



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

LAYSA CREUSA PAES BARRETO BARROS SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE *PELLETS* REVESTIDOS DE LIBERAÇÃO
PROLONGADA A PARTIR DE SISTEMA ACICLOVIR E HIDRÓXIDO DUPLO
LAMELAR**

Recife

2019

LAYSA CREUSA PAES BARRETO BARROS SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE *PELLETS* REVESTIDOS DE LIBERAÇÃO
PROLONGADA A PARTIR DE SISTEMA ACICLOVIR E HIDRÓXIDO DUPLO
LAMELAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Orientador: Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

Recife

2019

Catálogo na fonte:
Bibliotecária Claudina Queiroz, CRB4/1752

Silva, Laysa Creusa Paes Barreto Barros

Desenvolvimento de pellets revestidos de liberação prolongada a partir de sistema aciclovir e hidróxido duplo lamelar / Laysa Creusa Paes Barreto Barros Silva - 2019.

91 folhas: il., fig., tab.

Orientador: Pedro José Rolim Neto

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica. Recife, 2019.

Inclui referências.

1. Herpes simples 2. Fármacos 3. Pellets de medicamentos
I. Rolim Neto, Pedro José (Orient.) II. Título

615.19

CDD (22.ed.)

UFPE/CB-2019-388

LAYSA CREUSA PAES BARRETO BARROS SILVA

**DESENVOLVIMENTO DE *PELLETS* REVESTIDOS DE LIBERAÇÃO
PROLONGADA A PARTIR DE SISTEMA ACICLOVIR E HIDRÓXIDO DUPLO
LAMELAR**

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Inovação Terapêutica.

Aprovado em: 09/08/2019.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto
Membro Interno e Orientador/UFPE/PPGIT

Dr^a Larissa Morgana dos Santos Mendes
Membro Externo/CNPq

Dr^a Lidiany da Paixão Siqueira
Membro Externo/UniFavip

“O que dá o verdadeiro sentido ao encontro é a busca, e é preciso andar muito para se alcançar o que está perto.”

(SARAMAGO, 1997, p. 68)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela projeção da vida nos seus sublimes detalhes e por permitir a evolução de todos nós!

A toda minha família, em especial a minha **Mamadi** (mãe), que com seu amor e exemplo de dedicação e persistência educou duas filhas em meio a tantas adversidades. Serei eternamente grata por ter se privado por anos da sua própria educação intelectual em prol da nossa. E a minha irmã, **Marília Diniz**, a quem divido minhas confissões e por sempre estar solícita em me escutar. Amo vocês!

Ao meu marido, **Claube Fernando**, pela construção do nosso lar e que com seu incentivo e companheirismo auxilia na construção dos nossos sonhos. (Sonho que se sonha só é apenas um sonho que se sonha só, mas sonho que se sonha junto é realidade!) – Agradeço a Deus todos os dias por ter você ao meu lado.

Ao **Professor Pedro José Rolim Neto**, sinceros agradecimentos pelas orientações nesse estudo e pelo exemplo de pessoa, profissional e líder. Suas brincadeiras e risadas tornam o laboratório um ambiente agradável e descontraído além de produtivo. Tenho orgulho em dizer que sou sua aluna. Obrigada por me receber de braços abertos!

A todos que compõe o **Laboratório de Tecnologia de Medicamentos**, por ser uma família, estarem sempre dispostos a partilhar os ensinamentos e contribuírem na formação de um grupo de força acadêmica. Agradeço em especial ao Grupo HDL, composto por **Cindy Aguilera**, que com seu carisma tornou-se uma amiga que irei levar para o resto da vida. A **Adriana Yun** (minha Coreana), que além ter sido indispensável na construção desse projeto, tornou-se uma amiga que também levarei para o resto da vida. A **André Sousa** e **Rodrigo Oliveira**, que com suas brincadeiras e conversas animavam os dias de pesquisa.

E aos amigos que fiz ao longo da vida, em especial a **Laís Dantas**, **Lucas Danda**, **Camila Gomes (Doguito)**, **Taysa Timóteo (Marie)**, **Aline Silva (Line)**, **Eduarda Karine**, **Juliana Kishishita**, **Pavla Lôbo**, **Ana Paula**, **Andréa Luciana** e **Emerson Oliveira**, pelos momentos partilhados e contribuição de afeto.

Por fim, agradeço à **FACEPE** pelo financiamento ofertado para a execução deste projeto. E ao **Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica** por proporcionar a construção de mais um mestre.

RESUMO

A herpes simples é uma doença altamente prevalente e endêmica em todo o mundo, que além de causar lesões incomodas, pode levar a complicações como encefalites e meningites. O principal fármaco para o tratamento dessa doença é o aciclovir (ACV), que apresenta limitações como baixa disponibilidade e meia vida plasmática curta, sendo necessária a administração de várias doses diárias, aumentando a incidência de efeitos adversos e reduzindo a adesão dos pacientes ao tratamento. Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) vêm recebendo grande atenção no desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos, devido à capacidade que esses sólidos inorgânicos apresentam, de intercalar na sua região interlamelar, ou adsorver em sua vasta área superficial, substâncias biologicamente ativas, a utilização de polímeros também vem sendo amplamente pensada quando se trata de carreamento e liberação de fármacos. Aliado a esses excipientes inteligentes estão as formas farmacêuticas inovadoras, como os pellets, que podem colaborar com a ação dos sistemas carreadores promovendo modificações na liberação de fármacos. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de pellets de liberação prolongada do ACV utilizando HDL e polímero lipossolúvel como carreadores. Para isso, foi realizado, a síntese e caracterização de MgAl-CI-HDL, e obtenção de sistemas HDL:ACV nas proporções 1:1, 1:2, 2:1 e 3:1 pelas técnicas de *spray-drying* e liofilização e posterior obtenção dos *pellets* a partir do sistema com melhor comportamento na modulação da dissolução, utilizando juntamente polímero lipossolúvel como excipiente inteligente na formulação e adicionalmente no revestimento dos pellets. Os materiais foram caracterizados pelas técnicas de difração de raios-X (DRX), termogravimetria (TG), espectroscopia no infravermelho (FTIR), tamanho de partícula e granulometria dos *pellets*, sendo realizado, também, estudo de dissolução in vitro dos sistemas HDL:ACV e dos pellets. Dentre os resultados obtidos constatou-se que apesar do rendimento dos sistemas obtidos por *spray-drying* serem inferior aos obtidos por liofilização, a técnica apresentou-se promissora visto que, as microesferas demonstraram liberação modificada do fármaco, com destaque ao sistema 3, utilizado na obtenção de *pellets* contendo polímero. Os *pellets* revestidos, atingiram cerca de 80 % de liberação em aproximadamente 21 horas. Esses resultados foram decorrentes da combinação entre o sistema 3 e a capacidade de modulação da liberação do polímero utilizado no revestimento da forma farmacêutica.

Palavras-chave: Hidróxidos Duplos Lamelares. Aciclovir. *Pellets* de Medicamento. Vetorização de fármacos.

ABSTRACT

Herpes simplex is a highly prevalent and endemic disease worldwide that, in addition to causing troublesome lesions, can lead to complications such as encephalitis and meningitis. The main drug for the treatment of this disease is acyclovir (ACV), which has limitations such as low bioavailability and short plasma half-life, requiring the administration of several daily doses, increasing the incidence of adverse effects and reducing patients' adherence to treatment. Layered Double Hydroxides (LDH) have been receiving great attention in the development of drug delivery systems, due to the ability of these inorganic solids to intercalate in their interlamellar region or to adsorb on their vast surface area biologically active substances. The use of polymers has also been widely thought of when it comes to drug delivery systems. Allied to these intelligent excipients are innovative pharmaceutical forms, such as pellets, that can collaborate with the action of carrier systems promoting changes in drug release. In this context, the present work aimed to develop sustained release pellets of ACV using LDH and liposoluble polymer as carriers. For this, the synthesis and characterization of MgAl-CI-LDH was performed, and obtainment of LDH:ACV systems in the following molar ratios 1:1, 1:2, 2:1 and 3:1 by spray drying and lyophilization techniques and later obtaining the pellets from the system with the best behavior in the modulation of dissolution, using liposoluble polymer together as an intelligent excipient in the formulation and additionally in the pellet coating. The materials were characterized by X-ray diffraction (XRD), Thermogravimetry (TG), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), particle size analysis and pellet granulometry, and also evaluating the in vitro dissolution profile of LDH:ACV systems and pellets. Among the results obtained it was found that although the yield of the systems obtained by spray drying were lower than those obtained by lyophilization, the spray drying technique was promising since the microspheres showed modified drug release, highlighting the system 3, used in obtainment of polymer-containing pellets. The coated pellets achieved about 80% release in approximately 21 hours. These results were due to the combination of system 3 and the ability of modulation release by the polymer used in the coating of the pharmaceutical form.

Keywords: Inorganic compounds. Double Lamellar Hydroxides. Acyclovir. Medicine Pellets. Vectorization of drugs.

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------|---|----|
| Figura 1 - | Fases da lesão herpética labial..... | 20 |
| Figura 2 - | Mecanismo de ação do ACV..... | 23 |
| Figura 3 - | Estrutura molecular do ACV..... | 25 |
| Figura 4 - | Ionização da molécula de ACV em diferentes pH..... | 26 |
| Figura 5 - | Porcentagem de estudos com vários tipos de argilas..... | 28 |
| Figura 6 - | Número de publicações sobre HDL..... | 29 |
| Figura 7 - | Representação estrutural da brucita (7a) e do HDL (7b) | 30 |
| Figura 8 - | Esquemática de equipamento spray-drier..... | 34 |
| Figura 9 - | Estrutura química da etilcelulose..... | 41 |
| Figura 10 - | Fluxograma geral para obtenção do HDL MgAl..... | 43 |
| Figura 11 - | Aspectos macroscópicos dos materiais: A) HDL-SD; B) HDL-LIO..... | 51 |
| Figura 12 - | <i>Pellets</i> não-revestidos (A) e <i>pellets</i> revestidos com etilcelulose (B)..... | 52 |
| Figura 13 - | Triplicata da curva de calibração para o ensaio de linearidade..... | 55 |
| Figura 14 - | Curva média do ensaio de linearidade..... | 56 |
| Figura 15 - | Gráfico da dispersão dos resíduos do ensaio de linearidade..... | 56 |
| Figura 16 - | Espectros UV obtidos para o ensaio de seletividade..... | 57 |
| Figura 17 - | Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz..... | 58 |
| Figura 18 - | Espectro de infravermelho do MgAl-HDL e do Aciclovir..... | 62 |
| Figura 19 - | Espectro de infravermelho dos sistemas, A) Spray-drying e B) liofilização..... | 63 |
| Figura 20 - | Difratogramas: A) ACV e B) HDL obtidos por spray-drying e liofilização..... | 64 |
| Figura 21 - | Difratograma do HDL, ACV e sistemas HDL:ACV obtidos por spray-drying..... | 65 |
| Figura 22 - | Difratograma do HDL, ACV e sistemas HDL:ACV obtidos por liofilização..... | 66 |
| Figura 23 - | Curvas TG: A) ACV, B) HDL-SD e C) HDL-LIO..... | 67 |
| Figura 24 - | Curvas TG sistemas obtidos por spray-drying..... | 68 |
| Figura 25 - | Curvas TG sistemas obtidos por liofilização..... | 70 |

| | | |
|-------------|--|----|
| Figura 26 - | a) Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser do HDL-SD, b) HDL-LIO e c) ACV..... | 71 |
| Figura 27 - | Micrografias: A) e B) HDL-SD; C) e D) HDL-LIO; E) e F) ACV..... | 73 |
| Figura 28 - | Micrografias: A) e B) HDL:ACV obtido por Spray-drying; C) HDL:ACV obtido por liofilização..... | 74 |
| Figura 29 - | Histograma de distribuição dos pellets nos tamises com malhas padronizadas..... | 75 |
| Figura 30 - | Extensão da solubilidade do ACV..... | 76 |
| Figura 31 - | Perfis de liberação do ACV isolado e dos sistemas: A) liofilização e B) spray-drying..... | 78 |
| Figura 32 - | Perfis de liberação do ACV do sistema 3, pellets não-revestidos e revestidos no pH 1,2..... | 79 |
| Figura 33 - | Perfis de liberação do ACV do sistema 3, pellets não-revestidos e revestidos no pH 6,8..... | 80 |

LISTA DE QUADROS

| | | |
|------------|---|----|
| Quadro 1 - | Medicamentos disponíveis no mercado contendo ACV..... | 23 |
| Quadro 2 - | Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que formam HDL..... | 31 |
| Quadro 3 - | Composição dos <i>pellets</i> | 42 |
| Quadro 4 - | Ionização da molécula de ACV em diferentes pH..... | 44 |
| Quadro 5 - | Composição da solução de revestimento..... | 45 |
| Quadro 6 - | Doseamento do ACV nos sistemas com HDL por espectrofotometria..... | 53 |
| Quadro 7 - | Doseamento do ACV nos pellets por espectrofotometria..... | 53 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|------------|---|----|
| Tabela 1 - | Resultados estatísticos ANOVA para linearidade..... | 55 |
| Tabela 2 - | Resultados para o ensaio de repetibilidade..... | 58 |
| Tabela 3 - | Resultados para o ensaio de precisão intermediária..... | 59 |
| Tabela 4 - | Resultados do Testet Student para o ensaio de exatidão..... | 59 |
| Tabela 5 - | Resultados obtidos para o ensaio de robustez..... | 60 |
| Tabela 6 - | Perfil térmico das curvas de TG do HDL-SD, ACV e Sistemas SD..... | 69 |
| Tabela 7 - | Perfil térmico das curvas de TG do HDL-LIO, ACV e Sistemas LIO..... | 70 |
| Tabela 8 - | Solubilidade do ACV em diferentes meios..... | 76 |

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

| | |
|---|---|
| $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | Cloreto de Alumínio Hexahidratado |
| $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | Cloreto de Magnésio Hexahidratado |
| ACV | Aciclovir |
| CMV | Citomegalovirus |
| DNA | Ácido Desoxirribonucleico |
| DRX | Difração de Raios X |
| DTA | Análise Térmica Diferencial |
| HCl | Ácido Clorídrico |
| HDL | Hidróxidos Duplo Lamelares |
| HSV | Virus Herpes Simplex |
| IV | Infravermelho |
| MEV | Microscopia Eletrônica de Varredura |
| MgAl-Cl-HDL | Hidróxido Duplo Lamelar de Magnésio e Alumínio com cloreto |
| RNA | Ácido Ribonucleico |
| TG | Termogravimetria |
| UFPE | Universidade Federal de Pernambuco |
| UV | Ultravioleta |
| H_2O | Água |
| NaOH | Hidróxido de Sódio |
| HDL-SD | Hidróxido Duplo Lamelar seco por técnica de <i>Spray-drying</i> |
| HDL-LIO | Hidróxido Duplo Lamelar seco por técnica de Liofilização |
| SD | <i>Spray-drying</i> |
| LIO | Liofilização |
| IUPAC | União Internacional de Química Pura e Aplicada |
| Mg-Al- CO_3 -HDL | Hidróxido Duplo Lamelar de Magnésio e Alumínio com Carbonato |
| TGI | Trato Gastrointestinal |
| AUC | Área sob a Curva |
| Log P | Coefficiente de Partição |
| IFA | Insumo Farmacêutico Ativo |
| URF | Umidade Residual Final |
| DTG | Derivada da Curva Termogravimétrica |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|------------------|---------------------------|
| % | Porcentagem |
| mg | Miligrama |
| μL | Microlitros |
| ® | Marca Registrada |
| g | Gramma |
| ø | Teta |
| °C | Graus Celsius |
| $\mu\text{g/mL}$ | Micrograma por mililitro |
| mL | Mililitros |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| M | Molar |
| Å | ångstrom |
| Al | Alumínio |
| Mg | Magnésio |
| Cl | Cloro |
| Cl ⁻ | Cloreto |
| μm | Micrômetros |
| h | Horas |
| N | Nitrogênio |
| H | Hidrogênio |
| Ca | Cálcio |
| C | Carbono |
| nm | Nanômetros |
| mg/mL | Miligramas por mililitros |
| λ | Comprimento de onda |
| rpm | Rotações por minuto |
| μHg | Micrômetros de Mercúrio |
| mm | Milímetros |

SUMÁRIO

| | | |
|--------------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO..... | 16 |
| 1.1 | OBJETIVOS..... | 18 |
| 1.1.1 | Objetivo Geral..... | 18 |
| 1.1.2 | Objetivos Específicos..... | 18 |
| 2 | REFERENCIAL TEÓRICO..... | 19 |
| 2.1 | HERPES SIMPLES..... | 19 |
| 2.2 | ACICLOVIR..... | 21 |
| 2.2.1 | Aciclovir: revolução na terapia antiviral..... | 21 |
| 2.2.2 | Terapêutica do ACV..... | 22 |
| 2.2.3 | Aspectos Farmacocinéticos..... | 24 |
| 2.2.4 | Propriedades da molécula..... | 25 |
| 2.3 | ARGILAS..... | 27 |
| 2.3.1 | Hidróxidos Duplos Lamelares..... | 28 |
| 2.4 | TÉCNICAS DE SECAGEM NA OBTENÇÃO DE SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS..... | 33 |
| 2.4.1 | Spray-drying..... | 33 |
| 2.4.2 | Liofilização..... | 35 |
| 2.4.3 | Sistemas Multiparticulados: pellets..... | 37 |
| 2.4.4 | Revestimento..... | 40 |
| 3 | MATERIAL E MÉTODOS..... | 42 |
| 3.1 | MATERIAL..... | 42 |
| 3.2 | MÉTODOS..... | 42 |
| 3.2.1 | Síntese de MgAl-HDL..... | 42 |
| 3.2.2 | Obtenção dos sistemas MgAl-HDL com o Aciclovir..... | 44 |
| 3.2.3 | Obtenção de <i>pellets</i> utilizando sistema HDL:ACV..... | 44 |
| 3.2.3.1 | Determinação de Aciclovir nos sistemas e <i>pellets</i> obtidos..... | 45 |
| 3.2.3.2 | Validação do método de doseamento de ACV em sistemas com HDL..... | 46 |
| 3.2.4 | Caracterização do ACV, HDL, sistemas HDL:ACV e <i>pellets</i>..... | 47 |
| 3.2.4.1 | Espectroscopia de absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier. | 47 |
| 3.2.4.2 | Difratometria de raios-X (DR-X)..... | 48 |
| 3.2.4.3 | Análise Termogravimétrica (TG)..... | 48 |

| | | |
|--------------|--|-----------|
| 3.2.4.4 | Análise de tamanho de partícula..... | 48 |
| 3.2.4.5 | Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) | 48 |
| 3.2.4.6 | Determinação granulométrica dos pellets por tamisação..... | 49 |
| 3.2.5 | Concentração de saturação do fármaco cristalino..... | 49 |
| 3.2.6 | Estudo de Dissolução in vitro..... | 49 |
| 4 | RESULTADOS E DISCUSSÃO..... | 51 |
| 4.1 | OBTENÇÃO DA MATRIZ DE MgAl-CI-HDL, DOS SISTEMAS HDL:ACV e <i>Pellets</i> | 51 |
| 4.1.1 | Determinação de Aciclovir em sistemas com HDL e nos <i>pellets</i>..... | 53 |
| 4.1.1.1 | Validação de metodologia analítica de doseamento de ACV nos sistemas com HDL..... | 55 |
| 4.1.1.1.1 | Linearidade..... | 55 |
| 4.1.1.1.2 | Seletividade..... | 57 |
| 4.1.1.1.3 | Efeito Matriz..... | 57 |
| 4.1.1.1.4 | Repetibilidade..... | 58 |
| 4.1.1.1.5 | Precisão Intermediária..... | 59 |
| 4.1.1.1.6 | Exatidão..... | 59 |
| 4.1.1.1.7 | Robustez..... | 60 |
| 4.2 | ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER..... | 61 |
| 4.3 | DIFRATOMETRIA DE RAIO-X..... | 64 |
| 4.4 | ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA..... | 66 |
| 4.5 | TAMANHO DE PARTÍCULAS POR GRANULOMETRIA À LASER..... | 68 |
| 4.6 | MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA..... | 72 |
| 4.7 | DETERMINAÇÃO GRANULOMÉTRICA DOS PELLETS POR TAMISAÇÃO..... | 74 |
| 4.8 | CONCENTRAÇÃO DE SATURAÇÃO DO FÁRMACO CRISTALINO..... | 75 |
| 4.9 | ESTUDO DE DISSOLUÇÃO..... | 77 |
| 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 82 |
| 6 | PERSPECTIVAS..... | 83 |
| | REFERÊNCIAS..... | 84 |

1 INTRODUÇÃO

O vírus herpes simplex (HSV) tipo 1 e tipo 2 são agentes infecciosos humanos que afetam cerca de 60-95 % da população adulta mundial (CHAYAVICHITSILP et al., 2009). O HSV tipo 1 (HSV-1) é tipicamente transmitido de maneira não sexual durante a infância, e provoca lesões principalmente na mucosa bucal e orofaringe; enquanto o HSV tipo 2 (HSV-2) é quase sempre transmitido sexualmente e provoca lesões genitais. A infecção por esses vírus pode causar complicações como cegueira, encefalite, meningite e herpes neonatal (BRADLEY et al., 2014).

O Insumo Farmacêutico Ativo (IFA) frequentemente utilizado para o tratamento de HSV é o aciclovir (ACV), um nucleosídeo sintético análogo da purina, que além de ser ativo contra o HSV, também tem atividade contra o Varicella zoster vírus (VVZ), vírus Epstein Barr (VEB) e Citomegalovirus (CMV). No entanto, o ACV possui baixa biodisponibilidade quando administrado pela via oral, cerca de 15-30%, devido sua má absorção gastrointestinal, e uma meia-vida plasmática curta, de aproximadamente 3 horas, fazendo necessária a administração de doses elevadas, 5 à 6 vezes ao dia (SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011). Esse esquema terapêutico é acompanhado por efeitos adversos tais como náusea, diarreia e dores de cabeça, além da diminuição da adesão ao tratamento pelos pacientes (PEDOTTI et al., 2015).

As formas farmacêuticas convencionais são conhecidas por proporcionar uma liberação imediata do fármaco, com pouco ou nenhum controle sobre a taxa de liberação, causando oscilações no nível do fármaco no organismo, podendo assim, atingir níveis inferiores a concentração mínima eficaz, ou exceder a concentração mínima tóxica, resultando em efeitos secundários indesejáveis, ou diminuição dos benefícios terapêuticos pretendidos. A fim de alcançar e manter as concentrações plasmáticas terapêuticamente eficazes e seguras é necessário evitar variações significativas nos níveis plasmáticos dos fármacos (RODRIGUES et al., 2013).

Os hidróxidos duplos lamelares (HDL) vêm sendo utilizados pela capacidade que esses sólidos lamelares inorgânicos apresentam de intercalar ou adsorver em sua superfície substâncias biologicamente ativas (ALI et al., 2012). As propriedades desses materiais podem ser combinadas a compostos ligados a sua estrutura, resultando em sistemas conjugados, nos quais a estabilidade térmica, química, fotoquímica, entre outras, quando comparadas às do

composto livre (ZHAO et al., 2015). Em adição, o material intercalado na matriz do HDL pode obter um incremento de sua solubilidade, quando se tratar de substâncias hidrofóbicas ou ser submetido a um processo de liberação sustentada, a partir da matriz do HDL (ALI et al., 2012; DEL-ARCO et al., 2010).

Diferentes técnicas podem ser aplicadas durante a obtenção desses sistemas, com o objetivo de melhorar propriedades físico-químicas, como a área superficial e volume de poros, obtendo as características desejadas para o desenvolvimento do sistema de liberação (WU et al., 2014).

A liofilização pode ser uma das alternativas ao método convencional de evaporação de solventes na preparação de compósitos e outros sistemas, uma vez que, consiste no congelamento e sublimação da mistura do fármaco e seu transportador num solvente comum (SALCEDO et al., 2007). O princípio do *spray-dryer* é a secagem de partículas através de um fluxo de gás quente. A partir da pulverização das soluções dos materiais utilizados na obtenção dos sistemas, são formadas partículas de tamanho micrométrico, caracterizada pela evaporação do solvente em curto espaço de tempo, o que pode favorecer interações ou aprisionamento de fármacos na estrutura formada (BECK et al., 2008).

O HDL apresenta como limitação, a passagem pelo estômago, devido ao pH ácido, onde esses são solubilizados rapidamente, ocorrendo a decomposição das lamelas e liberação completa do fármaco intercalado ainda no ambiente gástrico. A utilização de polímeros capazes de proteger o HDL, garantindo a sua chegada no intestino sem ser desestruturado é promissora, uma vez que sua dissolução reduz-se consideravelmente no intestino, onde os valores de pH são mais elevados, e através de reações de troca iônica, permite a liberação lenta dos fármacos (CUNHA et al., 2012).

Pellets são exemplos de formas farmacêuticas capazes de otimizar a ação de sistemas de liberação, como também podem agir diretamente como sistema de carregamento de medicamentos, podendo fornecer vantagens terapêuticas, como menor risco de efeitos colaterais (SEGALE et al., 2016). Além disso, as partículas são livremente dispersas no trato gastrointestinal, maximizando a absorção do medicamento, reduzindo as variações na concentração plasmática do fármaco, minimizando os potenciais efeitos colaterais e aumentando assim, a biodisponibilidade da droga (MANNINA et al., 2016).

A obtenção de *pellets* utilizando HDL e polímero, para liberação prolongada do fármaco ACV é vantajosa uma vez que dessa forma é possível combinar as peculiaridades dessa forma farmacêutica com as características de ambos os componentes (orgânico e

inorgânico), como propriedades mecânicas, intumescimento, comportamento térmico, bioadesão e reologia, além de novos comportamentos de dissolução (NAZIRI et al., 2016).

1.1 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho são apresentados abaixo, subdivididos em objetivo geral e objetivos específicos.

1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver pellets de liberação prolongada do fármaco antiviral aciclovir a partir de hidróxido duplo lamelar e polímero lipossolúvel.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Sintetizar HDL a partir dos íons metálicos Mg^{2+} e Al^{3+} ;
- Obter sistemas HDL:ACV utilizando as técnicas de liofilização e *spray-drying*;
- Formular pellets contendo sistema HDL:ACV e polímero lipossolúvel;
- Desenvolver e validar uma metodologia analítica para quantificação do fármaco ACV pelo método espectrofotométrico, nas formulações desenvolvidas;
- Realizar caracterizações físico-químicas do ACV, HDL e dos sistemas obtidos através de diferentes técnicas analíticas;
- Avaliar o perfil de dissolução dos sistemas HDL:ACV e *pellets* obtidos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

As bases que constituíram a fundamentação teórica estão sumarizadas a seguir na forma de um levantamento bibliográfico.

2.1 HERPES SIMPLES

Herpes simples é uma doença infecciosa causada por dois vírus da família *Herpesviridae*, o vírus herpes simples tipo 1 (HSV-1) e o tipo 2 (HSV-2), e pode afetar a região da boca, sendo mais frequente nos lábios, órgãos genitais e áreas próximas (GELLER et al., 2012). As formas de manifestação divergem de indivíduo para indivíduo, porém podem gerar lesões vesiculares que parecem caminhar sobre a pele e/ou mucosas, daí o termo ‘herpes’ que deriva do latim e significa rastejar (FONSECA, 1999; GARCEZ, 2012).

As infecções geradas pelo vírus representam uma das doenças transmissíveis mais comuns a nível global, com prevalência de 90% em adultos, e apresentam um amplo espectro de acometimento clínico (GELLER et al., 2012).

A transmissão do HSV ocorre através do contato com superfícies e mucosas ou das soluções de continuidade da pele infectadas. Após o desenvolvimento de uma infecção primária, que se dá em sequência ao primeiro contato com o vírus, são detectados no soro dos indivíduos infectados anticorpos neutralizantes para o HSV. Alguns desses indivíduos soropositivos desenvolvem lesões labiais ou genitais recorrentes, expressando clinicamente a propriedade biológica própria dos HSV, que é a capacidade de recorrer periodicamente, gerando reativação da infecção latente (GELLER et al., 2012; FONSECA, 1999).

O HSV-1 manifesta-se principalmente nas regiões orofacial e/ou torácica. Por sua vez, o HSV-2 tem como área de acometimento a região genital, entretanto a inversão das áreas das lesões em relação ao tipo de HSV também é possível, embora não tão comum. Ressalte-se ainda, que as complicações mais graves causadas pela infecção por HSV são mais comuns em indivíduos cujo sistema imunológico esteja em desenvolvimento, como é o caso das crianças (GARCEZ, 2012).

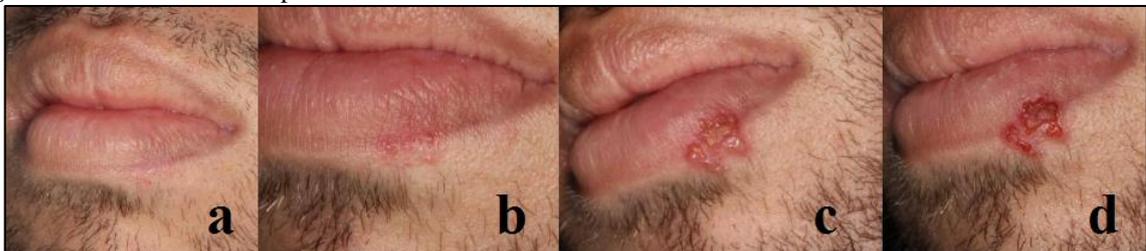
As infecções por HSV-1 ocorrem em todo o mundo, sem variação sazonal e acometem apenas seres humanos. O vírus apresenta uma prevalência de acometimento maior que o HSV-2, essa prevalência aumenta gradualmente desde a infância, chegando a 70% ou 80% em adultos.

Um indivíduo ao ser infectado, os vírus penetram em células epiteliais e se multiplicam no seu interior. Após, entram em contato com as células nervosas sensoriais e se alojam no gânglio trigeminal, onde ficam em fase de latência. Quando ativados, através dos axônios dos neurônios sensitivos, migram para a região extrabucal e intrabucal, provocando novas manifestações (VAZZOLLER et al., 2016).

Há uma grande variabilidade na sintomatologia clínica da infecção primária pelo HSV-1, mas manifestação assintomática é a regra. A infecção labial normalmente é acompanhada de dor e problemas estéticos, ocasionando uma aparência que levam os indivíduos acometidos a procurar tratamento antiviral (CUNNINGHAM et al., 2012).

O desenvolvimento das lesões herpéticas ocorrem em fases (Figura 1), a primeira é a prodrômica, em que ocorre sensação de ardor ou prurido com duração de cerca de seis horas, a segunda fase é a vesicular, em que se observa inicialmente máculas vermelhas que rapidamente se tornam vesiculares sendo muito infecciosas, em seguida, há a fase de úlcera e posteriormente a fase de crosta. Algumas dessas etapas podem ser de curta duração e parecem ser imperceptíveis ao indivíduo (VAZZOLLER et al., 2016).

Figura 1 - Fases da lesão herpética labial.



(a) Fase prodrômica; (b) Vesicular inicial; (c) Vesicular entrando na fase de úlcera; (d) Fase de úlcera entrando na fase de crosta.

Fonte: Vazzoller et al., 2016 (Adaptado)

A duração do período de incubação é em média de 4 dias, entretanto pode variar de 2 a 12 dias. Em se tratando de infecção primária promovida pelo HSV-1, a excreção de vírus pode durar até 23 dias (média 7 a 10 dias). Entre o 4º e o 7º dia após o início da patologia, anticorpos neutralizantes surgem, e verifica-se o ápice destes em aproximadamente 3 semanas.

Em relação ao HSV-2, estima-se que 530 milhões de pessoas estejam infectadas com essa doença, contudo em 12% dos indivíduos acometidos por essa enfermidade a eliminação do vírus ocorre de forma assintomática. A principal via de contágio se dá pela relação sexual ou durante o parto quando o bebê entra em contato com mãe está infectada. Vale ressaltar que

cl clinicamente o herpes genital ocasionado pelo HSV-1 tem característica menos grave em relação ao HSV-2 (GONG et al., 2004; JENSSEN et al., 2004).

A primeira manifestação genital se configura pelo surgimento de manchas e brotoejas que evoluem para vesículas, úlceras e crostas. Por sua vez o herpes genital recorrente aparece de forma mais leve (3 a 4 vesículas penianas ou lesões ulcerosa vulvares), solucionando-se em torno de 2 semanas. Cerca de 33% dos indivíduos enfermos apresentam mais de 6 episódios recorrentes durante o ano, outros 33% desenvolvem 2 episódios, enquanto o restante possui um raro quadro de recorrência.

2.2 ACICLOVIR

Diante das manifestações clínicas incômodas e indesejáveis ocasionadas pelo herpes simples, o tratamento com o ACV tornou-se uma terapêutica de escolha devido a atividade inibitória *in vitro* e *in vivo* contra o vírus, apresentando um mecanismo de ação triplo que é bastante seletivo.

2.2.1 Aciclovir: revolução na terapia antiviral

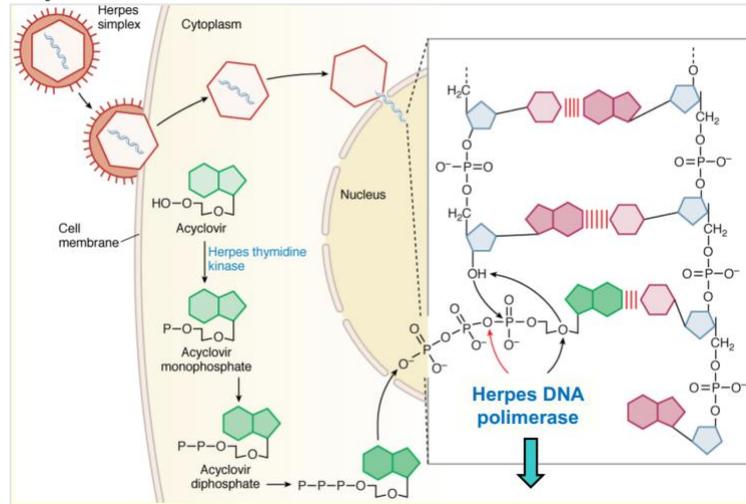
O ACV ou 9-[(2-hidroxietoxi)metil]-9H-guanina, é um antiviral análogo do nucleosídeo guanina acíclico, utilizado no tratamento de infecções por herpes. A síntese desse fármaco foi desenvolvida pela primeira vez na década de 70, pelos pesquisadores Elion Gertrude e George Hitchings, sendo um marco na terapia antiviral. Os fármacos utilizados na terapêutica até então, como a Idoxuridina (IDU) e Trifluridina (TFT), que ainda podem ser encontradas no tratamento tópico de infecções oculares herpéticas e a Vidarabina que foi retirada no mercado devido a toxicidade ocular porque não possuía seletividade sob as células infectadas pelo vírus, atingindo assim as células sadias, e ocasionando efeitos colaterais indesejáveis (DE CLERCQ, 2012).

O desenvolvimento de medicamentos até então, era realizado através do método de tentativa e erro e, foi a partir do desenvolvimento do ACV que o método conhecido como “design racional de medicamentos” passou a revolucionar a produção de fármacos. A abordagem desses estudos se mostrou tão bem sucedida, provando que os fármacos podem ser seletivos, que forneceu em 1988 o Prêmio Nobel de Medicina aos pesquisadores (GERTRUDE, et al., 1977).

Agora, aproximadamente 40 anos após sua descoberta, o ACV ainda é considerado o padrão-ouro no tratamento por infecções geradas pelo vírus da herpes simples (HSV) e pelo vírus da varicela-zoster (VZV) (DE CLERCQ, 2012). Após o surgimento dessa droga, outros fármacos antiherpéticos foram obtidos e lançados no mercados mas nenhum alcançou o sucesso na eficácia e seletividade. O Penciclovir, por exemplo, análogo acíclico da guanina, é 100 vezes menos potente do que o ACV, necessitando ser administrado em concentrações mais elevadas; o Ganciclovir, outro análogo acíclico da guanina, possui atividade inibitória contra o HSV, porém é mais ativo contra o citomegalovírus (CMV) e, inibe células progenitoras da medula óssea humana, causando mielossupressão; o Foscarnete, análogo pirofosfato inorgânico, inibe todos os tipos de HSV, porém só é utilizado em casos de HSV resistentes ao aciclovir, pois age em células sadias e na divisão celular, podendo causar nefrotoxicidade, cefaleia, tremor e irritabilidade.

2.2.2 Terapêutica do ACV

O ACV penetra nas células infectadas de forma mais eficaz e rápida do que nas células não infectadas pelos vírus (Figura 2). Em seguida, para que possa exercer sua atividade antiviral, o fármaco deve ser convertido em aciclovir trifosfato, onde inicialmente, o fármaco recebe um grupamento fosfato através da ação enzimática da timidina quinase viral, esse grupamento é essencial para as fases seguintes, que levam à ativação do ACV. Após, as enzimas timidinas quinases das células infectadas, agregam um segundo e posteriormente um terceiro grupamento fosfato, formando o aciclovir trifosfato, que é a forma ativa do medicamento. As timidinas quinases celulares, que adicionam grupos fosfatos ao monofosfato de aciclovir só podem agir desde que, anteriormente, o fármaco tenha se transformado em monofosfato e, essa conversão só ocorre na presença da enzima de origem viral, demonstrando a seletividade na fosforilação da droga (CUNNINGHAM et al., 2012).

Figura 2 - Mecanismo de ação do ACV.

Fonte: CUNNINGHAM et al., 2012

O esquema terapêutico com o aciclovir para o tratamento de infecções ocasionadas pelo HSV-1 e HSV-2 na pele e nas mucosas é feito através da administração de comprimidos associados ou não ao uso de formas farmacêuticas tópicas como cremes. No quadro 1 pode-se observar que as formulações mais comuns disponíveis no mercado contêm 200 mg e 400 mg do insumo ativo. O aciclovir é comumente utilizado como a forma de ácido livre em formas de dosagem sólidas, enquanto o sal de sódio é usado em formas de dosagem parentais.

Quadro 1 - Medicamentos disponíveis no mercado contendo ACV.

| Indústria Farmacêutica | Concentração | Forma farmacêutica | Nome comercial |
|-------------------------------|---------------------|---------------------------|-----------------------|
| Sandoz® | 200 mg | Comprimido | - |
| | 400 mg | Comprimido | |
| Novafarma | 250 mg | Pó para solução injetável | Zynvir |
| gsk® | 200 mg | Comprimido | Zovirax |
| | 50mg/g | Creme | |
| | 0,03g/g | Pomada oftálmica | |
| EMS | 5% | Creme | - |
| Teuto | 200mg | Comprimido | - |
| Merck | 200mg | Comprimido | - |
| | 200mg | Comprimido | |
| Neo Química | 200mg | Comprimido | - |

Fonte: dados da pesquisa

O tratamento deve ser inicializado o mais cedo possível, de preferência logo após o início da infecção, na fase prodrômica ou logo assim que surgir os primeiros sinais e sintomas. Em adultos, deve ser realizada a administração de um comprimido de ACV 200 mg, cinco vezes ao dia, possuindo intervalos de aproximadamente 4 horas. Esse esquema, deve ser realizado durante 5 dias, mas em casos de infecções iniciais sérias, esse período deve ser estendido. Indivíduos imunocomprometidos, como portadores de HIV/AIDS, transplantados ou pacientes com distúrbios da absorção intestinal, devem ser administrados comprimidos de 400 mg ou, pode-se considerar, em casos mais sérios, a administração intravenosa do fármaco (VAZZOLLER et al., 2016; Sandoz, 2019).

Em pacientes com histórico de reinfecção, periodicamente, o tratamento deve ser interrompido por um período que pode variar de seis a doze meses, visando avaliar os progressos obtidos na história natural da doença (VAZZOLLER et al., 2016).

2.2.3 Aspectos Farmacocinéticos

A farmacocinética do ACV apresenta algumas particularidades que podem tornar incômoda a terapêutica. Quando administrado por via oral, a absorção pelo trato gastrointestinal ocorre principalmente pelo mecanismo de difusão passiva, sendo lenta, variável e incompleta, apresentando baixa biodisponibilidade, cerca de 15–30 % (SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011). Essa biodisponibilidade é considerada como resultado das características do próprio fármaco e não de seu veículo de entrega.

A meia vida plasmática é curta e, geralmente atinge picos máximos entre 1,5-2,5 horas após a administração oral, mostrando a necessidade de administrações frequentes e em doses elevadas (SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011). Esse esquema terapêutico pode ser acompanhado por efeitos adversos tais como náusea, diarreia e dores de cabeça, além da diminuição da adesão ao tratamento (PEDOTTI et al., 2015).

O ACV é bem distribuído pelos tecidos do corpo e apresenta uma mínima taxa de ligação às proteínas plasmáticas, que vai de 9 a 33 %. Quanto à metabolização, parte do ACV é convertido em 9-carboximetoximetilguanina e outra parte é convertida, intracelularmente, a aciclovir trifosfato, o qual é responsável pela ação farmacológica. O ACV sofre excreção renal da droga inalterada e de seus metabólitos. Aproximadamente 80% da dose administrada via oral é excretada inalterada nas fezes (SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

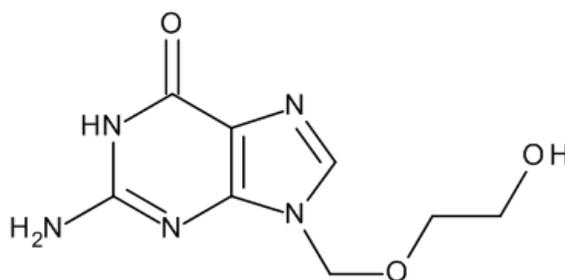
A dosagem, a duração do tratamento e a frequência de administração de doses não influenciam no comportamento farmacocinético de dois compartimentos do aciclovir. As concentrações no estado de equilíbrio são alcançadas em aproximadamente 2 dias após a administração das doses múltiplas. Há uma diminuição da biodisponibilidade proporcionada pelo aumento das doses de aciclovir devido ao sistema de transporte saturável ou uma área limitada para absorção no trato gastrointestinal (TGI), ressaltando-se, inclusive, que os alimentos parecem não afetar a absorção da TGI (PEDOTTI et al., 2015).

A Área sob a curva AUC é aumentada proporcionalmente com o aumento das doses, que são ministradas com doses entre 100 e 800 mg por intervalo. A distribuição do aciclovir pode acontecer na maioria dos tecidos do corpo, tais como: cérebro, rim, pulmão, fígado, coração, tecido, músculo, baço, placenta, útero, mucosa vaginal e secreções, sêmen, saliva, humor aquoso e líquido cefalorraquidiano. Em concentrações plasmáticas terapêuticas, o aciclovir apresenta ligação protéica mínima (9 a 33 %) (SUSANTAKUMAR; GAUR; SHARMA, 2011).

2.2.4 Propriedades da molécula

O ACV apresenta fórmula molecular $C_8H_{11}N_5O_3$. Sua nomenclatura pela IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) é 2-amino 1,9 -dihidro-9-[(2-hidroxi)metil]-6H-purina-6-ona (Figura 3).

Figura 3 - Estrutura molecular do ACV.



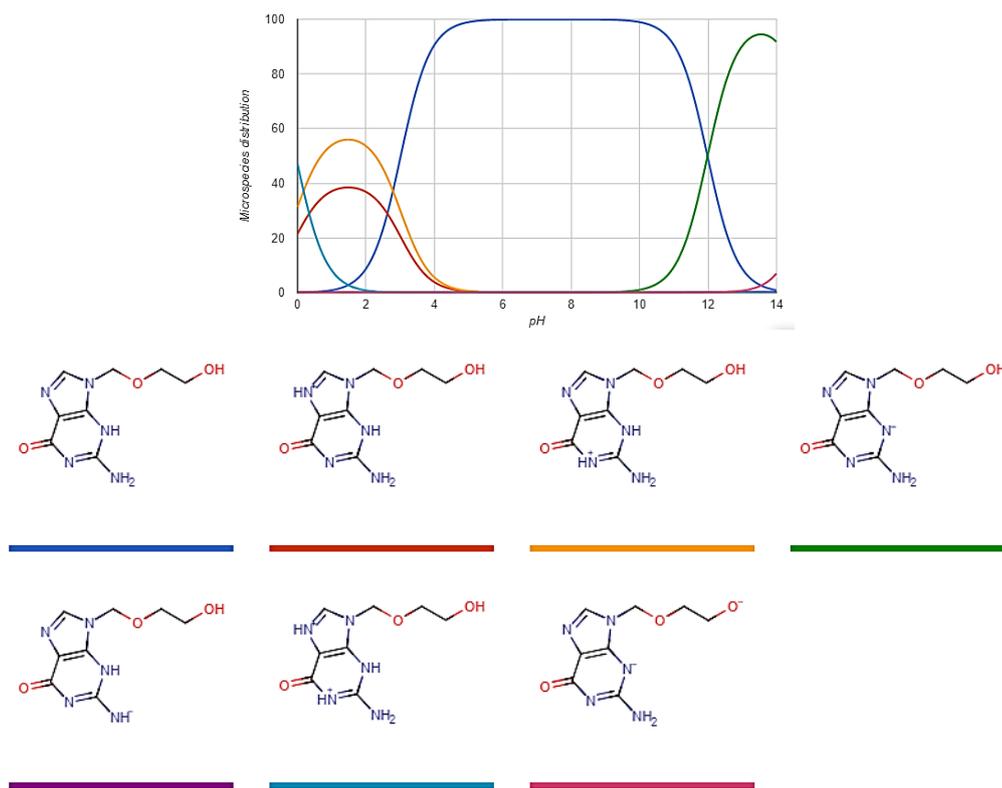
Fonte: <https://www.selleckchem.com>

Apresenta-se como um pó cristalino branco, que funde em $256,5^{\circ}\text{C}$ e possui absorção máxima na região do ultravioleta em $\lambda = 254 \text{ nm}$ com existência de um ombro inclinado em torno de $\lambda = 274 \text{ nm}$. O fármaco também apresenta coeficiente de partição ($\log P$) em n-octanol a 25°C de -1,59.

Em diferentes Farmacopeias incluindo a Farmacopeia Brasileira (2010), o fármaco é ligeiramente solúvel em água, apresentando valores de solubilidade que variam de 1,2 a 1,6 mg/mL a temperatura ambiente. Solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais e hidróxidos alcalinos e, facilmente solúvel em dimetilsulfóxido e muito pouco solúvel em etanol.

O aciclovir é uma molécula hidrofílica e anfótera, com duas constante de ionização: 9,2 (básica) e 2,2 (ácida), assim, dependendo do pH da dispersão que o ativo se encontra, ele pode agir como ácido ou base fraca. Na figura 4 pode-se observar a distribuição em percentagem de microespécies de ACV (ionização) em diferentes valores de pH. A acidez do composto é proveniente da protonação do oxigênio ligado ao N1 do anel pirimidínico, enquanto suas propriedades básicas estão em função do N9 do anel imidazólico (RHEIN, 2013).

Figura 4 - Ionização da molécula de ACV em diferentes pH.



Fonte: chemicalize.org (2019)

No geral, os IFAs (Insumos Farmacêuticos Ativo) podem existir em várias formas sólidas, tais como polimorfos e formas amorfas de composto puro, hidratos, solvatos, sais e cocristais. A flexibilidade conformacional e a ligação de hidrogênio são consideradas fatores

que influenciam a habilidade de uma molécula em formar polimorfos (WANG et al., 2017). O ACV, por possuir capacidade de existir em múltiplas redes de pontes de hidrogênio e por sua cadeia lateral ser flexível, demonstra fatores importantes da existência das múltiplas formas sólidas. Essas diferentes formas podem exibir diferentes propriedades, como solubilidade, estabilidade química e física, e biodisponibilidade.

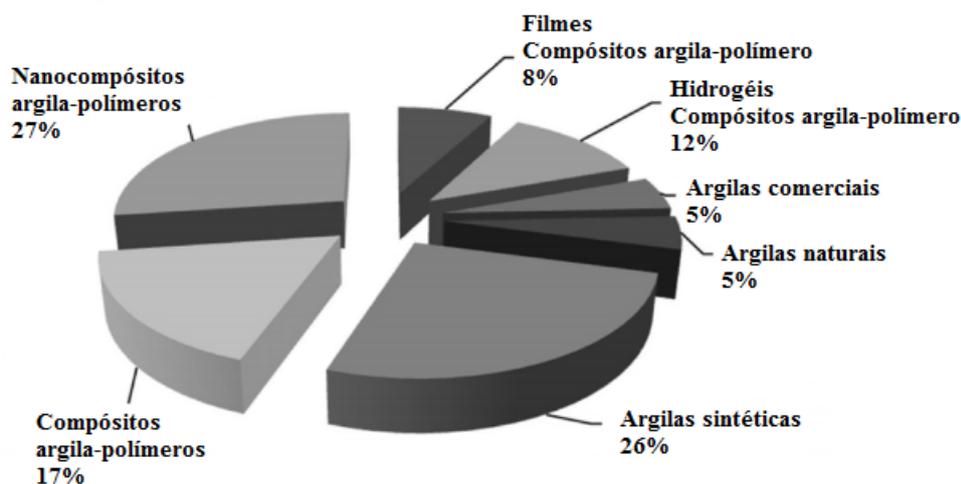
Lutker e colaboradores (2011) demonstraram que o ACV exibe, no mínimo, duas formas anidras estáveis sob condições ambientais, duas formas que não existem sob condições ambientais e dois hidratos. E estudos anteriores produziram a estrutura cristalina da forma comercial, um hidrato de ACV/água 3:2 (BIRNBAUM et al., 1984).

Em relação a estabilidade do ACV, Rhein (2013) realizou estudo de degradação forçada em ambiente ácido, alcalino, neutro, oxidativo, térmico, úmido e na presença de luz. Em ambiente ácido (HCl 0,5M), após 12 dias em temperatura ambiente, foi observado decaimento de 30% do teor do fármaco com formação de produto de degradação; em ambiente alcalino (NaOH 1M), úmido e na presença de luz não foi observado diminuição do teor do ACV, mostrando-se estável após 14 dias em temperatura ambiente.

2.3 ARGILAS

As argilas são materiais comumente usados na indústria farmacêutica, tanto como excipientes ou como Insumo Farmacêutico Ativo. Esses materiais quando associados a fármacos podem interagir quimicamente e proporcionar modulação na liberação do IFA e/ou alterar algumas propriedades físico-químicas, influenciando na farmacocinética. Portanto, tais interações podem ser utilizadas para obter vantagens tecnológicas e biofarmacêuticas.

Nas últimas décadas, tem-se observado interesse crescente no desenvolvimento de compósitos a base desses materiais e biopolímeros para aplicação farmacêutica, onde a liberação modificada de fármacos tem obtido notória atenção. Estes compósitos podem combinar propriedades de ambos os componentes (orgânicos e inorgânicos), como características mecânicas, intumescimento, comportamento térmico, bioadesão e reologia (SILVA et al., 2016).

Figura 5 - Porcentagem de estudos com vários tipos de argilas.

Fonte: SILVA et al., 2016

Apesar da ocorrência de minerais de argila na natureza, sua síntese em laboratórios devido a vantagens econômicas e/ou técnicas. Destacam-se entre eles os hidróxidos duplos lamelares (LDHs), também conhecidos como argilas aniônicas ou “hidrotalcita-like”.

2.3.1 Hidróxidos Duplos Lamelares

Os Hidróxidos Duplos Lamelares (HDL) são um grupo de compostos lamelares inorgânicos de natureza básica (BUKHTIYAROVA, 2019). Esses materiais possuem ocorrência natural ou sintética e são denominados como minerais da família das argilas aniônicas ou materiais do tipo hidrocalcitas (POLESE et al., 2017; TIAN et al., 2015).

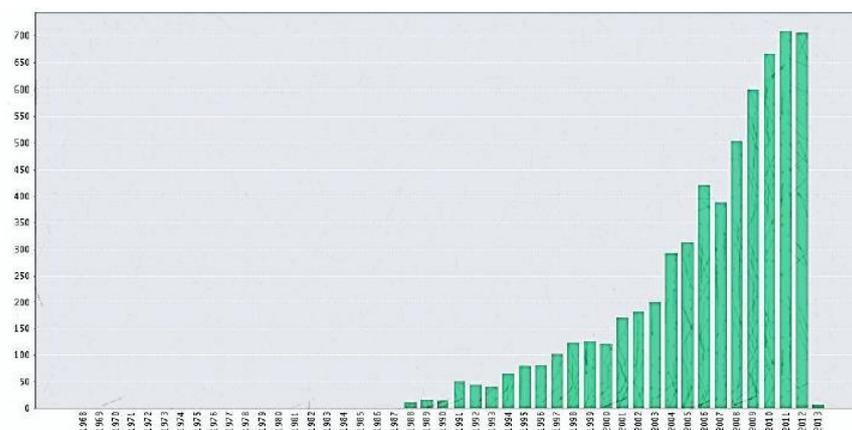
As argilas aniônicas naturais são relativamente raras e estão associadas a formações metamórficas, sendo geralmente encontradas em depósitos salinos e formadas em condições de baixa temperatura e pressão (CARDOSO, 2002). Em 1842, Hochstetter descobriu a estrutura natural do HDL, porém só em 1942 esse material foi sintetizado pela primeira vez por Feitknech, através de rota simples de precipitação controlada de soluções aquosas de cátions metálicos em meio básico (POLESE et al., 2017). Por isso, os HDLs também podem ser chamados de compostos de Feitknecht (CAVANI, TRIFIRB & VACCARI, 1991).

Na literatura, o primeiro artigo científico publicado que trata de compostos do tipo da hidrotalcita foi escrito por Miyata e colaboradores, em 1971. E a primeira patente mencionando compostos do tipo da hidrotalcita foi depositada em 1970, onde o material foi desenvolvido por precipitação e utilizado como catalisador, pois apresentava boa atividade

catalítica para reações de hidrogenação (TRONTO, 2006). Em torno desse período, a empresa Bayer[®] iniciou a produção de [Mg-Al-CO₃-HDL], utilizado como antiácido e patenteou este material com o nome comercial de Talcid[®].

Desde a descoberta até meados dos anos 80 pouco se publicou sobre os HDL, a partir dessa década o número de publicações utilizando esse material vem crescendo a cada ano e vem mostrando relevância no ramo tecnológico e científico (Figura 6). Isso é justificado devido a sua capacidade multifuncional, sendo utilizado nas mais diversas áreas da ciência (FERENCZ et al., 2015; MENG et al., 2017).

Figura 6 - Número de publicações sobre HDL.



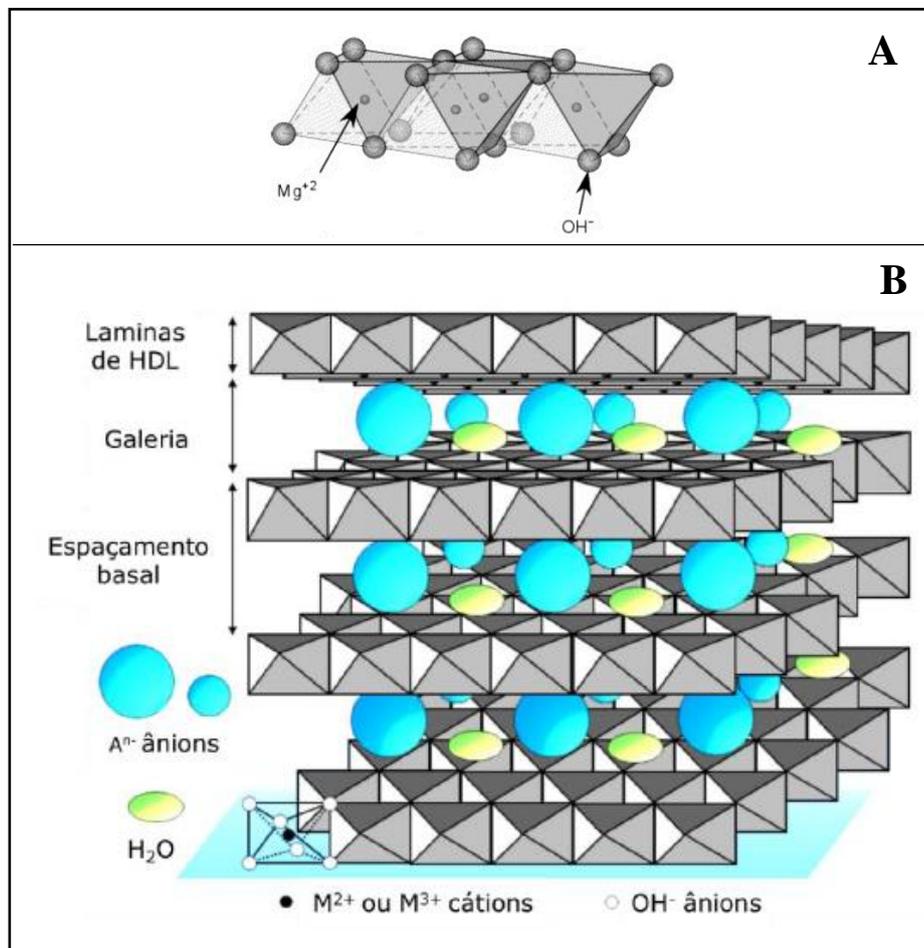
Fonte: <http://apps.webofknowledge.com>

As variadas propriedades dos HDL os tornam promissores nas ciências dos materiais, ciências químicas e farmacêuticas foram designados como catalisadores, agentes adsorventes, moduladores de liberação de substâncias biologicamente ativas, cosméticos, aplicações ambientais (remoção de poluentes), indústria de refinação de petróleo, nanocompósitos bioativos, dentre outros, através das propriedades dos HDLs (CAO, LI & LI, 2016; FERENCZ et al., 2016; FONTES, 2016; SURESH; KUMAR; PUGAZHENTHI, 2016; QU et al., 2016; ZHAN, et al., 2016).

Estruturalmente os HDL são constituídos por camadas do tipo brucita [Mg(OH)₂], uma hidrotalcita natural, onde os cátions magnésio estão coordenados octaetricamente e possuem em seus vértices ânions hidroxila (Figura 7a). Estes octaedros compartilham suas arestas formando camadas planas e neutras de hidróxido de magnésio, que são mantidas juntas por ligações de hidrogênio. Quando nas lamelas, um cátion trivalente substitui o cátion magnésio, é gerada uma lamela de carga residual positiva, assim para que as mesmas sejam estabilizadas

é necessária que no domínio interlamelar tenha a inserção de espécies aniônicas hidratadas (Figura 7b).

Figura 7 - Representação estrutural da brucita (7a) e do HDL (7b).



Fonte: Adaptado de BENDINELLI, 2014; REBITSKI, 2015.

Os cátions metálicos utilizados na obtenção de HDL devem apresentar coordenação octaédrica e raio iônico na faixa de $0,50 - 0,74 \text{ \AA}$, para que a estrutura possa se formar semelhante à brucita. Através da variação dos cátions, da proporção entre estes e da substituição do ânion interlamelar, pode-se obter uma grande variedade de HDL. Também é possível sintetizar HDL contendo mais de um cátion bivalente e/ou trivalente, o que amplia as possibilidades quanto à composição (BENDINELLI, 2014; FONTES, 2016). Essa é considerada uma das principais características do HDL, alta capacidade de modificação da sua composição, gerando diferentes afinidades químicas nas camadas interlamelares quanto ao ânion a ser intercalado e a quantidade de água presente na estrutura do material. No quadro 02

encontram-se as combinações de cátions mais relatadas em artigos publicados e patentes que podem formar HDL (VIEIRA, 2009).

Quadro 2 - Combinações de cátions divalentes com cátions trivalentes que formam HDL.

| CÁTIONS | Divalentes (M^{2+}) | | | | | | | | |
|--|-------------------------|----|----|----|----|----|----|----|-----|
| | Mg | Ni | Zn | Cu | Co | Mn | Fe | Ca | Li* |
| Trivalentes (M^{3+}) | | | | | | | | | |
| Al | X | X | X | X | X | X | X | X | X |
| Fe | X | X | | | | | X | | |
| Cr | X | X | X | X | | | | | |
| Co | | X | | | X | | | | |
| Mn | | | | | | X | | | |
| Ni | | X | | | | | | | |
| Sc | X | | | | | | | | |
| Ga | | | | | | | X | | |
| Ti** | | | | | X | | | | |

* monovalente, **tetavalente

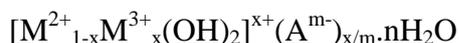
Fonte: Cardoso, 2006.

A razão entre os cátions di e trivalente (M^{2+}/M^{3+}) pode variar em uma faixa de 1 a 8, o que corresponde a uma faixa de x (na fórmula geral) de $0,5 > x > 0,141$. É esta razão que estabelece a densidade de carga na lamela do HDL e que influencia sobre as suas propriedades, como cristalinidade e troca iônica. De forma geral, a medida que esta razão aumenta, diminui a cristalinidade do material; o efeito é um pouco mais complexo sobre as propriedades de troca iônica: uma redução nesta razão, ou aumento da densidade de carga, dificulta cineticamente a troca e o contrário diminui a capacidade total de troca (CREPALDI & VALIM, 1998).

Durante obtenção desse material um fator importância a ser considerado é a capacidade de estabilização da estrutura lamelar pelo ânion. Quanto maior a capacidade de estabilização mais facilmente o HDL se formará. Não existem limitações para a intercalação de espécies de natureza aniônica que podem compensar as cargas positivas geradas pela substituição dos cátions das lamelas (FONTES, 2016). Como exemplo dessas espécies aniônicas têm-se os haletos (F^- , Cl^- , Br^- , I^-), os oxo-ânions (CO_3^{2-} , NO_3^- , SO_4^{2-} , Cr_4^{2-}), ânions complexos ($[Fe(CN)_6]^{4-}$, $[NiCl_4]^{2-}$), polioxo-metalatos ($V_{10}O_{28}^{6-}$, $Mo_7O_{24}^{6-}$), ânions orgânicos (carboxilatos, oxálico, succinico, porfirinas) etc. As reações de intercalação são, usualmente,

reversíveis e são também transformações pseudomórficas, uma vez que a integridade da estrutura cristalina “hospedeira” é mantida (AGUILERA, 2016).

A estrutura formada pelo empilhamento das camadas carregadas positivamente com ânions estabilizando as cargas são comuns a todos os HDL, sendo representados pela fórmula geral:



onde:

M^{2+} - cátion metálico divalente: Mg^{2+} , Ni^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Co^{2+} , Mn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+}

M^{3+} - cátion metálico trivalente: Al^{3+} , Fe^{3+} , Cr^{3+} , Co^{3+} , Mn^{3+} , Ni^{3+} , Sc^{3+} , Ga^{3+}

A^{m-} - ânion interlamelar de carga m- tais como: Cl^- , CO_3^{2-} , NO_3^{2-}

x - razão molar de $M^{2+}/(M^{2+} + M^{3+})$ e pode ter valores de 0,1 a 0,5

n- estado de hidratação do HDL

Nos últimos anos diversas metodologias de síntese de HDL têm sido relatadas, como a por co-precipitação (FONTES et al., 2016), troca iônica (ALCÂNTARA et al., 2010), reconstrução (BUKHTIYAROVA et al., 2019), método sol-gel [49,50], hidrólise da ureia (OGAWA & KAIHO, 2002), e síntese hidrotermal (HUANG et al., 2015). Apesar de ser fácil obtenção, muitos estudos vêm relatando a influência de alguns parâmetros que interferem diretamente na formação e na estrutura desses materiais (BUKHTIYAROVA et al., 2019; TAKEHIRA, 2017; MISHRA, DASH & PANDEY, 2018).

O método de obtenção mais comumente utilizado, co-precipitação (MANRÍQUEZ et al., 2015; MENG et al., 2017; TIAN et al., 2015; TYAGI et al., 2017; VARGA et al., 2016), as soluções aquosas de cátions metálicos di e trivalentes são utilizadas como iniciadores, onde são misturadas com uma solução básica, normalmente hidróxido de sódio (NaOH), que garantem o pH fundamental e propiciar a precipitação dos íons metálicos como HDL. A utilização do método de hidrólise de ureia parte do mesmo princípio, ou seja, a ureia fornece o valor de pH necessário, entretanto esse processo é controlado pela temperatura (FERENCZ et al., 2015; FERENCZ et al., 2016).

Dentre os íons mais utilizados, em ordem crescente referente à força de interação, encontram-se: $CO_3^{3-} \gg SO_4^{2-} \gg OH^- > F^- > Cl^- > Br^- > NO_3^- > ClO_4^-$. Devido a interação forte do ânion carbonato com as lamelas, torna-se quase impossível substituí-lo por algum outro ânion de interesse. Dessa forma, é de grande importância que durante o processo de intercalação, a síntese apresente um sistema inerte, evitando o contato do material em

formação com o ânion carbonato presente na atmosfera (FERENCZ et al., 2016; TIMÓTEO, 2018).

A alta capacidade de sorção do HDL é devida a sua estrutura aberta e grande área superficial. A biocompatibilidade, baixo potencial de toxicidade e alergenicidade, estabilidade química e um sistema de solubilidade dependente do pH da solução na qual seja submetido são propriedades essenciais da argila, incluindo-se, ainda, as suas características estruturais (BI; ZHANG; DOU, 2014; DJEBBI et al., 2016; GAO et al., 2014; TIAN et al., 2015).

2.4 TÉCNICAS DE SECAGEM NA OBTENÇÃO DE SISTEMAS CARREADORES DE FÁRMACOS

A operação de secagem é uma das mais antigas e comuns no meio industrial, ao mesmo tempo em que é complexa, uma vez que envolve a simultânea transferência de calor e massa. Ao longo dos anos, certas tecnologias deixaram de ter objetivo único de secagem e passaram a ser requeridas devido as mudanças que provocavam nos materiais, alterando morfologia, densidade, tamanho das partículas entre outras propriedades físicas (POOZESH& BILGILI, 2019; ALTAMIMI&NEAU, 2017).

2.4.1 *Spray-drying*

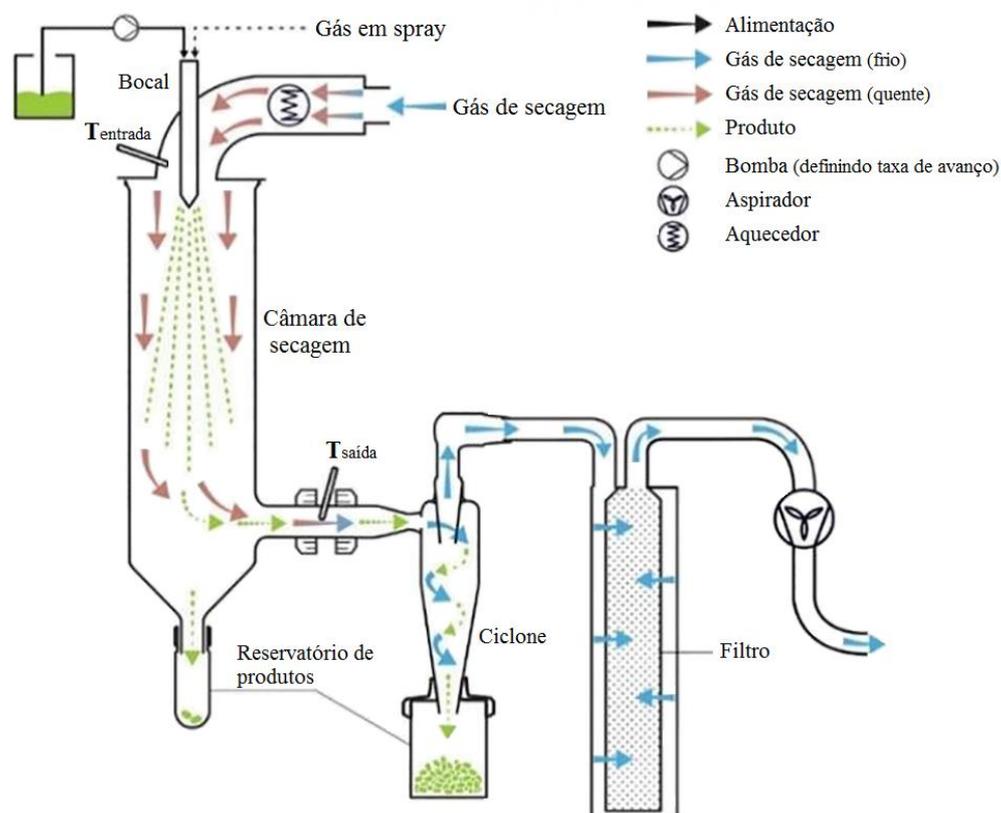
Spray-drying é um processo que consiste na secagem por pulverização de uma solução, suspensão ou emulsão em um pó seco, sendo altamente empregada pelas indústrias de alimento, medicamento e química (SCHUCK et al., 2016).

O processo de secagem basicamente envolve quatro etapas (Figura 8: 1) aquecimento do gás de secagem; 2) geração de gotículas; 3) secagem das gotículas e (4) coleta de partículas (ARPAGAUS et al., 2018). O equipamento permite uma rápida evaporação do solvente e, desta forma, a temperatura das gotículas pode ser mantida abaixo da temperatura do ar de secagem, justificando a sua segurança para materiais sensíveis ao calor (OLIVEIRA, PETROVICK, 2010).

Inicialmente a alimentação líquida é atomizada em um bocal. A redução no tamanho das gotículas leva a um grande aumento na área da superfície. Na câmara de secagem, o solvente nas gotículas pulverizadas é rapidamente removido pelo fluxo contínuo de um gás de

secagem quente. As partículas secas são formadas e separadas da corrente de gás e são coletadas em um recipiente de coleta (ARPAGAUS et al., 2018).

Figura 8 - Esquematização de equipamento spray-drier.



Fonte: ARPAGAUS et al., 2017 (adaptado)

Em nível de indústria farmacêutica, a secagem por pulverização oferece relevantes vantagens quando comparadas à outras técnicas, entre elas: qualidade consistente do pó ao longo de todo o processo de secagem; processamento contínuo controlável; ampla gama de projetos de secadores para aplicações e capacidades específicas; adequado para vários tipos de matérias primas, incluindo emulsões, pastas entre outros; uma técnica de baixo custo, escalonável e consistente para a formulação de fármacos de moléculas pequenas para a modulação da liberação; economia significativa de tempo/custo no processamento quando comparadas à liofilização (ZIAEE et al., 2019).

A utilização da técnica de *spray-drying* também permite a obtenção de partículas com forma e tamanho padronizados por meio de ajustes nas variáveis dos equipamentos; apresenta rapidez e bom rendimento, visto que as gotículas formadas conferem grande área superficial para que ocorram transferências de calor e massa; rápida dissolução dos materiais também

justificada pela área superficial dos produtos (OLIVEIRA; PETROVICK, 2010; ZHANG, 2008).

Há poucos estudos na literatura descrevendo tentativas de obtenção de microesferas de HDL por secagem por atomização. Julklang e colaboradores (2017) estudaram os efeitos da taxa de fluxo de ar, temperatura do ar de secagem, e taxa de pastoreio na distribuição de tamanho, morfologia e área superficial específica de aglomerados de HDL fabricados por spray. Os estudos demonstraram que microesferas menores foram obtidas com maior vazão de ar de pulverização.

Ao longo dos anos, diversos estudos têm mostrado a técnica como operação atrativa na indústria farmacêutica visando o aprisionamento de fármacos sensíveis, isolando-os fisicamente do ambiente, conferindo proteção contra a luz, oxigênio, água e até mesmo de outro constituinte de uma formulação (ZIAEE et al., 2019). Também é possível realizar a microencapsulação de moléculas bioativas visando a modulação da liberação de fármacos através do uso de polímeros específicos. Esta técnica permite também a obtenção de sistemas amorfos, o que é interessante do ponto de vista de produtos farmacêuticos, pois apresentam melhores propriedades de solubilidade, dissolução e compressão. Todavia, uma desvantagem de materiais de natureza amorfa é a sua instabilidade termodinâmica (ALVES, SANTANA, 2004).

2.4.2 Liofilização

A secagem por liofilização é uma técnica conhecida e utilizada na ciência e tecnologia por cerca de 90 anos para secagem de alimentos e produtos farmacêuticos. A palavra liofilização foi derivado da palavra "lyophile", proveniente do grego que significa "gosta do solvente" (o solvente é água na maioria dos casos), descrevendo a grande capacidade do produto seco de se reidratar novamente (HUA et al., 2010).

A técnica de liofilização é constituída pelos seguintes processos: Preparação ou pré-tratamento da amostra; resfriamento e solidificação do material; secagem por sublimação (secagem primária); secagem por dessorção (secagem secundária); condicionamento de embalagem e armazenamento.

A etapa de preparação ou pré-tratamento é necessária para certos materiais devido a características específicas, onde é preciso a adição de alguns aditivos antes da secagem por congelamento, a fim de manter sua atividade e obter boa qualidade dos produtos finais. Esses

aditivos são usados para estabilizar a preparação ou por razões terapêuticas, que podem ser classificados por suas funções como lioprotetor, emulsionante, agente de volume, antioxidante, agente tampão e outros.

O processo de resfriamento deve ser suficiente não apenas para congelar a água livre no material para formar gelo cristalino, mas também deve solidificar o outro constituinte do material, para formar um sólido não cristalino (sólido vítreo). Assim, o material solidificado após o resfriamento perfeito, irá conter sólido cristalino e sólido de estrutura de reticulação não cristalina. Essa etapa de resfriamento e solidificação é extremamente importante, onde a temperatura final e a temperatura de solidificação completa, deve ser menor que a temperatura eutética ou a temperatura de transição vítrea.

Na etapa da secagem primária, é eliminada cerca de 90% da água gerando um produto com cerca de 10% de umidade, à água é removida por sublimação que ocorre sob vácuo e com a adição de calor. A água presente dentro do material pode ser classificada em água livre (*freezable*) ou em água ligada, tendo a primeira a possibilidade de ser congelada, enquanto a segunda não. Geralmente, pensa-se que a água ligada é adsorvida pelo material (HUA, LIU & ZHANG, 2010).

Com a passagem das moléculas do estado sólido para o gasoso a temperatura do material congelado cai devido a consumação significativa do calor latente pelo processo de sublimação. Devido a isso, é preciso ofertar mais calor ao material, podendo ser por condução, convecção ou radiação. É possível observar o fim da secagem primária pelo aumento da temperatura do material num valor próximo ao ambiente ou visualmente pelo desaparecimento da interface entre a camada seca e a congelada (ORDÓÑEZ, 2005).

Posteriormente a secagem primária, na superfície da estrutura porosa e dentro dos grupos polares do material ainda existe água adsorvida não congelada. Na dessorção, segunda etapa da secagem, é requerida maior temperatura e quantidade suficiente de calor para a remoção da água adsorvida. Nessa etapa a temperatura é mais alta para que a água não congelada, e que está ligada, absorva o calor da dessorção e se torne água livre para que mais facilmente seja sublimada. No decorrer do processo de dessorção, a temperatura de aquecimento do material T_{w2} deve ser inferior à temperatura máxima permitida T_{max2} . A temperatura máxima T_{max2} é decidida pela natureza material (HUA, LIU & ZHANG, 2010).

O calor necessário para a realização da secagem secundária é calculada pela soma do calor de dessorção e calor de evaporação, valor final chamada de "calor de dessorção". Ao final do processo é preciso atingir o valor de umidade residual final (URF) ideal, um valor

muito alto ou muito baixo de URF irá implicar na qualidade do material. Valor muito alto não torna muito propício o armazenamento do produto em longo prazo e um valor muito baixo prejudica o material ativo. Comumente o valor da URF inferior a 5% é o mais recomendado (HUA, LIU & ZHANG, 2010; ORDÓÑEZ, 2005).

Há diversos modelos de equipamentos de liofilização e para diferentes aplicações. Essencialmente o liofilizador consiste em quatro partes: uma câmara de secagem, um condensador, uma bomba de vácuo e um compressor. A câmara de secagem é a parte do equipamento destinada a receber o material a ser seco, ela é construída para suportar as pressões e temperaturas do processo. Essa parte do equipamento está conectada diretamente ao condensador e este à bomba de vácuo (SADIKOGLU, OZDEMIR&SEKER, 2006).

O condensador trabalha sob temperaturas abaixo de -40°C . A superfície do condensador deve ser mantida a uma temperatura em que a pressão de vapor do gelo esteja abaixo da pressão total da câmara. Maior será a velocidade de secagem quanto maior foi o gradiente de temperatura entre o produto e o condensador. O calor deve ser fornecido ao material através do aquecimento das placas por um fluido circulante ou por resistência elétrica. A razão de remoção da umidade depende da taxa de fornecimento de calor ao produto. Portanto, depende da condutividade térmica do material bem como da sua espessura (SADIKOGLU, OZDEMIR&SEKER, 2006).

2.4.3 Sistemas Multiparticulados: *pellets*

Formulações de liberação prolongada são aquelas capazes de manter as concentrações plasmáticas do fármaco em níveis adequados por períodos de tempo estendidos, após administração oral. Dessa forma, estas formulações apresentam menor frequência de administração, mantem o fármaco em faixas terapêuticas, reduzem incidência de efeitos adversos e aumentam adesão do paciente ao tratamento. Formulações de liberação prolongada podem ser desenvolvidas como sistemas monolíticos convencionais ou sistemas multiparticulados (SONAWANE e PATIL, 2016).

Sistemas multiparticulados são formas farmacêuticas sólidas orais subdivididas em pequenas unidades funcionais que podem ser grânulos, pellets ou microcompromidos. Estas formas devem apresentar até 5mm de diâmetro e podem ser veiculadas em cápsulas, serem

submetidas à compressão para formar comprimidos ou podem ser veiculados sob a forma de suspensão oral (SHAN et al., 2017; ZERBINI e FERRAZ, 2011).

Sistemas multiparticulados apresentam vantagens terapêuticas quando comparados com os sistemas monolíticos. Possuem distribuição mais homogênea no trato gastrointestinal e, dessa forma, são capazes de incrementar sua absorção e reduzir flutuações nos picos plasmáticos; redução nas lesões no trato gastrointestinal por ação do medicamento, aumentando adesão do paciente ao tratamento, a eficácia e a segurança do tratamento (SHAVI et al., 2009).

Pellets consistem em partículas esféricas e de fluxo livre, com estreita faixa de tamanho, variando entre 500 e 2000 μ m, com variadas aplicações nas ciências farmacêuticas, obtidos pelo processo de aglomeração de pós finamente divididos (SONAWANE e PATIL, 2016; SHAVI et al., 2009; ALVAREZ et al., 2002; SRIAMORNSAK et al., 2007).

Por se tratarem de sistemas multiparticulados, os pellets apresentam vantagens tecnológicas e biofarmacêuticas frente aos sistemas monolíticos tais como (DUKIC-OTT et al., 2009; ZERBINI e FERRAZ, 2011):

- Tamanho de partícula reduzido, permitindo esvaziamento gástrico mais rápido e independente de estados nutricionais, reduzindo as variações intra e interindividuais no que se refere à biodisponibilidade do composto;
- Dispersão uniforme do fármaco em pequenas subunidades, reduzindo o risco de alta concentração local de princípio ativo e seus potenciais efeitos irritantes à mucosa gástrica;
- Possibilidade de revestimento devido às características morfológicas (superfície lisa, estreita distribuição de tamanho, morfologia esférica e baixa friabilidade), tornando cada pellet uma unidade reservatória do fármaco com mecanismos de liberação próprios a depender da natureza do material de revestimento;
- Possibilidade de desenvolver formulações com princípios ativos incompatíveis entre si, visto que podem ser separados em subunidades funcionais distintas;
- Boas propriedades de fluxo, garantindo boa uniformidade de conteúdo das formulações finais.

Várias metodologias podem ser utilizadas na obtenção de pellets, destacando-se granulação por leito fluidizado, extrusão-esferonização, spray-congealing, criopeletização,

peletização direta e revestimento de núcleos inertes (DUKIC-OTT et al., 2009; ZERBINI e FERRAZ, 2011).

Extrusão-esferonização é uma metodologia composta de múltiplas etapas para obtenção de partículas esféricas conhecidas como pellets. Este processo envolve mistura e uniformização de pós contendo fármaco(s) e excipiente(s); adição de um líquido de molhagem em proporções adequadas para a formação de uma massa úmida; passagem desta massa úmida através de malha de uma extrusora, formando materiais de morfologia cilíndrica; formação de partículas esféricas por meio do corte dos materiais cilíndricos no esferonizador, seguido de secagem (TRIVEDI et al., 2007; DUKIC-OTT et al., 2009).

Devido às características inerentes ao processo de extrusão-esferonização, nem toda massa úmida formada pela adição de líquido de molhagem pode ser submetida à esta metodologia. É necessário que formulação assuma uma coesão adequada que se mantenha uniforme durante extrusão. Além disso, é necessário que a massa apresente fluidez adequada e propriedades lubrificantes enquanto passa pelo aparato. Outro fator importante é que os materiais cilíndricos formados, como resultado da ação da extrusora, não devem aderir uns aos outros. Já no que se refere ao processo de esferonização, os pré-requisitos para a massa úmida são: possuir resistência mecânica e, ainda assim, serem frágeis o suficiente para serem cortados/quebrados no esferonizador; o extrusado deve apresentar plasticidade a fim de permitir a formação de cilindros esféricos pela ação do esferonizador (DUKIC-OTT et al., 2009; NEWTON, 2002; REYNOLDS, 1970; CONINE e HADLEY, 1970).

Durante o processo de obtenção dos pellets, é necessária a utilização de agentes esferonizantes, tais como celulose microcristalina. Além disso, a utilização de agentes agregantes, desintegrantes e outros excipientes também se faz necessária (SHAH et al., 2017). A utilização de celulose microcristalina na obtenção de pellets consiste em um processo bastante difundido nos meios de produção uma vez que este material confere, de maneira adequada, propriedades reológicas, coesão e plasticidade a fim de produzir partículas esféricas, resistentes, de baixa friabilidade, superfície uniforme e alta densidade. No entanto, a utilização de celulose microcristalina apresenta algumas desvantagens como liberação tardia de fármacos que apresentam baixa solubilidade em meio aquoso, incompatibilidade química com outros componentes da formulação, adsorção do fármaco nas fibras de celulose microcristalina, entre outros (DUKIC-OTT et al., 2009).

Dois modelos sugerem o comportamento da celulose microcristalina como adjuvante de extrusão-esferonização, modelo esponja e modelo de gel de cristal. O modelo “esponja”

sugere alta capacidade de absorção/adsorção de água pela celulose microcristalina de modo similar à uma esponja e, durante o processo de extrusão, a aplicação de forças mecânicas expelle a água das estruturas internas, assumindo função de lubrificante dos sistemas. Após extrusão, os materiais obtidos apresentam-se secos e frágeis, facilitando o processo de esferonização (FIELDEN et al., 1992; EK e NEWTON, 1998). O modelo de gel de cristal sugere que, na presença de água, a celulose microcristalina é clivada em subunidades menores e em cristais de tamanho coloidal durante granulação e extrusão. Os cristais e partículas porosas formam uma rede de gel coesiva e imobilizam o líquido de molhagem (KLEINEBUDDÉ e KNOP, 2007; KLEINEBUDDÉ, 1997).

2.4.4 Revestimento

O revestimento é uma operação unitária que consiste basicamente em um processo de secagem de uma suspensão polimérica aspergida continuamente sobre partículas em movimento. Esse processo é aplicado em uma grande variedade de produtos e é bastante utilizado em indústrias químicas, alimentícias, agrícolas e farmacêuticas. Uma das principais dificuldades do revestimento é conseguir que as gotículas aspergidas sejam secas sobre as partículas uniformemente a uma taxa adequada, formando uma camada lisa e contínua e evitando aglomeração (ALBANEZ, 2011).

O propósito de revestir formas sólidas está ligado diretamente a necessidade de alterar as propriedades químicas e/ou físicas das partículas, por exemplo, aparência, fluidez, friabilidade e outros. Além dessas aplicabilidades, o revestimento é destinado também a:

- Modificar ou retardar a liberação de fármacos;
- Colorir as formas sólidas;
- Ativar um catalisador;
- Proteção;
- Melhoramento da fluidez.

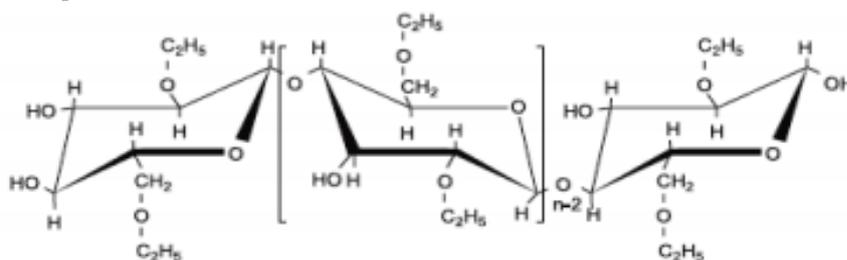
No caso da liberação modificada, o revestimento serve como uma barreira ao transporte do sólido, ou seja, o fármaco que antes seria dissolvido rapidamente após a ingestão, agora será recoberto por um polímero que forma um filme dificultando o transporte dessa massa, modificando a liberação do fármaco no organismo (SOUZA, 2013).

Revestimento de pellets tem diversas aplicações na indústria farmacêutica, desde fins estéticos até terapêuticos. Um bom revestimento de multiparticulados deve exibir uma cobertura uniforme e superfície lisa. Quando há formação de bolhas, descamação, rachaduras e áreas não revestidas, geralmente, resultarão em uma exposição precipitada do material ao meio externo. No caso de pellets revestidos para liberação prolongada, o fármaco será liberado de forma mais rápida do que o esperado (XU et al, 2015).

O preparo as suspensão polimérica é composto por um polímero, um corante e um solvente. Geralmente os polímeros utilizados para liberação prolongada são os que intumescem ou que são insolúveis em água. Polímeros derivados de celulose, como a etilcelulose, a hidroxietilcelulose (HEC), hidroxipropilcelulose (HPC) e a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) são os mais utilizados como revestimentos ou matrizes em formas farmacêuticas orais (NAVES, 2014).

A etilcelulose (EC), que possui estrutura química apresentada na Figura 9, é um polímero insolúvel em água, mas solúvel em muitos solventes orgânicos; é estável; inerte; sua película fina exibe boa flexibilidade e resistência mecânica em uma ampla faixa de temperatura; e embora a CE seja insolúvel em água, pode absorver água que tem sido largamente aplicado em formas farmacêuticas orais de liberação prolongada e/ou sítio-específica Este polímero pode ser utilizado como revestimento e em sistemas matriciais (MURTAZA, 2012).

Figura 9 - Estrutura química da etilcelulose.



Fonte: MURTAZA, 2012.

3 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir, estão descritos todo o material e metodologias empregados para o desenvolvimento deste estudo.

3.1 MATERIAL

O insumo farmacêutico ativo ACV foi doado pela Cristália[®], apresentando teor de 99,98% (lote34146/2017). O quadro 3 lista os reagentes utilizados durante toda a pesquisa, com suas respectivas fórmulas químicas, procedências e grau de pureza.

Quadro 3 -Reagentes utilizados na pesquisa.

| Reagente | Fórmula Química | Procedência | Pureza |
|-----------------------------------|---|---|-----------|
| Cloreto de Alumínio hexahidratado | AlCl ₃ .6H ₂ O | Sigma-Aldrich [®] | 99% |
| Cloreto de Magnésio hexahidratado | MgCl ₂ .6H ₂ O | Sigma-Aldrich [®] | ≥ 99% |
| Hidróxido de Sódio | NaOH | Sigma-Aldrich [®] | ≥ 98% |
| Ácido Clorídrico | HCl | Isofar [®] / Alphatec [®] | 37% |
| Álcool Isopropílico | C ₃ H ₈ O | Vetec [®] | >95% |
| Fosfato de potássio monobásico | KH ₂ PO ₄ | Alphatec [®] | 98% |
| Cloreto de Potássio | KCl | Química Moderna [®] | 99-100,5% |
| Celulose Microcristalina | - | Agilent Technologies [®] | - |
| Lactose | - | Agilent Technologies [®] | - |
| Etilcelulose | - | DOW [®] | 98-99% |
| Glicerina | C ₃ H ₅ (OH) ₃ | Fmaia [®] | >95% |
| Amarelo de Tartrazina | - | - | - |

Fonte: Autoria própria

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Síntese do MgAl-HDL

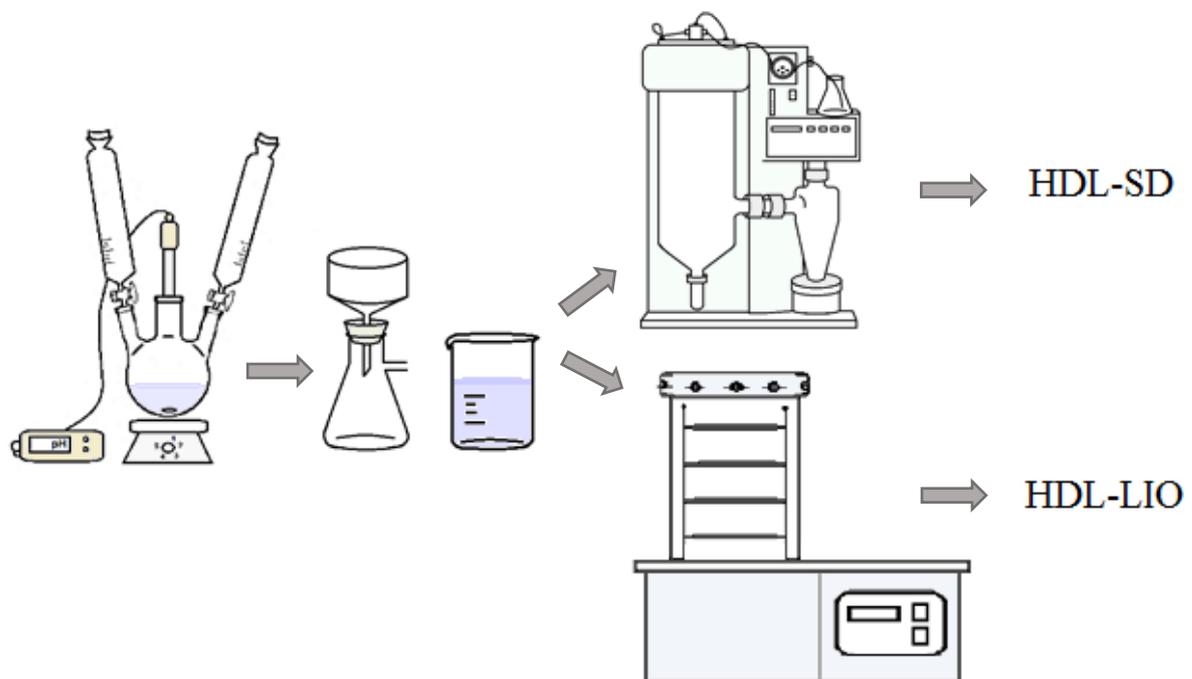
A síntese foi realizada através do método por co-precipitação a pH constante como descrito por Rojas (2015). A obtenção do MgAl-HDL consistiu na adição de soluções de

0,2M de cloreto de magnésio e 0,1M de cloreto de alumínio sobre uma solução de hidróxido de sódio a 1 M, com pH igual a 10 e fluxo de gotejamento de 1mL/min, com agitação constante a 25 °C e atmosfera de nitrogênio (Figura 9). Após término do gotejamento da solução de sais, a suspensão obtida foi mantida sob agitação por mais 1 hora e, em seguida, foi filtrada e ressuspensa em água ultrapura (Mili-Q System[®], MA, EUA) que foi anteriormente sonicada por 10 minutos (sonicador Limp Sonic[®]- LS-3D-2-X) para eliminação de CO₂, esse procedimento de lavagem foi repetido duas vezes. O material obtido foi submetido a diferentes técnicas de secagem: *Spray-drying* e liofilizador (Figura 10).

- *Spray-drying*: foi utilizado o equipamento Mini Spray Dryer B-290 (BÜCHI[®]), aplicando os seguintes parâmetros: 170°C para temperatura de entrada, 110°C para temperatura de saída, fluxo de ar e amostra de 10mL/min.

- Liofilização: as suspensões foram congeladas e submetidas à secagem no liofilizador (Liofilizador L101 Liotop[®]), nesse equipamento as condições utilizadas foram: temperatura inicial de -55°C, pressão de 35 µHg e 96 horas de permanência no equipamento.

Figura 10-Fluxograma geral para obtenção do HDL MgAl.



Fonte: Autoria própria

3.2.2 Obtenção dos sistemas MgAl-HDL com o Aciclovir

Foram obtidos diferentes proporções molares de sistema HDL:ACV, 1:2; 1:1; 2:1; 3:1, sendo nomeados de sistema 1, 2, 3 e 4, respectivamente. Inicialmente, os materiais foram pesados e pulverizados em gral e pistilo, em seguida, a mistura foi adicionada gradativamente a erlenmeyer contendo 350 mL de água ultrapura. Este sistema foi mantido sob agitação durante 1 hora para obtenção de uma suspensão que foi posteriormente submetida à secagem de acordo com a seção 3.2.1.

3.2.3 Obtenção de pellets utilizando sistema HDL:ACV

A partir do sistema mais eficiente na modulação da taxa de liberação do ACV foram produzidos *pellets* pelo método de extrusão e esferonização, seguindo o trabalho de Nasiri e colaboradores (2016), realizando adaptações nas concentrações dos excipientes.

Inicialmente, a massa úmida a ser extrudada foi preparada utilizando celulose microcristalina (CMC), lactose (LAC), etilcelulose (EC) e quantidade adjacente de sistema HDL:ACV (Quadro 4). A massa de excipientes associada ao fármaco foi projetada para totalizar 100 g antes do processamento.

Quadro 4 - Composição dos *pellets*.

| Insumo | Concentração (%) |
|--------------------------------|------------------|
| HDL:ACV | 8,89 |
| Celulose Microcristalina (CMC) | 61,11 |
| Lactose (LAC) | 10 |
| Etilcelulose (EC) | 20 |

Fonte: autoria própria.

Os insumos ainda secos foram misturados manualmente para melhor homogeneização do fármaco e após foram submetidos ao processo de molhagem, sendo utilizado 75 mL de água ultrapura. A adição do fluido de molhagem foi sendo realizada gradativamente, até que fosse obtido um material mais coeso, com aspecto ideal para ser extrudado. A massa obtida foi transferida para um granulador (Fabber-Primar, modelo 17901) com malha de tamanho de 1,5 mm e em seguida o material foi submetido ao processo de esferonização (Zelus - Modelo

ES-230), onde foram empregados os parâmetros de 700 rpm e 5 minuto de permanência sob giros. As esferas obtidas foram secas em estufa de circulação de ar, a 60°C, durante aproximadamente 1 horas.

Um segundo lote de pellets foi produzido sob as mesmas condições descritas anteriormente e, após ensaio de granulometria realizado, foi escolhido uma faixa de tamanho dos pellets para servirem como núcleos de revestimento com filme. Para isso, uma solução de revestimento foi preparada utilizando EC como polímero de revestimento, glicerina como agente plastificante, amarelo de tartrazina como corante, álcool isopropílico e água destilada (Quadro 5). Essa solução foi borrifada em spray sobre os núcleos que foram secos a altas temperaturas e circulação de ar.

Quadro 5 - Composição da solução de revestimento.

| Insumo | Concentração |
|-----------------------|---------------------|
| EC | 5% |
| Glicerina | 1 % |
| Amarelo de tartrazina | 0,5 % |
| Álcool isopropílico | 90 mL |
| Água destilada | q.s.p. 100 mL |

Fonte: autoria própria.

3.2.2.1 Determinação de Aciclovir nos sistemas e pellets obtidos

Para determinar o conteúdo de ACV nos sistemas obtidos, foram pesados 20 mg de sistema e, em seguida, dissolvidos em uma solução HCl 0,1 M com auxílio de balão volumétrico de 100 mL. Após completa dissolução, uma alíquota de 1 mL foi transferida para um balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com a mesma solução ácida. A solução final foi lida em espectrofotômetro Shimadzu® UV 1240 PC e a varredura foi obtida no intervalo de 200–600 nm utilizando a solução HCl 0,1 M para ajuste do zero. As absorbâncias foram coletadas na região de 254 nm e foram comparadas com uma curva analítica de ACV no intervalo de 1, 2,5, 5, 7,5, 10 e 12,5 µg/mL. Experimentos foram realizados em triplicata.

Para os sistemas multiparticulados o doseamento seguiu a mesma metodologia, com prévia operação de pulverização dos pellets, utilizando grau e pistilo, para desestruturar o formato esférico e expor o fármaco em solução.

3.2.2.2 Validação do método de doseamento de ACV em sistemas com HDL

Para verificar a capacidade do método utilizado em determinar concentrações de ACV em sistemas com HDL, foi realizada a validação analítica de acordo com as diretrizes descritas na RDC nº 166 de 2017. Foram avaliados parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez e limite de quantificação.

Para avaliar a linearidade, curvas analíticas (n=3) de um padrão de ACV foram preparadas utilizando concentrações entre 1 e 12,5 µg/mL, partindo de uma solução estoque preparada na concentração de 100 µg/mL, utilizando o HCl 0,1 M como solvente. As respostas obtidas foram comparadas com as concentrações teóricas em um modelo de regressão linear ordinário, onde foi determinado o coeficiente de determinação (R^2). A análise da variância (ANOVA) foi utilizada para avaliar o coeficiente angular, intercepto e a dispersão dos resíduos.

A precisão foi avaliada através da repetibilidade e precisão intermediária. Amostras na concentração de 5 µg/mL foram preparadas em sextuplicata em um mesmo dia e com o mesmo analista para a análise da repetibilidade e uma segunda sextuplicata foi preparada em um dia diferente (após 48 h) com auxílio de um segundo analista para avaliação da precisão intermediária. As respostas analíticas foram lidas e o desvio padrão relativo (DPR%) foi calculado como resultado.

Com a finalidade de verificar o efeito da matriz na resposta analítica, foi realizada comparação entre os coeficientes angulares da curva de calibração construída com a do ACV (n=3), preparadas da mesma forma que no método de linearidade, utilizando os mesmos níveis de concentração, com a curva de calibração do fármaco na presença da matriz. Para obtenção da solução que continha o fármaco na presença da matriz, inicialmente foi preparada uma solução estoque de ACV na concentração de 100 µg/mL, utilizando o HCl 0,1 M como solvente. Posteriormente foi adicionado 10,57 mg de HDL, degaseificado por 10 minutos e completado o volume.

A seletividade deve ser demonstrada por meio da comprovação de que a resposta analítica se deve exclusivamente ao analito, sem interferência da matriz, de impurezas ou de

produtos de degradação. Afim de verificar se o HDL pode causar tais interferências na análise quantitativa do fármaco, a seletividade foi comprovada através de análises espectrofotométricas realizadas por varredura (220 – 900 nm) da matriz de HDL em comparação com a análise do fármaco nas mesmas condições de análise.

A exatidão foi avaliada de acordo com o que é preconizado pela RDC 166/2017 para Insumos Farmacêuticos em matriz complexa. A partir da utilização de uma concentração baixa (2,5 µg/mL), uma média (7,5 µg/mL) e uma alta (12,5 µg/mL) de ACV, obteve-se uma curva com valores aceitos como verdadeiros. Utilizando as mesmas concentrações descritas acima, obteve-se uma curva. A partir do método da adição de um valor conhecido de ACV (10 mg) à amostra, que é composta por HDL em HCl 0,1 M. Tal parâmetro foi determinado a partir do percentual de recuperação do método e os resultados obtidos foram submetidos ao tratamento estatístico pelo Teste t Student.

A robustez foi verificada através das variáveis aplicadas ao método na variação do fabricante do solvente utilizado (Isopar[®] e Alphatec[®]) e alteração das soluções de trabalho (n=3) foram preparadas em concentrações baixa, média e alta, com pH 1,13, em HCl (fabricante: Isopar[®]). Foi realizada a alteração de parâmetros como o pH, que foi ajustado para o valor de 1,2. A partir do gotejamento de uma solução de NaOH 0,1M, assim como o fabricante (Alphatec[®]) do solvente utilizado. Para cada variação sofrida, foi realizada uma leitura para as concentrações supracitadas. Para os dados gerados, foi aplicado o teste ANOVA, como tratamento estatístico.

3.2.4 Caracterização do ACV, HDL, sistemas HDL:ACV e pellets

As técnicas para caracterização, descritas a seguir, foram utilizadas para avaliar as propriedades físico-químicas dos insumos isolados e dos materiais obtidos.

3.2.4.1 Espectroscopia de absorção no Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

As amostras foram analisadas utilizando espectrômetro IV PerkinElmer[®] (Spectrum 400) com dispositivo de Reflectância Total Atenuada (ATR) com cristal de selênio. Os espectros de IV foram obtidos utilizando uma média de 16 varreduras e resolução de 4 cm⁻¹ em comprimento de onda na faixa de 400 a 4000 cm⁻¹.

3.2.4.2 Difractometria de raios-X (DR-X)

As difrações de Raios-X das amostras, foram analisadas utilizando o equipamento Shimadzu modelo XRD-700, com radiação $\text{CuK}\alpha$ (1,5418 Å), equipado com ânodo de cobre. As amostras foram preparadas em suportes de vidro, com fina camada do material pulverizado, e analisadas no intervalo de $5 < 2\theta < 50^\circ$, a uma velocidade de 0,01°/s. O cálculo do espaçamento basal do composto lamelar foi obtido através da lei de Bragg:

$$n \lambda = 2 d \sin \theta$$

onde: n é a ordem de reflexão do pico ($n=1$), λ é o comprimento de onda da radiação de raios-X, d é a distância basal em ângstroms e θ é o ângulo de Bragg.

3.2.4.3 Análise Termogravimétrica (TG)

As curvas de TG foram realizadas por meio de termobalança (Shimadzu® TA-60WS), com atmosfera de nitrogênio de $100 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, sendo a massa da amostra de $5 \pm 0,5 \text{ mg}$ para o ACV, HDL e sistemas HDL:ACV, acondicionados em cadinho de platina e analisados na faixa de temperatura de 30 a 600 °C com razão de aquecimento $10 \text{ }^\circ\text{C} \cdot \text{min}^{-1}$ e com prévia calibração da termobalança utilizando um cadinho de platina vazio.

3.2.4.4 Análise de tamanho de partícula

Os tamanhos de partícula de MgAl-HDL, ACV e sistemas foram determinados através do equipamento Microtac® S3500. As amostras foram dispersas em acetona e agitadas no banho ultrassônico Unique. Mod USC-1400^a, com potência ultrassônica 135 watts, durante 3 minutos, antes de serem analisadas em quintuplicata. Esse equipamento emprega um sistema de três lasers operando em conjunto com um arranjo de fotodetectores que varre ângulos de espalhamento unificado da luz (UST- Unified Scatter Technique). Desta forma, a técnica utilizada se baseia no espalhamento que a luz aplicada sofre ao entrar em contato com matérias particuladas de diferentes tamanhos.

3.2.4.5 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Para análises morfológica do material foi utilizado microscópio eletrônico de varredura ambiental FEI, Quanta® 200 FEG. As amostras foram dispostas sobre stubs em fita

adesiva dupla de carbono e revestida com ouro (Bal-Tec SCD 050 Sputter Coater). Após a metalização, os pós foram examinados com ampliação de 450 ×, 5000 ×, 2000 × e 40000 ×.

3.2.4.6 Determinação granulométrica dos *pellets* por tamisação

Os *pellets* sem revestimento foram submetidos à determinação do tamanho de partícula, de acordo com a metodologia proposta pela Farmacopeia Brasileira 5ª Ed. (2010). Os materiais foram submetidos a vibrações através de um agitador de peneiras (tamisador Bertel[®]), durante 10 minutos, utilizando-se as malhas de abertura nominal de 850 µm, 600 µm, 425 µm e 250 µm. O tamanho médio das partículas foi determinado através de histograma de distribuição do material, através de cada tamis.

3.2.5 Concentração de saturação do fármaco cristalino

Foi avaliada a solubilidade de equilíbrio do ACV em água ultrapurificada e em condições experimentais próximas às do trato intestinal (tampão ácido com pH 1,2 e tampão fosfato com pH 6,8).

Em triplicata, excesso do fármaco foi adicionado às soluções. As suspensões foram agitadas a 150 rpm e mantidas a temperatura $37,0 \pm 1^\circ\text{C}$ por 7 dias na incubadora Shaker 5L 222 – Solab, para estabelecimento do equilíbrio das amostras. Posteriormente, foram filtradas através de filtro de membrana de 0,45µm e as soluções remanescentes foram adequadamente diluídas e analisadas por espectrofotômetro Shimadzu - UV mini 1240, em 254 nm.

3.2.6 Estudo de Dissolução *in vitro*

Para a realização do estudo de liberação, foram pesadas amostras dos sistemas HDL: ACV obtidos equivalente a 40 mg de ACV para cada amostra. Utilizou-se equipamento dissolutor Varian[®] modelo VK 7010, aparato 2 (pás) na velocidade de 75 rpm, o meio de dissolução foi tampão fosfato (pH 6,8), e temperatura de $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Durante o ensaio, alíquotas de 3 mL foram coletadas no intervalo de 5 minutos a 3 horas, centrifugadas e o sobrenadante analisado em espectrofotômetro UV/VIS Shimadzu[®] (Mini1240). As leituras de absorbância no comprimento de 254nm foram utilizadas para determinação da concentração de ACV liberado.

Para a dissolução dos *pellets* sem e com revestimento polimérico, a mesma metodologia para determinação do perfil de liberação do ACV nos sistemas HDL:ACV foi empregada. Uma massa equivalente a 40 mg do fármaco foi pesada e avaliadas em tampão ácido (pH 1,2) e tampão fosfato (pH 6,8). Desta forma, procedeu-se com o estudo de dissolução em triplicata dos materiais supracitados, com posterior determinação da concentração de fármaco, diante de cada coleta realizada em intervalos de 3 minutos a 20 horas, com posterior filtração dos conteúdos e utilização de curva analítica para quantificação.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir foram descritos os resultados e discussão acerca dos dados obtidos na síntese de MgAl-HDL, obtenção sistemas à base de ACV e HDL por *spray-drying* e liofilização e dos *pellets*.

4.1 OBTENÇÃO DA MATRIZ DE MgAl-CI-HDL, DOS SISTEMAS HDL:ACV E PELLETS

As sínteses por co-precipitação de MgAl-CI-HDL ocorrem a um pH constante no valor de pH 10, estando dentro da faixa de formação desse material que é entre pH 10 e 13,2, segundo Seron e Delorme (2008). As diferentes técnicas de secagem proporcionaram obtenção de pós com aspectos macroscópicos distintos, tanto para o HDL isolado (Figura 11) quanto para os sistemas obtidos nas diferentes proporções do IFA, o que acarreta em propriedades reológicas diferentes, principalmente para os materiais obtidos por liofilização que demonstraram elevada higroscopicidade.

Figura 11 - Aspectos macroscópicos dos materiais: A) HDL-SD; B) HDL-LIO.



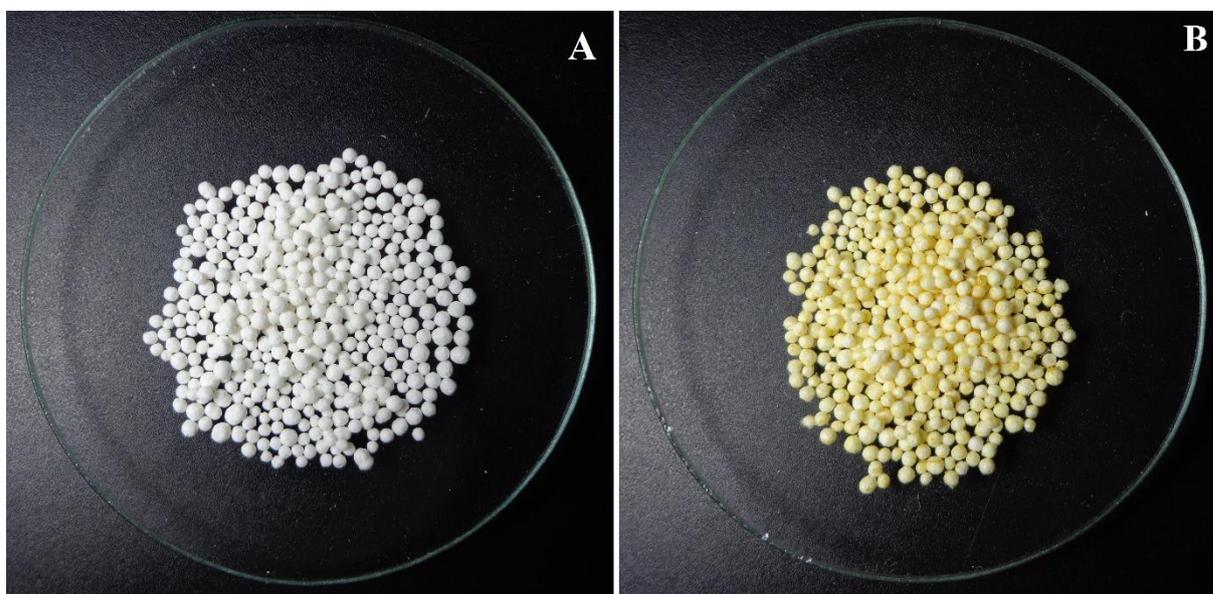
Fonte: autoria própria

O rendimento do HDL-LIO e sistemas obtidos pela mesma técnica mostrou-se superior em comparação aos materiais seco por nebulização, com porcentagem média de

91,70 e 71,48%, respectivamente. Esses resultados estão atribuídos aos aspectos de cada metodologia utilizada, no liofilizador as amostras ficam retidas no mesmo recipiente durante todo o processo de secagem, enquanto no spray-drier há perda de parte das amostras nos diferentes compartimentos do equipamento. Segundo estudo publicado Sosnik e Seremeta (2015), o rendimento esperado na obtenção de produtos por *spray-drying*, em escala laboratorial, é em torno de 20-70%, assim o material obtido pela técnica está de acordo com o preconizado na literatura.

A seleção de um sistema obtido por determinada técnica para produção dos *pellets* foi realizada em decorrência de posterior teste de *performance* e caracterizações realizadas. Os *pellets* sem revestimento e com revestimento foram produzidos com êxito, apresentando visualmente distribuição uniforme do tamanho das partículas e do filme polimérico de revestimento (Figura 12). Os *pellets* foram escolhidos como veículos devido a considerável atenção que vêm recebendo para a liberação controlada de fármacos pois, além de gerar facilidade no processo de revestimento dos núcleos devido ao seu formato esférico e textura superficial, podem ser associados em uma mesma unidade medicamentosa com distintos perfis de liberação (ALBANEZ, 2012; ALBERTINI et al., 2017).

Figura 12 - *Pellets* não-revestidos (A) e *pellets* revestidos com etilcelulose (B).



Fonte: autoria própria

4.1.1 Determinação de Aciclovir em sistemas com HDL e nos *pellets*

Na literatura e na Farmacopeia Brasileira (2010) o método descrito para doseamento do ACV é por CLAE. No presente estudo, a quantificação do ACV foi realizada por leituras espectrofotométricas na região do UV visível, devido a sua conveniência, baixo custo e acurácia, além de não ter sido reportado na literatura tal metodologia juntamente com argilas aniônicas.

Para realizar as análises quantitativa do ACV nos sistemas e nos *pellets*, foi preciso desfazer as lamelas do HDL utilizando solução HCl 0,1M para que as mesma não interfiram nas leituras espectrofotométricas, como encontrada por Timóteo (2018), onde os HDL promoveram uma interferência na absorção de luz do Praziquantel, acarretando em resultados de concentrações não fidedignos do fármaco.

Com base nos dados de concentrações obtidos através de curva analítica, pôde-se dosear o percentual do fármaco contido nos sistemas. Tomando por base as concentrações teóricas do insumo farmacêutico ativo (IFA) a partir do que foi inserido no ato da obtenção dos sistemas, os resultados obtidos podem ser observados na quadro 6.

Quadro 6 - Doseamento do ACV nos sistemas com HDL por espectrofotometria.

| AMOSTRA | CONCENTRAÇÃO TEÓRICA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) | CONCENTRAÇÃO CALCULADA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) | % DE ACV NOS SISTEMAS |
|---------|--|--|-----------------------|
| SD 1:1 | 10,0 | 8,46 | 42,32 |
| SD 2:1 | 6,66 | 5,135 | 25,70 |
| SD3:1 | 5,0 | 3,55 | 17,75 |
| SD 1:2 | 13,32 | 12,5 | 62,50 |
| LIO 1:1 | 10,0 | 10,99 | 54,96 |
| LIO 2:1 | 6,66 | 7,18 | 35,94 |
| LIO 3:1 | 5,0 | 5,44 | 27,22 |
| LIO 1:2 | 13,32 | 14,03 | 70,18 |

Fonte: dados da pesquisa.

O doseamento revelou que os sistemas HDL:ACV obtidos por *spray-drying* apresentaram um percentual do fármaco inferior ao valor encontrado nos sistemas obtidos por

liofilização em todas as proporções estudadas. Esse fato pode ser justificado devido a perda do material no momento da aspersão na forma de névoa de gotículas até a câmara de secagem, onde foi observado retenção dos sistemas na torre de coleta. De modo geral, o rendimento dos sistemas obtidos por essa técnica estavam dentro do esperado (SOSNIK; SEREMETA, 2015).

Os sistemas HDL:ACV obtidos pela técnica de liofilização mostraram menor percentagem de perda do material, visto que o mesmo, durante todo o processo fica retido em recipiente. Todos os sistemas obtiveram percentagem de fármaco maior que a concentração teórica, indicativo ao processo de sublimação que remove de forma mais eficiente a água interlamelar, resultando na perda da massa de HDL presente nos sistemas. Apesar de ser uma técnica que utiliza de temperaturas muito baixas e que muitas vezes causa danos devido ao estresse físico nas partículas, que podem desestabilizar os sistemas e acarretar na perda de suas propriedades, foi observado através do doseamento juntamente com as caracterizações, que isso não ocorreu nos sistemas testados não necessitando adicionar agentes crioprotetores (MORAIS, 2013).

A concentração de fármaco determinada para os *pellets* contendo ACV está no quadro 7. Foi evidenciado que os *Pellets* não-revestidos apresentaram valores inferiores ao esperado para a concentração de fármaco proposta, enquanto os *pellets* revestidos demonstraram valores superiores. Poderia aqui, ser questionada, a presença dos excipientes como agentes interferentes na absorvidade molar do IFA, principalmente sobre os pellets revestidos, cujo o teor elevado poderia estar associado a absorção de luz pelo polímero presente no filme de recobrimento. Todavia, a seletividade do método realizada para os placebos dos *pellets* demonstraram que a matriz não tem absorção de luz significativa no comprimento de onda do ACV. Assim, esses valores sugerem que a homogeneização do material (no ato da obtenção das massas a serem extrudadas) não tenha sido eficiente, gerando regiões mais concentradas de ACV, refletindo em *pellets* com teores diferentes do fármaco.

Quadro 7 - Doseamento do ACV nos *pellets* por espectrofotometria.

| AMOSTRA | CONCENTRAÇÃO TEÓRICA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) | CONCENTRAÇÃO CALCULADA ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) | % DE ACV NOS PELLETS |
|-------------------------------|--|--|----------------------|
| <i>Pellets</i> não-revestidos | 2,28 | 2,14 | 2,08 |
| <i>Pellets</i> revestidos | 2,28 | 2,85 | 2,7 |

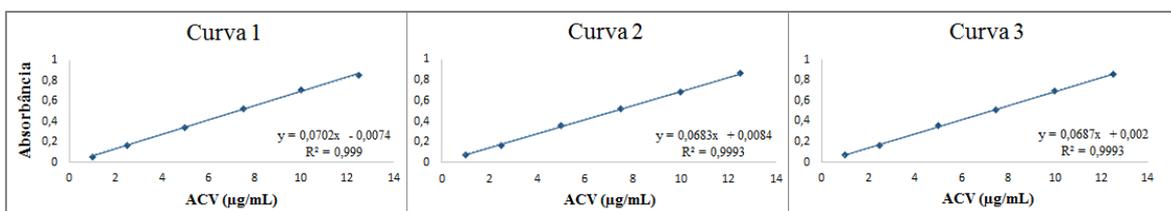
Fonte: dados da pesquisa.

4.1.1.1 Validação de metodologia analítica de doseamento de ACV nos sistemas com HDL

4.1.1.1.1 Linearidade

A linearidade de um método demonstra que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do fármaco na amostra, dentro de um intervalo especificado (LAVRA, et al. 2008). Ela foi comprovada nas concentrações propostas por meio da análise de regressão linear através do método dos mínimos quadrados. Após preparo e leitura das soluções em triplicata, obteve-se as três curvas como mostra a Figura 13.

Figura 13 - Triplicata da curva de calibração para o ensaio de linearidade.



Fonte: Dados da pesquisa.

Os resultados das três curvas foram tratados estatisticamente por Análise de Variância ANOVA, com nível de confiança de 95%. Foi verificado pelo valor do F calculado ser inferior ao F crítico, que não há diferenças significativas entre as três curvas, mostrando não ser necessário realizar ajustes (Tabela 1).

Tabela 1 - Resultados estatísticos ANOVA para linearidade.

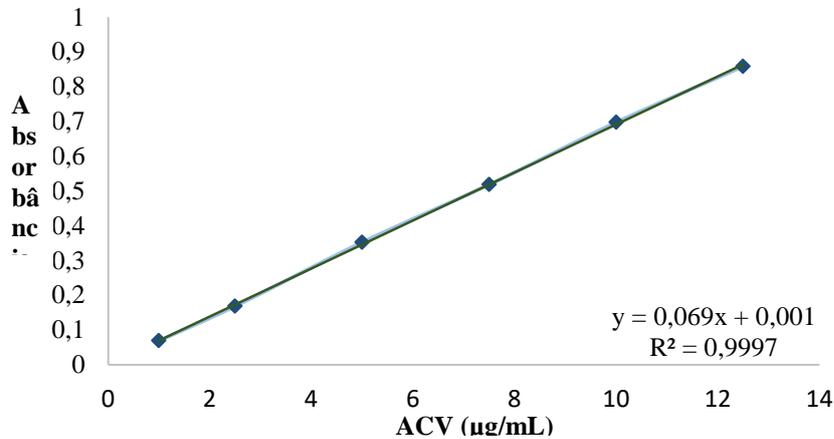
| | Curva 1 | Curva 2 | Curva 3 |
|------------------|-------------|------------------|-------------|
| Média | 6,413166667 | 6,413833333 | 6,4166 |
| Variância | 19,54071377 | 19,54277337 | 19,55786995 |
| F | | 0,0000010173707 | |
| F crítico | | 3,68232034367324 | |

Fonte: Dados da pesquisa

Foi obtida a média das três curvas e os pontos das mesmas foram plotados em um único gráfico como mostra a Figura 14. Assim, foi possível determinar o valor do coeficiente de correlação $r = 0,999849$ e o coeficiente de determinação $r^2 = 0,9997$. O valor de r^2 indica que 99,97% da variação total relacionado à média são explicadas pela regressão. A obtenção

desses resultados confirmam que há uma correlação linear entre a absorvância e a concentração das amostras.

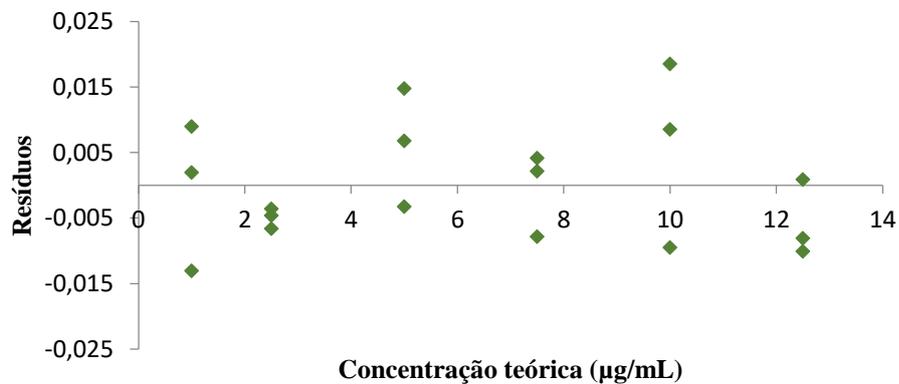
Figura 14 - Curva média do ensaio de linearidade.



Fonte: Dados da pesquisa.

Por meio da regressão linear foi possível realizar o cálculo dos resíduos da linearidade, onde demonstra os valores estimados e os dados observados e, avalia a suposição de que os erros experimentais seguem uma distribuição normal. De acordo com a Figura 15, pode-se comparar os resíduos com a distribuição normal, indicada pela reta, mostrando que os mesmos distribuíram-se em torno do zero, indicando que a dispersão é aleatória e sem tendência, apresentando resultados satisfatórios. Resultados semelhantes foram achados por Timóteo (2018) para doseamento de fármaco em matriz similar.

Figura 15 - Gráfico da dispersão dos resíduos do ensaio de linearidade.

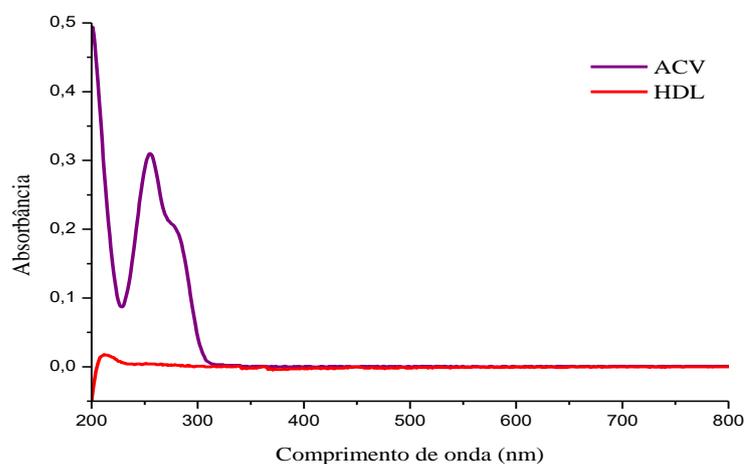


Fonte: Dados da pesquisa.

4.1.1.1.2 Seletividade

A seletividade de métodos quantitativos deve ser demonstrada a partir de uma tática que comprove a pureza da resposta obtida. Sendo esta gerada, exclusivamente, pela substância de interesse. Livre da contribuição de outros constituintes, como produtos de degradação, impurezas, ou a matriz. Com o objetivo de avaliar se o método é seletivo, foram obtidos os espectros Ultravioleta (UV), por varredura, do ACV e da matriz HDL (Figura 16). Foi possível verificar que a matriz estudada não apresenta interferência na absorção da luz do comprimento de onda do IFA.

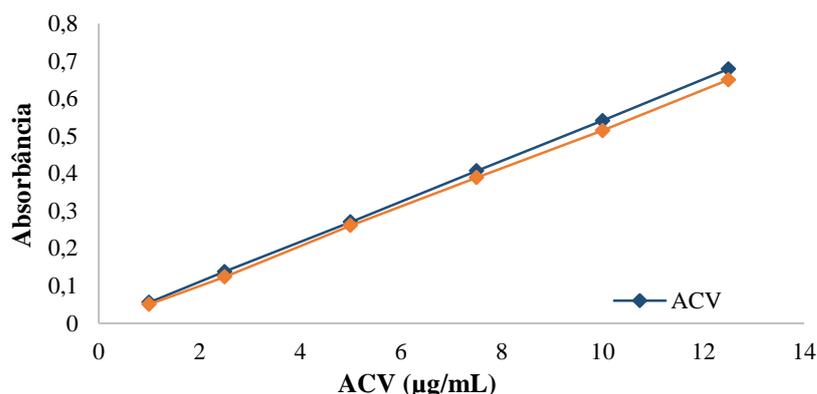
Figura 16 - Espectros UV obtidos para o ensaio de seletividade.



Fonte: dados da pesquisa

4.1.1.1.3 Efeito matriz

Por meio das curvas geradas a partir das soluções de ACV e ACV:HDL, obteve-se o resultado do efeito matriz, expresso pela Figura 17. Segundo a RDC 166/2017 da ANVISA, o efeito matriz tem como tática avaliativa, o paralelismo entre as retas. Fenômeno que presta indícios de que não há influência dos compostos que formam a matriz. A aplicação de uma ferramenta estatística é necessária para garantir que as retas são paralelas entre si.

Figura 17 - Paralelismo entre as retas das curvas no efeito matriz.

Fonte: Dados da pesquisa

Em concordância com o preconizado, o teste ANOVA demonstrou valor próximo de 1 (0,9998). Admitindo que estatisticamente, não há diferenças entre as duas curvas, sendo considerada iguais entre si. Desse modo, é legítimo que não há interferência por parte dos constituintes da matriz. Visto que, o paralelismo foi demonstrado estatisticamente. A partir da verificação de que as retas são paralelas entre si, é possível comprovar que há linearidade da substância de interesse na matriz HDL.

4.1.1.1.4 Repetibilidade

Na repetitividade, as seis amostras autênticas com concentração de 100%, sob as mesmas condições de teste, em um curto intervalo de tempo e preparadas pelo mesmo analista apresentaram Desvio Padrão Relativo (DPR) baixo (Tabela 2). É possível concluir que o método demonstra uma repetibilidade eficiente, sendo considerado preciso. Uma vez que, o DPR deve apresentar valores reduzidos, estando abaixo do percentual de 5% (ALVES et al., 2010; TIMOTEO, 2018).

Tabela 2 - Resultados para o ensaio de repetibilidade.

| Repetibilidade | | | | | | | | | |
|----------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|--------|----------|---------|
| Amostras | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Média | DP | DPR (%) |
| ABS | 0,264 | 0,266 | 0,267 | 0,264 | 0,269 | 0,269 | 0,2665 | 0,002258 | 0,847 |

Fonte: dados da pesquisa

4.1.1.1.5 Precisão Intermediária

A partir de análises que devem ser realizadas em dias diferentes, por operadores distintos, utilizando a mesma amostra, em um mesmo laboratório, a precisão intermediária é estabelecida quando há proximidade entre os resultados gerados (BRASIL, 2017). Os dados obtidos, a partir da utilização da concentração de 5,0 µg/mL, referentes à dias e analistas distintos, para a precisão intermediária, podem ser observados na Tabela 3.

Tabela 33 - Resultados para o ensaio de precisão intermediária.

| Precisão Intermediária | | | | | | | |
|-------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|--------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | Média |
| Analista 1 | 0,271 | 0,274 | 0,266 | 0,261 | 0,260 | 0,262 | 0,2656 |
| Analista 2 | 0,264 | 0,266 | 0,267 | 0,264 | 0,269 | 0,269 | 0,2665 |

Fonte: dados da pesquisa.

A conformidade entre os resultados foi confirmada a partir do emprego do Teste t Student, que mostrou similaridade entre as médias das variâncias analisadas. Portanto, foi possível determinar que o método é preciso, com o nível de 95% de confiança. Visto que, em comparação com o que está descrito em literatura, o teste t demonstrou a existência de variâncias equivalentes. Não havendo, desta forma, diferenças estatísticas significativas entre o período em que as análises são realizadas e os analistas que as executam.

4.1.1.1.6 Exatidão

Com o propósito de avaliar a exatidão do método, foram obtidos os percentuais de recuperação do analito adicionado à amostra, para as três concentrações utilizadas: 2,5 µg/mL, 7,5 µg/mL e 12,5 µg/mL. O que pode ser visualizado na Tabela 4.

Tabela 44 - Resultados do Teste t Student para o ensaio de exatidão.

| [] teórica(µg/mL) | [] média experimental(µg/mL) | Recuperação média (%) | Teste t Student | |
|------------------------------|--|--|------------------------|------------------|
| | | | t calculado | t crítico |
| 2,5 | 2,54 | 101,88 | - 2,8092 | 2,7764 |
| 7,5 | 7,69 | 102,57 | -5,6694 | 2,7764 |
| 12,5 | 12,59 | 100,75 | -2,2702 | 2,7764 |

Fonte: autoria própria

Para este parâmetro, foi aplicado o Teste *t* Student, do tipo bi-caudal. Com um nível de 95% de confiança. Através do teste estatístico, foi possível verificar que não há diferenças significativas entre as médias das concentrações que foram manuseadas pelo método em questão. Havendo concordância entre ambas. O que pode ser demonstrado a partir da comparação entre os valores do *t* calculado, para as respectivas concentrações, com o valor do *t* tabelado, que é superior. Diante do exposto, aceita-se que o método analítico para doseamento do ACV em matriz de HDL, é exato. Visto que o mesmo expressa uma relação entre a concentração média, que é determinada de forma experimental, e a concentração teórica.

4.1.1.1.7 Robustez

As variáveis aplicadas ao método, de acordo com as opções descritas na resolução 166/2017 da ANVISA, foram o pH e o fabricante do solvente utilizado. As concentrações médias obtidas a partir das concentrações teóricas (2,5 µg/mL, 7,5 µg/mL e 12,5 µg/mL), e o desvio padrão relativo podem ser observados para cada variável na Tabela 5.

Tabela 5 - Resultados obtidos para o ensaio de robustez.

| | | Robustez | | | |
|-------------------|----------|----------------------------|------------------------------------|----------------|------------------|
| Condição | | [] teórica ACV (µg/mL) | [] média calculada ACV (µg/mL) | DPR (Média) | % Recuperação |
| pH | 1,13 | 2,5 | 2,40 | 0,013 | 96 |
| | | 7,5 | 7,41 | 0,022 | 98,8 |
| | | 12,5 | 12,40 | 0,059 | 99,2 |
| | 1,2 | 2,5 | 2,61 | 0,095 | 104,4 |
| | | 7,5 | 7,63 | 0,024 | 101,7 |
| | | 12,5 | 12,71 | 0,047 | 101,6 |
| Fabricante | Isofar | 2,5 | 2,61 | 0,020 | 104,4 |
| | | 7,5 | 7,63 | 0,007 | 101,7 |
| | | 12,5 | 12,71 | 0,065 | 101,6 |
| | Alphatec | 2,5 | 2,37 | 0,040 | 94,8 |
| | | 7,5 | 7,07 | 0,144 | 94,3 |
| | | 12,5 | 11,67 | 0,075 | 93,4 |

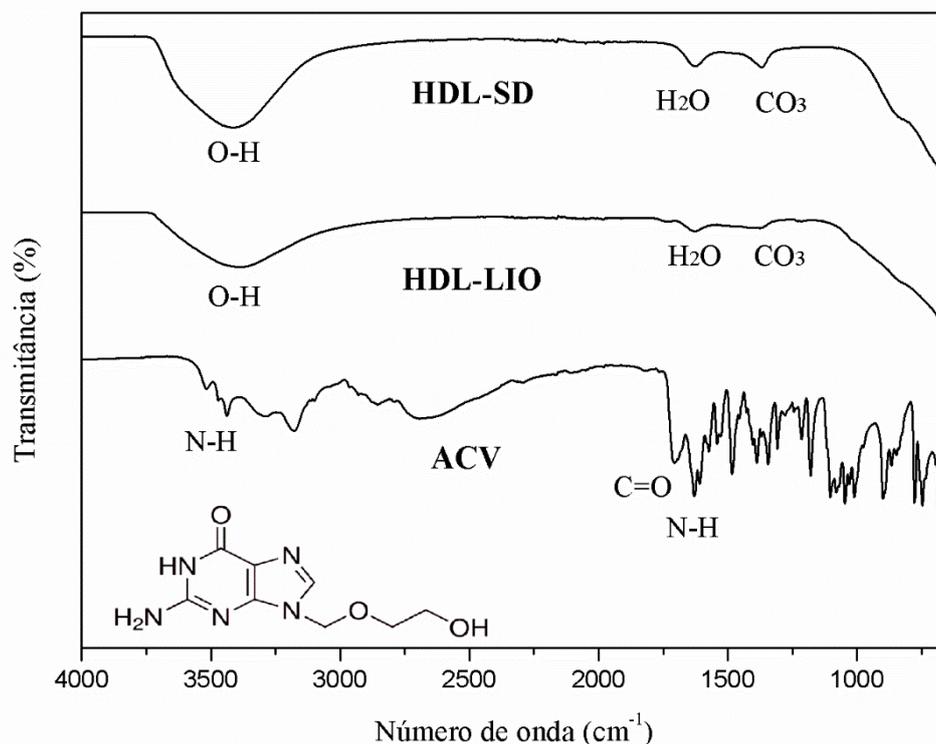
Fonte: dados da pesquisa

De acordo com o artigo 61 da RDC 166/17 da ANVISA, os resultados da robustez devem apresentar capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas. O método objetiva o doseamento de sistemas contendo HDL:ACV. Como visto nos DPR das amostras, todas possuem baixa variabilidade intrínseca. Logo, frente ao que foi exposto, o método em desenvolvimento é considerado robusto. Pois demonstrou que não houve diferenças significativas entre as médias, quando exposto às variáveis.

4.2 ESPECTROSCOPIA DE ABSORÇÃO NO INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER

A espectroscopia de infravermelho examina diferenças na influência da forma de estado sólido no nível molecular decorrente de alterações nas interações intramoleculares e intermoleculares. O ACV apresenta formas polimórficas I, II e V (anidras e hidratos) devido a sua capacidade de existir em múltiplas redes de ligação de hidrogênio, além de possuir uma cadeia lateral flexível. A principal região do espectro de infravermelho que apresenta diferenças entre as formas polimórficas é de 1600 a 1200 cm^{-1} (ZEPON; KANIS, 2013).

No espectro do ACV (Figura 16) foram identificadas ao todo 24 bandas, onde as principais foram evidenciadas e comparadas aos espectros das diferentes formas polimórficas de acordo com a literatura. Os estiramentos, dobramentos e deformações constantes na estrutura do fármaco correspondiam ao polimorfo V, que é a forma comercial. A forma V exhibe algumas bandas deslocadas nas regiões N-H e C dos espectros, isso é justificado porque a forma V é um hidrato, as moléculas de água presentes no meio pode formar ligações de hidrogênio, que levam a mudanças na banda da carbonila para menor número de onda do que nas outras formas polimórficas. Foram evidenciadas bandas intensas em 1709 e 1629 cm^{-1} , relativos à deformação axial da ligação C=O e à deformação angular da ligação N-H da amida. Em 1030, 1346 e 1484 cm^{-1} foi possível observar vibrações características do álcool primário, das ligações C-He do grupo metileno, respectivamente. As bandas em 3438 e 3516 cm^{-1} são referentes às deformações axiais simétrica e assimétrica do N-H.

Figura 18 - Espectro de infravermelho do MgAl-HDL e do Aciclovir.

Fonte: autoria própria

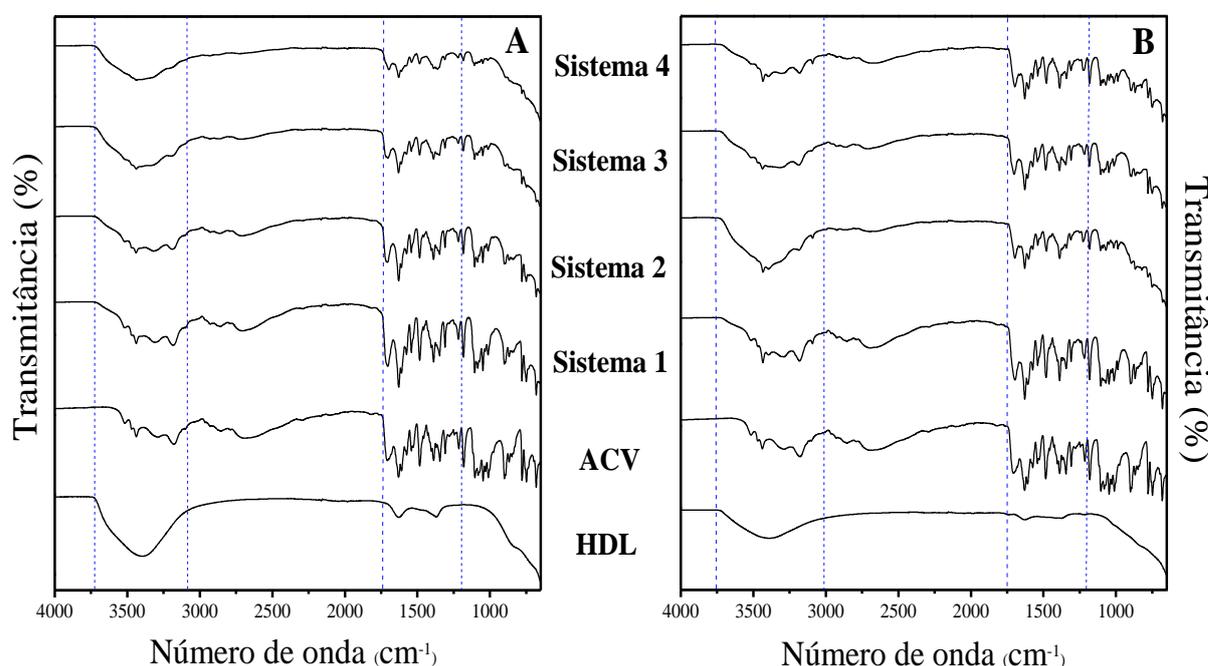
O espectro de absorção no infravermelho dos HDL-SD e HDL-LIO apresentaram bandas características do composto (Figura 16), comprovando que os dados de sua identificação espectroscópica são similares aos já citados na literatura (AGUILERA, 2016; FONTES, 2016).

Os diferentes métodos de secagem, apesar de produzirem materiais com aspectos visuais distintos, não provocaram nenhum efeito sobre a composição estrutural dos grupos funcionais. Em 3100-36700 cm⁻¹, foi evidenciado uma banda larga correspondente à deformação axial de O-H derivadas das hidroxilas do HDL e da água interlamelar, apresentando menor intensidade no HDL-LIO, fato justificado pelo menor percentual de umidade residual que a técnica de liofilização deixa na amostra, e assim pode contribuir no aumento da estabilidade dos materiais (FONTE et al., 2016). Em 1626 cm⁻¹ evidenciou-se uma banda pequena e com fraca intensidade característica da deformação angular de moléculas de água interlamelar. Em 1367 cm⁻¹, evidenciou pequena banda referente à vibrações correspondente a íons carbonato, oriundo do ar atmosférico residual, durante o processo de síntese do MgAl-HDL. Não foi possível observar bandas referentes às ligações

metálicas (Al-Cl e Mg-Cl) nos espectros HDL-SD e HDL-LIO, que normalmente aparecem entre 625-400 cm^{-1} .

Nos espectros dos sistemas SD e LIO (Figura 17a e 17b), foram observadas alterações de intensidade e sobreposição de bandas características de HDL e ACV. As bandas ao grupamento O-H das hidroxilas e da água interlamelar, observadas entre 3000-3700 cm^{-1} , diminuíram de intensidade nos sistemas obtidos, evento observado de maneira proporcional a quantidade de fármaco no sistema.

Figura 19 - Espectro de infravermelho dos sistemas, A) Spray-drying e B) liofilização.



Fonte: dados da pesquisa

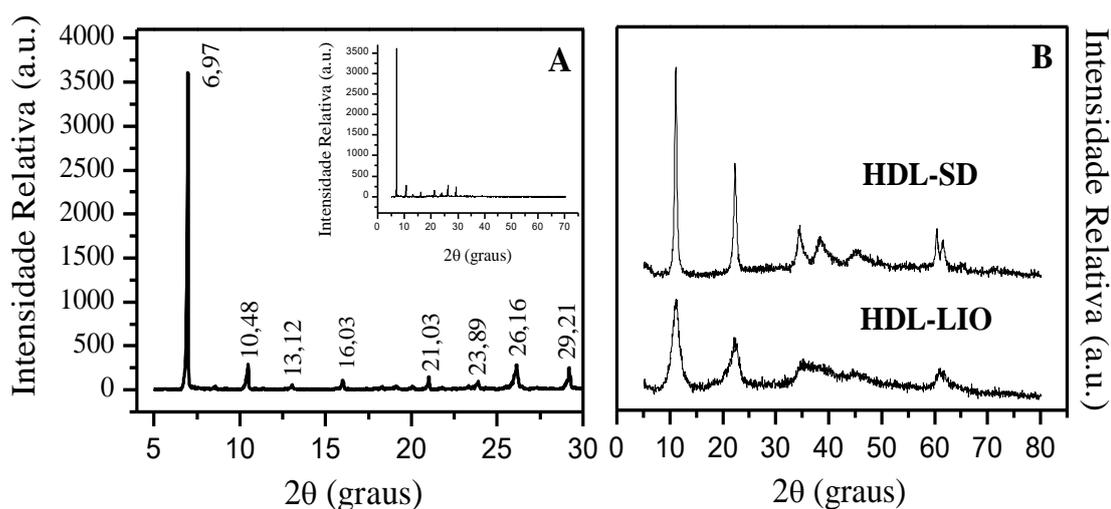
Nas regiões entre 1600-1200 cm^{-1} , principais regiões vibracionais do ACV, também apresentaram decaimento na intensidade das bandas, sendo mais observadas nos sistemas SD. Este evento pode ser justificado devido à aplicação das técnicas de secagem, que demonstrou doseamento de IFA inferior nesses sistemas quando comparado ao processo por liofilização. Também não foram evidenciados surgimento de novas bandas e nem deslocamentos nas regiões 1709 e 1629 cm^{-1} , que são relativos à deformação do grupamento amida do fármaco, que seria principal sítio de interação química com outros materiais. Nos estudos de Stulzer e colaboradores (2007), os espectros na região do infravermelho também indicaram que não ocorreram interações entre o ACV e quitosana, porém a presença do polímero foi capaz de modificar a liberação do fármaco e contribuir para aumentar a solubilidade do mesmo.

4.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS-X

A difração de raios X é uma técnica de análise não destrutiva, rápida e muito versátil, fornece informações relativas a dimensão, perfeição e orientação dos cristais. A técnica possibilita avaliar e medir os espaçamentos basais provenientes de argilominerais lamelares e vêm sendo utilizado como técnica essencial para avaliação da intercalação de fármacos em HDL (ALBERS et al., 2002).

A natureza cristalina do ACV pode ser evidenciada através de seus planos característicos (Figura 18a), com intensidades características ao polimorfo V desse insumo. Que se encontram em 2θ em $6,97^\circ$, $10,48^\circ$, $13,12^\circ$, $16,03^\circ$, $21,03^\circ$, $23,89^\circ$, $26,16^\circ$ e $29,21^\circ$, confirmando as características cristalinas do ativo (LUTKER et al, 2010).

Figura 20 - Difratomogramas: A) ACV e B) HDL obtidos por spray-drying e liofilização.



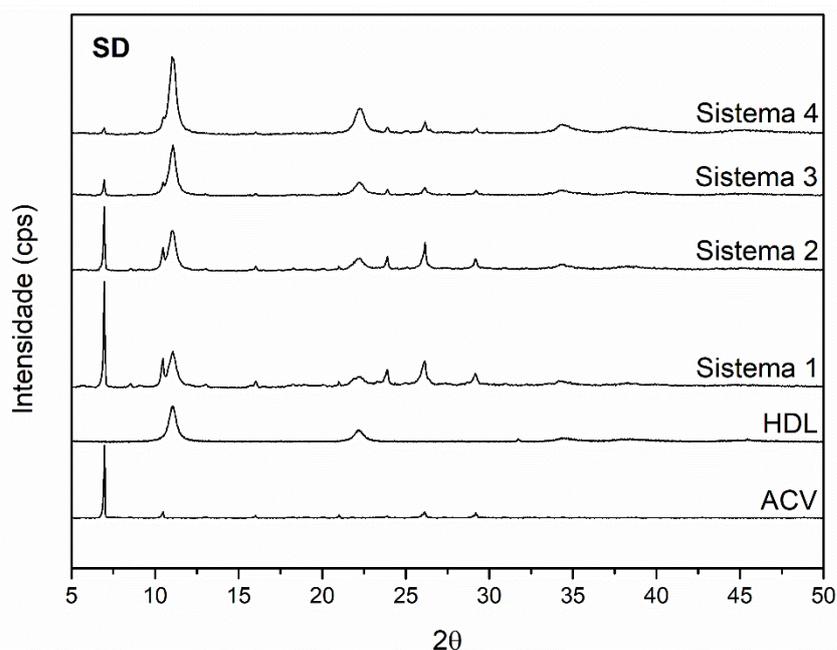
Fonte: autoria própria

HDL-SD e HDL-LIO (Figura 18b) exibiram um forte pico de reflexão no plano basal (003) a $2\theta = 11,06^\circ$, e outros picos com baixas intensidades nos outros planos (006), (012), (015), (018), (110) e (113). Os picos são característicos de materiais do tipo hidrotalcita, com simetria romboédrica (KOMARALA et al., 2018; CHOI et al, 2016). A formação de materiais bem cristalizados é evidenciada pelos dois picos intensos em 2θ , correspondentes aos planos (003) e (006) (TIAN et al., 2015). Para ambos materiais, o espaço interlamelar calculado a partir da equação de Bragg ($n = 2d \cdot \text{sen}$) foi de $7,99 \text{ \AA}$, que pode ser atribuído à intercalação de íons cloreto entre as lamelas inorgânicas (FORANO et al., 2013).

No difratograma do LDH-LIO, é possível observar que os picos estão menos intensos e mais largos quando comparados com os materiais obtidos por *spray-drying*. Este fenômeno pode ser um indicativo de obtenção de sólidos amorfos e/ou nanométricos (MORIYAMA et al., 2016). A redução da cristalinidade também pode estar relacionada com as condições de desidratação inerentes ao processo de secagem e síntese (TIAN et al., 2015).

Nos sistemas obtidos por *spray-drying* (figura 19), foi possível identificar os principais planos cristalinos referente ao fármaco ($2\theta = 6,97^\circ$) e ao HDL ($2\theta = 11,26^\circ$), no entanto com uma redução significativa na intensidade dos picos relativos ao ACV, nos sistemas com maior proporção de HDL (SD 4 e SD 3), esse fenômeno está relacionado a redução da cristalinidade do fármaco quando na presença do HDL, sendo indício de interação do fármaco e o HDL (VARGA et al., 2016).

Figura 21 - Difratograma do HDL, ACV e sistemas HDL:ACV obtidos por *spray-drying*.

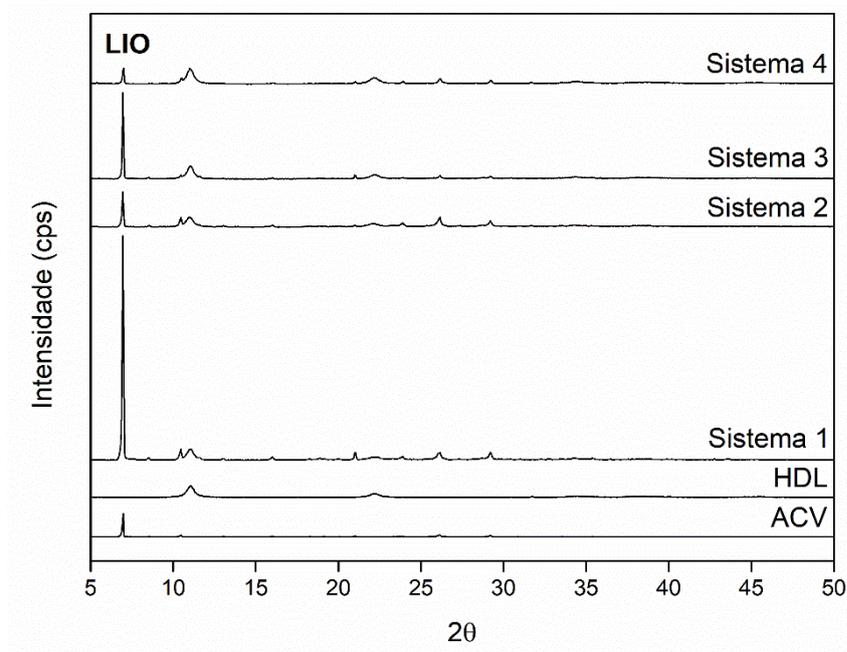


Fonte: dados da pesquisa

Os difratogramas dos sistemas liofilizados (figura 20) também apresentaram os picos característicos dos dois materiais, ACV ($2\theta = 6,97^\circ$) e HDL ($2\theta = 11,26^\circ$), no entanto não foi observado redução da cristalinidade do fármaco na presença do HDL, os picos referentes ao ACV permanecerem com intensidades iguais ou superiores ao do HDL, perfil bastante diferente do observado nos sistemas obtidos por *spray-drying*, sendo indicativo de que não

houve uma interação capaz de gerar uma desorganização na estrutura cristalina do fármaco nos sistemas.

Figura 22 - Difratoograma do HDL, ACV e sistemas HDL:ACV obtidos por liofilização.



Fonte: dados da pesquisa

O fenômeno de intercalação normalmente se reflete em uma variação na posição do pico de maior reflexão do HDL, com aumento no espaçamento interlamelar, calculado a partir da equação de Bragg. Esse evento não foi observado nos sistemas obtidos por nenhuma das técnicas, uma vez que o valor do espaçamento basal do carreador não sofreu variações significativas, que represente o aprisionamento completo do fármaco nas lamelas do material.

Na ausência de intercalação, sugere-se que as alterações observadas nos difratogramas dos sistemas SD representam uma possível adsorção do fármaco na superfície do HDL, fato que pode ocorrer devido a capacidade que o carreado HDL tem de adsorver materiais não ionizados e carregados positivamente, através de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio formadas através das hidroxilas presentes em sua superfície (TAKAHASHI & YAMAGUCHI, 1991).

4.3 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA

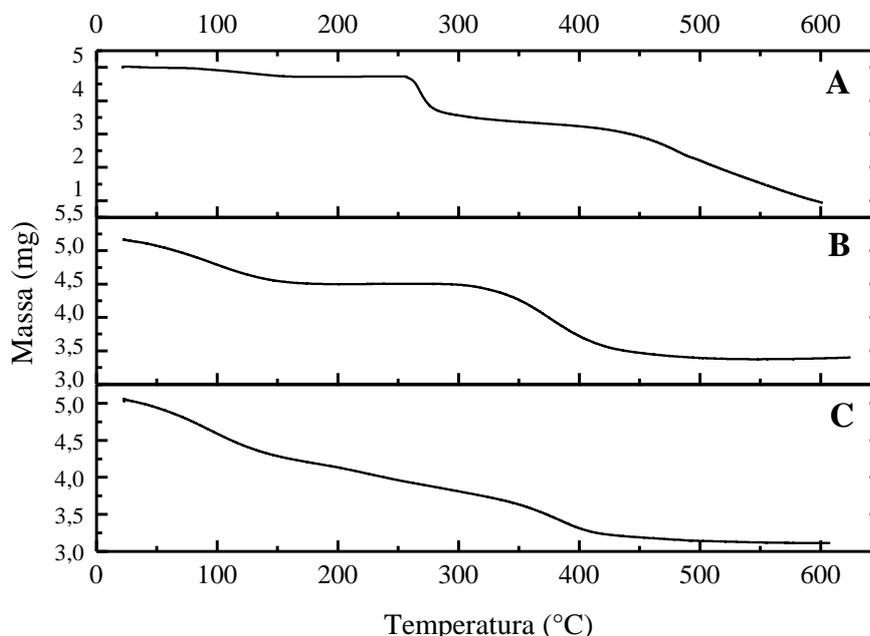
A Termogravimetria (TG) tem sido amplamente utilizada nas ciências farmacêuticas para caracterização de insumos, avaliação de pureza, compatibilidade de formulação

farmacêutica, identificação de polimorfismo, estabilidade e avaliação da degradação térmica de fármacos frente a matrizes complexas (FERRAZ, 2017; OLIVEIRA et al., 2011).

A curva do TG do ACV (Figura 23a) evidenciou um evento discreto com perda de massa de 5,23 % entre 91-154 °C, referente ao teor de água presente na amostra. A decomposição térmica do fármaco isolado foi observada em dois eventos, o primeiro ocorreu na faixa entre 262-276 °C ($DTG_{pico}=266,77$ °C) com perda de massa de 24,27 %, onde há inicialmente formação da guanina, e o segundo evento ocorreu entre 450-496 °C com decaimento de massa de 31,58%. Esses dados estão de acordo com resultados relatados por Stulzer e colaboradores (2007).

Na curva TG do HDL-SD (Figuras 23b) foi possível observar três eventos principais de perda de massa. O primeiro entre 56-139 °C, referiu-se à perda de água presente na superfície do material, com diminuição de massa de 14,34 %. Um segundo evento foi observado entre 310-344 °C com perda de 13,88 %, esse decaimento está relacionado a perda de água presente entre as lamelas do material. E um terceiro evento foi identificado entre 380-406 °C, com perda de massa de 9,62 %, referente a desidroxilação do material e remoção do ânion cloreto.

Figura 23 - Curvas TG: A) ACV, B) HDL-SD e C) HDL-LIO.

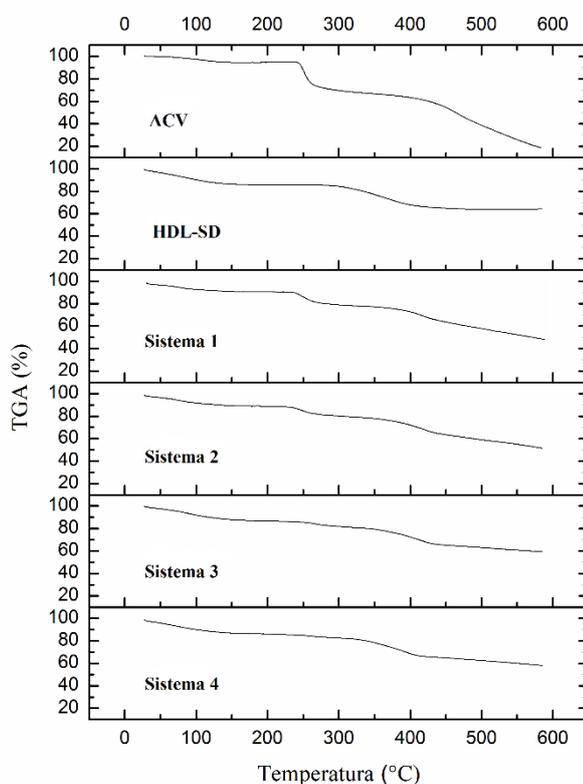


Fonte: dados da pesquisa

A curva termogravimétrica do HDL-LIO (Figura 23c) também apresentou eventos característicos para esses materiais. Os eventos de perda de água superficial (47-120 °C) provocou decaimento de massa de 16,81 %. A partir de então, a amostra apresenta decaimento lento e de baixa resolução no segundo evento, que é melhor evidenciado pela curva DTG. Esse evento está relacionado a perda de água ligada ou interlamelar (199-235 °C) apresentando perda de 5,06 % da massa da amostra. Assim, foi possível observar que o HDL-LIO apresentou quantidade de água adsorvida superior ao HDL-SD devido a higroscopicidade do material, já a porcentagem da água interlamelar refletiu a real capacidade da técnica de liofilização de deixar o materiais mais secos. O evento referente a desidroxilação das lamelas e remoção do ânion cloreto ocorreu entre 345-402 °C com perda de 11,04 %.

As curvas dos sistemas SD estão dispostas na figura 24. Foram observados picos de fusão do fármaco nos sistema 1 (DTG_{pico}=259,27 °C) e sistema 2 (DTG_{pico}=264,87 °C), evidenciando leve antecipação do evento para o sistema 1 com decaimento de 12,57 %, maior porcentagem de perda de massa entre os sistemas devido a maior presença de fármaco (Tabela 10). Para esses sistemas também foram observados eventos provenientes do HDL, localizados em torno de 400 °C, com perda de massa 17,68 e 16,16 %, respectivamente.

Figura 24 - Curvas TG sistemas obtidos por spray-drying.



Fonte: dados da pesquisa

Foi possível observar nos sistemas obtidos por *spray-drying*, que a diminuição da porcentagem de perda de massa, relativos a degradação do ACV, foi inversamente proporcional a quantidade de HDL presente nas amostras. E que no sistema 4 esse evento foi mais tardio, com $DTG_{pico}=280,13$ °C, sugerindo que nessa proporção o HDL foi capaz de promover certa estabilidade ao fármaco, como encontrado por Wei e colaboradores (2014) em estudos de estabilidade térmica, onde o HDL promoveu melhora significativa na degradação do naproxeno.

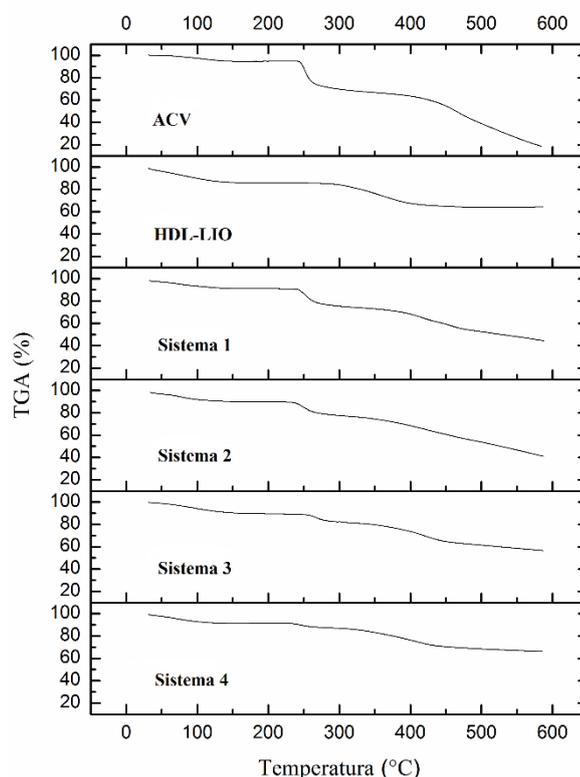
Tabela 6 5- Perfil térmico das curvas de TG do HDL-SD, ACV e Sistemas SD.

| Material | Perda de Água | | Degradação do ACV | | | Degradação do HDL | |
|----------|---------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|-------------------|---------------------------|--------------------|
| | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) | DTG_{pico} (°C) | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) |
| HDL-SD | 56-139 | 16,81 | - | - | - | 380-406 | 9,62 |
| ACV | 91-154 | 5,23 | 262-276 | 24,27 | 266,77 | - | - |
| SD 1 | 82-112 | 6,86 | 256-276 | 12,57 | 259,27 | 406-440 | 17,68 |
| SD 2 | 76-107 | 5,26 | 256-276 | 7,74 | 264,84 | 409-448 | 16,16 |
| SD 3 | 59-115 | 11,43 | 258-273 | 4,65 | 263,40 | 373-428 | 15,51 |
| SD 4 | 59-113 | 12,16 | 272-286 | 2,48 | 280,13 | 365-420 | 16,73 |

Fonte: dados da pesquisa

As curvas dos sistemas LIO estão dispostas na figura 25. O evento de desidroxilação do HDL-LIO (345-402 °C) foi antecipado quando comparado ao HDL-SD (380-406 °C), fato justificado pela menor porcentagem de água interlamelar, o que reduz a estabilidade e manutenção da estrutura das lamelas. Devido a isso, o HDL nos sistemas não foi capaz de retardar o evento de degradação do fármaco, não promovendo melhora da estabilidade térmica, mesmo nas maiores proporções do carreador.

Assim como nos sistemas SD, foi possível observar nos sistemas obtidos por liofilização (Tabela 7), que a diminuição da porcentagem de perda de massa, relativos a degradação do ACV, foi proporcional a quantidade de HDL presente nas amostras, porém em nenhum sistema foi observado o tardamento do evento térmico de degradação do fármaco.

Figura 25 - Curvas TG sistemas obtidos por liofilização.

Fonte: autoria própria

Tabela 7 - Perfil térmico das curvas de TG do HDL-LIO, ACV e Sistemas LIO.

| Material | Perda de água | | Degradação do ACV | | | Degradação do HDL | |
|----------|---------------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------|
| | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) | DTG _{pico} (°C) | Faixa de Temperatura (°C) | Perda de massa (%) |
| HDL-LIO | 48-120 | 14,34 | - | - | - | 345-402 | 11,04 |
| ACV | 91-154 | 5,23 | 262-276 | 24,27 | 266,77 | - | - |
| LIO 1 | 72-130 | 6,7 | 263-278 | 14,11 | 266,99 | 409-472 | 16,63 |
| LIO 2 | 83-108 | 5,08 | 253-276 | 11,22 | 265,15 | 398-461 | 17,40 |
| LIO 3 | 84-109 | 8,04 | 258-277 | 6,37 | 266,31 | 384-442 | 16,37 |
| LIO 4 | 60-115 | 7,86 | 250-272 | 3,50 | 261,06 | 367-444 | 15,68 |

Fonte: dados da pesquisa

4.4 TAMANHO DE PARTÍCULAS POR GRANULOMETRIA À LASER

As medidas de tamanho de partícula é uma das análises de caracterização estrutural que fornecem importantes parâmetros de um material isolado ou de associações a outros materiais (TIMÓTEO, 2018). Essa medida pode influenciar em muitos aspectos de uma preparação, tanto em relação à fabricação quanto à qualidade e desempenho do produto final,

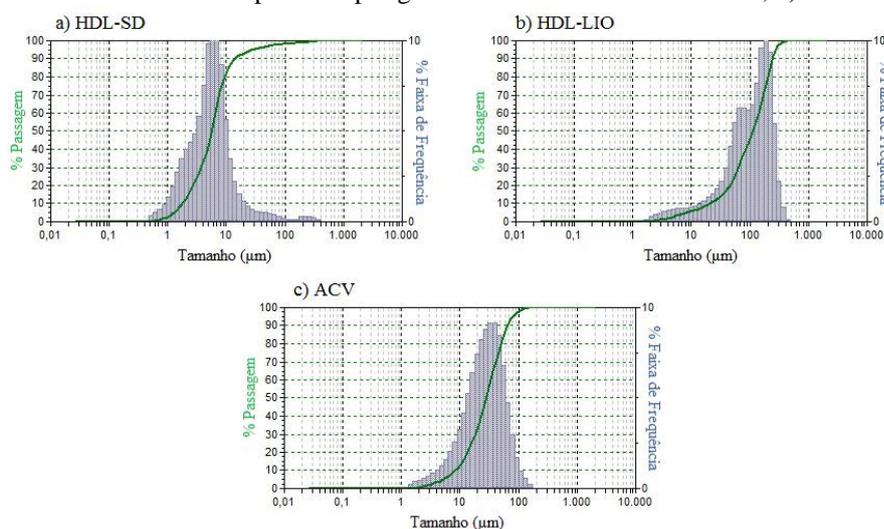
interferindo na distribuição, homogeneidade, estabilidade e fluidez de formulações (PAGANO et al., 2018). Outro ponto relevante é que o tamanho de partícula está relacionado ao condicionamento da taxa de liberação e cinética do medicamento devido à capacidade de molhabilidade e dispersibilidade das partículas do fármaco (GOMES et al., 2015).

Os gráficos da distribuição granulométrica das amostras de HDL-SD e HDL-LIO estão representadas pelas figura 26a, 26b. O HDL-SD apresentou cristais de tamanho variando entre 1 e 27 μm , com tamanho médio de partícula de 11 μm , representado por mais de 90% da fração da amostra utilizada na análise. O valor do tamanho médio das partículas foi dez vezes inferior ao encontrado por Aguilera (2016), que secou o material em estufa e utilizou técnica adicional de pulverização através de grau e pistilo para uniformização das partículas, demonstrando que a técnica de secagem por nebulização é eficiente para a obtenção de micropartículas de distribuição de tamanho relativamente estreita no qual é possível por meio da alteração de parâmetros do equipamento (ASPARGUS et al., 2018).

O HDL-LIO apresentou cristais de tamanho variando entre 20 e 274 μm , com tamanho médio de partícula de 124 μm , equivalente a mais de 90% da fração analisada. Esses dados corroboram com estudos desenvolvidos por Seville e colaboradores (2002), que indicou que o tamanho de partícula de materiais submetidos a liofilização eram maiores em comparação com o tamanho de partícula de materiais secos por nebulização.

O gráfico da distribuição granulométrica de ACV isolado, representado na figura 24c, apresentou tamanhos de partículas variando entre 8 e 79 μm , com tamanho médio de partícula de 33,5 μm , representado por pouco mais de 90% da fração da amostra utilizada.

Figura 26 - a) Gráfico de tamanho de partícula por granulometria a laser do HDL-SD, b) HDL-LIO e c) ACV.



Fonte: autoria própria.

No geral, os sistemas nebulizados apresentaram tamanhos variando entre 1 e 32 μm , com tamanho médio em torno de 9 μm , já os líofilos variaram entre 3 e 54 μm com tamanho médio em torno de 20 μm . Assim, pode-se aferir que o spray-drying promove a formação de partículas mais padronizadas em relação ao processo de liofilização, condizentes com o tamanho da gotícula formada durante atomização no equipamento.

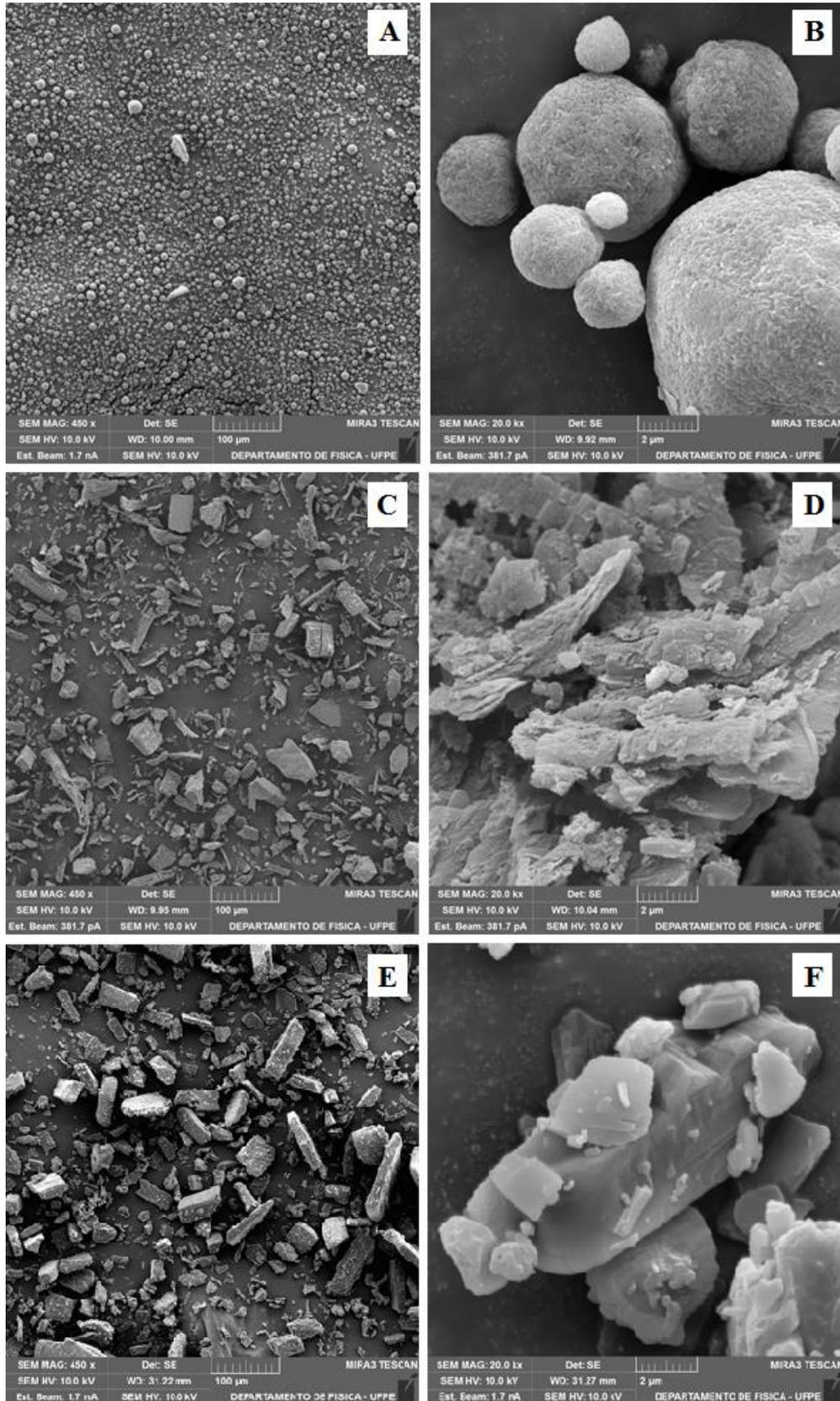
4.5 MICROSCOPIA ELETRONICA DE VARREDURA

Os efeitos causados na morfologia dos pós por diferentes métodos de secagem foram observados a partir de micrografias demonstradas na Figura 25. Estudos demonstraram que mudanças em parâmetros da síntese como pH e a utilização de diferentes metodologias de secagem são responsáveis pela alteração nas características morfológicas dos hidróxidos duplos lamelares (ASPARGUS et al., 2018; GU et al., 2018; SAHA et al., 2017).

Através das fotomicrografias do HDL-SD, é possível observar um sólido de morfologia esférica, de superfície predominantemente rugosa, com aspecto denso, estando em conformidade aos obtidos por Julklang e colaboradores (2017). Nandiyanto & okuyama (2011) sugerem que partículas esféricas possuem maior estabilidade estrutural, como demonstrado no ensaio de análise térmica do HDL-SD e, que o aspecto denso das partículas é devido ao caráter inorgânico dos materiais. A utilização de temperaturas mais altas (170°C/110°C, mesma aplicada na metodologia deste trabalho) durante o processo também é responsável pela manutenção de uma morfologia esférica, visto que temperaturas mais baixas são responsáveis pela perda da forma devido ao fenômeno de “encolhimento” (ALAMILLA-BELTRÁN et al., 2005). A presença de rugosidades na superfície do HDL pode ser justificada pela deposição de nanopartículas individuais de HDL devido às diferenças de cargas entre elas, unindo-as por forças de London ou ligações de hidrogênio (PREVOT et al., 2011).

As fotomicrografias do HDL-LIO demonstram a formação de sólidos de morfologias e tamanhos irregulares, com superfície rugosa. Na liofilização, a taxa de resfriamento é capaz de influenciar o tamanho e formato dos cristais de gelo em formação e dos poros. Com isto, o método de resfriamento pode favorecer a formação irregular dos materiais secos (VASS et al., 2019). Moriyama e colaboradores (2016) utilizou a técnica de liofilização na secagem de HDL, obtendo materiais de aspecto irregular, não homogêneo e com densidade menor. O aumento do volume do pó foi justificado pela aglomeração de nanopartículas, facilitando operações unitárias como mistura e moagem.

Figura 27 - Micrografias: A) e B) HDL-SD; C) e D) HDL-LIO; E) e F) ACV.



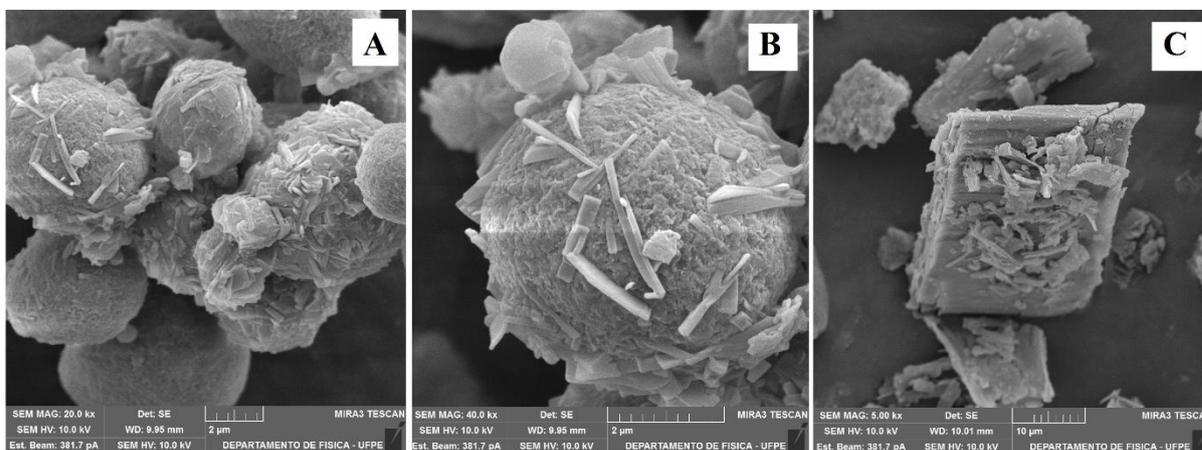
Fonte: dados da pesquisa

Afim de avaliar a morfologia e verificar indícios de interação entre a argila e o fármaco, foram obtidas micrografias em diferentes aumentos da proporção HDL:ACV 2:1 tanto para o sistema obtido por *spray-drying* (Figura 28a e 28b) quanto para o sistema obtido por liofilização (Figura 28c).

No sistema obtido por *spray-drying* é possível observar a manutenção da morfologia esférica com superfície rugosa. No entanto, aderido à superfície do HDL, encontram-se partículas do fármaco onde leva a formação de conglomerados. No sistema obtido por liofilização, é possível observar a manutenção da morfologia irregular do HDL conforme já demonstrado nas micrografias do material isolado, com distribuição larga do tamanho dos aglomerados e formatos bem heterogêneos, dados compatíveis com os observados na técnica de tamanho de partícula a laser.

Além da capacidade de interagir com moléculas orgânicas no por meio da intercalação destas no espaço interlamelar, as micrografias demonstraram que o HDL também apresenta a capacidade de adsorver em sua superfície estes agentes, com manutenção de suas propriedades de excipiente inteligente em formulações (TIMOTEO, 2018; AGUILERA, 2016; FONTES, 2016; TAKAHASHI e YAMAGUCHI, 1991).

Figura 28 - Micrografias: A) e B) HDL:ACV obtido por Spray-drying; C) HDL:ACV obtido por liofilização.



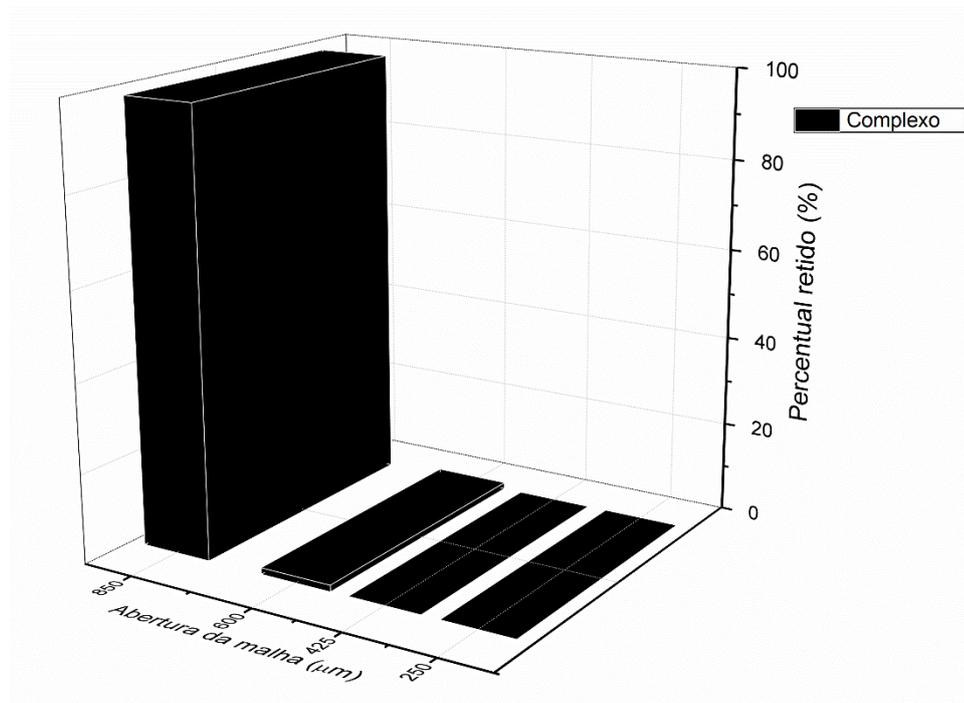
Fonte: dados da pesquisa

4.6 DETERMINAÇÃO GRANULOMÉTRICA DOS PELLETS POR TAMISAÇÃO

A distribuição granulométrica dos pellets foi obtida em um conjunto de tamises que variaram entre 850 – 250µm. Como pode ser observado na Figura 29, mais de 90 % das esferas produzidas na formulação estudada, possui tamanho compreendido > 850 µm.

A partir desse estudo, foi possível selecionar os *pellets* retidos nessa malha, o que facilitou o aproveitamento dos mesmos para aplicação do revestimento, testes de quantificação e estudo de dissolução.

Figura 29 - Histograma de distribuição dos pellets nos tamises com malhas padronizadas.



Fonte: dados da pesquisa

4.7 CONCENTRAÇÃO DE SATURAÇÃO DO FÁRMACO CRISTALINO

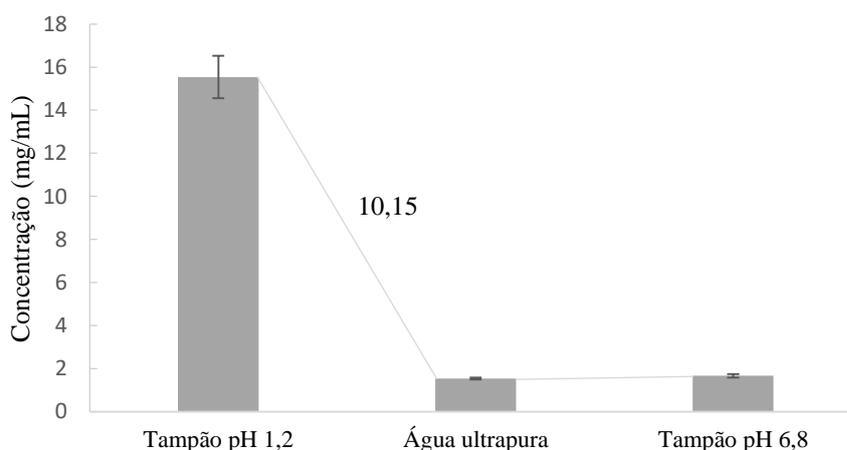
A avaliação da solubilidade de um composto é de extrema importância para a caracterização do fármaco, sendo fundamental, por exemplo, nos estudos de tecnologia farmacêutica que visam o melhoramento de algumas propriedades e, no desenvolvimento biofarmacotécnico de formulações.

Experimentalmente, o ACV cristalino apresentou uma solubilidade aquosa relevante, cerca de $1,53 \pm 0,04$ mg/mL (Tabela 8). No meio ácido observou-se que esse valor aumentou em aproximadamente dez vezes (Figura 30), isso pode ser justificado pelo caráter anfótero da molécula, que apresenta dois grupos ionizáveis, um pKa básico (2,3) referente a desprotonação do anel imidazólico e um pKa ácido (9,3) referente ao oxigênio ligado ao anel pirimídico.

Tabela 8 - Solubilidade do ACV em diferentes meios.

| Meio | Solubilidade ACV (mg/mL \pm DPR) |
|-----------------------|------------------------------------|
| Tampão ácido pH 1,2 | 15,54 \pm 0,98 |
| Água ultrapurificada | 1,53 \pm 0,04 |
| Tampão fosfato pH 6,8 | 1,66 \pm 0,07 |

Fonte: Dados da pesquisa

Figura 30 - Extensão da solubilidade do ACV.

Fonte: Dados da pesquisa

Segundo a Farmacopeia Brasileira (2010) o ACV é considerado ligeiramente solúvel em água e, alguns dados da literatura mostram solubilidade variável. Através de estudos de solubilidade de alto rendimento, Obata e colaboradores (2004) enquadraram o ACV pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) como classe IV, apresentando baixa solubilidade e baixa permeabilidade. E outros estudos, como o Vaithianathan e colaboradores (2016), mostram o mesmo fármaco como SCB classe III, alta solubilidade e baixa permeabilidade.

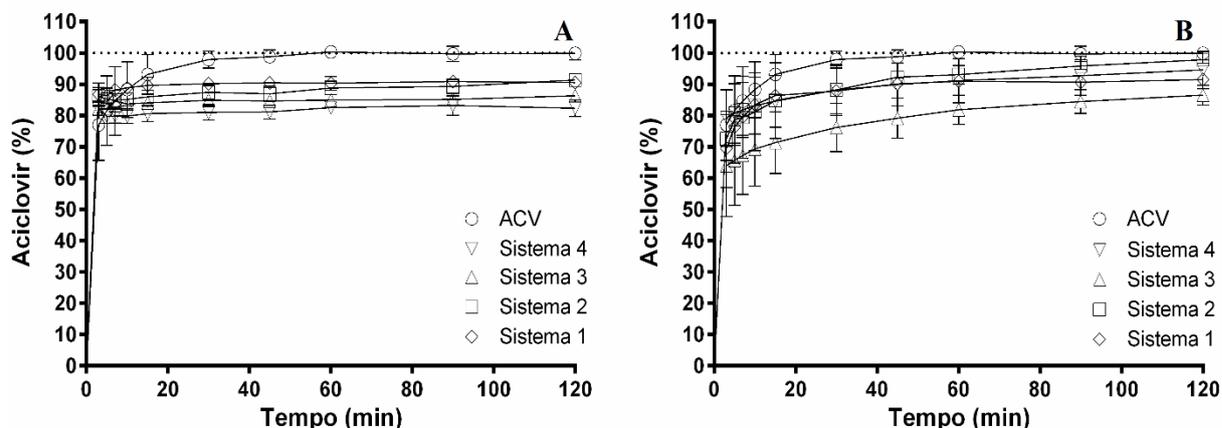
Diante das controvérsias apresentadas, Arnal e colaboradores (2008) revisaram a solubilidade de ACV nas formas farmacêuticas sólidas orais disponíveis no mercado (200mg, 400mg e 800mg). Foi observado que as divergências na classificação estão relacionadas com a concentração apresentada, onde medicamentos com dosagens de 200mg a 400mg são pertencentes à classe III enquanto os de 800mg são da classe IV, o mesmo acontece com o Ganciclovir. Isso pode gerar alterações na biodisponibilidade e está relacionado mais à saturação de absorção do que com a solubilidade do fármaco (Butler & Dressman, 2010).

O ACV por possuir a capacidade de formar uma rede intermolecular devido as ligações de hidrogênio formadas e possuir cadeia lateral flexível, apresenta formas polimórficas que exibem diferentes propriedades físico-químicas, incluindo ponto de fusão e solubilidade. Lutker e colaboradores (2011) em estudo, caracterizaram as 6 formas polimórficas do ACV e demonstraram que fatores como solventes e temperatura de cristalização são as principais formas de alterar um polimorfo em outro. Esse estudo foi essencial para os posteriores estudos de tecnologia farmacêutica e pré-formulação, pois alterações nas características do cristal interferem na biodisponibilidade e na estabilidade química e física do fármaco e geram importantes implicações importantes na preparação da forma farmacêutica, podendo afetar, por exemplo, a formação dos comprimidos pelas mudanças nas propriedades de fluxo e de compressão (ANSEL, POPOVICH & ALLEN, 2013).

4.7 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO

Os estudos de dissolução são uma importante ferramenta de controle de qualidade nas várias etapas dos processos de desenvolvimento de fármacos. Estes estudos são realizados geralmente em condições sink, que preconiza a utilização de um volume do meio de dissolução com no mínimo três vezes o necessário para formar uma solução saturada do fármaco (TOMASI, 2013). Neste trabalho, foram utilizadas amostras que apresentavam quantidades equivalentes a 40mg de ACV, nos estudos de dissolução, significando que, se completamente dissolvido num volume de 500 mL apresentariam concentrações abaixo do ponto de saturação, estabelecendo, desta forma, a condição sink.

A Figura 31 exibe a comparação dos perfis de dissolução do ACV puro e do mesmo nos sistemas obtidos a partir da técnica de *spray-drying*. Nos primeiros 15 minutos da dissolução, o fármaco puro atingiu cerca de 90% de dissolução como já citado anteriormente, enquanto nos sistemas variaram entre 68% e 80% de liberação, sendo o sistema 3 o que apresentou menor liberação inicial. Mais adiante em 45 minutos o mesmo atingiu 75% de liberação, enquanto os demais sistemas SD alcançaram entre 85 e 90% de dissolução e mantiveram-se assim até o final do teste, o SD3 atingiu os 85% de liberação apenas após 90 minutos.

Figura 31 - Perfis de liberação do ACV isolado e dos sistemas: A) liofilização e B) spray-drying.

Fonte: Dados da pesquisa.

Nos sistemas obtidos através das duas técnicas a liberação do IFA não atingiu 100%, esse comportamento pode estar relacionado ao equilíbrio químico alcançado, característico da reação de troca entre os íons que interagem com o HDL e com o meio de dissolução, este fenômeno também é observado por Allou e colaboradores (2019) quando avaliou liberação de Norfloxacin na mesma argila estudada.

Todos os sistemas preparados através de Liofilização apresentaram uma liberação rápida, bastante próxima ao do fármaco isolado, enquanto os sistemas SD foram capazes de modificar o perfil de liberação do IFA de forma com que não ocorresse de maneira imediata. A modulação da liberação do ACV nesses sistemas é um indicio do favorecimento da técnica de *spray-drying* sobre a adsorção do ACV na superfície do HDL, esse resultado pode ser correlacionado as imagens obtidas no MEV onde é possível ver a vasta área esférica e rugosa onde o fármaco aparece adsorvido, como também no DRX onde as intensidades dos picos referentes ao fármaco apareceram reduzidas nesses sistemas SD.

Além da capacidade de incorporar espécies negativas na região interlamelar através de troca iônica, os HDL podem adsorver materiais não ionizados e carregados positivamente, através de interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio formadas através das hidroxilas presentes na sua porção superficial (TAKASHI, YAMAGUCHI, 1991), essa característica pode explicar a adsorção do ACV na superfície do HDL, uma vez que esse fármaco é uma molécula anfótera, desta forma mesmo não havendo intercalação nas lamelas do HDL, as interações formadas entre o ACV e a superfície do material no fenômeno de adsorção foram capazes de modular a liberação nos sistemas SD.

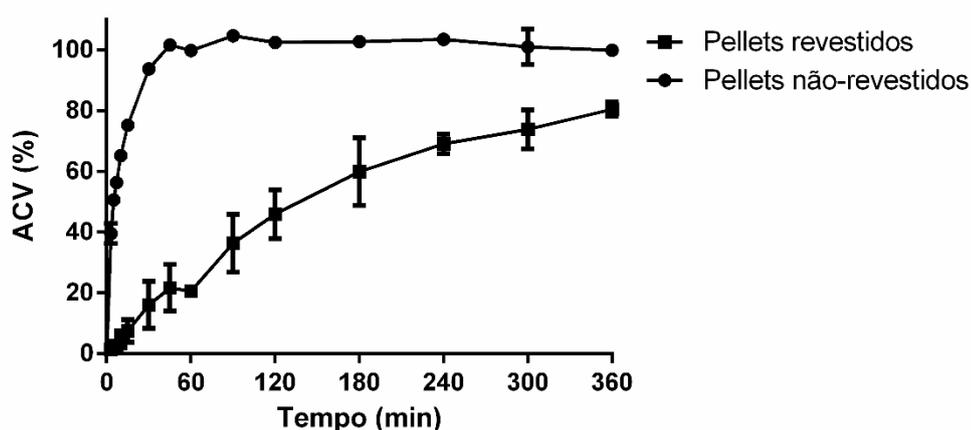
Pressupõe-se que a adsorção do ACV na superfície do HDL tenha acontecido através de interações mais fortes no sistemas 3, enquanto para os outros sistemas obtidos, com a variação nas proporções de HDL:ACV, a adsorção ocorreu de maneira mais fraca, liberando de maneira menos lenta o fármaco no meio de dissolução.

A modulação da liberação não foi observada nos sistemas LIO, esse fato pode ser explicado pela redução através da técnica de liofilização das moléculas de água no material quando comparado com os sistemas obtidos por *spray-drying*, como evidenciado anteriormente nas análises termogravimétricas, essa redução no número as hidroxilas na superfície do HDL possivelmente desfavoreceu a adsorção do ACV, fazendo com que os sistemas LIO não fossem capazes de liberar o fármaco de maneira modificada.

Além da baixa adsorção do ACV nos sistemas LIO, a rápida dissolução do IFA nesses sistemas pode também ter sido favorecida pelo fato de o produto liofilizado ser facilmente reidratado, pois poros microscópicos são formados como resultado dos cristais de gelo que sublimam durante o processo, por onde a solução tampão usada no teste penetra rapidamente no pó, solubilizando de forma rápida o fármaco (ASSEGEHEGN et al., 2019).

Diante desses resultados, o sistema 3 obtido por *spray-drying* foi selecionado para ser incorporado em matriz de *pellets* contendo 20 % de EC, testando também posteriormente, revestimento dessa forma farmacêutica com mesmo polímero na concentração de 5 %.

Figura 32 - Perfis de liberação do ACV do sistema 3, pellets não-revestidos e revestidos no pH 1,2.



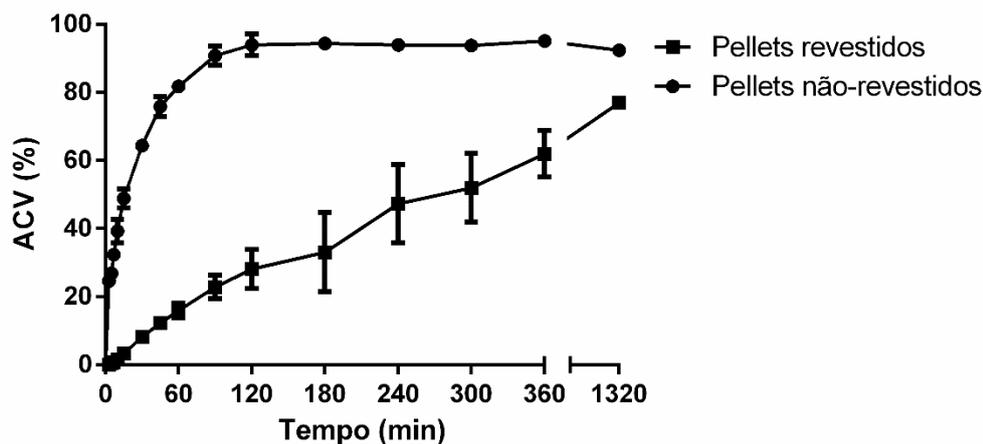
Fonte: Dados da pesquisa.

A Figura 32 ilustra os perfis de dissolução do ACV em pH 1,2, inserido a partir do sistema 3, em formulação sem revestimento e com revestimento polimérico. Nesse pH ácido

ocorre destruição das lamelas do HDL e assim o fármaco adsorvido é liberado rapidamente da superfície desse material. Pode-se observar que a inserção desse sistema na formulação sem revestimento já foi capaz de promover um discreto aumento na dissolução do fármaco, devido a baixa solubilidade do polímero em meio aquoso como dos demais excipientes utilizados na produção dos *pellets*.

Quando observado o perfil de liberação do ACV nos *pellets* revestidos, percebe-se um aumento significativo no tempo de dissolução, atingindo 80 % em aproximadamente 5 horas de ensaio. Esse resultado demonstra que o uso da EC foi eficaz como agente de revestimento, visto que este polímero forma um filme emaranhado de moléculas insolúveis ao longo da superfície do *pellet*, resultando em uma diminuição no transporte do IFA através da camada polimérica (NASIRI et al., 2016).

Figura 33 - Perfis de liberação do ACV do sistema 3, *pellets* não-revestidos e revestidos no pH 6,8.



Fonte: Dados da pesquisa.

Quando analisado a dissolução do IFA em pH 6,8 (Figura 33), é possível observar que a formulação de *pellets* não revestidos com EC, mesmo possuindo na formulação da matriz concentração de 20 % desse polímero, não otimizou a liberação em comparação ao sistema 3 (Figura 28), atingindo 80 % de liberação em aproximadamente 1 hora, semelhante ao sistema 3 no mesmo meio de ensaio. Essa similaridade das taxas de dissolução, sugere que o polímero e excipientes incorporados na formulação colaboram mais na proteção do HDL no pH ácido do que na modulação da liberação do fármaco.

Ainda na Figura 33, a liberação do ACV nos *pellets* revestidos atingiram 80 % em aproximadamente 21 horas de ensaio, apresentando uma modulação muito superior quando comparados aos *pellets* sem revestimento (~1 hora). Esse fato é justificado, como citado anteriormente, pela formação de filme insolúvel na superfície do *pellets*. Resultado muito superior ao encontrado no pH 1,2 onde os mesmos *pellets* atingiram 80 % em 5 horas, sendo justificado pelo HDL permanecer intacto nesse pH básico, como excipiente inteligente, dessa forma mantendo o IFA adsorvido e liberando-o prolongadamente da formulação estudada.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A obtenção de MgAl-HDL através das técnicas de *spray-drying* e liofilização para otimização dos processos de obtenção foi realizada com êxito. Essas técnicas mantiveram a propriedade estrutural do material, o processo de *spray-drying* apresentou rendimento inferior a técnica de liofilização, no entanto, foi capaz de gerar micropartículas esféricas mais estáveis e com tamanho mais padronizado.
- As técnicas de caracterização aplicadas evidenciaram a obtenção bem sucedida de sistemas HDL:ACV, em diferentes proporções molares. A técnica de *spray-drying* apresentou-se mais promissora em favorecer interações entre o carreador e o fármaco, com objetivo de uma modificação na liberação.
- O método de quantificação do ACV em matriz de HDL por espectrofotometria, validado de acordo com a RDC 166 de 2017 da ANVISA, demonstrou-se linear, preciso, exato, seletivo e robusto para os parâmetros avaliados. Além disso, comprovado também pelo efeito matriz, a metodologia se mostrou adequada como método alternativo aos métodos por CLAE devido ao custo acessível e menor tempo de análise.
- Foi alcançada modificação da liberação, o fármaco isolado apresentou liberação de 90% nos primeiros 15 minutos; enquanto o sistema 3, obtido por *spray-drying*, apresentou liberação de ACV de 85% após 90 minutos, sendo o sistema que liberou de forma mais lenta.
- A obtenção dos *pellets* revestidos com etilcelulose otimizou a liberação prolongada do ACV, atingindo cerca de 80 % de liberação em aproximadamente 21 horas. Esses resultados foram decorrentes da combinação entre o sistema 3, onde o fármaco está adsorvido na matriz de HDL e a capacidade de modulação da liberação do polímero utilizado no revestimento da forma farmacêutica.

6. PERSPECTIVAS

- Otimizar a formulação dos *pellets* adequando a concentração do fármaco de acordo com interesse terapêutico, a partir de sistemas múltiplos, onde serão associados *pellets* com diferentes perfis de liberação em uma única forma farmacêutica oral.
- Realizar estudo de estabilidade acelerada e longa duração.

REFERÊNCIAS

AGUILERA, C. S. B. **Desenvolvimento de sistema de liberação prolongada do antirretroviral zidovudina a partir de hidróxido duplo lamelar**. 2016. 88 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

AGUZZI, C.; CAPRA, P.; BONFERONI, C.; CERESO, P.; SALCEDO, I.; SÁNCHEZ, R.; CARAMELLA, C.; VISERAS, C. Chitosan–silicate biocomposites to be used in modified drug release of 5-aminosalicylic acid (5-ASA, **Applied Clay Science**, v. 50, p. 106-111, 2010.

ALBANEZ, R. **Recobrimento gastrorresistente de Pellets de diclofenaco de sódio em leite Fluidizado tipo Wurster**. 2012. 159 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2012.

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, v. 48, n. 305, p. 34-37, 2002.

ALBERTINI, B.; BERTONI, S.; MELEGARI, C.; DOLCI, L. S.; PASSERINI, N. A novel approach for dry powder coating of pellets with Ethylcellulose. Part I: Evaluation of film formulation and process set up. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 516, n. 1–2, p. 380-391, 2017

ALLOU, N. B.; SAIKIA, J.; BORDOLOIC, P.; YADAV, A.; MINTU PALB, M.; GOSWAMEE, R. L. Layered double hydroxide and microwave assisted functionalized carbono based nanocomposites as controlled release vehicle for antibiotics. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 49, p. 243–253, 2019.

ALMILLA-BETRÁN, L.; CHANONA-PÉREZ, J. J.; JIMENÉZ-APARICIO, A. R.; GUTIÉRREZ-LOPEZ, G. F. Description of morphological changes in particles along spray drying. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 179-184, 2005.

ALTAMIMI, M. A.; NEAU, S. H. Investigation of the in vitro performance difference of drug-Soluplus[®] and drug-PEG 6000 dispersions when prepared using spray drying or lyophilization. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 25, n. 3, p. 419-439, 2017.

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G; ALLEN Jr., L.V. **Farmácia: formas farmacêuticas & sistemas de liberação de fármacos**. 6.ed. São Paulo: Premier, 2000.

ARNAL, J., GONZALEZ-ALVAREZ, I., BERMEJO, M., AMIDON, G. L., JUNGINGER, H. E., KOPP, S., & BARENDT, D. M. (2008). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: Aciclovir. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 97, n 12, p. 5061-5073, 2008.

ASPARGUS, C.; COLLENBERG, A.; RÜTTI, D.; ASSADPOUR, E.; JAFARI, S. M. Nano Spray Drying for encapsulation of pharmaceuticals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 546, p. 194-214, 2018.

ASSEGEHEGN, G.; BRITO-DE LA FUENTE, B.; FRANCO, J. M.; GALLEGOS, C. The Importance of Understanding the Freezing Step and Its Impact on Freeze-Drying Process Performance. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, p. 1-18, 2019.

BENDINELLI, E. V. **Tratamento e caracterização de Hidróxido Duplo Lamelar para armazenamento de inibidor de corrosão**. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Rio de Janeiro (RJ), 2014.

BIRNBAUM, G. I.; CYGLER, M.; SHUGAR, D. Conformational features of acyclonucleosides—structure of acyclovir, an antiherpes agent. **Can J Chem**, v. 62, n. 12 p. 2646–2652, 1984.

BUKHTIYAROVA, M. V. A review on effect of synthesis conditions on the formation of layered double hydroxides. **Journal of Solid State Chemistry**. 269 (2019) 494–506.

BUTLER, J. M.; DRESSMAN, J. B. The developability classification system: application of biopharmaceutics concepts to formulation development. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 99, n. 12, p. 4940-4954, 2010.

CARDOSO, L. P. **Estudo da aplicação de Hidróxidos Duplos Lamelares na remoção e liberação lenta de pesticidas**. Tese de Doutorado – Universidade de São Paulo (USP). São Paulo (SP), 2006.

CAVANI, F.; TRIFIRB, F.; VACCARI, A. Hydrotalcite-type anlonlc clays: preparation, properties and applications. **Catalisys Today**, Amsterdam, v. 11, p. 173-301, 1991.

CREPALDI, E. L.; VALIM, J. B. Hidróxidos Duplos Lamelares: Síntese, Estrutura, Propriedades e Aplicações. **Química Nova**, v. 21, n. 3, p. 300-311, 1998.

DE CLERCQ. Milestones in the discovery of antiviral agents: nucleosides and nucleotides. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 2, n. 6, p. 535-548, 2012.

DEZANI, A. B. **Avaliação in vitro da solubilidade e da permeabilidade da lamivudina e zidovudina**. Aplicações na Classificação Biofarmacêutica. Dissertação de Mestrado.

FERENCZ, Z. et al. Optimisation of the synthesis parameters of mechanochemically prepared CaAl-layered double hydroxide. **Applied Clay Science**, v. 112-113, p. 94-99, 2015.

FERRAZ, L. R. M. **Desenvolvimento e avaliação in vitro de drug delivery system Ph-dependente à base de benzimidazol e ZIF-8 visando a obtenção de uma terapia alternativa para doenças de Chagas**. Tese de doutorado em Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, 2017.

FONTES, D. A. F. **Síntese e aplicação de hidróxidos duplos lamelares: adjuvantes funcionais para incremento de solubilidade e sistemas de liberação de fármacos**. 145 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal de Pernambuco, 2016.

GOMES, T. A. et al. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de ciências farmacêuticas básica e aplicada**, v. 36, n. 2, p. 239-249, 2015.

GU, P.; ZHANG, S.; LI, X.; WANG, X.; WEN, T.; JEHAN, R.; ALSAEDI, A.; HAYAT, T.; WANG, X. Recent advances in layered double hydroxide-based nanomaterials for the removal of radionuclides from aqueous solution. **Environmental Pollution**, v. 240, p. 493-505, 2018.

HUA, Tse-Chao; LIU, Bao-Lin; ZHANG, Haimei. Freeze-drying of pharmaceutical and food products. Elsevier, 2010.

HUANG, P. P.; CAO, C. Y.; WEI, F.; SUN, Y. B.; SONG, W. G. MgAl layered doublehydroxides with chlorine and carbonate ions as interlayer anions for removal of arsenic and fluoride ions in water, **RCS Adv.**, v. 5, p. 10412–10417, 2015.

JULKLANG, W.; WANGRIYA, A.; GOLMAN, B. Fabrication of layered double hydroxide microspheres by spray drying of nanoparticles: Effects of process conditions. **Materials Letters**, v. 209, p. 429-432, 2017.

LUTKER, K. M.; QUIÑONES, R.; XU, J.; RAMAMOORTHY, A.; MATZGER, A. J. Polymorphs and Hydrates of Acyclovir. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 3, p. 949-963, 2011.

MANNINA P.; SEGALE, L.; GIOVANNELLI, L. Self-emulsifying excipient platform for improving technological properties of alginate-hydroxypropylcellulose pellets, **Int. J. Pharm.**, v. 499, p.74–80, 2016.

M. JITIANU, M.; D.C. GUNNESS, D.E. ABOAGYE, M. ZAHARESCU, A. Jitianu, Nanosized Ni–Al layered double hydroxides—structural characterization, **Mater. Res. Bull.**, v. 48, p. 1864–1873, 2013.

MENG, Z. et al. Novel synthesis of layered double hydroxides (LDHs) from zinc hydroxide. **Applied Surface Science**, v. 396, p. 799-803, 2017.

MORAIS, A. R. V. **Desenvolvimento de microemulsões liofilizadas como um potencial sistema de liberação de fármacos usando planejamento experimental fatorial**. Dissertação de mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2013.

MORIYAMA, S.; SASAKI, K.; HIRAJIMA, T. Effect of freeze drying on characteristics of Mg-Al layered double hydroxides and bimetallic oxide synthesis and implications for fluoride sorption. **Applied Clay Science**, v. 132-133, p. 460-467, 2016.

MURTAZA, Ghulam. Ethylcellulose microparticles: a review. **Acta Pol Pharm**, v. 69, n. 1, p. 11-22, 2012.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKUYAMA, K. Progress in developing *spray-drying* methods for the production of controlled morphology: From the nanometer to submicrometer size ranges. **Advanced Powder Technology**, v. 22, p. 1-19, 2011.

NASIRI, M. I.; YOUSUF, R. I.; SHOAI, M. H.; FAYYAZ, M.; QAZI, F.; AHMED, K. Investigation on release of highly water soluble drug from matrixcoated pellets prepared by extrusion–spheronization technique. **J. Coat. Technol. Res.**, v. 13, n. 2, p. 333–344, 2016.

NAVES, L. N. **Desenvolvimento de pellets e comprimidos matriciais de etilcelulose para liberação cólon-específica de fármacos**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2014.

OBATA, K., SUGANO, K., MACHIDA, M., & ASO, Y. Biopharmaceutics classification by high throughput solubility assay and PAMPA. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 30, n 2, p.181-185, 2004.

OGAWA, M.; KAIHO, H. Homogeneous precipitation of uniform hydrotalcite particles, **Langmuir**, v. 18, p. 4240–4242, 2002.

OLIVEIRA, Marcelo Antonio de; YOSHIDA, Maria Irene; LIMA GOMES, Elionai Cassiana de. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quím. Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

ORDÓÑEZ, J. A. **Tecnologia de alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, v. 1, 2005. 294p.

PAGANO, C.; MARMOTTINI, F.; NOCCHETTI, M.; RAMELLA, D.; PERIOLI, L. Effects of different milling techniques on the layered double hydroxides final properties. **Applied Clay Science**, v. 151, p. 124–133, 2018.

POLESE, D. et al. A phenomenological investigation on Chlorine intercalated Layered Double Hydroxides used as room temperature gas sensors. **Journal of Alloys and Compounds**, v. 692, p. 915-922, 2017.

POOZESH, S.; BILGILI, E. Scale-up of pharmaceutical spray drying using scale-up rules: A review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 562, p. 271-292, 2019.

PREVOT, V.; SZCZEPANIAK, C.; JABER, M. Aerosol-assisted self-assembly of hybrid layered double hydroxide particles into spherical architectures. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 356, p. 566-572, 2011.

REBITSKI, E. P. **Materiais bionanocompósitos a base de argilominerais e Hidróxidos Duplos Lamelares como sistemas de liberação de fármacos**. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN). Natal (RN), p. 136. 2015.

RHEIN, B. T. R. **Desenvolvimento e validação de um método indicativo de estabilidade para o antiviral aciclovir**. Dissertação de Mestrado – Universidade de São Paulo (USP). São Paulo (SP), p. 142. 2013.

SADIKOGLU, H.; OZDEMIR, M.; SEKER, M. Freeze-drying of pharmaceutical products: Research and development needs. **Drying Technology**, v. 24, n. 7, p. 849-861, 2006.

SARAMAGO, JOSÉ. **Todos os nomes**. 1. ed. Lisboa: Círculo de Leitores, 1997.

SEGALE, L.; MANNINA P.; GIOVANNELLI, L. Formulation and coating of alginate and alginate- hydroxypropylcellulose pellets containing ranolazine, **J. Pharm. Sci.**,v. 105, p. 3351–3358, 2016.

SERON, A.; DELORME F. Synthesis of layered double hydroxides (LDHs) with varying pH: A valuable contribution to the study of Mg/Al LDH formation mechanism. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**,v. 69, p. 1088–1090, 2008.

SEVILLE, P. C.; KELLAWAY, I. W.; BIRCHALL, J. C. Preparation of dry powder dispersions for non-viral gene delivery by freeze-drying and *spray-drying*. **The Journal of Gene Medicine**, v. 4, p. 428-437, 2002.

SILVA, J. S.; VILARINHO, A. C. S. G.; BARUD, H. S.; FILHO, E. C. S.; NUNES, L. C. C. Utilizaçãode argilas fibrosas e tubulares para a liberação modificadas de fármacos: uma revisão. **Revista Matéria**, v. 21, n. 1, p. 204 – 212, 2016.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the *spray-drying* technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40-54, 2015.

SOUZA, L. F. G. **Desenvolvimento e recobrimento polimérico de microgrânulos contendo nifedipino visando a um perfil de liberação controlada**. 2013. 157 p. Tese (doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química, Campinas, SP.

STULZER, H. K.; TAGLIARI, M. P.; SILVA, M. A. S.; LARANJEIRA, M. C. M. Desenvolvimento, Avaliação e Caracterização Físico Química de Micropartículas Constituídas de Aciclovir/Quitosana Desenvolvidas pela Técnica de *Spray-drying*. **Lat. Am. J. Pharm.**, v. 26, n. 6, p.866-71, 2007.

TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-Guest Interaction swelling clay minerals and poorly water-soluble drugs. 1: Complex formation between a swelling clay ineral and

griseofulvin. **Journal of Inclusion Phenomena and Molecular recognition in Chemistry**, v.10, p.283-297, 1991.

TAKEHIRA, K. Recent development of layered double hydroxide-derived catalysts—Rehydration, reconstitution, and supporting, aiming at commercial application, **Applied Clay Science**, v. 136, 112–141 2017.

TIAN, D.Y. et al. Synthesis of methotrexatum intercalated layered double hydroxides by different methods: Biodegradation process and bioassay explore. **Applied Clay Science**, v. 118, p. 87-98, 2015.

TIMÓTEO, T. R. R. **Estudo de pré-formulação e caracterização de forma farmacêutica líquida pediátrica com praziquantel (PZQ) utilizando o sistema de hidróxido duplo lamelar**. 2018. 132 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal de Pernambuco, 2018.

TRONTO, J. **Síntese, caracterização e estudo das propriedades de hidróxidos duplos lamelares intercalados com polímeros condutores**. Tese de Doutorado - Universidade de São Paulo (USP). Ribeirão Preto (SP), p. 42-44. 2006.

VAITHIANATHAN, Soundarya et al. Effect of common excipients on the oral drug absorption of biopharmaceutics classification system class 3 drugs cimetidine and acyclovir. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 105, n. 2, p. 996-1005, 2016.

VASS, P.; DÉMUTH, B.; HIRSCH, E.; NAGY, B.; ANDERSEN, S. K.; VIGH, T.; VERRECK, G.; CSONTOS, I.; NAGY, Z. K.; MAROSI, G. Drying technology strategies for colon-targeted oral delivery of biopharmaceuticals. **Journal of Controlled Release**, v. 296, p. 162-178, 2019.

VIEIRA, A. C. **Síntese, caracterização e aplicação de Hidróxidos Duplos Lamelares**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Universidade Federal de Ouro Preto, 2009.

WANG, L.; ZHAO, Y.; ZHANG, Z.; WANG, J.; WANG, Q.; ZHENG, Z.; DENG, Z.; ZHANG, H. Polymorphs of acyclovir-maleic acid salt and their reversible phase transition. **Journal of Molecular Structure**, v. 1127, n. 5, p. 247-251, 2017.

WATERMAN, K. C. et al., Hydrolysis in pharmaceutical formulation. **Pharmaceutical Development Technology**, p. 1113-1146, 2002.

WEI, M.; SHI, S.X.; WANG, J.; LI, Y.; DUAN, X. Studies on the intercalation of naproxen into layered double hydroxide and its thermal decomposition by in situ FT-IR and in situ HT-XRD. **J. Solid State Chem**, v. 177, p. 2534–2541, 2014.

XU, Min; LIEW, Celine Valeria; HENG, Paul Wan Sia. Evaluation of the coat quality of sustained release pellets by individual pellet dissolution methodology. **International journal of pharmaceutics**, v. 478, n. 1, p. 318-327, 2015.