, influenciando assim a biodisponibilidade de fármacos no organismo (MARKOVICKL et al, 2000; AULTON, 2005; QIAN et al., 2010).

Diversas tentativas têm sido feitas na investigação do arranjo molecular em DS, diferenciando o material amorfo do cristalino (SHARMA; JAIN, 2011; CHIOU e RIEGELMAN, 1971).

A quantidade de material amorfo não é medida diretamente, mas é principalmente derivada da quantidade de material cristalino na amostra (KAUSHAL et al., 2004).

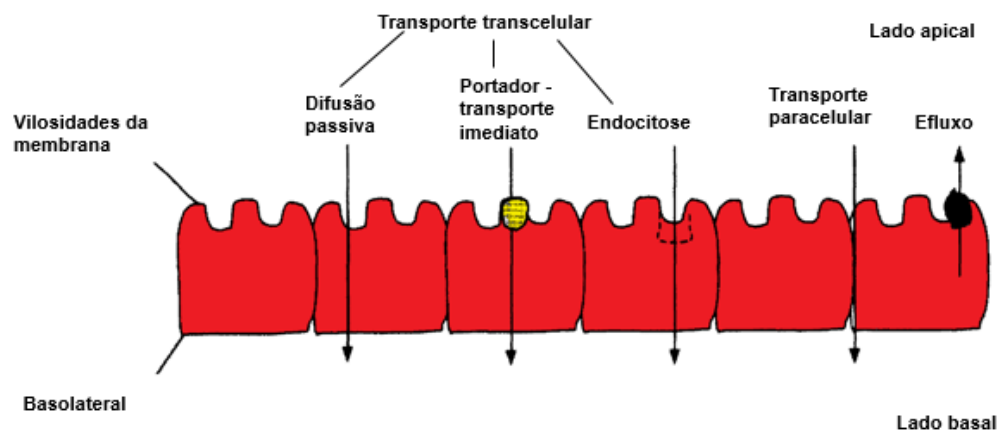
3.2 Permeabilidade de fármacos

A permeabilidade é um processo dinâmico e complexo que envolve a permeação de fármacos através das membranas biológicas (BALIMANE et al., 2000; FDA, 2000). Baseia-se indiretamente na medida da fração da dose absorvida do fármaco em humanos e diretamente sobre a medida da taxa de transferência de massa através da membrana intestinais (GRASS, 1997).

A chegada do fármaco até a circulação sanguínea feita pelos processos de absorção farmacocinética ocorre em maior parte no intestino delgado, envolve muitos mecanismos (Figura 2), tais como difusão passiva através de enterócitos (transcelular) e a junção entre os enterócitos (paracelulares), bem como processo mediado por transportadores (facilitada e ativa), e endocitose (BALIMANE et al., 2000; GOODMAN & GILMAN, 2005; KWON, 2002).

Os enterócitos ou células absorptivas são as células responsáveis pela maior parte da absorção seja de nutrientes ou fármacos no intestino delgado, são polarizadas distintamente com membrana apical (luminal) para os lados basais (sangue), as quais são separadas por junções apertadas (KWON, 2002; ROZEHNAL et al., 2012).

Figura 2. Vários caminhos paralelos envolvidos na absorção intestinal através das membranas.



Fonte: Adaptado de BALIMANE et al., 2000.

Normalmente, a permeabilidade de um composto de teste é expressa pelo coeficiente de permeabilidade aparente (Papp), a qual é definida como a taxa de

acumulação do fármaco da parte apical para a região basolateral da membrana (LENNERNAS et al., 1997; KWON, 2002; TAKAHASHI et al., 2008). Sendo determinada apenas por meio de métodos *ex vivo* e *in vitro* (VOLPE, 2010).

Existe diretrizes para relacionar a relação entre os valores de permeabilidade aparente (P_{app}) de compostos determinada a partir de estudos em células Caco-2 e a extensão da absorção desses compostos em humanos, compostos com permeabilidade aparente menor que 1×10^{-6} cm/s são classificados como pouco absorvidos ($P_{app} < 20\%$), entre 1 a 10×10^{-6} cm/s como moderadamente absorvidos ($20\% < P_{app} < 70\%$) e muito absorvidos com P_{app} maior que 10×10^{-6} cm/s ($P_{app} > 70\%$) (YEE, 1997; KWON, 2002).

Para a FDA (2000), um fármaco só é considerado altamente permeável se sua taxa de absorção em humanos for igual ou superior a 90%, no entanto segundo a ANVISA um fármaco já pode ser considerado altamente permeável quando sua extensão de absorção em humanos chega a 85% ou mais, com base na determinação do balanço de massas ou comparando com uma dose intravenosa (BRASIL, 2011; OMS).

Juntamente com a solubilidade a permeabilidade de um fármaco é um fator determinante para a melhoria da sua biodisponibilidade oral, em formulações administração por via oral (LIPKA; AMIDON, 1999; LEUNNER e DRESSMAN, 2000).

Essa relação da influência da solubilidade, associada à permeabilidade, no desempenho *in vivo* de um fármaco formulado, levou Amidon e seus colaboradores a propor em 1995, o sistema de classificação biofarmacêutica (SCB). Assim, o SBC divide o fármaco em quatro classes distintas de acordo com as propriedades acima citadas, conforme apresentado no Quadro 1 (AMIDON et al., 1995; FDA, 2000).

Quadro 1. Classificação dos fármacos de acordo com o SCB.

| Classe | Solubilidade | Permeabilidade | Fator limitante |
|--------|--------------|----------------|--|
| I | Alta | Alta | Dissolução e/ou o esvaziamento gástrico |
| II | Baixa | Alta | Solubilidade do fármaco no TGI |
| III | Alta | Baixa | Permeabilidade através da membrana intestinal |
| IV | Baixa | Baixa | Apresentam problemas quando administrados por via oral |

Fonte: Adaptado de AMIDON et al., 1995.

3.2.1. Principais ensaios de permeabilidade

Para a caracterização da permeabilidade de fármacos em diferentes fases de seu descobrimento, visando prever a fração do fármaco absorvida (Fa) em humanos, diversos modelos vêm sendo empregados. Os mais utilizados são: 1) métodos *in vitro* baseados em sistemas celulares, tais como segmentos de tecidos de animais, cultura de células de adenocarcinoma humano (Caco-2) ou de rim canino (MDCK); 2) métodos *in situ*, que consistem na perfusão do fármaco; 3) métodos *in vitro* baseados em sistemas artificiais com tecidos animais isolados (intestino invertido, segmentos intestinais) ou pelo ensaio de permeabilidade em membrana artificial paralela (PAMPA); 4) métodos *in vivo* que contemplem os estudos farmacocinéticos diretos em animais ou seres humanos; e 5) métodos *in silico* que empregam programas computacionais para a previsão da permeabilidade dos fármacos (SOUZA et al., 2007; FDA, 2000; ROZEHNAL et al., 2012).

Os Modelos experimentais *in vitro* para calcular a permeabilidade utilizando animais, são importantes durante a descoberta e desenvolvimento de fármacos, como a permeabilidade é um dos vários fatores que pode afetar a absorção intestinal dos medicamentos orais.

A utilidade destes modelos é demonstrada pela sua capacidade de prever *in vivo* a absorção intestinal de um fármaco. Devido à diferença de desempenho destes modelos, levou a uma necessidade de normalização desses ensaios nos laboratórios para assegurar a aplicabilidade no processo de desenvolvimento dos medicamentos (VOLPE, 2010).

Os estudos *in vitro* vêm tendo grande aplicação nas bioequivalências ou em ensaios de bioequivalência, para alguns tipos de fármacos, assim, evitando a exposição de voluntários saudáveis a estes estudos (BALIMANE et al., 2000). No entanto, sua maior desvantagem é que os resultados obtidos são extremamente dependentes do método utilizado (GRASS, 1997).

Dentre as técnicas citadas acima para se prever a permeabilidade, o modelo do saco intestinal invertido vem sendo usado com este propósito, por ser relativamente uma técnica simples e reprodutível (BARTHE et al., 1998).

3.2.1.1 Técnica do saco intestinal invertido

A técnica do saco intestinal invertido foi relatada pela primeira vez por Wilson e Wiseman (1953), em estudos de transporte de glicose e aminoácidos. No método original, e em todos os subsequentes relatos do uso da técnica, os sacos eram encubados em sacos contendo solução salina simples, às vezes com a adição de glicose, tornando a viabilidade do tecido intestinal muito pobre em tais condições (BARTHE et al., 1998; BOUER et al., 1999).

O sistema de sacos intestinais de ratos evertidos básicos, vem melhorando em diversos relatos, modificando o meio de cultura para cultura de tecido, utilizando como meio biológicos TC 199 e solução de Krebs, no lugar do tampão de sal simples (BARTHE, 1998; MAHMOND,2002; MAHESHWARI, 2010 e OKWARI et al., 2010; ROZEHNAL et al., 2012).

Este uso de tecido em meio de cultura aumenta significativamente a viabilidade dos tecidos e a técnica tem sido utilizado com sucesso para quantificar a absorção intestinal pela via paracelular (BARTHE, 1998; BALIMANE et al, 2000).

Estudos recentes demonstraram que o método do saco intestinal invertido intestino, tem se tornado uma ferramenta simples e eficiente para avaliar o papel da glicoproteína-p (P-gp) na absorção intestinal de fármacos. A função destas está relacionada ao mecanismo de efluxo de substâncias, inclusive alguns fármacos, atuando como uma bomba que transporta fármacos de volta para o lúmen intestinal à medida que são absorvidos pelos enterócitos (BARTHE, 1998; BOUER et al.,1999; BALIMANE et al., 2000). Acreditando-se que a p-gp, podem influenciar a absorção de muitos medicamentos administrado por via oral, influenciando sua biodisponibilidade.

3.3 Formas farmacêuticas sólidas (FFS) administradas por via oral

Especialmente para o tratamento de doenças crônicas como as hipertensivas, a via oral é o meio mais simples e flexível de administração de medicamentos, em virtude de sua conveniência, baixo custo e alto comprimento dos pacientes em comparação com outras vias alternativas (BALIMANE et al., 2000; ROZEHNAL et al.,2012).

Os compostos que se destinam a administração por via oral devem ter adequada solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal a fim de atingir concentrações terapêuticas desejáveis (BALIMANE et al., 2000).

As vantagens das FFS administradas por via oral em comparação a outras formas de administração de fármacos compreendem sua maior estabilidade, dosagem precisa e sua produção relativamente fácil. Diante de tal circunstância, a maioria dos novos fármacos lançados no mercado são utilizados como formas farmacêuticas sólidas, que originem concentração plasmática efetiva *in vivo* após a administração oral (VASCONCELOS et al., 2007).

O tipo de forma farmacêutica e o seu método de preparação podem influenciar na biodisponibilidade de um fármaco. Influenciando o número de possíveis etapas que participam desde o momento da administração até o surgimento do fármaco dissolvido nos fluídos gastrintestinais (AULTON, 2005).

As FFS administradas por via oral podem ser classificadas, de acordo com o tipo de liberação do fármaco, em produtos com liberação convencional ou modificada (PEZZINI et al., 2007; ANSEL, 20013).

Formas de dosagem sólidas orais geralmente dispõem com uma série de exigências e desafios no desenvolvimento do sistema de distribuição do fármaco, comprometendo fármacos instáveis frente às alterações do pH, baixa concentração do fármaco no local de ação devido à falta de modulação do tempo no trato gastrintestinal (TGI) com o aumento da eliminação de primeira passagem (GUIMARÃES et al., 2008 e THI et al., 2009).

Devido à sua baixa disponibilidade biológica em virtude das propriedades intrínsecas do estado sólido, como a solubilidade, ou devido à permeabilidade falha das membranas biológicas nota-se que aproximadamente 40% dos novos princípios ativos são recusados pela indústria farmacêutica não beneficiando nunca um paciente. Adicionalmente, cerca de 70% desses fármacos comercializados apresentam desempenho subutilizado pelas mesmas razões (SVENSON, 2009).

Este contexto tem sido considerado como verdadeiro desafio para a indústria farmacêutica nas últimas décadas, motivando o investimento em inovadas formulações de novos sistemas de liberação modificada de fármacos para a administração oral. Tornando-se uma estratégia terapêutica, pois permite a manutenção do efeito farmacológico a ser mantido pela sua liberação em alvos

desejados a uma velocidade controlada para um tempo prolongado adequado. (LEUNNER; DRESSMAN, 2000; TRAN et al., 2011; ANSEL et al., 2013).

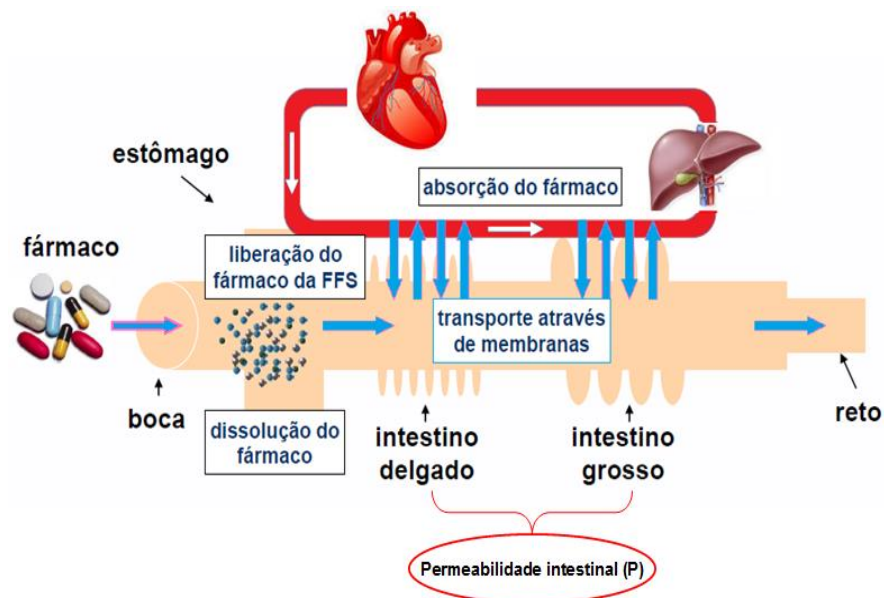
3.4 Absorção de fármacos

A absorção é um processo ativo e complexo que envolve a permeação do fármaco através das membranas biológicas (AMIDON et al., 1995).

Para que absorção do fármaco ocorra, é necessário que ele esteja adequadamente solubilizado no meio de dissolução e, além disso, que seja capaz de permear a membrana gastrointestinal (AMIDON et al., 1995; BALIMANE et al., 2000). Se tornando um mecanismo fundamental para a biodisponibilidade em *in vivo* (THI et al., 2009).

Após administração de uma FFS administrada oralmente, o fármaco deve ser liberado e dissolver nos fluidos gastrintestinais para que seja absorvido e exerça a ação farmacológica (Figura 3) (PEZZINI et al., 2007).

Figura 3. Etapas no processo de absorção de fármacos.



Fonte: Adaptado de AMIDON, 2009.

Devido a sua anatomia (microvilosidades) e mucosa permeável, o intestino delgado é a principal região de absorção no trato gastrointestinal, devido a especificidade de transportadores, assim como devido a redução da área de superfície

a medida que a substância vai descendo no TGI (DRESSMAN et al., 1998; BALIMANE et al., 2000).

O intestino delgado humano é de aproximadamente de 2-6 m, dividido em três seções: duodeno, jejuno e íleo, que correspondem compreendem 5%, 50%, e 45% de seu comprimento (BALIMANE et al., 2000). Podendo apresentar diferentes pH nos seres humanos nos estados alimentados e em jejum (DRESSMAN et al., 1997).

O processo de absorção de fármacos no TGI pode ser afetado por diversos fatores de forma complexa. Dentre estes fatores estão as propriedades físico-químicas das moléculas, tais como: pKa, solubilidade, lipofilicidade, massa molecular e área superficial polar-apolar. Como também por fatores fisiológicos, que correspondem ao pH do TGI, trânsito intestinal, fluxo sanguíneo, esvaziamento gástrico, dentre outros mecanismos de absorção (AMIDON et al., 1995; BALIMANE et al., 2000).

3.5 Hipertensão arterial e os bloqueadores dos canais de cálcio

Considerada um distúrbio comum, porém silencioso, a hipertensão trata-se na maioria das vezes de uma condição assintomática, que produz alterações estruturais progressivas em órgãos vitais, sobretudo no coração, cérebro e rins, que predis põem o paciente a complicações clínicas como acidentes vascular encefálicos, arterial coronariana e insuficiência renal e cardíaca (BRASIL, 2010; LEWINGTON et al., 2002).

A hipertensão arterial sistêmica é uma doença de alta prevalência no mundo, sendo considerada um dos principais fatores para o desenvolvimento de DCV, no Brasil a faixa de prevalência vem aumentando progressivamente, afetando cerca de 25% da população, considerada um dos problemas de saúde pública do país (BRASIL, 2006 , 2010).

Até o início dos anos 50, não existia nenhum tratamento eficaz para HAS, e o desenvolvimento dos agentes anti-hipertensivos, que aumentam a expectativa de vida do indivíduo, representou um grande sucesso terapêutico (RANG et al., 2003).

Nos tratamentos com medicamentos anti-hipertensivos, devem seguir princípios gerais, tais como: ser eficaz por via oral; ser bem tolerado e permitir a administração em menor doses diárias, com preferência para posologia de uma

administração diária do medicamento. Deve-se levar em conta que quanto maior a dose, maiores serão as possibilidades de efeitos colaterais (BRASIL, 2006).

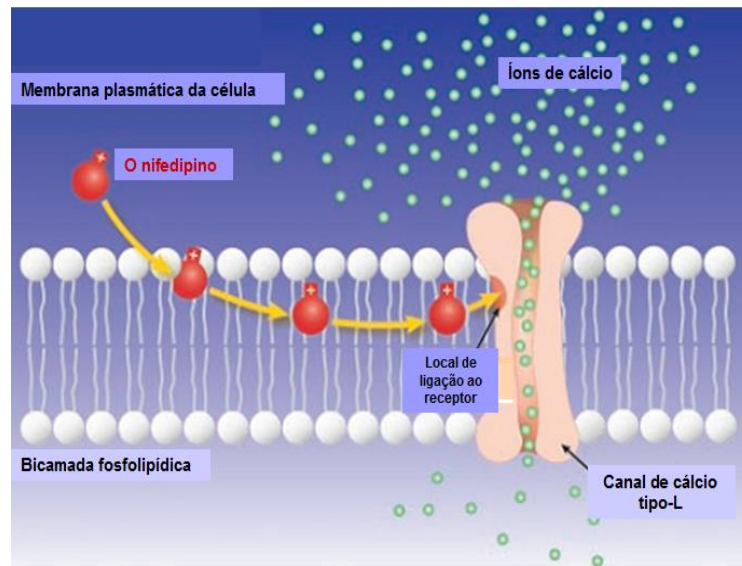
Dentre estes anti-hipertensivos destaca-se os bloqueadores dos canais de cálcio. Estes também chamados comumente de antagonistas de cálcio têm exercido um importante papel há mais de 20 anos, no tratamento da hipertensão (RIBEIRO; MUSCARÁ, 2001).

Os bloqueadores dos canais de cálcio são substâncias que bloqueiam a entrada celular do Ca^{2+} através dos canais de cálcio, são terapêuticos cardiovascular que atuam nos canais do tipo L, por bloqueio competitivo com o cálcio (Ca^+) que entra pelos canais lentos de voltagem-dependentes (RANG et al. 2003; TRIGGLE, 2007). Portanto, reduzem a excitabilidade do coração e a frequência cardíaca, causando vasodilatação arterial generalizada (BOMBIG; PÓVOA, 2009).

Os antagonistas do cálcio de tipo L compreendem três classes quimicamente distintas: as *fenilalquilaminas* (por exemplo, **verapamil**) afeta preferencialmente o coração, as *dihidropiridinas* (por exemplo, **nifedipino**, **amlodipina**) exerce maior efeito sobre os músculos lisos vasculares do que sobre o coração e as *benzotiazepinas* (por exemplo, **diltiazem**) possui uma posição intermediária quanto a sua especificidade.

Certas substâncias, como o verapamil e o nifedipino (Figura 4), impedem o influxo de íons-cálcio através da membrana celular (RANG et al.,2003; GOODMAN; GILMAN, 2005).

Figura 4. Nifedipino atuando no bloqueio dos canais de cálcio através da membrana celular.



Fonte: Adaptado de <<http://pharmacologycorner.com>>

Todos os fármacos pertencentes à classe dos antagonistas de cálcio são ligados fortemente às proteínas plasmáticas (entre 70 a 99 %) e suas meia-vidas de eliminação variam em torno de 1 a 5 horas (GOODMAN; GILMAN, 2005). Por conseguinte, as dihidropiridinas de ação rápida geralmente produzem taquicardia reflexa em consequência da redução da pressão arterial (RANG et al., 2013).

Atualmente, o crescente número de antagonistas de cálcio (sejam novas formulações ou novas estruturas químicas) tem colaborado para uma mudança no cenário, permitindo uma aplicabilidade mais apropriada quando comparado com outros agentes anti-hipertensivos. (RIBEIRO; MUSCARÁ, 2001).

3.6 Nifedipino

3.6.1 Propriedades farmacológicas

O NFD foi lançado no Japão, em 1976 (SAKURAI; NARUTO; 2008). Quimicamente nomeado de éster 3,5-dimetílico do ácido 1,4-diidro-2,6-dimetil-4-(2-nitrofenil)-3,5-piridinadicarboxílico) (HECQ et al., 2005).

É um bloqueador do canal de cálcio altamente potente pertencente ao grupo das dihidropiridinas, sendo um bom relaxante muscular utilizado principalmente no

tratamento de uma variedade de desordens cardiovasculares tais como angina *pectoris*, hipertensão e fenômeno Raynaud por proporcionar um grande efeito vasodilatador, agindo particularmente nas células do miocárdio e nos músculos lisos vascular (MAGGI et al., 1996; GARBACZ et al., 2009).

Por ser uma antagonista do cálcio (bloqueadores da entrada de cálcio), seu mecanismo de ação farmacológico dificultam a entrada de Ca^{2+} de tipos L regulados por voltagem e, recentemente, de tipo T. Os antagonistas do cálcio também dilatam os vasos coronarianos, o que é importante na angina variante (RANG et al., 2013). Exercendo efeito maior sobre o músculo liso do que sobre o coração (HECQ et al., 2005; RIBEIRO; MUSCARÁ, 2011).

O NFD quando administrado na forma oral é quase completamente absorvido a partir do trato gastrointestinal (TGI), predominantemente a partir do jejuno, mas possui uma baixa biodisponibilidade principalmente devido ao metabolismo hepático de primeira passagem, resultado na redução da biodisponibilidade sistêmica (ABOU-AUDA et al, 2000; NIOPAS; DAFTSIOS, 2003; HUANG et al., 2007), que normalmente está em torno de 46% e 56%, independente da formulação utilizada.

Devido ao seu elevado caráter lipofílico, ele liga-se fortemente, as biomenbranas, cerca de 92 a 98% (GOODMAN; GILMAN 2005; RIBEIRO; MUSCARÁ, 20011). No entanto, apresenta pouca solubilidade em água, exibindo uma baixa taxa de dissolução, o que é apontado como sendo umas das principais causas de sua baixa biodisponibilidade (VIPAGUNTA et al., 2002; HUANG et al., 2006).

Pertencendo então a classe II no sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), onde possui baixa solubilidade e alta permeabilidade, tendo como fator limitante do processo de absorção a solubilidade do fármaco no TGI, dessa forma, as diferenças de formulações e variáveis fisiológicas podem interferir na absorção do fármaco classe II (AMIDON et al., 1995).

A farmacocinética e farmacodinâmica deste fármaco tem sido caracterizada usando várias formulações de NFD designadas para administração oral, bem como administração por via parentérica. Foi evidenciado que um rápido aumento na concentração plasmática do nifedipino resulta no aumento do ritmo cardíaco e implicações colaterais secundárias específicos deste fármaco (SOONS et al., 1992; TOAL, 2004; WALLEY et al., 1987).

Além disso, devido a sua meia-vida biológica curta (2-5 h), seu efeito anti-hipertensivo dura apenas algumas horas (NIOPAS; DAFTSIOS; 2003). Sendo

ministradas dosagens de libertação imediata para o NFD, o que requer um regime de administração do medicamento três vezes ao dia, resultando numa variação significativa da concentração plasmática do fármaco acarretando efeitos secundários tóxicos (HUANG *et al.*, 2006).

Consequentemente, as formas de dosagem de libertação modificada do NFD como sendo a primeira escolha terapêutica, tornaram-se uma abordagem prática para alcançar sua eficácia terapêutica por meio de reduzir os efeitos colaterais e melhorar a adesão do paciente (GARBACZ *et al.*, 2009; TOAL *et al.*, 2012).

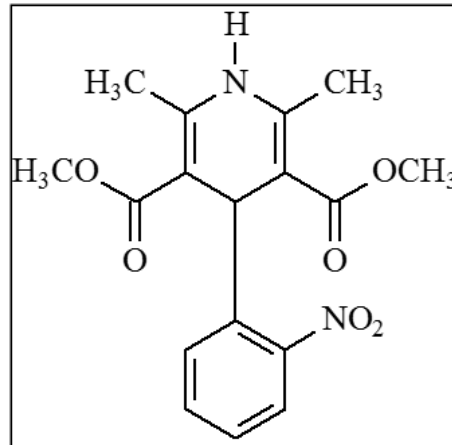
Por esse motivo, justifica-se o desenvolvimento de formulações de libertação controlada, como as apresentadas no mercado para o NFD, incluindo sistemas monolíticos osmótico de libertação controlada, como por exemplo, o Adalat® Oros, e sistemas multiparticulados, com o Adalat® Retard, ambos do laboratório Bayer. O desenvolvimento dessas formas de libertação controlada é dificultado pela baixa solubilidade da molécula, que afeta sua taxa de absorção, medidas como redução de tamanho de partícula e as DS com polímeros têm sido propostas como maneira de aumentar a biodisponibilidade do ativo (EMARA *et al.*, 2002; HUANG *et al.*, 2006).

3.5.2 Propriedades físico-químicas

O nifedipino de estrutura química ($C_{17}H_{18}N_2O_6$) (Figura 5) possui peso molecular 346,34 g/mol, existe sob a forma de pó amarelo, inodoros e insípidos, praticamente insolúvel na água ($\sim 10\mu\text{g} / \text{mL}$ em água a 37°C), facilmente solúvel em acetato de etila, ligeiramente solúvel no etanol e muito pouco solúvel em clorofórmio e acetona (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010; USP XXXII, 2009).

O nifedipino é um ácido fraco ($\text{pK}_a = 3,93$), apresenta ponto de fusão entre $172\text{-}174^\circ\text{C}$ e $\log P = 2,20$ (DRUGBANK, 2015).

Figura 5. Estrutura química do nifedipino (C₁₇H₁₈N₂O).



Fonte: FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010.

O nifedipino deve ser sempre armazenado em recipientes bem fechados, protegidos da luz (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010). Quando exposto à luz visível ou comprimentos de onda de luz artificial é convertido a derivados de nitrosifenilpiridina, enquanto que exposto à luz ultravioleta leva à formação de derivado dnitrofenilpiridina (BÉCHARD et al., 1992).

3.6 Dispersão sólida

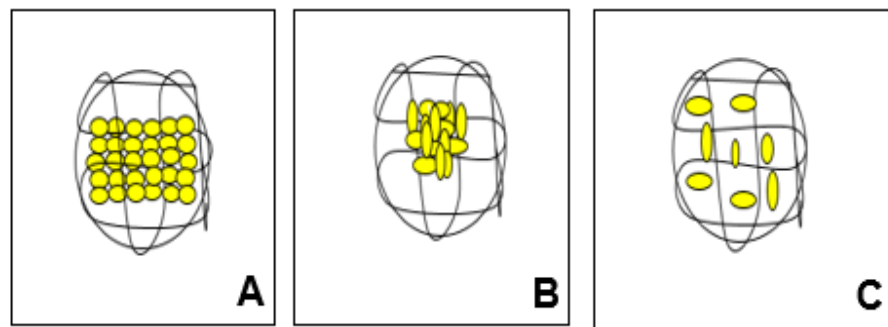
Sekiguchi e Obi (1961) desenvolveram um método prático o qual envolveu a formação de misturas eutéticas de fármacos com transportadores solúveis em água reforçando como poderia ser ultrapassada as limitações da biodisponibilidade de fármacos fracamente solúveis em água. Sekiguchi e Obi sugeriu que a droga que estaria presente na mistura eutética ficaria no estado microcristalino. Este método foi mais tarde denominado “dispersão sólida” por Chiou (1971) referindo-se ao termo a dispersão de um ou mais ingredientes ativos num carreador inerte ou uma matriz no estado sólido preparado pelo método de fusão ou evaporação de solvente.

Foi demonstrado que todo o fármaco em uma DS não pode necessariamente estar presente em um estado microcristalino, ou seja, certa fração do fármaco pode ser disperso molecularmente na matriz, formando assim uma solução sólida (GOLDBERG et al., 1966).

As DS geralmente são caracterizadas por seus estados físicos, tais como forma amorfa, cristalina, ou no estado intermediário entre parcialmente amorfo e cristalino. Elas também são classificadas com base no seu arranjo molecular, incluindo eutéticos, precipitações amorfas na matriz cristalina em soluções sólidas (TRAN et al., 2011).

As propriedades de uma dispersão são altamente afetadas pela uniformidade da organização do fármaco na matriz (Figura 6). O comportamento de dissolução e de estabilidade podem ser diferentes para DS que não contêm qualquer partícula cristalina do fármaco (SETHIA; SQUILLANTE, 2003; DHIRENDRA et al., 2009)

Figura 6. Representação esquemática da distribuição molecular de fármacos em dispersões sólidas, partícula cristalina (A), partícula amorfa (B) e partícula dispersa molecularmente (C).



Fonte. Fonte: Adaptado de DHIRENDRA et al., 2009.

As dispersões sólidas foram também categorizadas em três gerações distintas levando em consideração a inovação utilizada para sua obtenção (VASCONCELOS et al., 2007; TRAN et al., 2011; ALVES et al., 2012).

Os eutéticos e DS preparadas utilizando veículos cristalinos são referidos como primeira geração de dispersões sólidas. Esses carreadores incluíam ureia por ter alta solubilidade em água, mas possuem como desvantagens a formação de DS cristalinas, que, por serem mais estáveis termodinamicamente, não liberam o fármaco com a rapidez esperada (VASCONCELOS et al., 2007).

As DS de segunda geração, foram classificadas como aquelas que utilizam transportadores amorfos em vez de cristalinos, diminuindo as limitações da primeira geração (VASCONCELOS et al., 2007).

Observou-se que DS onde o fármaco é mantido no estado cristalino, não pode ser tão eficaz como a amorfa, porque as primeiras eram mais termodinamicamente

estáveis, diminuindo assim sua dissolução (GOLDBERG et al., 1966). Funcionando como um sistema em que o fármaco se encontra molecularmente disperso de forma irregular em um carreador amorfo, que são geralmente polímeros (VILHELMOSEN, 2005).

Ultimamente, tem sido evidenciado que o perfil de dissolução pode ser melhorado se o carreador tiver propriedades auto-emulsionante ou com a adição de surfactantes. Surgindo assim a terceira geração DS, a qual tem como transportador um agente tensoativos, ou uma mistura destes com polímeros amorfos (VASCONCELOS et al., 2007).

Como as DS compreendem uma grande variedade de sistemas, estas podem ser produzidas com diferentes finalidades, tais como, alterar as propriedades do estado sólido, acelerar a velocidade de dissolução, retardar a liberação de fármacos, aumentar o coeficiente de solubilidade e melhorar a estabilidade do fármaco. É imprescindível a seleção adequada de um carreador e do método de obtenção das dispersões mais apropriado, uma vez que o tipo e comportamento das DS vão depender tanto das propriedades dos carreadores e fármacos como também do método de preparação utilizado (CHIOU; RIEDELMAN, 1971; WEUTS et al., 2005).

Como foi mencionado anteriormente, ainda que as dispersões sólidas possam ser utilizadas para uma vasta aplicação, ocasionando potenciais vantagens, o uso e estudo destes sistemas tem sido atraente para aumentar a taxa de dissolução e solubilidade de fármacos pouco solúveis (CRAIG, 2012).

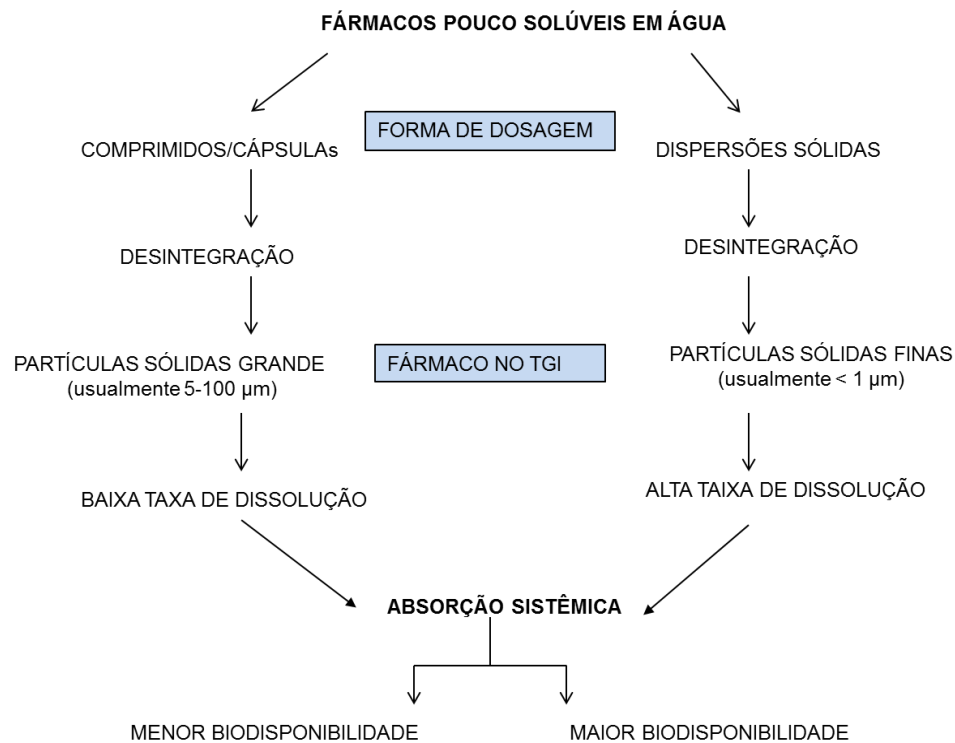
São vários os mecanismos responsáveis pelo aumento da solubilidade e taxa de dissolução ocasionada pelas DS de fármacos pouco hidrossolúveis. Dentre estes se encontram: I) redução do tamanho das partículas e aumento da área superficial; II) diminuição da cristalinidade (formação de amorfos ou de uma forma metaestável); III) redução da aglomeração e agregação; IV) efeito solubilizantes ou co-solvente do carreador sobre o fármaco; V) aumento da molhabilidade e solubilidade e solubilidade aquosa do fármaco; VI) pH do meio de dissolução (BHATNAGAR et al., 2013; CHIOU; RIEGELMAN, 1971; LEUNER; DRESSMAN, 2000; BROMAN et al., 2001; CRAIG, 2002; QIAN et al., 2010; SHARMA; JAIN, 2011).

Na prática, formas de dosagem relacionadas às DS têm tido suas vantagens tradicionalmente consideradas, levando em consideração que a liberação *in vitro* de fármacos é expressivo em comparação com formulações convencionais de cápsulas e comprimidos. Como está representado esquematicamente na Figura 7, a formulação

é desintegrada na forma de partículas de tamanho inferior a 1 μm , em decorrência disso será naturalmente mais dissolvida, à medida que, formulações convencionais, o tamanho de partícula é superior a 5 μm (SERAJUDDIN, 1999; BIKIARIS et al., 2005).

Mais recentemente as dispersões sólidas vêm sendo utilizada para a melhoria da solubilidade e velocidade de dissolução de diversos fármacos como paracetamol (QI et al., 2008), praziquantel (CHAUD et al., 2010), sinvastatina (RAO et al., 2010), piroxicam (WU et al., 2009), etravirina (BHATNAGAR et al., 2013), ibuprofeno (DABBGH; TAGHIPOUR, 2007), fluconazol (FERNANDA; SOUTO, 2003), entre eles está o nifedipino (CILURZO et al., 2002; VIPPAGUNTA et al., 2002, HUANG et al., 2006; HUANG et al.,2007).

Figura 7. Representação esquemática do aumento da biodisponibilidade de um fármaco com pouca solubilidade em água através das DS em comparação com formas farmacêuticas tradicionais.



Fonte: Adaptado de SERAJUDDIN, 1999.

Dentre as diferentes práticas para favorecer a solubilidade dos fármacos hidrofóbicos, a técnica de DS tem tido grande interesse na tecnologia farmacêutica. Considerada uma estratégia de grande relevância no intuito de melhorar e aperfeiçoar a liberação de fármacos pouco solúveis resultando na melhoria da sua

biodisponibilidade e eficácia terapêutica (SERAJUDDIN,1999; LEUNER ; DRESSMAN, 2000; CRAIG, 2002; VASCONCELOS et al., 2007; QIAN et al., 2009; LIMA et al., 2011).

Apesar da ampla pesquisa com DS, tem como desvantagem a sua pouca utilização em larga escala em produtos comerciais, devido a algumas limitações associadas a métodos, tais como fabricação e aumento da escala no processo de produção (VASCONCELOS et al.,2007).

Durante o processamento de fabricação há a possibilidade de estresse mecânico ou armazenamento (estresse por temperatura e umidade) ocorrer separação de fases, crescimento de cristais e a recristalização do fármaco, devido ao fato de a forma amorfa das DS serem menos estável que o estado cristalino (CHAUHAN et al., 2005; MOOTER et al., 2006).

A recristalização das DS em DS amorfas pode levar a uma redução significativa na taxa de solubilidade e dissolução e, conseqüentemente reduzir a biodisponibilidade (MOOTER et al ., 2000 ; SHARMA; JAIN, 2011).

No início do programa de desenvolvimento de uma DS, os riscos de uma formulação amorfa devem ser avaliados, para que possa orientar estratégias em sua formulação, já que a exploração do potencial de sólidos amorfos requer sua estabilização em estado sólido, bem como ao longo de seu desempenho *in vivo* (SHARMA; JAIN, 2011).

3.7 Técnicas para obtenção de dispersões sólidas

É imprescindível a seleção adequada de um método de obtenção das dispersões mais apropriado, visando aquele que seja mais eficiente no processo de dissolução e estabilidade das formulações obtidas nas condições de armazenamento (BIKIARIS et al., 2005).

A maioria das DS são obtidas basicamente pela técnica de fusão e evaporação do solvente (SERAJUDDIN, 1999; YUSUKE et al., 2008).

3.7.1 Técnica de fusão

No método de fusão, o carreador é fundido a uma temperatura ligeiramente superior à do seu ponto de fusão e o fármaco é incorporado ao carreador. O

resfriamento da mistura ocorre sob agitação constante, de modo a obter a supersaturação do fármaco (SHARMA; JAIN, 2011).

O uso de altas temperaturas, pode ser um fator limitante para esse método, o fármaco pode ser degradado (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SHARMA; JAIN, 2000). A miscibilidade incompleta entre o fármaco e o carreador pode ocorrer devido à alta viscosidade de um carreador polimérico no estado fundido, é outra limitação deste processo (VASCONCELOS et al., 2007).

Para evitar as limitações do método de fusão, várias modificações, como a fase de extrusão a quente, Meltrextm ou aglomeração foram introduzidas ao método original.

3.7.2 Técnica de Evaporação de solvente

O primeiro passo para o método de evaporação de solvente é o preparo da solução contendo o material matricial e o fármaco. O segundo passo envolve a remoção do solvente (s), resultando na formação das DS (VASCONCELOS et al., 2007).

Neste método a decomposição do fármaco pode ser evitada, a evaporação do solvente orgânico ocorre em baixa temperatura (LEUNER; DRESSMAN, 2000; VASCONCELOS et al., 2007). Não tendo que se utilizar temperaturas elevadas como as descritas no método de fusão.

Dentre as técnicas que podem ser utilizadas a evaporação de solvente incluem coprecipitação (LEUNER; DRESSMAN, 2000; CHAUD et al., 2010), secagem por pulverização, liofilização, spray drying, o uso de rotaevaporador, o fluxo de nitrogênio e a utilização de fluido supercrítico (VASCONCELOS et al., 2007).

Na técnica de coprecipitação o fármaco e o polímero são dissolvidos, e posteriormente induz-se a precipitação pela adição de um co-solvente mantendo agitação constante. A dificuldade deste método está em encontrar um solvente que dissolva tanto o fármaco como o carreador (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

No presente trabalho a coprecipitação da solução fármaco/polímero foi proporcionada pelo pH do meio. Especificamente, existem poucos relatos na literatura da obtenção de dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit[®] L100 pelo método de coprecipitação induzido pela variação do pH, seguida da evaporação de solvente.

Simonelli e colaboradores (1969) usou o termo coprecipitados mais corretamente para descrever dispersões sólidas de PVP com o fármaco, precipitada a partir de uma solução de cloreto de sódio com a adição de ácido clorídrico.

3.8 Carreadores

A escolha do carreador é uma questão determinante e criteriosa no incremento de solubilidade das DS. Uma vez que suas propriedades, associadas a natureza do fármaco, exercem grande influência nas características de dissolução do composto farmacêutico ativo disperso, existindo a necessidade de carreadores serem farmacologicamente inertes e não tóxicos (SETHIA; SQUILLANTE, 2003).

A maior parte dos carreadores utilizados no sistema de DS são compostos poliméricos hidrófilos, os mais utilizados na literatura são (PEG, PVP e HPMC). Servindo como inibidor da cristalização através da diminuição da mobilidade molecular da forma amorfa do fármaco disperso na matriz (QUIAN et al., 2009).

No entanto, o emprego de polímeros sensíveis ao pH os quais são pH dependentes vem sendo descrito na literatura para aplicação em DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000; OVERHOFF et al, 2007), superando a limitações de fármacos de caráter ácido com baixo pKa, os quais são dissolvidos no estômago (AULTON, 2005).

Podendo retardar a liberação até que a formulação alcance a região intestinal, evitando uma possível precipitação prematura do fármaco e beneficiando, conseqüentemente, sua absorção (de OLIVEIRA et al., 2009; OVERHOFF et al., 2007).

3.8.1 Polímeros sensíveis ao pH

Por ser uma das classes de materiais mais versáteis e de grande aplicabilidade na área farmacêutica os polímeros sintéticos devem ter suas características amplamente investigadas, para sua vasta aplicação (VILLANOVA et al., 2010).

Entre estes polímeros encontram-se os polímeros entéricos, os quais apresentam um perfil de solubilidade diferenciado, devido a presença de grupamentos ácido carboxílicos livres e grupos ésteres, presente na sua rede polimérica (CHOURASIA; JAIN, 2004; MOUSTAFINE; et al., 2005; de OLIVEIRA et al., 2009).

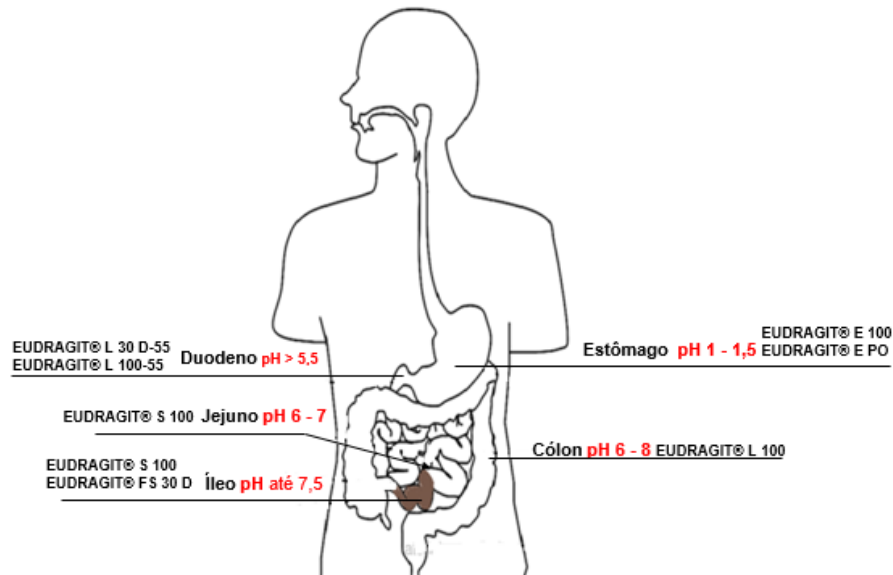
São quase sempre insolúveis em pH aquoso ácido, aumentando sua solubilidade a medida que o pH aumenta, tornando o pH do meio de dissolução o fator crítico para sua performance (CHOURASIA; JAIN, 2004).

Dependendo mecanismo de liberação, o pH do polímero também pode ser importante quando se deseja a liberação do fármaco em um pH específico, durante sua passagem no TGI, que apresenta valores de pH distintos ou em entregas de cólon específicas (AKHGARI et al., 2005; DEGUSSA, 2007).

Os polímeros mais usados como gratorresistente são os copolímeros do ácido metacrílico conhecidos comercialmente como Eudragit[®] que dependendo da sua composição, apresentam diferentes características de solubilidade, começam a dissolver-se em valores de pH 5,5 e 7,0 (CHOURASIA; JAIN, 2004).

Dentre os polimetacrilatos destacam-se Eudragit[®] E, L, S, NE, RL e RS , com liberação em pH específico, servindo como moduladores da liberação de fármacos (Figura 8).

Figura 8. Diferentes Eudragit[®], e seus pH específicos no TGI.



Fonte: Adaptado de ROEHM PHARMA POLYMERS.

<<http://www.iptonline.com/articles/public/DegussaRohmPharmaPolymers.pdf>>

O uso desses copolímeros poderia prevenir a toxicidade do NFD, provenientes das elevadas dosagens deste fármaco administrada diariamente, estendendo seu

tempo de meia vida no plasma. Afim de superar seu extenso metabolismo de primeira passagem e melhorar a adesão do paciente (PHADKE et al., 2015).

3.8.1.1 Eudragit® L-100

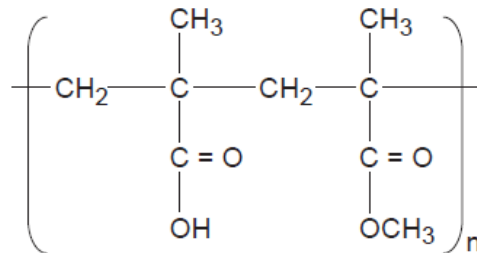
O Eudragit® L-100 (pó branco de odor característico), possui fórmula molecular $(C_9H_{14}O_4)_n$ (Figura 9). É um copolímero do ácido metacrílico e metacrilato de metila, mais utilizados como revestimento entérico dependente do pH (AKHGARI et al., 2005; DEGUSSA, 2007).

É utilizado para administração oral e liberação controlada, uma vez que é insolúvel em soluções ácidas ($pH < 3$) e solúvel em soluções neutras ou alcalinas ($6 < pH < 8$) (de OLIVEIRA; TAVARES et al., 2009).

A solubilidade do copolímero Eudragit® L-100 em função do pH está associada aos grupos de ácido metacrilato presentes na cadeia. Esses grupos sofrem protonação em pH elevado (pH acima de 7), o que acontece pouco com a forma não protonada (pH ácido), que não afeta na ionização dos metacrilatos, mantendo-se a conformação nessa faixa de pH de forma fechada, favorecendo a precipitação do polímero (de OLIVEIRA et al., 2009).

O processo de mudança de conformação com alteração do pH, permite na passagem do fármaco do estômago para o intestino a permanência de moléculas mais intactas, até a chega na circulação sistêmica (LECOMTE et al. 2005; OVERHOFF et al, 2007; de OLIVEIRA et al., 2009). Ocasionalmente uma maior recuperação terapêutica do ativo através deste carreador pH dependente.

Figura 9. Estrutura molecular do Eudragit® L-100.



Fonte: MOUSTAFINE et al., 2005.

3.7 Técnicas para a Caracterização das dispersões sólidas

Usualmente diferentes técnicas de caracterização do estado sólidas vêm sendo empregadas para a caracterização de formulações farmacêuticas em desenvolvimento como no caso das DS. Como ferramentas analíticas utilizadas no intuito de oferecer informações acerca de possíveis mudanças estruturais, (determinando se o sistema se encontra cristalino, semicristalino ou amorfo), interações intra e intermoleculares entre fármacos e carreador, avaliação morfológica, tamanho médio das partículas e estabilidade dos sistemas obtidos (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Além dos métodos espectrofotométricos, diversas modalidades de análises térmicas também constitui um instrumento fundamental no estudo dos aspectos estruturais, apresentando vantagens nos estudos das interações entre o princípio ativo e seus excipientes desses sistemas (CHIOU; RIEGELMAN, 1971).

Estas técnicas de caracterização têm um papel importante do desenvolvimento de um produto farmacêutico e seu comportamento em meio aquoso, que é encontrar características *in vitro* de formulações que venham refletir o seu possível desempenho *in vivo*, o teste que é mais frequentemente associada com a avaliação do desempenho *in vivo* é o ensaio de dissolução (DRESSMAN et al., 1998).

Ambas as abordagens têm restrições, no presente trabalho o enfoque será sobre o método *in vitro* que visa fundamentalmente abordar as ações farmacocinéticas.

Frequentemente esses métodos inclui uma etapa analítica, necessitando da aplicação de algumas das diferentes técnicas cromatográficas ou espectrofotométricas (DECONINCK et al., 2007).

Dentre as técnicas utilizadas neste presente trabalho para as finalidades descritas acima, citam-se espectroscopia de absorção no infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR), difração de raios-X (DRX), análise termogravimétrica (TG) acoplada a análise térmica diferencial (DTA), microscopia eletrônica de varredura (MEV), distribuição de tamanho de partícula por granulometria a laser, e a aplicabilidade em ensaio *in vitro* de dissolução e permeabilidade. No entanto se tratando das DS o emprego de apenas uma técnica é insuficiente para a caracterização completa das mesmas.

3.7.1 Análise térmica

Análise térmica é definida como um conjunto de técnicas que permite monitorar as mudanças de uma propriedade física ou química de um material, ou de seus produtos de degradação, em função do tempo ou temperatura, quando esses são submetidos a um ciclo térmico (ARAÚJO; MOTHÉ, 2003).

Dentre as propriedades físicas dos materiais incluem temperatura, massa, entalpia, dimensões e outras.

A análise térmica vem sendo muito utilizada como uma técnica rápida e confiável no desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas, principalmente no controle de qualidade. Permitindo a que as propriedades físicas ou químicas sejam caracterizadas como funções de temperatura ou tempo. Oferecendo resultados que permitem caracterizar a compatibilidade fármaco-fármaco, fármaco-excipiente, podendo avaliar a presença polimorfismo, determinação de pureza química, compostos de inclusão e dispersões sólidas, bem como avaliar também a estabilidade de possíveis formulados (CORDELLA et al., 2002 e GLASS et a., 2004).

A análise térmica se apresenta como um conjunto de técnicas termoanalíticas, cada uma com a habilidade de monitorar uma propriedade física específica em função da temperatura, entre essas técnicas mais utilizadas pode ser citada as análises por TG e DTA.

A análise por TG fornece dados importantes sobre a avaliação da estabilidade de uma formulação farmacêutica (FILHO et al.,2008).

A mudança de peso da amostra (ganho ou perda de massa) é mudada em função da temperatura e tempo, enquanto a amostra é submetida a temperatura controlada de forma programada (ARAÚJO; MOTHÉ, 2003). Esses experimentos são avaliados através da termobalança, podendo ser expressa, que deve conceder o trabalho sob as diversas condições experimentais.

A análise por DTA determina continuamente as diferenças das temperaturas da amostra e de um material de referência termicamente inerte, à medida que ambos são sujeitos a mesmo ciclo térmico, assim são registradas a diferença entre a temperatura da referência e da amostra, em função da temperatura ou do tempo, de forma linear (SKOOG et al., 2006).

3.7.2 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O MEV é uma das microscopias mais utilizada, sendo um dos mais versáteis instrumentos disponíveis para a observação morfológica, atuando na análise das características microestruturais de materiais sólidos, uma vez que ela abrange um conjunto de técnicas que possibilitam a caracterização da morfologia, composição química e determinação da estrutura atômica, tanto de metais, cerâmicas e polímeros, assim como de novos materiais em desenvolvimento.

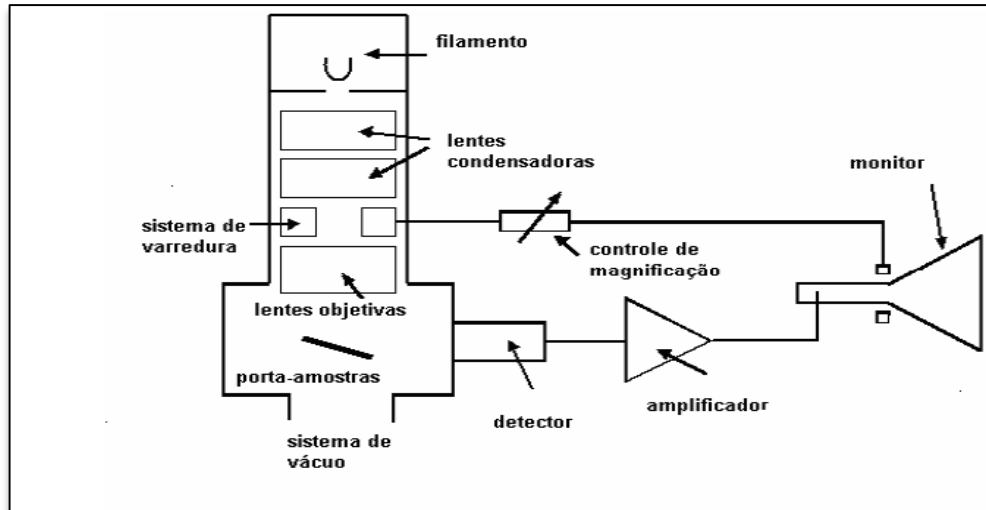
Utilizada para estudo da morfologia de fármacos e do carreador, essa técnica permite visualizar como as partículas do fármaco estão dispersas no carreador e, eventualmente, a organização estrutural do fármaco como o polimorfismo (SETHIA; SQUILLANTE, 1971).

O MEV consiste em utilizar um feixe de elétrons de pequeno diâmetro para explorar a superfície da amostra, e transmitir o sinal do detector a uma tela catódica com varredura perfeitamente sincronizada com aquela do feixe incidente, o feixe é acelerado pela alta tensão criada entre o filamento e o ânodo (DEDAVID et al., 2007). Ele é, em seguida, focalizado sobre a amostra por uma série de três lentes eletromagnéticas com um spot menor que 4 nm, o feixe interagindo com a amostra produz elétrons e fótons que podem ser coletadas por detectores adequados e convertidas em um sinal de vídeo (Figura 10).

Diferentes sinais podem ser emitidos pela amostra. Dentre os sinais emitidos, os mais utilizados para obtenção da imagem são originários dos elétrons secundários que oferecem imagem de topografia da área superficial da partícula, e dos elétrons

retroespalhados que fornecem imagens característica da modificação de composição (DEDAVID et al., 2007).

Figura 10. Desenho esquemático dos componentes básicos do MEV.



Fonte: DEDAVID et al., 2007.

Algumas amostras analisadas por MEV devem passar por um processo de recobrimento, para que as camadas depositadas possam melhorar o nível de emissão de elétrons, emitindo mais elétrons que o material da amostra, facilitando a construção da imagem. Geralmente o mais utilizado é o recobrimento por deposição de íons metálicos de ouro (Au), liga de ouro-paládio (Au-Pd) ou platina (Pt), entre outros (DEDAVID et al., 2007).

3.7.3 Análise Granulométrica

A técnica de análise de tamanho de partículas por difração de laser é muito utilizada por diversas aplicações na indústria devido à sua facilidade de operação, rapidez e amplitude de leitura.

Através deste método, as partículas são dispersas num fluido em movimento causando descontinuidades no fluxo do fluido, que são detectadas por uma luz incidente e, correlacionadas com o tamanho de partícula (PAPINI; LEAL NETO., 2006).

A distribuição granulométrica é uma característica importante para formas farmacêuticas sólidas, interferindo significativamente na absorção de fármacos, como um dos fatores responsáveis pela uniformidade ideal dessas formulações (AULTON, 2005).

3.7.4 Difração de Raios- X (DRX)

Os raios-x se apresentam na forma de radiação eletromagnética com altas energias e pequenos comprimentos de onda, equivalente a espaçamento atômico de materiais sólidos (CALLISTER., 2002).

O DRX tem se mostrado uma ferramenta indispensável na elucidação de estrutura de produtos com estrutura complexa, fornecendo um meio prático para a identificação qualitativa e quantitativa de materiais cristalinos, sendo capaz de fornecer informações de compostos presente no estado sólido (SKOOG et al., 2006).

Tornando-se uma ferramenta analítica importante empregada no campo farmacêutico, a caracterização farmacológica de substâncias ativas por DRX é uma técnica segura para a identificação de fármacos, além disso, diferentes sais ou formas polimórficas do mesmo composto são diferenciados (KOUNTOURELLS; MARKOPOULO.,1992; SHARMA; JAIN, 2011).

Em produtos farmacêuticos isto é particularmente importante porque eles podem ter diferentes tamanhos de partícula, podendo também interferir na diferença de biodisponibilidade e estabilidade do fármaco.

Nos trabalhos que envolvem a caracterização das DS, o DRX tem se mostrado indispensável na caracterização do grau de cristalinidade dos sólidos (CORRIGAN et al., 1984).

Para investigar o efeito das DS na melhora da solubilidade de NFD, Emara et al. (2002) prepararam DS de NFD, utilizando como carreador (PEG) 600 e (PEG) 500 MME, através de método de fusão e liofilização, comprovando no DRX que o NFD em DS é homogeneamente distribuído, e que o fármaco não foi cristalizado a partir do sistema desenvolvido.

3.7.5 Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A utilização desse método de caracterização parte da ideia que a mistura entre dois componentes em nível molecular deverá ocasionar mudanças nas oscilações do dipolo da molécula, essas interações se expressam nos espectros na forma de deslocamento de picos devido alterações na frequência e na largura das bandas dos grupos interagentes (SANTOS, 2008).

Pelo fato de frequência de vibrações dentro de uma estrutura química ser muito sensível a forma como os átomos estão dispostos, e como estes interagem com seus grupos funcionais vizinhos, tornando FTIR não só capaz fornecer uma impressão digital detalhada dos produtos farmacêuticos de diferentes formas físicas, como também capaz de detectar mudanças no padrão de ligações de hidrogênio dos materiais amorfos que não pode ser monitorado por DSC e DRX (HUANG et al, 2007).

A espectroscopia na região do infravermelho torna possível avaliar mudanças que possam ocorrer nas ligações entre grupos funcionais e carreador durante a obtenção das DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SETHIA; SQUILLANTE, 2003). Portanto, a espectroscopia no infravermelho é uma técnica que tem sido muito utilizada para detectar a natureza e a extensão das interações químicas que ocorrem em DS (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

Em trabalho desenvolvido por Huang et al. (2007) com o interesse de caracterizar completamente DS de NFD formadas no interior de micropartículas de uma mistura binária de Eudragit® (RL) e etilcelulose (EC), o FTIR demonstrou ser capaz de detectar alterações nas interações das ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais, resultando em modificações específicas da matriz fármaco-polímero, assim como avaliar a estabilidade física das dispersões amorfas de NFD com os polímeros RL e EC.

3.7.6 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD)

A CLAE consiste em uma técnica de separação relativamente recente, entretanto, passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos.

Possui como princípio de separação a distribuição dos componentes de uma mistura entre duas fases imiscíveis, a fase móvel, líquida, e a fase estacionária, contida em uma coluna. As separações são alcançadas por partição, adsorção, troca iônica, exclusão por tamanho ou interações estereoquímicas, dependendo do tipo de fase estacionária utilizada (BRASIL, 2010).

A escolha de uma metodologia analítica adequada é de fundamental importância para se proceder ao controle de qualidade de uma substância ativa, como tal, ou sob um determinado produto farmacêutico em criação ou desenvolvido garantindo sua qualidade terapêutica. Fornecendo confiança aos resultados obtidos em uma análise (SKOOG et al., 2006; SILVA-JUNIOR et al., 2006).

O interesse crescente em métodos rápidos por CLAE para quantificação de fármacos vem crescendo devido a sua versatilidade, principalmente em estudos de dissolução, uma vez que a dissolução *in vitro* do ativo é um importante parâmetro para a produção de medicamentos (ANSEL et al., 2013).

É relatado métodos para a quantificação do nifedipino em fluídos biológicos por HPLC com detector de UV (ABOU-AUDA et al., 2000; NIOPAS e DAFTSIO, 2003; WANG et al., 2007).

3.7.8 Estudo da dissolução *in vitro*

De forma abrangente a dissolução é o modo pelo o qual um sólido, parcialmente solúvel, se dissolve em um líquido (MANADAS et al, 2002).

O estudo de dissolução pode ser mais corretamente descrito como um teste que possibilita determinar a quantidade de substância ativa dissolvida para uma determinada área numa determinada quantidade e no tempo correto, sendo controlado pela afinidade entre substâncias líquidas e sólidas e pelo modo como sistemas farmacêuticos o libera tornando-o disponível para ser absorvido pelo organismo (MANADAS et al., 2002; SOUZA et al.,2007). Gerando assim uma melhor definição baseado em aplicações dos ensaios de dissolução em estudos farmacocinéticos e biofarmacêuticas, como método de caracterização importante no desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos (DRESSMAN et al., 1998).

O teste de dissolução utilizado no monitoramento dos fármacos durante o seu desenvolvimento e controle de qualidade, é definido sob condições constantes como área de superfície, temperatura, tipo de agitação, volume, características do meio de

dissolução (pH do meio baseado no local do TGI onde irá ocorrer sua absorção) e valor de cedência do fármaco em função do objetivo terapêutico do medicamento (SOUZA et al.,2007).

Oficialmente os testes de perfil de dissolução foram incorporados a Farmacopeia dos estados unidos (USP) na década de 60, para avaliar os perfis de liberação de fármacos em formas farmacêuticas e prever a qualidade destas posteriormente na velocidade de absorção sistêmica do fármaco, podendo afetar em uma maior biodisponibilidade do mesmo (KHAN,1996).

O teste de dissolução é também empregue para auxiliar na escolha entre formulações candidatas, com o objetivo de seleção da forma de dosagem com o perfil de liberação mais adequado e reprodutível, tornando-se um perfil comparativo para análise do perfil de dissolução de uma determinada substância ativa comparando duas formulações (DRESSMAN et al., 1998; BRASIL, 2003).

Para melhor simulação *in vitro* das condições *in vivo*, é de total importância conhecer fatores que venham retardar ou reduzir a dissolução e a permeação de fármacos, Como: maior retenção do fármaco na forma farmacêutica; Espessura da camada limite; decomposição do mesmo pelo líquido do TGI; ineficácia no transporte do fármaco através das membranas biológicas ou eliminação do mesmo antes de atingir a corrente sanguínea (DRESSMAN et al., 1998).

Frequentemente a taxa de absorção e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água são controladas pela taxa de dissolução do princípio ativo no trato gastrointestinal (VASCONCELOS et al., 2007).

Em um artigo clássico em 1897, Noyes e Whitney sugeriram que a dissolução de um sólido é determinada pela taxa de difusão de uma camada extremamente fina de solução saturada formadas nas adjacências da superfície do sólido. Assim, a dissolução de um fármaco pode ser descrita pela equação modificada de Noyes e Whitney (Equação 1) (LEUNER e DRESSMAN, 2000; AULTON, 2005).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{DA(C_s - C)}{h}$$

(Equação 1)

Onde dC/dt é velocidade de dissolução das partículas de fármacos, D , o coeficiente de difusão nos fluidos gastrintestinais, A , a superfície efetiva das partículas de fármaco em contato com gastrintestinais, C_s , a solubilidade de saturação do fármaco em solução na camada difusional, h , a espessura da camada difusional ao redor de cada partícula de fármaco e, C , a concentração de fármacos nos fluidos intestinais.

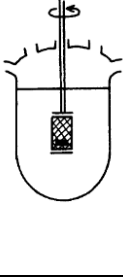
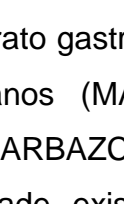
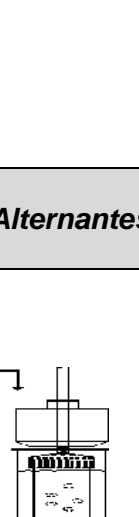
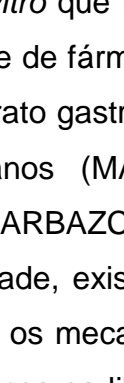
A fim de melhorar a previsibilidade e a adequabilidade dos testes de dissolução, novos aparatos têm sido propostos, para imitar as condições hidrodinâmicas do trato gastrointestinal (GARBAZC et al, 2009).

As características de liberação de fármacos nas formas de dosagem são frequentemente testadas através de metodologias baseadas em ensaios farmacopeicos sob condições altamente padronizadas (MANADAS et al., 2002; GARBAZC et al, 2009).

O Quadro 2 referência aos sistemas de dissolução adotados por 4 das principais farmacopeias entre elas a Farmacopeia Americana (The United States Pharmacopeia-USP).

Entre as configurações dispostas pela USP, o aparelho 2 (conjunto de pás), é de simples produção, além de permitir uma metodologia operacional e interpretativa muito simples, elevada robustez e versatilidade para inúmeros tipos de formulações.

Quadro 2. Representação dos principais tipos de dissolutores adotado pelas principais farmacopeias.

| Aparato 1 (Cesto rotatório) | Aparato 2 (Conjunto de pás agitadoras) |
|--|---|
|  |  |
| Aparato 3 (Cilindros Alternantes) | Aparato 4 (célula de fluxo contínuo) |
|  |  |

Fonte: Adaptado de MANADAS et al., 2002.

Portanto os estudos do perfil de dissolução têm sido utilizados como o principal parâmetro de avaliação *in vitro* que reflitam e controlem no desempenho *in vivo* na melhorada biodisponibilidade de fármacos. Servindo como método capaz de simular as inúmeras condições do trato gastrointestinal (TGI) antes da administração destes produtos por seres humanos (MANADAS et al, 2002; SOUZA et al.,2007; RODRIGUES et al., 2008; GARBAZC et al, 2009).

Apesar da complexidade, existem alguns modelos que são bastante usados com o intuito de se analisar os mecanismos de liberação de substâncias ativas. Se tratando de processos cinéticos na liberação empregamos modelos matemáticos no intuito de estabelecer a ordem do processo e analisar qual modelo se adequa melhor ao perfil de liberação do ativo (MANADAS et al, 2002).

A Tabela 3 apresenta alguns modelos matemáticos utilizados para estudos da cinética de liberação de formas farmacêuticas. Os principais modelos abordados neste

trabalho foram os modelos de primeira ordem, segunda ordem (modelo de Schott), modelo de Higuchi e o modelo proposto por Korsmeyer-Peppas.

Tabela 3. Modelos matemáticos que descrevem a curva de dissolução.

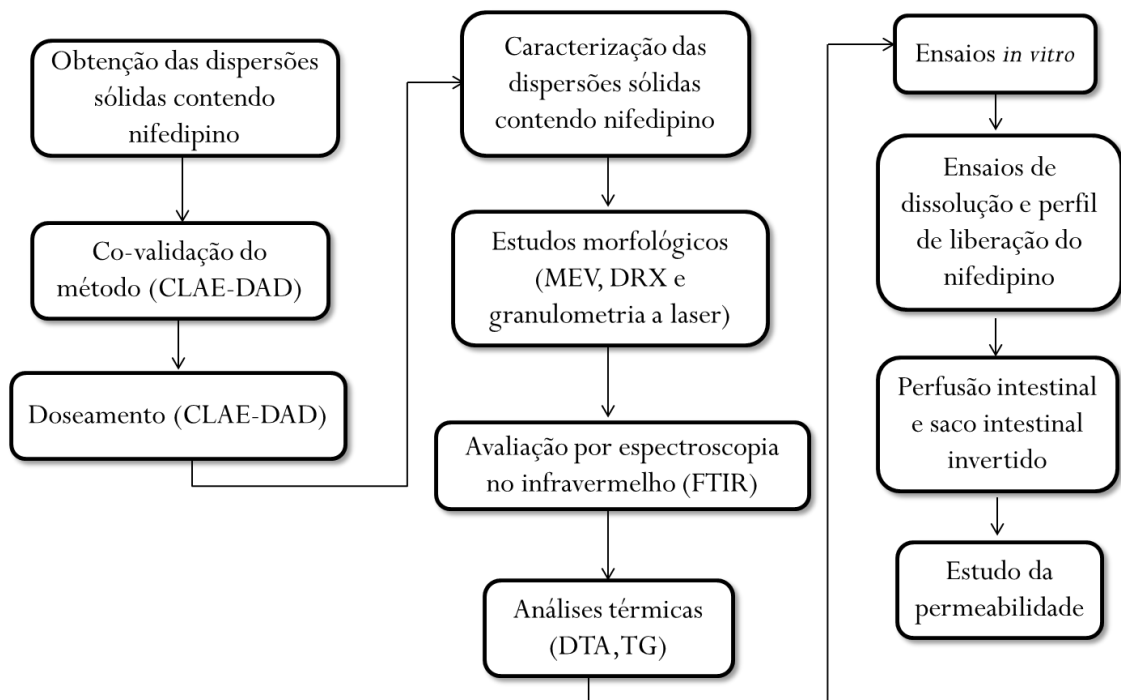
| | |
|------------------|--|
| Ordem zero | $Q_t = Q_0 + K_0 t$ |
| Ordem um | $\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$ |
| Ordem dois | $Q_t / Q_\infty (Q_\infty - Q_t) = K_2 t$ |
| Hixson Crowell | $Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_3 t$ |
| Weibull | $\log[-\ln(1 - (Q_t / Q_\infty))] = b \times \log t - \log a$ |
| Higuchi | $Q_t = K_H \sqrt{t}$ |
| Baker-Lonsdale | $(3/2) \left[1 - (1 - (Q_t / Q_\infty))^{2/3} \right] - (Q_t / Q_\infty) = K t$ |
| Korsmeyer-Peppas | $Q_t / Q_\infty = K_k t^n$ |
| Makoid-Banakar | $Q_t / Q_\infty = c t^n e^{(-kt)}$ |
| Quadrático | $Q_t = 100(K_1 t^2 + K_2 t)$ |
| Logístico | $Q_t = A / [1 + e^{-K(t-y)}]$ |
| Gompertz | $Q_t = A e^{-e^{-K(t-y)}}$ |
| Hopfenberg | $Q_t / Q_\infty = 1 - [1 - k_0 t / C_0 a_0]^n$ |

Fonte: MANADAS et al, 2002.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Nesta seção serão relatados os procedimentos experimentais utilizados no desenvolvimento das DS de Eudragit® L-100 contendo NFD de acordo com o organograma esquematizado na Figura 11. Inicialmente as DS foram obtidas pelo método de coprecipitação (SANTO, 2013). Foi descrita a metodologia empregada na adequabilidade e convalidação do método espectrofotométrico por CLAE-DAD, a qual serviu para a quantificação do NFD. E as técnicas de caracterização empregadas para as análises morfológicas, estruturais e térmicas, como: MEV e EDS, DRX, granulometria a laser, FTIR, TG e DTA. Posteriormente foram realizados os ensaios *in vitro*, como: testes de dissolução para o estudo de perfil e cinética de liberação do NFD, e as técnicas de perfusão intestinal e do saco intestinal invertido para avaliar a absorção do NFD através dos estudos de permeabilidade.

Figura 11. Organograma do procedimento experimental usado no desenvolvimento de dispersões sólidas de Eudragit® L-100 contendo nifedipino.



4.1 Obtenção das dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100

4.1.2 Matéria-prima e reagentes

- Nifedipino micronizado (Suchem Laboratories®)
- Eudragit® L-100 (Rohm Pharma® - Alemanha)
- Água ultrapura (Milli-Q)
- Ácido clorídrico 36,5 % (Dinâmica®)
- Metanol – J.T.Baker®

4.1.3 Equipamentos

- Equipamento Milli-Q® Gradient® (Smart, Healforce, USA)
- Balança analítica (Even®)
- Agitador em pás
- pHmetro (PHS-3E)
- Sistema para acomodar a solução para o gotejamento
- Estufa com circulação de ar
- Vidrarias foram utilizadas como acessórios

4.1.4 Procedimento experimental

Iniciou-se a obtenção das DS de Eudragit® L-100 carregadas com NFD através do método de coprecipitação e posterior evaporação de solvente (HUANG et al., 2006; HUANG et al., 2007).

A obtenção das DS foi realizada na CAFMA (Central Analítica de Fármacos, Medicamentos e Alimentos) - UNIVASF. Pelo o fato do NFD ser fotossensível, sempre que praticável os experimentos eram desenvolvidos em ambiente com pouca presença de luz, para que interferências não viessem afetar em resultados posteriores.

Nos trabalhos desenvolvido por SANTOS (2013) e OLIVEIRA - JÚNIOR (2014), foi possível identificar que a proporção fármaco: polímero 1:3 possui a melhor

liberação nos ensaios de dissolução, portanto estas foram escolhidas na produção das DS.

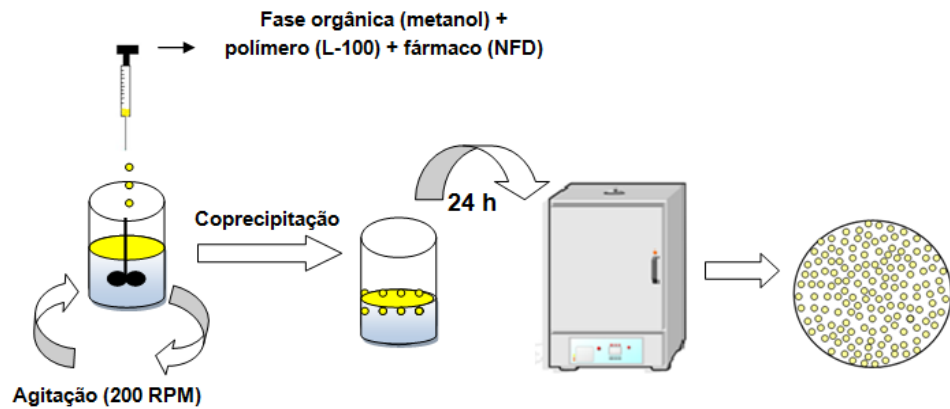
Inicialmente, foram obtidas 2 soluções: solução A (nifedipino 80 mg em 10 mL de metanol) e solução B (Eudragit® L-100 200 mg em 10 mL de metanol). As soluções A e B foram então transferidas para um mesmo recipiente e agitadas, para a homogeneização, obtendo a solução C. Em paralelo, 50 mL de HCl (36,5%) foi diluído em balão de 100 mL, obtendo-se uma solução (0,5 M), a qual em seguida foi gotejada em um béquer contendo 1L de água Milli-Q para o ajuste do pH, verificado através de pHmetro, resultando em uma solução acidificada com pH 2,0.

Posteriormente a solução C foi transferida gota a gota para um recipiente contendo aproximadamente 40 mL da solução acidificada, com o auxílio de um equipo de gotejamento para dispersar 44 gotas por minuto. A mistura então ficou sob agitação de 200 RPM, a temperatura ambiente, durante 3 horas, para que ocorresse a coprecipitação interfacial proporcionada pelo pH do meio e formação do precipitado (de LIMA; de OLIVEIRA, 2012).

Após o período de agitação, as partículas passam por um tempo de envelhecimento de 24 horas sob abrigo da luz, o sobrenadante é retirado e, em seguida, seguem para secagem em estufa com circulação de ar à 50°C durante o período de cerca de 5 horas até peso constante. Após a secagem estas foram pulverizadas com gral e almofariz, para a obtenção do pó com tamanho mais uniforme (Figura 12).

O metanol foi escolhido para compor a fase orgânica pelo fato de o NFD e o copolímero Eudragit® L-100, exibirem uma boa solubilidade no mesmo.

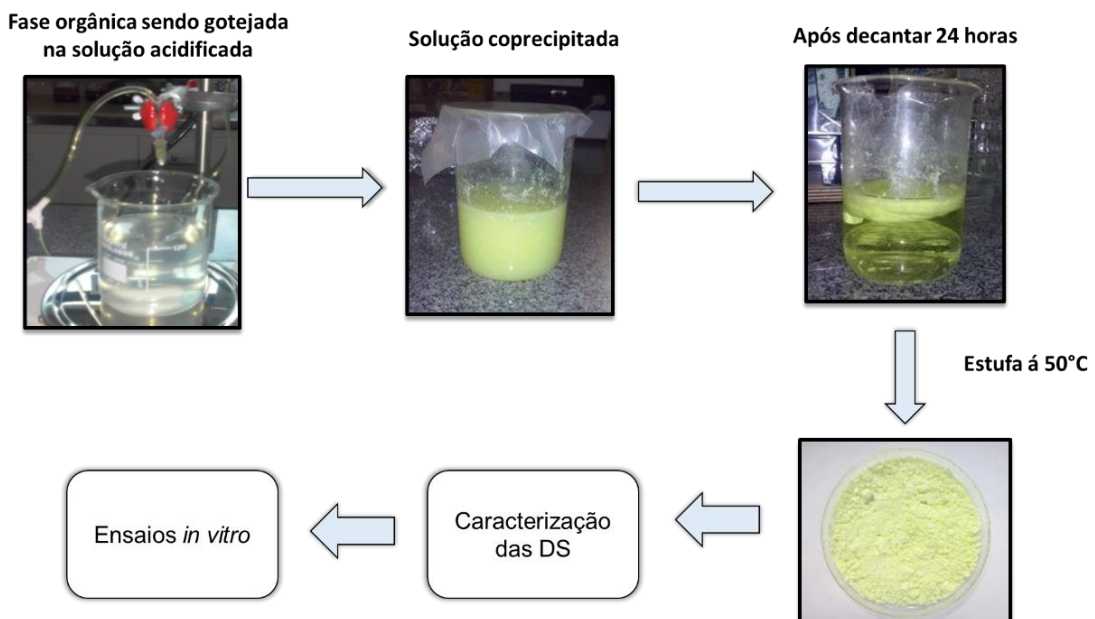
Figura 12. Esquema representativo da produção das DS de Eudragit® L-100 contendo nifedipino.



Fonte: Arquivo pessoal.

Após a secagem das DS, estas foram armazenadas à temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$), protegidas da luz e umidade até que fossem caracterizadas e aplicadas nos ensaios *in vitro*. Como pode ser visto no procedimento experimental (Figura 13), que detalha as etapas do ensaio.

Figura 13. Procedimento experimental no preparo das DS de Eudragit® L-100 contendo nifedipino por coprecipitação.



Fonte: Arquivo pessoal.

Houve também a tentativa da produção de DS utilizando o surfactante Tween® 80, porém a produção da mesma em larga escala para os testes foi inviável, devido à falta de agitador adequado disponível.

4.2 Adequabilidade do método cromatográfico por CLAE-DAD para a quantificação do nifedipino

No desenvolvimento da adequabilidade da metodologia analítica por CLAE-DAD, para determinação da concentração do fármaco em sua forma livre e no sistema desenvolvido, foram realizadas análises cromatográficas de acordo com a Farmacopeia Americana (USP) e Brasileira FB 5ª ed, utilizando algumas adaptações cromatográficas (Tabela 3). Foram realizadas adequações, como, mudança do comprimento de onda, passando de 235 nm para 336 nm e na proporção da fase móvel. Além do uso do metanol grau HPLC a exceção da utilização de fluido biológico simulado intestinal (Krebs modificado), descrito na seção 4.4.6, como diluente no preparo das soluções amostra, sendo recomendado o uso de metanol: acetonitrila: água (25:25:50).

Tabela 4. Condições para a análise cromatográfica do nifedipino a partir da adequabilidade de métodos farmacopeicos.

| Condições cromatográficas | |
|------------------------------|--|
| Coluna e suas dimensões | Supelco® C-18 (5cm x 4,6 mm, 5 µm) |
| Fase móvel | Metanol: acetonitrila: água (20:20:60) |
| Fluxo da fase móvel | 1 mL/min |
| Volume de injeção da amostra | 10 µL |
| Comprimento de onda | 336 nm |
| Tempo de análise | 10 minutos |
| Temperatura de forno | 30°C |
| Modo de eluição | Isocrático |

As análises foram realizadas sempre que possível ao abrigo direto da luz, devido ao NFD ser fotossensível.

Empregou-se o sistema CLAE -DAD (SHIMADZU®) equipado com injetor automático modelo SIL- 20ADVP e um detector de díodos UV / VIS (SPDM20A) (Figura 14). O equipamento foi controlado por software LC-Solution® 1.0.

O NFD analisado foi o de padrão analítico para CLAE, com pureza superior a 99%, Sigma Aldrich®. Todas as análises cromatográficas foram realizadas na CAFMA (Central Analítica de Fármacos, Medicamentos e Alimentos) - UNIVASF.

Figura 14. Sistema CLAE-DAD utilizado na adequabilidade método cromatográfico.



Fonte: Arquivo pessoal.

Para a construção da curva analítica, uma solução de NFD matéria prima foi preparada, objetivando utilizá-lo como padrão secundário. Foram pesados 0,025 g de NFD, a massa foi transferida quantitativamente para balão volumétrico de 50 mL. Ao balão foi adicionado metanol para a homogeneização do NFD, e posteriormente o balão foi aferido, completando seu volume final com metanol, chegando-se a uma concentração de 500 µg/mL (solução estoque).

Após o preparo da solução padrão em triplicata foram retiradas alíquotas de 1,2,3,5 e 7 mL para balões de 100 mL, e estes completados com Krebs modificado, a fim de ser obtida uma curva analítica com cinco pontos. Obtendo-se soluções de concentrações teóricas de 5 µg/mL, 10 µg/mL, 15 µg/mL, 25 µg/mL e 35 µg/mL. As soluções foram coletadas com auxílio de seringa de 30 mL, e foram filtradas com membranas filtrantes com 0,45 µm de diâmetro de poro (Millipore®), recolhidas em vials e analisadas por CLAE-DAD.

Para o doseamento das DS de Eudragit® L-100 contendo NFD utilizou como método de partida o método descrito para quantificação de NFD matéria prima, utilizando as mesmas condições cromatográficas. Planos cromatográficos foram identificados por comparação do tempo de retenção com o padrão, e para a análise quantitativa foi realizada uma curva de calibração padrão nas concentrações de 5, 10, 15, 25 e 35 µg/mL em triplicata. Para a co-validação da adequabilidade do método foram realizados os parâmetros de seletividade, linearidade, limite de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão e exatidão. Estes parâmetros estão descritos na Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003 da ANVISA (Guia para a Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos), para a validação ou revalidação de métodos analíticos, em ensaios que pretendem quantificar fármacos em produtos farmacêuticos ou matérias primas.

Para maior confiabilidade e comprovação da adequabilidade do método cromatográfico foi realizado o doseamento com o comprimido referência no mercado (Adalat® Oros - 60 mg), do laboratório Bayer®, seguindo a mesma padronização na preparação das amostras de dispersões sólidas de Eudragit® L-100 contendo nifedipino.

4.2.1 Parâmetros de validação utilizados na convalidação do método analítico

4.2.1.1 Especificidade

Especificidade define a capacidade do método em medir exatamente um analito de interesse na presença de outros componentes da matriz, assim como impurezas e produtos de degradação (BRASIL, 2003; USP, 2010).

A especificidade ou seletividade foi verificada por meio da comparação dos cromatogramas do padrão de NFD, das amostras contendo NFD e de uma amostra isenta de NFD (branco), para que se pudesse observar que nenhum interferente tenha saído no mesmo tempo de retenção do nifedipino, de modo que este tenha picos separados dos demais compostos presentes na amostra.

4.2.1.2 Linearidade

É a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. A Resolução n° 899 emitida pela ANVISA em 29 de maio de 2013 recomenda que a linearidade seja determinada a partir de, no mínimo, 5 concentrações distintas. E que o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação linear (r) deve ser igual a 0,99.

Foram preparadas e injetadas soluções do fármaco nifedipino nas concentrações de 5, 10, 15, 25 e 35 µg/mL. Essas soluções foram analisadas, em triplicata, por CLAE-DAD e a partir dos resultados encontrados foi construída a curva de calibração relacionando as áreas dos picos versus a concentração do analito, empregando-se regressão linear pelo método dos mínimos quadrados com auxílio do software Origin® 8.0. Para que se pudesse determinar o coeficiente de correlação (r^2), intersecção com eixo “y”, coeficiente angular, soma residual dos quadrados mínimos da regressão linear e desvio padrão relativo.

4.2.1.3 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Limite de detecção (LD) consiste na determinação de menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, sob as condições experimentais estabelecidas, não é necessariamente quantificado (BRASIL, 2003). Pode ser representado, conforme a Equação 2.

$$LD = \frac{DPa \times 3}{IC}$$

(Equação 2)

Onde:

DPa: desvio padrão do intercepto com o eixo Y

IC: inclinação da curva analítica

O limite de quantificação (LQ) refere-se á menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis, sendo estabelecido por meio da análise de soluções contendo concentrações decrescentes do fármaco até o menor nível determinável sob as condições experimentais estabelecidas (BRASIL, 2003). Pode ser expresso pela Equação 3.

$$LQ = \frac{DPa \times 10}{IC}$$

(Equação 3)

Onde:

DPa: desvio padrão do intercepto com o eixo Y

IC: inclinação da curva analítica

Os valores dos parâmetros DPa e IC para os cálculos do limite de detecção e limite de quantificação foram obtidos na construção da curva de calibração citada na seção anterior.

4.2.1.4 Precisão

A precisão é a avaliação do grau de proximidade entre os resultados de cada teste quando aplicado repetidamente a várias amostragens de uma mesma amostra.

A partir dos valores obtidos, são calculados a média e o Desvio Padrão (DP), determinando-se o Desvio Padrão Relativo (DPR) ou Coeficiente de Variação (CV), expresso em termos de percentagem de uma série de medidas, as quais são consideradas em três níveis, como: repetibilidade (precisão intra-corrída), precisão intermediária (precisão inter-corrídas) e reprodutibilidade (precisão inter-laboratorial), todas em condições normais de operação do método analítico (BRASIL,2003; RIBANI et al., 2004).

A precisão do método foi avaliada através da repetibilidade (precisão intra-dia) e precisão intermediária (precisão inter-dias). Ambas foram calculadas utilizando três amostras nas concentrações baixa (5 µg/mL), média (15 µg/mL) e alta (35 µg/mL),

injetadas em triplicata em um mesmo dia para a precisão intra-dia, e em dias consecutivos para a precisão inter-dias. O resultado da precisão do método foi obtido com o cálculo do coeficiente de variação (CV), com a utilização da Equação 4.

$$\text{Precisão (CV\%)} = \frac{\text{DP}}{\text{C média}} \times 100\%$$

(Equação 4)

Onde:

DP: desvio padrão

C média: concentração média determinada

4.2.1.5 Exatidão

A exatidão de um método analítico é definida como a concordância dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor real do analito (BRASIL, 2003).

Para a avaliação da exatidão do método, soluções da matéria prima nas concentrações de 5,15 e 35 µg/mL, foram injetadas em triplicata em um mesmo dia (exatidão intra-dia). Os resultados das concentrações médias determinadas experimentalmente foram comparados com os valores teóricos, obtendo-se assim a exatidão do método (%), através da Equação 5.

$$\text{Exatidão (E\%)} = \frac{\text{CME}}{\text{CT}} \times 100\%$$

(Equação 5)

Onde:

CME: concentração média experimental

CT: concentração teórica

4.3 Caracterização física e físico-química do nifedipino em sua forma livre e vinculado às dispersões sólidas em Eudragit® L-100

4.3.1 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A morfologia das amostras foi analisada através de imagens reproduzidas MEV, de marca TESCAN, modelo VEJA 3 (Figura 15), com voltagem de trabalho entre 4,5 e 5 kV.

Antes das análises as amostras na forma de pó foram colocadas em uma fita de carbono dupla face, e levadas para recobrimento em banho de ouro durante um tempo de exposição de 40 segundos, utilizando a metalizadora Quorum (Q1SORES) trabalhando com corrente de 15 mA (Figura 16). Além disso, foram realizadas análises semi-quantitativas dos elementos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS) acoplado ao microscópio eletrônico de varredura VEJA 3. A aquisição das micrografias e espectros de EDS foi realizada em equipamentos do Laboratório de Microscopia Eletrônica do IPCM – UNIVASF.

Figura 15. Microscópio eletrônico de varredura TESCAN (VEJA 3), utilizado para a obtenção das micrografias.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 16. Metalizadora Quorum (Q1SORES).



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3.2 Difração de raios-X

O estudo estrutural por meio do DRX foi realizado em um difratômetro marca INEL[®], modelo EQUINOX 1000 (Figura 17), com voltagem de experimentação de 40 kV, corrente de 30 mA, passo de *scan* fixo, taxa de exposição de 1000 s. As amostras foram dispostas em uma porta amostra de alumínio, executadas varrendo-se sobre o intervalo de 5° a 70° na escala de 2 θ .

Figura 17. Difratorômetro INEL (EQUINOX 100) do Laboratório de Microscopia Eletrônica do IPCM – UNIVASF.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.3.3 Granulometria a laser em via úmida

Para a determinação do tamanho das partículas do fármaco e das dispersões sólidas foram realizadas análises de distribuição de tamanho de partícula por granulometria a laser em via úmida, utilizando um analisador de distribuição de tamanho de partícula Microtrac[®], modelo S3500. Equipamento em acordo com a norma ISO 13320-1 para Análise de Tamanho de Partícula por Métodos de Difração de Laser. As análises foram realizadas em triplicata, sendo as amostras dispersas em soluções aquosas a 3% de surfactante (Tween[®] 80). A análise do tamanho de partícula foi realizada em equipamentos do CETENE (Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste).

4.3.4 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier

A presença de grupos funcionais químicos foi analisada através do espectro de absorção no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) utilizando o equipamento PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de reflectância total atenuada (ATR) com cristal de seleneto de zinco. As amostras a serem analisadas

foram transferidas diretamente para o compartimento do dispositivo de ATR, sendo o resultado obtido da média de 16 varreduras entre 4000 e 650 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} .

4.3.5 Termogravimetria (TG) acoplada a análise térmica diferencial (DTA)

A fim de evidenciar o comportamento térmico das amostras obtidas, as análises por TG acoplada à DTA foram realizadas por meio de termobalança Shimadzu®, modelo TGA Q60, em atmosfera de nitrogênio em fluxo de 100 mL/min, sendo a massa da amostra cerca de 5 mg ($\pm 0,05$) para o NFD isolado e massa equivalente nas dispersões sólidas, acondicionadas em cadinho de platina na faixa de temperatura de 25 a 600°C na razão de aquecimento de 10 °C/min. Antes dos ensaios, a termo balança foi verificada com oxalato de zinco para calibrar as temperaturas e perda de massa.

4.4 Ensaios *in vitro*

4.4.1 Substâncias e sais utilizados

- Nifedipino micronizado (Suchem Laboratories®)
- Dispersões sólidas (NFD com L100)
- Cloreto de sódio (Merck®)
- Cloreto de potássio (Sigma-aldrich®)
- Sulfato de magnésio hepta-hidratado (Sigma-aldrich®)
- Cloreto de cálcio di-hidratado (Merck®)
- Glicose anidra (Merck®)
- Fosfato de sódio mono-hidratado (Proquimios®)Ácido clorídrico (1N)

4.4.2 Equipamentos utilizados

- Balança analítica FA2104N (Celtac®, Brasil)
- Balança comum modelo 9094C/4 (Toledo®, Brasil)
- pHmetro digital de bancada modelo pH250 (Policontrol®, Brasil)
- Dissolutor (*homemade*)

- CLAE-DAD (Shimadzu®)
- Banho de órgão isolados (Insight® Instruments, Brasil)
- Bomba Dosadora (MS Tecnopon® instrumentação, Brasil)
- Banho Maria (Novatecnica®)
- Termostato calibrado (Marconi®)

4.4.3 Acessórios utilizados

- Cápsulas gelatinosas vazias
- Âncoras
- Hastes plásticas flexíveis
- Capilares
- Membranas filtrantes (Cromafil®)
- Mangueiras com 3,65 mm de diâmetro
- Vidrarias de laboratório
- Seringas de volumes variados

4.4.4 Animais

Nos ensaios de permeabilidade foram utilizadas cobaias (*Cavia porcellus*), de ambos os sexos, pesando entre 300 e 500 g com 12 semanas de idade, todas provenientes do biotério central da UNIVASF (Figura 18).

Os animais foram mantidos com ventilação e temperatura controlada ($23 \pm 3^\circ\text{C}$), com livre acesso a água e alimentados *ad libitum* com ração padrão até 12 h antes dos experimentos, seguindo posteriormente em jejum. Submetidos a um ciclo claro/escuro de 12/12 h, sendo o período claro das 06 às 18h. Todos os experimentos ocorreram no período de 07 às 20h.

Figura 18. Cobaia (*Cavia porcellus*).



Fonte: Arquivo pessoal.

4.4.5 Aspectos éticos

Os experimentos foram executados de acordo com os princípios éticos de experimentação animal, com aprovação pelo Comitê de Ética no uso de animais (CEUA) da UNIVASF e do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), protocolo CEUA UNIVASF n° 0002/021014 (Anexo A).

Para os experimentos, todos os animais foram eutanasiados de modo rápido e indolor, sempre por profissional treinado em bioterismo ou pelo próprio médico veterinário responsável pelo biotério, respeitando a resolução do conselho federal de medicina veterinária (CFMV) n° 1000 do ano 2012 que estabelece normas para a prática didático-científica da eutanásia de animais. Após eutanasiados, os animais foram colocados em recipientes específicos para a empresa responsável recolher.

Alguns materiais de consumo utilizados nos procedimentos experimentais assim como outros materiais (restos viscerais) receberam o mesmo tratamento do lixo hospitalar do município de Petrolina-PE, segundo a RDC n° 306 de 07 de dezembro de 2004 da ANVISA que dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento de resíduos de serviços de saúde.

4.4.6 Procedimento experimental

Os ensaios *in vitro* foram realizados no LAFEX (Laboratório de Farmacologia Experimental- UNIVASF). Sendo empregado o NFD em sua forma livre e vinculado às DS com Eudragit® L-100, utilizando três dosagens distintas de NFD (20,30 e 60 mg) nas amostras do fármaco livre e em suas dispersões equivalentes.

Primeiramente para a realização dos ensaios de liberação e permeabilidade foi preparada a solução nutritiva de Krebs modificado (íleo isolado de cobaias) sendo utilizada como meio de dissolução e para a encubação de segmentos intestinais, empregados na avaliação da absorção intestinal do NFD. A solução de Krebs modificado teve seu pH ajustado para 7,4 com HCl (1N) (GRASS, 1997; LENNERNAS, 1998, ROZEHNAL et al., 2012).

As composições e concentração dos reagentes está descrita no Quadro 3. Os sais foram solubilizados em água destilada.

Quadro 3. Concentração dos reagentes para o preparo da solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias).

| Reagente | Concentração (mM) |
|--|-------------------|
| Cloreto de sódio (NaCl) | 117,0 |
| Cloreto de potássio (KCl) | 4,7 |
| Sulfato de magnésio heptahidratado (MgSO ₄ . 7H ₂ O) | 1,3 |
| Cloreto de cálcio di-hidratado (CaCl ₂ .2H ₂ O) | 2,5 |
| Glicose anidra (C ₆ H ₁₂ O ₆) | 11,0 |
| Bicarbonato de Sódio (NaHCO ₃) | 25,0 |
| Fosfato de sódio mono-hidratado (NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O) | 1,2 |

Fonte: SUN et al.,1994.

4.4.6.1 Ensaios de dissolução

Os estudos de dissolução *in vitro* foram baseados em parâmetros preconizados pela Farmacopeia Americana e Brasileira, sendo controlados em um aparelho de dissolução (*homemade*), evidenciado na Figura 19, projetado por

Nascimento Filho (2014), o qual utiliza o método de pá semelhante ao aparato tipo 2 da USP. Pelo o fato da universidade não dispor do dissolutor disponível comercialmente, específico para estes estudos, o dissolutor *homemade* (conjunto de pás) foi construído seguindo as especificações da (USP) relatada para estes aparelhos.

O aparato USP 2 (conjunto de pás), deve simular, de maneira satisfatória condições similares ao organismo humano, como sais tamponados, agitação e temperatura constante. O dissolutor *homemade* é de simples produção, além de permitir uma metodologia operacional e interpretativa muito simples, elevada robustez e versatilidade para inúmeros tipos de formulações (NASCIMENTO FILHO, 2014).

O meio de dissolução consistiu de solução nutritiva de Krebs modificado (sem enzimas), com temperatura do meio de dissolução igual a 37°C (+/- 0,5 °C), velocidade de agitação de 50 rpm, volume do meio de dissolução de 500 mL (LAW et al., 1992). O volume do meio de dissolução foi pré-aquecido com auxílio do termostato, infundido para o meio de cada amostra, que ao longo do experimento mantiveram sua temperatura e volumes constantes.

O NFD e as DS foram acondicionadas em cápsulas gelatinosas vazias e estas inseridas nas cubas de dissolução com o auxílio de uma âncora (um em cada cuba). As âncoras foram utilizadas para evitar a flutuação do produto farmacêutico, cujo o interior possua ar, como as cápsulas gelatinosas vazias utilizadas neste estudo para melhor imersão das amostras no meio de dissolução.

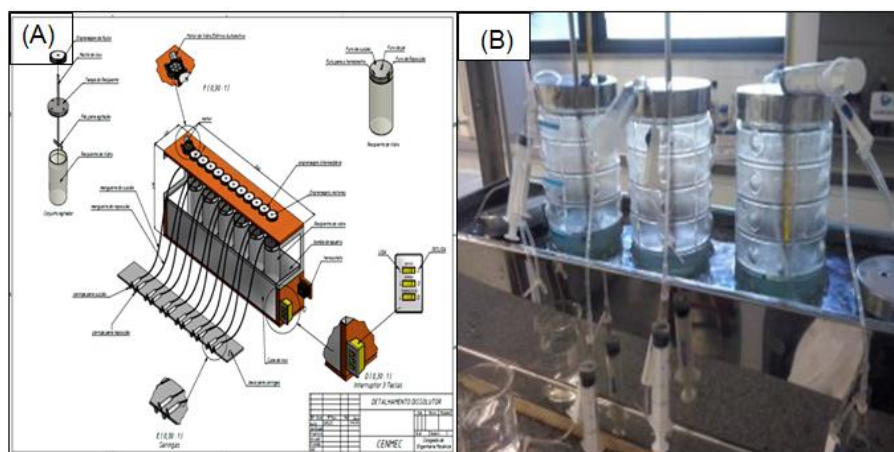
Seguidamente o sistema de rotação foi ligado estabelecendo 50 rpm. Ao mesmo tempo o ambiente foi protegido da luz, para não haver interferência pela degradação do NFD.

Em intervalos de 15, 30, 45 e 60 minutos foram retiradas alíquotas de 2 mL e imediatamente repostas o mesmo volume, empregando-se o mesmo meio, na mesma temperatura, ao longo de um período de 1h. As mesmas foram filtradas em membranas de 0,20 µm de diâmetro de poro, a quantidade de nifedipino dissolvido foi determinado por CLAE-DAD em comprimento de onda ($\lambda_{\text{máx.}}$) de 336 nm, utilizando-se adaptações de métodos cromatográficos da Farmacopeia Americana (USP) e Brasileira FB 5ª ed citados na seção 4.2.

Todos os testes foram realizados em triplicata, e a partir dos resultados curvas de dissolução em percentagem de nifedipino liberado (%) em função do tempo foram construídas com os valores médio das três experiências. A barra de erro representa o

desvio padrão (DP), assim como, também foi aplicados modelos matemáticos para estudos da cinética de liberação, ambos empregando o programa OriginLab® 8.0.

Figura 19. Dissolutor *homemade* utilizado no ensaio de liberação *in vitro*. (A projeto com o detalhamento dos componentes e dimensões, (B) dissolutor *homemade* sendo utilizado experimentalmente.



Fonte: (a) NASCIMENTO FILHO, 2014; (B) arquivo pessoal.

4.4.6.2 Obtenção dos segmentos intestinais

As cobaias foram sacrificadas por contusão cerebral seguida por secção dos vasos cervicais. Após o sacrifício o abdômen foi imediatamente aberto e dessecado, o intestino delgado foi seccionado nos segmentos proximal, medial e distal (em relação ao estômago) para a identificação do segmento do íleo. Após a retirada do animal, cerca de 10 cm do segmento intestinal foi transferido para um recipiente contendo solução nutritiva de Krebs modificada, com temperatura entre 5 e 10°C e aerado com mistura carbogênica (95% de O₂ + 5% de CO₂) (Figura 20), para a retirada de todo o tecido conectivo e adiposo junto à borda mesentérica do tecido, e limpeza do conteúdo intestinal com Krebs modificado refrigerado (LENNERNAS, 1998).

Figura 20. Segmentos intestinais de íleo em solução de Krebs modificado.

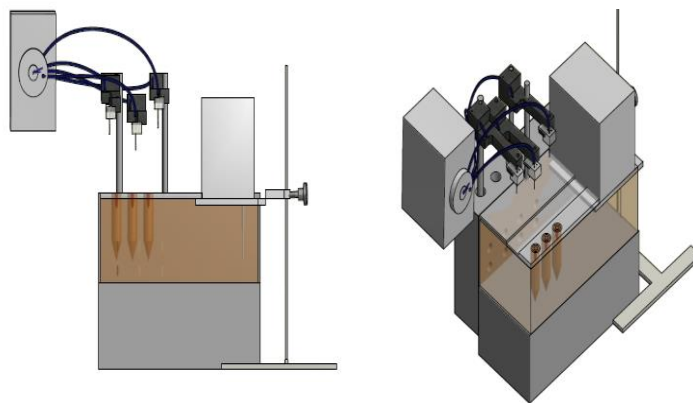


Fonte: Arquivo pessoal.

4.4.6.2.1 Perfusão intestinal em segmentos intestinais isolados

O método de perfusão em segmentos intestinais isolados consistiu em incubar esses segmentos a um sistema (Figura 21), que foi adequado para simular as condições *in vivo* desse órgão. Acoplado ao sistema, existia uma bomba dosadora (Figura 22), responsável em perfundir as soluções de NFD e DS com concentrações já conhecidas, nos segmentos de íleo isolados e incubados.

Figura 21. Sistema utilizado para a perfusão de segmentos intestinais isolados.



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 22. Bomba dosadora (MS TecnoPON®).



Fonte: Arquivo pessoal.

Inicialmente para a incubação dos segmentos intestinais, capilares foram colocados dentro de hastes plásticas, simulando cânulase, estes foram então inseridos em cada extremidade dos segmentos com o auxílio de fio de algodão para que cada segmento fosse suspenso individualmente em cubas de vidro (40 mL), contendo a solução de perfusão isenta de fármaco, preparada conforme descrito no item 4.4.6, mantida à $37\text{ C} \pm 1,0^{\circ}\text{C}$ e aerado com mistura carbogênica (95% de O_2 e 5% de CO_2).

Os segmentos foram deixados no meio de incubação por um período de 30 min com suave agitação até a estabilização, para que o órgão se adequasse ao meio, posteriormente a solução nutritiva foi renovada, para prevenir a interferência devido ao acúmulo de metabólitos (ALTURA., 1970).

Seguidamente um dos capilares foi interligado à mangueira de 3,65 de diâmetro, conectada à bomba dosadora trabalhando com fluxo de 10,05 mL/min, para a perfusão da solução de perfusão. Outra mangueira foi interligada ao outro capilar, a fim de permitir a circulação da solução de perfusão através dos seguimentos intestinais (Figura 23)

Após essa etapa, foram retiradas alíquotas de 1 mL das cubas durante intervalos de 15 minutos por um tempo total de coleta de 90 minutos, e a mesma

quantidade imediatamente reposta, empregando-se o mesmo meio, na mesma temperatura.

Após a coleta, as amostras foram filtradas através de membranas de 0,45 μm de diâmetro de poro e de imediato levada a análise em CLAE-DAD, para que se pudesse verificar a quantidade de fármaco que teria permeado através dos segmentos intestinais ao fim do experimento.

A determinação da permeabilidade utilizando a perfusão intestinal *in vitro* para avaliar a absorção do NFD foi realizada em triplicata para cada concentração. E as cobaias divididas em grupo de 3 animais ($n=3$). Este método foi adaptado com base na literatura (SCHREIBER et al., 2014).

Figura 23. Segmentos intestinais no compartimento receptor, interligado a mangueiras.



Fonte: Arquivo pessoal.

4.4.6.2.2 Técnica do saco intestinal invertido

Os ensaios realizados pela técnica do saco intestinal invertido, foram adaptados com base na literatura (LALA; NANDGAONKAR., 2010; SHARMA; JAIN, 2011). Cada segmento individual teve sua parte luminal externada (posta pelo avesso) com o auxílio de uma haste plástica flexível com aproximadamente 2,5 mm de diâmetro e uma das extremidades do segmento amarrada com fio de algodão,

formando assim um saco, seguidamente foi preenchido com 4,0 mL de solução de Krebs modificado, e, logo após, a outra extremidade do segmento também foi fechada, ficando com 8,0 cm de comprimento (Figura 24).

Figura 24. Sacos intestinais invertidos.



Fonte: Arquivo pessoal.

Os sacos foram então pesados individualmente e imersos em 50 mL de solução de Krebs modificado para íleo isolado de cobaias a 37°C, aerado com mistura carbogênica (95% de O₂ + 5% de CO₂) sob agitação suave. Após isso, adicionou-se diferentes quantidades de NFD ou das suas DS de Eudragit® L-100 já pré-estabelecidas na seção 4.4.6, em diferentes recipientes contendo solução de nutritiva de Krebs e os sacos confeccionados com cada um dos segmentos intestinais do íleo, permitindo assim variar as concentrações de nifedipino ou de suas DS na solução em contato com a face epitelial desses segmentos intestinais.

Após 60 minutos os sacos foram então removidos dos recipientes, pesados, abertos e os seus conteúdos removidos e filtrados através de membranas de 0,20 µm de diâmetro de poro e de imediato levada a análise em CLAE-DAD, para que se pudesse verificar a quantidade de fármaco que estaria presente no fluído incubado no lado da mucosa serosa até o fim do experimento.

A determinação da permeabilidade utilizando o método do saco intestinal invertido para avaliar a absorção do NFD foi realizada em triplicata para cada concentração. E as cobaias divididas em grupos de 3 animais (n=3).

4.5 Estudos de permeação

Após análises das alíquotas do fármaco permeadas, as quais foram quantificadas utilizando adaptações dos métodos cromatográficos, descrito na seção 4.2, calculou-se a permeação cumulativa do NFD livre e em dispersões sólidas de Eudragit® L-100. Baseando-se nos dados obtidos foi calculado os valores de permeabilidade aparente (P_{app}) em cm/s (LENNERNAS,1998; BALIMANE, 2000; ROZEHNAL et al., 2012; BEIG et al., 2013). Conforme a Equação 6.

$$P_{app} = \frac{V_R}{(A \times C_0)} \times \frac{dC}{dt}$$

(Equação 6)

Onde:

P_{app} = permeabilidade aparente

V_R = volume do compartimento receptor (basolateral) em (4,0) cm^3

A = área do segmento intestinal (8,00 cm^2)

C_0 = concentração inicial adicionada no compartimento doador (apical)

dC/dt = diferencial da concentração em relação ao tempo do experimento.

Os valores da permeabilidade aparente obtidos foram comparados com os de P_{app} da literatura. Para todos os experimentos, os dados foram representados como média \pm DP.

4.6 Análise estatística

Todos os dados encontrados foram expressos como média \pm erro padrão da média e “n” se refere ao número de animais utilizados em cada experimento, em um dado protocolo.

Foi realizado o teste Shapiro-Wilk para assegurar a normalidade dos dados. Diferenças entre as médias foram comparadas estatisticamente usando Análise de variância (ANOVA) “one-way” seguido do pós-teste de Tukey, onde essas diferenças foram consideradas significantes quando o valor calculado de “p” foi menor que 0,05. As análises estatísticas foram realizadas usando o programa Graph-Pad Prism® 6.0 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, EUA).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Doseamento do nifedipino

Os resultados para o doseamento do NFD presente nas DS foram satisfatórios, obtendo-se 49,22% ($\pm 3,23$) como valor médio do teor do fármaco presente no sistema de DS. No entanto, no doseamento do NFD no comprimido de referência (Adalat[®] Oros), utilizado para fornecer maior confiabilidade ao método cromatográfico, o teor do fármaco foi cerca de 126% ($\pm 4,25$).

A redução do teor de NFD nas amostras de DS é evidenciada devido à metodologia empregada na obtenção das DS, e por ser um sistema ainda em desenvolvimento. Sugerindo que o método analítico realmente é eficaz, na quantificação de diferentes concentrações de NFD, e que o doseamento do fármaco irá depender do sistema farmacêutico analisado.

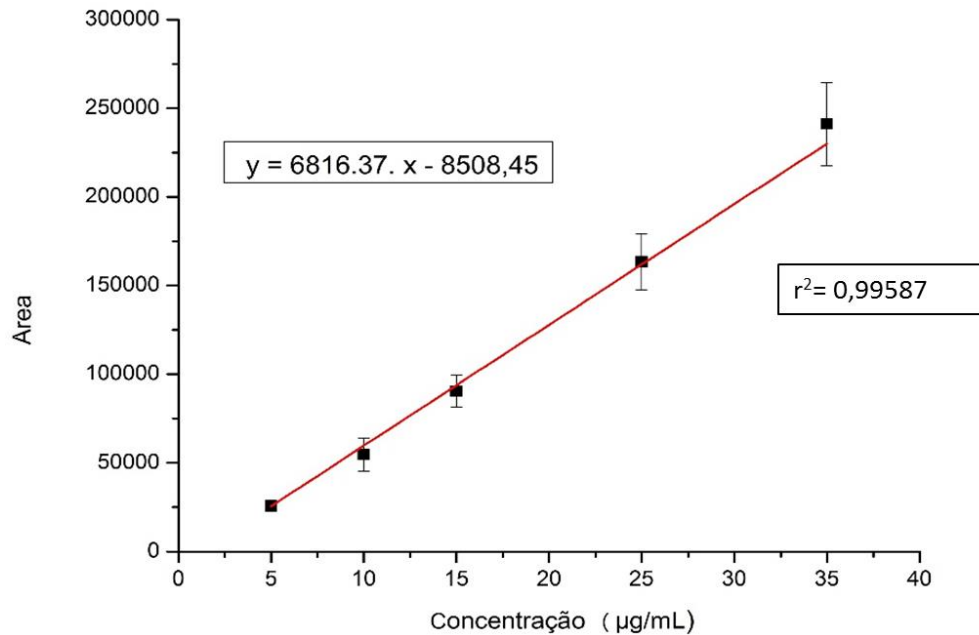
5.2 Parâmetros de validação utilizados na co-validação do método analítico para a quantificação do nifedipino

5.2.1 Linearidade

A curva de calibração gerada na covalidação do método cromatográfico por cromatografia líquida de alta eficiência para o NFD, utilizando como diluente a solução nutritiva de Krebs modificado, demonstraram boa linearidade, estando representada na Figura 25, e os valores de área dos pontos estudados na Tabela 5.

A análise de regressão linear dos mínimos quadrados evidenciou um coeficiente de correlação de $r^2 = 0,996$, comprovando a linearidade nos limites de concentração estudada, com equação da reta ($y = 6816,37 \cdot x - 8508,45$). Estando o “r” de acordo com o especificado pela RE n^o 899 da ANVISA. As análises de todas as concentrações obtiveram um coeficiente de variação entre 0,042 e 0,152. Podendo, de acordo com Resolução ANVISA 899/ 2003, o coeficiente de variação percentual (CV%) chegar até 15%, quando se trata de fluídos biológicos.

Figura 25. Curva analítica referente à adequabilidade do método desenvolvido para a quantificação do nifedipino em Krebs modificado empregando-se CLAE-DAD nas concentrações de 5, 10, 15, 25 e 35 µg/mL. Cada ponto representa a média de três determinações.



Fonte: elaboração própria.

Tabela 5. Valores de área obtidas na curva analítica do método para quantificação do nifedipino em meio Krebs modificado pH 7,4.

| Concentração (µg/mL) | Áreas | | | Média | DP | CV% |
|-------------------------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|
| | 1° rep | 2° rep | 3° rep | | | |
| 5 | 26446 | 24431 | 26180 | 25662 | 1079 | 4,2% |
| 10 | 65181 | 50067 | 48760 | 55851 | 8534 | 15,0% |
| 15 | 9675 | 80400 | 94157 | 90477 | 8832 | 9,7% |
| 25 | 173668 | 144950 | 171603 | 163407 | 16018 | 9,8% |
| 35 | 257925 | 214240 | 251229 | 241131 | 23528 | 9,7% |

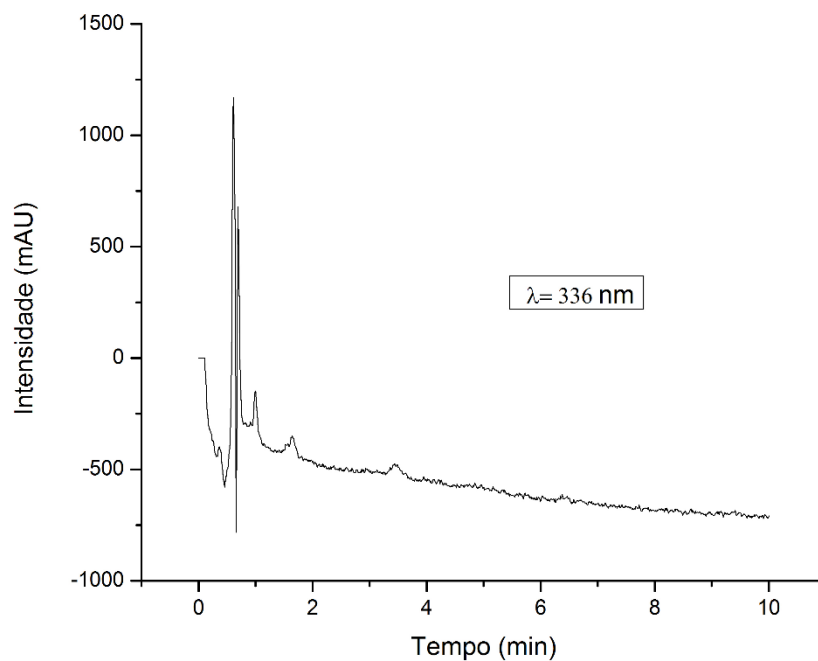
DP= Desvio-padrão da média (n=3), CV% = Coeficiente de variação (n=3)

5.2.3 Seletividade

O método analítico covalidado demonstrou ser específico para o fármaco analisado, apresentando picos sem sobreposição de interferentes no tempo de retenção 6,5 durante 10 minutos de análise. O NFD foi avaliado no comprimento de onda apropriado, 336 nm.

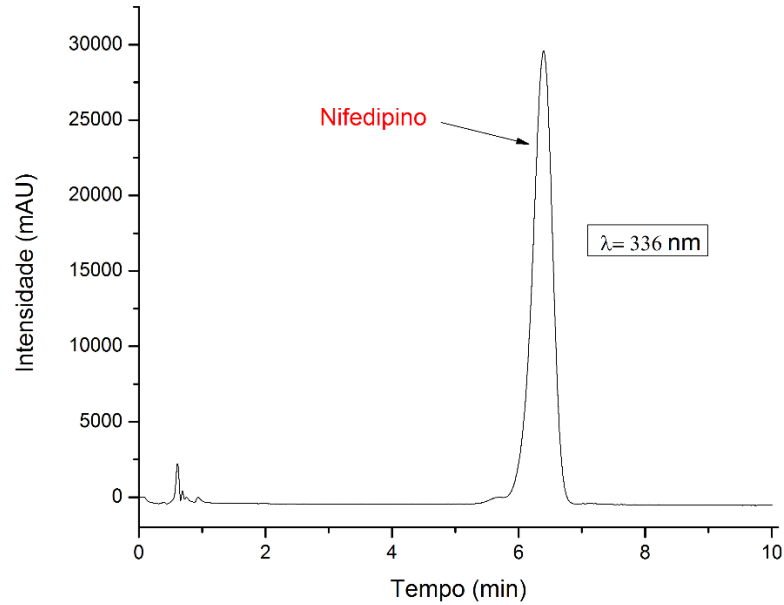
As Figuras 26, 27 e 28 representam os cromatogramas de injeções de solução de Krebs modificado (branco), da amostra padrão de NFD e de dispersões sólidas em solução de Krebs modificado, respectivamente.

Figura 26. Cromatogramas (CLAE-DAD) de injeções de solução de Krebs modificado (branco) pH 7,4.



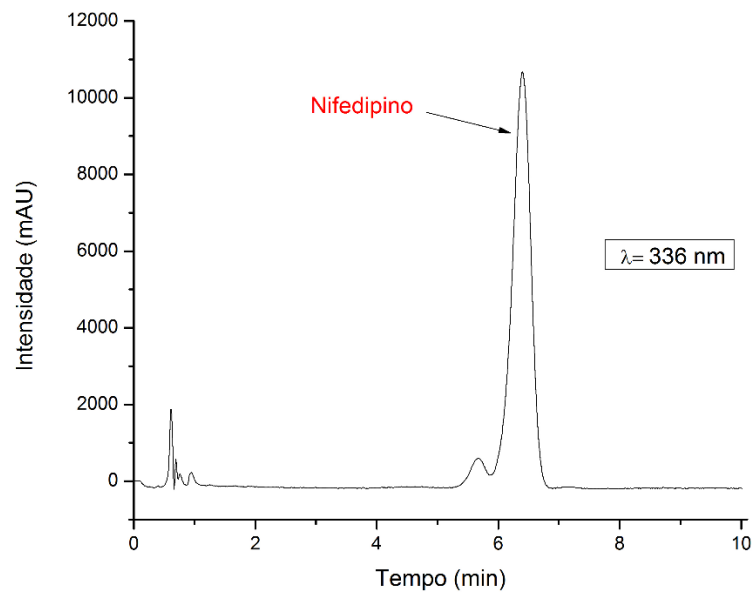
Fonte: arquivo pessoal.

Figura 27. Cromatogramas (CLAE-DAD) da solução de nifedipino padrão 1,2 mg/mL em solução de Krebs modificado pH 7,4.



Fonte: arquivo pessoal.

Figura 28. Cromatogramas (CLAE-DAD) da solução contendo dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit[®] L-100 1,2 mg/mL em solução de Krebs modificado pH 7,4.



Fonte: Arquivo pessoal.

5.2.4 Limite de Detecção (LD) e Limite de Quantificação (LQ)

Após a construção da curva de linearidade com as 5 concentrações determinadas, foi possível detectar, e quantificar a menor quantidade de analito na amostra estabelecendo um limite de detecção (LD) de 0,56 $\mu\text{g/mL}$ e limite de quantificação (LQ) de 1,87 $\mu\text{g/mL}$, sendo que a concentração mínima utilizada neste trabalho 5 $\mu\text{g/mL}$ pode ser perfeitamente quantificável. Esses valores demonstram boa adequação do método para detectar e quantificar o analito por CLAE-DAD.

O limite de detecção e quantificação foi adequado para as quantidades do fármaco, demonstrando boa sensibilidade do método analítico (BRASIL,2003).

5.2.5 Precisão

Os valores de precisão obtidos para o NFD, foram calculados com o CV (%) com seus respectivos desvios padrões (DP), a partir da determinação de três diferentes concentrações, consideradas em dois níveis, em um mesmo dia (intra-dia) e em dois dias consecutivos (inter- dias) mostrados na Tabela 5.

Tabela 6. Precisão Intra-dia e Inter-dias calculada a partir de 3 níveis de concentrações diferentes para a quantificação de nifedipino por CLAE-DAD.

| Concentração ($\mu\text{g/mL}$) | CV (%) | |
|--------------------------------------|------------------|------------------|
| | Intra-dia | Inter-dias |
| 5 $\mu\text{g/mL}$ | 3,13 \pm 0,63 | 9,12 \pm 1,73 |
| 15 $\mu\text{g/mL}$ | 8,92 \pm 5,18 | 7,62 \pm 4,32 |
| 35 $\mu\text{g/mL}$ | 9,42 \pm 13.80 | 7.89 \pm 11.39 |

* Os valores representam a média \pm o desvio padrão; CV%= coeficiente de variação

Os resultados de precisão atendem os limites estabelecidos pela Resolução Anvisa 899/2003, todos os valores obtidos apresentam desvio e coeficiente de variação percentual em até 15%, valores aceitáveis quando se trata de fluídos

biológicos. Portanto, os resultados da precisão intra-dia e inter-dias calculada a partir de 3 níveis de concentrações diferentes para a quantificação de nifedipino demonstram que o método é preciso.

A precisão intermediária (precisão inter-dias), é reconhecida como a mais representativa, sendo um critério que interessa em métodos analíticos oficiais. A variabilidade dos resultados em um único laboratório é a mais aconselhável de ser adotada, objetivando verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados (USP, 2000; RIBANI et al., 2004).

5.2.6 Exatidão

A exatidão do método analítico descreveu as relações entre os valores nominais e obtidos, com os seus valores nominais médios determinados. Esta foi medida usando três determinações para cada uma das concentrações, baixa, média e alta, as quais foram 5, 15 e 35 µg/mL, respectivamente. Os valores de exatidão obtidos variaram de 94,44% a 110,6%, demonstrado na Tabela 6.

Tabela 7. Exatidão calculada a partir de 3 níveis de concentrações diferentes em um mesmo dia (Intra-dia) para a quantificação de nifedipino utilizando a técnica cromatográfica CLAE-DAD.

| Concentração (µg/mL) | E% |
|----------------------|---------------|
| | Intra-dia |
| 5 µg/mL | 100,2 ± 3,16 |
| 15 µg/mL | 92,44 ± 6,39 |
| 35 µg/mL | 110,6 ± 16,84 |

* Os valores representam a média ± o desvio padrão; E% = exatidão percentual

Todos os valores de exatidão determinados encontraram-se dentro dos limites especificados pela ANVISA através da RE nº 899 de 29 de maio de 2013, os quais estiveram no intervalo de 80 a 120% para determinações intra-dias (BRASIL, 2003).

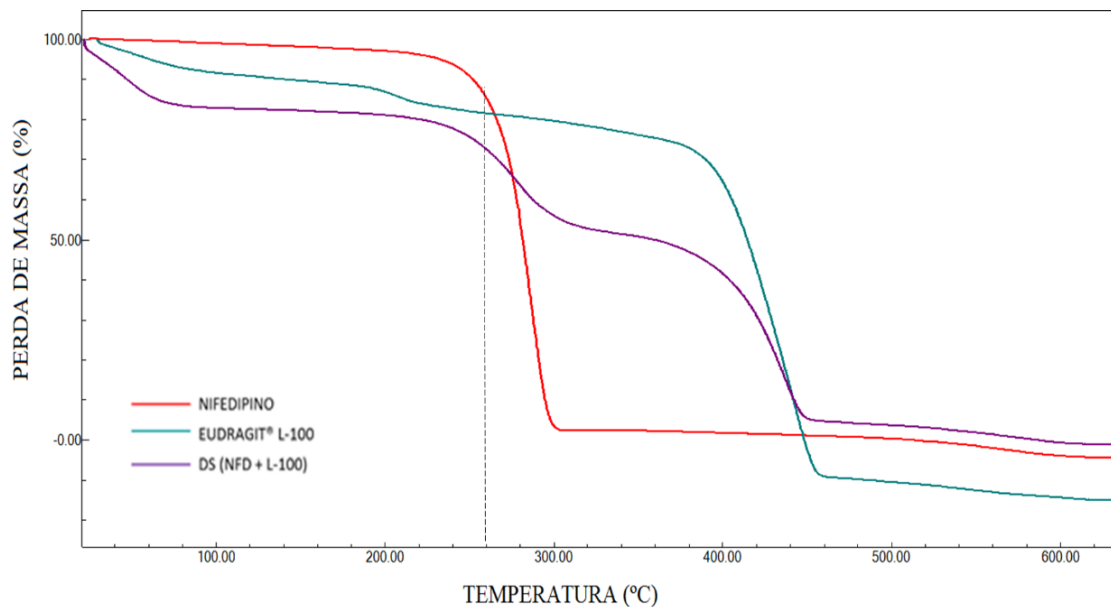
Portanto os valores de exatidão obtidos estão de acordo com a resolução vigente, mostrando-se exato para o método desenvolvido.

5.3 Caracterização física e físico-química do nifedipino em sua forma livre e vinculado as dispersões sólidas em Eudragit® L-100

5.3.1 Dados Termogravimétricos (TG)

Os dados termogravimétricos das amostras estão representados como um gráfico da massa em função da temperatura (Figura 29). As regiões horizontais sinalizam as temperaturas, enquanto as partes curvas indicam perdas de massa, sugerindo um comportamento térmico distinto entre os materiais analisados. A temperatura pode acelerar a maioria dos processos que resultam na degradação de sistemas farmacêuticos (FILHO et al., 2008).

Figura 29. Curva de TG do nifedipino, Eudragit® L100 e das dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L100.



Fonte: Arquivo pessoal.

Inicialmente é perceptível que a DS exibe uma perda de massa em torno de 50°C, devido a presença do metanol durante seu processo de obtenção.

As curvas de TG mostraram que o NFD permanece estável quimicamente até aproximadamente 280°C, passando a sofrer perda de massa a partir desta temperatura até 296°C onde certamente ocorre sua degradação. Enquanto as DS apresentaram uma etapa de perda de massa inicial na faixa aproximada de 270°C referente a degradação do NFD, no entanto sua degradação total só ocorreu à 455°C aproximadamente, apresentando estágio de degradação em temperatura superior à do fármaco cristalino. Sendo observado que as DS no estágio principal de decomposição térmica estavam alteradas tanto no nível da faixa de decomposição como em percentuais de perda de massa (Tabela 8).

Tabela 8. Representação dos dados termogravimétricos do nifedipino, Eudragit® L-100 e das DS de NFD em L-100.

| Amostra | Faixa de decomposição (°C) | Perda de massa (%) |
|------------------|----------------------------|--------------------|
| Nifedipino | 281,61 - 296,61 | -94,61 |
| Eudragit® L-100 | 194,57 - 227,51 | -8,78 |
| DS (NFD + L-100) | 268,96 - 298,79 | -28,94 |

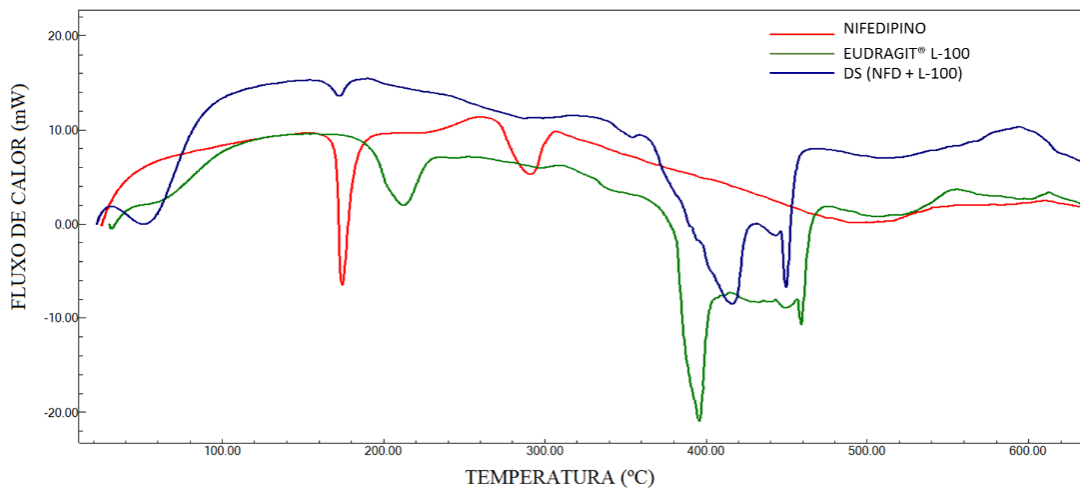
O estudo termogravimétrico do nifedipino e das dispersões sólidas mostrou diferentes comportamentos térmicos em consideração às etapas de perda de massa. Observando-se uma significativa diferença nos percentuais de perda de massa do NFD cristalino (-94,61%) em comparação às DS (-28,94%). Isso mostra que a obtenção das dispersões pela técnica de coprecipitação é adequada para a produção destas DS, uma vez que garantiu maior estabilidade térmica ao NFD.

5.3.2 Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Figura 30 mostra a região da razão de aquecimento de 10°C até 600°C das curvas de DTA dos materiais em estudo, que é a região onde podemos encontrar o pico de fusão do nifedipino. Observando o comportamento térmico do NFD e L-100 isolados, bem como, das dispersões sólidas, o nifedipino cristalino apresentou 2 picos de fusão com maior intensidade em 174,42°C, semelhantes ao obtido por HUANG et

al (2006) em análise de DSC para micropartículas deste fármaco. O Eudragit® L-100 apresentou pico endotérmico em 212,42°C e as DS pico endotérmico em 172,4°C.

Figura 30. Curvas térmicas diferenciais do pico de fusão do NFD, L-100 e das DS na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ até 600°C.



Fonte: Arquivo pessoal.

A partir das análises das curvas de DTA foi evidenciada a diminuição da entalpia e temperatura inicial referente ao processo de fusão das DS (Tabela 9). Correlacionando a diminuição da entalpia com a redução da organização do hábito cristalino. Mostrando a possível relação entre a diminuição da entalpia de fusão com o grau de cristalinidade do NFD, reduzindo a energia total do sistema, contribuindo para o aumento da estabilidade do sistema formado.

Tabela 9. Dados das curvas térmicas diferenciais do pico de fusão do NFD, L-100 e das DS na razão de aquecimento de 10°C/min até 600°C.

| Amostra | T (°C) onset | T (°C) endset | T (°C) peak | Eudragit (ΔH J/g) |
|------------------|--------------|---------------|-------------|----------------------------|
| Nifedipino | 171,44 | 181,76 | 174,42 | -145,56 |
| Eudragit | 195,02 | 226,80 | 212,48 | -154,17 |
| DS (NFD + L-100) | 167,21 | 179,36 | 172,43 | -20,12 |

Pode-se observar na Tabela 9 que o polímero não apresentou processos endotérmicos ou exotérmicos na faixa de fusão do NFD. Sabe-se que a interação molecular entre fármaco-carreador é caracterizada por meio do deslocamento ou desaparecimento do ponto de fusão do fármaco, bem como, da diminuição da entalpia de fusão (OLIVEIRA; YOSHIDA et al., 2010).

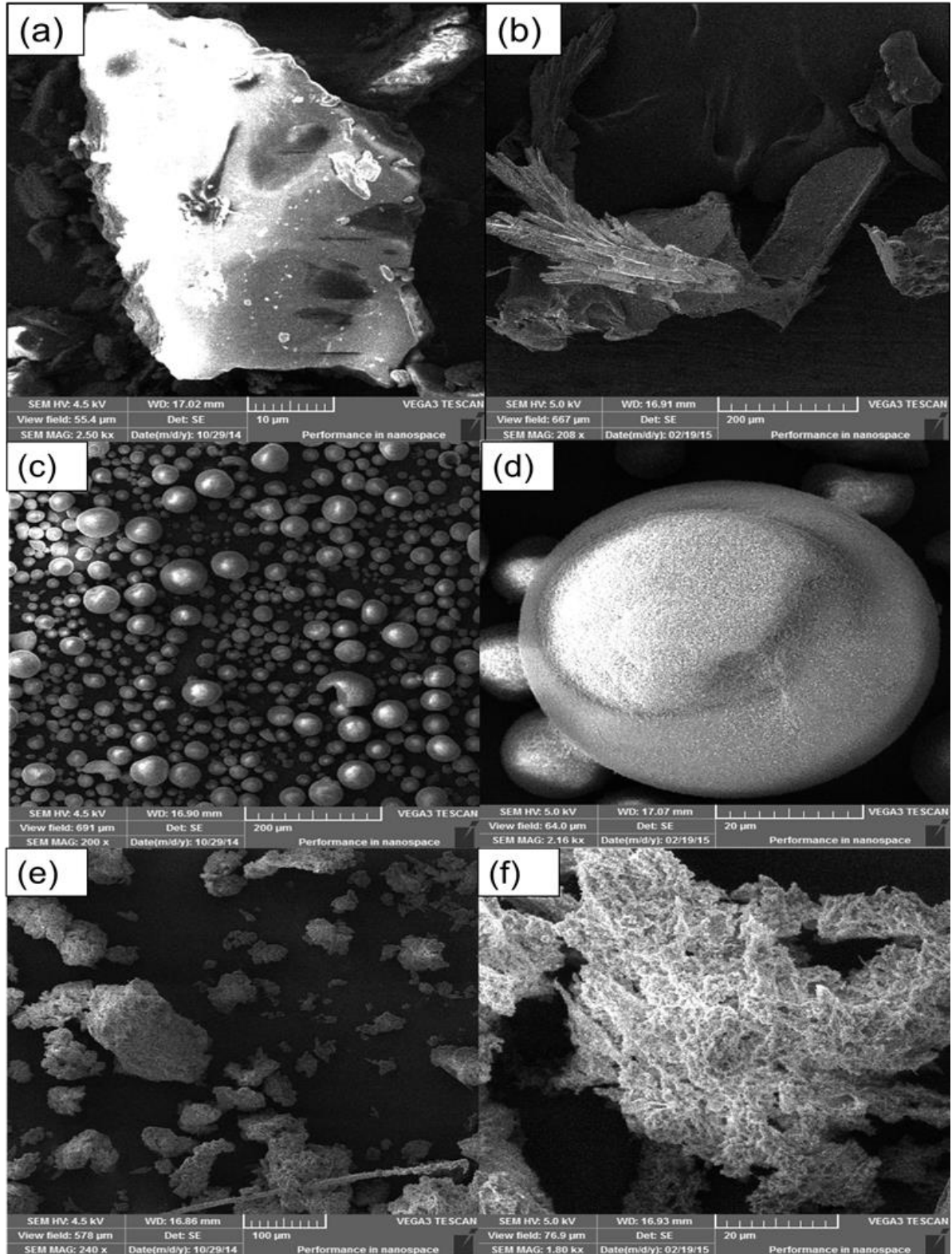
Essas alterações observadas indicam interações intermoleculares entre o fármaco e o polímero, por meio da análise das curvas de DTA, sendo possível constatar uma variação no ponto de fusão das dispersões sólidas (OLIVEIRA et al., 2010).

5.3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Antes da caracterização estrutural dos materiais, íons de ouro (Au) foram depositados nas amostras, facilitando a construção da imagem. As camadas depositadas podem melhorar o nível de emissão de elétrons, emitindo mais elétrons que o material das amostras (DEDAVID et al., 2007).

A análise morfológica das amostras foi realizada por MEV, permitindo avaliar a superfície do fármaco e polímero isolado e na forma de sistemas binários, possibilitando uma provável correlação entre a estrutura morfológica e o tamanho de partícula com o aumento da solubilidade do fármaco. As eletromicrografias dos materiais isolados (NFD e L-100) e do sistema binário (DS) estão ilustradas na Figura 31.

Figura 31. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) (a,b) NFD isolado com aumento de 2500 e 280 vezes, (c,d) Eudragit® L-100 isolado com aumento 200 e 2160 vezes e (e,f) dispersões sólidas de NFD em Eudragit® L-1000 com aumento de 240 e 1800 vezes.



Fonte: Arquivo pessoal.

A análise morfológica do fármaco, demonstrou a presença de perfil cristalino para o NFD (Figura 31 a e 31 b), no entanto a micrografia realizada no MEV mostra que as partículas do fármaco não possuem padrão cristalino definido, além de algumas delas apresentarem-se aglomeradas.

O MEV das partículas de Eudragit® L-100 demonstrou que o copolímero em condições normais possui uma conformação fechada esférica (Figura 31 c e 31 b d), provavelmente devido à forte atração intermolecular entre os grupos hidróxido e carboxila do L-100, comprovada na literatura (LECOMTE et al., 2005). Tal fenômeno causa uma diminuição da porosidade e conseqüentemente da permeabilidade do solvente (de OLIVEIRA et al., 2009).

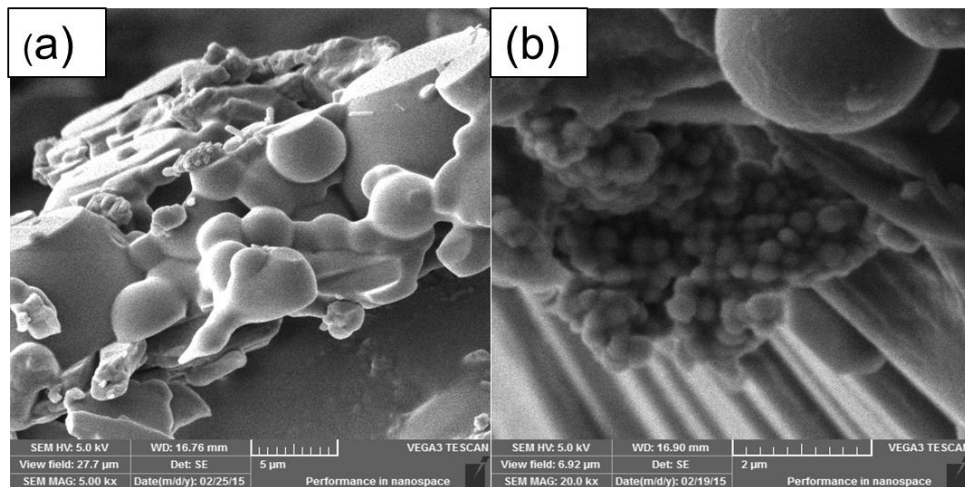
Para a análise morfológica das DS realizada no MEV (Figura 31 e e 31 f), foi possível observar nas imagens a presença de porosidade nas DS de NFD em Eudragit® L-100, o que poderia caracterizar uma liberação baseada na difusão do fármaco através da matriz polimérica, verificando que existe uma dispersão amorfa do NFD na matriz polimérica do L-100, modificando a conformação das interações intermoleculares e logo as forças de ligação.

Tal características citadas acima é de total interesse, visto que, quando o NFD atinge a forma amorfa existe uma maior dispersão na matriz polimérica, apresentando uma taxa de dissolução mais elevada do que as formulações preparadas com o fármaco em sua forma cristalina (FORSTER et al., 2001). No entanto, o não aparecimento de cristais do fármaco nas imagens observadas das DS não significa que o NFD esteja presente apenas na forma amorfa, podendo haver resquícios do fármaco livre, uma vez que nas eletromicrografias o fármaco pode não ter aparecido devido a seu recobrimento total pelo polímero.

Através do MEV foi possível caracterizar morfológicamente as dispersões sólidas obtidas, evidenciando uma diminuição no tamanho das partículas, bem como, a desestruturação da rede cristalina original do nifedipino isolado.

Apesar das micropartículas de nifedipino em Eudragit® L-100, utilizando surfactante Tween® 80, ter sua produção inviabilizada, foi possível caracteriza-la através do MEV, resultando em micropartículas esféricas de tamanho entre 2 e 5 µm, como pode ser visto na Figura 32 (a,b).

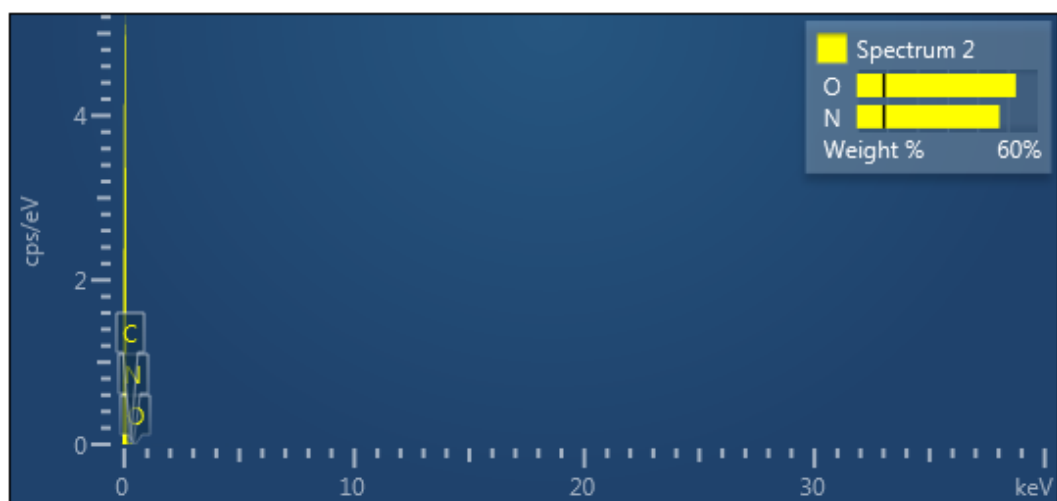
Figura 32. Microscopia eletrônica de varredura micropartículas de nifedipino em Eudragit® L-100 com aumento de 5000 e 20000 vezes (a, b).



Fonte: Arquivo pessoal.

A caracterização quantitativa e qualitativa por Espectroscopia de Energia Dispersiva (EDS) confirmou os principais átomos presentes na estrutura das DS (Figura 33). Este é um dos dados que indicam mais uma prova real, da dispersão do fármaco na matriz polimérica. Observando na composição orgânica das DS os átomos de carbono (C), oxigênio (O) e nitrogênio (N), visto que, o (N) é proveniente do nifedipino (Figura 5), não fazendo parte da composição química do Eudragit® L-100 isolado (Figura 9).

Figura 33. EDS das dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100.

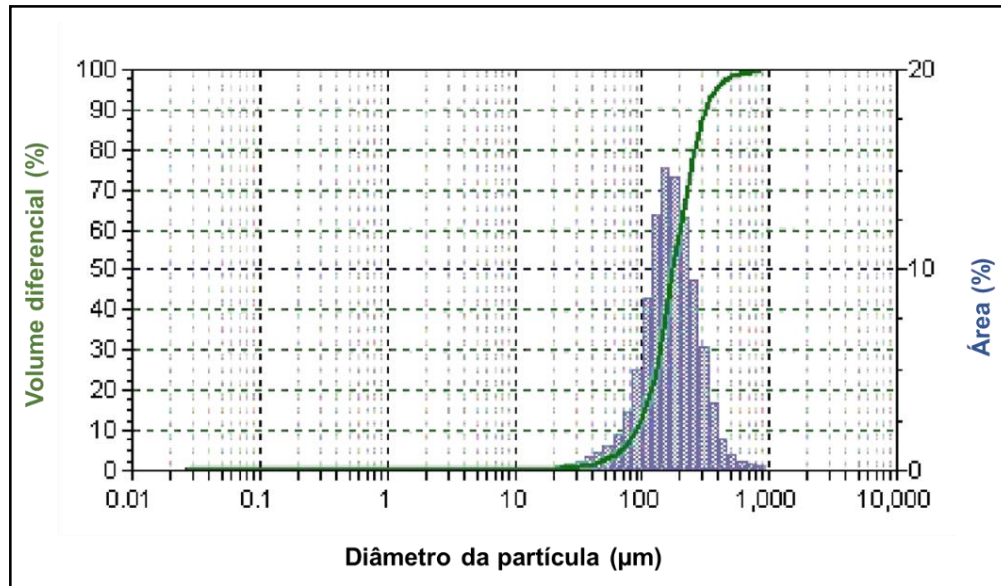


Fonte: Arquivo pessoal.

5.3.4 Análise Granulométrica

Inicialmente foi realizada a análise granulométrica para o fármaco (Figura 34).

Figura 34. Distribuição do tamanho de partícula para o nifedipino ($d_{10}=98,48 \mu\text{m}$, $d_{50}=175,2 \mu\text{m}$ e $d_{90}=317,5 \mu\text{m}$, analisada por difração a laser por via úmida.

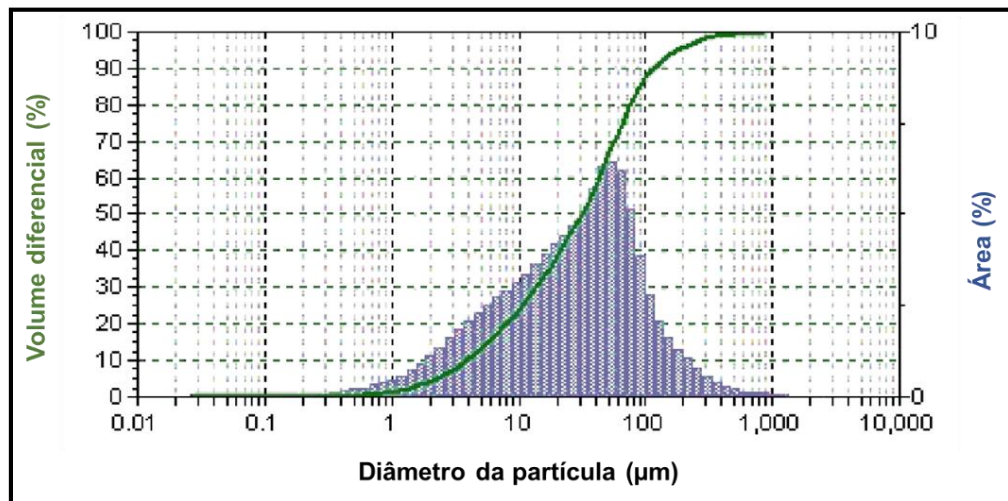


Fonte: Arquivo pessoal

De acordo com os resultados adquiridos no referido ensaio, verificou-se que o fármaco apresentou distribuição granulométrica irregular para os tamanhos de partícula. Obteve diâmetro médio da distribuição em volume de $195,5 \mu\text{m}$ e diâmetro médio da distribuição em área de $144,5 \mu\text{m}$.

Após análise do fármaco realizou-se a análise das DS (Figura 35).

Figura 35. Distribuição do tamanho de partícula para as dispersões sólidas ($d_{10}=3,32\mu\text{m}$, $d_{50}=34,38\mu\text{m}$ e $d_{90}=114,2\mu\text{m}$, analisada por difração a laser por via úmida.



Fonte: Arquivo pessoal.

As DS apresentaram diâmetro médio da distribuição em volume de $54,21\mu\text{m}$ e diâmetro médio da distribuição em área de $9,40\mu\text{m}$. Considerando o diâmetro médio (d_{50}), foi possível verificar a redução de até 6 vezes mais, no tamanho das partículas das DS em relação ao fármaco analisado.

A faixa de tamanho de partícula obtida no estudo foi considerada apropriada, pelo fato de que partículas muito pequenas tendem à aglomeração. A utilização de pós muito finos em formas de dosagem pode ser problemática devido às dificuldades de manuseio e pobre molhabilidade prejudicando a liberação do ativo.

No estudo de Huang e Colaboradores (2006), na preparação de micropartículas de nifedipino com uma mistura de etilcelulose e Eudragit RL pelo o método de coprecipitação, observou-se partículas com diâmetro médio de até $32,6\mu\text{m}$, sendo pertinente com os valores apresentados neste trabalho.

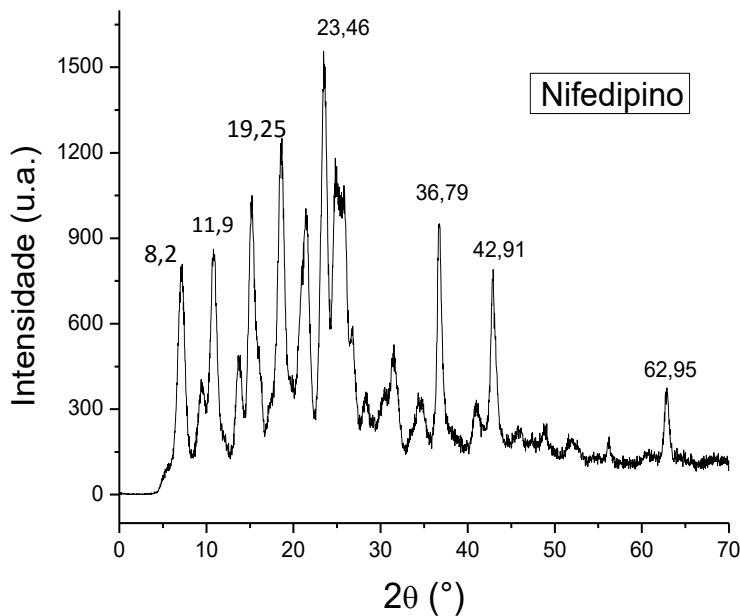
Frizon (2011) obteve dispersões sólidas de loratadina em polivinilpirrolinona pela a técnica de spray-drying com diâmetro médio de partícula entre $5,63$ e $6,13\mu\text{m}$, esses valores são inferiores aos observados no presente trabalho, o que pode ser atribuído às diferentes técnicas utilizadas na obtenção das DS.

O mecanismo de redução de tamanho da partícula do fármaco é considerado um dos responsáveis pela melhora na solubilidade aquosa / dissolução, podendo ser evidenciado na Figura 35 e estando de acordo com os observados no MEV.

5.3.5 Difração Raios X (DRX)

O difratograma correspondente ao fármaco NFD cristalino revelou a presença de planos característicos da cristalinidade do NFD (Figura 36), observados 2θ em $8,2^\circ$, $11,9^\circ$, $19,25^\circ$, $23,46^\circ$, $36,79^\circ$, $42,91^\circ$ e $62,95^\circ$. Os planos característicos do NFD cristalino aparecem em $19,25^\circ$ e $23,46^\circ$ (VIPPAGUNTA, 2002).

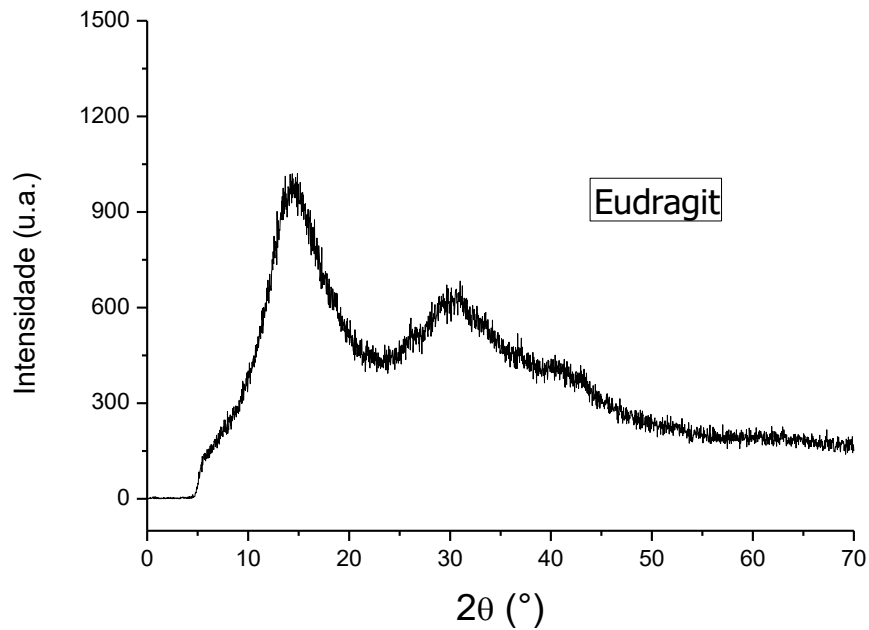
Figura 36. Difratograma correspondente ao fármaco (NFD) cristalino.



Fonte: Arquivo pessoal.

O copolímero Eudragit® L-100 foi caracterizado por completa ausência de planos cristalinos, característico de um material amorfo representado na Figura 37.

Figura 37. Difratoograma correspondente ao copolímero (Eudragit® L-100).

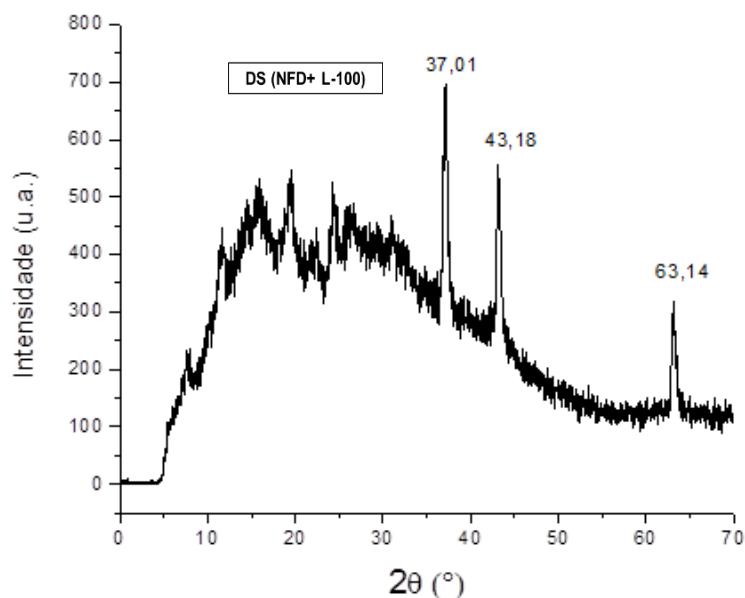


Fonte: Arquivo pessoal.

Os resultados da difração de raios-x para as DS (Figura 38) demonstraram planos de reflectância proeminentes do NFD em $37,01^\circ$, $43,1^\circ$ e $63,14^\circ$, os quais são resquícios da estrutura cristalina no NFD. Esses resquícios de cristalinidade nas DS obtidas por coprecipitação pode ter sido desencadeado pela proporção de fármaco utilizado na preparação das mesmas. Os planos característicos do NFD podem aumentar gradualmente com o aumento da concentração do mesmo nas DS.

Vippagunta e Colaboradores (2002) observaram que dispersões sólidas de nifedipino indicavam proporções consideráveis do fármaco cristalino, no entanto, apontaram que o NFD não sofreu qualquer alteração polimórfica durante a preparação das dispersões sólidas.

Figura 38. Difratoograma correspondente as dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100.



Fonte: Arquivo pessoal.

No entanto, houve uma redução significativa nas intensidades dos planos característicos do NFD, sugerindo constatar a modificação no padrão de difratograma das dispersões sólidas (Figura 38) sendo indicativo de diminuição da cristalinidade das mesmas. Influenciando no aumento da liberação do NFD, sendo necessária pouca ou nenhuma energia para quebrar o pico cristalino durante o processo de dissolução.

Os resultados do DRX mostraram diferentes padrões de difração do NFD puro e do Eudragit® L-100 isolado, com a confirmação da quase total desestruturação da rede cristalina do NFD que já havia sido observada nas eletromicrografias, sugerindo a formação de uma nova forma sólida na obtenção das DS. Destacando uma confiabilidade dos resultados obtidos através da técnica de DRX, já que o perfil de difração obtido é característico para cada fase cristalina.

5.3.6 Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

O FTIR foi utilizado para investigar as ligações existentes no NFD e Eudragit® L-100 de forma isolada, assim como, as interações fármaco-polímero nas DS de NFD

em Eudragit® L-100 por meio da observação do deslocamento de seus picos. Quando os grupos funcionais do fármaco e polímero interagem, o espectro de infravermelho dos grupos deverá apresentar as bandas achatadas e deslocadas quando comparados com os espectros individuais das amostras isoladas, componentes da mistura (SANTOS, 2008).

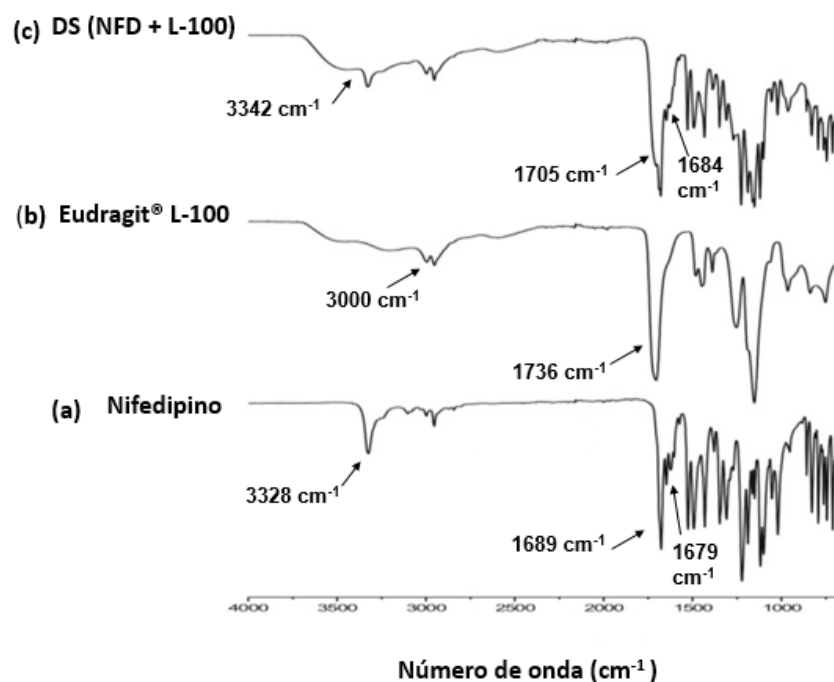
Em busca na literatura para fins de comparação, foi encontrado a posição dos picos da vibração de alongamento para a carboxila e amina do nifedipino em sua forma cristalina e amorfa, apresentado na Tabela 9.

Tabela 10. Vibração de alongamento da NH e C = O em nifedipino na forma cristalina e amorfa.

| Amostra | Carboxila, -C = O (cm⁻¹) | Amina, -N-H (cm⁻¹) |
|--------------------------|--|--|
| Nifedipino cristalino | 1689-1680 ^a 1679-1689 ^b | 3328 ^a 3331 ^b |
| Nifedipino amorfo | 1703-1684 ^a 1701 ^b | 3342 ^a 3346 ^b |

Fonte: (a) HUANG et al., 2007 e (b) TANG, 2002.

Figura 39. Espectro FTIR (a) nifedipino puro, (b) copolímero Eudragit® L-100 e (c) dispersões sólidas de nifedipino em Eudragit® L-100.



Fonte: Arquivo pessoal.

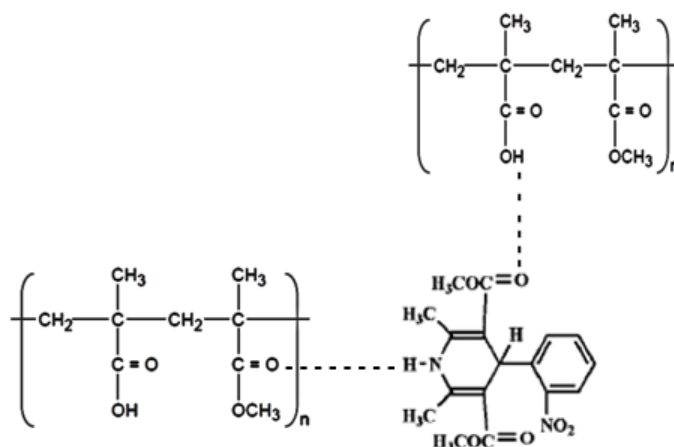
De acordo com os infravermelhos (Figura 39) foi possível observar que o nifedipino na forma de pó exibe picos agudos intensos no espectro de FTIR indicando sua natureza cristalina (Figura 39 a). Já o copolímero Eudragit® L-100 apresentou picos de baixa intensidade indicando sua natureza amorfa (Figura. 39 b).

As bandas mais características dos picos característicos de NFD são identificadas em 3328 cm⁻¹ (grupo amina) - bandas U (-NH) e 1689 cm⁻¹ (grupo carboxila) – bandas U (C = O) proveniente do grupo funcional éster.

De acordo com o espectro, o Eudragit® L-100 apresenta pico mais característico em 1736 cm⁻¹, presença da ligação (C=O), e em 3000 cm⁻¹ presença da ligação (O-H). No caso das dispersões sólidas de NFD em L-100 (Figura. 39 c), em que o NFD encontra-se na forma amorfa, foram observados deslocamentos e alongamentos das bandas de vibração em 3342 cm⁻¹- U (-NH), em 1684 cm⁻¹ e em 1705 cm⁻¹- U (-C = O), evidenciando a mudança morfológica dessas bandas, fato que pode ser atribuído à ruptura das ligações intermoleculares de hidrogênio entre os dois grupos funcionais evidenciado na estrutura cristalina do NFD (TANG et al., 2002; HUANG et al., 2007).

Como ilustrado na Figura 40, o nifedipino pode atuar como potencial receptor de prótons através do grupo carbonila (C = O) ou doador de prótons através do grupo amina (N-H), indicando que as ligações de hidrogênio são formadas através do grupo amina do NFD e um dos grupos carboxila do L-100 ou, através do grupo carboxila do nifedipino com o grupo hidroxila (-OH) do L-100, funcionando como um doador ou receptor de prótons. O estiramento de N-O do grupo nitro não está envolvido nas interações de hidrogênio entre o fármaco e seus carreadores.

Figura 40. Estrutura química e sítios de ligação de hidrogênio entre o nifedipino e o Eudragit®L-100; --- representa as ligações de hidrogênio entre os grupos funcionais.



Fonte: Elaboração própria.

A presença simultânea de grupos carboxílicos e ésteres no copolímero torna o sinal um pouco mais complexo do que quando comparado com moléculas que apresentam apenas um destes devido à possibilidade de interações desses grupos dentro e fora da cadeia. De forma geral, os copolímeros de Eudragit tem sua solubilidade afetada pelo pH, se dissolvendo em meios com pH acima de 5,5. Solubilidade esta que é influenciada pela proporção entre os grupos carboxila e grupos ésteres livres (CHOURASIA; JAIN, 2004).

Através dos infravermelhos obtidos por FTIR, pode-se concluir que as amostras de NFD nas DS não sofreram modificações em sua estrutura. O fato das bandas características do NFD manter suas posições, indica que o fármaco está disperso na matriz polimérica de Eudragit® L-100, não sendo detectado pelo infravermelho,

provando assim, uma estabilidade química do fármaco na matriz Eudragit® L100/Nifedipino, fato que contribui para manter suas características farmacológicas.

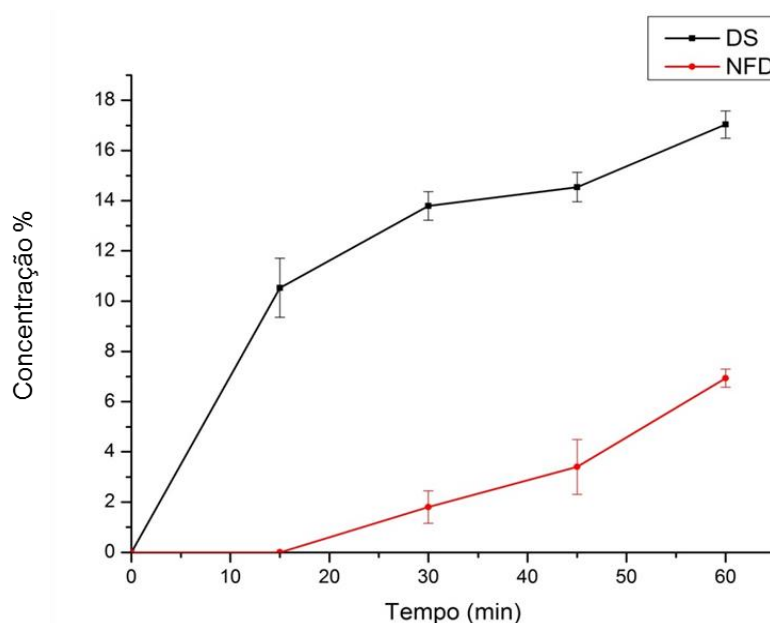
5.4 Estudo de dissolução *in vitro*

Os estudos de dissolução *in vitro* para o NFD puro e vinculado às DS de Eudragit® L-100, foram realizados para a previsão da liberação do NFD por unidade de tempo em uma quantidade de solvente pré-estabelecida na seção 4.4.6.1.

Os perfis de dissolução do NFD puro e DS são mostrados nas Figura 41, 42 e 43 para as dosagens de 20,30 e 60 mg respectivamente e resumidos na Tabela 11.

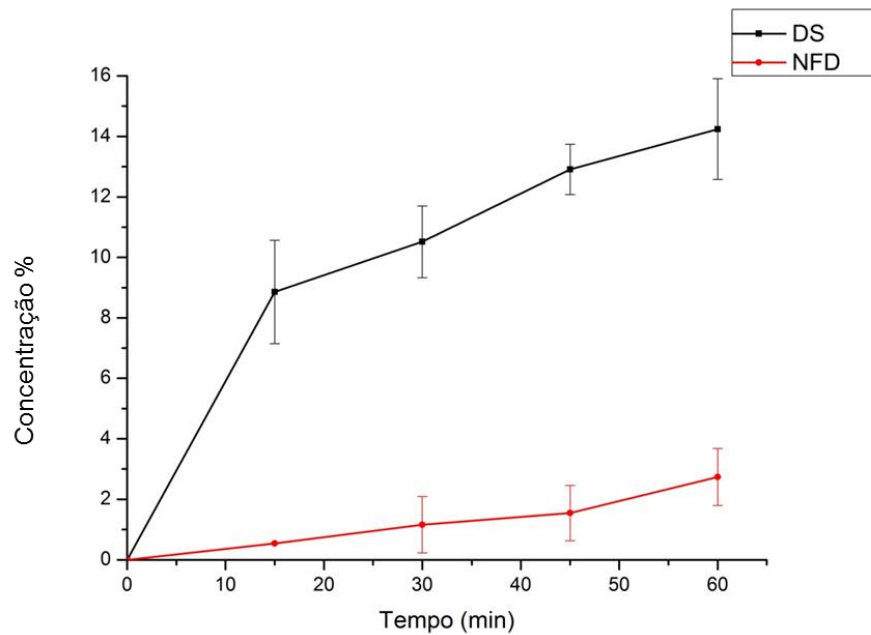
Observou-se que as DS de NFD em L-100 obtidas pelo método de coprecipitação com posterior evaporação de solvente apresentaram um perfil de dissolução maior que o fármaco puro, no meio de dissolução. Ressaltando que as DS apresentaram taxa de dissolução do NFD no período de uma hora com um percentual de 17,03% para a concentração de 20 mg, 14,23% para a concentração de 30 mg e 8,89% para a concentração de 60 mg, todas dissolvidas em solução modificada de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 sem o acréscimo de lauril sulfato de sódio.

Figura 41. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 20 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3).



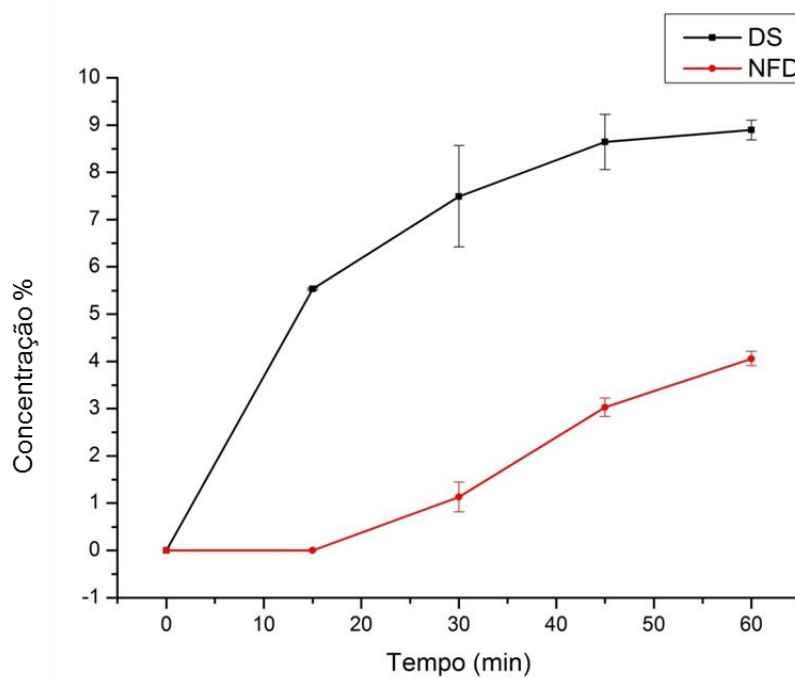
Fonte: Elaboração própria.

Figura 42. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 30 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3).



Fonte: Elaboração própria.

Figura 43. Perfil de dissolução em solução nutritiva de Krebs (íleo isolado de cobaias) pH 7,4 com 60 mg de nifedipino puro e na forma de dispersões de Eudragit® L-100 contendo nifedipino, comprimento de onda de 336nm (n=3).



Fonte: Elaboração própria.

Tabela 11. Avaliação do percentual de nifedipino liberado em dissolução utilizando como meio solução nutritiva de Krebs modificado pH 7,4.

| Tempo (min) | | | | |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| Amostra | 15 min | 30 min | 45 min | 60 min |
| % de NFD liberado | | | | |
| NFD (20 mg) | 0% ± 0 | 1,80% ± 0,64 | 3,39% ± 1,08 | 6,92% ± 0,35 |
| DS (20 mg) | 10,53% ± 1,18 | 13,79% ± 0,57 | 14,54% ± 0,58 | 17,03% ± 0,54 |
| NFD (30 mg) | 0,53% ± 1,70 | 1,16% ± 1,18 | 1,54% ± 0,82 | 2,73% ± 1,66 |
| DS (30mg) | 8,85% ± 0,01 | 10,51% ± 0,93 | 12,90% ± 0,91 | 14,23% ± 0,93 |
| NFD (60 mg) | 0% ± 0 | 1,13% ± 0,31 | 3,02% ± 0,19 | 4,06% ± 0,15 |
| DS (60mg) | 5,53% ± 0,02 | 7,49% ± 1,07 | 8,64% ± 0,58 | 8,89% ± 0,20 |

* Os valores representam a média ± desvio padrão (n=3)

O estudo de dissolução do fármaco teve como base sua solubilidade descrita na literatura farmacopeia da USP, confirmando que o NFD é praticamente insolúvel em meio aquoso (~ 10µg / mL em água a 37°C) (USP XXXII, 2009). Evidenciando que a concentração de saturação do meio, foi menor para as DS de 20 mg, a qual obteve maior perfil de liberação de acordo com a condição sink para o NFD. No entanto, para a três dosagens estudadas os resultados demonstraram um aumento significativo no incremento de solubilidade das dispersões sólidas de NFD e L-100 em função do tempo, o que mostra uma maior vantagem levando em consideração a solubilidade do NFD puro.

O aumento do perfil de dissolução nas DS ocorreu provavelmente devido as alterações das características físicas do NFD relacionadas com o aumento da área da superfície das partículas e mudanças no estado sólido de cristalino para amorfo, observadas no difratograma, com a redução da cristalinidade em relação ao fármaco puro. Ocasionalmente ausência de agregação e aglomeração e aumento de porosidade, e com isto, melhor molhabilidade para a solubilização do fármaco através da camada de difusão. Desse modo, observou-se que as DS apresentaram um perfil de dissolução maior que o fármaco, o que justifica a baixa taxa de dissolução do NFD. Acarretando em baixa biodisponibilidade do fármaco quando administrado por via oral, fato que interfere em sua eficiência terapêutica, oferecendo problemas desafiadores na formulação deste fármaco (CILURZO et al., 2002; HECQ et al., 2005; HUANG et al., 2007; BEIG et al., 2013).

Outro fator de extrema importância para o melhor incremento de solubilidade das dispersões de NFD no fluido intestinal simulado (Krebs modificado para íleo de cobaia pH 7,4) foi a utilização do Eudragit® L-100 como componente da matriz polimérica, visto que se trata de um polímero pH-dependente de grande utilização na indústria farmacêutica.

De forma geral, os polímeros Eudragit® se dissolvem em meios com pH acima de 5,5 sendo essencialmente insolúveis no suco gástrico, cujo pH é bastante baixo, podendo ser utilizados para conferir liberação específica no TGI. Sua solubilidade em água é influenciada pela proporção entre grupos carboxílicos livres e grupos ésteres, sendo as condições de pH do meio um fator crítico para sua dissolução (CHOURASIA e JAIN, 2003; DE OLIVEIRA et al., 2009).

Em pH ácido, abaixo de 2, os grupos de ácido metacrilato presentes no L-100 não sofrem ionização, e a conformação do polímero nessa faixa de pH apresenta-se de maneira fechada, favorecendo a precipitação do polímero.

Além disso, é comprovado na literatura que na zona de transição entre o estômago e o intestino, a variação de pH pode precipitar fármacos de caráter ácido de baixo pKa, dissolvidos no estômago, retardando o processo de absorção. Partículas de fármacos de baixo pKa não dissolvidas no estômago permaneceriam insolúveis com um pH acima do pKa (OVEHOFF et al, 2007).

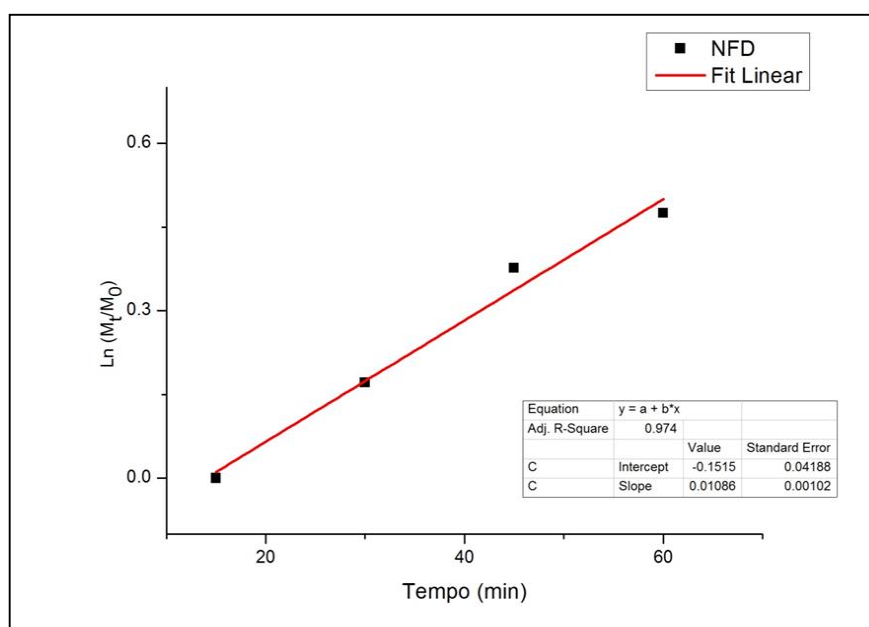
Huang et al. (2006) observou durante a preparação de DS de nifedipino em micropartículas de Eudragit RL e mistura binária de etilcelulose pelo método de coprecipitação para liberação controlada do fármaco, que o nifedipino micronizado produziu o seguinte perfil de liberação: 30% depois de 1 hora e 60% depois de 6 horas (meio dissolução água e 0,05% lauril sulfato de sódio). Resultados não tão distantes dos realizados neste estudo, já que o perfil de liberação do ativo foi analisado apenas durante o período de uma hora.

Já Tavares (2011), observou em seu estudo que aumentando o pH do meio para 12, microcápsulas de metronidazol em Eudragit® L-100, exibiam uma rápida liberação do fármaco, em torno de 100% no tempo de apenas 15 minutos, sendo justificado pelo fato de que em pH acima de 7, como já mencionado, o L-100 encontra-se em sua forma protonada. Sugerindo então que além das alterações das características físicas do NFD já citadas acima, dispersões sólidas amorfas que contenham polímeros pH dependentes como o L-100, poderá aumentar sua solubilidade em pH mais elevado.

Para prever a cinética de liberação das DS através dos testes de dissolução, empregamos modelos matemáticos no intuito de estabelecer a ordem do processo e analisar qual modelo se adequa melhor ao perfil de liberação analisado. Antes as áreas obtidas nos ensaios de dissolução foram convertidas em concentração através de uma curva de calibração, tendo como base os valores da curva da liberação das dispersões contendo 30 mg de NFD.

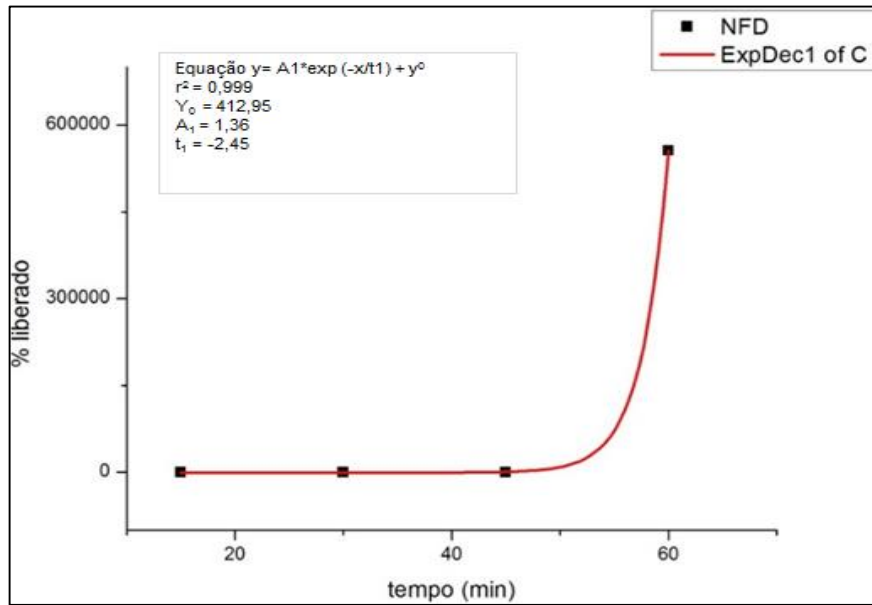
Alguns trabalhos associam a liberação de micropartículas utilizando Eudragit®L-100 como carreador ao modelo proposto por Higuchi (1961), o qual define a difusão do fármaco baseado na lei de Fick. Contudo as DS desenvolvidas neste trabalho obedeceram mais fielmente ao modelo de segunda ordem (Figura 44) proposto por SCHOOT (2012), obtendo (r^2) próximo de 1, com valor de (0,9999) e assegurando todos os pontos contidos na curva. Podendo ser justificado tal cinética de liberação pelo relaxamento da matriz polimérica do L-100, já que os testes de dissolução foram realizados em pH alcalino, obtendo-se um maior intumescimento da matriz.

Figura 44. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo cinético de primeira ordem.



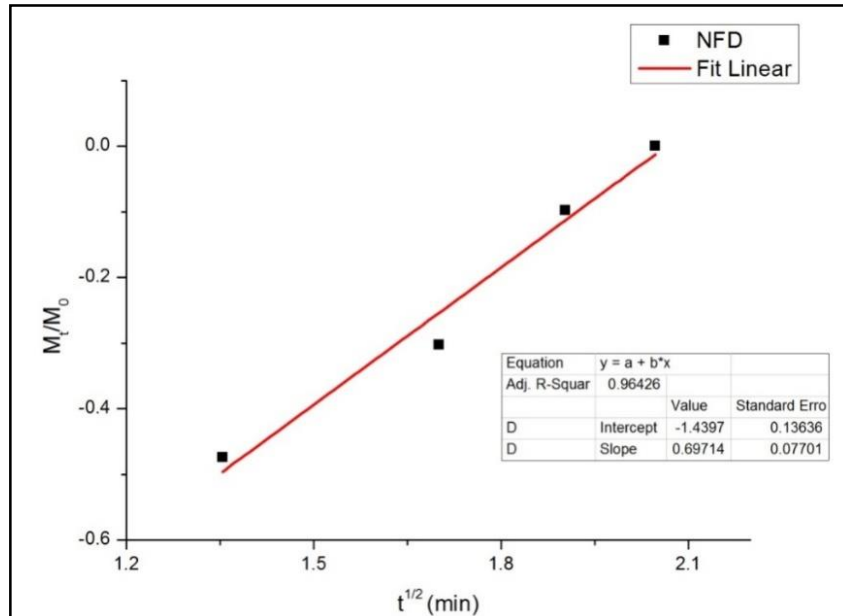
Fonte: Elaboração própria.

Figura 45. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo cinético de segunda ordem.



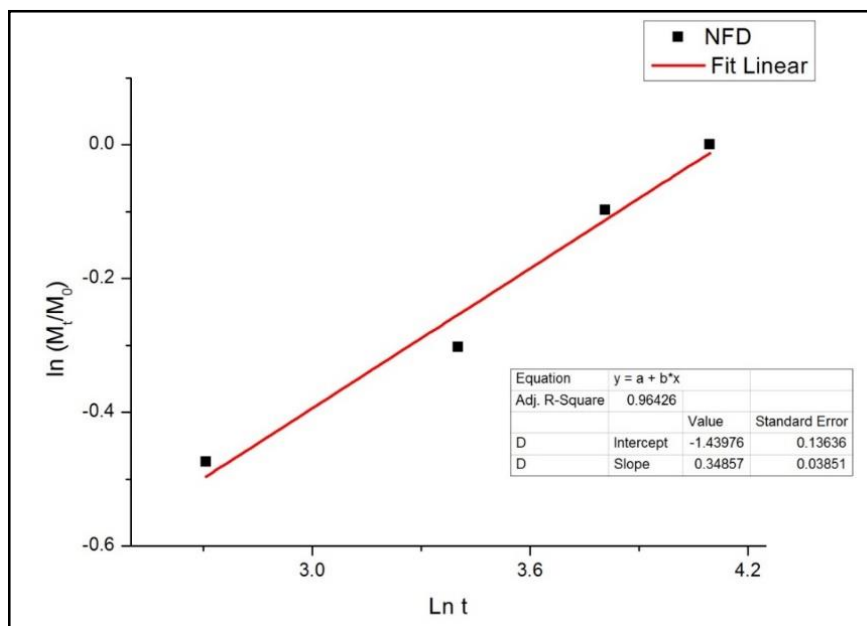
Fonte: Elaboração própria

Figura 46. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo de Higuchi.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 47. Determinação do coeficiente de correlação do perfil de liberação do nifedipino adequado ao modelo de Korsmeyer- Peppas.



Fonte: Elaboração própria.

5.5 Estudo de permeabilidade *in vitro*

Na análise dos resultados de permeabilidade intestinal, através do modelo de perfusão *in vitro* em seguimentos de íleo de *Cavia Porcellus*, o NFD não foi detectado de forma reprodutível, durante a quantificação, portanto, não houve estimativa de permeação do fármaco através desta técnica.

A técnica do saco intestinal invertido utilizando seguimentos de íleo de cobaias foi melhorada em nosso laboratório com a utilização da utilização da solução nutritiva de Krebs modificado específica para íleo isolado de cobaias, sendo um meio de incubação importante capaz de manter a integridade dos tecidos e viabilidade das células.

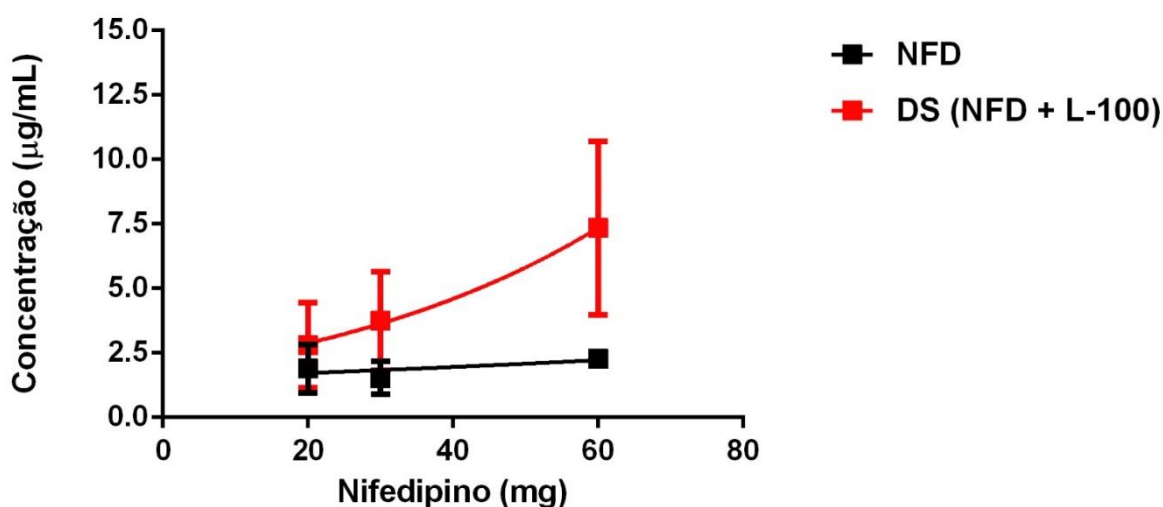
A influência da oxigenação constante dos segmentos intestinais durante a incubação e suaves agitações também corroboraram para melhor resistência dos fragmentos intestinais durante toda a experimentação.

Apesar da técnica do saco intestinal ter uma adicional vantagem analítica em relação a outros modelos *in vitro*, mantendo o volume da amostra no lado seroso relativamente menor fazendo com que a droga se acumule mais rápido, a mesma

ainda carreta na ausência de algumas condições que representam impacto na absorção *in vivo* (BALIMANE et al., 2000).

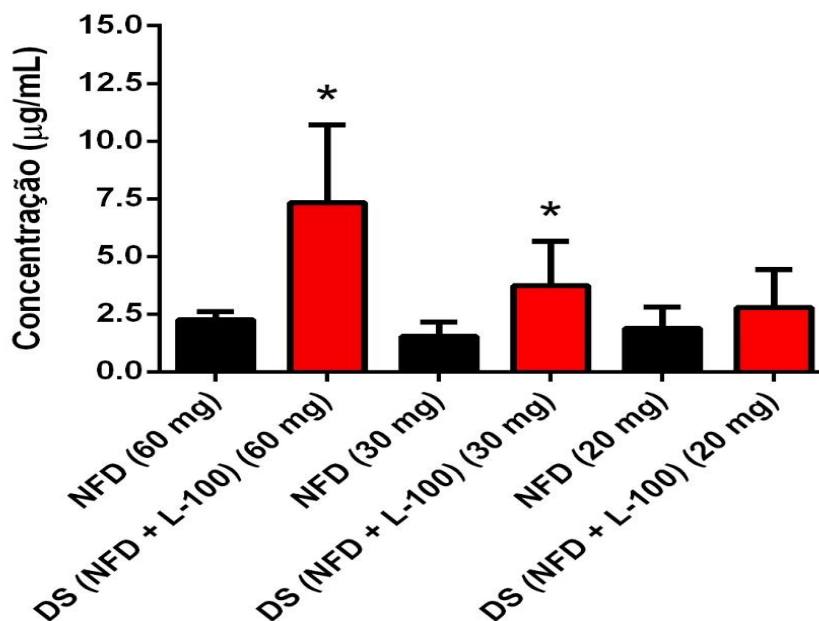
Os resultados apresentados nas Figura 48 e 49 mostram valores (média \pm DP) da permeabilidade cumulativa de NFD através da membrana intestinal do íleo, em diferentes concentrações de nifedipino e de suas respectivas DS. Como os testes em triplicata para cada concentração foram feitos em mais de um experimento, foram obtidas determinações (n) distintas (Tabela 12), devido a fatores experimentais, no entanto, essas alterações nas determinações não afetaram a eficácia dos resultados. Todos os valores apresentaram significância ($p < 0,05$).

Figura 48. Comparação da permeação cumulativa ($\mu\text{g/mL}$) do nifedipino puro (■) e complexado na forma de dispersão sólida com Eudragit® L-100 (■) em segmento ($8,00 \pm 0,20 \text{ cm}^2$) de íleo isolado de cobaia. Expressos como a média das determinações (n), os símbolos e as barras representam (média \pm DP), respectivamente.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 49. Comparação da permeação cumulativa ($\mu\text{g/mL}$) do NFD puro e complexado na forma de dispersão sólida com L-100 em segmento ($8,00 \pm 0,20 \text{ cm}^2$) de íleo isolado de cobaia. Expressos como a média das determinações (n), as colunas e as barras representam (média \pm DP), respectivamente. * $p < 0,05$ (ANOVA one-way, seguido de pós-teste de Tukey: Nifedipino puro vs. Dispersões sólidas (NFD + L-100)).



Fonte: Elaboração própria.

Os resultados mostram um melhor perfil de permeabilidade nas DS, sugerindo um resultado já esperado, pelo fato de ter sido evidenciado anteriormente que as DS teriam uma maior solubilidade em comparação ao fármaco puro, já que para que absorção do fármaco ocorra, é necessário que ele esteja adequadamente solubilizado no meio de dissolução (AMIDON et al., 1995; GRASS, 1997; BALIMANE et al., 2000; TRAN et al, 2009; ROZEHNAL et al., 2012). Enquanto o fármaco não se encontra em solução, o mesmo não consegue permear o epitélio intestinal e, diante de uma permeabilidade limitada, a absorção também será.

Outro fator para o aumento da permeabilidade do nifedipino vinculado as DS de Eudragit®L-100 foi utilizar o L-100 como carreador, devido aos copolímeros Eudragit® apresentarem um baixo nível de grupos quaternários em sua estrutura. Tais grupos aumentariam a frequência de interação eletrostática com o muco intestinal que é composto principalmente de mucopolissacarídeos carregados negativamente. Este pode aumentar a absorção do fármaco e/ou do transportador (KIM et al., 1997).

5.5.1 Avaliação da permeabilidade Aparente (Papp)

Com técnica do saco intestinal invertido também foi possível calcular a permeabilidade aparente (Papp), a qual é responsável em avaliar a absorção de fármaco no intestino (TAKAHASHI et al., 2008).

Apesar de existir os métodos *in vitro*, *in situ* e *in silico*, os valores da Papp podem variar em dados obtidos a partir de diferentes modelos, ou até de um mesmo modelo, para um mesmo fármaco. Diferentes sexos ou linhagem de animais, mudanças no uso de materiais e equipamentos pode variar significativamente entre laboratórios, embora tenham sido estabelecidas correlações semelhantes com a fração absorvida em seres humanos (HASLAM et al., 2011).

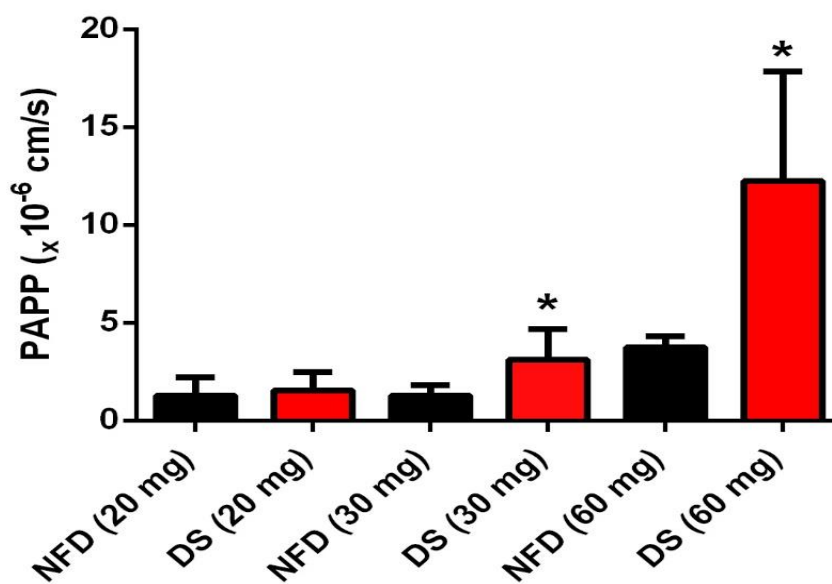
Na Tabela 12 e Figura 50, pode-se notar as médias dos perfis de permeabilidade aparente (Paap) do NFD e de suas DS em diferentes dosagens. Todos os valores obtidos foi significativamente ($p < 0,05$) eficaz para o fármaco puro e na presença da matriz polimérica de L-100.

Tabela 12. Valores (média \pm DP) encontrados para a permeabilidade aparente (Papp) nos ensaios de permeabilidade em saco intestinal invertido com o nifedipino puro e na forma de DS.

| Amostras | Determinações (n) | Papp ($\times 10^{-6}$ cm/s) |
|-------------|-------------------|-------------------------------|
| NFD (20 mg) | 10 | 1,04 \pm 0,51 |
| DS (20 mg) | 6 | 1,55 \pm 0,91 |
| NFD (30 mg) | 7 | 1,26 \pm 0,53 |
| DS (30 mg) | 5 | 3,11 \pm 1,57 |
| NFD (60 mg) | 10 | 3,76 \pm 0,56 |
| DS (60 mg) | 7 | 12,24 \pm 5,60 |

* DP= desvio padrão da média

Figura 50. Perfis de permeabilidade aparente obtidas através de ensaios de permeabilidade em diferentes concentrações do fármaco nifedipino puro e vinculado as DS. * $p < 0,05$ (ANOVA one-way, seguido de pós-teste de Tukey: Nifedipino puro vs. Dispersões sólidas (nifedipino + Eudragit L-100)).



Fonte: Elaboração própria.

O sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) classificou o NFD como fármaco de classe II, possuindo alta permeabilidade (AMIDON et al., 1995). Porém os valores de Papp (Tabela 1) para este trabalho foi característico de fármaco de baixa permeabilidade. No entanto, os valores de Papp para o nifedipino foram bem mais significantes nas DS do que no fármaco puro, principalmente levando em consideração as DS de 60 mg onde existia uma carga maior do fármaco.

Em ensaio com células Caco-2, Doehmer e Colaboradores (2008) verificaram que o nifedipino sozinho era altamente permeável com uma permeabilidade aparente (Paap) de cerca de 60×10^{-6} cm/s.

A não correlação da Papp apresentado neste trabalho com os apresentados na literatura pode ser em decorrência da ausência de algumas condições que representam impacto na absorção *in vivo* do método proposto para o estudo de permeabilidade, tais como: falta de sangue ativo e suprimento nervoso, fatos que podem levar a uma rápida perda de viabilidade. Além disso, a aversão do tecido

intestinal pode conduzir a danos morfológicos causando resultados duvidosos (BALIMANE et al., 2000).

Outro fator neste estudo que pode ter proporcionado a limitação da absorção do nifedipino através dos valores de Papp das amostras, pode ter sido agravada devido à falta de inibidores de P-glicoproteínas (p-gp). O NFD é transportado pelo mecanismo de difusão transcelular, no entanto, se liga fortemente as p-gp presentes nas biomenbranas, sendo sujeito ao efluxo pelas mesmas, fato que pode limitar sua absorção (CAVET et al., 1996; AULTON, 2005).

Acredita-se que as p-gp podem influenciar a absorção, atuando como uma bomba que transporta fármacos de volta para o lúmen intestinal a medida que são absorvidos pelos enterócitos (BARTHE et al., 1998; BOUER et al., 1999; BALIMANE et al., 2000).

É possível citar alguns fatores *in vivo* que podem ter impacto importante na absorção de fármacos, tais como: solubilidade, pKa, lipofilicidade, massa molecular, expressão de transportadores, camada estacionária (caso haja reduzida agitação) (BALIMANE et al., 2000; BEIG et al., 2013; LENNERNÅS, 2014). Fatores fisiológicos que podem ser citados também correspondem ao pH do TGI, fluxo sanguíneo, esvaziamento gástrico, ligação dos fármacos às proteínas plasmáticas, presença de muco entre outros fatores (AMIDON et al., 1995).

Em parte dos casos, os processos de absorção de fármacos ainda são incompreendidos, já que geralmente os medicamentos são administrados por via oral e as amostras do plasma são tomadas como modelo para medir o processo de absorção. Em razão disso os mecanismos reais do desempenho em *in vivo* ainda não são bem definidos e quantificados (GRASS, 1997). Dessa forma, os resultados de Papp encontrados para o NFD, no presente estudo, necessitam ser avaliados frente aos possíveis fatores que podem ter interferido significativamente em sua permeabilidade e, conseqüentemente, na correlação desses dados *in vitro* com os dados reais apresentados para este fármaco.

6 CONCLUSÃO

Os resultados apontados e discutidos mostraram que a técnica de dispersão sólida é vantajosa para o aumento do perfil de dissolução e da taxa de permeabilidade/absorção do nifedipino na região intestinal, utilizando como carreador o polímero Eudragit®L-100, demonstrando ser uma tecnologia farmacêutica promissora, para fins de incremento de solubilidade. Os ensaios de dissolução e permeabilidade do NFD incorporado nas DS foi um passo indispensável no processo de desenvolvimento das dispersões sólidas, sugerindo prever o seu comportamento *in vivo*. Apesar de não ter sido possível comparar os parâmetros de permeabilidade relativa (Papp) de forma efetiva, possivelmente devido as condições experimentais.

Destaca-se que o método de obtenção das DS foi adequado, comprovando através das técnicas de caracterização a redução do tamanho de partícula, a queda do pico de fusão e o decaimento da degradação do fármaco. E, apesar das DS terem apresentado resquícios do fármaco cristalino, o método de obtenção permitiu a conversão do fármaco em maior quantidade para o estado amorfo, não sofrendo alterações polimórficas, apenas existindo ligações intermoleculares por ligações de hidrogênio com o carreador.

O método covalidado para o doseamento e quantificação do NFD em amostras provenientes dos estudos de dissolução e permeabilidade apresentou parâmetros adequados, mostrando ser um método sensível capaz de detectar as frações permeadas considerando os baixos níveis de fármaco quantificados neste experimento, fato que corrobora para a redução de custos e tempo, além de agregar uma maior confiabilidade relacionada à qualidade do produto em desenvolvimento.

7 PERSPECTIVAS

O presente trabalho mostra-se promissor em termos de incremento de solubilidade. Para tanto, alguns testes ainda são necessários, devido a algumas limitações associadas a métodos, tais como a fabricação e o aumento da escala no processo de produção para fins comerciais. Um deles diz respeito a um estudo de estabilidade eficiente e de longa duração.

Outra alternativa para o desenvolvimento das DS é realizar os estudos de caracterização e testes *in vitro* com adição de surfactante em sua formulação ou empregar na sua obtenção carreadores com propriedades auto emulsionante. Pode também ser feito a utilização de mistura de diferentes tipos de Eudragit® na obtenção das DS visando um perfil de liberação específica.

Com relação aos ensaios de permeabilidade, pode ser incorporado outros modelos para predizê-la de forma mais efetiva, além da técnica do saco intestinal invertido. Como também, a comparação de parâmetros farmacodinâmicos com o fármaco em sua forma livre e incorporado nas DS.

REFERÊNCIAS

- ABOU-AUDA, H. S.; NAJJAR, T. A.; AL-KHAMIS, K. I.; et al. Liquid chromatographic assay of nifedipine in human plasma and its application to pharmacokinetic studies. **Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis**, v. 22, p. 241–249, 2000.
- AKHGARI, A.; GAREKANI, H. A.; SADEGHI, F.; AZIMAIE, M. Statistical optimization of indomethacin pellets coated with pH-dependent methacrylic polymers for possible colonic drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 305, p. 22–30, 2005.
- ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential Effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta. **American Journal of Physiology**, v. 6, p. 1698, 1970.
- ALVES, A. D.; LYRA, M. A.; ROLIM, L.; PRESMICH, G. M.; ROLIM-NETO, P. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista Brasileira de ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 17–25, 2012.
- AMIDON, G.; LENNERNAS, H.; SHAH, V.; J.R, C. A Theoretical Basic for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of n vitro Drug Product Dissolution and in vivo Bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, p. 413–420, 1995.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G.; ALLEN, L. V. **Formas Farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9 ed. São Paulo: Artmed, 2007. 2013.
- APPEL, L. J.; CUTLER, J. A.; HAVAS, S.; et al. Primary Prevention of Hypertension. , v. 288, n. 15, 2002.
- ARAÚJO, C. R.; MOTHÉ, C. G. Uso de programa computacional aliado às técnicas de análise térmica para determinação de parâmetros cinéticos de compósitos de PU/fibra de curauá. **Revista Analytica**, 2003. Rio de Janeiro.
- ASHFORD, M. Biodisponibilidade – Fatores físico-químicos e relacionados à forma farmacêutica. In: M. AULTON (Org.); **Delineamento de Formas farmacêuticas**. 2º ed, p.245–263, 2005. Porto Alegre: Editora Artmed.
- AUTON, M.E. Delineamento de formas farmacêuticas. 2. ed. São Paulo: Artmed, 2005. 677p.
- BABU, G. V. M. M.; PRASAD, C. D. S.; MURTHY, K. V. R. Evaluation of modified gum karaya as carrier for the dissolution enhancement of poorly water-soluble drug nimodipine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, p. 1–17, 2002.
- BALIMANE, P. V; CHONG, S.; MORRISON, R. A. Current methodologies used for evaluation of intestinal permeability and absorption. **Journal of pharmacological and Toxicological Methods**, v. 44, n. 2000, p. 301–312, 2000.

BARTHE, L.; BESSOUET, M.; WOODLEY, J. F.; HOUIN, G. The improved everted gut sac : a simple method to study intestinal P-glycoprotein. , v. 173, p. 255–258, 1998.

BEIG, A.; MILLER, J. M.; DAHAN, A. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics The interaction of nifedipine with selected cyclodextrins and the subsequent solubility – permeability trade-off. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 1293–1299, 2013.

BHATNAGAR, P.; DHOTE, V.; MAHAJAN, S. C.; MISHRA, P. K.; MISHRA, D. K. Solid Dispersion in Pharmaceutical Drug Development : From Basics to Clinical Applications. **Bentham Science Publishers**, v. 10, 2013.

BIKIARIS, D.; PAPAGEORGIOU, G, Z.; STERGIOU, A.; et al. Physicochemical studies on solid dispersions of poorly water-soluble drugs Evaluation of capabilities and limitations of thermal analysis techniques. **Thermochin Acta**, v. 439, p. 58–67, 2005.

BOMBIG, M. T. .; PÓVOA, R. Interações e associações de medicamentos no tratamento anti-hipertensivo – Antagonistas dos canais de cálcio. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 16, n. 4, p. 226–230, 2009.

BOUER, R.; BARTHE, L.; PHILIBERT, C.; et al. The roles of P-glycoprotein and intracellular metabolism in the intestinal absorption of methadone : in vitro studies using the rat everted intestinal sac. **Fundam. Clin. Pharmacol**, v. 13, n. figure I, p. 494–500, 1999.

BRASIL. Resolução RDC nº 37 de 3 de agosto de 2011G. **Guia para isenção e substituição de estudos de biodisponibilidade relativa / bioequivalência**, v. 2011.

BRASIL. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão Arterial sistêmica (Caderno de Atenção Básica 15)**, 2006. Brasília: Ministério Da Saúde.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 1º ed. Brasília, 2010.

BRASIL. VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 17, p. 9–69, 2010b.

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, p. 139–151, 2001.

BROWN, T. L., LeMay, H, E., Bursten, B, E. & Burdge, J. R. **Química a Ciência Central**. Pearson, 2005.

CALLISTER, W. D. J. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma Introdução**. Rio de Janeiro. 5º ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2002.

CAVET, M. E.; WEST, M.; SIMMONS, N. L. Transport and epithelial secretion of the cardiac glycoside, digoxin, by human intestinal epithelial (Caco-2) cells. **British Journal of Pharmacology**, v. 118, p. 1389–1396, 1996.

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

CHIOU, W. I. N. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical sciences Pharmaceutical Applications of Solid. **Journal of pharmacological Sciences**, v. 60, n. 9, p. 1281–1302, 1971.

CHOI, J.; JIN, S.; PARK, Y.; et al. Development of Coated Nifedipine Dry Elixir as a Long Acting Oral Delivery with Bioavailability Enhancement. **Archives of Pharmacal Research**, v. 34, n. 10, p. 1711–1717, 2011.

CHOURASIA, M. .; JAIN, S. . Design and development of multiparticulates systems for targeted drug delivery to colon. **Drug Deliv**, v. 11, p. 201–207, 2004.

CILURZO, F.; MINGHETTI, P.; CASIRAGHI, A.; MONTANARI, L. Characterization of nifedipine solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 313–317, 2002.

CORDELLA, C.; ANTINELLI, J.; AURIERES, C.; et al. Use of differential scanning calorimetry (DSC) as a new technique for detection of adulteration in honeys. 1. Study of adulteration effect on honey thermal behavior. **J Agric Food Chem**, v. 50, p. 203–208, 2002.

CORRIGAN, O.; HOLOHAN, E.; SABRA, K. Amorphous forms of thiazide diuretics prepared by spray-drying. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 18, n. 19134, p. 195–200, 1984.

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.

DABBGH, M. .; TAGHIPOUR, B. Investigation of Solid Dispersion Technique in Improvement of Physicochemical Characteristics of Ibuprofen Powder. **Iranian journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 3, n. 2, p. 69–76, 2007.

DEDAVID, B. .; GOMES, C.; MACHADO, G. **Microscopia Eletrônica de Varredura: Aplicações e preparação de amostras**. Porto Alegre: edipucrs, 2007.

DHIRENDRA, K.; LEWIS, S.; UDUPA, N.; ATIN, K. Solid dispersions: a review. **Pak. J. Pharm Sci**, v. 22, p. 234–246, 2009.

DOEHMER, J.; TEWES, B.; KLEIN, K.; et al. Assessment of drug – drug interaction for silymarin. **Toxicology in vitro**, v. 22, p. 610–617, 2008.

DRESSMAN, J.; AMIDON, G.; REPPAS, C.; SHAH, V. Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 11-21, 1998.

DRESSMAN, J. B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. **advanced drug delivery reviews**, v. 46, p. 75–87, 2001.

DRUGBANK. International journal of clinical pharmacology and therapeutics. **base de dados. Drug card for nifedipine**, 2015.

EMARA, L. H.; BARD, R. M.; ELBARY, A. A. Improving the dissolution and bioavailability of nifedipine using solid dispersions and solubilizers. **Drug Dev. Ind. Pharm**, v. 28, n. 7, p. 795–807, 2002.

Farmacopeia Brasileira. Vol.2. 5° ed. ANVISA, Brasília. 2010. p 1155-1157.

FDA. FDA Guidance for industry. , v. 21, n. 3, p. 133–193, 2000.

FERNANDA, P.; SOUTO, C. Avaliação da solubilidade do fluconazol em dispersões sólidas obtidas por técnica de co-precipitação. **6° mostra acadêmica UNIMEP**, p. 1–5, 2003.

FILHO, R. O. C.; FRANCO, P. I. B. M.; CONCEI, E. C.; LELES, M. I. G. Stability studies on nifedipine tablets using thermo- gravimetry and differential scanning calorimetry. **Journal of Thermal analysis and Calorimetry**, v. 93, p. 381–385, 2008.

FORSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; RADES, T. Internet J. Vib. Spectrosc. (2001), 5, 6-20.

FLORENCE, A.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 3° ed. São Paulo: Editora da Universidade de São paulo, 2003.

FRIZON, F. Obtenção e caracterização das propriedades de dispersões sólidas de loratadina em polivinilpirrolidona. **Tese (Mestrado em ciências farmacêuticas)** Faculdade de ciências farmacêuticas de Ribeirão Preto, USP, Ribeirão Preto, 2011.

GARBACZ, G.; GOLKE, B.; WEDEMEYER, R.; et al. Comparison of dissolution profiles obtained from nifedipine extended release once a day products using different dissolution test apparatuses. **European Journal of Pharmaceutical sciences**, v. 38, p. 147–155, 2009.

GLASS, B. D.; NOVÁK, C.; BROWN, M. E. The thermal and photostability of solid pharmaceuticals a review. **Journal of Thermal analysis and Calorimetry**, v. 77, p. 1013–1036, 2004.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. **As Bases Sarmacologicas da Terapêutica**. 10° ed. New York: Mc Graw Hill Medical, 2005.

GRASS, G. M. drug delivery Simulation models to predict oral drug absorption from in vitro data. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 23, p. 199–219, 1997.

GUIMARÃES, G. G.; KATSUKI, G. I.; ZANARDO, N. D.; RIBEIRO, D. A.; CAVALCANTI, O. A. Avaliação da pectina-HPMC no processo de revestimento por compressão: I - Estudo da propriedade de intumescimento em núcleos revestidos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 133–141, 2008.

GOLDBERG, A.H. et al. Increasing dissolution rates and gastrointestinal absorption of drugs via solid solutions and eutectic mixtures. IV. Chloramphenicol– urea system. **J. Pharm. Sci.** V. 55, p. 581–583, 1996.

HASLAM, I. S.; O'REILLY, D. .; SHERLOCK, D. J.; et al. Pancreatoduodenectomy as a source of human small intestine for Ussing chamber investigations and comparative studies with rat tissue. **Biopharm Drug Dispos**, v. 32, p. 210–221, 2011.

HECQ, J.; DELLERS, M.; FANARA, H.; VRANCKX, H. AMIGHI, K. Preparation and characterization of nanocrystals for solubility and dissolution rate enhancement of nifedipine. **Int. J. Pharm**, v.299, p.177-167, 2005.

HIGUCHI, T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. **J. Pharm. Sci.**, New York, v. 52, p.1145-1149. 1963.

HUANG, J.; LI, Y.; WIGENT, R. J.; et al. Interplay of formulation and process methodology on the extent of nifedipine molecular dispersion in polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 420, n. 1, p. 59–67, 2011.

HUANG, J.; WIGENT, R. J.; BENTZLEY, C. M.; SCHWARTZ, J. B. Nifedipine solid dispersion in microparticles of ammonio methacrylate copolymer and ethylcellulose binary blend for controlled drug delivery Effect of drug loading on release kinetics. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 319, p. 44–54, 2006.

HUANG, J.; WIGENT, R. J.; SCHWARTZ, J. B. Drug – Polymer Interaction and Its Significance on the Physical Stability of Nifedipine Amorphous Dispersion in Microparticles of an Ammonio Methacrylate Copolymer and Ethylcellulose Binary Blend. **Journal of pharmacological and Sciences**, v. 97, n. 1, p. 251–262, 2007.

JOSUÉ, A.; LARANJEIRA, M. C. M.; FÁVERE, V. T.; KIMURA, I. Y.; PEDROSA, R. C. Liberação Controlada da Eosina Impregnada em Microesferas de Copolímero de Quitosana e Poli (ácido acrílico). **Polímeros**, v. 10, n. Figura 1, p. 116–121, 2000.

KAUSHAL, A.M.; GUPTA, P.; BANSAL, A.K. Amorphous drug delivery systems: molecular aspects, design, and performance. **Crit. Ver. Ther. Drug Carrier Syst**, v.21, p. 133-193, 2004.

KHAN, M. Z. I. journal of Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with in vivo data : challenges and opportunities. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 140, n. 96, 1996.

KUMINEK, G. Aplicação de estratégias no estado sólido visando ao aumento da solubilidade dos fármacos: cloridrato de terbinafina, carvedilol e neviparina. 2014. 215 f. **Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas)** Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014.

KOUNTOURELLS, J. E.; MARKOPOULOU, C. K. X-ray Characterization of 12 Diuretics. **J. chem. eng.**, v. 37, p. 187–191, 1992.

KWON, Y. **Handbook of Essential Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Drug Metabolism for Industrial Scientists**. New York: Kluwer Academic Publishers, 2002.

LALA, R.; NANDGAONKAR, N. Absorption Studies Using Inverted Intestine Segment : A Tool for Estimation of Dissolution-Absorption Correlation of a Controlled Release Formulation. **Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research**, v. 45, n. 1, p. 54–57, 2010.

LECOMTE, F.; SIEPMANN, J.; WALTHER, M.; MACRAE, R. J.; BODMEIER, R. pH-Sensitive Polymer Blends Used as Coating Materials to Control Drug Release from Spherical Beads : Elucidation of the Underlying Mass Transport Mechanisms. **Pharmaceutical Research**, v. 22, n. 7, 2005.

LENNERNAS, H. Human Intestinal Permeability. **Journal of pharmacological Sciences**, v. 87, n. 4, p. 403–410, 1998.

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

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions, v. 50, 2000.

LEWINGTON, S.; CLARKE, R.; QIZILBASH, N.; PETO, R.; COLLINS, R. for the Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. **Lancet**, v. 360, p. 1903–1993, 2002.

LIMA, A. A.; SANTOS, P. B.; LYRA, M. A.; SANTOS, F. L. A.; ROLIM-NETO, P. Solid dispersion systems for increase solubility : cases with hydrophilic polymers in poorly water soluble drugs. **Brazilian Journal of Pharmacy**, v. 92, n. 4, p. 269–278, 2011.

DE LIMA, S .; DE OLIVEIRA, H. . Composites of Enteric Polymer/Magnetite: Preparation and Application in Release Processes. **Journal of Applied Solution Chemistry and Modeling**, v. 1, p. 94–99, 2012.

LIPKA, E.; AMIDON, G. L. Setting bioequivalence requirements for drug development based on preclinical data : optimizing oral drug delivery systems. **Journal of controlled release**, v. 62, p. 41–49, 1999.

MAGGI, L.; TORRE, M.; GIUNCHEDI, P.; CONTE, U. Supramicellar solutions of sodium dodecyl sulphate as dissolution media to study the in vitro release characteristics of sustained-release formulations containing an insoluble drug: nifedipine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 135, p. 73–79, 1996.

MAHESHWARI, M. Comparative bioavailability of curcumin , turmeric and Biocurcumax ã in traditional vehicles using non-everted rat intestinal sac model. **Journal of Functional Foods**, v. 2, n. 1, p. 60–65, 2010.

MAHMOUD, M. R. Everted Intestinal Sacs As In vitro Model For Assessing Absorptivity Of L- Histidine Under The Effect Of Aspirine And Gum Acacia In Male Rats. **The Egyptian Journal of Hospital Medicine**, v. 16, p. 14–28, 2004.

MANADAS, R.; EUGÉNIA, M.; 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. 34, 2002.

MARKOVICH, R. J.; EVANS, C. A.; COSCOLLUELA, C. B.; ZIBAS, S. A.; ROSEN, J. Spectroscopic identification of an amorphous-to-crystalline drug transition in a solid dispersion SCH 48461 capsule formulation. **Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis**, v. 16, n. 1997, p. 661–673, 2000.

MARTINEZ, M.N.; AMIDON, G.L. A mechanistic approach to understanding the factors affectig drug absorption: a review of fundamentals, **Journal of Clinical pharmacology**, n. 42, p.620-643, 2002.

MOOTER, G. VAN DEN; WEUTS, I.; RIDDER, T. DE; BLATON, N. Evaluation of Inutec SP1 as a new carrier in the formulation of solid dispersions for poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 316, p. 1–6, 2006.

MOUSTAFINE, R. I.; KABANOVA, T. V; KEMENOVA, V. A.; MOOTER, G. VAN DEN. Characteristics of interpolyelectrolyte complexes of Eudragit E100 with Eudragit L100. **Journal controlled release**, v. 103, p. 191–198, 2005.

NASCIMENTO FILHO, C.A. Perfil de liberação da quercetina incorporada em copósito de hidroxapatita e polietilenoglicol determinado com dissolutor homemade 2014. **Dissertação (Mestrado em ciências dos materiais)** Universidade Federal do São Francisco, Juazeiro, 2014.

NIOPAS, I.; DAFTSIOS, A. C. Determination of nifedipine in human plasma by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography : v alidation and application to pharmacokinetic studies. **Journal of Pharmacological and Biomedical Analysis**, v. 32, p. 1213–1218, 2003.

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

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

OKWARI, O. .; NNELI, R. .; OSIM, E. . Effect of Aqueous Fruit Extract of Xylopia Aethiopica on Intestinal Fluid and Glucose Transfer in Rats. **Nig. J.Physiol. Sci**, v. 25, n. December, p. 181–186, 2010.

OLIVEIRA, M.A.; YOSHIDA, M.I., GOMES, E.C.L.; MUSSEL, W.N.; VIANNA-SOARES, C.D.; PIANETTI, G.A. Análise térmica aplicada á caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v.33, p. 1653-1657,2010.

OLIVEIRA, P.R.; STULZER, H.K.; BERNARDI, L.S.; BORGMANN, S.H.M.; CARDOSO, S.G.; SILVA, M.A.S. Sibutramine hydrochloride monohydrate thermal behavior, decomposition kinetics and compatibility studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 100, p. 277-282, 2010.

OLIVEIRA JÚNIOR, P. H. Influência da Magnetita em Processos de Liberação Controlada de Fármaco. 2014. 100 f. **Dissertação (Pós-Graduação em Ciência dos Materiais)** Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, 2014.

DE OLIVEIRA, H. P.; JR, J. J. F. A.; NOGUEIRAS, C.; RIEUMONT, J. Physical chemistry behavior of enteric polymer in drug release systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, p. 185–189, 2009.

DE OLIVEIRA, H.P.; TAVARES. G.F, et al. Physico-chemical analysis of metronidazole encapsulation processes in Eudragit copolymers and their blending with amphiphilic block copolymers. **International journal of pharmaceutics**, v. 380, p. 55-61, 2009.

OTH, M. .; MOES, A. . Sustained release solid dispersions of indomethacin with Eudragit RS and RL. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 55, p. 157–164, 1989.

OVERHOFF, K. A.; MORENO, A.; MILLER, D. A.; JOHNSTON, K. P.; WILLIAMS, R. O. Solid dispersions of itraconazole and enteric polymers made by ultra-rapid freezing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, p. 122–132, 2007.

PAPINI, C. J.; LEAL NETO, R.M. ANÁLISE GRANULOMÉTRICA DE PÓS METÁLICOS POR DIFRAÇÃO DE LASER VIA SECA. **17º CBECIMat - Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais**, p. 5024-5035, 2006.

PEZZINI, B. R.; ANTÔNIO, M.; SILVA, S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada : sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista brasileira de ciências Farmacêutica**, v. 43, n. 4, p. 491–502, 2007.

PHADKE, K. V; MANJESHWAR, L. S.; AMINABHAVI, T. M. International Journal of Biological Macromolecules Novel pH-sensitive blend microspheres for controlled release of nifedipine – An antihypertensive drug. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 75, p. 505–514, 2015.

QI, S.; GRYCZKE, A.; BELTON, P.; CRAIG, D. Q. M. Characterisation of solid dispersions of paracetamol and EUDRAGIT® E prepared by hot-melt extrusion using thermal , microthermal and spectroscopic analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 354, p. 158–167, 2008.

QIAN, F.; HUANG, J. U. N.; HUSSAIN, M. A. Drug – Polymer Solubility and Miscibility : Stability Consideration and Practical Challenges in Amorphous Solid Dispersion Development. **Journal of pharmacological Sciences**, v. 99, n. 7, p. 2941–2947, 2010.

RANG, H. P.; DALE, M. M.; RITTER, J. M.; MOORE, P. K. **Rang and Dale's Pharmacology**. 5^o ed. Londres: Churchill Livingstone Publishers, 2003.

RAO, M.; MANDAGE, Y.; THANKI, K.; BHISE, S. Dissolution Improvement of Simvastatin by Surface Solid Dispersion Technology. **Technologies**, , n. May, p. 27–34, 2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. .; COLLINS, C. .; JARDIM, I. C. S. .; MELO, L. F. .
VALIDAÇÃO EM MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS E ELETROFORÉTICOS.
Química Nova, v. 27, n. 5, p. 771–780, 2004.

RIBEIRO, W.; MUSCARÁ, M. N. Características farmacocinéticas de antagonistas de cálcio , inibidores da ECA e antagonistas de angiotensina II em humanos. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v. 8, n. 1, p. 114–124, 2001.

RODRIGUES, L.N.C.; WATANABLE, S.P.; FERRAZ, H.G. Perfil de dissolução in vitro de comprimidos de primaquina disponíveis para tratamento da malária no Brsail. **Revista Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, p. 41-45, 2008.

ROZEHNAL, V.; NAKAI, D.; HOEPNER, U.; et al. Human small intestinal and colonic tissue mounted in the Ussing chamber as a tool for characterizing the intestinal absorption of drugs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 46, n. 5, p. 367–373, 2012.

SAITO, I.; FUJIKAWA, K.; SARUTA, T.; GROUP, A. S. Cost-Effectiveness Analysis : Controlled-Release Nifedipine and Valsartan Combination Therapy in Patients with Essential Hypertension : The Adalat CR and Valsartan Cost-Effectiveness Combination (ADVANCE-Combi) Study. **Hypertens Res.**, v. 31, n. 7, p. 1401–1407, 2008.

SAITO, I.; SARUTA, T.; GROUP, A. S. Controlled Release Nifedipine and Valsartan Combination Therapy in Patients with Essential Hypertension : The Adalat CR and Valsartan Cost-Effectiveness Combination (ADVANCE-Combi) Study. **Hypertens Res.**, v. 29, n. 10, p. 789–796, 2006.

SAKURAI, M.; NARUTO, I. Evaluation for Zero-order Controlled Release Preparations of Nifedipine Tablet on Dissolution Test , Together with Cost Beneˆt Point of Views. **The Pharmaceutical society of Japan**, v. 128, n. 5, p. 819–826, 2008.

SANTOS, A.S. Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona. 2008. 86 f. **Tese (Doutorado em ciências farmacêuticas)** Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008

SANTOS, T. M. M. Preparação e caracterização de partículas de Eudragit® L100 contendo nifedipino e comparação de parâmetros cinéticos com cápsulas comerciais de nifedipino. 2013. 83 f. **Dissertação (Pós-Graduação em Ciência dos Materiais)** Universidade Federal do Vale do São Francisco, Juazeiro, 2013.

SAVE, T.; VENKITACHALAM, P. Studies on solid dispersions of nifedipine, v. 18, p. 1663–1679, 1992.

SCHOTT. pH responsive itaconic acid grafted alginate microspheres for the controlled release of nifedipine, 2012.

SCHREIBER, D.; KLOTZ, M.; LAURES, K, et al. The mesenterially perfused rat small intestine: A versatile approach for pharmacological testings. **Annals of Anatomy**, v. 1996, p. 158-166, 2014.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixtures. I. A comparison of the behavior of eutectic mixtures of sulphathiazole and that of ordinary sulphathiazole in man. **Chem. Pharm. Bull**, v. 9, p. 866–872, 1961.

SERAJUDDIN, A. Solid dispersion of poorly water-soluble drugs: early promises, subsequent problems, and recent breakthroughs. **Journal of pharmacological Sciences**, v. 88, n. 10, p. 58–60, 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, p.215-247, 2003.

SILVA-JUNIOR, A. .; FORMARIZ, T. .; SCARPA, M. .; OLIVEIRA, A. . Development and validation of HPLC method for quantitative analysis of triamcinolone in biodegradable microparticles . **Revista de Ciências Farmacêuticas Básicas e aplicadas**, v. 55, n. 16, p. 119–126, 2006.

SIMONELLI, A. .; MEHTA, S. .; HIGUCHI, W. . Dissolution rates of high energy polyvinylpyrrolidone (PVP)-sulfathiazole coprecipitates. **Journal of pharmacological Sciences**, v. 58, p. 538–549, 1969.

SKOOG, D. .; WEST, D. .; HOLLER, F. .; CROUCH, S. . **Fundamentos de Química Analítica**. 1º ed. São Paulo: CENGAGE, Learning, 2006.

SOONS, P. .; SCHOEMAKER, H. .; COHEN, A. .; BREIMER, D. . Intraindividual variability in nifedipine pharmacokinetics and effects in healthy subjects. **Journal of clinical Pharmacology**, v. 32, n. 4, p. 324–331, 1992.

SOUZA, J. DE; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 4, p. 515–527, 2007.

SVENSON, S. Dendrimers as versatile platform in drug delivery applications. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 3, p. 445–462, 2009. Elsevier B.V.

SUN, Y.D.; BENISHIN, C.G. K⁺ channel openers relax longitudinal muscle of guinea-pig ileum. **European Journal of Pharmacology**, v. 271, p. 453-459, 1994.

TANG, X. C.; PIKAL, M. J.; TAYLOR, L. S. A Spectroscopic Investigation of Hydrogen Bond Patterns in Crystalline and Amorphous Phases in Dihydropyridine Calcium Channel Blockers. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 4, 2002.

TAVARES, G.F. Nanocompósitos de ouro/polipirrol e fármacos/polímeros entéricos: aplicações em sensores de metanol e liberação controlada de drogas. 2011. 122 f. **Dissertação (Mestrado em Ciência do Materiais)** Universidade Federal do São Francisco, Juazeiro, 2014.

THI, H.; TRAN, T.; HA, P.; TRAN, L.; LEE, B. New findings on melatonin absorption and alterations by pharmaceutical excipients using the Ussing chamber technique with mounted rat gastrointestinal segments. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 378, p. 9–16, 2009.

TOAL, C. Formulation dependent pharmacokinetics- Does the of dosage form matter for nifedipine? **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 44, n. 1, p. 82–, 2004.

TRAN, P. H.L.; TRAN, T. T. D.; PARK, J. B.; LEE, B. J. Controlled release systems containing solid dispersions: strategies and mechanisms. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 10, p. 2353–78, 2011.

TRIGGLE, D. J. Calcium channel antagonists : Clinical uses — Past , present and future. **Biochemical Pharmacology**, v. 74, p. 1–9, 2007.

USP. **The united states pharmacopeia**. 24^o ed. 2000.

USP. **THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA**. 33^o ed. 2010.

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

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

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

VIPPAGUNTA, S. R.; MAUL, K. A.; TALLAVAJHALA, S.; GRANT, D. J. W. Solid-state characterization of nifedipine solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 236, p. 111–123, 2002.

VOLPE, D. A. Application of Method Suitability for Drug Permeability Classification. **The AAPS Journal**, v. 12, n. 4, p. 670–678, 2010.

WALLEY, T.; HEAGERTY, A .; WOODS, K.; et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of nifedipine infusion in normal volunteer. **Br. J. Clin. Pharmacol**, p. 693–701, 1987.

WANG, X.; LI, J.; LU, Y.; et al. Rapid and simultaneous determination of nifedipine and dehydronifedipine in human plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry : Application to a clinical herb drug interaction study. **Journal of Chromatography**, v. 852, p. 534–544, 2007.

WEUTS, I. ET AL. 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.

WILSON, B. Y. T. H.; WISEMAN, G. The use of sacs of everted small intestine for the study of the transference of substances from the mucosal to the serosal surface From the Medical Research Council Unit for Research in Cell Metabolism, University of Sheffield A preparation of isolated s. **J. Physiol**, v. 13, p. 116–125, 1953.

WU, K. E.; 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. **InterScience**, v. 98, n. 7, p. 2422–2431, 2009.

YEE, S. In vitro permeability across Caco-2 cells (colonic) can predict in vivo (small intestine) absorption in man: fact or myth. **Pharmaceutical Research**, v. 14, n.6, p. 736-766, 1997.

YUSUKE, S.; MAKIKO, F.; YUKA, S.; AL, E. The preparation of a solid dispersion powder of indomethacin with crospovidone using a twin-screw extruder or kneader. **Iranian journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 365, p. 53–60, 2008.

YUSUKE, S.; MAKIKO, F.; YUKA, S., ET AL. The preparation of a solid dispersion powder of indomethacin with crospovidone using a twin-screw extruder or kneader. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 365, p. 53–60, 2008.

APÊNDICES

Apêndice A- Resumos apresentados em eventos



Certificado



II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas

II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos



Certificamos que SOUZA, N. A. C., GUIMARÃES, A. S., RIBEIRO, L. A. A., ROLIM-NETO, P. J., ROLIM, L. A. apresentaram o trabalho "CARACTERIZAÇÃO FÍSICA DE DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO E EUDRAGIT® L100" na sessão painel durante o II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas / II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos / I Simpósio Internacional de Farmácia Clínica, realizado no período de 9 a 11 de abril de 2015, no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.

Teresina, Piauí, 11 de abril de 2015.

Rivelison Mendes de Freitas
Prof. Dr. Rivelison Mendes de Freitas
Coordenador Geral

Livio Cesar Cunha Nunes
Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes
Sub-coordenador Geral

Hiliris Rocha e Silva
Profa. Dra. Hiliris Rocha e Silva
Coordenadora Comissão Científica



Patrocinadores:



Apoio Institucional:



Co-organizadores:



Certificado



II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas

II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos



Certificamos que SOUZA, N. A. C., GUIMARÃES, A. S., RIBEIRO, L. A. A., ROLIM-NETO, P. J., ROLIM, L. A. apresentaram o trabalho "PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE DISPERSÕES SÓLIDAS COM NIFEDIPINO" na sessão oral durante o II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas / II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos / I Simpósio Internacional de Farmácia Clínica, realizado no período de 9 a 11 de abril de 2015, no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.

Teresina, Piauí, 11 de abril de 2015.

Rivelison Mendes de Freitas
Prof. Dr. Rivelison Mendes de Freitas
Coordenador Geral

Livio Cesar Cunha Nunes
Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes
Sub-coordenador Geral

Hiliris Rocha e Silva
Profa. Dra. Hiliris Rocha e Silva
Coordenadora Comissão Científica



Patrocinadores:



Apoio Institucional:



Co-organizadores:



Certificado



II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas
II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos



Certificamos que **GUIMARÃES, A.S., SOUZA, N.A.C., ROLIM-NETO, P.J., ROLIM, L.A., RIBEIRO, L.A.A.** apresentaram o trabalho "ESTUDO DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES EM DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO E EUDRAGIT® L100 POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO" na sessão painel durante o II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas / II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos / I Simpósio Internacional de Farmácia Clínica, realizado no período de 9 a 11 de abril de 2015, no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.

Teresina, Piauí, 11 de abril de 2015.


 Prof. Dr. Rivellson Mendes de Freitas
 Coordenador Geral


 Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes
 Sub-coordenador Geral


 Profa. Dra. Hiliris Rocha e Silva
 Coordenadora Comissão Científica



Patrocinadores:



Apoio Institucional:



Co-organizadores:





5ª SEMANA FARMACÊUTICA DO VALE DO SÃO FRANCISCO

De 23 a 26 de março de 2015

Do Desenvolvimento do Medicamento a Prática Clínica

CERTIFICADO

Certificamos que **NATHÁLIA ANDREZZA CARVALHO DE SOUZA, ALINE SILVA GUIMARÃES, LUCIANO AUGUSTO DE ARAÚJO RIBEIRO, PEDRO JOSÉ ROLIM-NETO, LARISSA ARAÚJO ROLIM,** apresentaram o trabalho em painel intitulado como "AVALIAÇÃO DA ADEQUABILIDADE DE MÉTODO CROMATOGRÁFICO FARMACOPEICO NA DETERMINAÇÃO DE TEOR DE NIFEDIPINO." durante a V Semana Farmacêutica do Vale do São Francisco, realizada na Universidade Federal do Vale do São Francisco, nos dias 23 a 26 de Março de 2015.

Petrolina/PE, 24 de Março de 2015.




 Larissa B. Rolim
 Coordenadora do Evento


 David Sousa Silva
 Presidente do CBF - UNIVASF
 2014-2015

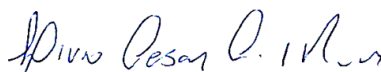

 Rita de Brito Goncalves
 Coordenadora do Colegiado de Farmácia da Univasf

Apêndice B- Menção Honrosa em evento

Certificamos que o trabalho **“ESTUDO DAS INTERAÇÕES INTERMOLECULARES EM DISPERSÕES SÓLIDAS DE NIFEDIPINO E EUDRAGIT® L100 POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO”** de autoria de **“GUIMARÃES, A.S., SOUZA, N.A.C., ROLIM-NETO, P.J., ROLIM, L.A., RIBEIRO, L.A.A.”** foi premiado com **MENÇÃO HONROSA** durante o II Encontro Estratégico em Ciências Farmacêuticas / II Seminário Ibero Americano de P & D de Medicamentos / I Simpósio Internacional de Farmácia Clínica, realizado no período de 9 a 11 de abril de 2015, no Blue Tree Towers Rio Poty na cidade de Teresina, Piauí, Brasil.



Prof. Dr. Rivellson Mendes de Freitas
Coordenador Geral



Prof. Dr. Lívio César Cunha Nunes
Sub-coordenador Geral



Profa. Dra. Hilris Rocha e Silva
Coordenadora Comissão Científica

ANEXOS**Anexo A- Aprovação do comitê de ética- UNIVASF**

FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO VALE DO SÃO FRANCISCO
COMITÊ DE ÉTICA E DEONTOLOGIA EM ESTUDOS E PESQUISAS - CEDEP
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS- CEUA

CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado "MICROPARTÍCULAS E NANOPARTÍCULAS DE EUDRAGIT® L100 CONTENDO NIFEDIPINO: CARACTERIZAÇÃO E COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS FARMACOCINÉTICOS", protocolo nº 0002/021014, que utilizam 54 animais da espécie *Cavia porcellus*, sob a responsabilidade de Aline Silva Guimarães, estando de acordo com os princípios éticos de experimentação animal do Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas da Universidade Federal do Vale do São Francisco.

Certify that the project entitled "Microparticles and nanoparticles of Eudragit® L100 containing nifedipine: characterization and comparison of pharmacokinetic parameters.", protocol number 0002/021014, utilizing 54 animals species *Cavia porcellus*, under the responsibility Aline Silva Guimarães, being in accordance with the ethical principles of animal experimentation adopted by Committee of Ethics and Deontology Studies and Research at the Federal University of Vale do São Francisco.

Petrolina, 15 de Maio de 2015.

Andrea Vieira Colombo – Coordenadora
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA
Comitê de Ética e Deontologia em Estudos e Pesquisas - CEDEP