

Campus Realengo

Curso de Graduação em Farmácia

Mariana de Andrade

Adauto Costa

**Co-micronização de
glibenclamida como
forma de aumentar a
dissolução *in vitro***

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO RIO DE JANEIRO

Campus Realengo

Curso de Farmácia

**CO-MICRONIZAÇÃO DE GLIBENCLAMIDA COMO FORMA DE
AUMENTAR A DISSOLUÇÃO *IN VITRO***

Rio de Janeiro

2023

MARIANA DE ANDRADE ADAUTO COSTA

**CO-MICRONIZAÇÃO DE GLIBENCLAMIDA COMO FORMA DE
AUMENTAR A DISSOLUÇÃO *IN VITRO***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ), como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Orientador: Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Orientadora Acadêmica: Dr^a Ana Ferreira Ribeiro

Rio de Janeiro

2023

CIP - Catalogação na Publicação
Bibliotecária: Alane Elias Souza – CRB7 6321

C838c Costa, Mariana de Andrade Aauto
Co-micronização de glibenclamida como forma de aumentar a dissolução
in vitro / Mariana de AndradeAauto Costa - Rio de Janeiro, 2023.
67 f.

Orientação: Helvécio Vinícius Antunes Rocha.
Coorientação: Ana Ferreira Ribeiro.
Trabalho de conclusão de curso (graduação), Bacharelado em
Farmácia, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do
Rio de Janeiro, Campus Realengo, 2023.

1. Tecnologia farmacêutica. I. Rocha, Helvécio Vinícius Antunes ,
orient. II. Ribeiro, Ana Ferreira , **coorient.** III. Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro. IV. Título

CDU 615

MARIANA DE ANDRADE ADAUTO COSTA

COMICRONIZAÇÃO DE GLIBENCLAMIDA COMO FORMA DE AUMENTAR A DISSOLUÇÃO *IN*
VITRO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ) como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Farmácia.

Aprovado em 03 / 07 / 2023.

Banca examinadora

Documento assinado digitalmente
 HELVECIO VINICIUS ANTUNES ROCHA
Data: 04/07/2023 15:25:14-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha - (Orientador Científico) Farmanguinhos (FIOCRUZ)



Prof^ª. Dr^ª. Ana Ferreira Ribeiro - (Orientadora Acadêmica)

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro (IFRJ)

Documento assinado digitalmente
 BEATRIZ FERREIRA DE CARVALHO PATRICI
Data: 03/07/2023 18:15:28-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Beatriz Ferreira de Carvalho Patricio - (Banca Examinadora) Universidade
Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Documento assinado digitalmente
 LIVIA DERIS PRADO
Data: 04/07/2023 13:37:59-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof^ª. Dr^ª. Livia Deris Prado - (Banca Examinadora) Farmanguinhos (FIOCRUZ)

Dedico esse trabalho, especialmente ao Leo, meu irmão, que eu tenho certeza de que onde quer que esteja, está muito orgulhoso de mim. À minha família. E à Espiritualidade que nunca me abandonou.

AGRADECIMENTOS

Participar do meu primeiro projeto de iniciação científica na Fiocruz foi uma experiência desafiadora e gratificante. Este projeto é de grande importância para mim, pois tenho um carinho especial por ele. Com isso dito, eu acho que nunca fiz algo tão difícil na minha vida, como esse trabalho de conclusão de curso.

Junto com a dificuldade de finalizar um curso de graduação, somado a uma pandemia, perda de parentes próximos que amava tanto, eu realmente imaginei que eu não conseguiria finalizar esse TCC. Pensei em desistir tantas vezes, mesmo no fim do curso, jogar tudo para o alto e seguir a minha vida. Contudo, aqui estamos, lutei tanto para estar aqui, claro que com a ajuda de muitos, mas principalmente por mim, eu estou aqui. Então nesse momento, gostaria de agradecer a mim mesmo, que no fim de tudo, permaneci e vou conseguir superar esse obstáculo, que é só mais uma pedra no caminho de uma estrada muito longa.

Aos meus amados pais, Maria de Lourdes de Andrade e Henrique Adauto Costa, agradeço do fundo do meu coração por todo o amor incondicional, apoio e sacrifícios que fizeram ao longo da minha jornada acadêmica. Sem o seu constante encorajamento e suporte, eu não estaria aqui hoje, realizando este trabalho, assim como o apoio da minha irmã Isabella, meu sobrinho e ao meu cunhado Florian, amo vocês.

Ao meu querido Amor, Rodrigo, agradeço por todo o seu companheirismo, parceria, apoio e por estar ao meu lado nos momentos bons e desafiadores. Sua presença sempre foi um incentivo para que eu persistisse em busca dos meus objetivos. Eu te amo demais e nada disso estaria acontecendo se não tivesse sido por você.

À minha segunda mãe e adorável Sylvia, agradeço o seu carinho, sabedoria e apoio constante. Suas palavras de encorajamento foram um bálsamo para minha alma ao longo dessa jornada acadêmica.

Agradeço também às minhas amigas Carol, Nath e Alexia, que estiveram presentes nos momentos mais significativos da minha vida. Compartilhamos risos, lágrimas e conquistas, e sou grata por cada uma delas.

À Ana Paula, minha companheira de tantos dias a dias, agradeço a companhia e apoio. Sua presença foi fundamental em um momento que eu precisava tanto, te agradeço muito.

Aos grandes amigos que conheci na Fiocruz, Livia, Bia, Mi, Dessa, Alexandre e Leo, expresso minha gratidão por todo o apoio e por compartilharem comigo os desafios e descobertas no ambiente de trabalho. Nossa união fortaleceu e enriqueceu minha experiência na instituição. Vocês fazem morada no meu coração e agradeço por todos os momentos que passamos juntos.

Aos cúmplices do dia a dia no laboratório, Marcelo, Alexandrino, Flavia, Leny e Thalita, agradeço a parceria, colaboração e troca de conhecimentos. Suas contribuições foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

Ao meu orientador Helvécio, agradeço imensamente por me proporcionar a oportunidade de trabalhar neste local e pela sua orientação ao longo de todo o processo.

Aos amigos que permaneceram da UFF, Guilherme, Wagner e Luciana, agradeço por fazerem parte da minha caminhada no grupo acadêmico. Suas

amizades foram fundamentais para tornar essa jornada ainda mais significativa e prazerosa.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para o meu crescimento pessoal e acadêmico ao longo desta trajetória, meu mais sincero agradecimento. Sou grato por ter cada um de vocês em minha vida.

RESUMO

A glibenclamida (GLB), também conhecida como gliburida, é um medicamento de segunda geração pertencente à classe das sulfonilureias, indicado para o tratamento de diabetes não dependente de insulina. Ela é solúvel em soluções de hidróxidos alcalinos e dimetilformamida, ligeiramente solúvel em diclorometano e clorofórmio, pouco solúvel em etanol e metanol, e insolúvel em éter etílico e água. A droga é classificada como Classe II de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica, o que significa que possui baixa solubilidade em água e alta permeabilidade. Portanto, sua biodisponibilidade depende de sua taxa de dissolução. A GLB apresenta absorção variável e grandes variações na biodisponibilidade interindividual e bioequivalência dos produtos comercializados. Diversos métodos têm sido descritos para aumentar a solubilidade de fármacos pouco solúveis (como adição de tensoativos, formação de sais, dispersões sólidas e redução do tamanho das partículas). A micronização, uma técnica comum utilizada para reduzir o tamanho das partículas, é um processo de fabricação estabelecido e dominado do ponto de vista tecnológico. O objetivo do projeto foi utilizar o processo de micronização para aumentar a dissolução da GLB. Nove excipientes diferentes (lauril sulfato de sódio, manitol, lactose monoidratada por *spray drying*, lactose monoidratada 200 mesh, hidroxipropilcelulose, hidroxipropilmetilcelulose E5, Lutrol F68, celulose microcristalina 102 e polivinilpirrolidona K-30) foram co-micronizados com GLB em três proporções diferentes (1:0,25 fármaco/excipiente, 1:0,25:0,25 fármaco/excipiente/lauril sulfato de sódio e 1:0,5 fármaco/excipiente). Essas amostras foram divididas em grupos 1, 2 e 3, respectivamente. As amostras foram analisadas por difração de raios-X em pó, espectroscopia infravermelha, microscopia, ensaio e dissolução do pó. Sabendo que partículas menores podem apresentar taxas de dissolução mais elevadas, as amostras de GLB e dos excipientes foram micronizadas. Os resultados da difração de raios-X em pó indicaram que todas as amostras testadas não apresentaram mudanças polimórficas. As amostras apresentaram picos característicos da forma mais solúvel. Não foram observados picos extras, indicando a pureza da forma sólida. Esses resultados estavam de acordo com a espectroscopia infravermelha. Os valores dos números de onda nos espectros infravermelhos, relacionados ao estiramento da ligação N-H, S=O e C=O, foram semelhantes para todas as amostras e para a matéria-prima. Quanto à avaliação do ensaio, houve pouca variação entre os valores teóricos e determinados, o que possibilitou o cálculo da massa para os testes de dissolução. Em geral, as amostras co-micronizadas apresentaram resultados de dissolução superiores à matéria-prima. A dissolução das quatro amostras do grupo 1 (GLB com lauril sulfato de sódio, PVP K-30, lactose monoidratada por *spray drying* e Lutrol F68) apresentou eficiência de dissolução acima de 80%. No grupo 2, todas as amostras apresentaram eficiência de dissolução superior a 80%, exceto aquela produzida com Lutrol F68. No grupo 3, apenas a amostra com lauril sulfato de sódio

apresentou eficiência acima de 80%. Ao comparar o grupo 2, que possui adição de lauril sulfato de sódio na mistura, com o grupo 1, foi possível observar uma melhoria em quase todas as amostras co-micronizadas. Ao comparar com o grupo 3, notou-se que o aumento da proporção dos excipientes diminuiu a eficácia de dissolução, de forma geral. Como quase todas as amostras co-micronizadas tiveram melhores dissoluções em comparação com a matéria-prima, podemos confirmar que a redução do tamanho das partículas pode aumentar a eficiência. No entanto, algumas combinações de excipientes e proporções não melhoram a eficiência de dissolução.

Palavras-chave: glibenclamida. Comicronização. Dissolução.

ABSTRACT

Glibenclamide, also known as glyburide, is a second-generation sulfonyl-urea drug indicated for the treatment of non-insulin-dependent diabetes. It is soluble in solutions of alkaline hydroxides and dimethylformamide, slightly soluble in dichloromethane and chloroform, poorly soluble in ethanol and methanol and insoluble in ethyl ether and water. The drug belongs to Class II according to the Biopharmaceutics Classification System, which consists of drugs of low water solubility and high permeability. Therefore, the bioavailability is dependent on its dissolution rate. Glibenclamide shows variable absorption and large variations in interindividual bioavailability and bioequivalence of the marketed products. Various methods have been described to enhance the solubility of poorly soluble drugs (e.g. addition of surfactants, salt formation, solid dispersions and particle size reduction). Micronization, a common technique used to reduce particle size, is an established manufacturing process and it has been mastered from a technological point of view. The aim of the project was to use micronization process to improve dissolution of glibenclamide. Nine different excipients (sodium lauryl sulfate, manitol, spray-dried lactose monohydrate, lactose monohydrate 200 mesh, hydroxypropylcellulose, hydroxypropylmethylcellulose E5, Lutrol F68, microcrystalline cellulose 102 and polyvinylpyrrolidone K-30) were co-micronized with glibenclamide in three different proportions (1:0.25 drug/excipient, 1:0.25:0.25 drug/excipient/sodium lauryl sulfate and 1:0.5 drug/excipient). These samples were divided in groups 1, 2 and 3, respectively. The samples were analyzed by X-ray powder diffraction, infrared spectroscopy, microscopy, assay and powder dissolution. Knowing that smaller particles can present higher dissolution rates, the samples of glibenclamide and the excipients were micronized. X-ray powder diffraction results indicated that all samples tested did not show polymorphic changes. The samples presented characteristic peaks of the more soluble form. No extra peaks were observed indicating the purity of the solid form. These results were in agreement with infrared spectroscopy. The values of the wavenumbers in the infrared spectra, related to the stretching of the N-H, S=O and C=O bond, were similar for all samples and for the raw material. As for the assay evaluation, it showed a low variation between the theoretical and the determined values, which made it possible to calculate the mass for the dissolution tests. In general, the micronized samples had higher dissolution results than the raw material. The dissolution of the four samples of group 1 (glibenclamide with sodium lauryl sulfate, PVP K-30, spray-dried lactose monohydrate and Lutrol F68) showed dissolution efficiency above 80%. In group 2, all samples had dissolution efficiency more than 80%, except the one produced with Lutrol F68. In group 3 only the sample with sodium lauryl sulfate had efficiency above 80%. When comparing group 2, which has an addition of sodium lauryl sulphate in the mixture, to group 1, it was possible to see an improvement in almost all the micronized samples. When compared to group 3, we noticed that the increase

of the excipients proportion decreased the dissolution effectiveness, in general. Since almost all of the comicronized samples had better dissolutions compared to the raw material, we can confirm that reducing particles size can increase efficiency. However, some combinations of excipients and proportions do not improve dissolution efficiency.

Keywords: glibenclamide. Co-micronization. Dissolution.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Exemplo de dissolutor, com recipientes de análise (cuba) e aparatos de agitação (pás). Modelo Distek Evolution 6100	21
Figura 2. Diagrama esquemático ilustrando as estratégias mais comuns para mitigar problemas relacionados à baixa disponibilidade dos fármacos. Adaptado de: Williams et al. (2013).	23
Figura 3 - Micronizador Zelus Ultra Jet 50 utilizado para a redução do tamanho das partículas... ..	24
Figura 4. Estrutura química da GLB. Fonte: MarvinSketch.....	25
Figura 5 - Fluxograma (Fonte: elaborado pela autora, 2023).	30
Figura 6 - Esquema ilustrativo do preparo da solução utilizada para a leitura do metanol e acetonitrila no espectrofotômetro UV/vis. (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	31
Figura 7 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol para análise e desenvolvimento da curva analítica de GLB em tampão fosfato pH 7,4 (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	32
Figura 8 - Esquema ilustrativo do preparo da solução de GLB com o tampão borato alcalino pH 9,4 através da solução mãe em metanol para filtragem em filtro de seringa nylon 0,22 Millipore para análise de varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	33
Figura 9 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol dos excipientes e diluição da amostra em tampão borato alcalino pH 9,4 e análise em varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	34
Figura 10 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol seguido da filtragem em filtro de seringa nylon 0,22 Millipore para análise de varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	35
Figura 11 - Esquema ilustrativo indicando a mistura da GLB com os excipientes para ser comicronizado no micronizador Zelus Ultrajet 50 e produzindo as amostras do projeto (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	37

Figura 12 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol para análise e desenvolvimento da curva analítica de GLB em metanol (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	38
Figura 13 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe a partir das amostras comicronizadas em meio metanol e sua diluição para análise e leitura no comprimento de onda 228nm (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	39
Figura 14 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe a partir das amostras comicronizadas em meio metanol e sua diluição seguida da filtragem da solução em filtro de seringa nylon 0,22 Millipore para análise e leitura no comprimento de onda 228nm (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	40
Figura 15 - Dissolutor Distek Premiere 5100 com os parâmetros utilizados na dissolução por dispersão das amostras comicronizadas em tampão borato alcalino pH 9,4 (Fonte: elaborado pela autora, 2022).....	40
Figura 16 - Dissolutor Distek Evolution 6100 com as condições e aparatos completos para o ensaio de dissolução por dispersão da matéria-prima e amostras comicronizadas da GLB (Fonte: elaborado pela autora, 2022).	41
Figura 17. Varredura dos excipientes indicando a absorbância em relação ao comprimento de onda de cada excipiente. Linha vermelha sólida cortando o gráfico verticalmente indica o comprimento de onda da GLB (228 nm).....	43
Figura 18 - Perfis de dissolução da GLB inicial, da amostra micronizada e das amostras comicronizadas do Grupo 1 (1:0.25:0.25 GLB/lauril sulfato de sódio (LSS)/excipientes). S1: Sem excipiente, S2: PVP K-30, S3: Lac SD, S4: manitol, S5: Cel MC, S6: Lac M200, S7: HPC, S8: HPMC E5, S9: Lutrol F68. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução	45
Figura 19 - Perfis de dissolução da GLB pura, da amostra micronizada e das amostras comicronizadas do Grupo 2 (1: 0,25 GLB/excipiente). S10: SLS, S11: PVP K-30, S12: lactose SD, S13: manitol, S14: micro cellulose 102, S15: lactose 200 mesh, S16: HPC, S17: HPMC, S18: Lutrol. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução	46
Figura 20 - Perfis de dissolução da GLB pura, da amostra micronizada e das amostras comicronizadas do Grupo 3 (1:0.5 GLB/excipiente). S19: LSS, S20: PVP K-30, S21: Lac SD, S22: manitol, S23: Cel MC, S24: Lac M200, S26: HPMC	

E5. Determinação a 228 nm. Barras indicam os respectivos valores de desvio-padrão. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução.....	47
Figura 21 - Imagens de MEV dos excipientes MCC, HPC e HPMC, com ampliações de 100x.....	51
Figura 22 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 1, com ampliações de 5000x e 1000x... ..	52
Figura 23 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 2 com ampliações de 5000x e 1000x... ..	53
Figura 24 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 3, com ampliações de 5000x e 1000x... ..	54
Figura 25 - Perfis de difração por raios-X (DRX) dos excipientes: Lauril sulfato de sódio (LSS), polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30), lactose monohidratada spray dried (Lac SD), manitol, celulose microcristalina 102 (Cel MC), lactose monohidratada malha 200 (Lac M200), hidroxipropil celulose (HPC), Hidroxipropilmetil celulose E5 (HPMC E5), Lutrol F68 (Lutrol).	55
Figura 26 - Perfis de difração por raios-X (DRX) das amostras do Grupo 1 (1:0.25:0.25 GLB/LSS/excipientes), em comparação com a matéria-prima pura (RM) e micronizada isoladamente acima. S1: Sem excipiente, S2: PVP, S3: Lac SD, S4: manitol, S5: Cel MC, S6: Lac M200, S7: HPC, S8: HPMC E5, S9: Lutrol	56
Figura 27 - Perfis de difração por raios-X (DRX) de amostras do Grupo 2 (1: 0,25 GLB/excipiente), em comparação com a matéria-prima pura e micronizada isoladamente. S10: LSS, S11: PVP K-30, S12: Lac SD, S13: manitol, S14: Cel MC, S15: Lac M200, S16: HPC, S17: HPMC E5, S18: Lutrol	57
Figura 28 - Perfis de difração por raios-X (DRX) de amostras do Grupo 3 (1:0.5 GLB/excipiente), em comparação com a matéria-prima pura e micronizada isoladamente. S19: LSS, S20: PVP K-30, S21: Lac SD, S22: manitol, S23: Cel MC, S24: Lac M200, S26: HPMC	58

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Esquema indicando as 26 formulações realizadas e as proporções obtidas em relação a combinação da glibenclamida (GLB) com os nove excipientes em pó.....	19
Tabela 2 - Valores de teor para as amostras do grupo 1, 2 e 3, respectivamente, e seus valores de desvio-padrão relativo (DPR)	36
Tabela 3 - Eficiências de dissolução de todas as amostras com base nos excipientes com os quais foram preparadas. No grupo 3, as amostras HPC e Lutrol F68 não puderam ser processadas por mal funcionamento do aparelho. DPR Desvio-padrão relativo. GBL Glibenclamida	44
Tabela 4 - Eficiências de dissolução de todas as amostras com base nos excipientes com os quais foram preparadas. No grupo 3, as amostras HPC e Lutrol F68 não puderam ser processadas por mal funcionamento do aparelho e não puderam ser replicadas. DPR Desvio-padrão relativo	48
Tabela 5 - FTIR para (N-H da amida), (C = O da amida) e (CH ₂ antisimétrico e simétrico) na matéria-prima, amostras micronizadas e co-micronizadas para os grupos 1, 2 e 3.....	49

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	19
1.1.	PERFIL DE DISSOLUÇÃO	20
1.2.	INCREMENTO DE DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS EM ÁGUA	22
1.2.1.	MICRONIZAÇÃO	23
1.3.	GENERALIDADES E PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DA GLB	25
1.4	DIABETES MELITUS	26
	2 JUSTIFICATIVA	27
	3 OBJETIVOS	28
3.1	OBJETIVO GERAL	28
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	28
	4 MATERIAL E MÉTODOS	29
4.1.	MATERIAL	29
4.1.1.	EQUIPAMENTOS	29
4.1.2.	REAGENTES, SOLVENTES E MATÉRIAS-PRIMAS	29
4.2	MÉTODOS	30
4.2.1.	AVALIAÇÃO POR ESPECTROFOTÔMETRO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL (UV/VIS) PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA NO TESTE DE DISSOLUÇÃO	30
4.2.1.2	ENSAIO DE DISSOLUÇÃO	32
4.2.1.3.	AVALIAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA VERIFICAR A COMPATIBILIDADE DOS EXCIPIENTES COM O IFA	32
4.2.2.	ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES	33
4.2.3.	MICRONIZAÇÃO E CO-MICRONIZAÇÃO	34
4.2.4.	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL	35
4.2.4.1.	ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	37
4.2.4.2.	ANÁLISE DA FORMA POR MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	37

4.2.4.3. ANÁLISE DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS SECAS POR DIFRAÇÃO A LASER	38	
4.2.5. PARÂMETROS PARA DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO	38	
4.2.5.1. CURVA ANALÍTICA EM METANOL	38	
4.2.5.2. DETERMINAÇÃO DE TEOR DAS AMOSTRAS	38	
4.2.6. PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO	41	
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO		42
5.1. AVALIAÇÃO POR ESPECTROFOTÔMETRO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL (UV/VIS) PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA NO TESTE DE DISSOLUÇÃO	42	
5.2. AVALIAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA VERIFICAR A COMPATIBILIDADE DOS EXCIPIENTES COM O IFA	42	
5.3. TESTE DE TEOR DAS AMOSTRAS	44	
5.4. PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO	44	
5.5. ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	48	
5.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)	51	
5.7. ANÁLISE DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS SECAS POR DIFRAÇÃO DE LASER	54	
6 CONCLUSÃO		58
7 REFERÊNCIAS		59

1 INTRODUÇÃO

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) categoriza os fármacos baseados nas suas propriedades de solubilidade aquosa e permeabilidade gastrointestinal (AMIDON *et al.*, 1995) (Tabela 1).

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

Tabela 1. Relação das classes de fármacos e suas respectivas solubilidade e permeabilidade determinadas pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica.

Tendo sua consolidação, principalmente, nos últimos anos, o SCB indica a velocidade e o grau de absorção dos fármacos após a sua administração por via oral, baseado nos atributos fisiológicos dos indivíduos e nas características físico-químicas do fármaco (CHAVDA *et al.*, 2010). Nesse sentido, ele tem sido fundamental para auxiliar o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas e registro de medicamentos genéricos.

Recentemente, um número crescente de fármacos, no processo de desenvolvimento, apresenta problemas que envolvem a solubilidade, dissolução e/ou biodisponibilidade. Estima-se que cerca de 70% dos fármacos possuem problemas referentes à baixa solubilidade, o caso dos fármacos da Classe II e Classe IV, de acordo com o SCB (HAUSS, 2007; KAWABATA *et al.*, 2011; WILLIAMS *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2013; SAOKHAM *et al.*, 2018).

Fármacos da classe II exibem problemas na dissolução, porém não na permeabilidade em relação à administração de medicamentos por via oral (Figura 1). Dados esses desafios, estudos de tecnologia farmacêutica têm focado especial atenção nesses fármacos, de forma a desenvolver alterações na formulação do medicamento para incrementar a solubilidade, sem, necessariamente, incluir alterações moleculares de ordem mais complexa

(LIRA, 2004; COSTA *et al.*, 2013; ALAWI *et al.*, 2015; AL-KASSAS *et al.* 2017; HOFFMEISTER *et al.*, 2017; SAOKHAM *et al.*, 2018; TRAN; PARK, 2021)

Fármacos com problemas de solubilidade, quando formulados de maneira convencional, podem apresentar baixa eficácia (MERISKO-LIVERSIDGE *et al.*, 2003). Comparados com os de maior solubilidade, problemas como absorção limitada e/ou imprevisível podem ocorrer, colocando em risco seu efeito (WILLIAMS *et al.*, 2013).

A solubilidade limitada de alguns fármacos em água é um problema importante a ser considerado. Isso ocorre principalmente pelo risco de uma absorção sistêmica reduzida e variável após a administração oral (WILLIAMS *et al.*, 2013; LOH *et al.*, 2015; KHAN *et al.*, 2022). Ainda que seja difícil precisar exatamente o quanto a baixa solubilidade pode impactar a absorção, existem evidências que indicam a dissolução lenta nos fluidos do trato gastrointestinal, impactando a extensão da absorção pelas membranas celulares e disponibilização na corrente sanguínea (WILLIAMS *et al.*, 2013; SORMUNEN *et al.*, 2019). Nesse caso, a velocidade de dissolução representa um fator limitante e torna-se fundamental desenvolver estratégias para seu incremento, uma vez que a biodisponibilidade do fármaco será afetada (JUNGHANNS; MÜLLER, 2008; PRADO; ROCHA, 2015).

1.1. PERFIL DE DISSOLUÇÃO

O ensaio de dissolução é uma das etapas comumente realizadas para garantir a qualidade dos medicamentos, em diferentes etapas, como na produção, estabilidade ou reprodutibilidade entre lotes (DRESSMAN *et al.*, 1998). Diferentes técnicas podem ser usadas para os ensaios de dissolução (WILLIAMS *et al.*, 2013). Um dissolutor equipado com recipientes de análise e aparatos de agitação é usado para realizar um estudo *in vitro* no qual uma forma sólida (pó, comprimidos, cápsulas, etc) se solubiliza, permitindo avaliar e comparar a velocidade e eficiência de dissolução de um produto (Figura 1) (COSTA, 2011; LOH *et al.*, 2015; MAGGI *et al.*, 2015).

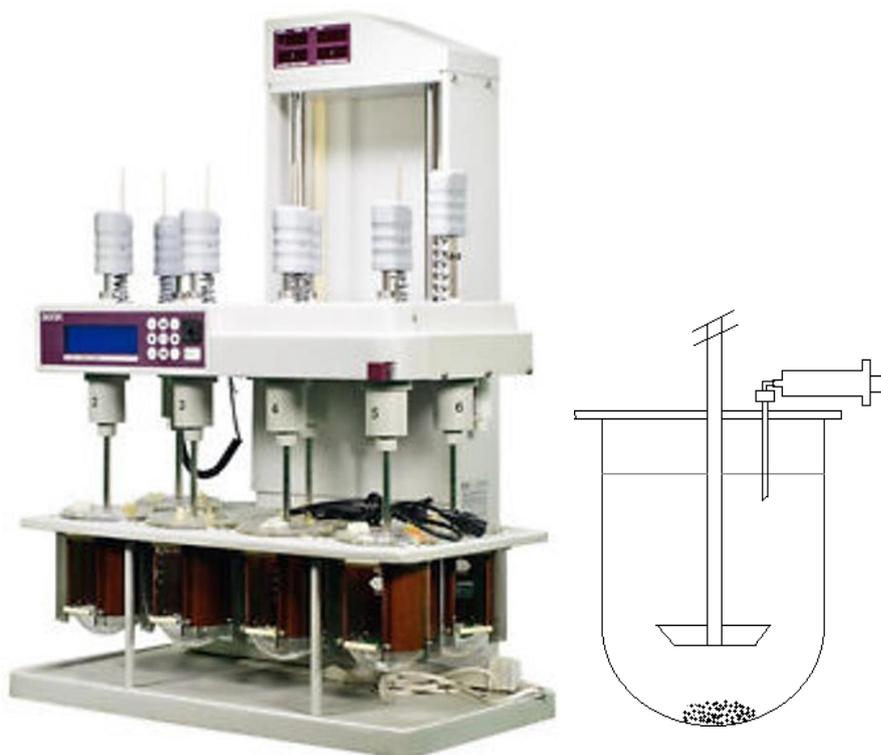


Figura 1. Exemplo de dissolutor, com recipientes de análise (cuba) e aparatos de agitação (pás). Modelo Distek Evolution 6100.

A equação de Noyes-Whitney indica que uma das possibilidades para o incremento da dissolução é o aumento da área superficial específica gerada pela redução do tamanho da partícula, permitindo maior contato da superfície da partícula com o meio (LEUNER; DRESSMAN, 2000; ALLEN-JR *et al.*, 2013).

$$dC/dT = K \cdot S(C_s - C_t)$$

(Eq. 1)

Onde dC/dT é a velocidade de dissolução, K é a constante da velocidade de dissolução, S área de superfície das partículas, C_s é a concentração do fármaco na camada de difusão e C_t é a concentração do fármaco em dissolução no tempo t . $C_s - C_t$ é o gradiente de concentração.

Em muitos casos, uma cuba de fundo redondo representa o recipiente e a agitação é feita com hastes de aço inox (Figura 1). O dissolutor, por sua vez, simula condições que podem ser similares àsquelas encontradas no meio gastrointestinal e permite o controle de temperatura (WILLIAMS *et al.*, 2013).

A dissolução de um fármaco pode ser influenciada por diferentes fatores, dentre eles o tamanho da partícula, o meio de dispersão e a temperatura (LEUNER; DRESSMAN, 2000; WILLIAMS *et al.*, 2013). Uma vez que existem problemas relacionados à velocidade de dissolução dos fármacos, avaliar a taxa de dissolução *in vitro* dos fármacos se torna essencial (BROCKMEIER, 1999). Dessa forma, é importante o desenvolvimento de processos voltados para fármacos da classe II, considerando o número crescente de IFA com baixa solubilidade em água (WILLIAMS *et al.*, 2013; LOH *et al.*, 2015; KHAN *et al.*, 2022).

1.2. INCREMENTO DE DISSOLUÇÃO DE FÁRMACOS POUCO SOLÚVEIS EM ÁGUA

Para mitigar esse problema, uma série de alternativas tecnológicas foram desenvolvidas, como as técnicas de dispersões sólidas amorfas, moagem úmida, formação de sais, cocristais, complexação com ciclodextrinas, surfactantes, formulações de emulsões e lipossomas, sistemas autoemulsificantes, redução do tamanho das partículas, dentre outras (BARRETO; CUNHA-FILHO, 2008; KAWABATA *et al.*, 2011; DOUROUMIS; FAHR, 2013; WILLIAMS *et al.*, 2013; GOMES *et al.*, 2015; HOFFMEISTER *et al.*, 2017; SAOKHAM *et al.*, 2018; TRAN; PARK, 2021). Williams e cols. (2013) ilustraram a grande diversidade de abordagens em sua revisão compreensiva e abrangente (Figura 2).

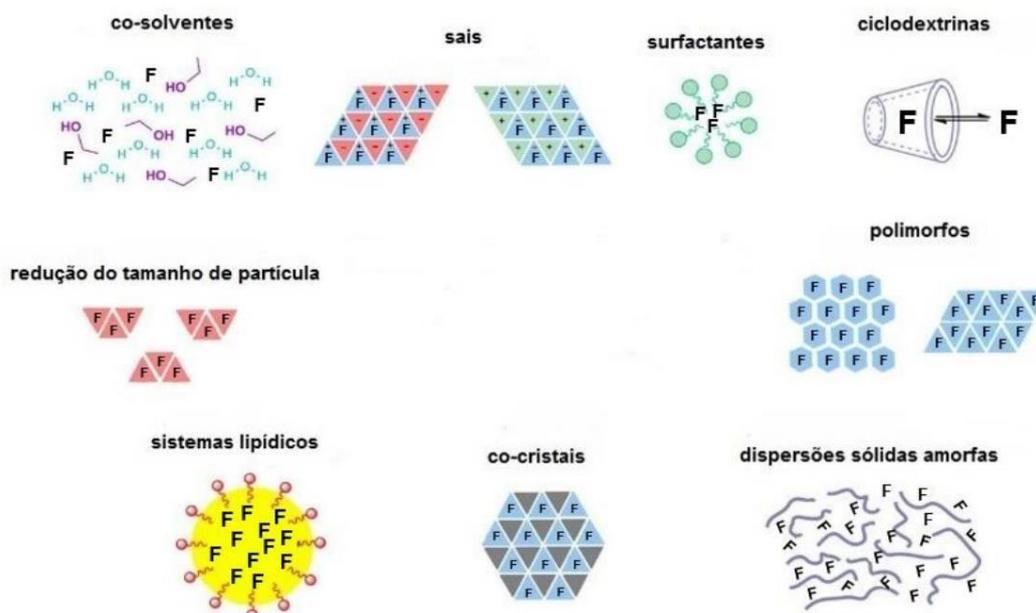


Figura 2. Diagrama esquemático ilustrando as estratégias mais comuns para mitigar problemas relacionados à baixa disponibilidade dos fármacos. Adaptado de: Williams et al. (2013).

Tais alterações, em geral, tendem a aumentar a molhabilidade das partículas e a solubilidade/dissolução dos fármacos, estando relacionadas, por exemplo, com a redução do tamanho da partícula (VOGT *et al.*, 2008).

1.2.1. MICRONIZAÇÃO

Nesse sentido, a micronização tem-se mostrado uma técnica de grande relevância, podendo ser processada de diversas formas, onde a moagem a jato de ar é uma das mais utilizadas em pesquisas e industrialmente (COSTA *et al.*, 2013; WILLIAMS *et al.*, 2013; VANDANA *et al.*, 2014; SEO *et al.*, 2016).

A micronização usando a moagem a jato de ar objetiva reduzir as dimensões das partículas do pó usando uma corrente de ar de velocidade alta, a pressões da ordem de 100 a 150 libras por polegada quadrada (psi), que vai atritá-las e impactá-las com as paredes do equipamento, gerado pela turbulência do ar ou vapor, até alcançarem tamanhos ao redor de 10 μm ou menos. Por ser um processo de alta energia, a micronização ocorre de forma imediata devido às colisões entre as partículas que estão suspensas dentro do fluxo de ar (OMELCZUK *et al.*, 1997; RASSENACK; MULLER, 2004).

O ar, então, move-se em alta velocidade em uma trajetória elíptica carregando partículas finas que atravessam a saída sendo descarregadas para dentro de um ciclone separador sendo então recolhidas em um recipiente coletor (Figura 3). As partículas maiores são levadas pela força centrífuga para a periferia onde são expostas à ação de atrito. A concepção do micronizador faz com que haja separação das partículas no interior do equipamento, sendo as partículas mais finas e leves descarregadas enquanto as partículas mais pesadas e maiores, sob o efeito da força centrífuga, ficam retidas até serem reduzidas a um tamanho menor (PARROTT, 2001).

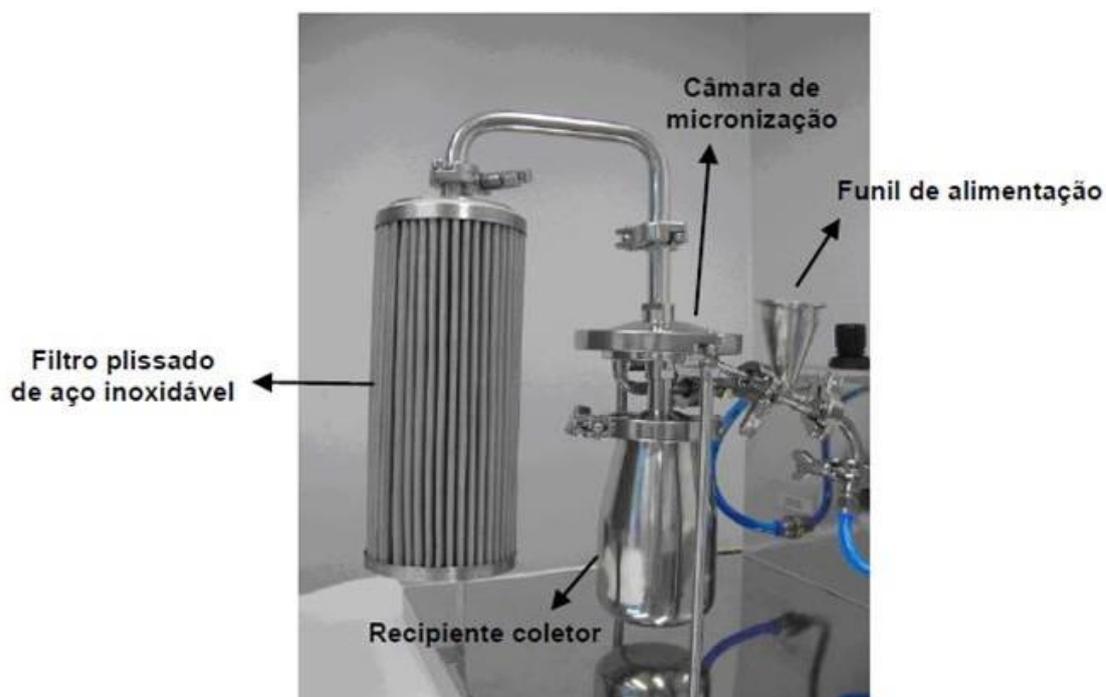


Figura 3 - Micronizador Zelus Ultra Jet 50 utilizado para a redução do tamanho das partículas.

Em geral, os fármacos são micronizados isoladamente, apenas com o objetivo de reduzir o tamanho da partícula e o consequente aumento na dissolução (WANG *et al.*, 2017; KIM *et al.* 2021), mas em muitos casos o aumento não é perceptível (WILLIAMS *et al.*, 2013).

O processo de comicronização pode ser considerado uma escolha interessante para o aumento da dissolução de fármacos pouco solúveis em água. Pela pré-mistura com excipientes antes do processo de micronização pode-se gerar um efeito ainda maior na dissolução, como foi observado para o

efavirenz (COSTA *et al.* 2013). Nesses casos, sugere-se que ocorra a formação de uma camada hidrofílica na superfície da partícula micronizada, o que aumenta a molhabilidade do sistema (WILLIAMS *et al.*, 2013; COSTA *et al.*, 2013). Além disso, a moagem a jato de ar já é utilizada em larga escala na indústria farmacêutica e, portanto, os resultados em escala de laboratório podem ser mais facilmente escalonados para a planta industrial.

Um bom modelo para avaliar técnicas de aprimoramento de dissolução é a glibenclamida (GLB), dada a sua baixa solubilidade, alta permeabilidade, absorção e biodisponibilidade oral variáveis entre os indivíduos e a existência de diferentes produtos disponíveis no mercado (REHDER *et al.*, 2012; SHAH *et al.*, 2013).

1.3. GENERALIDADES E PROPRIEDADES FARMACOLÓGICAS DA GLB

A GLB, também conhecida como gliburida, é uma sulfoniluréia de segunda geração que, ao bloquear os canais de potássio nas células β pancreáticas, estimula a liberação de insulina para controlar a glicemia em pacientes portadores da diabetes mellitus (DM) tipo 2 ou diabetes mellitus não-insulino-dependente (FILHO *et al.*, 2013, NAWALE; MEHTA, 2013). Apresenta-se sob a forma de um pó branco, inodoro e insípido, cuja fórmula molecular é $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ (Figura 4).

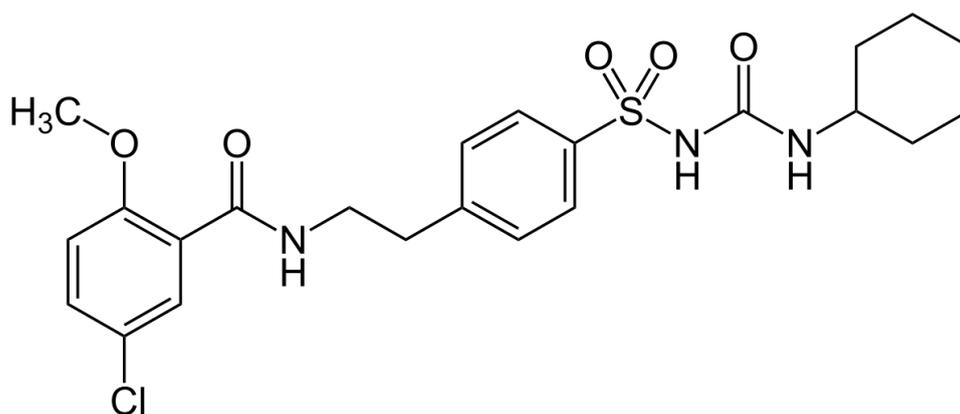


Figura 4. Estrutura química da GLB. Fonte: MarvinSketch.

É solúvel em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos e dimetilformamida, ligeiramente solúvel em diclorometano e clorofórmio, fracamente solúvel em etanol e metanol e insolúvel em éter etílico e água. Possui pK_a de 5,3, característico de um ácido fraco, e coeficiente de partição

óleo/água (log P) de 3,53 (KASIM *et al.*, 2004). Seu ponto de fusão varia entre 169-174°C e sua massa molar é de 494,0 g/mol (MERCK INDEX, 2013).

Por ser um fármaco de classe II, a GLB apresenta a dissolução como etapa limitante da absorção. A biodisponibilidade e o comportamento *in vivo* do fármaco dependem de sua taxa de dissolução. Mesmo em fluidos gastrointestinais, sua solubilidade não é alta (WANG *et al.*, 2017). Além disso, seus comprimidos podem apresentar uma dissolução errática que pode estar relacionada às propriedades do Insumo Farmacêutico Ativo (IFA).

Na literatura são descritas algumas estratégias para incrementar a solubilidade da GLB. Dastmalchi e colaboradores (2005), usando a técnica de deposição de solvente, formaram formulações de GLB e conseguiram aumentar a taxa de dissolução, aumentando a molhabilidade e diminuindo o tamanho da sua partícula, levando a um aumento nas concentrações séricas e os efeitos hipoglicêmicos do fármaco.

Wang e colaboradores (2017), por exemplo, demonstraram que as formulações de nanocristais de GLB incrementaram significativamente a solubilidade e dissolução da GLB, diminuindo o tamanho da partícula.

1.4 DIABETES MELLITUS

A DM é caracterizada por um grupo de doenças metabólicas onde a hiperglicemia resulta de defeitos na secreção e/ou ação da insulina. A hiperglicemia crônica do diabetes está associada a disfunção e falha de vários órgãos, em especial de longo prazo, afetando olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (KRASTEVA *et al.*, 2011).

A DM tipo 2 representa aproximadamente 90% de todos os casos de diabetes, sendo tratada como uma epidemia (International Diabetes Federation, 2021). Estimativas projetadas para o ano de 2030 indicam que mais de 400 milhões de pessoas com mais de 20 anos de idade vivem com diabetes (SAEDI *et al.*, 2019). Entretanto, apesar dos números alarmantes estima-se que cerca de 50% dos diabéticos não sabem que têm a doença (International Diabetes Federation, 2021).

No geral, os fármacos para tratamento da DM apresentam baixa biodisponibilidade oral. Tal fato é um importante problema a ser considerado e diversos esforços ao redor do mundo têm sido realizados na tentativa de

aumentar a velocidade de dissolução e, conseqüentemente, a biodisponibilidade (NERY *et al.*, 2008; MAGGI *et al.*, 2015).

Dessa forma, o desenvolvimento de tecnologias com esse objetivo para a GLB ajudaria a consolidar a comicronização como uma estratégia de incremento de dissolução para outros fármacos com os mesmos desafios biofarmacêuticos, como o efavirenz (COSTA *et al.*, 2011; LAVRA *et al.*, 2017), fusafungina (GIRY *et al.*, 2006) e naproxeno (TÜRK; BOLTEN, 2010; MONTES *et al.*, 2013), onde as técnicas de comicronização ou co-moagem foram estratégias de sucesso.

Logo, utilizar a comicronização para aumentar a velocidade de dissolução e biodisponibilidade oral da GLB tem o potencial de diminuir a variabilidade entre indivíduos na absorção e melhorar o tratamento.

2 JUSTIFICATIVA

Segundo dados disponíveis até setembro de 2021, cerca de 8,7% da população brasileira sofre com DM tipo 2. Globalmente, aproximadamente 9,3% da população mundial é afetada por essa condição (International Diabetes Federation, 2021).

Para pacientes com DM tipo 2, o aumento da dissolução *in vitro* da GLB pode resultar em uma absorção mais rápida e eficiente no organismo, contribuindo para um controle mais adequado dos níveis de glicose no sangue (RAMOS; PRUDÊNCIO, 2020). Considerando que esses pacientes frequentemente dependem de medicamentos orais, a otimização da dissolução da GLB pode ter um impacto significativo na administração mais efetiva e em resultados clínicos mais favoráveis.

A utilização da técnica de micronização em conjunto com distintos excipientes, em proporções variadas, tem sido apontada como uma estratégia promissora para potencializar o perfil de dissolução da GLB. A micronização da substância, caracterizada pela redução das dimensões das partículas e pelo conseqüente aumento de sua área superficial, emerge como uma abordagem promissora respaldada por pesquisas prévias (LIVERSIDGE; CUNDY, 1995; VOGT *et al.*, 2008; JERMAIN *et al.*, 2018), visando aprimorar a solubilidade e o comportamento de dissolução.

Nesse contexto, destaca-se a relevância dos excipientes no perfil de dissolução. Agentes molhantes, como o Lauril Sulfato de Sódio (LSS), são reconhecidos na literatura por sua capacidade de promover o incremento na dissolução (DHARANI *et al.*, 2019). Com base nesse conhecimento, surge a hipótese de que outros excipientes com propriedades semelhantes possam exercer um impacto igualmente favorável no perfil de dissolução, como já observado em outros estudos (VOGT *et al.*, 2008; DA COSTA *et al.*, 2013; MUEHLENFELD *et al.*, 2013)

Dessa forma, além da micronização, a seleção cuidadosa de excipientes adequados poderia potencializar ainda mais os efeitos desejados, promovendo melhorias adicionais na solubilidade e no comportamento de dissolução da substância em estudo.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Obter e caracterizar sólidos comicronizados de GLB para incremento de dissolução.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir amostras comicronizadas de GLB com diferentes excipientes e proporções.
- Realizar a caracterização morfológica, estrutural e de dissolução das amostras obtidas.
- Analisar o impacto de diferentes excipientes nas amostras produzidas pela comicronização.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1. MATERIAL

4.1.1. EQUIPAMENTOS

- Balança de infravermelho (Gehaka, IV 2000).
- Balança de pesagem (Shimadzu, AUX 320).
- Balança de precisão (Shimadzu, UX4200H)
- Difratorômetro de raios X (Bruker, D8 Advance).
- Dissolutor (Distek Evolution 6100).
- Espectrômetro de infravermelho (ThermoScientific).
- Espectrofotômetro ultravioleta/visível (UV 1800 Shimadzu).
- Micronizador (Zelus Ultra Jet 50).
- Microscópio eletrônico de varredura (HITACHI – tm3030 Plus).
- Microscópio eletrônico de varredura (FEI, Quanta 400).

4.1.2. REAGENTES, SOLVENTES E MATÉRIAS-PRIMAS

- Água destilada, deionizada e purificada em sistema Milli-Q®, Merck.
- Ácido bórico, Merck.
- Acetonitrila, Tedia.
- Celulose microcristalina 102, Blanver.
- Cloreto de potássio, Sigma-Aldrich.
- GLB, Farmanguinhos.
- Hidroxipropil celulose 1 (HPC), ShinEtsu.
- Hidroxipropilmetil celulose E5 (HPMC), ShinEtsu.
- Hidróxido de sódio, Sigma-Aldrich.
- Lactose monohidratada *spray dried* (LMSD), MEEGLE Pharma.
- Lactose monohidratada malha 200, MEEGLE Pharma.
- Lauril sulfato de sódio (LSS), VETEC.
- Lutrol F68, BASF.
- Manitol, Mingtai.
- Metanol, Sigma-Aldrich

- Poli (vinil pirrolidona) (PVP K30), JLAO.

4.2 MÉTODOS

Os procedimentos e etapas seguidos neste estudo estão ilustrados na Figura 5.

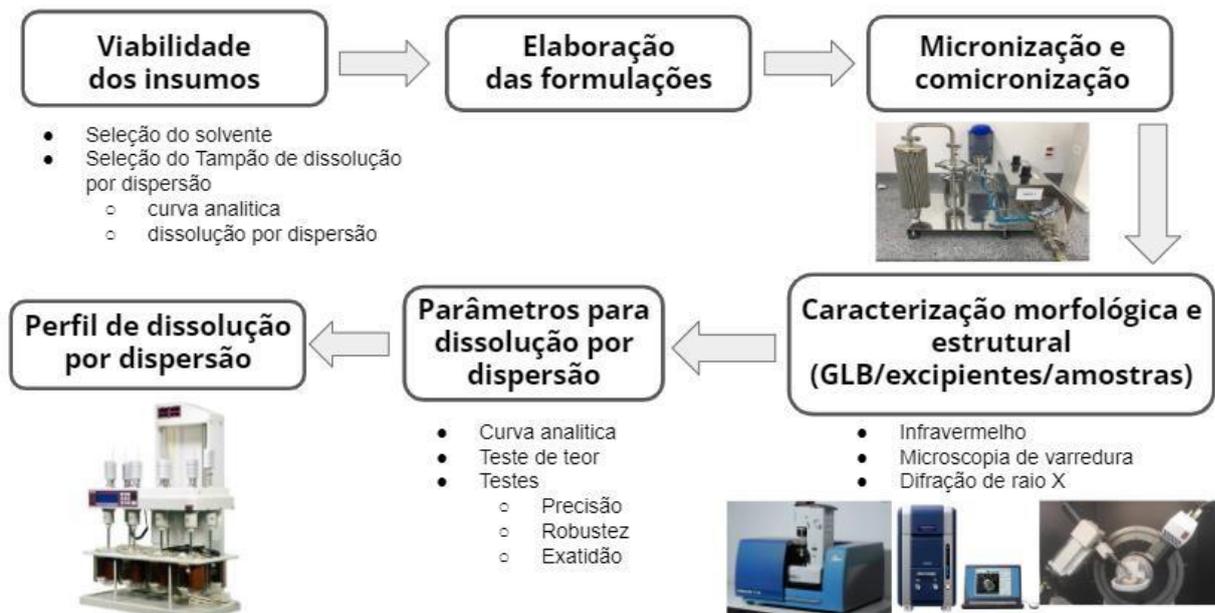


Figura 5 - Fluxograma (Fonte: elaborado pela autora, 2023).

4.2.1. AVALIAÇÃO POR ESPECTROFOTÔMETRO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL (UV/VIS) PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA NO TESTE DE DISSOLUÇÃO

Conforme a literatura, a varredura no espectrofotômetro foi feita em solventes acetonitrila e metanol, para determinar o melhor a ser utilizado e o comprimento de onda a ser usado. Metanol, ácido bórico, cloreto de potássio e hidróxido de sódio foram utilizados para o preparo das soluções de GLB e de tampão borato alcalino pH 9,4. As análises foram realizadas no Laboratório de Micro e Nanotecnologia/Fiocruz.

Inicialmente, para a varredura da GLB, 10 mg desse fármaco foram adicionados em balão volumétrico de 25 mL e completado com metanol ou

acetonitrila (Figura 6). Em seguida, os mesmos foram colocados em banho de ultrassom para solubilizar totalmente. Foi feita a leitura na região do ultravioleta e visível na faixa 190 a 900 nm usando-se um espectrofotômetro UV/vis. O procedimento descrito foi adaptado de Farmacopéia (2001).

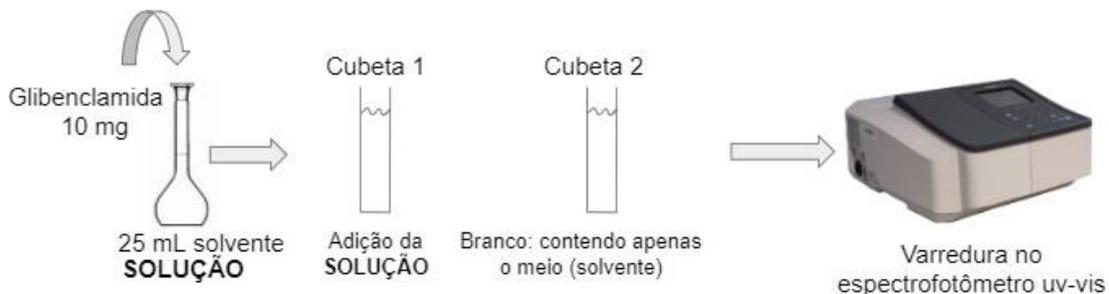


Figura 6 - Esquema ilustrativo do preparo da solução utilizada para a leitura do metanol e acetonitrila no espectrofotômetro UV/vis. (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

Para realizar a dissolução da GLB foi necessário selecionar o melhor tampão. De acordo com a literatura, dois tampões foram selecionados: tampão fosfato pH 7,4 e tampão borato alcalino pH 9,4 (REF). Foi feita a varredura do tampão borato alcalino pH 9,4 para identificar se o mesmo absorvia no mesmo comprimento de onda que a GLB. Em seguida, foi feita em triplicata, uma solução de 10 mg de GLB dissolvida em 25 mL de metanol em um balão volumétrico no mesmo processo da Figura 6. Contudo, da solução inicial de metanol foi retirada uma alíquota de 400 μ L e adicionada em um balão volumétrico de 10 mL contendo solução de tampão borato pH 9,4.

Após esse procedimento foi preparada uma curva analítica em tampão fosfato pH 7,4 e tampão borato alcalino pH 9,4 para prosseguir com a dissolução por dispersão (Figuras 7). A curva foi realizada em triplicata utilizando solução-mãe de 10 mg de GLB em 25 mL de metanol em um balão volumétrico. Foram retiradas seis alíquotas (50, 120, 200, 280, 400 e 450 microlitros) diluídos em um balão volumétrico de 10 mL em solução de tampão borato alcalino pH 9,4. Leituras foram realizadas no comprimento de onda 228 nm.

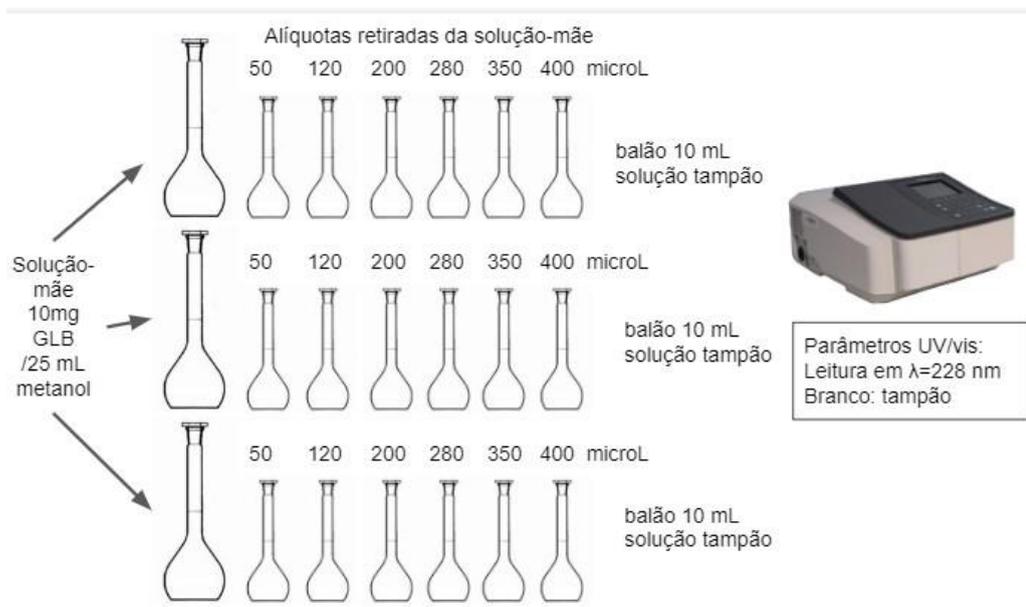


Figura 7 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol para análise e desenvolvimento da curva analítica de GLB em tampão fosfato pH 7,4 (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

4.2.1.2 ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

Para a etapa do ensaio de dissolução por dispersão as condições seguidas foram baseadas na Farmacopeia Brasileira (2010). A matéria-prima em pó, referente a 20 mg do fármaco, foi adicionada individualmente em três cubas (capacidade 1000 ml). Os parâmetros aplicados ao ensaio foram: 900 mL de tampão borato pH $9,40 \pm 0,02$, na temperatura de $37,0 \pm 0,5$ °C, aparato pá (nº 2), velocidade de agitação em 50 rpm, tempo limite do ensaio de 120 minutos. Alíquotas de 10 ml foram retiradas com o auxílio do aparato de célula de fluxo, com filtro, sem reposição do meio de dissolução. Por fim, a concentração no meio foi quantificada pelo espectrofotômetro UV/VIS.

4.2.1.3. AVALIAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA VERIFICAR A COMPATIBILIDADE DOS EXCIPIENTES COM O IFA

A varredura foi realizada de acordo com os seguintes parâmetros:

- Faixa de comprimento de onda (nm): 350 a 190.

- Concentração da solução: 2,5 mg/25 mL.
- Comprimento de onda para leitura de absorbância (nm): 228.

Para verificar a compatibilidade do tampão borato pH 9,4, foi feita sua filtração em membrana de nylon Netfilter (Millipore) com poro de 0,22 μm (Figura 8).

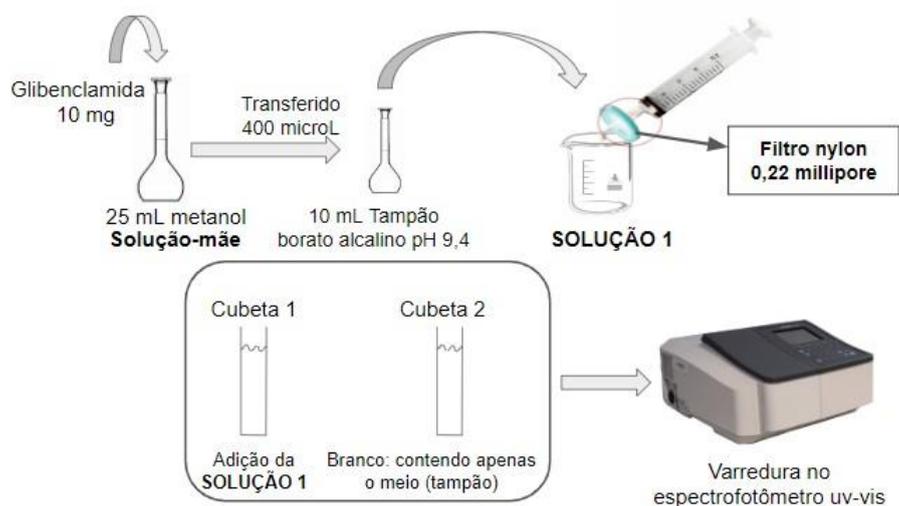


Figura 8 - Esquema ilustrativo do preparo da solução de GLB com o tampão borato alcalino pH 9,4 através da solução mãe em metanol para filtragem em filtro de seringa nylon 0,22 μm Millipore para análise de varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

Uma vez que não houve incompatibilidade, foram preparadas as soluções dos excipientes nesse tampão para fazer a varredura por espectrofotometria UV-VIS e verificar a seletividade em relação à GLB, utilizamos as amostras com a proporção de 1:0,25 para essa análise (Figura 9). Para os excipientes manitol, lactose monohidratada SD e lactose monohidratada malha 200 não foi necessária a filtragem; assim, foi utilizado apenas o banho de ultrassom por 1 minuto para a diluição total da amostra e posterior leitura.

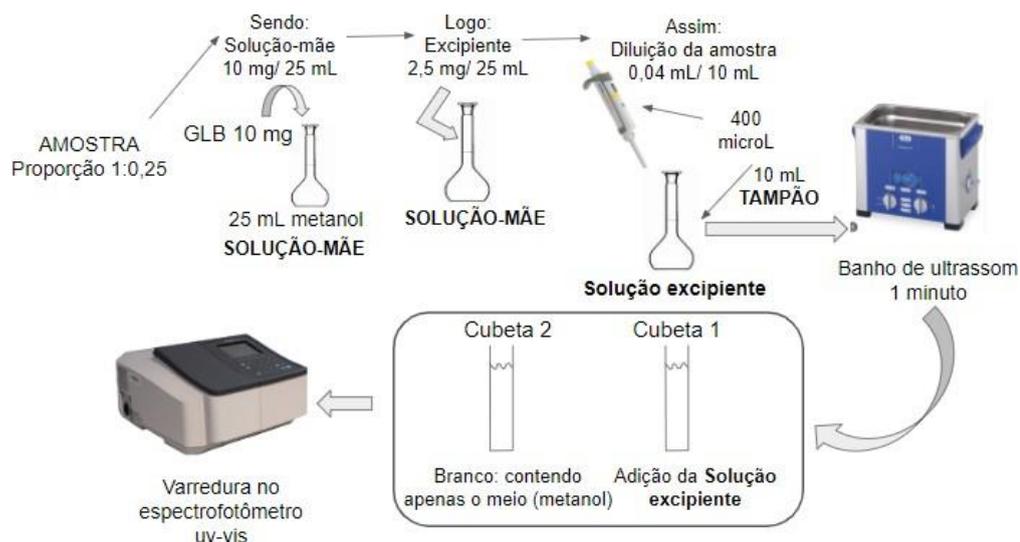


Figura 9 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol dos excipientes e diluição da amostra em tampão borato alcalino pH 9,4 e análise em varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

Para os excipientes LSS, HPMC E5, Lutrol F68 e celulose microcristalina 102, foi utilizado o ultrassom e se fez necessária a filtração por membrana de nylon Netfilter (Millipore) logo após, para prosseguir na varredura.

Para os excipientes HPC e PVP K30 foi realizado o ultrassom, porém sem uma leitura adequada. Logo, foram retirados 100 μ L da solução para um balão volumétrico de 10 mL do meio tampão e realizada a varredura.

Para verificar a compatibilidade do metanol, este foi filtrado com membrana de nylon Netfilter (Millipore) com poro de 0,22 μ m (Figura 10).

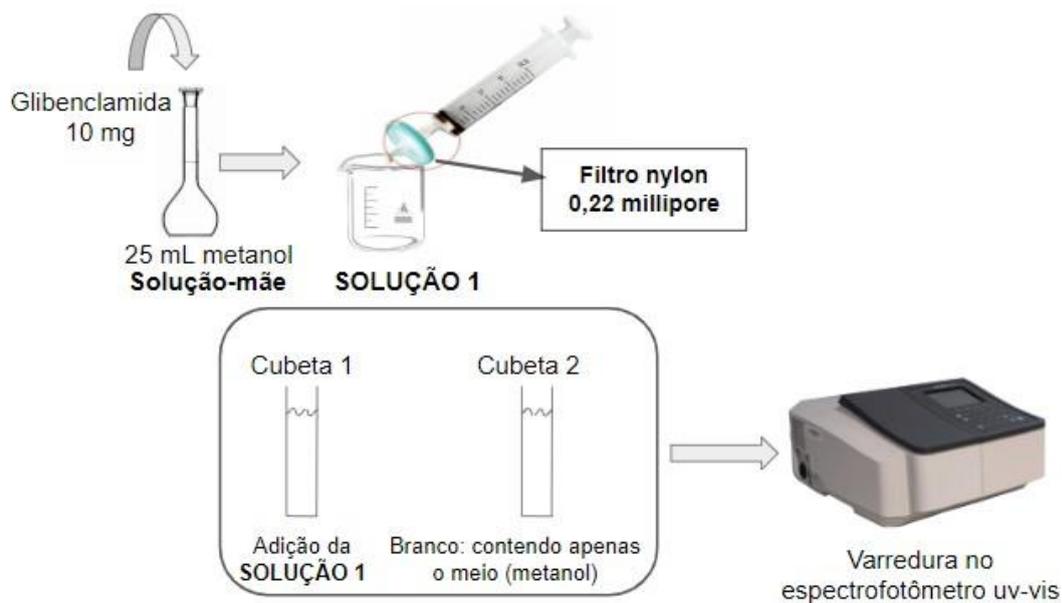


Figura 10 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol seguido da filtragem em filtro de seringa nylon 0,22 µm Millipore para análise de varredura no espectrofotômetro UV/vis (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

Uma vez que não houve incompatibilidade, foram preparadas as soluções dos excipientes em metanol para fazer a varredura e verificar a seletividade em relação à GLB.

Apenas para o excipiente celulose microcristalina 102, foi utilizado o ultrassom e a filtragem por membrana de nylon Netfilter (Millipore) para prosseguir na varredura.

Para os outros excipientes foi utilizado apenas o banho de ultrassom por 1 minuto para a diluição total da amostra e posteriormente a leitura como na Figura 9, só que ao invés da utilização de meio tampão, foi utilizado o metanol.

4.2.2. ELABORAÇÃO DAS FORMULAÇÕES

A GLB e nove diferentes excipientes em pó foram combinados e divididos em três diferentes proporções (1:0,25:0,25; 1:0,25; 1:0,5), formando três grupos (1, 2 e 3), respectivamente. O esquema abaixo ilustra as formulações obtidas (Tabela 2).

Tabela 2. Esquema indicando as 26 formulações realizadas e as proporções obtidas em relação a combinação da GLB com os nove excipientes em pó.

Grupo 1 (1:0,25;0,25)		Grupo 2 (1:0,25)		Grupo 3 (1:0,5)	
GLB/Lauril Sulfato de Sódio/Excipiente		GLB/Excipiente		GLB/Excipiente	
S1	Sem excipiente	S10	LSS	S19	Lauril Sulfato de Sódio (LSS)
S2	PVP K30	S11	PVP K30	S20	PVP K30
S3	Lactose SD	S12	Lactose SD	S21	Lactose SD
S4	Manitol	S13	Manitol	S22	Manitol
S5	MCC 102	S14	MCC 102	S23	MCC 102
S6	Lactose 200	S15	Lactose 200	S24	Lactose 200
S7	HPC	S16	HPC	S25	HPC
S8	HPMC	S17	HPMC	S26	HPMC
S9	Lutrol F8	S18	Lutrol F8	S27	Lutrol F8

LSS: Lauril sulfato de sódio, PVP K30: Polivinilpirrolidona K30, Lactose SD: Lactose monohidratada spray dried, MCC 102: Celulose microcristalina 102, Lactose 200: Lactose monohidratada malha 200, HPC: Hidroxipropil celulose, HPMC: Hidroxipropilmetil celulose E5.

4.2.3. MICRONIZAÇÃO E CO-MICRONIZAÇÃO

Para a redução do tamanho de partícula foi empregada a técnica de micronização da matéria-prima pura e com micronizações realizadas a partir da mistura prévia de GLB e excipientes, nas proporções descritas acima. A pressão de processo empregada foi 2,0 Kgf/cm² e a pressão de arraste em 5,0 Kgf/cm².

Foram utilizados 8 g de GLB na mistura das proporções com os excipientes em um pote plástico e agitado de 1 minuto para promover homogeneização. Em seguida, a mistura foi inserida no funil de alimentação do micronizador com auxílio de uma espátula de aço (Figura 11).



Figura 11 - Esquema ilustrativo indicando a mistura da GLB com os excipientes para ser comicronizado no micronizador Zelus Ultrajet 50 e produzindo as amostras do projeto (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

4.2.4. CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA E ESTRUTURAL

4.2.4.1. ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

Foram depositadas quantidades pequenas de IFA e amostras, no espectrofotômetro munido com *software* OMNIC 7.0, em contato direto com o cristal do acessório 35 de reflectância atenuada (ATR, do inglês *Attenuated Total Reflectance*). Os espectros foram computados de 4000 a 650 cm^{-1} com resolução de 4 cm^{-1} e 32 scans.

4.2.4.2. Análise da forma por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Durante a microscopia eletrônica de varredura (HITACHI – tm3030 Plus) ocorreu a metalização de ouro (SCD005 SpulterCoater-Baltec) através do vácuo sob Argônio em corrente de 30 mA por 150 segundos. Análise feita nos aumentos de X1.000k e X5.000k.

4.2.4.3. Análise do tamanho das partículas secas por difração a laser

Na difratometria de raio-X (difratômetro Bruker D8) as análises foram realizadas para o IFA e as amostras, explorando os ângulos de 3° até 50° em 2θ , com passo de $0,02^\circ$ e o tempo por passo de 0,1 s, equipamento utilizando radiação $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = \text{Å}$), corrente de tubo e voltagem de 40 mA e 40 kV, respectivamente.

4.2.5. PARÂMETROS PARA DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO

4.2.5.1. CURVA ANALÍTICA EM METANOL

Foi realizada uma curva analítica em metanol para prosseguir com o teste de teor das amostras. A curva foi realizada em triplicata utilizando solução-mãe de 10mg de GLB em 25 mL de metanol em um balão volumétrico. Foram retiradas seis alíquotas (50, 120, 200, 280, 400 e 450 microlitros) diluídos em um balão volumétrico de 10 mL em solução metanol. As leituras foram realizadas no comprimento de onda 228 nm (Figura 12).

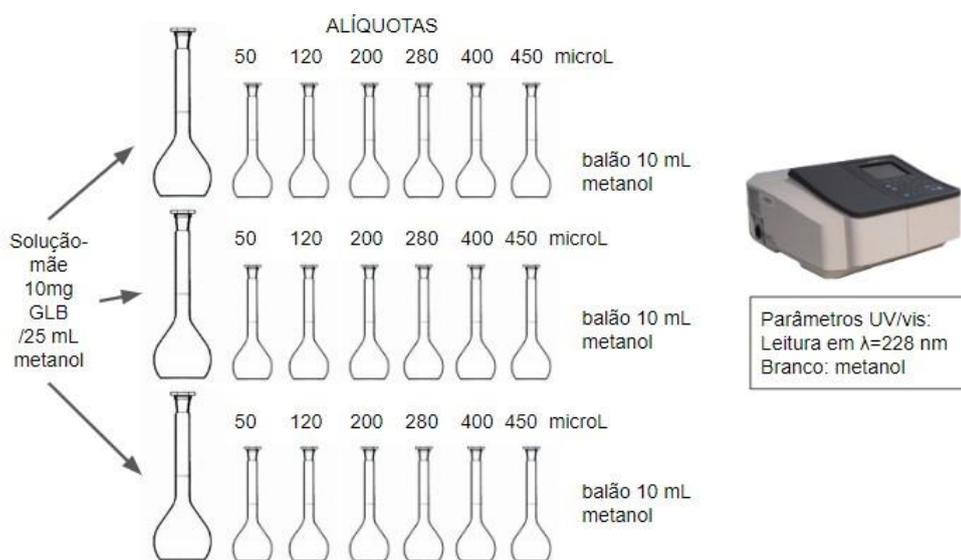


Figura 12 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe em metanol para análise e desenvolvimento da curva analítica de GLB em metanol (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

4.2.5.2. DETERMINAÇÃO DE TEOR DAS AMOSTRAS

Durante a determinação do teor, algumas amostras (celulose microcristalina - S14, S23, S05) tiveram a necessidade da filtração por

membrana de nylon netfilter (Millipore) pela sua dificuldade em diluição no metanol.

Para verificar a compatibilidade do metanol membrana de nylon Netfilter (Millipore) com poro de 0,22 μm uma solução-mãe foi preparada, contendo 10 mg de GLB, para 25 ml solvente metanol e submetida a banho de ultrassom para sua diluição completa. Fazendo a varredura de 900 a 190 nm, foi observado o comprimento de onda de 228 nm, indicando absorbância de 3,997. Uma alíquota de 400 μL da solução-mãe foi retirada e colocada em 10 ml de solvente. Fazendo a varredura novamente, foi observado no comprimento de onda a absorbância de 0,869. Esse mesmo processo foi realizado novamente, porém antes da leitura da solução-mãe e a retirada da alíquota, foi feita a filtragem pela membrana de nylon Netfilter (Millipore). Comparando-se os resultados da absorbância foi visto que não houve interferência da membrana em sua utilização no processo.

O teor foi preparado em triplicatas. Os valores da absorbância foram lidos no comprimento de onda 228 nm, utilizando a curva de calibração feita inteiramente no solvente metanol. A solução-mãe foi preparada em triplicata, contendo 10 mg de cada amostra, para 25 ml de metanol e submetida a banho de ultrassom (Figura 13).



Figura 13 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe a partir das amostras comicronizadas em meio metanol e sua diluição para análise e leitura no comprimento de onda 228 nm (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

As amostras S5, S14 e S23, com celulose microcristalina na composição, não tiveram total diluição apenas com o banho de ultrassom, necessitando da filtragem pela membrana de nylon Netfilter (Millipore). Uma alíquota de 400 μL

da solução-mãe foi retirada e adicionada em um balão volumétrico de 10ml de solvente (Figura 14). Foi realizada a leitura da absorbância em comprimento de onda 228 nm.

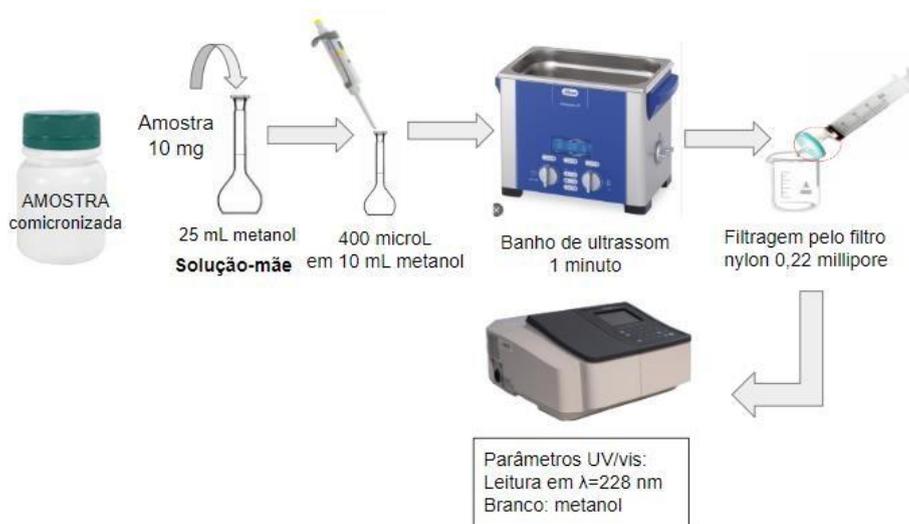


Figura 14 - Esquema ilustrativo do preparo da solução mãe a partir das amostras comicronizadas em meio metanol e sua diluição seguida da filtragem da solução em filtro de seringa nylon 0,22 Millipore para análise e leitura no comprimento de onda 228nm (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

A partir dos resultados do teste de teor, foi possível calcular a quantidade correta da pesagem da amostra para que se pudesse obter 20 mg de GLB em cada amostra. Foi escolhido o peso de 20 mg já que esta é a dose diária máxima em um dia, podendo ser dividida em 4 vezes de 5mg (Figura 15).



Figura 15 - Dissolutor Distek Premiere 5100 com os parâmetros utilizados na dissolução por dispersão das amostras comicronizadas em tampão borato alcalino pH 9,4 (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

4.2.6. PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO

Para a etapa do ensaio de dissolução por dispersão (Dissolutor Distek Evolution 6100) as condições seguidas foram as do ensaio de dissolução e de doseamento de GLB descrito na Farmacopéia Brasileira (2010). As amostras em pó, equivalente a 20mg de GLB, foram adicionadas individualmente às cubas (capacidade 1000ml) de dissolução por dispersão (com intervalos de 30 segundos entre as adições). Cada cuba contendo 900 mL de tampão borato alcalino pH 9,40 \pm 0,02 foi usada como meio de dissolução, na temperatura de 37,0 \pm 0,5 °C (Figura 20). No momento da adição do pó (tempo zero), foi usado o sistema de agitação: pás rotatórias, aparato nº 2, fixando a velocidade de agitação em 50 rpm, até o tempo limite do ensaio (120 minutos). Aliquotas de 10ml foram retiradas com o auxílio do aparato de célula de fluxo, com filtro, sem reposição do meio de dissolução nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 e 120 minutos, não havendo reposição de meio de dissolução. Por fim, as amostras foram quantificadas pelo espectrofotômetro ultravioleta/vis (Figura 16).

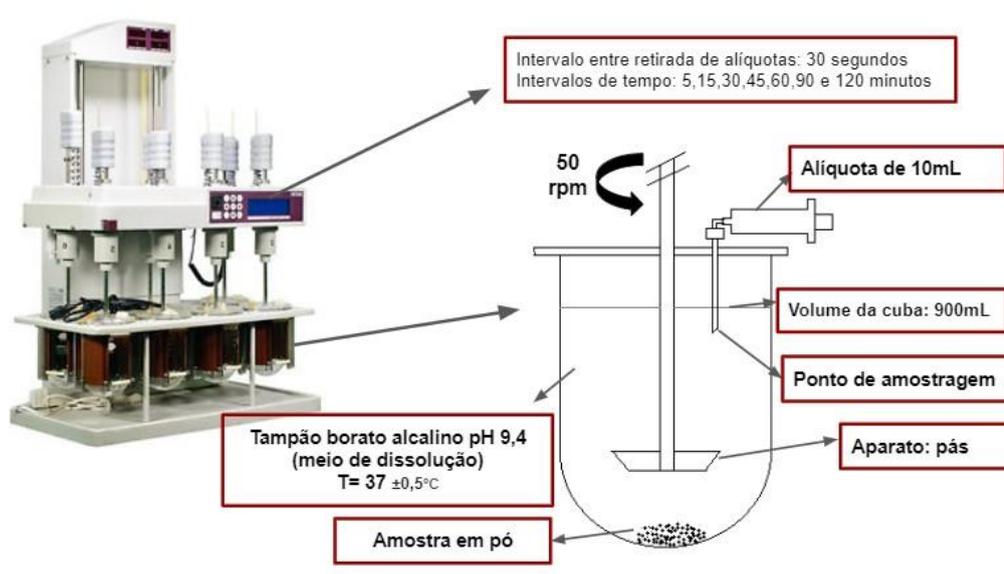


Figura 16 - Dissolutor Distek Evolution 6100 com as condições e aparatos completos para o ensaio de dissolução por dispersão da matéria-prima e amostras comicronizadas da GLB (Fonte: elaborado pela autora, 2022).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. AVALIAÇÃO POR ESPECTROFOTÔMETRO ULTRAVIOLETA/VISÍVEL (UV/VIS) PARA DETERMINAÇÃO DO COMPRIMENTO DE ONDA NO TESTE DE DISSOLUÇÃO

Na Figura 17, é possível observar as varreduras realizadas no espectrofotômetro UV/VIS referentes à GLB e aos potenciais agentes comicronizadores sugeridos para o processo. A partir das primeiras varreduras com metanol e acetonitrila, o metanol foi reconhecido como o solvente mais adequado, pelos picos estarem mais distantes dos picos característicos do solvente. A varredura do tampão borato alcalino pH 9,4 não identificou conflito, uma vez que o pico de onda do tampão foi de 194,5 nm.

Foi feita a varredura da GLB e verificados os pontos em 299 nm, 228 nm no gráfico de absorbância em nanômetros e a primeira derivada indicou em 238 nm. O comprimento de onda selecionado foi 228 por apresentar um pico mais definido e ainda distante dos picos do espectro do solvente, evitando a interferência na leitura, com esse.

5.2. AVALIAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA PARA VERIFICAR A COMPATIBILIDADE DOS EXCIPIENTES COM O IFA

A varredura dos excipientes se encontra na figura 21. As varreduras dos excipientes HPMCE5, PVP K-30, Lutrol F68, LSS e Lactose mono SD indicaram picos de absorbância em comprimentos de onda menores que 200 nm (Figura 17). As varreduras dos excipientes HPC, Lactose malha 200 e celulose microcristalina 102 indicaram picos de absorbância em comprimentos de onda entre 200 e 225 nm (Figura 17). Dessa forma, nenhum dos excipientes demonstrou picos de absorbância no comprimento de onda da GLB (228 nm), não havendo interferência na leitura.

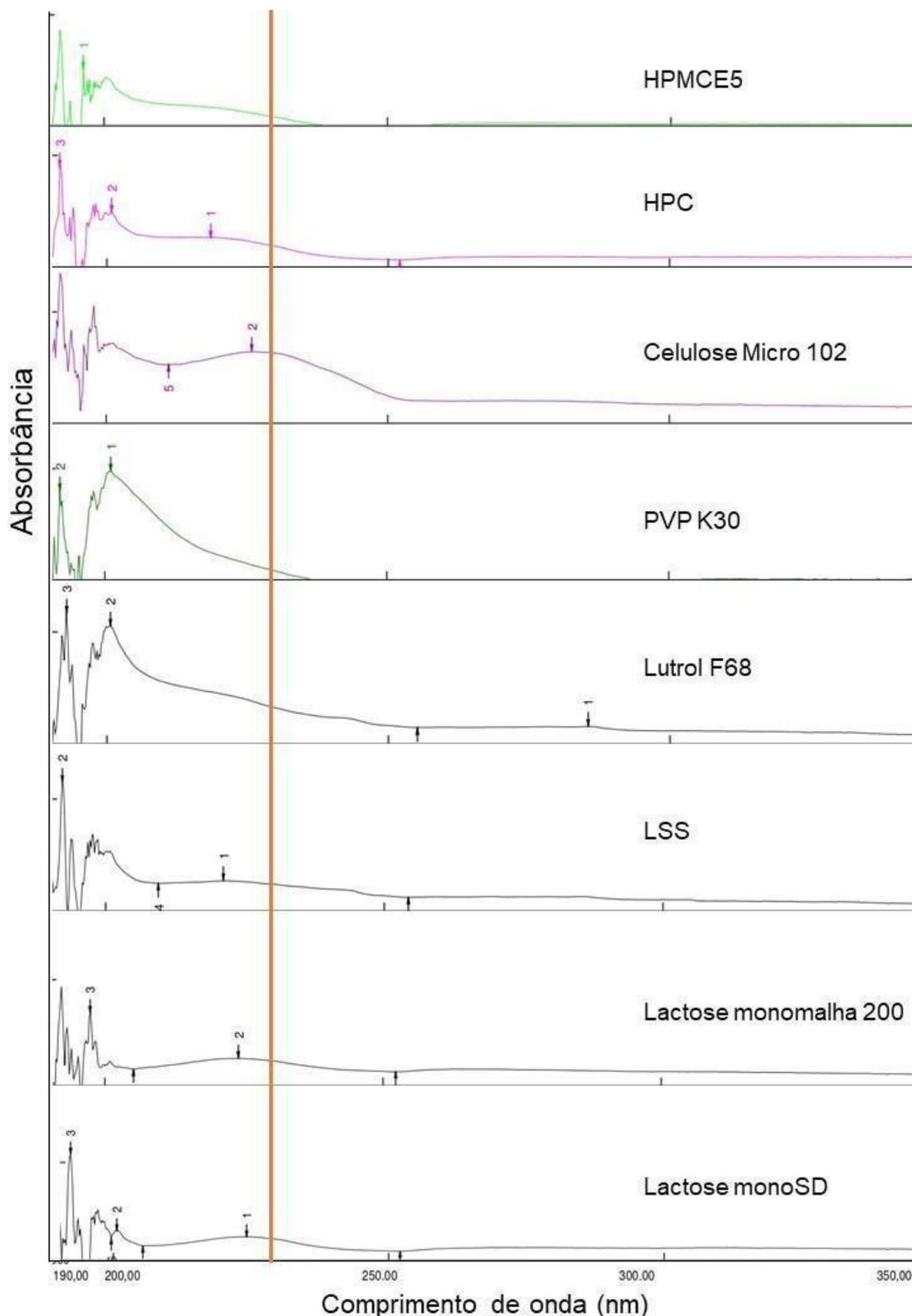


Figura 17. Varredura dos excipientes indicando a absorbância em relação ao comprimento de onda de cada excipiente. Linha vermelha sólida cortando o gráfico verticalmente indica o comprimento de onda da GLB (228 nm).

5.3. TESTE DE TEOR DAS AMOSTRAS

Na tabela 3 encontram-se os valores de teor para as amostras do grupo 1, 2 e 3, respectivamente, e seus valores de desvio-padrão relativo (DPR).

Tabela 3 - Valores de teor para as amostras do grupo 1, 2 e 3, respectivamente, e seus valores de desvio-padrão relativo (DPR).

Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3		
Amostra	Teor	DPR	Amostra	Teor	DPR	Amostra	Teor	DPR
S1	96,52	1,267%	S10	73,84	9,090%	S19	64,2	3,092%
S2	67,14	3,573%	S11	80,69	1,668%	S20	60,41	3,711%
S3	68,92	2,611%	S12	80,65	2,725%	S21	66,29	5,237%
S4	69,85	3,329%	S13	76,32	9,361%	S22	60,41	0,508%
S5	61,49	3,255%	S14	84,25	9,866%	S23	67,03	10,022%
S6	66,8	1,085%	S15	80,07	2,000%	S24	63,86	2,961%
S7	69,85	3,329%	S16	90,01	1,828%	S26	62,81	0,465%
S8	69,31	2,602%	S17	76,90	1,780%			
S9	93,81	0,623%	S18	57,51	1,427%			

No grupo 1, os resultados indicaram que S1 apresentou o maior teor (96,52%), enquanto S5 o menor (61,49%). No grupo 2, os resultados indicaram que S16 apresentou o maior teor (90,01%), enquanto S18 o menor (57,51%). No grupo 3, os resultados indicaram que S21 apresentou o maior teor (66,29%), enquanto S20 o menor (60,41%). Uma vez que os resultados apresentaram DPR baixos isso indica boa precisão da análise (Tabela 3).

5.4. PERFIL DE DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO

Os perfis de dissolução para as amostras do grupo 1 são apresentados na Figura 22 e as eficiências de dissolução se encontram na Tabela 4. Os percentuais de dissolução a cada retirada de alíquota de 10mL se encontram no apêndice 1. Foi possível observar que, até os primeiros 15 minutos, todas as formulações atingiram percentuais de dissolução maiores que os da GLB pura (matéria-prima) (Figura 18). Porém, a amostra S9 atingiu dissolução menor do que 80%. Aos 45 minutos, é possível observar que as amostras S3, S8 e S9

atingiram dissolução menor que a da matéria-prima. Mais uma vez, a amostra S8 atingiu dissolução menor do que 80%. Ao final dos 120 minutos, as amostras S4, S8 e S9 atingiram dissolução menor que a da matéria-prima, porém só a S9 abaixo de 80%. De forma geral, no final dos 120 minutos, todas as formulações apresentaram eficiência de dissolução superior a 80%, com exceção da amostra com Lutrol (Figura 18). Em relação a GLB micronizada, apenas as amostras com micronizadas S2, S3, S4 e S7 tiveram um incremento no perfil de dissolução.

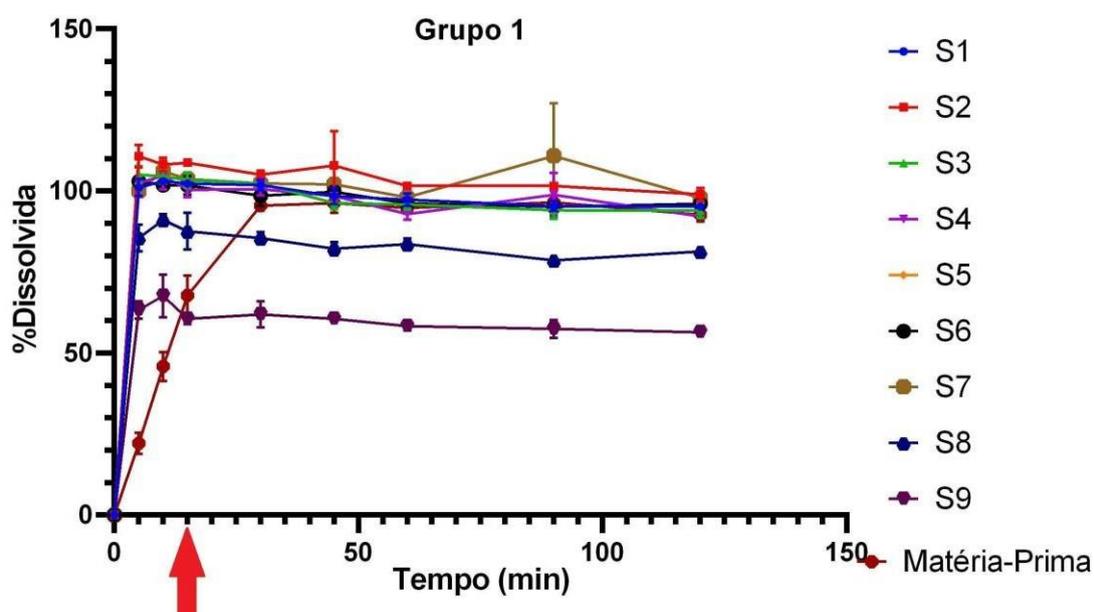


Figura 18 - Perfis de dissolução da GLB inicial, da amostra micronizada e das amostras com micronizadas do Grupo 1 (1:0.25:0.25 GLB/lauril sulfato de sódio (LSS)/excipientes). S1: Sem excipiente, S2: PVP K-30, S3: Lac SD, S4: manitol, S5: Cel MC, S6: Lac M200, S7: HPC, S8: HPMC E5, S9: Lutrol F68. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução.

Os perfis de dissolução para as amostras do grupo 2 são apresentados na Figura 23 e as eficiências de dissolução se encontram na Tabela 4. Os percentuais de dissolução a cada retirada de alíquota de 10mL se encontram no Apêndice 1. Até os primeiros 15 minutos, todas as amostras, exceto a S14, atingiram dissolução maior que a da GLB pura (matéria-prima) e acima de 80% (Figura 19). Aos 45 minutos, é possível observar que as amostras S14, S16 e S17 atingiram taxas de dissolução menor que a matéria-prima. Porém, nesse estágio todas as amostras atingiram dissolução maior do que 80%. Ao final dos

120 minutos, todas as amostras, com exceção das amostras S11 e S16, atingiram dissolução maior que a da matéria-prima. Nesse grupo, é importante destacar que, independentemente se houve ou não incremento da dissolução com a comiconização, todas atingiram mais que 80%. De forma geral, ao final dos 120 minutos, todas as formulações apresentaram eficiência de dissolução superior a 80% (Figura 19). É importante notar que a amostra com Lutrol pode ter apresentado alguma interferência na amostra ou no processo de leitura.

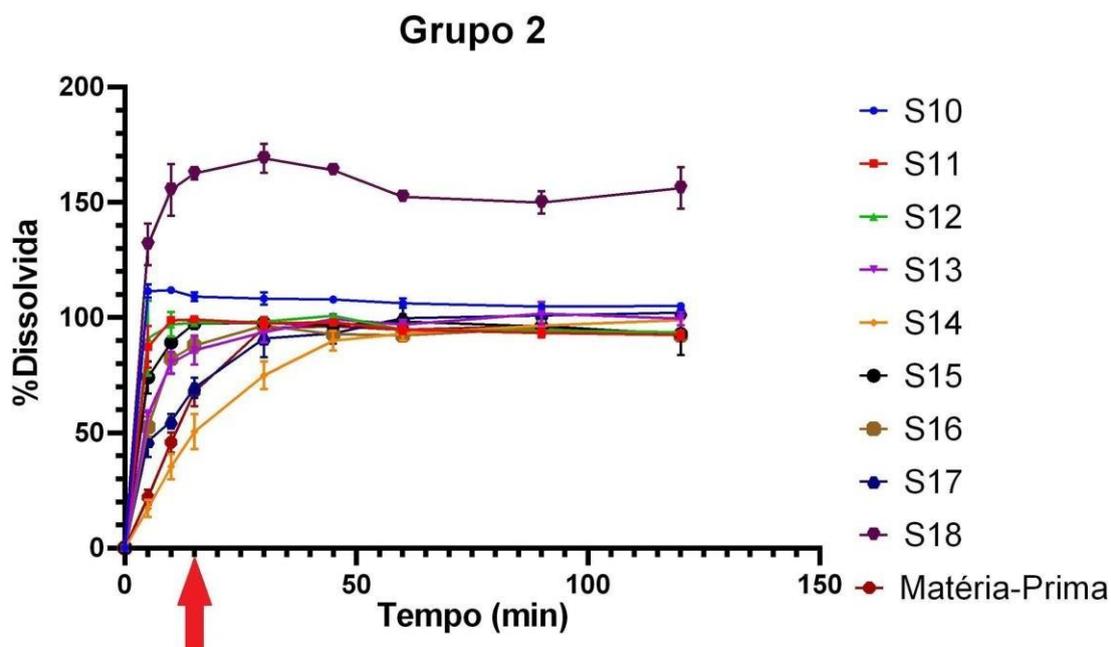


Figura 19 - Perfis de dissolução da GLB pura, da amostra micronizada e das amostras comiconizadas do Grupo 2 (1: 0,25 GLB/excipientes). S10: SLS, S11: PVP K-30, S12: lactose SD, S13: manitol, S14: micro cellulose 102, S15: lactose 200 mesh, S16: HPC, S17: HPMC, S18: Lutrol. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução.

Os perfis de dissolução das amostras do Grupo 3 são apresentados na Figura 24 e as eficiências de dissolução estão na tabela 4. Os percentuais de dissolução a cada retirada de alíquota de 10mL se encontram no apêndice 1. No Grupo 3, foi possível observar que, até os primeiros 15 minutos, as amostras S20, S22 e S23 atingiram taxas de dissolução menores que a GLB pura (matéria-prima) e abaixo de 80% (Figura 20). Aos 45 minutos, é possível observar que as amostras S19, S20, S22 e S23 atingiram taxas de dissolução

menores que a matéria-prima, porém só as amostras S20 e S23 apresentaram taxas abaixo de 80%. Ao final dos 120 minutos, as amostras S19, S20 e S23 atingiram taxas de dissolução menores que a matéria-prima, porém todas acima de 80% de dissolução. De forma geral, ao final dos 120 minutos, todas as formulações apresentaram eficiência de dissolução superior a 80% (Figura 20).

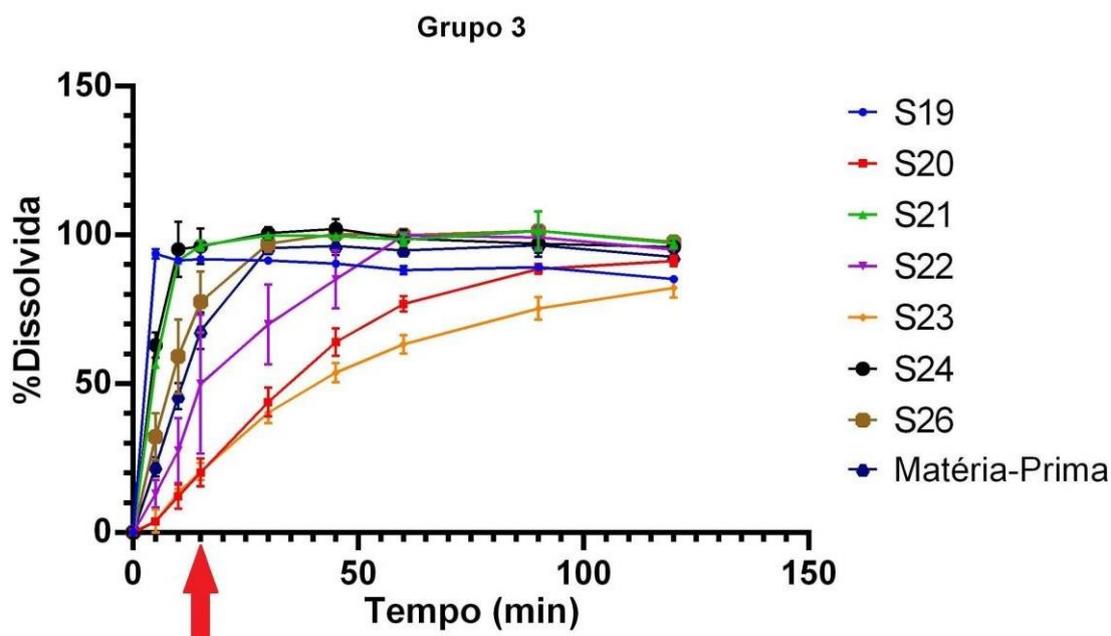


Figura 20 - Perfis de dissolução da GLB pura, da amostra micronizada e das amostras comicronizadas do Grupo 3 (1:0.5 GLB/excipientes). S19: LSS, S20: PVP K-30, S21: Lac SD, S22: manitol, S23: Cel MC, S24: Lac M200, S26: HPMC E5. Determinação a 228 nm. Barras indicam os respectivos valores de desvio-padrão. A seta vermelha indica os 15 primeiros minutos do processo de dissolução.

Comparando-se os três grupos é possível observar que a maior parte das amostras comicronizadas incrementaram a velocidade de dissolução da GLB, reforçando a importância da técnica para fármacos pouco solúveis. Um dos excipientes que teve um dos melhores desempenhos, o Lauril Sulfato de Sódio (LSS), é reconhecido na literatura por sua capacidade de promover o incremento na dissolução (DHARANI et al., 2019). Apesar das diferenças entre excipientes, todos eles obtiveram, de forma geral, mais de 80% de eficiência de dissolução ao final do processo (Tabela 4). Um estudo que aplicou a mesma técnica para

outras drogas poucos solúveis encontrou resultados similares ao comicronizar EMD 57033, albendazol, danazol e felodipina, com lactose monohidratada, PVP40, HPMC e SLS (VOGT *et al.*, 2008). A técnica de comicronização com manitol também incrementou a velocidade de dissolução da griseofulvina (MUEHLENFELD *et al.*, 2013), assim como para o Efavirenz (COSTA *et al.* 2013).

Tabela 4 - Eficiências de dissolução de todas as amostras com base nos excipientes com os quais foram preparadas. No grupo 3, as amostras HPC e Lutrol F68 não puderam ser processadas por mal funcionamento do aparelho e não puderam ser replicadas. DPR Desvio-padrão relativo.

Excipientes	Formulações					
	0,25 excipiente + 0,25 SLS	DPR (%)	0,25 excipiente	DPR (%)	0,5 excipiente	DPR (%)
PVP-K30	101,58%	1,35	93,11%	1,03	91,22%	1,94
Lactose SD	95,37%	1,95	93,93%	0,56	95,03%	2,48
Manitol	95,49%	1,25	94,66%	3,78	80,58%	5,64
MCC 102	92,02%	1,21	80,95%	2,79	82,16%	2,89
Lactose malha 200	98,01%	2,90	91,07%	1,19	94,66%	2,68
HPC	101,07%	4,39	89,31%	0,56		
HPMC	81,59%	1,60	89,72%	1,81	87,86%	2,69
Lutrol F68	58,13%	2,06	152,73%	1,05		
SLS	-	-	104,65%	0,90	87,52%	0,90
GBL pura	85,90%	1,47				
GBL pura micronizada	93,90%	1,56				

5.5. ESPECTROMETRIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As amostras comicronizadas, assim como as matéria-primas puras (não processadas), foram analisadas em espectrômetro de infravermelho na região de 4000 a 650 cm^{-1} , em que foram encontrados os picos de maior importância para a GLB. O resultado da matéria-prima não processada mostrou-se conforme em relação ao resultado de LEÃO (2020). A Tabela 5 mostra os valores e a comparação das bandas de absorção mais características da matéria-prima com as amostras co-micronizadas (Tabela 5).

Tabela 5: FTIR para (N-H da amida), (C = O da amida) e (CH_2 antissimétrico e simétrico) na matéria-prima, amostras micronizadas e comicronizadas para os grupos 1, 2 e 3.

Amostra	Comprimento de onda (cm^{-1})			
	Região N-H da amida	Região C=O da amida	Região CH_2 antissimétrico / simétrico	
Referência	3310	1717	2924,00	2852,00
Matéria-prima	3305,29	1713,82	2929,53	2855,33
S1	3310,91	1713,79	2929,93	2852,30
S2	3309,50	1713,99	2917,96	2850,20
S3	3313,97	1714,01	2921,09	2849,53
S4	3306,67	1714,28	2928,90	2850,82
S5	3306,21	1713,58	2919,69	2852,01
S6	3304,74	1714,01	2918,86	2851,15
S7	3301,76	1713,81	2928,52	2850,48
S8	3312,07	1713,88	2919,84	2849,06
S9	3310,20	1713,58	2919,79	2849,94
S10	3309,69	1713,80	2927,84	2850,89

S11	3310,52	1714,12	2929,65	2855,71
S12	3307,11	1713,79	2930,54	2855,64
S13	3311,87	1714,14	2931,53	2854,67
S14	3309,05	1713,46	2929,60	2855,16
S15	3312,64	1714,21	2928,99	2857,21
S16	3312,12	1714,12	2930,01	2855,94
S17	3312,73	1714,36	2929,88	2853,87
S18	3305,55	1713,62	2930,48	2855,82
S19	3307,22	1713,69	2917,46	2850,12
S20	3303,78	1713,61	2930,46	2855,58
S21	3308,90	1714,26	2930,63	2854,59
S22	3313,47	1713,70	2929,77	2851,97
S23	3309,91	1713,85	2929,80	2854,80
S24	3310,82	1714,33	2930,61	2857,21
S26	3306,96	1714,00	2930,24	2853,99

De acordo com REHDER *et al.* (2012) foi identificada banda de absorção em 3310 cm^{-1} , atribuída ao estiramento N-H da amida; característica das sulfoniluréias. Em um estudo de PANAGOPOULOU-KAPLANI E MALAMATARIS (2000), foram realizadas a preparação e caracterização de um novo polimorfo insolúvel da GLB. Os resultados obtidos por meio da técnica de infravermelho indicaram a presença da GLB na banda de absorção no estiramento C=O da amida em 1717 cm^{-1} . Nas bandas de absorção 2.924 e 2.852 cm^{-1} , de acordo com SPERLINE *et al.* (1997), representam os estiramentos antissimétricos e simétricos respectivamente do grupo -CH₂- na GLB.

Após a análise comparativa dos espectros FTIR da matéria-prima e dos compostos formados com aqueles descritos na literatura, conclui-se que não

foram observados deslocamentos ou quaisquer outras alterações significativas nas bandas. Assim, os espectros das amostras consistem na soma das contribuições de seus respectivos constituintes e indicam que as vibrações moleculares, mantendo as ligações químicas da GLB não foi alterada após a realização da co-micronização.

5.6. MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As imagens do MEV mostram todas as amostras em dois aumentos; para comparação com a matéria-prima, essas imagens estão ilustradas dentro de seus respectivos grupos: Grupo 1 (Figura 22), Grupo 2 (Figura 23) e Grupo 3 (Figura 24).

Comparativamente à matéria-prima, é possível notar que não houve mudança significativa no formato e na aglomeração. Em geral, todas as amostras apresentaram formas irregulares de diversos formatos. Contudo, as amostras S7, S8, S14, S16, S17, S23 e S26, tendo celulose em sua composição, apresentaram maior incidência de partículas alongadas e cilíndricas (Figura 21). Tais partículas têm maior tendência à aglomeração pela presença de grupos hidroxilas em sua superfície (SANTOS; TAVARES, 2013) atribuindo caráter mais hidrofílico.

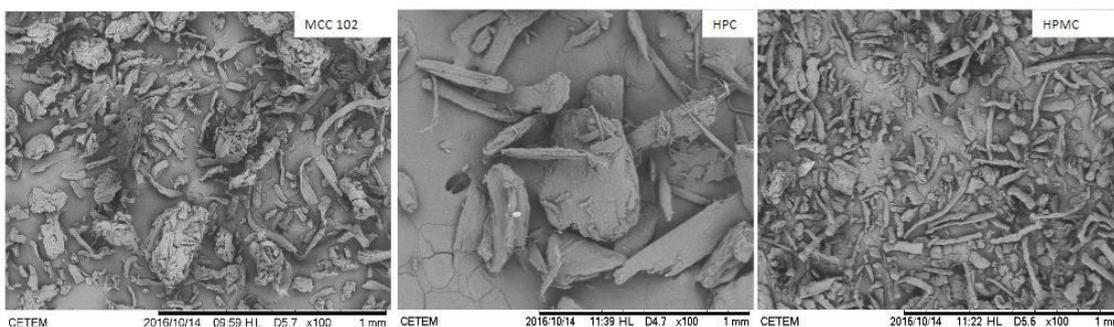


Figura 21 - Imagens de MEV dos excipientes MCC, HPC e HPMC, com ampliações de 100x.

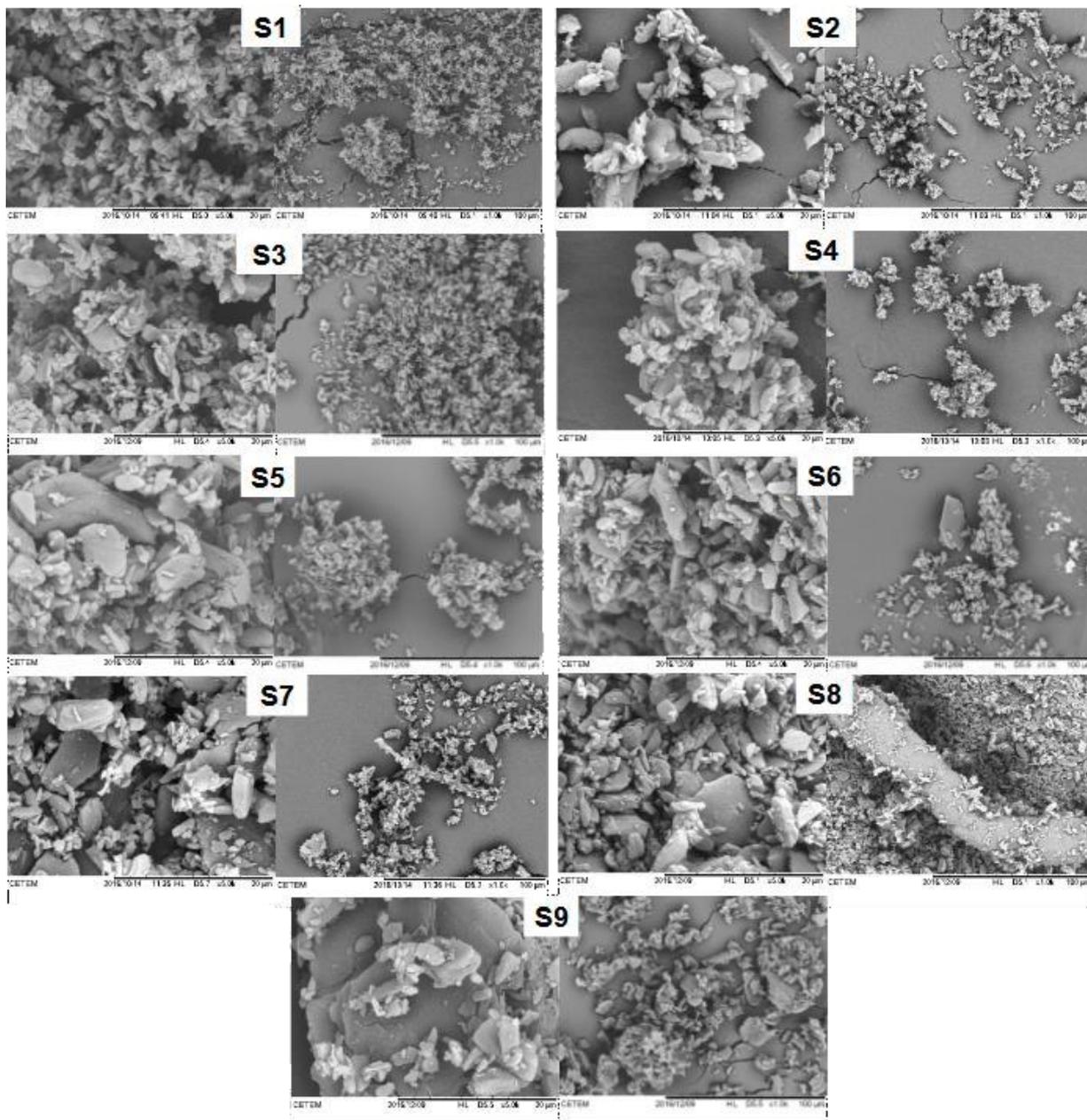


Figura 22 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 1, com ampliações de 5000x e 1000x.

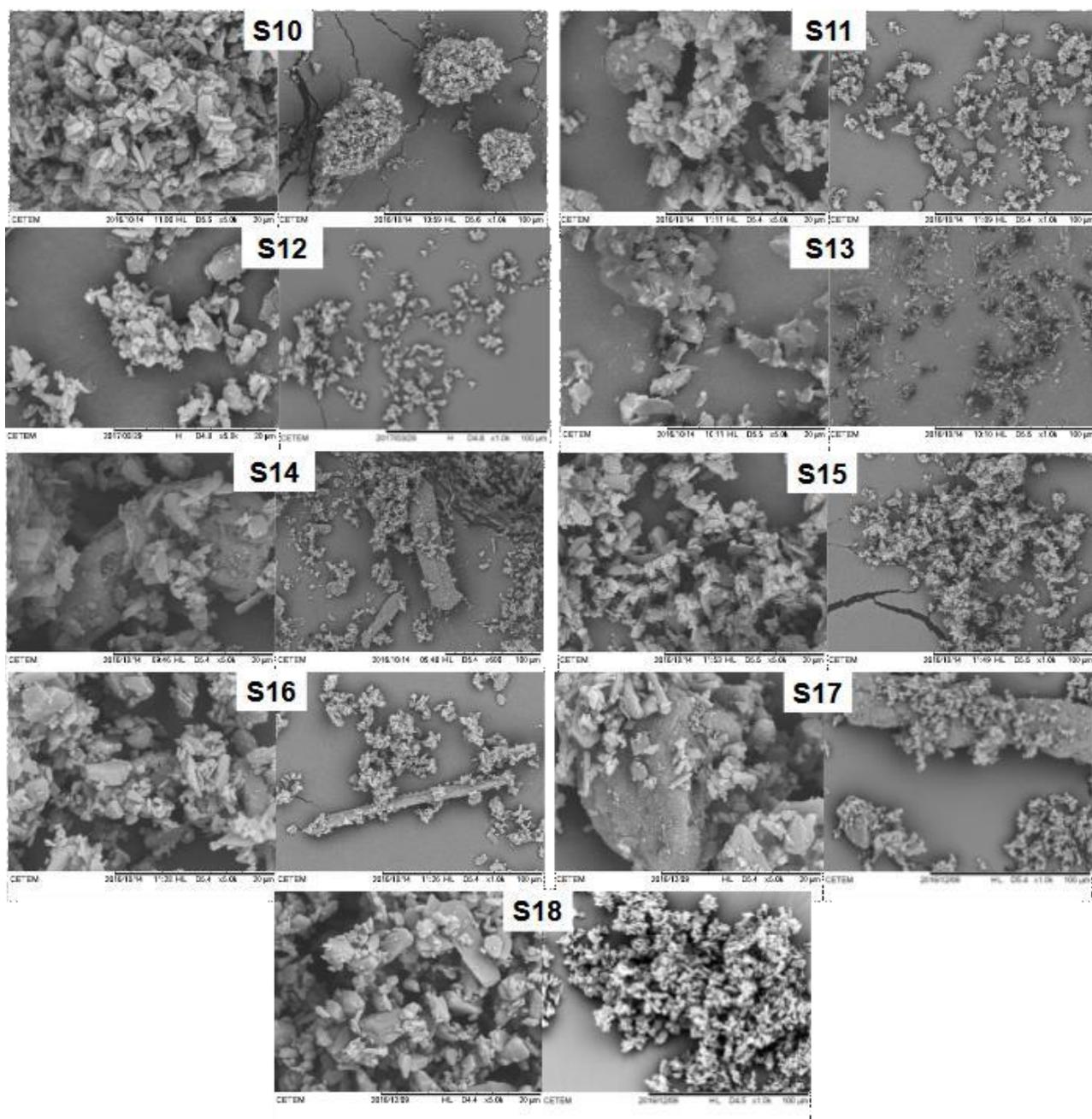


Figura 23 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 2 com ampliações de 5000x e 1000x.

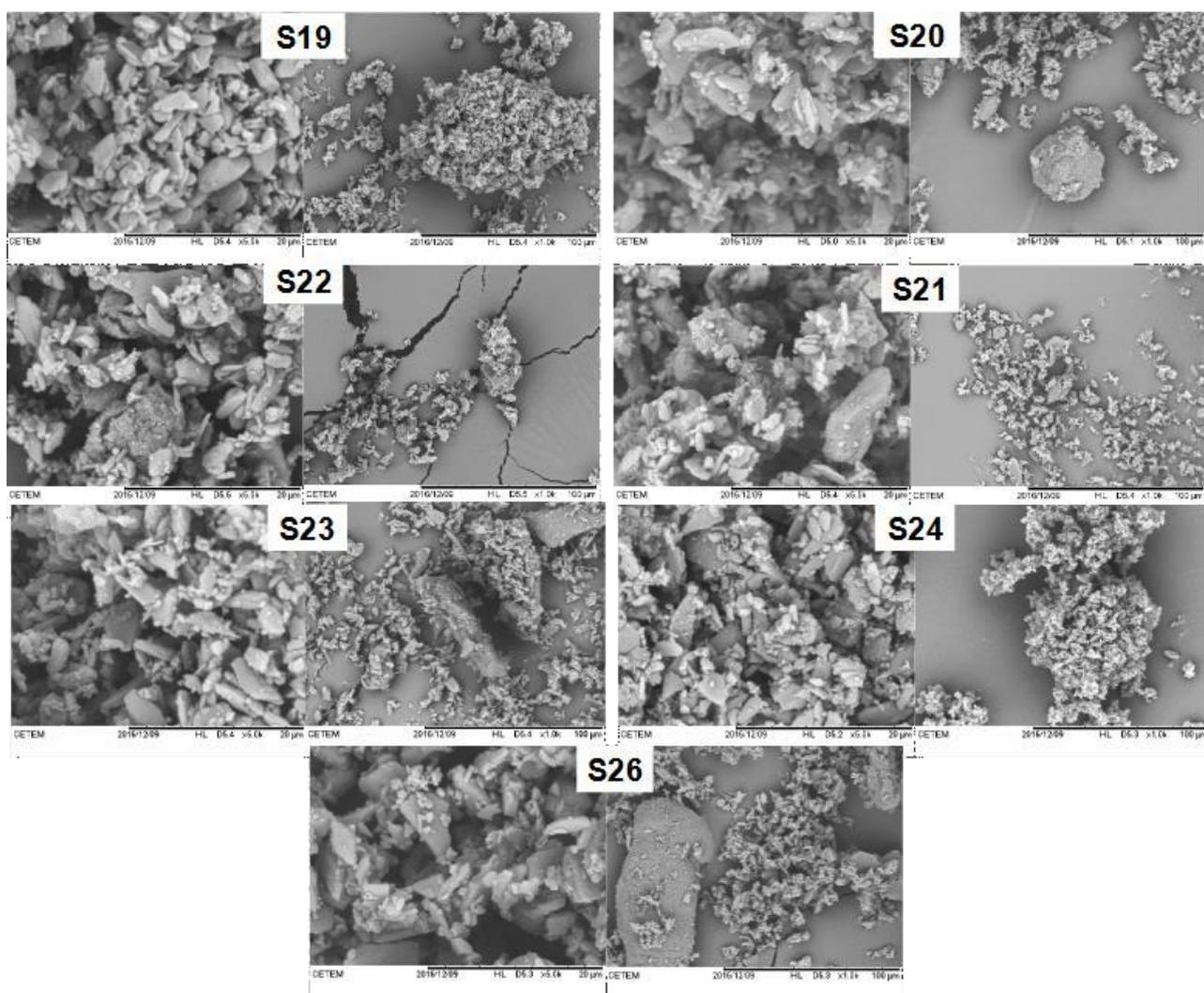


Figura 24 - Imagens de MEV das amostras comicronizadas do Grupo 3, com ampliações de 5000x e 1000x.

5.7. ANÁLISE DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS SECAS POR DIFRAÇÃO DE LASER

Os perfis de difração por raio-X (DRX) dos excipientes puros estão demonstrados na figura 27. É possível observar que os padrões de difração de Lactose malha 200, Manitol, Lactose SD e LSS indicaram picos na região entre $15-24^\circ 2\theta$. Entretanto, para os excipientes HPMC E5, HPC, Celulose MC 102 e PVP K-30, por serem estruturas amorfas, não foram identificados picos (Figura 25).

Os perfis de difração de raio-X das amostras estão demonstrados nas figuras 26, 27 e 28. É possível observar que as formulações testadas possuem perfis muito similares. Da região $10-23^\circ 2\theta$ é observado que não foi alterada estrutura cristalina da GLB, correspondendo à forma cristalina I (RODRIGUEZ

et al., 2004). A manutenção da forma cristalina também foi observada em estudos que comicronizaram outras drogas com excipientes similares aos usados nesse trabalho (VOGT *et al.* 2008; MUEHLENFELD *et al.*, 2013).

Porém, na região $4-9^\circ 2\theta$, a maior parte das formulações do grupo 1 (Figura 26), S10 no grupo 2 (Figura 27) e S19 no grupo 3 (Figura 28), foram observados dois picos expressivos. Como todas as amostras contém LSS (Figura 26) podemos relacionar o aparecimento desses picos com a quantidade deste excipiente. As amostras contendo manitol S4 (Figura 26), S13 (Figura 27) e S22 (Figura 28), também apresentaram um pico mais intenso na região $10^\circ 2\theta$, característico da estrutura cristalina (DRX) do manitol (Figura 25). Nesse contexto, é importante observar que nenhuma alteração cristalina ou a criação de novas fases sólidas foram observadas nas amostras em comparação com a matéria-prima pura (Figuras 26, 27 e 28).

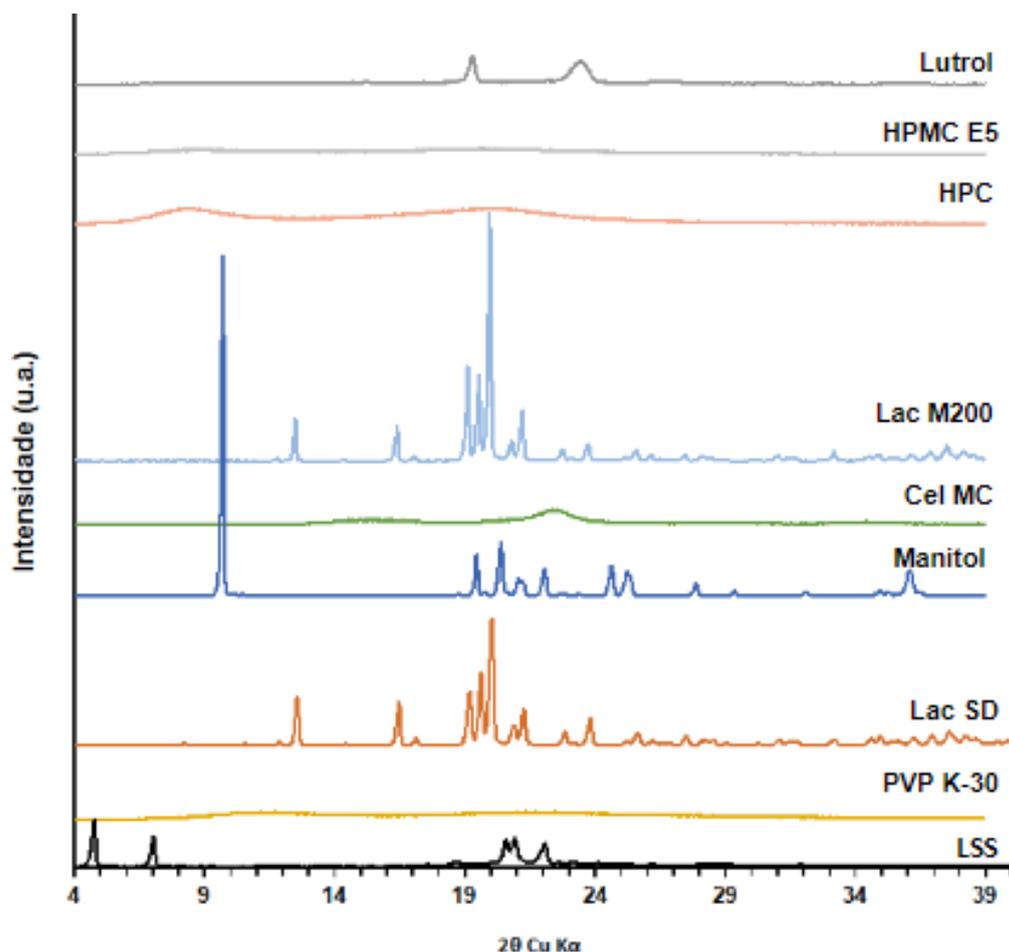


Figura 25 - Perfis de difração por raio-X (DRX) dos excipientes: Lauril sulfato de sódio (LSS), polivinilpirrolidona K-30 (PVP K-30), lactose monohidratada spray dried (Lac SD), manitol, celulose microcristalina 102 (Cel MC), lactose

monohidratada malha 200 (Lac M200), hidroxipropil celulose (HPC), Hidroxipropilmetil celulose E5 (HPMC E5), Lutrol F68 (Lutrol).

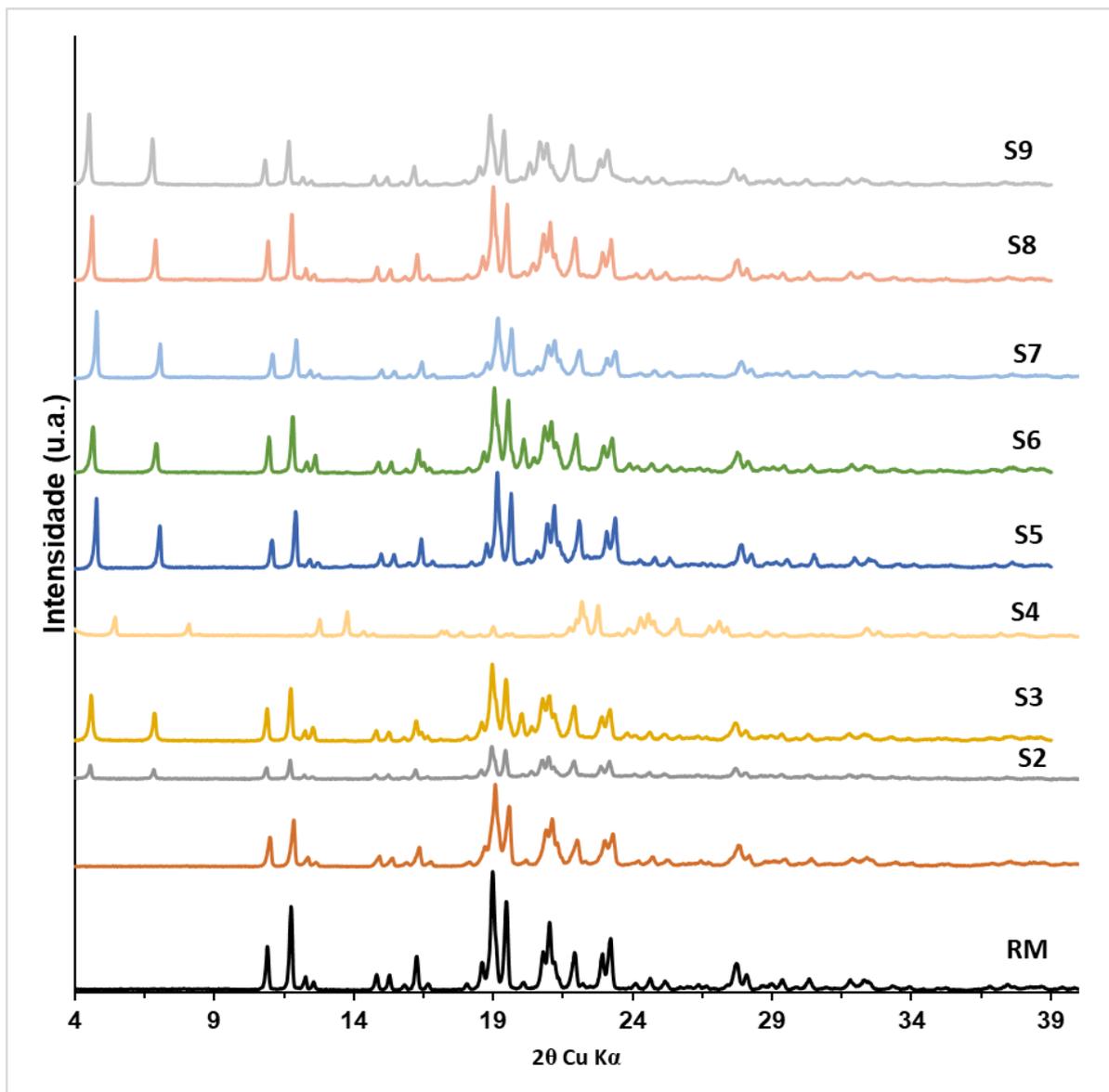


Figura 26 - Perfis de difração por raio-X (DRX) das amostras do Grupo 1 (1:0.25:0.25 GLB/LSS/excipientes), em comparação com a matéria-prima pura (RM) e micronizada isoladamente acima. S1: Sem excipiente, S2: PVP, S3: Lac SD, S4: manitol, S5: Cel MC, S6: Lac M200, S7: HPC, S8: HPMC E5, S9: Lutrol.

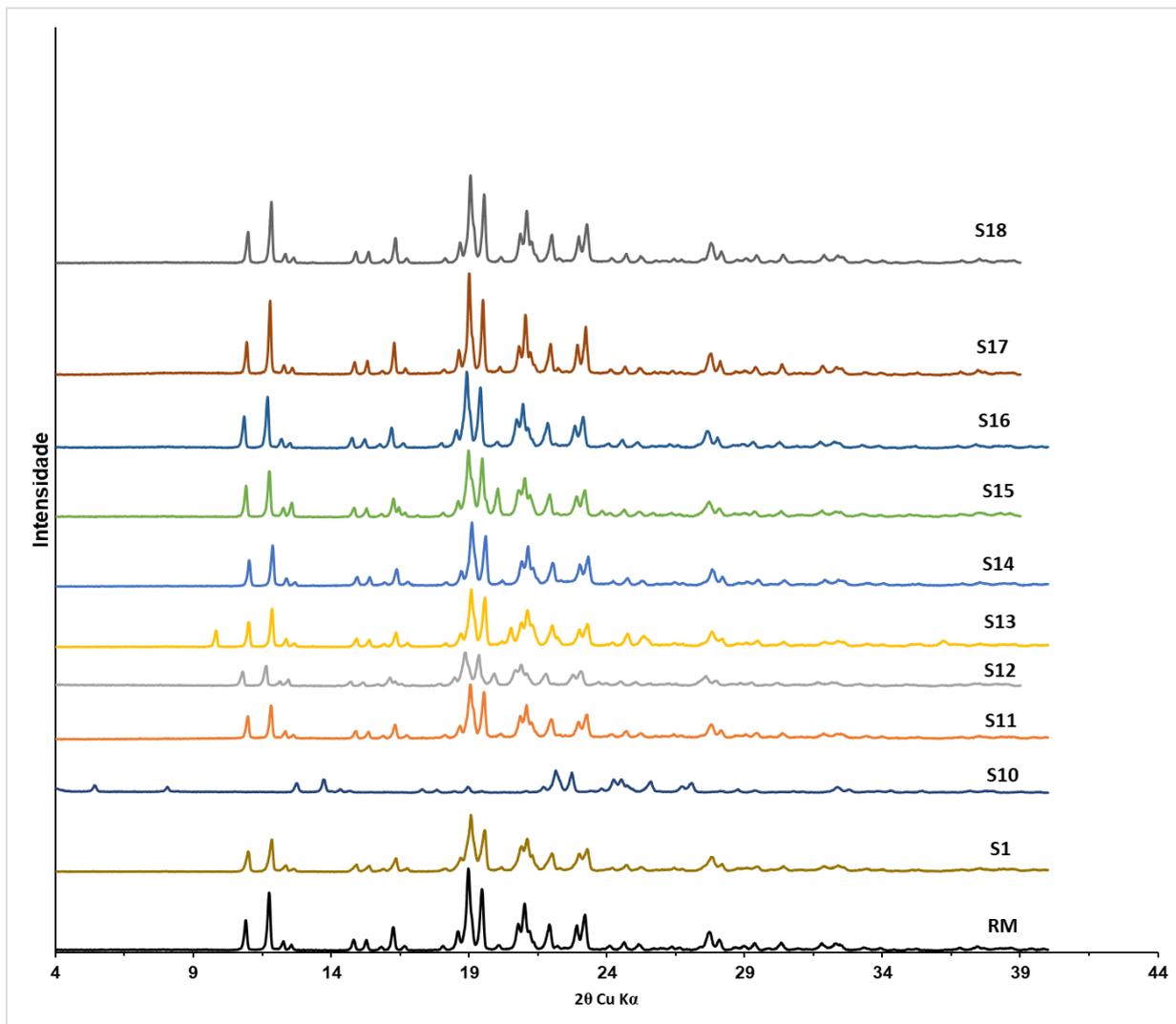


Figura 27 - Perfis de difração por raio-X (DRX) de amostras do Grupo 2 (1: 0,25 GLB/excipiente), em comparação com a matéria-prima pura e micronizada isoladamente. S10: LSS, S11: PVP K-30, S12: Lac SD, S13: manitol, S14: Cel MC, S15: Lac M200, S16: HPC, S17: HPMC E5, S18: Lutrol.

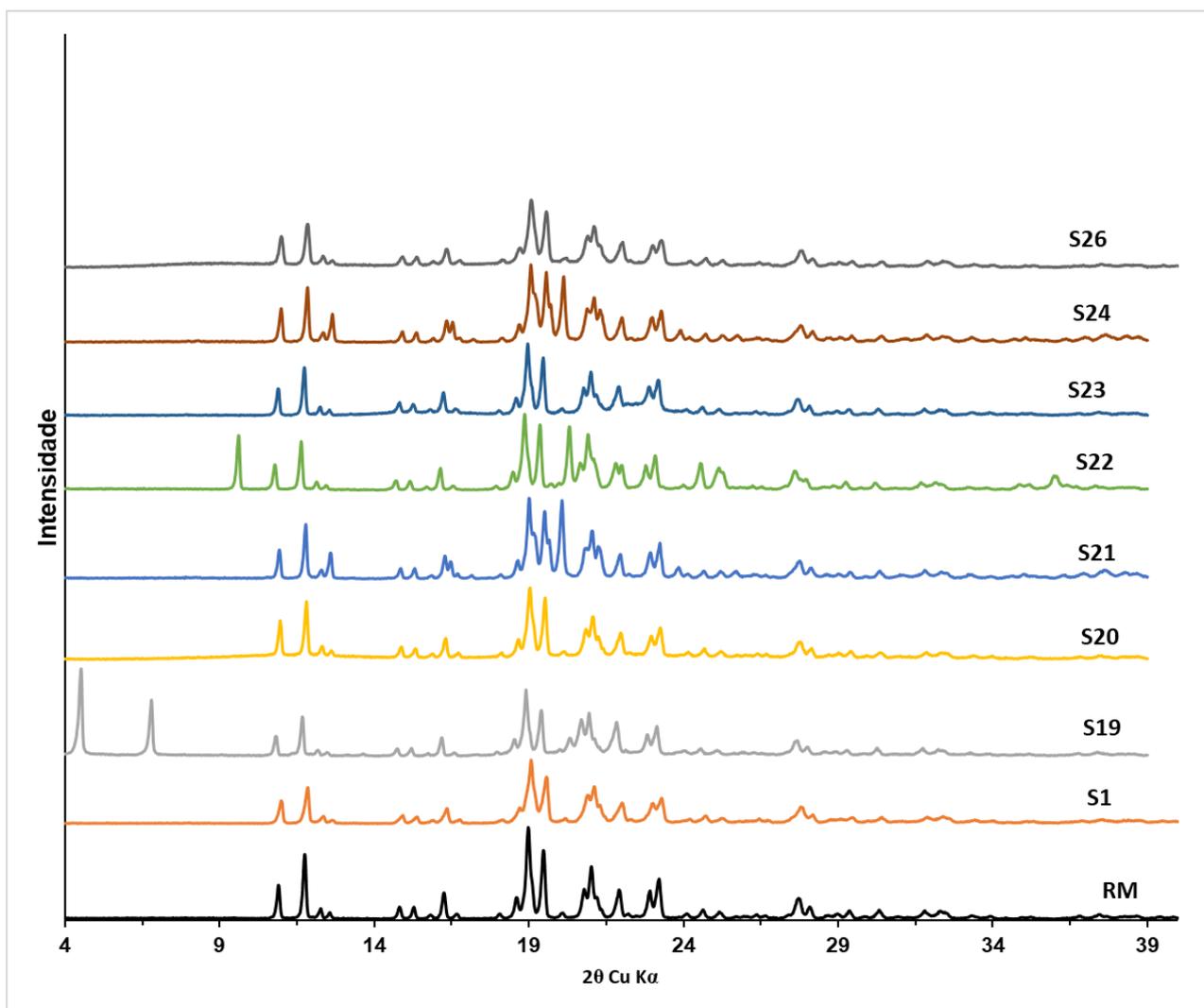


Figura 28 - Perfis de difração por raio-X (DRX) de amostras do Grupo 3 (1:0.5 GLB/excipientes), em comparação com a matéria-prima pura e micronizada isoladamente. S19: LSS, S20: PVP K-30, S21: Lac SD, S22: manitol, S23: Cel MC, S24: Lac M200, S26: HPMC.

6 CONCLUSÃO

Por conclusão, foi possível observar através dos testes de caracterização que não ocorreu uma alteração molecular da GLB, tornando as amostras viáveis para sua utilização. Ao mesmo tempo, a técnica de comicronização se mostrou eficiente, revelando um aumento da velocidade da dissolução em relação a GLB matéria-prima, principalmente nas amostras S1, S2, S3, S4, S5, S6, S10, S11, S12, S13, S15, S16, S19, S21, S4, S26, sendo essas amostras mais adequadas para prosseguir em estudos posteriores.

Portanto, foi demonstrado que a técnica de comicronização é mais eficiente e tem um alto potencial para ser aplicada em escala industrial.

7 REFERÊNCIAS

ALAWI, M. A., HAMDAN, I. I., SALLAM, A. A., & HESHMEH, N. A. Solubility enhancement of glibenclamide in choline–tryptophan ionic liquid: Preparation, characterization and mechanism of solubilization. **Journal of Molecular Liquids**, v. 212, n. 629-634, 2015.

ALLEN JR, Loyd V.; POPOVICH, Nicholas G.; ANSEL, Howard C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos-9**. Artmed Editora, 2013.

AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in-vitro drug product dissolution and in-vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n.3, p.413-420, 1995.

BARRETO, L.; CUNHA-FILHO, M. Ciclodextrina: importante excipiente farmacêutico funcional. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, 2008

CHAVDA, H.; PATEL, C.; ANAND, I. Biopharmaceutics classification system. **Systematic reviews in pharmacy**, v. 1, n. 1, p. 62, 2010

DASTMALCHI, S.; GARJANI, A.; MALEKI, N.; SHEIKHEE, G.; BAGHCHEVAN, V.; JAFARI-AZAD, P.; VALIZADEH, H.; BARZEGAR-JALALI, M. Enhancing dissolution, serum concentrations and hypoglycemic effect of glibenclamide using solvent deposition technique. **Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 8, n. 2, p. 175-181, 2005.

DA COSTA, M.A.; SEICEIRA, R.C.; RODRIGUES, C.R.; HOFFMEISTER, C.R.D.; CABRAL, L.M.; ROCHA, H.V.A. Efavirenz dissolution enhancement I: co-micronization. **Pharmaceutics** v. 5, n. 1, p. 1-22, 2013.

DA SILVA FILHO, Euclides Quintino et al. Estudo das propriedades físico-químicas da glibenclamida e excipientes que influem sobre resultados do ensaio de dissolução para medicamento similar e genérico. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 72, n. 4, p. 316-321, 2013.

DHARANI, S.; BARAKH ALI, S. F.; AFROOZ, H.; KHAN, M. A.; RAHMAN, Z. Development and validation of a discriminatory dissolution method for rifaximin

products. **Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 108, n. 6, p. 2112-2118, 2019.

DOUROUMIS, D.; FAHR, A. **Drug Delivery Strategies for Poorly Water-Soluble Drugs**. 1ed. John Wiley & Sons. 616p. 2013

GIRY, K.; PÉAN, J. M.; GIRAUD, L.; MARSAS, S.; ROLLAND, H.; WÜTHRICH, P. Drug/lactose co-micronization by jet milling to improve aerosolization properties of a powder for inhalation. **International journal of pharmaceuticals**, v. 321, n. 1-2, p. 162-166, 2006.

GOMES, T. A., COSTA, S. P. M., DE MEDEIROS, G. C. R., DA SILVA, C. R., DE LYRA, M. A. M., DA SILVA, K. E. R., ... & NETO, P. J. R. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 36, n. 2, 2015.

HAUSS, D.J. Oral lipid-based formulations. **Advanced Drug Delivery Review**., v.59, n.7, p.667-676, 2007.

HOFFMEISTER, C.R.D.; FANDARUFF, C.; DA COSTA, M.A.; CABRAL, L.M.; PITTA, L.R.; BILATTO, S.E.; PRADO, L.D.; CORRÊA, D.S.; TASSO, L.; SILVA, M.A.S.; ROCHA, H.V.A. Efavirenz dissolution enhancement III: Colloid milling, pharmacokinetics and electronic tongue evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 99, n.1, p. 310-317, 2017.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF diabetes atlas**. 6a ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2013.

JERMAIN, S. V.; BROUGH, C.; Williams III, R. O. Amorphous solid dispersions and nanocrystal technologies for poorly water-soluble drug delivery—an update. **International journal of pharmaceuticals**, v. 535, v. 1-2, p. 379-392, 2018.

JUNGHANNS, J. U. A.; MÜLLER, R. H. Nanocrystal technology, drug delivery and clinical applications. **International journal of nanomedicine**, v. 3, n. 3, p. 295-310, 2008.

KASIM, N.A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNAS, H.; HUSSAIN, JUNGINGER, H.E.; STAVCHANSKY, S.A; MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; AMIDON, G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular Pharmaceutics**, v.1, n.1, p.85-96, 2004.

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

KHAN, K. U.; MINHAS, M. U.; BADSHAH, S. F.; SUHAIL, M.; AHMAD, A.; & IJAZ, S. Overview of nanoparticulate strategies for solubility enhancement of poorly soluble drugs. **Life Sciences**, p. 120301-120321, 2022.

KIM, N. A.; OH, H. K.; LEE, J. C.; CHOI, Y. H.; JEONG, S. H. Comparison of solubility enhancement by solid dispersion and micronized butein and its correlation with in vivo study. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, v. 51, n. 1, p. 53-60, 2021.

KRASTEVA, A.; PANOV, V.; KRASTEVA, A.; KISSELOVA, A.; KRASTEV, Z. Oral cavity and systemic diseases—diabetes mellitus. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 25, n.1, p. 2183-2186, 2011.

LEÃO, Amanda Damasceno. **Nanopartículas gastrorresistentes de hidróxidos duplos lamelares e glibenclamida: da síntese monitorada por NIR à nanotoxicidade em modelo animal diabético**. Tese de Doutorado - Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Pernambuco, Pernambuco, 2020.

LEUNER, C., & DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, n. 1, p. 47-60, 2000.

LIU, Q.; MAI, Y.; GU, X.; ZHAO, Y.; DI, X.; MA, X.; YANG, J.. A wet-milling method for the preparation of cilnidipine nanosuspension with enhanced dissolution and oral bioavailability. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 55, p. 101371-101378, 2020.

LIVERSIDGE, G.G.; CUNDY, K.C. Particle size reduction for improvement of oral bioavailability of hydrophobic drugs: I. Absolute oral bioavailability of nanocrystalline danazol in beagle dogs. **International Journal of Pharmaceutics** v. 125, n. 1, p. 91–97, 1995.

LOH, Z. H.; SAMANTA, A. K.; HENG, P. W. S. Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 10, n. 4, p. 255-274, 2015.

MAGGI, L.; CANOBBIO, A.; BRUNI, G.; MUSITELLI, G.; CONTE, U. Improvement of the dissolution behavior of gliclazide, a slightly soluble drug, using solid dispersions. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 26, p. 17-23, 2015.

MONTES, A.; BENDEL, A.; KÜRTI, R.; GORDILLO, M. D.; PEREYRA, C.; & DE LA OSSA, E. M. Processing naproxen with supercritical CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 75, p. 21-29, 2013.

NAWALE, R.B.; MEHTA, B.N. Glibenclamide loaded self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS): Development and optimization. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 2, p. 325-330, 2013.

NERY, C.G.C.; PIRES, M.A.; PIANETTI, G.A.; SOARES, C.D.V. Caracterização do fármaco hipoglicemiante glibenclamida. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 1, p. 61-73, 2008.

OMELCZUK, M. O. WANG, C. C., & POPE, D. G. Influence of micronization on the compaction properties of an investigational drug using tableting index analysis. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 43, n. 1, p. 95-100, 1997.

O'NEIL, MARYADELE J. (Ed.). **The Merck index: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals**. RSC Publishing, 2013.

RASENACK, N.; MÜLLER, B. W. Micron-size drug particles: common and novel micronization techniques. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 9, n. 1, p. 1-13, 2004

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Estado sólido na indústria farmacêutica: Uma breve revisão. *Revista Virtual de Química*, v. 7, n. 6, p. 2080-2112, 2015.

QURESHI, S. A.; MCGILVERAY, I. J. Typical variability in drug dissolution testing: study with USP and FDA calibrator tablets and a marketed drug (glibenclamide) product. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 3, 249-258, 1999.

RAMOS, K. A., & PRUDÊNCIO, F. A. Conhecimento de pacientes sobre diabetes mellitus tipo II. **Revista Artigos. Com**, v. 18, p. e3922-e3922. 2020.

REHDER, S., SAKMANN, A., RADES, T., & LEOPOLD, C. S. Thermal degradation of amorphous glibenclamide. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 80, n. 1, p. 203-208, 2012.

RODRÍGUEZ MS, LUNA J, CARLUCCI A, BREGNI C. Relación de estabilidad termodinámica relativa entre polimorfos de glibenclamida. **Acta Farmacéutica Bonaerense**. v.23, n.2, p.169-75, 2004.

SANTOS, F. A.; TAVARES, M. I. B. Preparo e caracterização de filmes obtidos a partir de poli (ácido láctico) e celulose microcristalina. **Polímeros**, v. 23, n. 2, p. 229-235, 2013.

SANTOS, R. G. M. **Sistemas autoemulsificantes: uma alternativa viável para a veiculação de fármacos pouco solúveis em água**. 2013. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas). Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2013.

SAOKHAM, P.; MUANKAEW, C.; JANSOOK, P., LOFTSSON, T. Solubility of cyclodextrins and drug/cyclodextrin complexes. **Molecules**, v. 23, n. 5, p.1161 – 1176, 2018.

SEO, B., KIM, T., PARK, H. J., KIM, J. Y., LEE, K. D., LEE, J. M., & LEE, Y. W. Extension of the Hansen solubility parameter concept to the micronization of cyclotrimethylenetrinitramine crystals by supercritical anti-solvent process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 111, p. 112-120, 2016.

SORMUNEN, H.; RUPONEN, M.; LAITINEN, R. The effect of co-amorphization of glibenclamide on its dissolution properties and permeability through an MDCKII-MDR1 cell layer. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 570, n. 118653, 1-11, 2019.

SPERLINE, R. P.; SONG, Y.; FREISER, H. Temperature Dependent Structure of Adsorbed Sodium Dodecyl Sulfate at the Al₂O₃/Water Interface. **Langmuir**, v. 13, n. 14, p. 3727– 3732, 1997.

SHAH, S.; MADDINENI, S.; LU, J.; REPKA, M. A. Melt extrusion with poorly soluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, n. 1, 233-252, 2013.

SHAW, J.E.; SICREE, R.A.; ZIMMET, P.Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 87, n.1, p. 4-14, 2010.

TRAN, P.; PARK, J.S. Recent trends of self-emulsifying drug delivery system for enhancing the oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 51, n. 4, p. 439-463, 2021.

TÜRK, M.; BOLTEN, D. Formation of submicron poorly water-soluble drugs by rapid expansion of supercritical solution (RESS): results for naproxen. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 55, n. 2, p. 778-785, 2010.

VANDANA, K. R.; RAJU, Y. P.; CHOWDARY, V. H.; SUSHMA, M.; KUMAR, N. V. An overview on in situ micronization technique—An emerging novel concept in advanced drug delivery. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 22, n. 4, p. 283-289, 2013.

VOGT, M.; KUNATH, K.; DRESSMAN, J.B. Dissolution enhancement of fenofibrate by micronization, cogrinding and spray-drying: comparison with commercial preparations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**. v. 68, n. 2, p. 283–288, 2008

WANG, Q.; FOTAKI, N.; MAO, Y. Biorelevant dissolution: methodology and application in drug development. **Dissolution Technology**, v. 16, n. 3, p. 6-12, 2009.

WANG, Y.; YANG, W.; FU, Q.; GUO, Z.; SUN, B.; LIU, W.; LIU, Y.; MU, S.; GUO, M.; LI, J.; PU, X.; HE, Z. The role of particle size of glyburide crystals in improving its oral absorption. **Drug and Delivery and Translational Research**, v. 7, n. 3, p. 428-438, 2017.

WILLIAMS, H. D.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, S. A.; SHANKER, R. M.; CHARMAN, W. N.; POUTON, C. W., PORTER, C. J. Strategies to address low drug solubility in discovery and development. **Pharmacological Reviews**, v. 65, n. 1, p. 315-499, 2013.

ZHAO, X.-Y.; AO, Q.; YANG, L.-W.; YANG, Y.-F.; SUN, J.-C.; GAI, G.-S. Application of superfine pulverization technology in biomaterial industry. **Journal of Taiwan Institute of Chemistry Engineering**, v. 40, n. 3, p. 337–343, 2009.