

Campus Realengo

Curso de Graduação em Farmácia

Leonardo da Costa Pereira

**Caracterização de
partículas cristalinas
de efavirenz**

Rio de Janeiro

2022

LEONARDO DA COSTA PEREIRA

CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS CRISTALINAS DE
EFAVIRENZ

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.

Orientadora Científica: Dr^a Beatriz Ferreira de
Carvalho Patrício

Orientadora Acadêmica: Dr^a Ana Ferreira
Ribeiro

Rio de Janeiro

2022

LEONARDO DA COSTA PEREIRA

CARACTERIZAÇÃO DE PARTÍCULAS CRISTALINAS DE EFAVIRENZ

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 ____/____/____.

Banca examinadora

Dr^a. Beatriz Ferreira de Carvalho Patrício - (Orientadora Científica)
Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro (UNIRIO)

Dr^a. Ana Ferreira Ribeiro - (Orientadora Acadêmica)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro
(IFRJ)

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

Dr. Eduardo Rodrigues da Silva - (Banca Examinadora)
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro
(IFRJ)

MSc. Marcelo Henrique Cunha Chaves - (Banca Examinadora - Suplente)
Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ)

Dedico este trabalho, especialmente, à minha vó, que esteve comigo em todos os momentos durante minha graduação, sempre me dando ouvidos e aconchego, e à minha família.

Agradecimentos

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me dado a oportunidade de estudar no IFRJ e me apresentar a pessoas tão especiais, que certamente levarei por toda à minha vida. Agradeço também pela força que me deu nesses mais de 5 anos de graduação e por ter me permitido chegar até esse momento.

Agradeço à minha vó, a qual dedico esse trabalho, e dedico toda minha graduação e vida, por ter tido toda a paciência comigo durante toda minha criação e por ter sido, com certeza, mais que uma mãe pra mim. Se hoje chego aqui, ao fim da minha graduação, com força e coragem pra continuar, devo muito à ela. Agradeço por ter ficado comigo durante toda a minha graduação, sempre ouvindo minhas historias do dia-dia. Agradeço pelo carinho e pela aconchego que, sem ele, certamente não estaria aqui hoje. Sei que sempre estará do meu lado me ajudando nas minhas conquistas

Agradeço à minha Família, minha mãe, Vânia, por ser, também, a mulher mais especial da minha vida, que também foi responsável pela minha criação e que, com certeza, sem ela, eu também não estaria aqui hoje. Ao meu pai, Luiz Antônio, por ser uma pessoa que sempre me aconselhou e abraçou todas as minhas ideias, que esteve comigo em todos os meus sonhos e sei que estará sempre, agradeço sempre pelos seus conselhos e ajuda. Ao meu irmão, Ricardo, por também sempre estar comigo, me ouvindo e me aconselhando, sempre, também, abraçando minhas ideias e me apoiando. Foi parte essencial na minha formação, visto que, além de tudo, sempre alegre meu dia, tornando toda essa trajetória menos difícil.

Agradeço à minha orientadora, Beatriz Patrício, por ter sido, ao longo de toda a graduação, não somente no TCC, mais que uma orientadora e sim uma grande conselheira. Agradeço por toda a confiança que deposita em mim e por todos os ensinamentos. Agradeço a Deus por ter à colocado em minha vida. Certamente é parte essencial na minha vida profissional e, independente do caminho que eu seguir, com certeza fará parte de cada detalhe. Agradeço também por ter abraçado de maneira tão intensa a projeto da Liga Acadêmica de Farmacologia e Farmacotécnica (LAFF)

Agradeço também à minha orientadora Ana Ribeiro, que também foi essencial durante toda a graduação e, mais uma vez, abraçou um projeto importantíssimo. Agradeço por ter me despertado para o mundo da Tecnologia Farmacêutica. Ademais, sou grato por ter abraçado o projeto da LAFF, estando presente em todos os momentos.

Agradeço à Dra Michele Sarcinelli, por ter me auxiliado no desenvolvimento da metodologia do MasterSize 3000 e, muito além disso, por sempre ajudar em todos os momentos que precisei dentro do LMN, seja presencialmente ou à distância. Agradeço a Thalita Silva, por ter me auxiliado na análise de dados estatísticos, como a eficiência de dissolução, de maneira à distância e estando sempre disponível. Agradeço à minha colega de graduação Mariana Aduato, pela confiança depositada em mim logo no início da minha iniciação científica no LMN, que certamente me ajudou durante todo o transcurso. Agradeço também a Dr. Helvécio Rocha, pela confiança e pela oportunidade de conhecer o LMN. Ademais, agradeço à toda a equipe e colaboradores do LMN, especialmente ao Mr. Marcelo, Mr Flávia e Mr Andressa.

Agradeço à todos os meus amigos de graduação, que certamente tornaram todos esses 5 anos mais fáceis e menos árduos, sempre dando risadas e trazendo alegrias durante os dias. Além disso, sempre buscando um auxiliar o outro em momentos de dificuldade. Agradeço, especialmente, à Laryssa Dias, Maria Brandão, Milena Conrado e Rafael Mesquita. Todos esses, além disso, fizeram parte do um grande momento no IFRJ, a fundação da Liga Acadêmica de Farmacologia e Farmacotécnica (LAFF).

Agradeço também à todos os professores do IFRJ, especialmente Dr. Eduardo Silva, Dra. Paula Maciel, Dr. Paulo Galdino, Dra. Debora Rama e Dra. Mariana Pinheiro.

Agradeço aos membros da Banca, Dr. Eduardo Rodrigues da Silva Dra. Lívia Deris Prado e Mr. Marcelo Henrique Cunha Chaves, por terem aceitado esse convite e fazerem parte desse momento tão especial em minha vida.

Em suma, agradeço todos aqueles que acreditaram e acreditam no meu potencial, certamente, me esforçarei cada dia para fazer valer a pena.

RESUMO

A síndrome da Imunodeficiência adquirida (SIDA) é um dos principais problemas de saúde pública mundial e causou mais de meio milhão de mortes no mundo em 2020. Entre as diversas alternativas de tratamento, o efavirenz (EFV) ~~mostrasse~~ como uma das principais opções. Entretanto, o mesmo é incluído na classe 2 do sistema de classificação biofarmacêutico (SCB), possuindo como etapa limitante de sua absorção a dissolução. Isso implica na baixa biodisponibilidade oral do fármaco, fazendo com que haja uma alta dosagem de EFV por comprimido, trazendo uma característica volumosa a forma farmacêutica. Outra questão importante é o conhecido sabor amargo do fármaco, que fica evidenciado devido a alta concentração do mesmo por comprimido. Assim, uma das formas de contornar esses problemas é através da diminuição do tamanho da partícula, que leva a um aumento da área de superfície do fármaco e, conseqüentemente, de sua solubilidade de saturação. Para avaliação da qualidade do processamento de diminuição do tamanho de partículas, são necessários o desenvolvimento de métodos e caracterização quanto ao tamanho e suas taxas de dissolução. Assim, o presente estudo tem como objetivo o desenvolvimento e validação de um método robusto de medição de tamanho de partícula por difração à laser e dissolução. Seis amostras e a matéria prima serão avaliadas e utilizadas nos testes: A1 e A2 (amostras de moinho de pérolas) e 400, 401, 402 e 403 (amostras comicronizadas). Para o primeiro teste, foi necessária a escolha de um meio de dispersão líquido adequado, ou seja, que mantivesse as partículas suspensas e com dispersão homogênea, ~~mas sem solubilizadas~~. Assim, foram testados meios com diferentes concentrações de LSS, Tween 40, Tween 80 e água ~~e foram~~ avaliados quanto a dispersão e solubilidade. O primeiro foi feito através da avaliação visual e transmitância. Foram consideradas boas dispersão aquelas que mantinham as partículas homogeneamente dispersas e suspensas, além de apresentarem transmitância menor que 15%. A avaliação de uma possível solubilização foi feita por UV a 293 nm, 460 nm e 633 nm. Após as avaliações, observou-se que o meio Tween 40 0,01% (p/v) apresentou os melhores resultados. Outra consideração importante é quanto ao método de análise. Foram desenvolvidos 6 possíveis testes e esses foram avaliados quanto a necessidade de agitação da suspensão, taxa de obscurecimento, utilização de ultrassom e preparo da pré-suspensão. O método desenvolvido possui taxa de obscurecimento de 9-10% e é necessário a utilização do ultrassom para quebra das partículas secundárias. O método de dissolução tinha como objetivo avaliar qual das amostras produzidas apresentavam a maior taxa, assim, foram avaliados meios com capacidade discriminativa. Observou-se que o meio LSS 0,25% (p/v) apresentou resultado adequado na diferenciação entre as amostras de moinho e comicronizadas, assim como a diferenciação entre as de moinho. ~~Porém~~, não foi possível avaliar adequadamente as comicronizadas. Ao ponto que o meio LSS 0,5% (p/v) foi apropriado para as comicronizadas. Portanto, observou-se que as amostras de moinho de pérolas apresentaram melhores resultados de dissolução que as comicronizadas, não diferindo o tamanho, sendo a amostra A1 a melhor entre todas.

Palavras-chave: nanotecnologia. comicronização. Difração a laser. Dissolução. Efavirnez.

ABSTRACT

Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) is one of the main worldwide public health problems and it caused more than half million deaths in the world in 2020. Among many alternative treatments, Efavirenz (EFV) is shown as one of the main options. However, it's included in class 2 in the biopharmaceutics Classification System (BCS) having dissolution as the limiting step in its absorption. This implies in a low oral bioavailability of the drug causing a high dosage of EFV in a tablet, bringing a bulky characteristic to the pharmaceutical form. Another important matter is the well-known bitter flavor of the drug, which is evidenced due to the high concentration per tablet. Thus, one of the ways to get around these problems is by diminishing the size of the particles which leads to an increase in the surface area of the drug and, therefore, its saturation solubility. To evaluate the quality of the particle size reduction processing, it is necessary the development of methods and characterization related to its size and dissolutions rates. Therefore, the main objectives of the current study are the development and validation of a robust method for particle size measurement by laser diffraction and dissolution. Six Samples and the raw material will be evaluated and used in the test A1 and A2 (pearl mill samples) and 400, 401, 402 and 403 (co-micronized Samples). For the first test, it was necessary to choose a method of suitable liquid dispersion, that is to say, it would keep the particles suspended and homogeneously dispersed but not solubilized. Hence, ways with different concentrations of LSS, Tween 40, Tween 80 and water were tested and were evaluated considering dispersion and solubility. The first test was made through visual evaluation and transmittance. It was considered good dispersion those which kept the particles homogeneously dispersed and suspended besides presenting transmittance under 15%. The evaluation of a feasible solubilization was done by UV at 293 nm, 460 nm and 633 nm. After the evaluations, it was observed that the Tween 40 0,01% (w/v) media presented the best results. Another important consideration is related to the methodology analysis. 6 possible tests were developed and they were evaluated according to the necessity to stir the suspension, obscuration rate, ultrasound usage and the preparation of pre-suspension. The method developed has an obscuration rate of 9-10% and it's required the usage of ultrasound to break the secondary particles. The dissolution method was intended to evaluate which of the possible produced samples presented the highest rate, therefore, media with discriminative capacity were evaluated. It was observed that the SLS 0,25% (p/v) media presented an appropriate result in the differentiation among moinho samples and co-micronizeds as well as the differentiation among the samples of mill. In spite of that, it was not possible to proper evaluate the comicronizadas ones to the extent that the SLS 0,5% (w/v) media was appropriated to the co-micronizeds. Therefore, it was observed that the pearl mill samples showed better dissolution results than the co-micronizeds ones, not differing in size, with the A1 sample being the best among all.

Keywords: nanotechnology. Cocomronization Laser Diffraction. Dissolution. Efavirnez.

Lista de Figuras

Figura 1 - Características de nanocristais: 1) aumento da solubilidade de saturação devido ao aumento da pressão de dissolução (p_x); 2) aumento das taxas de dissolução devido ao aumento da área de superfície; e 3) aumento da adesividade	20
Figura 2 - Mecanismo de estabilização estérica (acima) e iônica (abaixo).....	23
Figura 3 - Curva de energia potencial repulsiva ou atrativa de partículas, onde V_R é a energia repulsiva, V_a energia atrativa, V_m barreira de energia, V_t energia potencial total e V_s mínimo secundário.....	25
Figura 4 - Ilustração do mecanismo do amadurecimento de Ostwald.....	26
Figura 5 - Unidade do equipamento de difração à laser: 1) unidade óptica, 2) unidade de dispersão úmida, 3) célula de leitura úmida e 4) computador de execução de software	27
Figura 6 - Componentes óticos do equipamento de difração à laser : 1) unidade óptica, 2) célula, 3) luz de status do instrumento, 4) compartimento da célula, 5) painel final, 6) janela de proteção, 7) pés ajustáveis, 8) local de drenagem 9) guia de roteamento do tubo.....	28
Figura 7 - Figura ilustrativa representando os ângulos de difração de duas partículas de tamanho diferentes (à direita), onde α representa o tamanho da partícula 1 e 2. O padrão airy também é representado para duas partículas de diâmetro (d) diferentes, com as intensidade e resoluções sendo representadas (abaixo).	29
Figura 8 - Ilustração da capacidade de obscuração do meio para partículas maiores (à esquerda) e menores (à direita)	31
Figura 9 - Aparato de agitação do meio de dissolução.	34
Figura 10 - Diminuição do tamanho das partículas e sua influência na camada de difusão. h : camada de difusão; C_{sm} : solubilidade de saturação; C_x concentração do fármaco no líquido intersticial.....	36
Figura 11 - Ilustração dos testes um e dois para análise do método de medição de tamanho de partículas	42
Figura 12 - Ilustração dos teste três e quatro para análise do método de medição de tamanho de partículas	42

Figura 13 - Ilustração dos testes cinco e seis para análise do método de medição de tamanho de partículas	43
Figura 14 - Ilustração do preparo das soluções mãe e para análise para desenvolvimento da curva analítica	44
Figura 15 - Resultado da dispersão da amostra A1 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	46
Figura 16 - Resultado da dispersão da amostra A2 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	46
Figura 17 - Resultado da dispersão da amostra 400 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	47
Figura 18 - Resultado da dispersão da amostra 401 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	47
Figura 19 - Resultado da dispersão da amostra 402 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	47
Figura 20 - Resultado da dispersão da amostra 403 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	48
Figura 21 - Resultado da dispersão da matéria prima nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).....	48
Figura 22 - Resultado da dispersão das amostras A1 e A2 e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de LSS 0,1% (m/v)	53
Figura 23 - Resultado da dispersão das amostras A1 e A2 e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de tween 40 0,01%(m/v)..	53
Figura 24 - Resultado da dispersão das amostras comicronizadas e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de tween 40 0,01% (p/v	54
Figura 25 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 1 (A) e 2 (B)	56
Figura 26 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 3 (A) e (B)	57
Figura 27 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 5 (A) e 6 (B)	58
Figura 28 - Triplicatas da amostra A1 com o método.....	59
Figura 29 - Resultado da análise da estabilização de 3 minutos (a) e 5 minutos (b) para a amostra A1	60

Figura 30 - Leitura da amostra 400 em triplicata	61
Figura 31 - Leitura da amostra 401 em triplicata	61
Figura 32 - Leitura da amostra 402 em triplicata	62
Figura 33 - Leitura da amostra 403 em triplicata	62
Figura 34 - Leitura da amostra A1 em triplicata.....	63
Figura 35 - Leitura da amostra A2 em triplicata.....	63
Figura 36 - Leitura da matéria prima em triplicata	64
Figura 37 - Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,1% <i>m/v</i>	68
Figura 38 - Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,25% <i>m/v</i>	69
Figura 39 Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,5% (<i>m/v</i>)	73
Figura 40 - Comparação do perfil de dissolução da amostra A1 em todos os meios testados	101
Figura 41 - Comparação do perfil de dissolução da amostra A2 em todos os meios testados	101
Figura 42 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 400 em todos os meios testados	102
Figura 43 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 401 em todos os meios testados	102
Figura 44 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 402 em todos os meios testados	103
Figura 45 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 403 em todos os meios testados	103
Figura 46 - Comparação do perfil de dissolução do IFA em todos os meios testados.....	104

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 293 nm... 48

Tabela 2 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 460 nm... 49

Tabela 3 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 633nm... 49

Tabela 4 - Absorbância das amostras nos seus respectivos meios de teste. 51

Tabela 5 - Absorbância das amostras nos novos meios a serem testados. 54

Tabela 6 - Resultado dos parâmetros de D10, D50, D90, D97 e span. 58

Tabela 7 - Parâmetros de análise da amostra a1. 59

Tabela 8 - Parâmetros da Análise de tamanho das partículas com período de estabilização de 3 minutos 5 minutos 60

Tabela 9 - análise em triplicata de todas as amostras. 65

Tabela 10 - Eficiência da dissolução das amostras calculada através do cálculo de área sobre a curva 68

Tabela 11 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação de distribuição de tamanho de partícula das amostras 83

Tabela 12 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,1% (m/v). 86

Tabela 13 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,25% (m/v). 91

Tabela 14 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,5% (m/v). 96

Tabela 15 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio 0,1%...
105

Tabela 16 - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,1%... 105

Tabela 17 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio
0,25%... 106

Tabela 18 - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,25%... 106

Tabela 19 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio
0,50%... 106

Tabela 20 - - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,5107

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
1.1 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (SIDA)	16
1.2 EFAVIRENZ	16
1.3 MICRO E NANOCRISTAIS	18
1.5 CARACTERIZAÇÃO DE MICRO E NANOCRISTAIS	26
2 JUSTIFICATIVA	37
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVOS GERAIS	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	39
4 METODOLOGIA	40
4.1 AMOSTRAS DESENVOLVIDAS	40
4.2 ANÁLISE DO TAMANHO DE PARTÍCULAS POR DIFRAÇÃO A LASER	40
4.2.1 ESCOLHA DO MEIO DE DISPERSÃO PARA A LEITURA	40
4.2.2 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE LEITURA NO APARELHO	41
4.3 ANÁLISE DE TEOR DAS AMOSTRAS PARA DISSOLUÇÃO	43
4.4 DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO	44
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1 ANÁLISE DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS SECAS POR DIFRAÇÃO A LASER	45
5.1.1 RESULTADO DOS TESTES DE AVALIAÇÃO DOS MEIOS	45
5.1.2 DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE DE TAMANHO DE PARTÍCULA PARA PARTÍCULAS SECAS DE EFV	55
5.1.3 RESULTADO DA ANÁLISE DE TAMANHO DO PÓ SECO	60
5.2 RESULTADOS DA DISSOLUÇÃO	67
5.2.1 RESULTADOS DOS TESTES DO MÉTODO	67
6 CONCLUSÃO	75

REFERÊNCIAS	76
ANEXO A - ANOVA com aplicação de teste Tukey na análise de distribuição de tamanho de partícula	83
ANEXO B – ANOVA com aplicação de teste tukey para as taxas de dissolução em cada tempo de processamento	86
ANEXO C - Análise das taxas de dissolução da mesma amostra em seus receptivos meios	101
ANEXO D - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução e seus desvios padrões	105

1 INTRODUÇÃO

1.1 SÍNDROME DA IMUNODEFICIÊNCIA ADQUIRIDA (SIDA)

A síndrome da imunodeficiência adquirida é um dos principais problemas de saúde pública mundial, sendo considerada uma epidemia global que persiste desde a década de 80 (OMS, 2020). A doença é causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), que está disseminado por todo o território global. Segundo dados do Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/Aids (UNAIDS), em 2021, cerca de 38 milhões de pessoas viviam no mundo com SIDA e a incidência dessa doença no ano de 2020 foi de 1,5 milhão de novos casos. Além disso, nesse mesmo ano, cerca de 690 mil pessoas vieram a óbito em todo o mundo por consequência da doença (UNAIDS Brasil, 2021).

Atualmente, diversos antirretrovirais estão disponíveis para tratamento da SIDA. O primeiro fármaco lançado no mercado foi a zidovudina, nos anos 80 (CEZAR, VAGNER MENDES; DRAGANOV, 2003), sendo que atualmente já existem cinco classes de antirretrovirais: inibidores da transcriptase reversa análogo de nucleosídeo (ITRNs); inibidores da transcriptase reversa não análogos de nucleosídeos (ITRNNs); inibidores da protease; inibidores da integrase; e inibidores de entrada. Com o avanço dos anos, mostrou-se evidente que a terapia combinada de três fármacos de diferentes classes apresentava-se com alta eficácia terapêutica (KATZUNG, 2014).

1.2 EFAVIRENZ

O efavirenz (EFV) é um dos ITRNNs mais empregados na terapia para HIV, tanto em adultos, quanto em crianças. Até o início da última década, o fármaco era a primeira escolha para o tratamento da doença (BRASIL, 2013), entretanto, atualmente, é o de segunda escolha dada algumas de suas características de resistência (CARVALHO, 2015). Esse fármaco é também um dos alternativos para tratamento de HIV em crianças maiores de três anos (BRASIL, 2018). Dessa maneira, esse é um ativo importante no cenário nacional.

Apesar da importância nacional do EFV, o mesmo apresenta alguns problemas físico-químicos que dificultam sua utilização e adesão ao tratamento. O ativo apresenta uma molécula com alta lipofilicidade e, como consequência, sua solubilidade em soluções aquosas é muito baixa, sendo menor que 10 mg/L (Physicians Desk Reference, 2013). Dessa maneira, esse é um fármaco classificado como classe II no sistema de classificação biofarmacêutica, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade e, dessa forma, o EFV apresenta a dissolução como etapa limitante para a sua absorção oral (AMIDON *et al.*, 1995; SATHIGARI *et al.*, 2009). É possível observar esse fenômeno avaliando a biodisponibilidade oral do EFV em comprimidos revestidos de 600 mg, disponibilizados pelo sistema público de saúde brasileiro, que alcança uma faixa média entre 30 e 50% (BERDOR, 2011; CHIAPPETTA *et al.*, 2010). Dessa maneira, os comprimidos de EFV precisam apresentar uma alta concentração de fármaco para que sejam atingidos níveis seguros de eficácia, levando a uma forma farmacêutica final de tamanho volumoso. Além disso, essa alta dosagem ~~influencia~~ evidencia o sabor amargo do fármaco (HOFFMEISTER *et al.*, 2017). Assim sendo, ocorre uma diminuição da adesão ao tratamento dado os desafios supracitados, principalmente quando avalia-se o tratamento em crianças.

Portanto, se faz necessário o desenvolvimento de formulações de EFV que incrementem suas características biofarmacêuticas, visando o aumento da dissolução e, conseqüentemente, o aumento da biodisponibilidade (BEDOR, 2011; HOFFMEISTER *et al.*, 2017). Nesse sentido, um dos métodos mais utilizados na literatura é o de diminuição do tamanho de partículas através de técnicas de moagem, micronização e comicronização (AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017). Esses visam a obtenção de partículas na escala micro e nanométrica com o subsequente aumento da área de superfície das partículas e, finalmente, aumento da solubilidade de saturação e incremento da dissolução (SILVA, 2020).

1.3 MICRO E NANOCRISTAIS

Os nano e microcristais já são empregados nas indústrias farmacêuticas e diversas pesquisas foram desenvolvidas nesse ramo (HOFFMEISTER *et al.*, 2017; AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017; CERDEIRA; MAZZOTTI; GANDER, 2013; TÜRK; BOLTEN, 2010; FONTANA *et al.*, 2018). Nessas há uma diminuição do tamanho das partículas com um subsequente aumento de sua superfície de contato, e, conseqüentemente, aumento da molhabilidade das partículas e solubilidade de saturação. Finalmente, tais fatores influenciarão na melhora da dissolução das amostras e na sua biodisponibilidade (AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017; MÜLLER; GOHLA; KECK 2011).

A solubilidade de saturação é dependente de diversas variáveis, como meio de dispersão e temperatura, além do tamanho da partícula. De acordo com a equação de Ostwald-Freundlich (Eq. 1), quanto menor o tamanho da partícula, maior a solubilidade de saturação e, portanto, maior a taxa de dissolução do fármaco (SILVA, 2020).

$$\log \frac{c_s}{c_\infty} = \frac{2\sigma V}{2.303RT\rho r}$$

(Eq. 1)

Na equação 1, C_s é a solubilidade de saturação após a diminuição da partículas, C_∞ é a solubilidade do sólido em seu tamanho de partículas normal, δ é a tensão interfacial das partículas, V é o volume molar da suspensão, R é a constante ideal dos gases, T é a temperatura absoluta, ρ é a densidade do sólido e r é o raio da partícula (SILVA, 2020).

Já na equação de Noyes-Whitney (Eq. 2), pode-se observar que a taxa de dissolução aumenta com o aumento da área de superfície das partículas. Esse aumento da área de superfície é alcançado justamente com métodos de cominuição (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; NOYES; WHITNEY, 1897; SILVA, 2020).

$$dC/dT = K*S(C_s + C_t)$$

(Eq. 2)

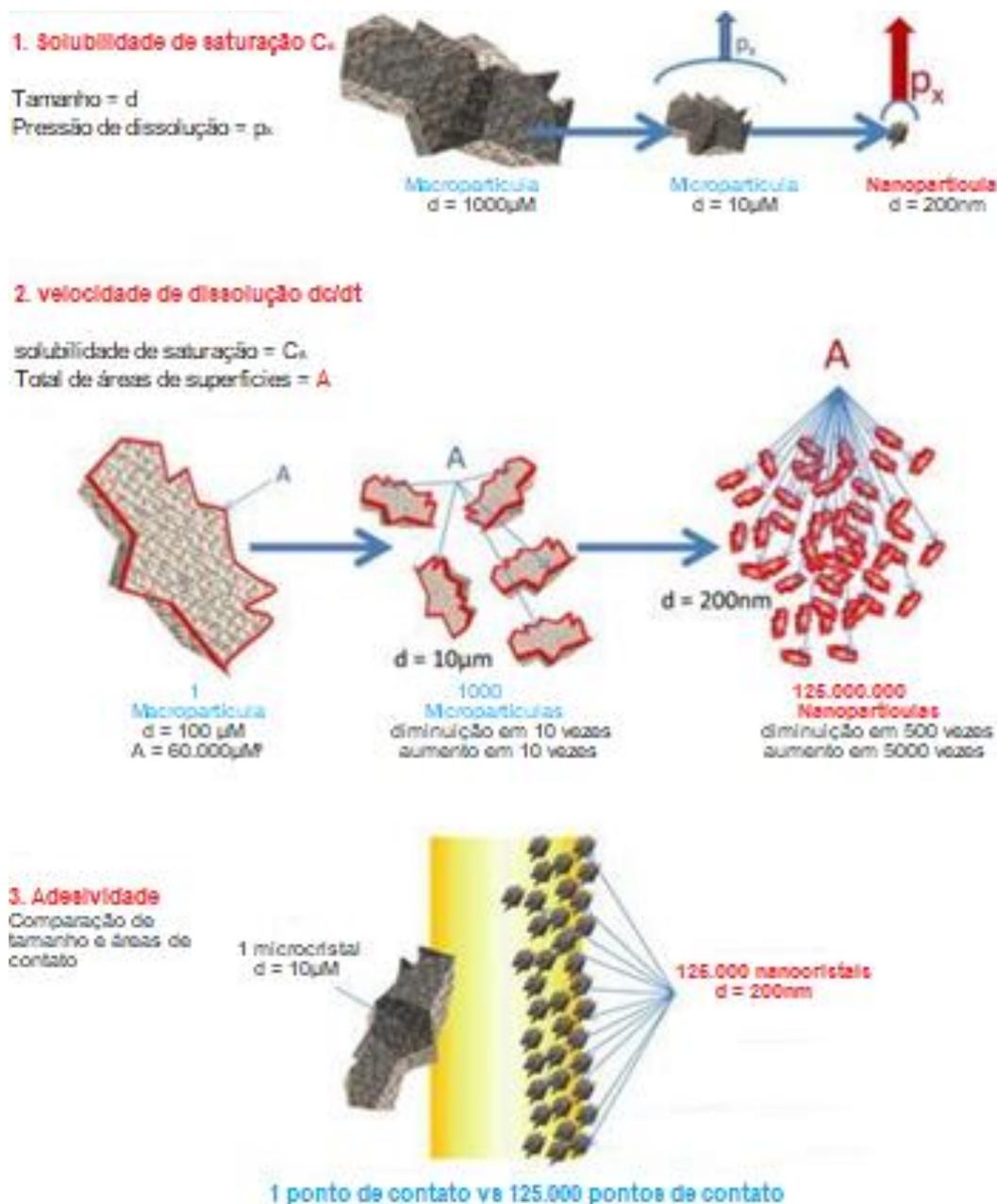
Onde dC/dT é a velocidade de dissolução, K é a constante da velocidade de dissolução, S área de superfície das partículas, C_s é a concentração do fármaco na camada de difusão e C_t é a concentração do fármaco em dissolução no tempo t . $C_s - C_t$ é o gradiente de concentração.

Percebe-se, dessa forma, que C_t não pode ser alterada, assim como C_s , dada as características físico-químicas do composto, como solubilidade, K é uma constante dependente de diversos fatores como agitação e temperatura e, portanto, S é a única variável com certa facilidade de alteração. Dessa maneira, matematicamente, sempre que há o aumento da área de superfície da partícula, há o aumento da sua taxa de dissolução.

Assim, com a redução do tamanho das partículas, ocorre um aumento na pressão de dissolução (P_x) e, portanto, a transferência das moléculas da partícula para o meio de dispersão. Já em relação a dissolução, a diminuição das partículas leva a um aumento das áreas de superfície (A) e, com isso, ocorre também o aumento da superfície de contato das moléculas da partícula com o meio, aumentando, assim, a dissolução. Segundo Müller, Gohla e Keck (2011), com a diminuição das partículas em 500 vezes, há um aumento em 5.000 vezes de áreas de superfície. A figura 1 ilustra o mecanismo.

A redução de tamanho com o subsequente aumento da superfície de contato influencia ainda na interação íntima das partículas com membranas biológicas. Assim, a adesividade do cristal com membranas torna-se maior e, conseqüentemente, ocorre o aumento da absorção. Ademais, o aumento da adesividade influencia no prolongamento da liberação do fármaco do cristal, trazendo condições biológicas interessantes de liberação lenta ou prolongada (MÜLLER; GOHLA; KECK, 2011). Tal acontecimento é ilustrado na Figura 1.

Figura 1 - Características de nanocristais: 1) aumento da solubilidade de saturação devido ao aumento da pressão de dissolução (p_x); 2) aumento das taxas de dissolução devido ao aumento da área de superfície; e 3) aumento da adesividade



Fonte: Adaptado de MÜLLER; GOHLA; KECK (2011).

Assim, observa-se que a dissolução das partículas estão inversamente relacionadas com o seu tamanho, portanto, partículas nanométricas e micrométricas apresentam maior área de superfície e, conseqüentemente, maior solubilidade de saturação. Assim, espera-se que essas apresentem maiores taxas de dissolução. LI *et al.*, (2015) mostra que partículas com

tamanho menor que 100 nm apresentam características físicas diferentes das demais e, com isso, ocorre um interessante aumento das taxas de dissolução.

No trabalho de Yao e colaboradores (2014), observa-se a influência direta do tamanho das partículas nas melhorias das propriedades de dissolução do fármaco, onde aquelas que apresentavam média de 360 nm mostraram um perfil com taxa de dissolução mais elevada e mais rápida do que aquelas com tamanhos médio de 891 nm, 7,068 μm e 24 μm .

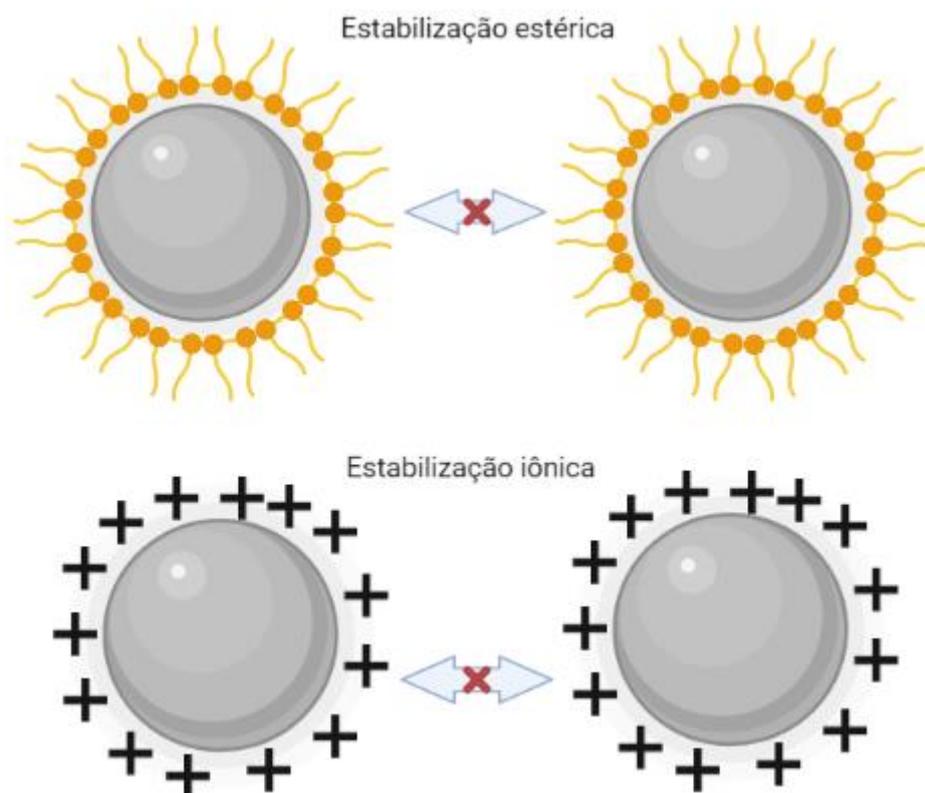
Diversas são as técnicas de produção de micro e nanocristais, tais como moagem por alta pressão, com mídias de moagem e a comicronização. Todas apresentam capacidade de aumentar as áreas de superfície das partículas e, conseqüentemente, as taxas de dissolução. Duas técnicas comumente empregadas é a de moagem com esferas e as de comicronização. Geralmente, a moagem com mídia apresenta capacidade de produzir cristais na escala nanométrica, ao ponto que a segunda produz na escala micrométrica. Teoricamente, na primeira ocorre a moagem pelo impacto das mídias com as pérolas, gerando abrasão e diminuição. Enquanto na comicronização, ocorre uma moagem mútua do fármaco com seus respectivos excipientes e o contato entre as próprias partículas causam a diminuição (COSTA, 2013; HOFFMEISTER, 2017; AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017). Em trabalho de Costa et. Al., 2013, que produziu partículas de EFV comicronizados com diferentes proporções de LSS, observa-se uma clara melhora no perfil de dissolução quando comparadas com a amostra não processada e com o EFV processado sozinho. Já em trabalho de Hoffmeister et al., (2017), onde as amostras de EFV foram produzidas em moinho de pérolas, também é possível observar resultados semelhantes, onde as processadas apresentam taxas maiores que as não processadas.

Entretanto, apesar das melhorias que a redução traz, esse aumento da área de superfície desestabiliza o sistema, causando um aumento de tensão superficial. As partículas, portanto, tendem a se reaglomerar. Dessa maneira, além da cominuição, a diminuição da tensão interfacial é outro importante fator que impacta a dissolução. Tal fato pode ser minimizado com a utilização de tensoativos, que são moléculas estabilizadoras, diminuindo, portanto, a energia

do sistema, impedindo, assim, a coalescência e elevando a estabilização da nano ou microsuspensão (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; NOYES; WHITNEY., 1897). Além disso, outro problema é a tensão interfacial sólido-líquido, que dificulta a molhagem das partículas e, conseqüentemente, a dissolução. Os tensoativos apresentam ainda o importante papel de agente molhante dos cristais, influenciando no aumento de sua dissolução (MÜLLER; GOHLA; KECK 2011).

Os estabilizantes podem ser classificados em dois grupos: estéricos e de carga. Os primeiros, como o nome já diz, estabilizam as partículas por impedir o contato espacialmente e, com isso, elas não conseguem coalescer e crescer. No geral, os estabilizantes estéricos são macromoléculas, como as derivadas de celulose, hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e hidroxipropilcelulose (HPC). Já os estabilizantes de carga são moléculas ionizadas que conseguem solvatar as partículas, gerando uma carga de superfície às mesmas. Com isso, ocorre o repleção devido as cargas iguais e, dessa maneira, elas não coalescem. Exemplos de estabilizantes de carga são o lauril sulfato de sódio (LSS), lauril eter sulfato de sódio, dodecilsulfato de sódio e cocamidopropil betaino (CDB). Portanto, como ilustra a figura 2, são agentes importantes da formulação, que inibem crescimento e aumento da polidispersão das partículas, fatores, esses, que prejudicam a solubilidade e dissolução do fármaco. (AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017; BOSE *et al.*, 2012; LEE *et al.*, 2005; SILVA, 2020).

Figura 2 - Mecanismo de estabilização estérica (acima) e iônica (abaixo)



Fonte: Elaborado pelo autor (2022).

Durante a diminuição de tamanho de partícula, como dito anteriormente, há um aumento da área de superfície, e, como consequência, ocorre um aumento da energia livre de Gibbs. A equação 3 mostra o cálculo da energia livre de partículas cristalinas, onde ΔG é a energia livre de Gibbs, ΔA é a variação da área de superfície e λ_s é a tensão interfacial.

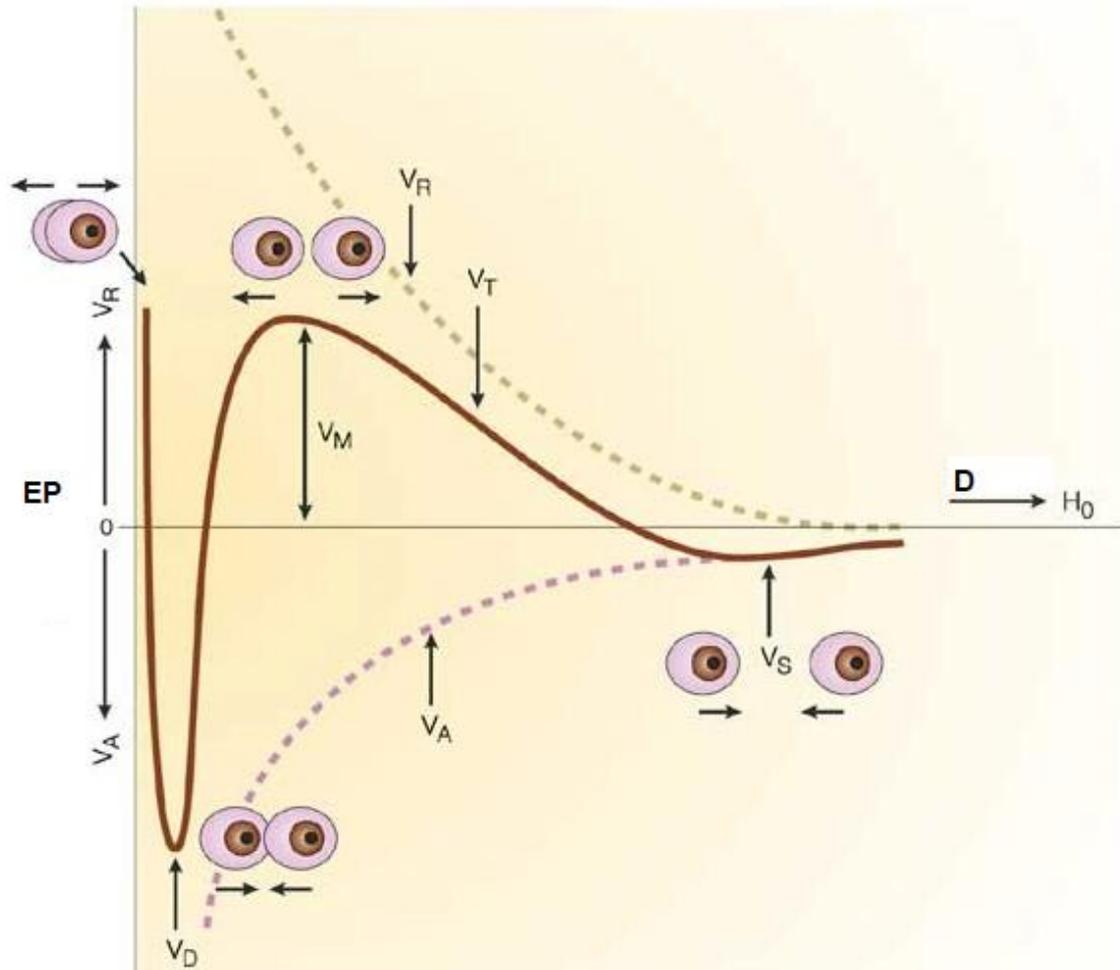
$$\Delta G = \lambda_s \times \Delta A$$

(Eq. 3)

Pela equação, conclui-se que a energia livre de Gibbs é diretamente proporcional à área de superfície e a tensão interfacial, que também aumenta com a diminuição do tamanho das partículas. Assim sendo, portanto, os micro e nanocristais são termodinamicamente instáveis (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; SILVA, 2020). Dessa forma, o sistema tende a se aglomerar, onde as micro e nanopartículas coalescem, voltando próximo ao seu tamanho original, diminuindo, assim, a energia livre (SILVA, 2020).

Para que ocorra a aglomeração das partículas, inicialmente, as mesmas devem romper uma barreira de energia, que quanto menor, mais avidamente o produto tende a aglomerar (Figura 3). Entretanto, a adição de estabilizantes tende a aumentar a energia de ativação, tornando mais difícil a aglomeração das partículas. A energia potencial (V_t) das partículas é resultado da somatória da energia atrativa (V_a) e da repulsiva (V_R). Na presença dos estabilizantes, V_R se torna predominante e as partículas diminuem sua tendência de aglomeração. Observa-se na figura 3 que, conforme as partículas se aproximam, inicialmente, há um aumento das forças repulsivas e, quando essa aproximação se torna máxima, as forças atrativas predominam, o que favorece a aglomeração e, posteriormente, uma forte sedimentação. Os estabilizantes não permitem uma aproximação das partículas ao ponto de predomínio das forças atrativas, diminuindo, assim, a possibilidade de aglomeração (RABINOW, 2004).

Figura 3 - Curva de energia potencial repulsiva ou atrativa de partículas, onde V_R é a energia repulsiva, V_a energia atrativa, V_m barreira de energia, V_t energia potencial total e V_s mínimo secundário.



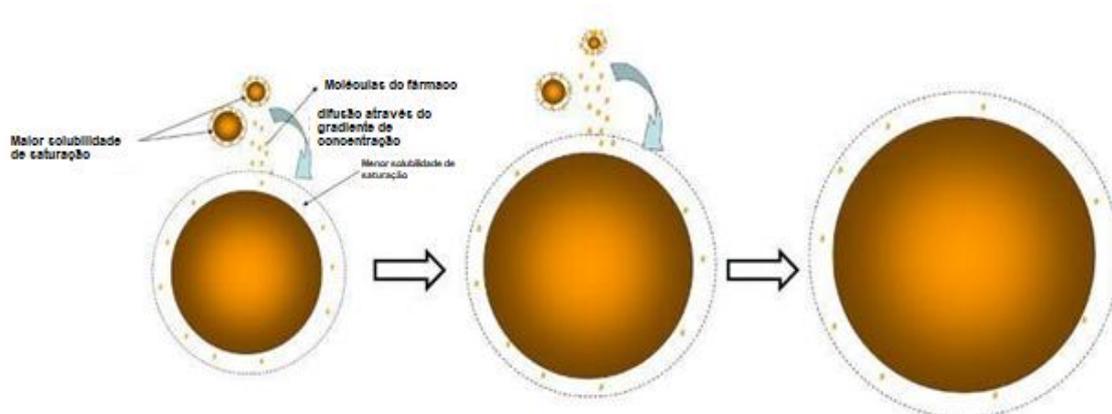
Fonte: Adaptado de RABINOW (2004).

A adição de um estabilizante cria um mínimo secundário, V_s , que diminui a força atrativa, inibindo, portanto, a coalescência e a capacidade de sedimentação das partículas (RABINOW, 2004). Além disso, os estabilizantes possuem a capacidade de diminuir a tensão interfacial formada no sistema e, dessa forma, conseguem mantê-lo estável (SILVA, 2020).

Como os estabilizantes evitam que as partículas se aglomerem, evita-se um relevante fenômeno de instabilidade de micro e nanossuspensões conhecido como amadurecimento de Ostwald (Figura 4) (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003; PLETCHER; WANG; GLICKSMAN, 1993; SILVA, 2020; WU; ZHANG; WATANABE, 2011). Esse fenômeno ocorre devido a diferença de solubilidade de partículas de diferentes tamanhos. Basicamente,

as partículas menores diminuem cada vez mais até sumirem, ao ponto que as maiores crescem cada vez mais, aumentando, assim, a polidispersibilidade do sistema coloidal. Dessa forma, com o passar do tempo, o número de partículas diminui em uma suspensão (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003; PLETCHER; SILVA, 2020; WANG; GLICKSMAN, 1993; WU; ZHANG; WATANABE, 2011).

Figura 4 - Ilustração do mecanismo do amadurecimento de Ostwald.



Fonte: Adaptado de WU; ZHANG; WATANABE (2011)

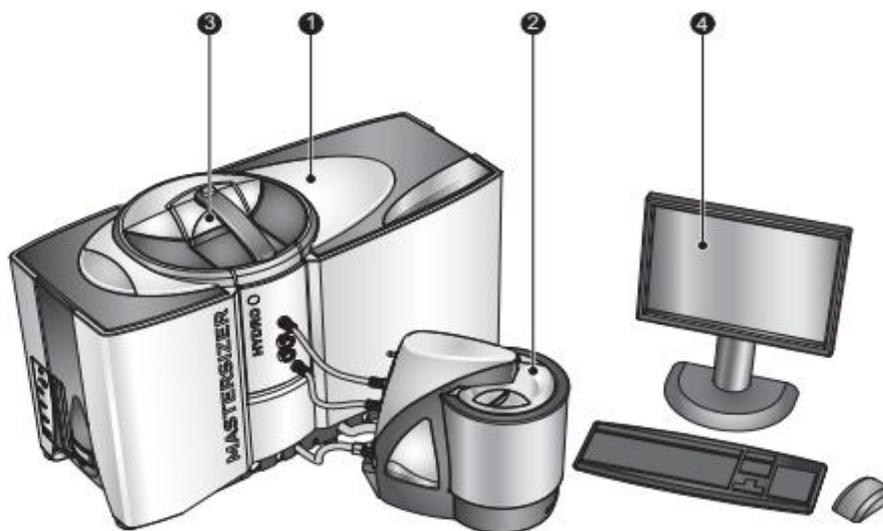
Dessa maneira, observa-se a importância das nanoformulações objetivando a melhora na aplicabilidade e adesão a medicamentos com problemas tecnológicos.

1.5 CARACTERIZAÇÃO DE MICRO E NANOCRISTAIS

Após o processo de cominuição das partículas, é importante avaliar a eficiência do método através da medição do tamanho delas. Esse resultado dá ao analista a capacidade de prever os próximos passos de caracterizações. Conforme descrito na literatura, a diferença de distribuição de tamanho de partícula influencia diretamente nas taxas de dissolução das mesmas. Os métodos mais utilizados para avaliação de tamanho são os de microscopia, espalhamento dinâmico de luz (DLS) e difração a laser (YAO *et al.*, 2014). ~~Entretanto, o mais empregado são os métodos de difração a laser,~~ dada sua capacidade de medição de partículas nas faixas mais comumente alcançadas por cominuição. Apesar de ser uma técnica que apresenta resultados muito próximas da realidade, a microscopia considera apenas uma pequena

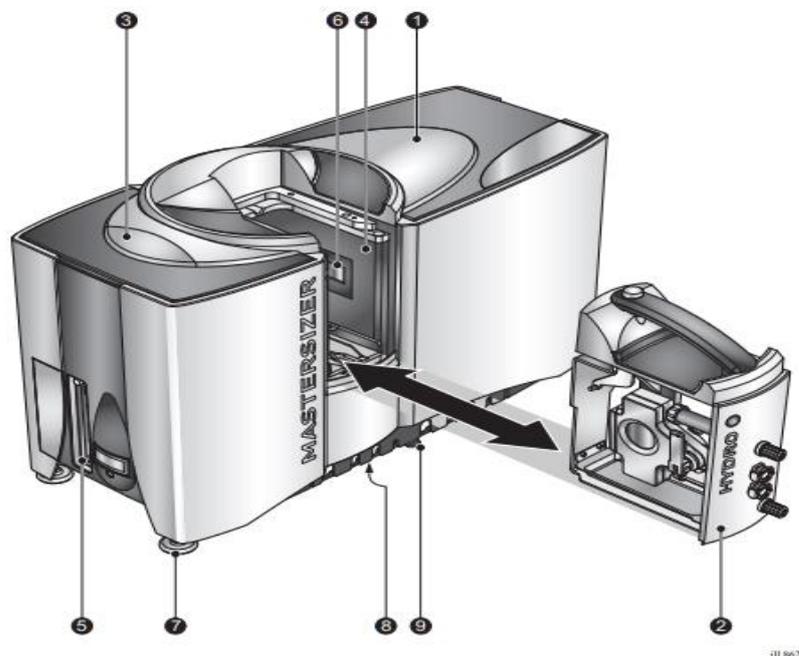
quantidade de partículas, não levando em consideração o todo. Além disso, tem muita participação humana na manipulação e leitura, o qual aumenta a possibilidade de erro. Em relação ao DLS, tal abordagem não apresenta qualidade nas leituras de amostras micrométricas, as quais, em muitos casos, são as principais partículas presentes em uma amostra seca (PARINI, 2003). As figuras 5 e 6 são ilustrações do MasterSize 3000, um dos equipamentos de difração a laser utilizados na atualidade para essa caracterização.

Figura 5 - Unidade do equipamento de difração à laser: 1) unidade óptica, 2) unidade de dispersão úmida, 3) célula de leitura úmida e 4) computador de execução de software



Fonte: Adaptado de Malvern (2013)

Figura 6 - Componentes óticos do equipamento de difração à laser : 1) unidade óptica, 2) célula, 3) luz de status do instrumento, 4) compartimento da célula, 5) painel final, 6) janela de proteção, 7) pés ajustáveis, 8) local de drenagem 9) guia de roteamento do tubo.



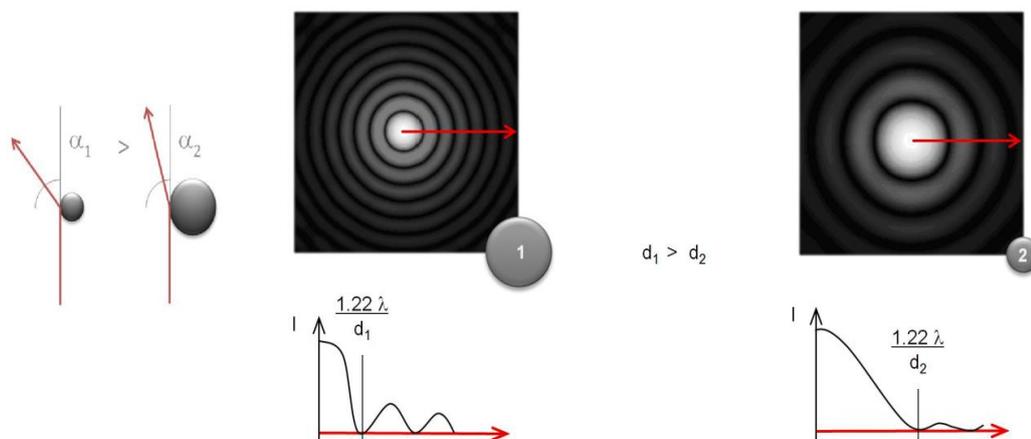
Fonte: Adaptado de Malvern (2013).

1.5.1 DIFRAÇÃO A LASER

A difração é um fenômeno onde ocorre o desvio da luz por um obstáculo, e, com isso, é possível determinar o tamanho do mesmo, visto que o ângulo de difração é inversamente proporcional ao tamanho da partícula (Figura 7). Nesse fenômeno, as partículas são consideradas uma esfera perfeita. Dessa forma, os diâmetros encontrados são relativos ao de uma esfera com raio semelhante. (FOERTER-BARTH; TEIPEL, 2000). Assim, a radiação é difratada em diversas direções e intensidades diferentes por um mesmo obstáculo e essas gerarão um padrão de difração, chamado também de padrão de Airy (Figura 7). Esse é composto por um disco central, proveniente das difrações de maior densidade, do tamanho da partícula e do comprimento de onda da luz, chamado de disco de airy, além de feixes de luz ao redor desse disco central que devem ser sensíveis a observação do sensor. Em certas situações, como no caso de partículas menores, devido ao alto ângulo de difração, ocorre um aumento do disco de airy, assim como

diminuição de sua intensidade, com feixes ao redor de baixa definição (FOERTER-BARTH; TEIPEL, 2000). Nesse caso, o resultado poderá ser inadequado, devido a baixa definição do disco. Portanto, nesse cenário, observa-se que a leitura de pequenas partículas pelo método de difração a laser pode não ser viável. Além disso, observa-se que o tamanho do disco de airy é inversamente proporcional ao tamanho da partícula (FOERTER-BARTH; TEIPEL, 2000).

Figura 7 - Figura ilustrativa representando os ângulos de difração de duas partículas de tamanho diferentes (à direita), onde α representa o tamanho da partícula 1 e 2. O padrão airy também é representado para duas partículas de diâmetro (d) diferentes, com as intensidade e resoluções sendo representadas (abaixo).



Fonte: adaptado de Anton Paar (2022).

Na figura 7 é possível observar também a diferença dos ângulos de difração das partículas maiores e menores e como tal fato influencia diretamente no padrão de airy. Os gráficos abaixo tem no eixo y a intensidade da luz difratada e no eixo x a distância do disco de Airy. Observa-se no gráfico da esquerda que, quanto maior a partícula, a intensidade de difração na parte mais a esquerda do gráfico é menor, ou seja, o disco de airy é menor, ao mesmo tempo, observam-se pulsos de difração nítidos ao longo do eixo x, o que representa as difrações do disco de airy. Nesse caso, tem-se um padrão de definição adequada. O gráfico a direita é de uma partícula pequena, que difrata a luz com mais intensidade, formando um disco maior e pulsos de intensidade cada vez menos perceptíveis. Nesse caso, tem-se um padrão de baixa definição. Assim, observa-se que partículas maiores apresentam

capacidade maior de leitura do que as menores. Dessa forma, considera-se que essa metodologia seja capaz de ler distribuições de tamanho apenas na escala micrométrica (ANTON PAAR, 2022; BLOTT *et al.*, 2004; ETZLER; DEANNE, 1997; ESHEL *et al.*, 2004).

Os equipamentos de difração a laser apresentam um banco de dados com diversos valores teóricos de padrões de Airy. O valor obtido real é então comparado e analisado por um algoritmo do equipamento e, finalmente, comparado com os valores específicos. Por fim, chega-se ao tamanho de partícula encontrado. Assim, observa-se a importância de um padrão de difração de alta resolução para medição por esse método. O resultado da comparação do valor real com os valores teóricos feita pelo algoritmo é dado na forma de distribuição de tamanho de partículas. Dessa forma, observa-se que métodos de difração a lasers convencionais apresentam dificuldade para leitura de partículas menores (ANTON PAAR, 2022; BLOTT *et al.*, 2004; ETZLER; DEANNE, 1997; ESHEL *et al.*, 2004).

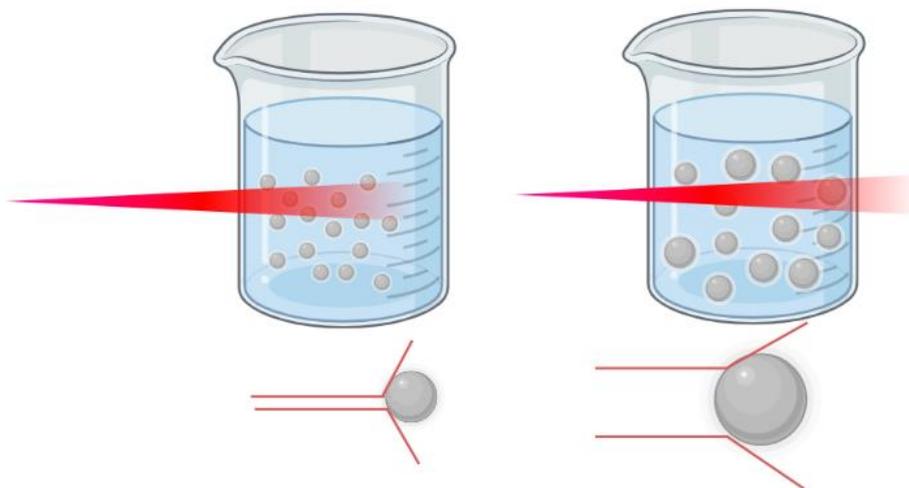
Os métodos de difração a laser baseiam-se principalmente nas teorias de Mie e Fraunhofer. A primeira leva em consideração todos os fatores óticos, tais como difração, refração, reflexão, dispersão e absorção do material para conseguir mensurar a partícula. Além disso, é adequado para partículas menores, só não podendo ser menor do que o diâmetro do feixe de luz incidente. Dessa forma, analisando a faixa de trabalho dos lasers mais utilizados nessa técnica, segundo essa teoria, partícula de até 400 – 600 nm podem ser analisadas. (ETZLER; DEANNE, 1997; KUNTSCHE; KLAUS; STEINIGER, 2009).

A teoria de Fraunhofer é uma subdivisão da teoria de Mie, entretanto, só pode ser levada em consideração para partículas pelo menos 25 vezes maior que o comprimento de onda do feixe de luz incidente (ETZLER; DEANNE, 1997). Assim, uma vez que os feixes de luz mais utilizados têm comprimento entre 400 e 600 nm (KUNTSCHE; KLAUS; STEINIGER, 2009), as partículas medidas por esse método devem apresentar, pelo menos, 10 μm . Dessa maneira, a aplicação na escala nanométrica se tornaria inviável. Além disso, essa teoria considera que qualquer partícula é opaca, visto que a mesma leva

em consideração apenas a difração, não considerando a absorção que as mesmas podem ter em tal comprimento de onda nem a refração das mesmas. Portanto, para partículas pequenas pode haver erros relativos em relação ao tamanho delas (ETZLER; DEANNE, 1997).

A obscuração é basicamente a quantidade de laser que é bloqueado ou espalhado e torna-se um dos parâmetros mais importantes dentro de análise por difração a laser, (ARVANITI; BELIE, 2014). Esse parâmetro traz uma ideia da concentração da amostra no meio de dispersão, além de ser influenciado pelo tamanho das partículas e homogeneidade da dispersão. Assim, quanto maior a concentração das partículas em suspensão, em maiores proporções a luz terá dificuldade de atravessar o meio e, portanto, terá um maior obscurecimento. Ademais, partículas menores possuem maior capacidade de aumentar a obscuração do sistema, uma vez que elas possuem maior capacidade de difração da luz (BLOTT et al., 2004) (Figura 8). Dessa maneira, é importante avaliar tais fatores e encontrar um ótimo de concentração de partículas suspensas para análise, afim de evitar um espalhamento múltiplo, o que poderia descrever um resultado de tamanho de partícula menor que o da realidade, ou o inverso, onde a amostra em baixa concentração pode tornar o método irreprodutível devido a relação sinal-ruído (ARVANITI; BELIE, 2014).

Figura 8 - Ilustração da capacidade de obscuração do meio para partículas maiores (à esquerda) e menores (à direita)



Fonte: desenvolvido pelo autor (2022)

. Outro ponto importante da difração da luz que deve ser levado em consideração e está relacionado com a obscuração é o coeficiente de extinção da luz. Esse parâmetro é a redução da radiação incidida no material de acordo com sua capacidade de difração, espalhamento e absorção da energia eletromagnética. Ademais, esse parâmetro também se relaciona com o comprimento de onda do laser utilizado na metodologia, onde o mesmo é inversamente proporcional ao parâmetro. Ademais, tais fatores também se relacionam diretamente com o tamanho das partículas em análise. Portanto, com base na faixa de partículas do estudo, é fixado um nível de obscuração que seja satisfatório (ARVANITI; BELIE, 2014; BLOTT et al., 2004; KUNTSCHKE; KLAUS; STEINIGER, 2009).

1.5.2 PARÂMETROS TÉCNICOS DA DIFRAÇÃO A LASER

Essa técnica permite medições realizadas tanto por via seca como úmida. Na dispersão seca, a amostra é dispersa em um fluxo de ar inerte e deve ficar suspensa no mesmo para que o laser possa entrar em contato e ser difratado. Já na dispersão úmida, o ar é substituído por um líquido de dispersão, que tem a mesma função. Dessa forma, avaliar o tipo de dispersão a ser utilizada no método é importante, uma vez que esse meio dispersante deve manter a amostra suspensa e dispersa, sem solubilizá-la e reagir com a mesma (HACKLEY, 2004; MALVERN, 2013).

Portanto, em caso de dispersões úmidas, utilizar meios com agentes dispersantes em baixas concentrações é uma alternativa viável, desde que os mesmos não impactem na solubilidade da partícula. Esses agentes são normalmente tensoativos que auxiliam na molhabilidade dessas (DALVIN, 2011). Para evitar a aglomeração, também podem ser empregados ultrassom e agitação mecânica. Entretanto, é importante garantir que esses não impactem no tamanho da partícula primária e apenas desfaçam possíveis aglomerados produzidos pelo meio (MALVERN, 2013).

Na medida por difração a laser, os resultados são obtidos pelo usuário na forma de distribuição de tamanho de partícula representada por uma porcentagem da população. Esses dados são chamados de D10, D50, D90 e D97 os parâmetros correspondentes a 10%, 50%, 90% e 97% das partículas

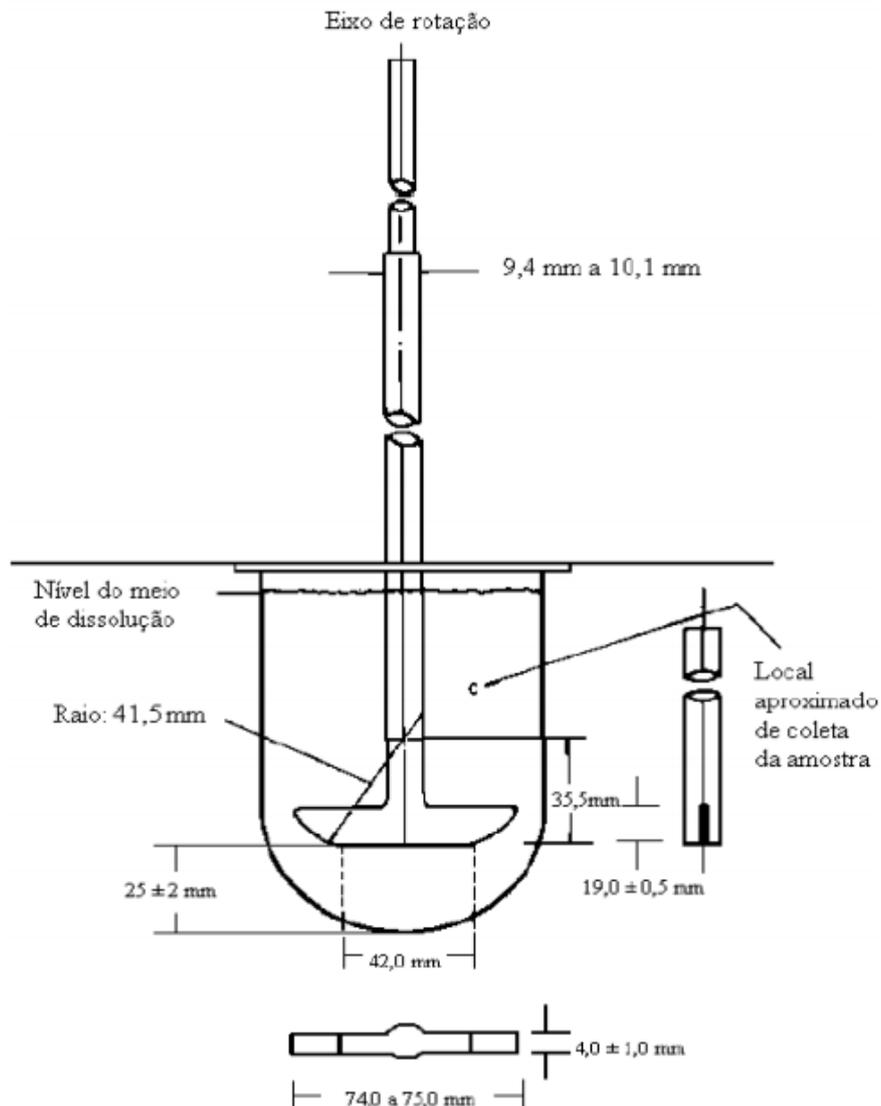
terão até esse tamanho. Outro parâmetro importante é o spam, que diz sobre a polidispersibilidade da amostra. Ele é calculado a partir da multiplicação dos valores de D90 e D10, dividido pelo D50. Ou seja, faz uma varredura em toda a distribuição, gerando um resultado. Observa-se que, portanto, quanto maior o valor, mais polidispersa está a amostra (MALVERN, 2013).

A obscuração é outro parâmetro de análise importante que deve ser mantido em níveis adequados de acordo com o tamanho das partículas em análise. Diz sobre a luz que fica retida no líquido ou ar e está relacionada com o tamanho das partículas em análise e suas concentrações. Seus resultados são dados em porcentagem de luz retida. É importante alcançar um nível adequado de obscuração visto que em situações que esse parâmetro está muito alto pode haver sobreposição de resultados e dupla difração, resultando em dados menores que o da realidade. Por outro lado, obscurações muito baixas podem impossibilitar a análise.

1.5.3 DISSOLUÇÃO

Outra técnica comumente aplicada na caracterização dos micro e nanocristais é a dissolução. Os ensaios de dissolução são feitos em um dissolutor que possui diferentes recipientes de análise e aparatos de agitação. Para micro e nanocristais, o recipiente de dissolução é uma cuba de fundo redondo e a agitação é feita com hastes de aço inox. O dissolutor é um equipamento capaz de simular situações que se assemelham àquelas encontradas no meio gastrointestinal, além de permitir o controle de temperatura (DA SILVA, 2013). A figura 9 exemplifica seu maquinário.

Figura 9 - Aparato de agitação do meio de dissolução.



Fonte: Silva (2013)

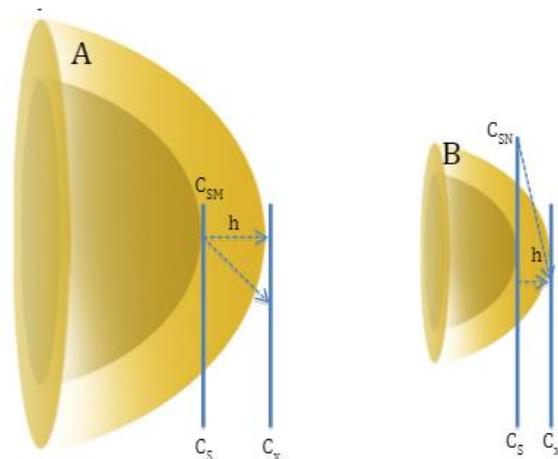
Diversos fatores podem ser levados em consideração na influência da dissolução, tais como, solubilidade do fármaco, quantidade adicionada e natureza do meio de dissolução (SILVA, 2020). ~~A solubilidade do fármaco é um dos fatores principais para tal questão, Amidon et al., (1995) classificou a dissolução dos fármacos de acordo com a solubilidade e permeabilidade, e aqueles que apresentam maiores solubilidades, geralmente, possuem maiores taxas de dissolução.~~ A quantidade de fármaco adicionada deve ser feita cuidadosamente para que não haja a saturação do meio, respeitando as condições *sink*. Caso haja início de saturação, haverá lentificação e diminuição da dissolução (SIEPMANN; SIEPMANN, 2020; MARCOLONGO, 2003). Outro

fator que pode influenciar é a temperatura, entretanto, esse não possui relação direta com a dissolução e dependerá do soluto e está relacionada com a calorimetria da reação. A natureza do meio utilizado no ensaio é de importância, pois influencia na capacidade de molhabilidade das partículas, solubilidade de saturação e, conseqüentemente, o aumento das taxas de dissolução (PATRAVALE; A DATE; KULKARNI, 2004; SHAHRIN, 2013).

Para a escolha da amostra mais adequada é necessário calcular a taxa de dissolução das partículas, para isso, faz-se necessário avaliar a capacidade discriminativa do meio, ou seja, aquele capaz de avaliar pequenas alterações em amostras tornando possível a escolha da mais adequada. No geral, meios discriminativos são aqueles com agentes surfactantes em baixas concentrações. Os tensoativos são utilizados por diminuir a tensão superficial sólido – líquido, dessa forma, ocorre um aumento da molhabilidade das partículas pela água e, como conseqüência, um aumento da solubilidade de saturação e dissolução. Assim, a concentração dos tensoativos influencia de maneira proporcionalmente direta na dissolução (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; PATRAVALE; DATE; KULKARNI, 2004; SHAHRIN, 2013).

Durante o processo de dissolução, as moléculas presentes na parte superficial das partículas se dissolvem se concentrando ao redor da mesma e envolvendo o sólido. A essa camada ao redor da partícula dá-se o nome de camada de difusão. Uma vez que a camada de difusão apresenta a concentração saturada de soluto, pode-se considerar que a concentração de fármaco na camada de difusão é igual a solubilidade dele. À medida que as moléculas são absorvidas, uma nova molécula deixa a camada de difusão e outra sai da partícula, dando continuidade ao processo. Tal processo é exemplificado pela figura 10 (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; BARBOSA, 2014).

Figura 10 - Diminuição do tamanho das partículas e sua influência na camada de difusão. h: camada de difusão; C_{SM} : solubilidade de saturação; C_x concentração do fármaco no líquido intersticial.



Fonte: BARBOSA (2014)

A dissolução de uma substância pode ser descrita pela Eq. 2, ou seja, as taxas desse processo podem ser aumentadas pela diminuição da área de superfície. Dessa forma, através da diminuição do tamanho das partículas, ocorre o aumento da solubilidade de saturação do fármaco na camada de difusão, fazendo com que haja um aumento da concentração do fármaco na região e, conseqüentemente, aumentando os níveis de material dissolvido e a taxa de dissolução (PATRAVALE; A DATE; KULKARNI, 2004).

Ademais, um rearranjo da Eq. 2 foi proposto por Nernt-Brunner e Levich (1904) e relaciona a velocidade de dissolução com a camada de difusão das partículas. Observe na Eq. 4 que, além da taxa de dissolução ser diretamente proporcional à área de superfície das partículas, ela é inversamente proporcional à camada de difusão, concordando com o supradito (BARBOSA, 2014; SILVA, 2020; PATRAVALE; A DATE; KULKARNI, 2004). A Figura 11 consegue mostrar, de maneira ilustrativa, o papel da camada de difusão na dissolução de micro e nanopartículas.

$$dX/dt=(D*A)/(h*(C_s-X/V))$$

Eq. (4)

Onde, dX/dT é a taxa de dissolução, D é o coeficiente de difusão do soluto na solução, A é a área de superfície da partícula, h é a distância difusional, C_s é a solubilidade de saturação do fármaco, X é a concentração no líquido circundante e V é o volume do meio de dissolução.

Outro fator importante para a dissolução é conhecer a condição *sink* do fármaco. A definição de condição *sink* é que o volume do meio deve ser três vezes maior que o volume de saturação do fármaco. Atualmente, alguns estudos aceitam que a condição *sink* ideal está entre 5 a 10 vezes o volume de saturação (MARCOLONGO, 2003). Essa condição é importante, pois impede que a concentração no meio de dissolução se aproxime da concentração de saturação do fármaco, o que poderia lentificar o processo de dissolução (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013). Ainda, para fármacos da classe II, que tem sua absorção limitada pela dissolução, é importante também visto que simula melhor o que ocorre dentro do organismo, uma vez que, como o fármaco é absorvido no trato gastrointestinal (TGI), o mesmo não se acumula e não chega próxima a sua concentração de saturação (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; MARCOLONGO, 2003).

2 JUSTIFICATIVA

Segundo dados do UNAIDS (2021), em 2020, cerca de 1,7 milhões de crianças no mundo estavam vivendo com HIV, o que é um dado alarmante e mostra a alta prevalência da doença em caráter mundial. É possível observar, segundo os mesmos dados, que aproximadamente 53% dessas crianças tiveram acesso ao tratamento com antirretrovirais. O EFV é um ativo de grande importância para tratamento de HIV para esse público, sendo o principal fármaco para tratamento alternativo em crianças acima de três anos e o principal utilizado no Brasil da classe dos ITRNNs (BRASIL, 2018).

Entretanto, o EFV apresenta uma baixa biodisponibilidade oral, variando entre 30 e 50%, dessa forma, a formulação final apresenta-se volumosa, diminuindo, assim, a adesão do público pediátrico. Ademais, o EFV é um fármaco com sabor desagradável (HOFFMEISTER *et al.*, 2017) e, dada a alta dosagem, esse problema fica evidenciado, influenciando também adesão ao tratamento.

Dessa forma, o desenvolvimento de micro e nanocristais do fármaco parece ser uma alternativa aos problemas descritos, uma vez que esses podem apresentar um aumento de sua solubilidade de saturação e incremento da dissolução (AL-KASSAS; BANSAL; SHAW, 2017; BERDOR, 2011; CERDEIRA; MAZZOTTI; GANDER, 2013; CHIAPPETTA *et al.*, 2010; HOFFMEISTER *et al.*, 2017; MÜLLER; GOHLA; KECK, 2011). Têm-se observado o uso dessa estratégia pela indústria farmacêutica nos últimos anos para solucionar problemas inerentes a dissolução de fármacos da classe II do SCB, sendo, inclusive, alguns disponíveis comercialmente, como ~~exemplos são~~ Emend[®], da Merck, Sustenna[®], da Janssen, dentre outros. Essa forma de liberação modificada demonstra-se eficaz e pode auxiliar na entrega farmacológica e aumento da biodisponibilidade e, portanto, aumentar a adesão ao tratamento.

Entretanto, a caracterização desse sistema é de suma importância, e, atualmente, não há na literatura trabalhos disponíveis com desenvolvimento de método para a medição do tamanho das micro e nanopartículas de EFV pelo método de difração a laser. Essa medição é importante para avaliar os resultados dos processos de cominuição e permite realizar as devidas comparações com a dissolução e outros métodos que se façam necessárias, mostrando a efetividade do processo. Assim, é de suma importância estabelecer métodos discriminativos de avaliação desses parâmetros, a fim de obter um processo robusto para confecção de micro e nanocristais de EFV. Por fim, através da definição de uma metodologia de controle de qualidade de tamanho de partícula, a mesma estratégia de desenvolvimento de processo pode ser aplicada a diferentes fármacos que passem por processo de cominuição.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVOS GERAIS

Desenvolver e validar um método robusto de medição de tamanho de partículas e dissolução dos micro e nanocristais pré-desenvolvidos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analisar a interferência de diferentes tensoativos na solubilidade dos micro e nanocristais de EFV.
- Analisar a capacidade de dispersão das amostras nos diferentes meios testados.
- Testar diferentes formas de preparo da amostra para a medição de tamanho de partícula, assim como diferentes métodos de leitura
- Testar meios com diferentes concentrações de LSS para avaliar a capacidade discriminativa desses na dissolução das amostras.
- Avaliar a taxa de dissolução das amostras e compará-las com os seus respectivos tamanhos de partículas obtidas por difração a laser.

4 METODOLOGIA

4.1 AMOSTRAS DESENVOLVIDAS

Duas amostras provenientes de moinho de pérolas participaram do estudo e foram analisadas quanto ao tamanho de partícula e suas taxas de dissolução, essas foram denominadas A1 e A2. As duas apresentam a mesma formulação: EFV 10% (p/v); LSS 0,4% (p/v); e HPMC 0,2% (p/v). Diferem apenas na forma de preparo, enquanto a amostra A1 foi produzida integralmente com pérolas de 500 μm , para a A2, houve uma troca de pérolas durante o processo para as de 200 μm .

Além das amostras de moinho de pérolas, também foram analisadas as amostras comicronizadas quanto ao tamanho de partículas e taxa de dissolução. As amostras diferiam quanto aos agentes estabilizantes que estavam em sua formulação: polivinilpirrolidona (PVP) (amostra 400); LSS lote 1 (amostra 401); LSS lote 2 (amostra 402); e lactose (LACSD) (amostra 403).

4.2 ANÁLISE DO TAMANHO DE PARTÍCULAS POR DIFRAÇÃO A LASER

4.2.1 ESCOLHA DO MEIO DE DISPERSÃO PARA A LEITURA

Foram testados meios diferentes para analisar a dispersão das amostras e da matéria-prima: soluções aquosas contendo LSS 0,03% e 0,1% (m/v); tween 40 0,03% e 0,01% (m/v); e tween 80 0,03% (m/v). Além disso, a água pura também participou do estudo como meio de dispersão. Primeiro, foram realizadas varreduras por espectrofotometria no UV (modelo UV-1800 Shimadzu, Japão) dos meios sem as amostras para que seja possível observar em quais comprimentos de onda os tensoativos absorviam. As varreduras foram realizadas em comprimentos de onda de 200 a 900 nm, para que fosse possível uma avaliação completa de todas as possibilidades de absorção do meio. Assim, as mesmas foram comparadas ao espectro de absorção do EFV na concentração de 1,2 mg/100mL. Para a análise do EFV, o mesmo foi solubilizado inicialmente em acetonitrila e, em seguida, alíquotado para diluição em um volume maior do mesmo solvente.

Em seguida, foi avaliada a capacidade de dispersão dos meios, feita tanto de maneira visual, quanto através da transmitância. Para isso, em um béquer avolumado com 10 mL de seus respectivos meios de análise, foram colocados aproximadamente 25 - 30 mg do IFA e amostras, e agitados vigorosamente por 2 minutos. Após isso, foi feita a análise visual da amostra, sendo consideradas boas aquelas homogeneamente dispersas e sem a presença visual de aglomerados. Além disso, para confirmação dos resultados visuais, foi realizado também a análise de transmitância das mesmas no espectrofotômetro UV/Vis, nos comprimentos de onda referentes ao do laser utilizados na leitura por difração a laser, 460 nm (luz azul) e 633 nm (luz vermelha), além da leitura no comprimento de onda de absorção do EFV, 293 nm. Foram consideradas boas dispersões aquelas que apresentavam resultados de transmitância menor que 15%.

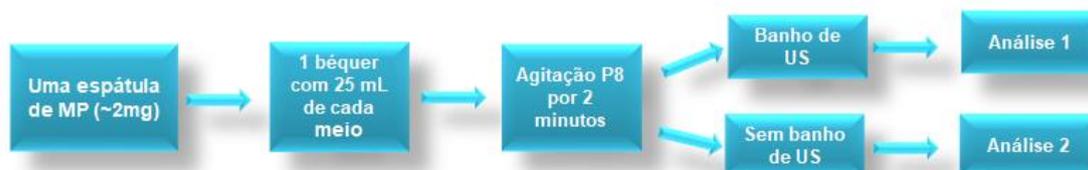
Sabendo o comprimento de onda que o meio absorve, foi realizada a etapa seguinte de análise, que consistia na avaliação da possibilidade de solubilização de EFV no meio, feita no UV. Em um béquer contendo 10 mL de meio, foram adicionados aproximadamente 2 mg das amostras e IFA. Em seguida, a mesma ficou sob agitação magnética por 2 minutos e, após isso, as amostras foram filtradas com filtro de seringa de 0,22 μm e a absorbância foi avaliada no comprimento de onda de 293 nm. As leituras foram feitas em duplicata.

4.2.2 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE LEITURA NO APARELHO

Foram avaliados seis procedimentos para alcançar um método comum para as amostras e para a matéria-prima utilizando o equipamento Mastersizer 3000 (Malvern, Reino Unido). Inicialmente, esses testes foram realizado apenas com o IFA. Assim, caso o método estivesse de acordo para o mesmo, seria prosseguido e testado para todas as outras amostras, avaliando, nessa segunda etapa, caso a caso. Todos os testes estão ilustrados nas Figuras 11, 12 e 13. Primeiramente (Figura 11), a matéria-prima foi adicionada a 25 mL de cada meio. As suspensões foram colocadas em forte agitação (modelo RT-5 IKA Werke, Alemanha) por 2 minutos. Após esse tempo, as suspensões foram

divididas em duas, parte foi colocada em banho de ultrassom por 1 minuto e outra não. Após isso, as suspensões foram avaliadas no analisador de tamanho de partícula. A quantidade de matéria prima adicionada em todos os testes variou entre 25 - 30 mg.

Figura 11 - Ilustração dos testes um e dois para análise do método de medição de tamanho de partículas



Fonte: elaborada pelo autor (2021).

No terceiro e quarto teste (Figura 12), todos os passos foram idênticos aos anteriores, tendo como única variação o tempo de agitação, que, nesse caso, foi de 10 minutos.

Figura 12 - Ilustração dos teste três e quatro para análise do método de medição de tamanho de partículas



Fonte: elaborada pelo autor (2021).

Nos dois últimos procedimentos (Figura 13), à matéria-prima foi adicionada 5 mL de cada meio e a agitação magnética foi mantida por 5 minutos. Após esse tempo, as suspensões foram divididas em duas, uma parte colocada em banho de ultrassom por 1 minuto e outra colocada no ultrassom do próprio equipamento de medida de tamanho com potência de 20% e rotação de 2700 rpm. Após isso, as suspensões foram avaliadas.

Figura 13 - Ilustração dos testes cinco e seis para análise do método de medição de tamanho de partículas



Fonte: elaborada pelo próprio autor (2021)

A adição das suspensões dispersas nos testes foi feita gota-gota na cuba do aparelho de difração a laser até que fosse atingida a obscuração entre 5 e 15%. Na cuba do equipamento, antes da adição da amostra, foram colocados 120 mL de cada meio previamente selecionado. Os testes foram feitos em duplicata.

4.2.3 Análises de tamanho após a escolha da metodologia

Após o método ser escolhido, todas as amostras e as matérias primas foram avaliadas quanto a sua distribuição de tamanho de partícula, em triplicata verdadeira, extraindo como resultado os parâmetros de D10, D50, D90, D97 e spam. Após isso, os resultados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) com aplicação de teste tukey, conseguindo, dessa forma, diferenciar, estatisticamente, qual das amostras apresentou os melhores resultados. O ANOVA e teste *post hoc* foram feitos *GraphPad Prism 8*®. O modelo matemático utilizado no teste foi o de acordo com a teoria de Mie.

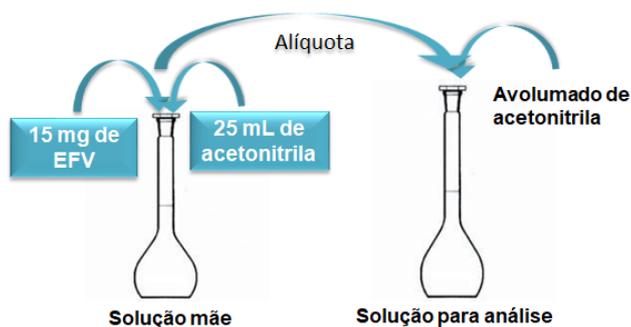
4.3 ANÁLISE DE TEOR DAS AMOSTRAS PARA DISSOLUÇÃO

4.3.1 CONSTRUÇÃO DA CURVA ANALÍTICA

Para o desenvolvimento da curva analítica para análise de teor das amostras por espectroscopia UV/Vis, inicialmente, foi necessário o preparo de uma solução mãe. Para isso, foram adicionados 15 mg de EFV em um balão volumétrico de 25 mL e esse foi avolumado com acetonitrila. Em seguida, da solução mãe, foram retiradas alíquotas de 200 µL, 400 µL, 500 µL, 600 µL, 700 µL, 800 µL, 1000 µL e 1150 µL para o um balão volumétrico de 5 mL que foi

avolumado com acetonitrila (Figura 14). Após isso, a leitura foi realizada em comprimento de onda de 293 nm no espectrofotômetro UV/Vis. O teste foi feito em triplicata verdadeira, dessa forma, foi necessário o preparo de três diferentes soluções mãe. A curva é construída através da análise de concentração por absorbância e, em seguida, os dados são analisados quanto ao resíduo, homocedasticidade e ANOVA. A figura 14 ilustra os passos de construção da curva analítica.

Figura 14 - Ilustração do preparo das soluções mãe e para análise para desenvolvimento da curva analítica



Fonte: elaborado pelo autor (2021)

Para a dissolução, também foram desenvolvidas curvas analíticas tendo os mesmos passos da supracitada, variando apenas o meio o qual as alíquotas da amostra mãe foram diluídas, sendo usados os meios utilizados nos testes de dissolução

4.3.2 ANÁLISE DE TEOR

A análise de teor foi feita em triplicata. Foram pesadas 15 mg das amostras e os mesmos foram colocados em um balão de 25 mL e completados com acetonitrila. Dessa solução foram retiradas alíquotas de 700 μ L e transferidas para um balão de 5 mL e avolumados com acetonitrila. O resultado de concentração de EFV na amostra foi calculado de acordo com a equação da reta obtida da curva analítica.

4.4 DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO

Em um dissolutor modelo Evolution 6100 (Distek, EUA) foram avaliados perfis de dissolução das amostras de EFV em diferentes meios aquosos: LSS 0,1% (m/v), LSS 0,25% (m/v) e LSS 0,5% (m/v). Os testes serão conduzidos

em triplicata com uma massa das amostras equivalente a 100 mg de EFV. Os ensaios serão realizados a 37 °C, com 900 mL, utilizando o aparato de pá com agitação de 50 rpm. Alíquotas de 10 mL serão coletadas e nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 e 150 minutos, não havendo reposição de meio de dissolução. A quantificação das alíquotas foi feita utilizando o espectrofotômetro UV/Vis no comprimento de onda 293 nm (SILVA *et al.*, 2021), utilizando curvas analíticas previamente construídas do EFV em cada meio (item 5.3).

A comparação entre os perfis de dissolução foi realizado através da análise de variância (ANOVA) de dois fatores com aplicação de teste Tukey como *post hoc*, com intervalo de confiança de 95%. A avaliação das taxas de dissolução foi feita através do cálculo de eficiência de dissolução, que é determinada através do cálculo de área sobre a curva de dissolução (Eq. 5), utilizando DDSolver®, suplemento do Excel 2010® (A KHAN, 1975; SERRA; STORPIRTIS, 2007; SILVA, 2019).

$$\text{Eficiência de dissolução (\%)} = \frac{ASC_0 - T_{final}}{ASC_{max}} * 100$$

Eq. 5

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISE DO TAMANHO DAS PARTÍCULAS SECAS POR DIFRAÇÃO A LASER

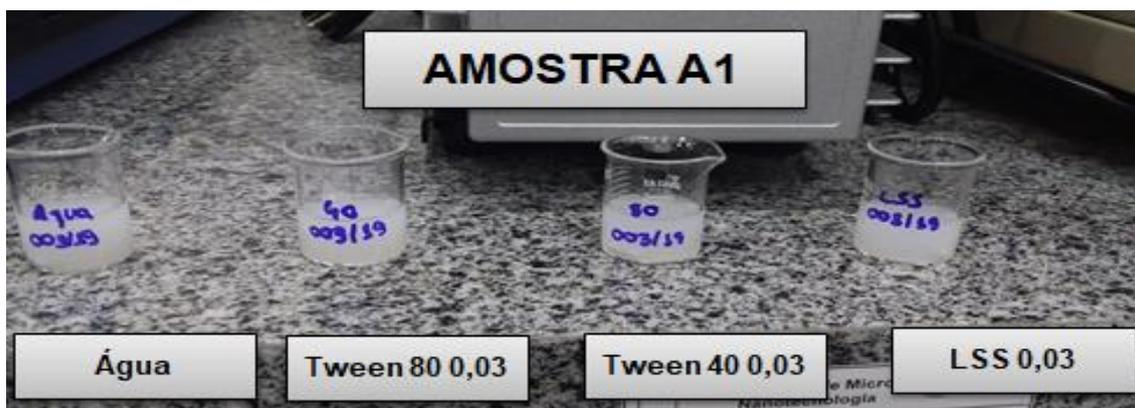
5.1.1 RESULTADO DOS TESTES DE AVALIAÇÃO DOS MEIOS

O teste para avaliação da capacidade de dispersibilidade do meio foi feito visualmente e através da análise de transmitância. Foram consideradas boas dispersões aquelas que não apresentavam muitos aglomerados e mantinham sua dispersão o mais homogênea possível, além de apresentarem transmitância menor que 15%. Observou-se que transmitâncias maiores que esse valor possuíam péssima dispersão visual, além de possuir uma grande população de aglomerados. Já a análise de uma possível solubilização das amostras foi feita através da observação da absorbância, que está diretamente

relacionada com a quantidade de moléculas do analito solubilizadas no meio (MACH et al., 1995).

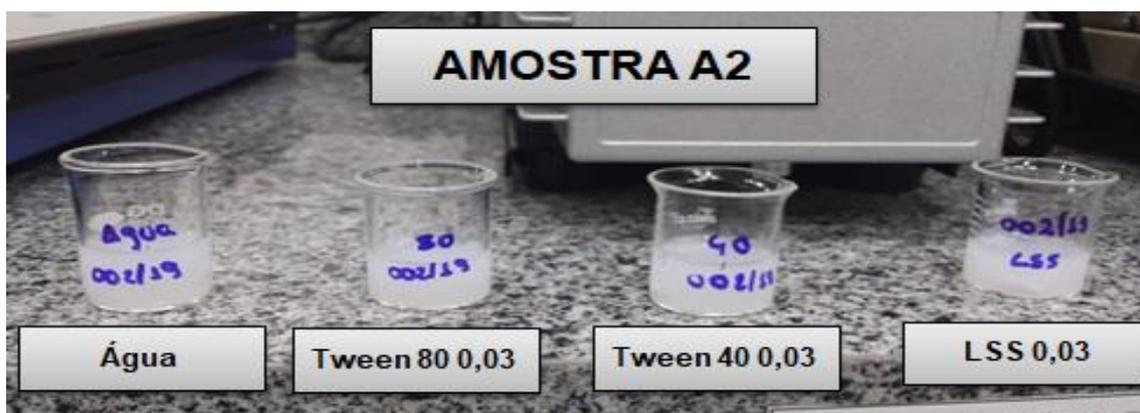
Os testes de dispersão nos meios em concentração de 0,03% (m/v) e água com análise visual estão expostos nas Figuras 15 - 21. Ademais, os testes de transmitância para todos os meios estão expostos nas tabelas 1, 2 e 3, exceto para as amostras A1 e A2.

Figura 15 - Resultado da dispersão da amostra A1 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



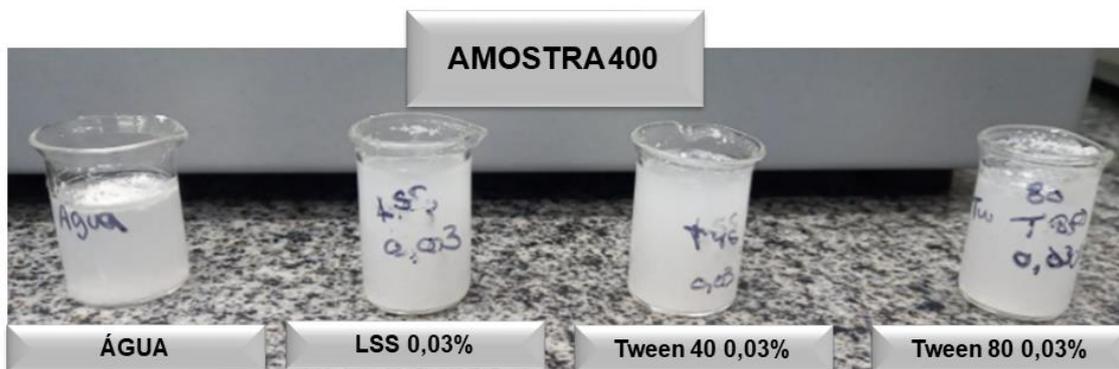
Fonte: elaborada pelo autor (2021)

Figura 16 - Resultado da dispersão da amostra A2 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



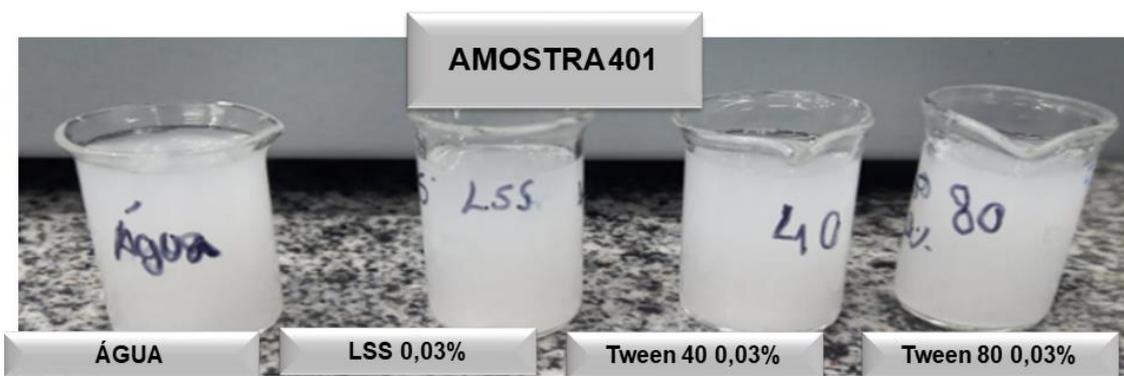
Fonte: elaborado pelo autor (2021)

Figura 17 - Resultado da dispersão da amostra 400 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



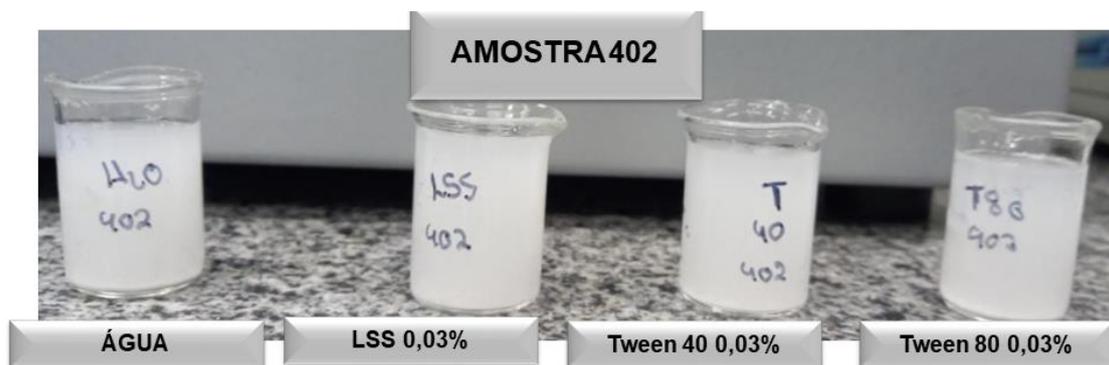
Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 18 - Resultado da dispersão da amostra 401 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



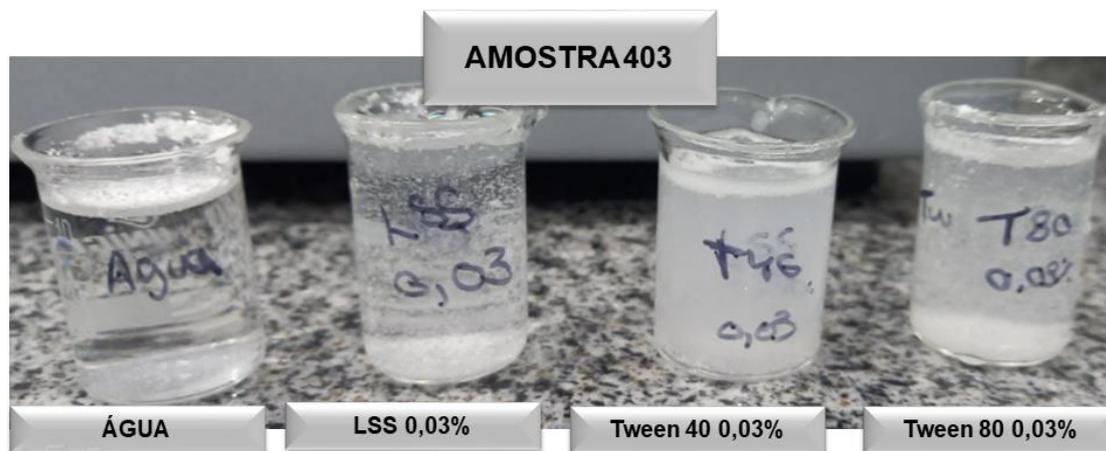
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 19 - Resultado da dispersão da amostra 402 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



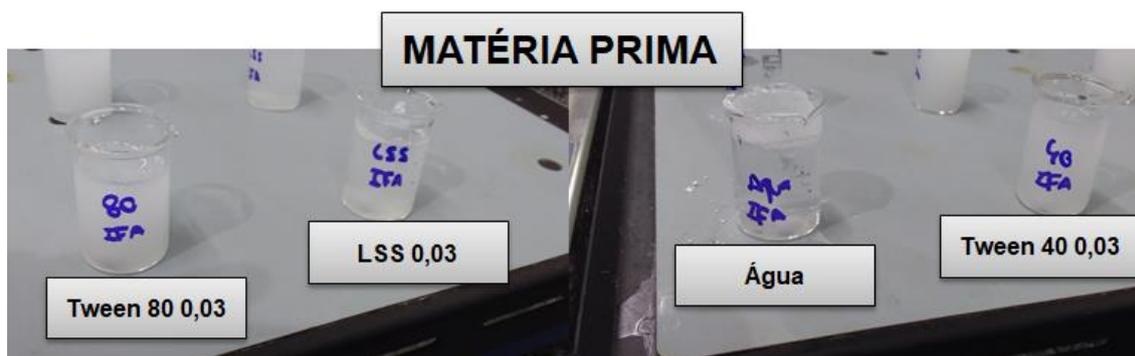
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 20 - Resultado da dispersão da amostra 403 nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 21 - Resultado da dispersão da matéria prima nos meios com concentração aquosa de 0,03% (m/v).



Fonte: elaborada pelo autor

Tabela 1 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 293 nm

Transmitância dos meios no comprimento de onda 293 nm						
Meio*	Meio puro	IFA	400	401	402	403
LSS 0,1	0,007	10,22	0,089	0	0,966	5,879
LSS 0,03	0,004	89,596	1,11	0,231	2,925	83,976
Tween 40 0,01	0,001	7,597	0,095	0	0,064	2,854
Tween 40 0,03	0,004	3,529	0	0	1,088	1,088
Tween 80 0,03	0,004	26,94	1,658	0	0	18,508
Água	0,001	100,477	2,704	0	2,651	89,113

Legenda – as células pintadas em vermelho representam aquelas amostras e meios com transmitância maior que 15%, ou seja, consideradas com baixa capacidade de dispersão.

*As concentrações de todos os meios são dadas em porcentagem m/v

Tabela 2 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 460 nm

Transmitância dos meios no comprimento de onda 460 nm						
Meio*	Meio puro	IFA	400	401	402	403
LSS 0,1	0,007	12,459	2,197	0,458	3,293	11,556
LSS 0,03	0,004	97,269	6,749	1,634	6,852	90,921
Tween 40 0,01	0,001	6,697	3,389	0,596	1,96	9,407
Tween 40 0,03	0,004	10,379	1,249	0,49	4,055	4,055
Tween 80 0,03	0,004	42,969	10,993	0,407	0,762	39,245
Água	0,001	100,594	10,122	0,717	6,929	92,236

Legenda – as células pintadas em vermelho representam aquelas amostras e meios com transmitância maior que 15%, ou seja, consideradas com baixa capacidade de dispersão.

*As concentrações de todos os meios são dadas em porcentagem m/v

Tabela 3 - Transmitância das amostras nos meios em comprimento de onda de 633nm

Transmitância dos meios no comprimento de onda 633 nm						
Meio*	Meio puro	IFA	400	401	402	403
LSS 0,1	0,007	13,324	5,076	0,7	5,093	15,672
LSS 0,03	0,004	97,31	12,691	2,739	10,383	91,778
Tween 40 0,01	0,001	7,32	7,318	0,928	3,214	13,478
Tween 40 0,03	0,004	11,001	2,861	0,765	5,992	5,992
Tween 80 0,03	0,004	43,55	18,137	0,624	1,278	43,624
Água	0,001	99,807	17,498	1,097	11,043	91,886

Legenda – as células pintadas em vermelho representam aquelas amostras e meios com transmitância maior que 15%, ou seja, consideradas com baixa capacidade de dispersão.

*As concentrações de todos os meios são dadas em porcentagem m/v

Ter conhecimento sobre os surfactantes utilizados como dispersantes é importante para compreender qual será o melhor meio a ser utilizado. O LSS é um surfactante iônico e, como tal, apresenta-se com polaridade alta e, devido a isso, pode apresentar dificuldade para melhorar a dispersão de partículas com baixa hidrofiliabilidade. Tal fato, pode ser avaliado através do valor de equilíbrio hidrófilo lipófilo (EHL) do mesmo, que está em torno de 40, comprovando seu maior carácter hidrofílico (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AHN et al., 2008). Ao analisar os polissorbatos, que são vendidos sob os nomes de tweens, observa-se que os mesmos não apresentam cargas e, assim, são tensoativos não iônicos (CHENG; WONG, 2006; AHN et al., 2008). Esses tensoativos apresentam uma menor proeminência da região hidrofílica e, portanto, podem interagir com mais facilidade com moléculas hidrofóbicas. O EHL desses varia de 14 a 17. (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013). Dessa

forma, tendo em vista que o EFV é um fármaco com baixa solubilidade em água e baixa molhabilidade, espera-se que tensoativos de maior hidrofiliicidade apresentem resultados positivos de solubilização das partículas, porém, negativos em relação a dispersão.

Inicialmente, os meios testados foram aqueles com concentração de 0,03% (m/v). No geral, as amostras A1 e A2 se dispersaram bem em todos esses meios, inclusive na água, apresentando poucos aglomerados e com um tempo de dispersão bom, sendo necessário menos de 2 minutos para que a amostra se dispersasse completamente. Essas não foram avaliadas quanto as suas transmitâncias devido a pouca quantidade de amostra presente no laboratório. Os agentes molhantes dessa formulação e a diminuição de tamanho em moinho de pérolas podem ter contribuído para sua ótima dispersão (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Na verdade, para todas as amostras, uma vez que apresentam agentes molhantes em suas formulações, espera-se resultados de dispersão melhores do que para a matéria prima. Assim, observando os resultados do IFA na água, percebe-se que não houve dispersão, onde a mesma não se permitiu molhar dada sua baixa solubilidade aquosa, formando uma espécie de camada plástica de EFV na superfície do béquer. Em LSS 0,03% (m/v), foram observados também resultados inadequados de dispersão e transmitância (tabela 1, 2 e 3). Esse segundo resultado também poderia ser esperado, visto que, como supradito, o LSS é um tensoativo aniônico, apresentando-se com polaridade mais elevada e, conseqüentemente, não é o mais adequado para melhora de dispersão de moléculas praticamente insolúveis em água. Para os tweens 80 e 40 a dispersão visual foi considerada adequada, entretanto, no primeiro, houve um elevado valor de transmitância, o qual pode indicar um possível dificuldade de dispersão. Comparando com o meio LSS, os resultados estão de acordo com a literatura, pois esses, por serem não iônicos, podem interagir com mais facilidade com o EFV e, assim, aumentar sua molhabilidade e dispersão. Porém, para a matéria prima, o Tween 40 0,03% (m/v) mostrou-se mais adequado. As tabelas 1, 2 e 3 mostram resultados de transmitância da matéria prima em seus respectivos meios, já a figura 21 mostra a dispersão visual.

Já as amostras comicronizadas 400 e 403, processadas com PVP e lactose, respectivamente, também apresentaram resultados de dispersão visual não adequados nos meios água e LSS 0,03% m/v (figuras 17 e 20, respectivamente). Nesses, foi possível observar a presença de muitos aglomerados, o que dificulta a leitura no aparelho. Além disso, tal fato é comprovado pelo resultado inadequado também da transmitância, onde a amostra 400 mostrou-se fora da faixa aceitável no meio água e a 403 tanto na água, quanto no LSS 0,03% (m/v) (Tabela 4, 5 e 6). Entretanto, nos meios Tween 40 e Tween 80 na concentração de 0,03% m/v, foram apresentados bons resultados de análise visual, formando uma suspensão homogênea e sem a presença de aglomerados (Figura 17 e 20). Por outro lado, a análise de transmitância no meio Tween 80 foi inadequada, ao ponto que, para o Tween 40, o resultado obtido estava dentro do aceitável de transmitância (< 15%) (Tabela 1, 2 e 3). Ademais, as amostras comicronizadas 401 e 402, ambas processadas com lotes diferentes de LSS, mostraram-se adequadas tanto na análise visual (figura 18 e 19, respectivamente), quanto na análise de transmitância em qualquer meio (tabelas 1, 2 e 3).

Portanto, observa-se que a água e o LSS apresentaram os piores resultados nas duas análises. Ao ponto que o meio tween 40 foi o mais apropriado na dispersão de todas as amostras. Porém, é importante também avaliar o quão capazes são os meios de solubilizar o EFV.

Tabela 4 - Absorbância das amostras nos seus respectivos meios de teste

Meio	A1	A2	Comicronizada**	Matéria prima
Água	0,025	0,013	N/A*	N/A*
LSS 0,03% m/v	0,026	0,065	0,027	0,0015
Tween 40 0,03% m/v	0,153	0,205	0,173	0,115
Tween 80 0,03% m/v	0,286	0,198	0,217	0,313

*N/A = não foi possível mensurar

** - a comicronizada utilizada para esse teste foi a 401

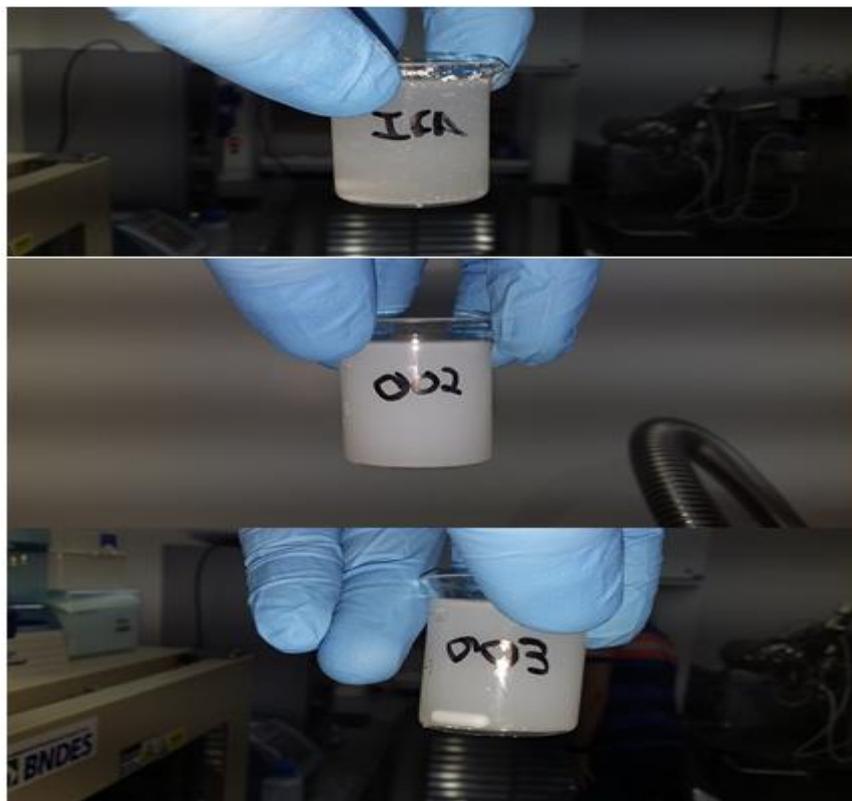
Para verificação da solubilização, foi escolhida apenas uma amostra das comicronizadas. Optou-se pela que apresentou melhor resultado de dispersão, uma vez que essa poderia predizer de maneira mais adequada a absorbância das demais, uma vez que possui maior molhabilidade, nesse caso, a amostra 401. Observa-se uma baixa absorbância para os meios LSS 0,03% m/v e água

nas amostras A1 e A2 (tabela 4). Porém, no meio água, não foi possível fazer a leitura da amostra comicronizada e da matéria prima devido a dificuldade de dispersão. Por outro lado, observa-se um alto valor de absorvância para qualquer uma das amostras e a matéria prima nos meios com Tween 40 e 80 na concentração de 0,03% m/v (tabela 4). Isso pode ser um indicativo de solubilização do EFV no meio, uma vez que o resultado de absorvância é diretamente proporcional a sua concentração no meio (MACH et al., 1995). Esses resultados, seguindo a mesma ideia quando se trata da capacidade de dispersão, também poderia ser esperado, uma vez que o Tween 80 e 40 apresentam uma menor polaridade (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Assim, os meios que melhor dispersam as amostras e a matéria prima apresentam-se com alta capacidade de solubilizar as partículas. Dessa maneira, nenhum dos meios nas concentrações pré-determinadas se mostraram adequados para o prosseguimento da análise. Além disso, os meios tween 80 0,03% (m/v) e água foram descartados para prosseguimento nos testes, uma vez que o primeiro apresenta-se como o que tem maior capacidade de solubilização das partículas (tabela 4) e o segundo o com menor capacidade de dispersão das mesmas (figuras 15 – 21). Portanto, seguiu-se então os testes com dois outros meios: LSS 0,1% m/v e Tween 40 0,01% m/v.

O aumento da concentração de LSS para 0,1% (m/v) foi sugerido, pois poderia influenciar positivamente na dispersão das amostras. Entretanto, esse aumento poderia impactar no aumento da absorvância. Já o meio em menor concentração de Tween 40 pode diminuir uma possível solubilização das amostras e da matéria prima, entretanto, pode haver, nesse caso, uma piora nos resultados de dispersão. As Figuras 22, 23 e 24 mostram os resultados de dispersão das amostras, as Tabelas 1, 2 e 3 o resultado da transmitância e a Tabela 5 mostra os resultados das absorvâncias.

Figura 22 - Resultado da dispersão das amostras A1 e A2 e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de LSS 0,1% (m/v)



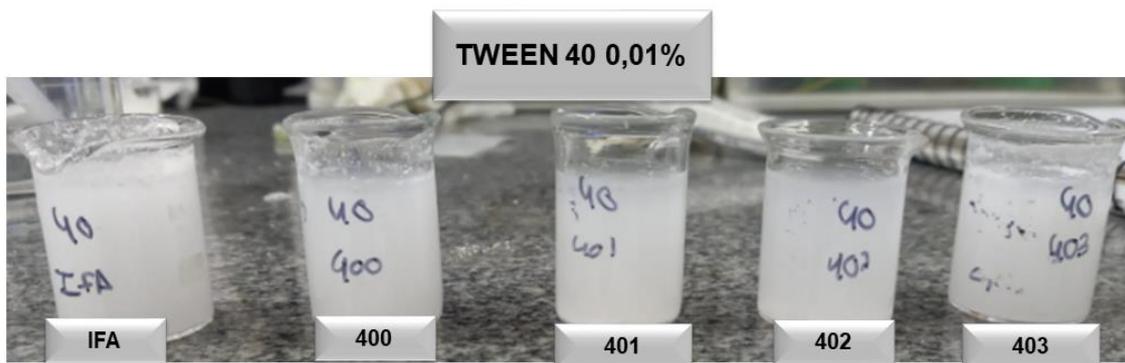
Fonte: elaborado pelo autor (2021)

Figura 23 - Resultado da dispersão das amostras A1 e A2 e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de tween 40 0,01% (m/v)



Fonte: elaborada pelo autor (2021)

Figura 24 - Resultado da dispersão das amostras comicronizadas e da matéria prima nos meio de dispersão aquoso com concentração de tween 40 0,01% (p/v).



Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Tabela 5 - Absorbância das amostras nos novos meios a serem testados

Amostra	Tween 40 0,01% m/v	LSS 0,1% m/v
Matéria prima	0,035	0,200
A1	0,058	-
A2	0,036	-

Observa-se que com a diminuição da concentração de Tween 40 para 0,01% m/v houve uma considerável diminuição da eficiência da dispersão para todas as amostras e matéria prima (Fig. 23 e 24), ficando alguns aglomerados grandes suspensos. Apesar da piora, a dispersão pode ainda ser considerada adequada em todos. Ademais, os resultados de transmitância seguiram dentro do apropriado (<15%) (Tabela 1, 2 e 3). Além disso, observando os resultados de absorbância, percebe-se que houve uma diminuição do valor quando comparado à absorbância no meio Tween 40 0,03% m/v (Tabela 4 e 5), indicando uma baixa solubilização de EFV no meio e, portanto, tornando possível a análise com esse meio.

Para o LSS 0,1% (m/v), houve uma substancial melhora na dispersão, principalmente no que tange a matéria prima. Assim, não foi possível observar a presença de aglomerados suspensos na solução e, além disso, nota-se uma solução bem dispersa e opaca (figura 22). Ademais, principalmente para as amostras comicronizadas 400 e 403, observou-se uma melhora dos resultados de transmitância e dispersão visual (Tabela 1, 2 e 3 e figura 24).

respectivamente). Portanto, esse meio, no quesito de dispersão, mostrou-se mais adequado do que o Tween 40 0,01% (m/v).

Em contraponto aos resultados da dispersão, percebe-se que houve um aumento substancial da absorbância da matéria prima no meio LSS 0,1% m/v (Tabela 5). Dessa maneira, apesar da melhora na dispersão, houve uma solubilização da matéria prima no meio impossibilitando o seu uso.

Assim, o meio com Tween 40 0,01% m/v foi definido como adequado avaliando os critérios testados e foi usado para dar continuidade aos testes.

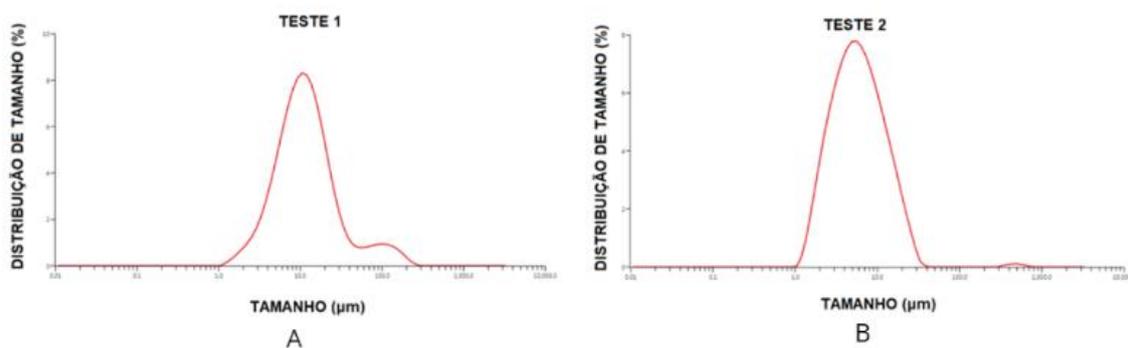
5.1.2 DEFINIÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE DE TAMANHO DE PARTÍCULA PARA PARTÍCULAS SECAS DE EFV

Nos testes, foram avaliados diversos parâmetros que podem apresentar importância no desenvolvimento das leituras, tais como preparo das amostras, velocidade de rotação da pá no aparelho, utilização do ultrassom e outros. Os testes foram conduzidos, inicialmente, utilizando a matéria prima, uma vez que os resultados para essa podem prever os das amostras.

Nos testes no qual a agitação mecânica foi de 2 minutos (Figura 11), a dispersão foi insuficiente e muitas partículas da matéria-prima ficaram suspensas na superfície do béquer, havendo também muitos aglomerados. Com isso, após adição no equipamento, a obscuração ficou próxima de 5% (mínimo necessário para a medida), sendo que foi preciso adicionar praticamente toda a amostra para que fosse possível chegar a esse valor. Com o uso do banho de ultrassom por 1 minuto, houve uma diminuição dos aglomerados e um pequeno aumento na obscuração (Figura 25). Na figura 25A é possível observar a presença de uma população à direita do gráfico, transformando-o em bimodal, o que pode representar a presença dos aglomerados grandes na amostra. Na figura 25B, tal fato já não é observado, uma vez que os aglomerados foram desfeitos pela utilização do ultrassom. Apesar de conseguir realizar a medida, esses primeiros testes foram considerados inadequados, visto que a obscuração não foi alcançada devido à alta presença de aglomerados. Entretanto, ao compará-los, nota-se que a utilização do ultrassom foi vantajosa. Em trabalho de BLOTT *et al.* (2004) e

ARVANITI; BELIE (2014), observa-se a relação inversa entre tamanho de partícula e desvio da luz emitida. Os pesquisadores mostraram que esses fatores podem influenciar diretamente na taxa de obscurecimento do meio. Portanto, em situações onde há presença de muitos aglomerados e maior dificuldade de dispersão, haverá mais dificuldade no aumento da obscuração. Tal fato é observado nos testes 1 e 2, onde, no teste 1, com a presença de aglomerados, há baixa taxa de obscurecimento e, ao utilizar ultrassom, ocorrendo a quebra de aglomerados, havendo o aumento da obscuração (teste 2).

Figura 25 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 1 (A) e 2 (B)

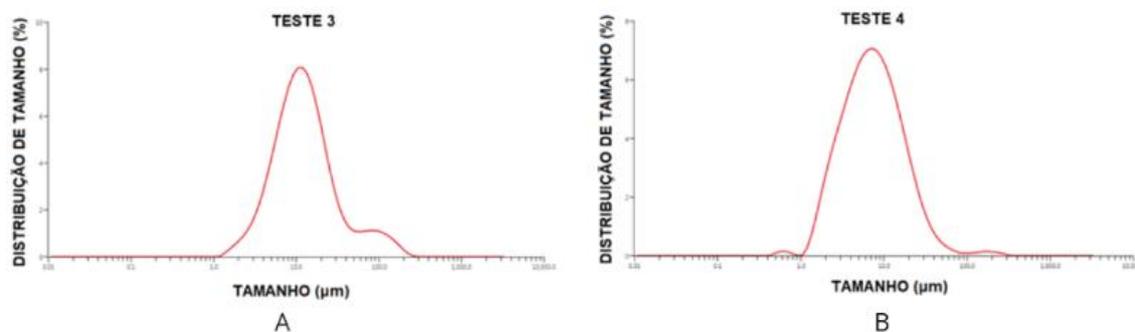


Fonte - Desenvolvida pelo autor (2022)

No terceiro e quarto testes (Figura 12), onde as amostras foram deixadas em dispersão por 10 minutos, uma melhora na obscuração foi observada devido a uma pequena melhoria na dispersão que provavelmente foi alcançada devido ao maior tempo em agitação. A obscuração ficou em torno de 6%, o que ainda é muito próximo do limite mínimo. Neste caso, ainda foram observados muitos aglomerados não dispersos no meio. Com a utilização do banho de ultrassom antes da medida de tamanho, ocorreu um aumento na obscuração, ficando a mesma em torno de 7%. Assim, é possível observar nos testes dois e quatro que a utilização do ultrassom tem influência positiva na dispersão e diminuição dos aglomerados. Ademais, observando a Figura 26, nota-se que a utilização do ultrassom transformou o gráfico em monomodal (Figura 26B), sendo excluída a população a direita do gráfico (figura 26A), a qual provavelmente, representa aglomerados presentes. Portanto, dado os resultados positivos observados com a aplicação do ultrassom no que tange a

diminuição dos aglomerados, o mesmo será utilizado em todos os testes subsequentes.

Figura 26 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 3 (A) e (B)



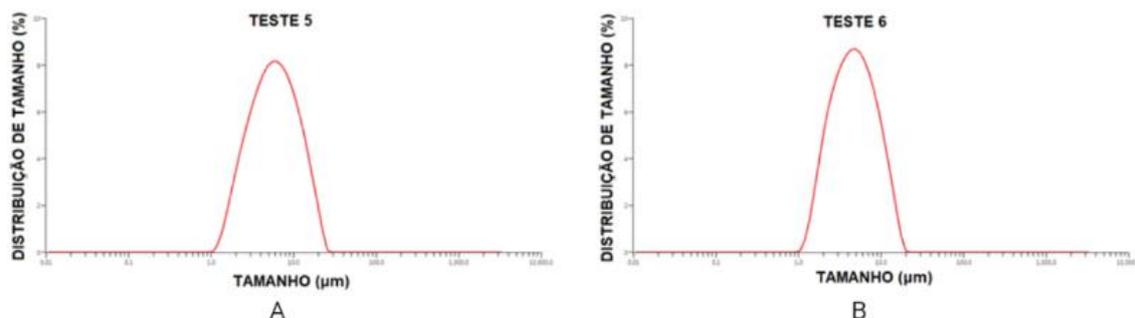
Fonte - Desenvolvida pelo próprio autor (2022).

Assim, os testes cinco e seis (Figura 13) foram conduzidos utilizando o ultrassom do próprio aparelho de medição de tamanho de partícula e um banho de ultrassom. O objetivo desses foi avaliar se havia diferença na dispersão do material. Além disso, o béquer utilizado nesses últimos testes foi menor, visto que, com uma área menor, a agitação pode ser mais eficaz, auxiliando mais na dispersão e influenciando positivamente na quebra dos aglomerados e melhora na obscuração, uma vez que o aumento do tempo de agitação em um béquer de 25 mL não foi suficiente para a melhora na dispersão. Ademais, o tempo de agitação de 5 minutos foi avaliado.

Observou-se melhoras significativas na dispersão e diminuição dos aglomerados, conseqüentemente, a obscuração chegou a 9% utilizando aproximadamente 1 mL de amostra antes da utilização de qualquer ultrassom, diferentemente dos testes anteriores, onde mesmo utilizando todo o volume, não eram alcançados esses resultados. Após o processamento do ultrassom, tanto o do aparelho de análise de tamanho, quanto o equipamento comum, observou-se que a obscuração se manteve em 9-10%. Observa-se na Figura 27A e 27B que não houveram surgimento de uma segunda população à direita do gráfico, tendo duas amostras monomodais. Desse modo, em relação a formação de aglomerados e capacidade de dispersão, não foram encontradas diferenças significativas entre os dois métodos. Entretanto, foi possível observar que, com o passar do tempo da amostra na cuba, a obscuração do meio tinha tendência a diminuir. Tal fato poderia ser esperado, uma vez que o

ultrassom causa a quebra dos aglomerados, levando a separação das partículas primárias que haviam se unido, e, assim, há um aumento da energia do sistema dado a diminuição novamente das mesmas (ALLEN-JR; POPOVICH; ANSEL, 2013; SILVA, 2020; Yao et al., 2014; RABINOW, 2004) .

Figura 27 - Resultado da medição de tamanho de cada um dos testes 5 (A) e 6 (B)



Fonte - Desenvolvida pelo próprio autor (2022)

Na Tabela 6 observam-se os valores de D10, D50, D90 e Spam. Nele podemos confirmar a relevância do uso de ultrassom, vistos que os testes 2 e 4 apresentam maior valor de D90 e D97, além disso, apresentam maior polidispersibilidade, parâmetro o qual pode predizer a presença de aglomerados no meio. Assim, por conveniência, devido a maior facilidade de utilização do ultrassom do próprio MasterSize 3000, o teste 6 foi o escolhido pra continuidade do desenvolvimento metodológico (Figura 13).

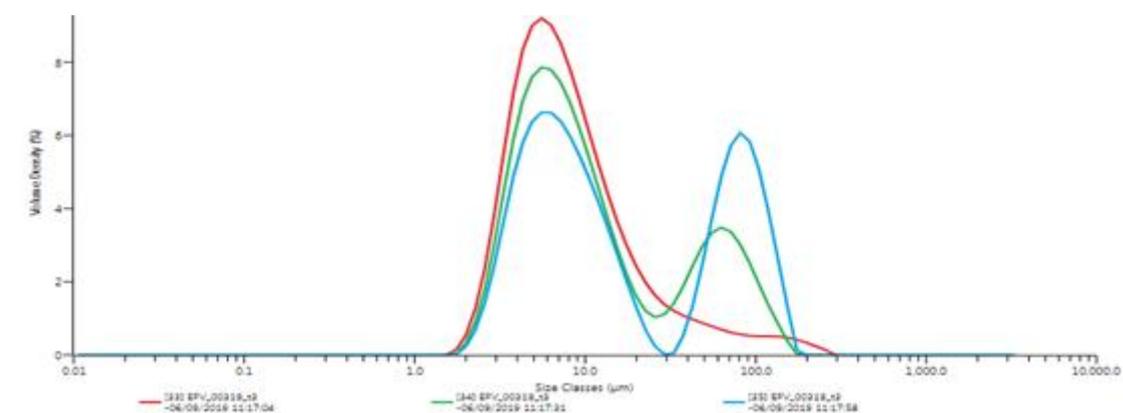
Tabela 6 - Resultado dos parâmetros de D10, D50, D90, D97 e spam

Teste	D10	D50	D90	D97	Spam
1	4,19	11,00	35,00	113,00	2,809
2	2,28	5,67	15,30	22,30	2,305
3	4,43	11,70	42,10	111,00	3,234
4	2,48	7,10	21,10	36,50	2,611
5	2,06	4,64	10,50	13,80	1,882
6	2,33	5,74	13,60	18,00	1,968

Com o método definido, a leitura de todas as amostras foi realizada. Uma leitura do aparelho corresponde a média de três medidas independentes sequenciais da mesma amostra. Para a amostra A1, foi possível observar na figura 28 que durante a análise das triplicatas ocorreu uma aglomeração

considerável das partículas, havendo uma alteração populacional na distribuição do tamanho das mesmas, onde, na primeira análise, em vermelho, a população apresenta-se pequena à direita do gráfico e ocorre o aumento progressivo ao longo das triplicatas. Essa aglomeração é confirmada através da análise dos parâmetros de D90 (tabela 7). Tal fato pode estar predizendo um possível reagrupamento das partículas estando ligado a uma desestabilização do sistema com a utilização do ultrassom.

Figura 28 - Triplicatas da amostra A1 com o método



Fonte: elaborado pelo autor (2021)

Tabela 7 - Parâmetros de análise da amostra a1

Parâmetros da análise inicial em triplicata da amostra A1					
Triplicatas	D10	D50	D90	D97	spam
1 ^o triplicata	3,420	7,090	27,000	87,800	3,324
2 ^o triplicata	3,670	8,510	70,700	104,000	7,880
3 ^o triplicata	3,900	10,700	101,000	128,000	9,013

Dessa maneira, foi sugerido um período entre o fim da utilização de ultrassom e o início da leitura das partículas a fim de avaliar se esse processo se estabiliza. Dessa forma, foram avaliados dois períodos de tempos de estabilização: 3 e 5 minutos. Durante esse período, para que A1 não decantasse no fundo da cuba do equipamento, a amostra foi deixada em agitação a 2700 rpm. As leituras foram realizadas (Figura 29 e Tabela 8) e observou-se que os dois períodos foram suficientes para a estabilização. Por conveniência e facilidade, o período de 3 minutos foi selecionado.

Figura 29 - Resultado da análise da estabilização de 3 minutos (a) e 5 minutos (b) para a amostra A1

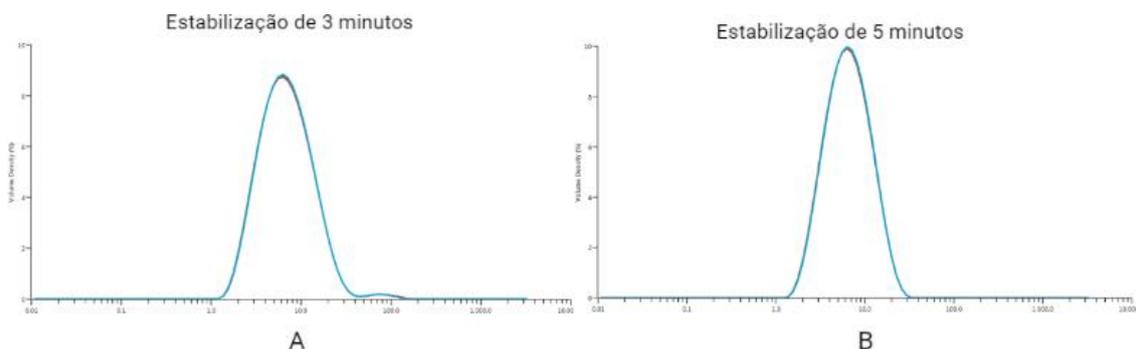


Tabela 8 - Parâmetros da Análise de tamanho das partículas com período de estabilização de 3 minutos 5 minutos

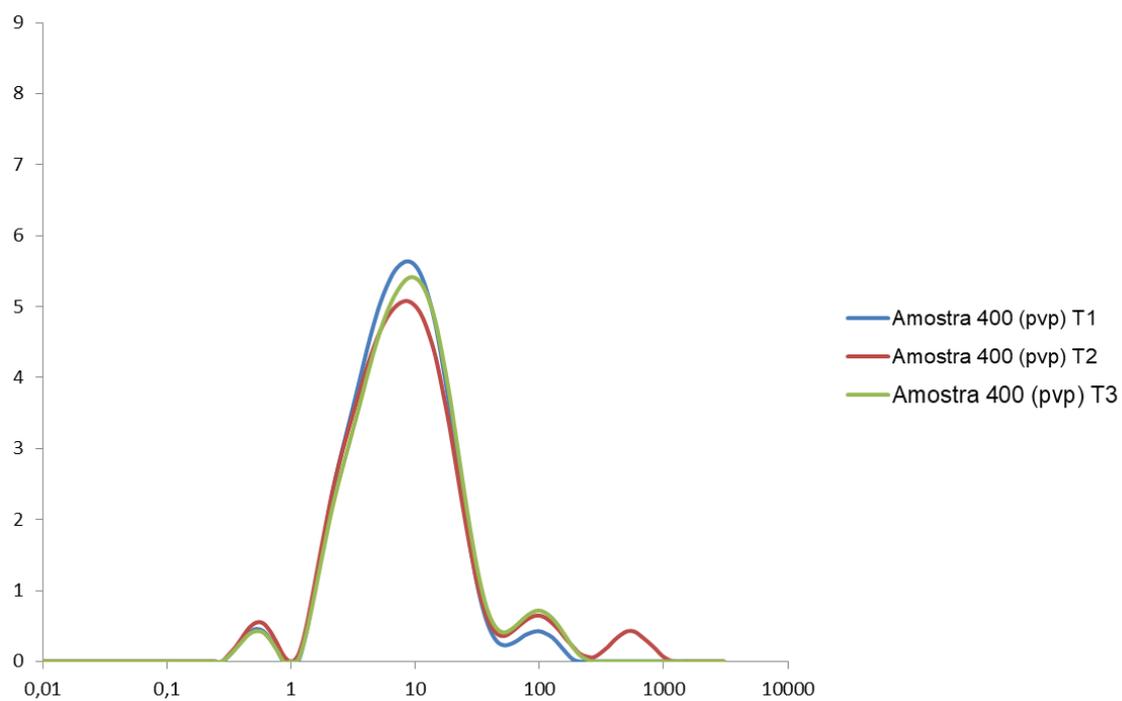
Parâmetros de leitura com período de repouso					
Triplicatas	d10	d50	d90	d97	spam
1 ^o triplicata 3 minutos	2,890	6,540	15,900	23,900	1,997
2 ^o triplicata 3 minutos	2,910	6,560	15,900	23,600	1,974
3 ^o triplicata 3 minutos	2,930	6,600	15,900	23,800	1,970
1 ^o triplicata 5 minutos	3,010	6,340	13,500	18,000	1,652
2 ^o triplicata 5 minutos	3,040	6,380	13,500	18,100	1,643
3 ^o triplicata 5 minutos	3,060	6,430	13,600	18,100	1,633

Dessa forma, o teste escolhido foi o 6 (Figura 13) com meio de dispersão sendo o Tween 40 na concentração de 0,01% m/v. Pequenos incrementos foram feitos no teste 6, com o objetivo de otimizar e tornar o procedimento de leitura robusto, sendo, possível, com um único método, ler todas as amostras. Assim, foi acrescentado o período de estabilização de 3 minutos entre a utilização do ultrassom e a leitura propriamente dita.

5.1.3 RESULTADO DA ANÁLISE DE TAMANHO DO PÓ SECO

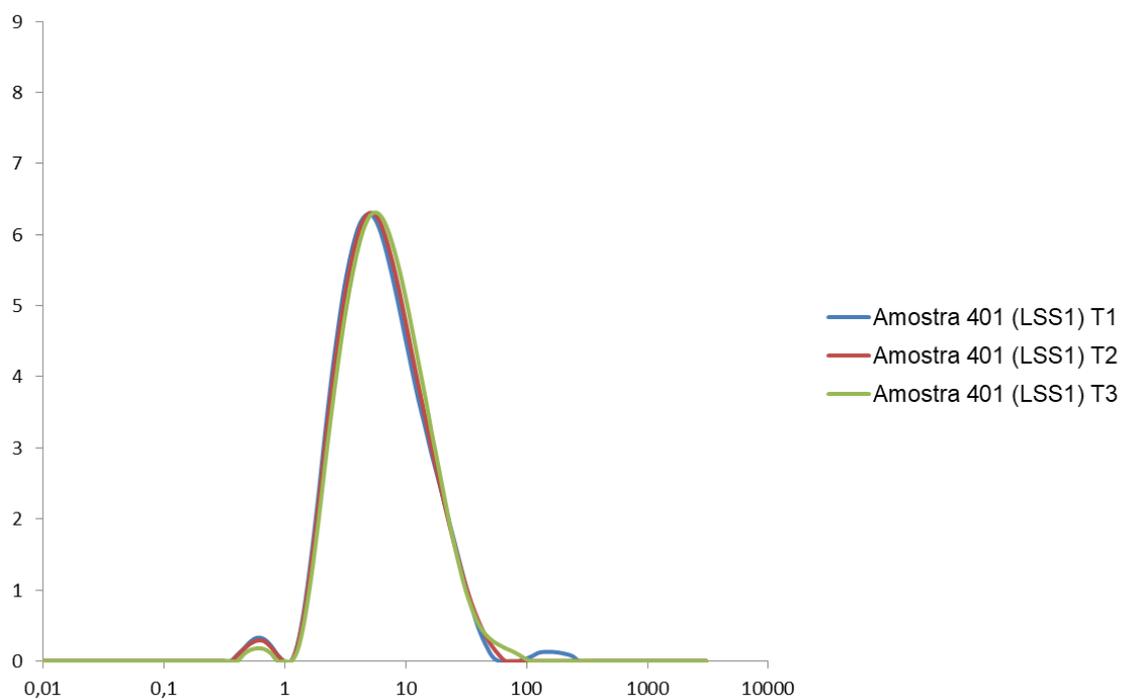
As leituras das amostras estão representadas nas figuras 30 - 36, além disso, os resultados dos parâmetros de d10, d50, d90, d97 e spam estão representados na tabela 9.

Figura 30 - Leitura da amostra 400 em triplicata



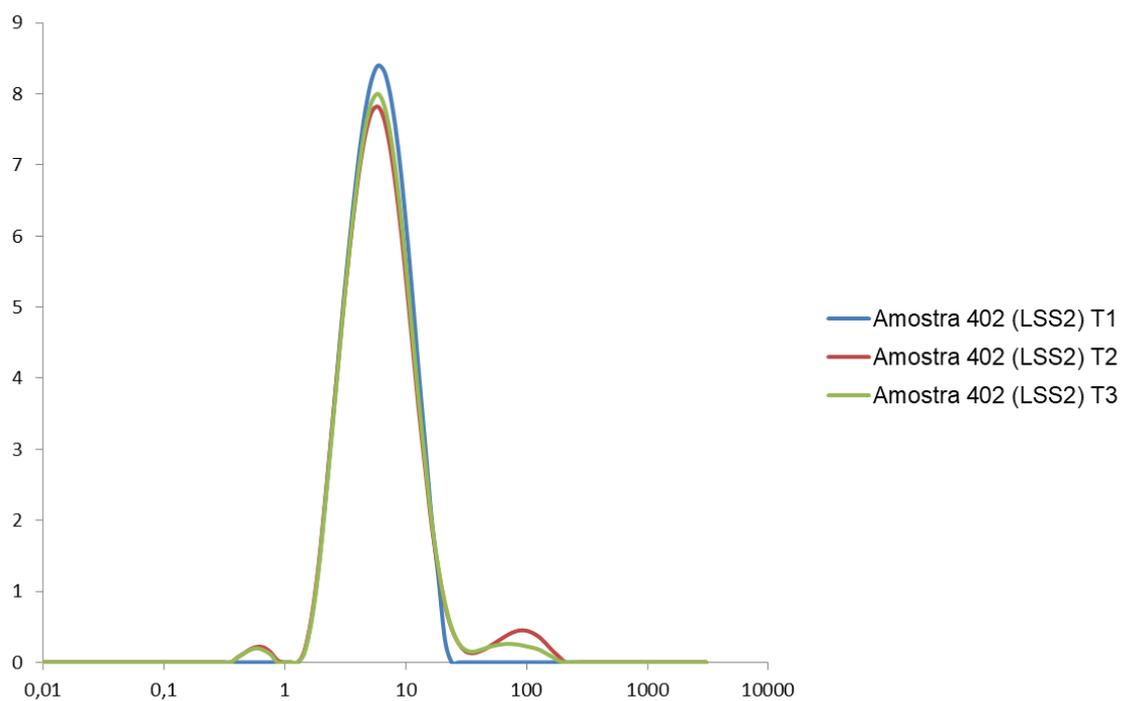
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 31 - Leitura da amostra 401 em triplicata



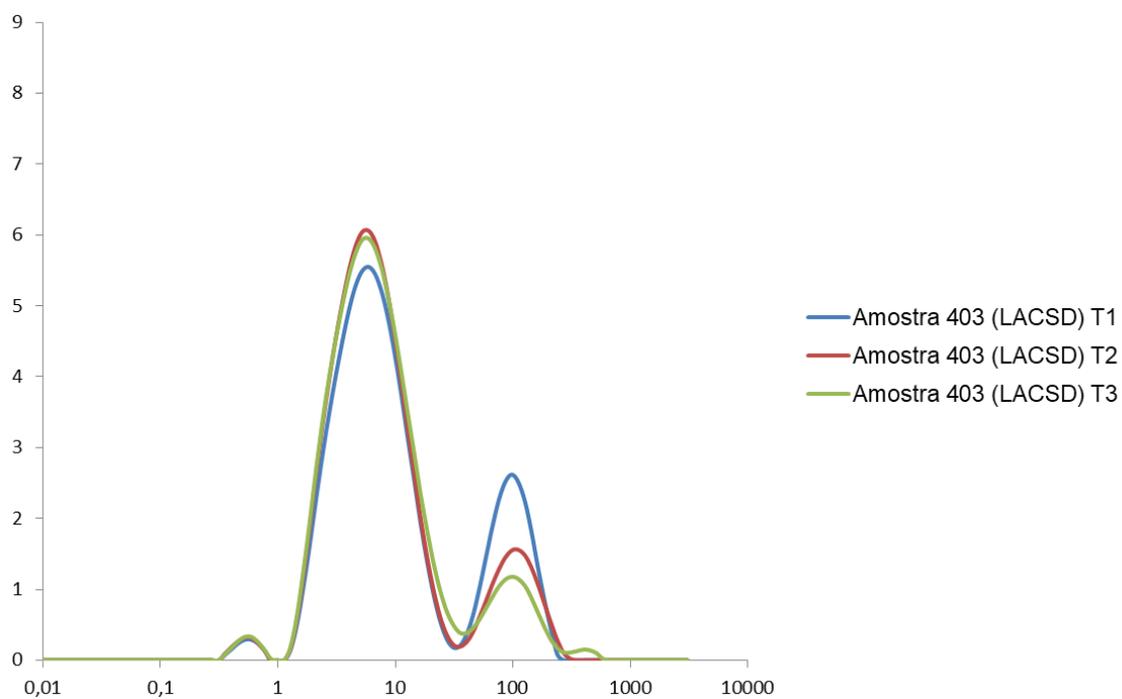
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 32 - Leitura da amostra 402 em triplicata



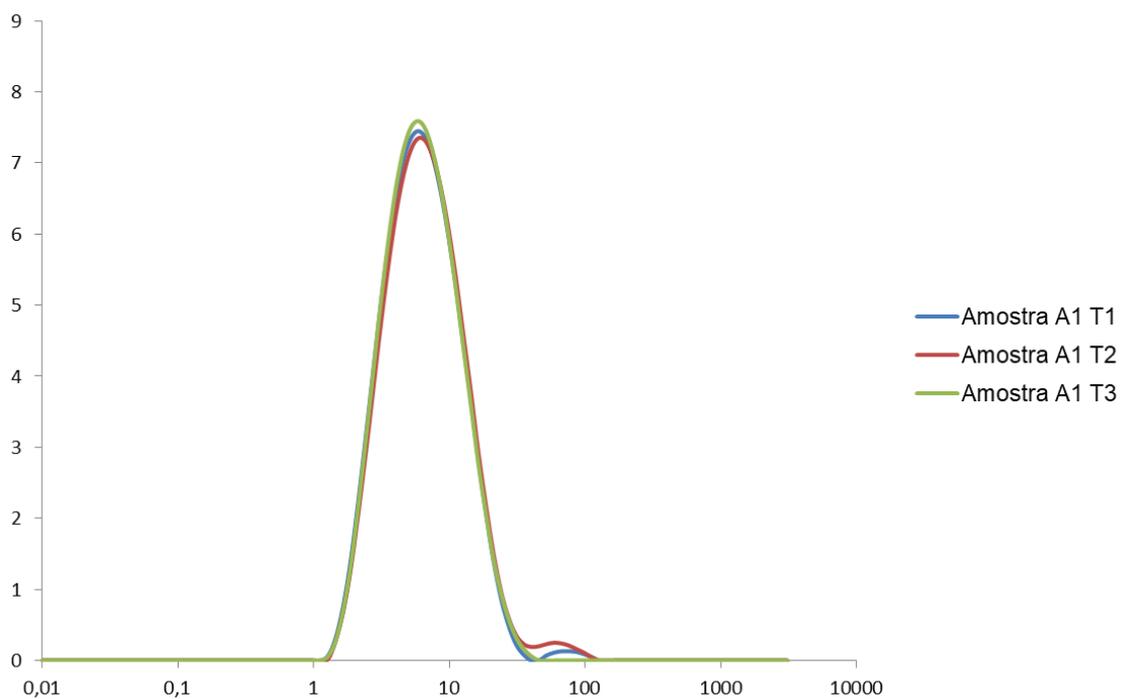
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 33 - Leitura da amostra 403 em triplicata



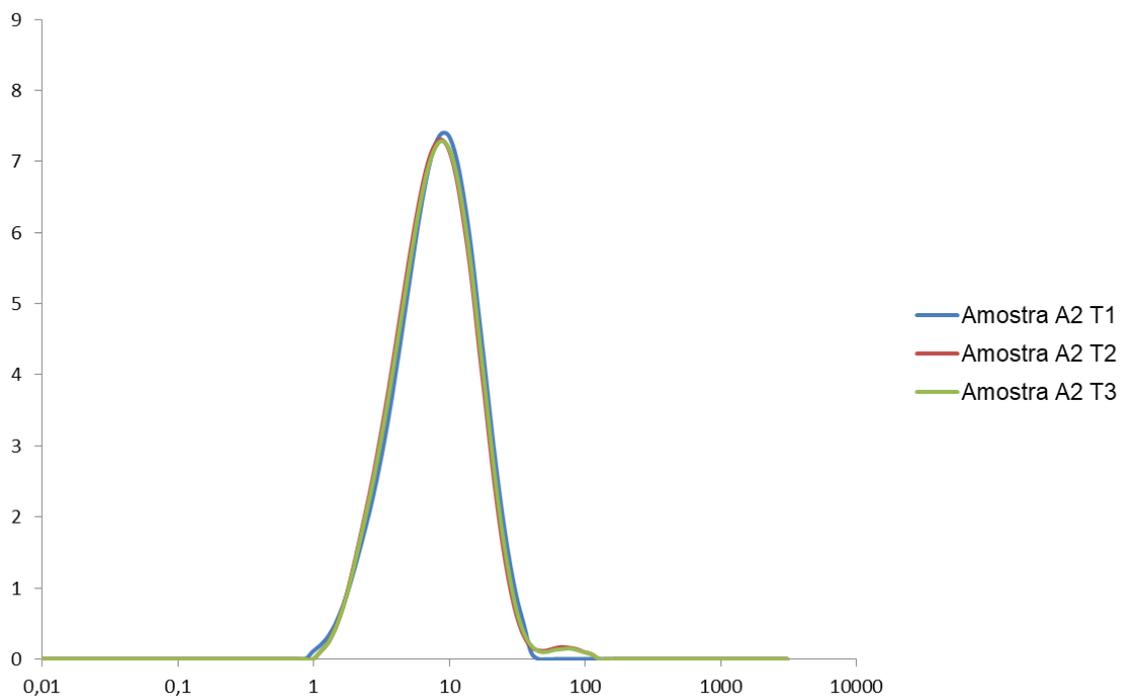
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 34 - Leitura da amostra A1 em triplicata



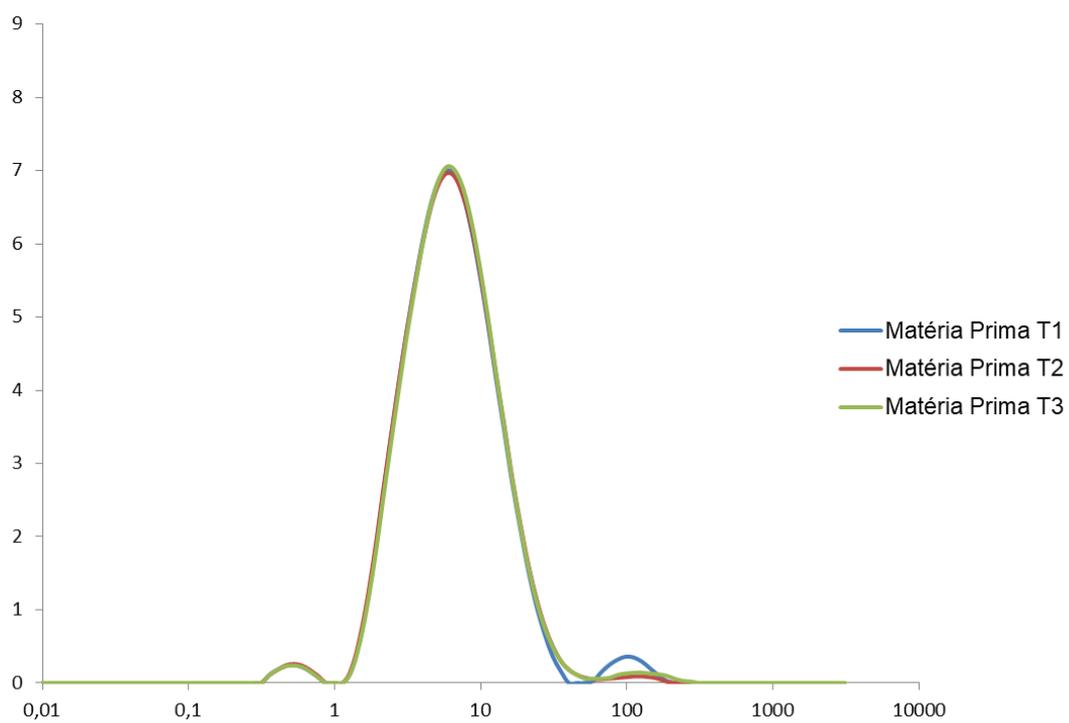
Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 35 - Leitura da amostra A2 em triplicata



Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Figura 36 - Leitura da matéria prima em triplicata



Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Tabela 9 - análise em triplicata de todas as amostras

Compilado dos resultados					
Amostra	D10	D50	D90	D97	Spam
A1					
T1	2,930	6,580	15,600	22,700	1,877
T2	3,020	6,850	16,700	26,700	1,914
T3	2,970	6,560	15,400	22,100	1,921
A2					
T1	3,330	8,830	19,900	27,200	1,928
T2	3,270	8,430	19,400	28,200	1,991
T3	3,290	8,580	19,800	28,600	1,898
400					
T1	2,800	10,100	114,000	177,000	11,009
T2	2,630	8,880	29,600	101,000	3,031
T3	2,540	8,110	23,700	55,500	2,613
401					
T1	2,470	6,220	20,000	32,500	2,816
T2	2,530	6,380	19,700	31,500	2,684
T3	2,680	6,780	20,300	33,600	2,593
402					
T1	2,980	6,300	13,000	17,000	1,592
T2	2,890	6,350	15,600	66,800	2,006
T3	2,920	6,350	14,800	28,400	1,868
403					
T1	2,750	7,870	108,000	160,000	13,332
T2	2,600	6,940	87,600	160,000	12,257
T3	2,570	6,950	63,600	149,000	8,781
IFA					
T1	2,690	6,530	17,000	28,900	2,183
T2	2,730	6,600	16,900	27,600	2,148
T3	2,660	6,520	16,700	26,200	2,146

O teste feito em triplicata verdadeira obedecendo todos os requisitos que foram determinados ao longo do presente estudo se mostrou adequado e observa-se leituras com triplicatas com valores próximos (Tabela 9), o que demonstra robustez do método desenvolvido, sendo ele capaz de mensurar 6 amostras com o composto base EFV e sua matéria prima.

Avaliando o valor de D50, observasse que a amostra A1 demonstra distribuição de tamanho significativamente menor que a amostra A2 (tabela 9 e anexo A tabela 11). Por outro lado, avaliando D90, tal diferença já não se torna

mais significativa. Entretanto, considerando que o D50 é um parâmetro representativo da amostra, sendo referente a 50% da população total, pode-se considerar que a amostra A1 apresenta distribuição de tamanho menor que a A2. Assim, pode-se considerar que a troca de pérola pode ter sido desfavorável para o processo, ou, ainda, que no processo de secagem, a amostra A2 tenha sofrido mais com a aglomeração e, essas partículas maiores representam partículas secundárias, que são aglomerados de partículas menores.

Comparando as amostras de moinho com as comicronizadas, observa-se que a amostra A1 apresenta-se significativamente menor do que as amostras 400 na avaliação de D50 e D90 (tabela 9), fato comprovado pela aplicação da ANOVA (anexo A tabela 11) e também significativamente menor do que a amostra 403 na avaliação de D90 (tabela 9). Por outro lado, a amostra A2 mostrasse significativamente maior que as amostras 401, 402 e 403 (tabela 9). Dessa forma, observa-se que a amostra A1 apresenta bons resultados de tamanho nas duas comparações, ao ponto que a A2 apresenta resultados menos favoráveis. Entretanto, para a segunda, o fato da presença de aglomerados pode ser uma explicação. Para tal avaliação, são necessárias avaliações por microscopia.

Avaliando dentro da família das comicronizadas, observa-se que a amostra 400 mostra-se significativamente maior que as demais no parâmetro de D50 (tabela 9), fato que não ocorre quando avaliado o D90. Entretanto, dado a significância do D50, pode-se considerar que a 400 apresenta-se significativamente maior que as demais. Avaliando D90, observa-se que a 403 mostrasse significativamente maior que a 401 e 402, assim, as amostras comicronizadas que apresentam os melhores resultados de tamanho são as 401 e 402.

Avaliando o IFA frente as demais, observa-se no parâmetro de D50 que as amostras A2 e 400 apresentam tamanho maiores que o mesmo (tabela 9). Em relação a amostra A2, isso pode ser explicado devido a formação dos aglomerados formados na secagem, entretanto, para a 400, o resultado é provavelmente mais próximo do verdadeiro. Quando avaliasse D90, observa-se que o IFA apresenta-se significativamente menor que a 403.

Portanto, pode-se concluir que as amostras que apresentaram melhores resultados de tamanho, sendo estatisticamente iguais, são A1, 401 e 402.

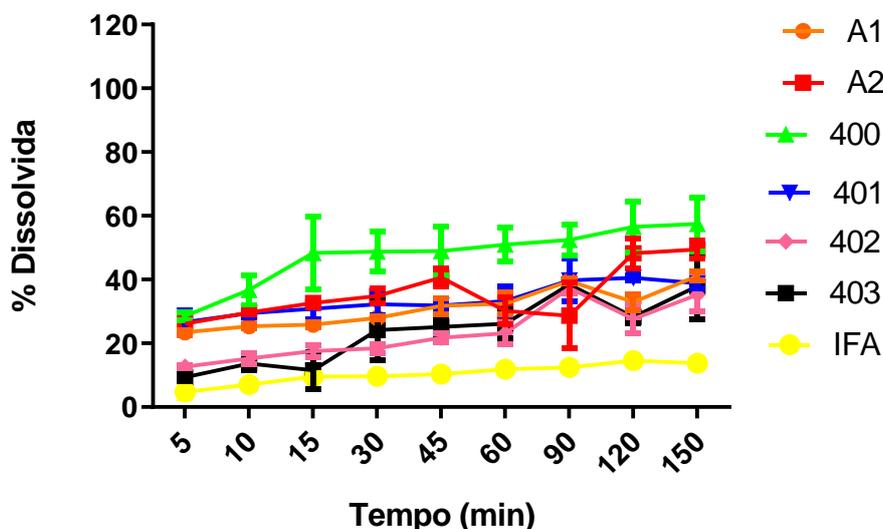
5.2 RESULTADOS DA DISSOLUÇÃO

5.2.1 RESULTADOS DOS TESTES DO MÉTODO

Sabendo que a composição do meio impacta na solubilidade da amostra e velocidade de dissolução, nesse trabalho foram testados meios com diferentes concentrações de LSS, a fim de compará-los quanto a sua eficiência e capacidade discriminativa. O surfactante escolhido para compor o meio foi o LSS devido às suas características importantes de diminuição da tensão interfacial sólido – líquido, capaz, assim, de aumentar a molhabilidade das partículas dispersas. Observa-se na Figura 37 que a dissolução no meio 0,1% m/v foi inadequada, visto que não há um perfil de dissolução característico. Nesse meio, observa-se que a amostra 400 apresenta taxas maiores de dissolução do que as amostras micronizadas em moinho de pérolas. Essa, entretanto, possui tamanho de partícula consideravelmente maior do que as demais (Tabela 9, Tabela 12 do anexo B). No anexo B tabela 12, que demonstra a ANOVA com aplicação do teste Tukey da dissolução no meio LSS 0,1% m/v, observa-se que houve diferenças significativas entre a maioria das amostras, entretanto, devido a flutuação das taxas ao longo do tempo, não é possível discriminá-las utilizando esse meio. Além disso, a amostra A2 apresenta uma queda da taxa de dissolução após 45 minutos, que dura até 90 minutos de análise como é possível observar na figura 37, o qual apresentou, ainda, um desvio padrão maior que 19% (anexo D tabela 16). Segundo o que informa a RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010, nesse ponto já não são mais aceitáveis desvios maiores do que 10%. Tal fato também pode ser observado no tempo de 150 minutos para a amostra 403, a qual mostra desvio padrão maior que 10% (anexo D tabela 16). Ainda, para todas, os desvios padrões foram maiores do que em ensaios nos meios 0,25% (p/v) e 0,5% (p/v) (anexo D). Outra questão importante que desclassifica esse meio é a não existência de um platô, que, segundo a RDC nº 31 de 11 de agosto de 2010, deve existir

para uma dissolução ser considerada representativa, evidenciando, dessa forma, a inadequabilidade do mesmo. Portanto, na análise do perfil de dissolução e dos dados estatísticos, observa-se que o meio composto de LSS 0,1%*m/v* mostrou-se inadequado. Avaliando a eficiência de dissolução, percebe-se que, quando comparados aos outros meios, os valores baixos também desclassificam esse meio. Assim, observa-se que o meio com mais baixa concentração de LSS não foi adequado na análise das amostras.

Figura 37 - Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,1%*m/v*.



Fonte: elaborado pelo autor (2022)

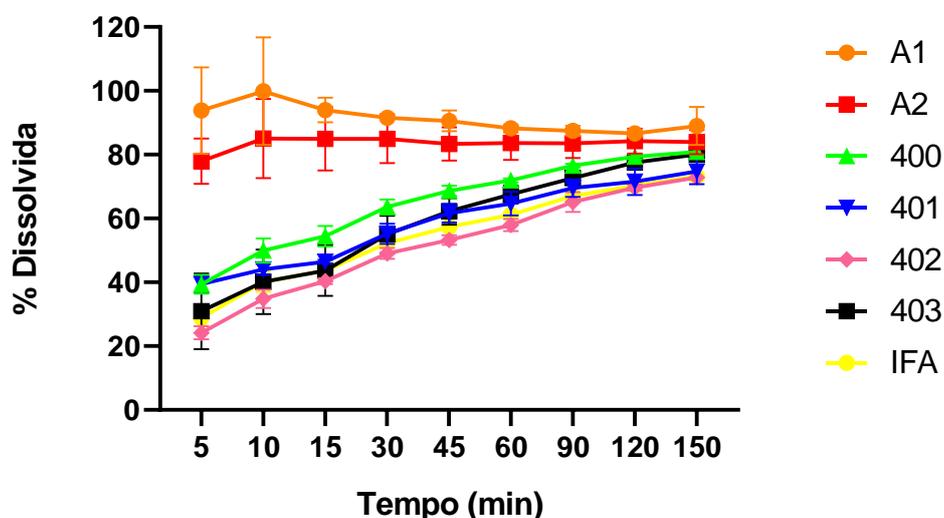
Tabela 10 - Eficiência da dissolução das amostras calculada através do cálculo de área sobre a curva

Eficiência de dissolução das amostras nos três meios de ensaio							
Meios LSS	A1 (%)	A2 (%)	400 (%)	401 (%)	402 (%)	403 (%)	IFA (%)
0,10%	32,78 ± 1,12	37,40 ± 4,11	50,34 ± 4,60	35,26 ± 2,06	26,13 ± 1,08	27,53 ± 2,42	11,56 ± 0,34
0,25%	87,89 ± 1,62	82,44 ± 5,46	59,82 ± 0,42	62,95 ± 2,58	57,82 ± 1,42	65,19 ± 3,07	60,14 ± 0,30
0,50%	90,79 ± 0,73	99,06 ± 1,25	80,49 ± 2,85	77,75 ± 0,43	85,49 ± 2,05	86,24 ± 2,37	82,09 ± 2,10

Na Figura 38, observa-se o perfil de dissolução das amostras no meio LSS 0,25% *m/v*. Nesse foi possível diferenciar todas as amostras comicronizadas daquelas produzidas em moinho de pérolas até o período de 45 minutos (anexo B, Tabela 13). A partir de 60 minutos, não houve diferença

significativa entre as amostras A2 e 400, o mesmo foi observado entre a A2 e 403 a partir do período de 90 minutos. Com 120 minutos de análise, a diferença entre a amostra A1 e 400 e A1 e 402 também foi perdida. Ao final do processo, houve diferença significativa apenas entre as amostras A1 e 401 e A1 e 402. Dessa maneira, observa-se que o meio em teste mostrou-se adequado na discriminação entre as amostras de moinho de pérolas e as comicronizadas. Além disso, podemos inferir que as amostras de menor diâmetro conseguem ser liberadas de forma mais rápida que as amostras comicronizadas. No entanto, ao fim de 150 min (anexo D tabela 17) a taxa de liberação foi a mesma. Avaliando a eficiência entre as duas famílias de amostras (tabela 10), observa-se que as amostras A1 e A2 mostrou-se com valor mais elevado, demonstrando taxas mais elevadas de dissolução. Assim, observa-se ainda que as amostras de moinho de pérolas, como esperado, são amostras mais adequadas que as comicronizadas.

Figura 38 - Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,25%*m/v*



Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Nota-se na tabela 9 que não há diferença significativa de distribuição de tamanho entre as amostras A1 e A2 e as comicronizadas no parâmetro de D90, entretanto, avaliando o D50, a amostra A2 mostrasse significativamente maior que as comicronizadas, salvo a 400, que apresentam tamanhos similares. Apesar disso, essa apresenta taxa e velocidade de dissolução mais altas do que as processadas por comicronização. Tal fato pode ser explicado pelo

método de secagem da amostra A2, como supradito, que foi feita por spray dryer, método o qual causa uma grande aglomeração das partículas (MALAMATARI *et al.*, 2020). Assim, na verdade, as partículas lidas por difração a laser podem representar as secundárias, formada pelas primárias agregadas. Portanto, a amostra A2 pode ser virtualmente menor do que as comicronizadas e, devido a isso, apresentar velocidade de dissolução menor e eficiência máxima de dissolução maior. Já a A1 mostra-se significativamente menor do que a 400, entretanto, não há diferença de tamanho com as amostras 401, 402 e 403 (Tabela 9). Apesar de apresentarem tamanhos iguais, A1 mostrasse com maior velocidade de dissolução do que as comicronizadas. Assim como a A2, a A1 também foi seca por spray dryer e suas partículas podem ser compostas por aglomerados de nanocristais e, assim, a A1 pode também ser virtualmente menor do que as comicronizadas, apresentando, portanto, maior velocidade. Portanto, observa-se que as amostras A1 e A2 apresentaram resultados De dissolução mais rápidos do que as comicronizadas.

Avaliando as amostras de moinho de pérolas frente ao IFA, observa-se na figura 38 que as A1 e A2 apresentam % de EFV dissolvido significativamente maiores em todos os pontos (anexo D tabela 17). Observando a tabela 9 e o a análise estatística (anexo A tabela 11), percebe-se que não foram observadas diferenças de tamanho entre a amostra A1 e o IFA, ao ponto que a A2 mostra-se significativamente maior do que a matéria prima. Entretanto, uma vez que o EFV é um fármaco praticamente insolúvel em água e com baixa molhabilidade, o mesmo não se permite molhar e possui baixa solubilidade de saturação e como consequência baixa dissolução. Além disso, os aglomerados formados por nanocristais pelas amostras A1 e A2 também podem explicar essa maior velocidade de dissolução. Assim, apesar de A1 apresentar tamanho igual e A2 ser significativamente maior que o IFA, as amostras processadas apresentam melhores resultados de dissolução.

Pondo frente o IFA e as amostras processadas por comicronização, não são observadas diferenças significativas de dissolução. O mesmo é observado para a distribuição de tamanho, onde há apenas poucas diferenças entre algumas amostras, que podem ser observadas na tabela 9 e no anexo A tabela 11. Assim, constata-se que, mesmo com a utilização dos agentes surfactantes,

não são percebidos ganhos na dissolução. Portanto, o meio não foi capaz de diferenciá-las.

Comparando dentro das amostras processadas por moinho de pérola, o meio diferenciou A1 e A2 durante apenas os primeiros 10 minutos de análise, onde para a amostra A1 a velocidade foi significativamente maior (tabela 13 anexo B para avaliação da aplicação do ANOVA e tabela 17 anexo D para avaliação das % de dissolução ponto a ponto). Entre as duas amostras, era possível esperar esse resultado, visto que, como mostra a tabela 9, a amostra A2, apesar de apresentar a mesma formulação, possui parâmetro de D50 significativamente maior (tabela 11 anexo A). Assim, devido a tal fato, era esperado que a amostra A2 apresentasse uma velocidade de dissolução mais lentificada (MÜLLER; GOHLA; KECK, 2011). Portanto, entre as duas amostras produzidas por moinho de pérolas, a A1 foi a que apresentou resultados mais adequados de dissolução.

Já para as comicronizadas, o meio apresentou capacidade de diferenciação apenas entre as amostras 400 e 402, até o período de 60 minutos, no qual a amostra 400 apresentou significativa maior velocidade de dissolução do que a 402. Para as demais, não houveram diferenças significativas. Tais resultados podem ser acompanhados através da figura 38 que mostra todas as taxas de dissolução supraditas. Avaliando apenas o tamanho, tal resultado não era esperado, visto que essa amostra mostrou-se significativamente maior do que a 402, entretanto, como os estabilizantes são diferentes (para 400, PVP e 402, LSS), não pode apenas ser levado em consideração a distribuição de tamanho.

Dessa maneira, observa-se que o meio LSS 0,25% foi adequado na diferenciação de dissolução na comparação entre as famílias de amostras e o IFA, assim como na análise de A1 e A2. Entretanto, não foi possível avaliar as diferenças entre as amostras comicronizadas.

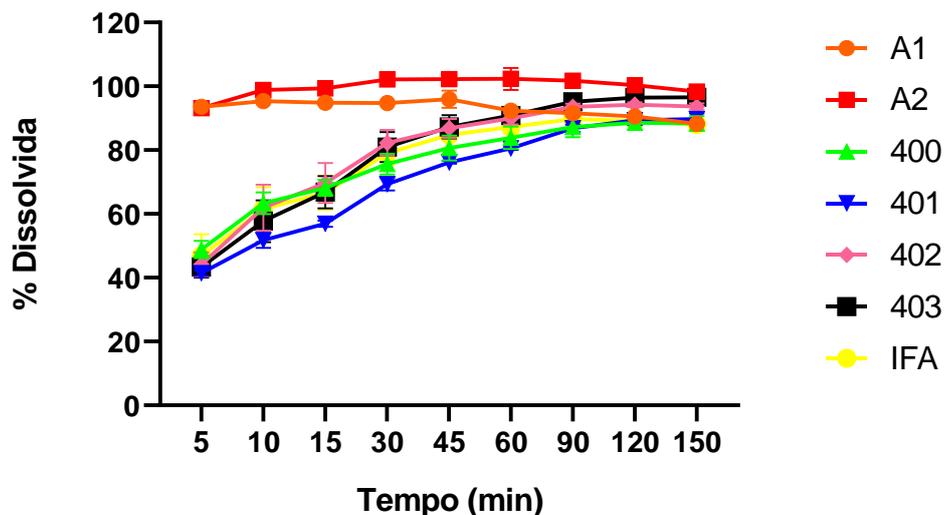
Nesse meio as amostras de moinho de pérolas apresentam maiores dissoluções do que as comicronizadas, como esperados. Assim, as mesmas mostram-se mais adequadas para prosseguimentos em estudos posteriores,

como compressão e avaliação de seus comprimidos. Além disso, dentre essas duas, a A1 apresentou os melhores resultados de dissolução.

Observa-se na tabela 10 que a eficiência de dissolução no meio 0,25 foi substancialmente maior do que no 0,1 para todas as amostras. Dessa forma, tais fatos corroboram para a maior discriminabilidade e qualidade de análise do meio de LSS 0,25%*m/v* quando comparado ao 0,1%*m/v*. Tais resultados eram esperados dado a maior concentração do tensoativo no meio, o que aumenta a molhabilidade das partículas e suas solubilidades de concentração. Ademais, ainda avaliando a eficiência da dissolução, observa-se que as amostras A1 e A2 apresentam-se maiores que as demais, entretanto, seus resultados de eficiência são semelhantes.

Na figura 39, observa-se o perfil de dissolução das amostras no meio 0,5% *m/v*. Fazendo uma avaliação inicial entre as amostras comicronizadas frente as do moinho de pérolas, observa-se que houve diferença estatística entre todas as amostras dos grupos até o período de 60 minutos, quando a discriminação entre A1 e 402 e A1 e 403 são perdidas (anexo B tabela 14). A partir do período de 90 minutos, as diferenças começam a se perder. Entretanto, avaliando seus respectivos tamanhos, a A2 mostra-se significativamente maior do que as comicronizadas 401, 402 e 403. Dessa forma, sua maior taxa e velocidade de dissolução pode estar atrelados aos aglomerados de nanocristais formados. Portanto, o resultado acompanha o encontrado no meio de LSS 0,25% *m/v*.

Figura 39 Comparação do perfil de dissolução de todas as amostras no meio LSS 0,5% (m/v)



Fonte: elaborada pelo autor (2022)

Analisando as amostras A1 e A2, diferenças significativas só são alcançadas no tempo de aproximadamente 30 minutos, isso porque a amostra A1 apresenta uma queda considerável no perfil de dissolução, tendo, ao final do ensaio, % dissolvida igual ou invertida com a observada inicialmente (anexo D tabela 19). Na verdade, ao final do ensaio, a % dissolvida para as amostras 401 e 403 foi maior que a amostra A1, ou seja, o inverso do observado inicialmente, ao ponto que a 400, 402 e IFA apresentaram-se iguais estatisticamente (resultados estatísticos podem ser observados no anexo B tabela 14 e os dados brutos de % dissolvida no anexo D tabela 19). Tal resultado pode ser explicado por uma possível precipitação da amostra A1 no meio, além de uma possível degradação de EFV no meio na análise da amostra A1. Portanto, observa-se que o meio LSS 0,5% m/v pode apresentar problemas na avaliação da dissolução das amostras devido a sua alta capacidade solubilizante. Observa-se na tabela 10 os resultados de eficiência de dissolução e percebe-se que a amostra A2 possui maior % de eficiência do que a A1, dado esperado, visto que possui pontos de taxas maiores durante todo o ensaio.

Avaliando as amostras comicronizadas, observa-se que o meio foi capaz de discriminar a amostra 401 das 400, 402 e 403 durante todo o período de ensaio. Para a amostra 403 e 402 o perfil de dissolução foi maior em toda a

análise (Figura 36, Tabelas 15,17 e 19 anexo D). Dentre as demais amostras, diferenças significativas foram observadas entre as amostras 400 e 403 a partir dos 90 minutos de análise. Assim as amostras 403 e 402 apresentam-se com melhor perfil de dissolução. A amostra comicronizada que apresenta menor taxa de dissolução é a 400, fato que pode ser relacionado com o tamanho de partícula significativamente maior para essa amostra. Entre as demais, os tamanhos são semelhantes. Fato é comprovado pelo cálculo da eficiência de dissolução, que mostra % maior para as amostras 402 e 403 (tabela 10).

As amostras A1 e A2 mostraram-se com dissolução significativamente maiores do que o IFA, entretanto, devido a possível precipitação da amostra A1 no meio, a partir dos 45 minutos, as mesmas tornam-se iguais (anexo B tabela 14 e figura 39). Porém, tal fato, como supradito, ocorre devido a uma provável inadequação do meio. Entretanto, é possível observar que as amostras mostram-se com desempenhos de dissolução mais adequados, como esperado. Não são observadas diferenças de distribuição de tamanho entre a amostra A1 e IFA, entretanto, quando comparado com A2, o IFA mostrasse significativamente menor. A explicação da dissolução maior para a amostra A2 pode ser a mesma relacionada ao meio anterior.

Avaliando o IFA frente as comicronizadas, o mesmo mostrasse com dissolução maior quando comparada com a amostra 401. Entretanto, em relação a 403, o inverso é observado, onde a mesma apresenta resultados mais adequados. Portanto, não são observadas diferenças diretas entre a família das comicronizadas e o IFA (anexo B tabela 19). Porém, observasse resultado mais adequado para a 403. O calculo de eficiência de dissolução mostra resultados mais adequados para a amostra 402 e 403 frente ao IFA, concordando com resultados anteriores (tabela 10).

Avaliando as amostras dentro dos respectivos meios, observa-se que, como esperado, o meio LSS 0,5% m/v apresentou taxas e eficiência de dissolução maiores para todas as amostras, exceto para a A1, que não houve diferença significativa com o meio 0,25% m/v (anexo B, tabelas 12, 13 e 14 e anexo C figuras 40 – 46). Esse resultado era previsto, uma vez que o tensoativos possui capacidade de diminuição da tensão interfacial e, quanto

maior sua concentração, maior será a prevalência dessa diminuição e o aumento da molhabilidade das partículas (MERISKO-LIVERSIDGE; LIVERSIDGE; COOPER, 2003).

6 CONCLUSÃO

As amostras A1 e A2 mostram-se significativamente menores do que a amostra 403, entretanto, tais diferenças não são observadas nas demais comparações. Além disso, o IFA também demonstra a mesma característica, sendo menor que a 403. Entretanto, ao avaliar o parâmetro de D50, observa-se que as amostras A2 e 400 mostram-se maiores que as demais amostras. Sugere-se que o fato de A2 apresentar tamanho maior seja devido ao fenômeno da aglomeração. Dessa forma, as amostras que mostram os menores tamanhos de partícula são a A1, 401 e 402.

Além disso, observa-se os meios LSS 0,25% m/v, 0,5% m/v são adequados para a análise das amostras, entretanto, o meio LS 0,25% m/v mostrou-se mais adequado para o ensaio das amostras produzidas no moinho de pérolas A1 e A2. Já o meio LSS 0,5% m/v mostrou-se mais adequado na análise da família das amostras comicronizadas. O meio LSS 0,1% (m/v) não apresentou resultados positivos, e, portanto, as análises nesse meio não foram consideradas.

Por conclusão, foi possível observar que as amostras que apresentaram os melhores resultados foram A1, 402 e 403, entretanto, A1 se destaca dado seus altos níveis de dissolução e tamanho. Portanto, é a mais adequada para prosseguimento em estudos posteriores.

REFERÊNCIAS

A KHAN, K. The concept of dissolution efficiency. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 48-49, jan. 1975. Oxford University Press (OUP). <http://dx.doi.org/10.1111/j.2042-7158.1975.tb09378.x>.

AHN, C. K. et al. Soil washing using various nonionic surfactants and their recovery by selective adsorption with activated carbon. *Journal of Hazardous Materials*, v. 154, n. 1–3, p. 153–160, 15 jun. 2008.

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

AL-KASSAS, R.; BANSAL, M.; SHAW, J. Nanosizing techniques for improving bioavailability of drugs. **Journal of Controlled Release**, Auckland, v. 260, p. 202–212, 28 ago. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.06.003>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168365917306430?via%3Di> hub. Acesso em: 24 agosto 2021

ANTON PAAR. **Laser diffraction for particle sizing**. Disponível em: <https://wiki.anton-paar.com/br-pt/difracao-a-laser-para-medicao-de-tamanho-de-particulas/>. Acesso em: 15 abr. 2022.

BARBOSA, S. F. **Nanocristais de furosemida: preparação, caracterização físico-química e avaliação in silico de absorção oral e pulmonar**. 2014. 156 f. Tese (Doutorado) - Curso de Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos, Usp, São Paulo, 2014.

BEDOR, D. C. G.; **Avaliação biofarmacotécnica do Efavirenz um fármaco de classe II**. 2011. 179 f. Tese (Doutorado) - Curso de Farmácia, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2011

BLOTT, S. J. et al. Particle size analysis by laser diffraction. *Geological Society Special Publication*, v. 232, p. 63–73, 2004.

BLOTT, Simon J. *et al.* Particle size analysis by laser diffraction. **The Geological Society Of London**, London, , n. 232, p. 63-73, dez. 2004.

BOSE, S. *et al.* Application of spray granulation for conversion of a nanosuspension into a dry powder form. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, East Hanover, v. 47, n. 1, p. 35–43, 30 ago. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2012.04.020>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098712001893?via%3Di> hub. Acesso em: 22 agosto 2021

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução-RDC nº 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. Diário Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília, DF, 12 ago. 2010.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília : Ministério da Saúde, 2018. 412 p. : il. ISBN 978-85-334-2640-5

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Infecções Sexualmente Transmissíveis, do HIV/Aids e das Hepatites Virais. – Brasília. Ministério da Saúde, 2013

CARVALHO, Luciano Mourão Nascimento de. **RESISTÊNCIA SEGUNDÁRIA AOS ANTIRRETROVIRAIS UTILIZADOS PARA TRATAMENTO EM PACIENTES COM HIV/AIDS: perfil da genotipagem em pacientes atendidos no Instituto de Doenças Tropicais Natan Portela (IDTNP) - Teresina (PI)**. 2015. 68 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Tropical, Fiocruz, Teresina, 2015.

CERDEIRA, A. M.; MAZZOTTI, M.; GANDER, B. Formulation and drying of miconazole and itraconazole nanosuspensions. **International Journal of Pharmaceutics**, Switzerland, v. 443, n. 1–2, p. 209–220, 25 fev. 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2012.11.044>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517312010514?via%3Dihub>. Acesso em: 30 agosto 2021

CEZAR, Vagner Mendes; DRAGANOV, Patricia Bover. A História e as Políticas Públicas do HIV no Brasil sob uma Visão Bioética. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, Campo Grande, v. 18, n. 3, p. 151-156, jan. 2014. Disponível em: <https://revista.pgskroton.com/index.php/ensaioeciencia/article/view/1146>. Acesso em: 26 ago. 2021.

CHENG, K. Y.; WONG, J. W. C. Combined effect of nonionic surfactant Tween 80 and DOM on the behaviors of PAHs in soil–water system. *Chemosphere*, v. 62, n. 11, p. 1907–1916, 1 mar. 2006.

CHIAPPETTA, D. A. *et al.* N-alkylation of poloxamines modulates micellar assembly and encapsulation and release of the antiretroviral efavirenz. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, [S.l.], v. 76, n. 1, p. 24–37, 1 set. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.05.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641110001438?via%3Dihub>. Acesso em: 28 agosto 2021

ESHEL, G *et al.* Critical Evaluation of the Use of Laser Diffraction for Particle-Size Distribution Analysis. **Soil Science Society Of America**, Madison, , n. 68, p. 736-743, dez. 2004.

ETZLER, F. M.; DEANNE, R. Particle size analysis: A comparison of various methods II. Particle and Particle Systems Characterization, v. 14, n. 6, p. 278–282, 1997.

ETZLER, Frank M.. Particle Size Analysis: A Comparison of Various Methods 11. **Wiley-Vch**, Wemheim, v. 0, n. 14, p. 278-282, 18 set. 1997.

FOERTER-BARTH, U.; TEIPEL, U. Characterization of particles by means of laser light diffraction and dynamic light scattering. *Developments in Mineral Processing*, v. 13, n. C, p. C1-1, 1 jan. 2000.

FONTANA, Flavia; FIGUEIREDO, Patrícia; ZHANG, Pei; HIRVONEN, Jouni T.; LIU, Dongfei; SANTOS, Hélder A.. Production of pure drug nanocrystals and nano co-crystals by confinement methods. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [S.L.], v. 131, p. 3-21, jun. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2018.05.002>.

HENNART, S. L. A. *et al.* Study of the process of stirred ball milling of poorly water soluble organic products using factorial design. **Powder Technology**, [S.l.], v. 198, n. 1, p. 56–60, 20 fev. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.powtec.2009.10.014> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0032591009005749>. Acesso em: 08 agosto 2021.

HOFFMEISTER, C. R. D. *et al.* Efavirenz dissolution enhancement III: Colloid milling, pharmacokinetics and electronic tongue evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Rio de Janeiro, v. 99, p. 310–317, 1 mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2016.12.032>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098716305723?via%3Dihub>. Acesso em: 12 agosto 2021

HONÓRIO, T. DA S. *et al.* In Vitro–In Vivo Correlation of Efavirenz Tablets Using GastroPlus®. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 3, p. 1244–1254, 14 ago. 2013.
DOI: 10.1208/s12249-013-0016-4
Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3755163/>.
Acesso em: 26 agosto 2021

JUHNKE, M.; MÄRTIN, D.; JOHN, E. Generation of wear during the production of drug nanosuspensions by wet media milling. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Basel, v. 81, n. 1, p. 214–222, 1 maio 2012.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.01.005>
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641112000069>. Acesso em: 17 agosto 2021

KUNTSCHKE, J.; KLAUS, K.; STEINIGER, F. Size determinations of colloidal fat emulsions: A comparative study. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, v. 5, n. 4, p. 384–395, ago. 2009.

Laser diffraction for particle sizing:: Anton Paar Wiki. Disponível em: <<https://wiki.anton-paar.com/br-pt/difracao-a-laser-para-medicao-de-tamanho-de-particulas/>>. Acesso em: 21 maio. 2022.

LEE, J. *et al.* Amphiphilic amino acid copolymers as stabilizers for the preparation of nanocrystal dispersion. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Seoul, v. 24, n. 5, p. 441–449, 1 abr. 2005.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2004.12.010>
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098705000278?via%3Dihub>. Acesso em: 23 agosto 2021

LI, M. *et al.* Sub-100 nm drug particle suspensions prepared via wet milling with low bead contamination through novel process intensification. **Chemical Engineering Science**, Newark, v. 130, p. 207–220, 7 jul. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ces.2015.03.020>
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S000925091500192X>. Acesso em: 24 agosto 2021

LOH, Z. H.; SAMANTA, A. K.; SIA HENG, P. W. Overview of milling techniques for improving the solubility of poorly water-soluble drugs. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, Singapore, v. 10, n. 4, p. 255–274, 1 jul. 2015.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2014.12.006>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1818087615000100>. Acesso em: 24 agosto 2021

MACH, H. et al. Ultraviolet Absorption Spectroscopy. *Methods in molecular biology* (Clifton, N.J.), v. 40, p. 91–114, 1995.

MALAMATARI, Maria *et al.* Spray Drying for the Preparation of Nanoparticle-Based Drug Formulations as Dry Powders for Inhalation. **Processes**, Londres, v. 8, n. 7, p. 788, 6 jul. 2020. MDPI AG. <http://dx.doi.org/10.3390/pr8070788>.

MALVERN. **Mastersizer 3000 User Manual**. v. 2.1. United Kingdom, 2013

MERISKO-LIVERSIDGE, E.; LIVERSIDGE, G. G.; COOPER, E. R. Nanosizing: a formulation approach for poorly-water-soluble compounds. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Pensilvania, v. 18, n. 2, p. 113–120, 1 fev. 2003.

DOI: [https://doi.org/10.1016/S0928-0987\(02\)00251-8](https://doi.org/10.1016/S0928-0987(02)00251-8).
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0928098702002518>. Acesso em: 25 agosto 2021

MÜLLER, R. H.; GOHLA, S.; KECK, C. M. State of the art of nanocrystals – Special features, production, nanotoxicology aspects and intracellular delivery. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, Berlin, v. 78, n. 1, p. 1–9, 1 maio 2011.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.01.007>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0939641111000142>. Acesso em: 08 agosto 2021

PARINI, Claudemir José. **ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DO TAMANHO DE PARTÍCULA**. 2003. 129 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências na Área de Tecnologia Nuclear - Materiais., Usp, São Paulo, 2003.

PATRAVALE, V B; A DATE, Abhijit; KULKARNI, R M. Nanosuspensions: a promising drug delivery strategy. **Journal Of Pharmacy And Pharmacology**, Mumbai, v. 56, n. 7, p. 827-840, jul. 2004.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1211/0022357023691>. Disponível em: <https://academic.oup.com/jpp/article/56/7/827/6147330?login=true>. Acesso em: 29 julho 2021

Physicians Desk Reference. 67. ed. Eua: Pdr Network, 2013

PLETCHER, Ben A.; WANG, Ke-Gang; GLICKSMAN, Martin E.. Ostwald ripening in Al–Li alloys: a test of theory. **International Journal Of Materials Research**, Florida, v. 103, n. 11, p. 1289-1293, 1 nov. 2012.

DOI: <http://dx.doi.org/10.3139/146.110777>. Disponível em: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.3139/146.110777/html>. Acesso em: 22 novembro 2020

RABINOW, Barrett E.. Nanosuspensions in drug delivery. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.I.], v. 3, n. 9, p. 785-796, set. 2004. Springer Science and Business Media LLC.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd1494>. Disponível em: https://www.nature.com/articles/nrd1494?type=access_denied. Acesso em: 02 fevereiro 2021

SATHIGARI, Sateeshkumar *et al.* Physicochemical Characterization of Efavirenz–Cyclodextrin Inclusion Complexes. **Aaps Pharmscitech**, [S.L.], v. 10, n. 1, p. 81-87, 16 jan. 2009. Springer Science and Business Media LLC.
<http://dx.doi.org/10.1208/s12249-008-9180-3>.

SERRA, Cristina Helena dos Reis; STORPIRTIS, Sílvia. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, p. 79-88, mar. 2007. FapUNIFESP (SciELO).
<http://dx.doi.org/10.1590/s1516-93322007000100010>

SHYR, Zeenat A.; CHENG, Yu-Shan; LO, Donald C.; ZHENG, Wei. Drug combination therapy for emerging viral diseases. **Drug Discovery Today**, Bethesda, v. , n. , p. 1-10, maio 2021. Elsevier BV.
DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2021.05.008>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359644621002403>. Acesso em: 22 agosto 2021

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F.. Sink conditions do not guarantee the absence of saturation effects. **International Journal Of Pharmaceutics**, Lille, v. 577, p. 119009, mar. 2020. Elsevier BV.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.119009>.

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**, Karlsruhe, v. 55, n. 2, p. 778–785, 1 dez. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2010.09.023>
Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S089684461000313X>. Acesso em: 25 agosto 2021

UNAIDS. **ESTATÍSTICAS MUNDIAIS SOBRE O HIV**. 2021. Disponível em: <https://unaid.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 27 jul. 2021.

WAARD, Hans de; FRIJLINK, Henderik W.; HINRICHS, Wouter L. J.. Bottom-Up Preparation Techniques for Nanocrystals of Lipophilic Drugs. **Pharmaceutical Research**, [S.L.], v. 28, n. 5, p. 1220-1223, 18 nov. 2010.

Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s11095-010-0323-3>.

WU, L.; ZHANG, J.; WATANABE, W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, Mountain View, v. 63, n. 6, p. 456–469, 30 maio 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.001>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X11000172>. Acesso em: 24 agosto 2021

YAO, Q. et al. Improved oral bioavailability of core–shell structured beads by redispersion of the shell-forming nanoparticles: Preparation, characterization and in vivo studies. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 92–100, 1 jan. 2014. DOI <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.037>. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2013.08.037>. Acesso em: 19 agosto 2021

ANEXO A - ANOVA com aplicação de teste Tukey na análise de distribuição de tamanho de partícula

Tabela 11 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação de distribuição de tamanho de partícula das amostras

Aplicação do teste tukey na análise de distribuição de tamanho de partícula			
Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado	
D10			
A1 vs. A2	Sim	0,0031	
A1 vs. 400	Sim	0,0037	
A1 vs. 401	Sim	0,0003	
A1 vs. 402	Não	0,9927	
A1 vs. 403	Sim	0,0024	
A1 vs. IFA	Sim	0,0102	
A2 vs. 400	Sim	<0,0001	
A2 vs. 401	Sim	<0,0001	
A2 vs. 402	Sim	0,001	
A2 vs. 403	Sim	<0,0001	
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001	
400 vs. 401	Não	0,7511	
400 vs. 402	Sim	0,0123	
400 vs. 403	Não	>0,9999	
400 vs. IFA	Não	0,997	
401 vs. 402	Sim	0,0009	
401 vs. 403	Não	0,8729	
401 vs. IFA	Não	0,4324	
402 vs. 403	Sim	0,0077	
402 vs. IFA	Sim	0,0342	
403 vs. IFA	Não	0,979	
D50			
A1 vs. A2	Sim	0,0018	
A1 vs. 400	Sim	0,0003	
A1 vs. 401	Não	0,9974	
A1 vs. 402	Não	0,9684	
A1 vs. 403	Não	0,6902	
A1 vs. IFA	Não	>0,9999	
A2 vs. 400	Não	0,9105	
A2 vs. 401	Sim	0,0007	
A2 vs. 402	Sim	0,0004	
A2 vs. 403	Sim	0,0318	
A2 vs. IFA	Sim	0,0011	
400 vs. 401	Sim	0,0001	
400 vs. 402	Sim	<0,0001	
400 vs. 403	Sim	0,0041	

Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
400 vs. IFA	Sim	0,0002
401 vs. 402	Não	0,9998
401 vs. 403	Não	0,3833
401 vs. IFA	Não	>0,9999
402 vs. 403	Não	0,2376
402 vs. IFA	Não	0,9963
403 vs. IFA	Não	0,5132
D90		
A1 vs. A2	Não	>0,9999
A1 vs. 400	Não	0,2915
A1 vs. 401	Não	>0,9999
A1 vs. 402	Não	>0,9999
A1 vs. 403	Sim	0,0135
A1 vs. IFA	Não	>0,9999
A2 vs. 400	Não	0,3941
A2 vs. 401	Não	>0,9999
A2 vs. 402	Não	>0,9999
A2 vs. 403	Sim	0,0203
A2 vs. IFA	Não	>0,9999
400 vs. 401	Não	0,4031
400 vs. 402	Não	0,2582
400 vs. 403	Não	0,5696
400 vs. IFA	Não	0,3157
401 vs. 402	Não	0,9999
401 vs. 403	Sim	0,0209
401 vs. IFA	Não	>0,9999
402 vs. 403	Sim	0,0116
402 vs. IFA	Não	>0,9999
403 vs. IFA	Sim	0,015
D97		
A1 vs. A2	Não	>0,9999
A1 vs. 400	Sim	0,0116
A1 vs. 401	Não	0,9994
A1 vs. 402	Não	0,9932
A1 vs. 403	Sim	0,0003
A1 vs. IFA	Não	>0,9999
A2 vs. 400	Sim	0,0168
A2 vs. 401	Não	>0,9999
A2 vs. 402	Não	0,9991
A2 vs. 403	Sim	0,0004
A2 vs. IFA	Não	>0,9999
400 vs. 401	Sim	0,025
400 vs. 402	Sim	0,0383
400 vs. 403	Não	0,3621
400 vs. IFA	Sim	0,0162

Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. 402	Não	>0,9999
401 vs. 403	Sim	0,0005
401 vs. IFA	Não	>0,9999
402 vs. 403	Sim	0,0008
402 vs. IFA	Não	0,9988
403 vs. IFA	Sim	0,0003

**ANEXO B – ANOVA com aplicação de teste tukey para as taxas de
dissolução em cada tempo de processamento**

Tabela 12 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,1% (m/v)

Tempo (min)	Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
5	A1 vs. A2	Não	0,9839
	A1 vs. 400	Não	0,9907
	A1 vs. 401	Não	>0,9999
	A1 vs. 402	Sim	0,0017
	A1 vs. 403	Sim	<0,0001
	A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
	A2 vs. 400	Não	0,7237
	A2 vs. 401	Não	0,9591
	A2 vs. 402	Sim	0,0251
	A2 vs. 403	Sim	0,0009
	A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
	400 vs. 401	Não	0,9977
	400 vs. 402	Sim	<0,0001
	400 vs. 403	Sim	<0,0001
	400 vs. IDA	Sim	<0,0001
	401 vs. 402	Sim	0,0009
	401 vs. 403	Sim	<0,0001
	401 vs. IDA	Sim	<0,0001
	402 vs. 403	Não	0,9559
	402 vs. IDA	Não	0,2292
403 vs. IDA	Não	0,8205	
10	A1 vs. A2	Não	0,8573
	A1 vs. 400	Não	0,3411
	A1 vs. 401	Não	>0,9999
	A1 vs. 402	Sim	0,0007
	A1 vs. 403	Sim	<0,0001
	A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
	A2 vs. 400	Sim	0,0146
	A2 vs. 401	Não	0,8799
	A2 vs. 402	Sim	0,0479
	A2 vs. 403	Sim	0,0117
	A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
	400 vs. 401	Não	0,3118
	400 vs. 402	Sim	<0,0001
	400 vs. 403	Sim	<0,0001
	400 vs. IDA	Sim	<0,0001
	401 vs. 402	Sim	0,0008
	401 vs. 403	Sim	0,0001

15

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9991
402 vs. IDA	Não	0,185
403 vs. IDA	Não	0,4321
A1 vs. A2	Não	0,3916
A1 vs. 400	Sim	0,0001
A1 vs. 401	Não	0,9979
A1 vs. 402	Sim	0,0002
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Não	0,748
A2 vs. 402	Não	0,1672
A2 vs. 403	Sim	0,0007
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Sim	<0,0001
400 vs. 403	Sim	<0,0001
400 vs. IDA	Sim	<0,0001
401 vs. 402	Sim	0,0021
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,5623
402 vs. IDA	Não	0,2106
403 vs. IDA	Não	0,9964
A1 vs. A2	Não	0,3708
A1 vs. 400	Sim	0,0011
A1 vs. 401	Não	0,9864
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	0,0265
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Não	0,8511
A2 vs. 402	Não	0,0735
A2 vs. 403	Não	0,9143
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Sim	<0,0001
400 vs. 403	Sim	<0,0001
400 vs. IDA	Sim	<0,0001
401 vs. 402	Sim	0,0012
401 vs. 403	Não	0,1911
401 vs. IDA	Sim	<0,0001

30

45

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
402 vs. 403	Não	0,6103
402 vs. IDA	Não	0,1234
403 vs. IDA	Sim	0,0005
A1 vs. A2	Não	0,1185
A1 vs. 400	Não	0,1644
A1 vs. 401	Não	0,1267
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	0,0002
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Não	>0,9999
A2 vs. 402	Sim	0,0497
A2 vs. 403	Não	0,4348
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Sim	<0,0001
400 vs. 403	Sim	<0,0001
400 vs. IDA	Sim	<0,0001
401 vs. 402	Sim	0,0459
401 vs. 403	Não	0,4165
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,948
402 vs. IDA	Sim	0,0141
403 vs. IDA	Sim	0,0004
A1 vs. A2	Não	0,9936
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Não	0,9676
A1 vs. 402	Não	0,364
A1 vs. 403	Não	0,8938
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Não	>0,9999
A2 vs. 402	Não	0,0903
A2 vs. 403	Não	0,5005
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Sim	<0,0001
400 vs. 403	Sim	<0,0001
400 vs. IDA	Sim	<0,0001
401 vs. 402	Sim	0,0471
401 vs. 403	Não	0,3449
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9729

60

	Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
	402 vs. IDA	Sim	0,0148
	403 vs. IDA	Sim	0,0006
	A1 vs. A2	Não	0,0625
	A1 vs. 400	Sim	<0,0001
	A1 vs. 401	Não	0,0524
	A1 vs. 402	Não	0,2395
	A1 vs. 403	Não	0,1274
	A1 vs. IDA	Sim	0,0005
	A2 vs. 400	Sim	0,0033
	A2 vs. 401	Não	>0,9999
	A2 vs. 402	Não	0,9947
	A2 vs. 403	Não	>0,9999
90	A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
	400 vs. 401	Sim	0,0043
	400 vs. 402	Sim	0,0003
	400 vs. 403	Sim	0,001
	400 vs. IDA	Sim	<0,0001
	401 vs. 402	Não	0,9905
	401 vs. 403	Não	0,9997
	401 vs. IDA	Sim	<0,0001
	402 vs. 403	Não	0,9999
	402 vs. IDA	Sim	<0,0001
	403 vs. IDA	Não	<0,0001
120	A1 vs. A2	Sim	0,0002
	A1 vs. 400	Não	0,1731
	A1 vs. 401	Não	0,2486
	A1 vs. 402	Sim	<0,0001
	A1 vs. 403	Sim	<0,0001
	A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
	A2 vs. 400	Sim	<0,0001
	A2 vs. 401	Não	0,2652
	A2 vs. 402	Não	0,7003
	A2 vs. 403	Não	0,8036
	A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
	400 vs. 401	Sim	<0,0001
	400 vs. 402	Sim	<0,0001
	400 vs. 403	Sim	<0,0001
	400 vs. IDA	Sim	<0,0001
	401 vs. 402	Sim	0,0035
	401 vs. 403	Sim	0,0065
	401 vs. IDA	Sim	<0,0001
	402 vs. 403	Não	>0,9999
	402 vs. IDA	Sim	0,0024

	Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
150	403 vs. IDA	Sim	0,0013
	A1 vs. A2	Não	0,1712
	A1 vs. 400	Não	0,2105
	A1 vs. 401	Sim	0,0297
	A1 vs. 402	Sim	0,0008
	A1 vs. 403	Sim	0,0129
	A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
	A2 vs. 400	Sim	<0,0001
	A2 vs. 401	Não	0,993
	A2 vs. 402	Não	0,5827
	A2 vs. 403	Não	0,9606
	A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
	400 vs. 401	Sim	<0,0001
	400 vs. 402	Sim	<0,0001
	400 vs. 403	Sim	<0,0001
	400 vs. IDA	Sim	<0,0001
	401 vs. 402	Não	0,9378
	401 vs. 403	Não	>0,9999
	401 vs. IDA	Sim	<0,0001
	402 vs. 403	Não	0,9858
402 vs. IDA	Sim	<0,0001	
403 vs. IDA	Sim	<0,0001	

Tabela 13 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,25% (m/v)

Diferença de dissolução no meio LSS 0,25% nos respectivos meios			
Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado	
5			
A1 vs. A2	Sim	0,0028	
A1 vs. 400	Sim	<0,0001	
A1 vs. 401	Sim	<0,0001	
A1 vs. 402	Sim	<0,0001	
A1 vs. 403	Sim	<0,0001	
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001	
A2 vs. 400	Sim	<0,0001	
A2 vs. 401	Sim	<0,0001	
A2 vs. 402	Sim	<0,0001	
A2 vs. 403	Sim	<0,0001	
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001	
400 vs. 401	Não	>0,9999	
400 vs. 402	Sim	0,0051	
400 vs. 403	Não	0,3696	
400 vs. IFA	Não	0,1418	
401 vs. 402	Sim	0,0049	
401 vs. 403	Não	0,3629	
401 vs. IFA	Não	0,1382	
402 vs. 403	Não	0,6473	
402 vs. IFA	Não	0,9079	
403 vs. IFA	Não	0,9989	
10			
A1 vs. A2	Sim	0,0068	
A1 vs. 400	Sim	<0,0001	
A1 vs. 401	Sim	<0,0001	
A1 vs. 402	Sim	<0,0001	
A1 vs. 403	Sim	<0,0001	
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001	
A2 vs. 400	Sim	<0,0001	
A2 vs. 401	Sim	<0,0001	
A2 vs. 402	Sim	<0,0001	
A2 vs. 403	Sim	<0,0001	
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001	
400 vs. 401	Não	0,7751	
400 vs. 402	Sim	0,0055	
400 vs. 403	Não	0,2055	
400 vs. IFA	Não	0,2056	
401 vs. 402	Não	0,2666	
401 vs. 403	Não	0,962	
401 vs. IFA	Não	0,962	

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
402 vs. 403	Não	0,8446
402 vs. IFA	Não	0,8445
403 vs. IFA	Não	>0,9999
15		
A1 vs. A2	Não	0,2968
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Não	0,4389
400 vs. 402	Sim	0,0125
400 vs. 403	Não	0,1195
400 vs. IFA	Não	0,1167
401 vs. 402	Não	0,7463
401 vs. 403	Não	0,9934
401 vs. IFA	Não	0,9928
402 vs. 403	Não	0,9831
402 vs. IFA	Não	0,9842
403 vs. IFA	Não	>0,9999
30		
A1 vs. A2	Não	0,6765
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Não	0,3785
400 vs. 402	Sim	0,0087
400 vs. 403	Não	0,3528
400 vs. IFA	Não	0,0866
401 vs. 402	Não	0,737
401 vs. 403	Não	>0,9999

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. IFA	Não	0,9913
402 vs. 403	Não	0,7626
402 vs. IFA	Não	0,9852
403 vs. IFA	Não	0,9937
45		
A1 vs. A2	Não	0,5566
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	0,0077
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Não	0,6035
400 vs. 402	Sim	0,0043
400 vs. 403	Não	0,6947
400 vs. IFA	Não	0,089
401 vs. 402	Não	0,3799
401 vs. 403	Não	>0,9999
401 vs. IFA	Não	0,94
402 vs. 403	Não	0,3004
402 vs. IFA	Não	0,9507
403 vs. IFA	Não	0,8953
60		
A1 vs. A2	Não	0,9238
A1 vs. 400	Sim	0,002
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Não	0,0662
A2 vs. 401	Sim	0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	0,0022
A2 vs. IFA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Não	0,56
400 vs. 402	Sim	0,0134
400 vs. 403	Não	0,9317
400 vs. IFA	Não	0,1182
401 vs. 402	Não	0,645

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. 403	Não	0,9923
401 vs. IFA	Não	0,9762
402 vs. 403	Não	0,2247
402 vs. IFA	Não	0,9859
403 vs. IFA	Não	0,6998
90		
A1 vs. A2	Não	0,9597
A1 vs. 400	Não	0,1062
A1 vs. 401	Sim	0,0004
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	0,0069
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Não	0,5951
A2 vs. 401	Sim	0,0129
A2 vs. 402	Sim	0,0003
A2 vs. 403	Não	0,1123
A2 vs. IFA	Sim	0,0017
400 vs. 401	Não	0,6022
400 vs. 402	Não	0,0826
400 vs. 403	Não	0,9642
400 vs. IFA	Não	0,242
401 vs. 402	Não	0,9323
401 vs. 403	Não	0,9867
401 vs. IFA	Não	0,9967
402 vs. 403	Não	0,5111
402 vs. IFA	Não	0,999
403 vs. IFA	Não	0,8135
120		
A1 vs. A2	Não	0,9968
A1 vs. 400	Não	0,5506
A1 vs. 401	Sim	0,0052
A1 vs. 402	Sim	0,001
A1 vs. 403	Não	0,2841
A1 vs. IFA	Sim	0,0018
A2 vs. 400	Não	0,8915
A2 vs. 401	Sim	0,034
A2 vs. 402	Sim	0,0083
A2 vs. 403	Não	0,6568
A2 vs. IFA	Sim	0,0138
400 vs. 401	Não	0,4642
400 vs. 402	Não	0,2127
400 vs. 403	Não	0,9995
400 vs. IFA	Não	0,2866

Comparação	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. 402	Não	0,9993
401 vs. 403	Não	0,7476
401 vs. IFA	Não	>0,9999
402 vs. 403	Não	0,4508
402 vs. IFA	Não	>0,9999
403 vs. IFA	Não	0,5538
150		
A1 vs. A2	Não	0,8785
A1 vs. 400	Não	0,4163
A1 vs. 401	Sim	0,0111
A1 vs. 402	Sim	0,0022
A1 vs. 403	Não	0,3027
A1 vs. IFA	Sim	0,0002
A2 vs. 400	Não	0,9875
A2 vs. 401	Não	0,2687
A2 vs. 402	Não	0,0974
A2 vs. 403	Não	0,9607
A2 vs. IFA	Sim	0,0142
400 vs. 401	Não	0,746
400 vs. 402	Não	0,4395
400 vs. 403	Não	>0,9999
400 vs. IFA	Não	0,1184
401 vs. 402	Não	0,9991
401 vs. 403	Não	0,8497
401 vs. IFA	Não	0,9079
402 vs. 403	Não	0,5678
402 vs. IFA	Não	0,9931
403 vs. IFA	Não	0,1826

Tabela 14 - ANOVA e aplicação do teste Tukey na avaliação das taxas de dissolução ponto a ponto em meio LSS 0,5% (m/v)

Diferença de dissolução no meio LSS 0,5% nos respectivos meios		
Aplicação de múltiplas comparações e teste Tukey		
Amostra comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
	5	
A1 vs. A2	Não	>0,9999
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IFA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,4409
400 vs. 403	Não	0,2457
400 vs. IDA	Não	0,9792
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9999
402 vs. IDA	Não	0,9214
403 vs. IDA	Não	0,7646
	10	
A1 vs. A2	Não	0,764
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,9964
400 vs. 403	Não	0,2143
400 vs. IDA	Não	0,9863
401 vs. 402	Sim	<0,0001

Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,5685
402 vs. IDA	Não	>0,9999
403 vs. IDA	Não	0,6816
15		
A1 vs. A2	Não	0,4957
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,9953
400 vs. 403	Não	0,9976
400 vs. IDA	Não	0,9953
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,8904
402 vs. IDA	Não	0,8589
403 vs. IDA	Não	>0,9999
30		
A1 vs. A2	Sim	0,0349
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	<0,0001
A1 vs. 403	Sim	<0,0001
A1 vs. IDA	Sim	<0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,0805
400 vs. 403	Não	0,2836
400 vs. IDA	Não	0,7711

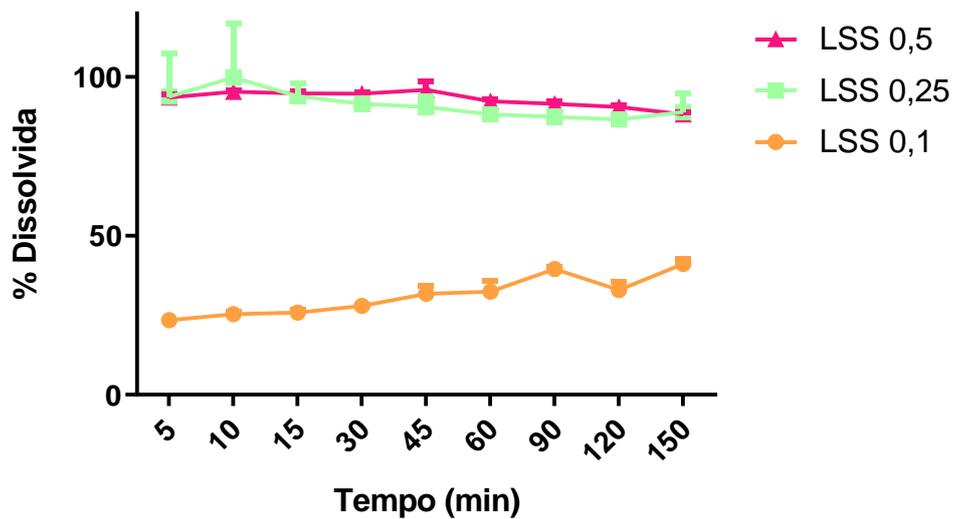
Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9973
402 vs. IDA	Não	0,8214
403 vs. IDA	Não	0,9862
	45	
A1 vs. A2	Não	0,1204
A1 vs. 400	Sim	<0,0001
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Sim	0,0034
A1 vs. 403	Sim	0,0069
A1 vs. IDA	Sim	0,0001
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,1354
400 vs. 403	Não	0,0834
400 vs. IDA	Não	0,5961
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	>0,9999
402 vs. IDA	Não	0,9769
403 vs. IDA	Não	0,9361
	60	
A1 vs. A2	Sim	0,001
A1 vs. 400	Sim	0,0084
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Não	0,9441
A1 vs. 403	Não	0,9947
A1 vs. IDA	Não	0,3208
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	<0,0001
A2 vs. 403	Sim	<0,0001
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,1509
400 vs. 403	Não	0,0594

Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
400 vs. IDA	Não	0,7898
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9997
402 vs. IDA	Não	0,918
403 vs. IDA	Não	0,7374
90		
A1 vs. A2	Sim	0,0007
A1 vs. 400	Não	0,5507
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Não	0,9816
A1 vs. 403	Não	0,7374
A1 vs. IDA	Não	0,987
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Sim	0,0125
A2 vs. 403	Não	0,0875
A2 vs. IDA	Sim	<0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,1266
400 vs. 403	Sim	0,0202
400 vs. IDA	Não	0,9472
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9933
402 vs. IDA	Não	0,6814
403 vs. IDA	Não	0,2591
120		
A1 vs. A2	Sim	0,0012
A1 vs. 400	Não	0,9807
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Não	0,7157
A1 vs. 403	Não	0,172
A1 vs. IDA	Não	0,9971
A2 vs. 400	Sim	<0,0001
A2 vs. 401	Não	<0,0001
A2 vs. 402	Não	0,1349
A2 vs. 403	Não	0,6456
A2 vs. IDA	Sim	0,0001
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,2145

Amostras comparadas	Significante?	Valor de P ajustado
400 vs. 403	Sim	0,0193
400 vs. IDA	Não	>0,9999
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,9648
402 vs. IDA	Não	0,3395
403 vs. IDA	Sim	0,0401
150		
A1 vs. A2	Sim	0,0007
A1 vs. 400	Não	>0,9999
A1 vs. 401	Sim	<0,0001
A1 vs. 402	Não	0,2599
A1 vs. 403	Sim	0,0107
A1 vs. IDA	não	>0,9999
A2 vs. 400	Sim	0,0008
A2 vs. 401	Sim	<0,0001
A2 vs. 402	Não	0,4281
A2 vs. 403	Não	0,9884
A2 vs. IDA	Sim	0,0005
400 vs. 401	Sim	<0,0001
400 vs. 402	Não	0,2774
400 vs. 403	Sim	0,012
400 vs. IDA	Não	>0,9999
401 vs. 402	Sim	<0,0001
401 vs. 403	Sim	<0,0001
401 vs. IDA	Sim	<0,0001
402 vs. 403	Não	0,8814
402 vs. IDA	Não	0,2193
403 vs. IDA	Sim	0,008

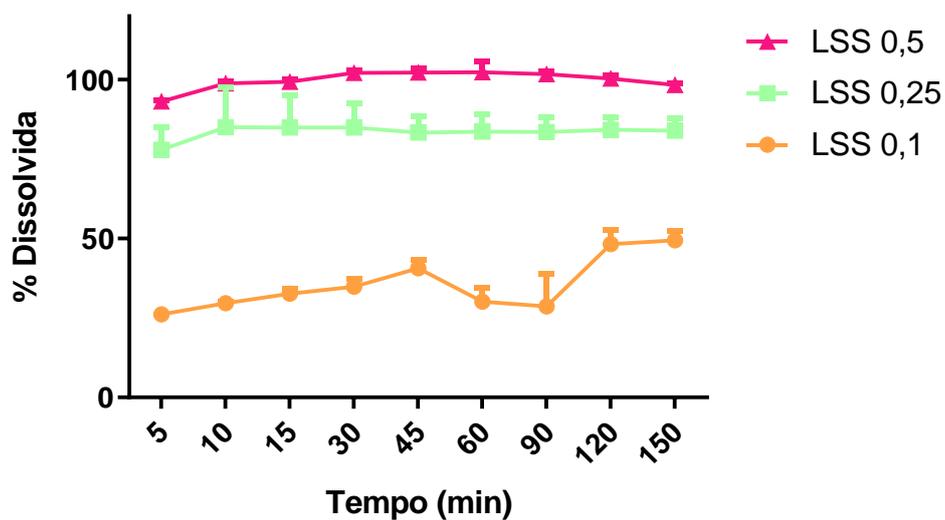
ANEXO C - Análise das taxas de dissolução da mesma amostra em seus receptivos meios

Figura 40 - Comparação do perfil de dissolução da amostra A1 em todos os meios testados



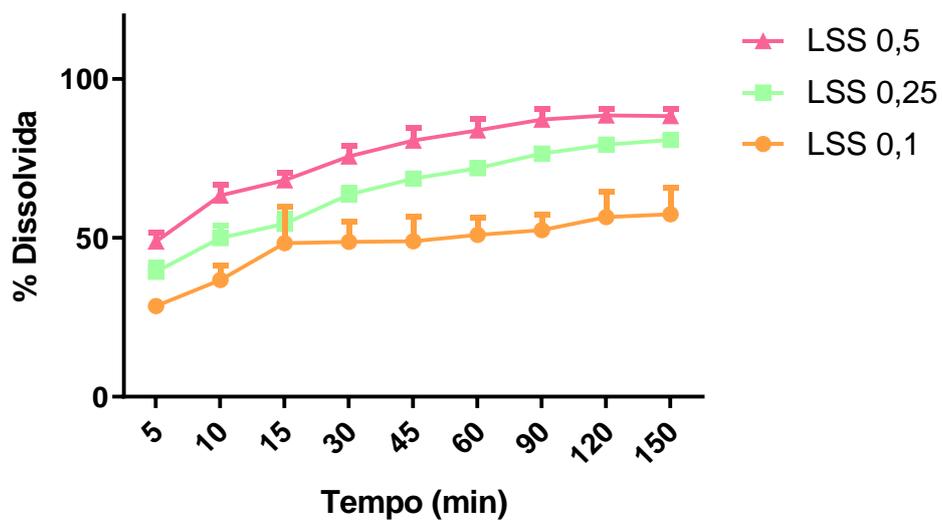
Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 41 - Comparação do perfil de dissolução da amostra A2 em todos os meios testados



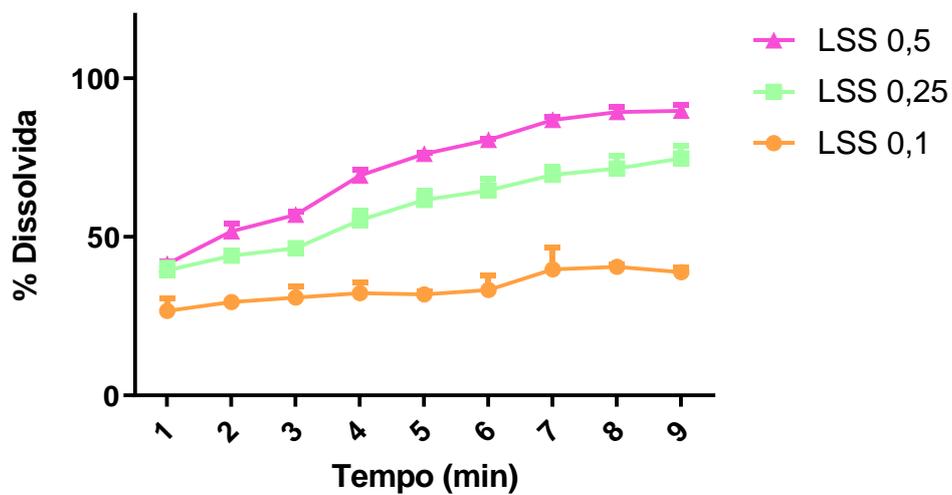
Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 42 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 400 em todos os meios testados



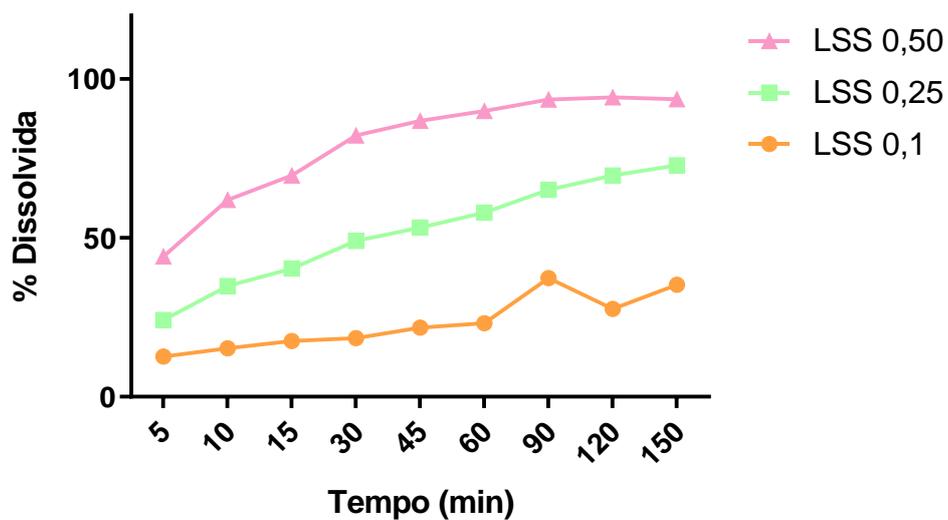
Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 43 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 401 em todos os meios testados



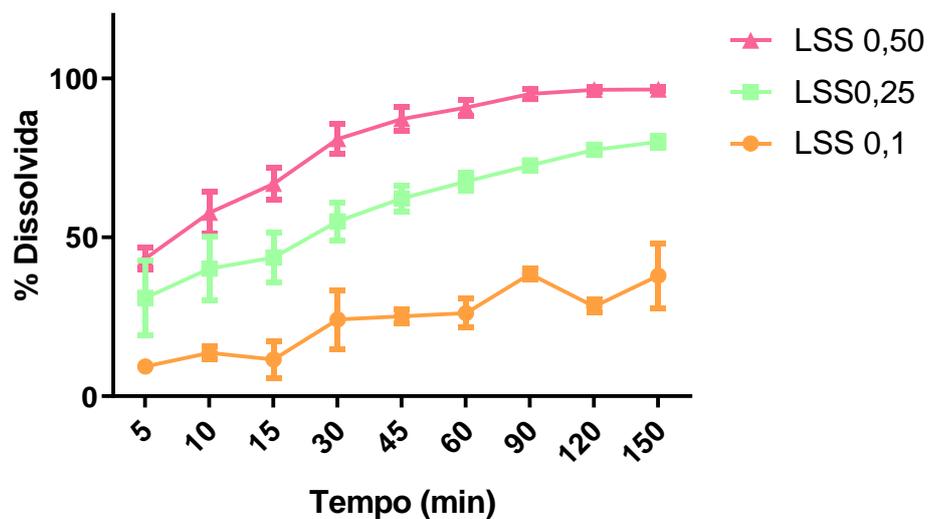
Fonte: elaboradora pelo autor (2022)

Figura 44 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 402 em todos os meios testados



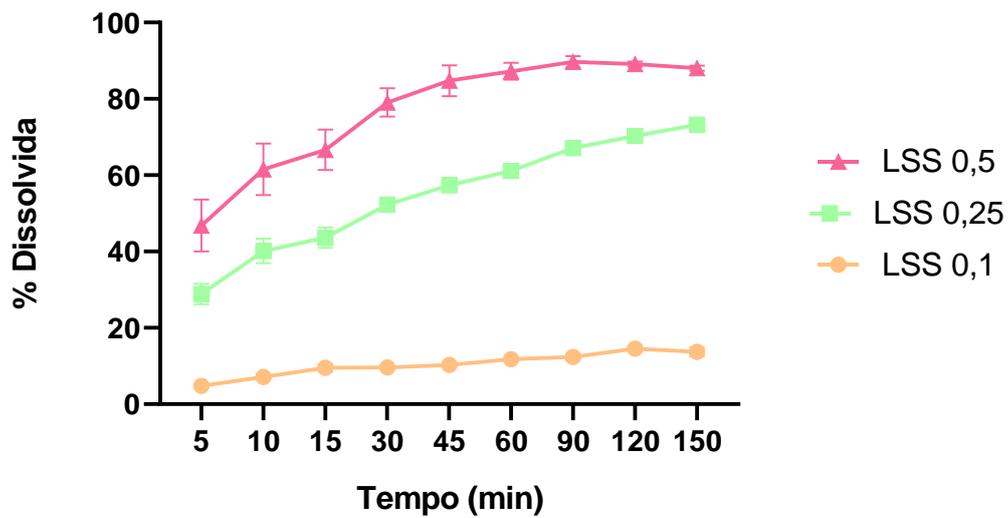
Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 45 - Comparação do perfil de dissolução da amostra 403 em todos os meios testados



Fonte: elaborado pelo autor (2022)

Figura 46 - Comparação do perfil de dissolução do IFA em todos os meios testados



ANEXO D - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução e seus desvios padrões

Tabela 15 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio 0,1%

% DISSOLVIDA EM TODOS OS PONTOS DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO EM 0,1%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	28,525	26,651	12,612	9,32	23,411	26,101	4,778
10	36,71	29,429	15,276	13,693	25,319	29,605	7,09
15	48,369	30,842	17,518	11,576	25,862	32,682	9,543
30	48,748	32,26	18,424	24,127	27,928	34,863	9,628
45	48,974	31,846	21,752	25,16	31,749	40,604	10,326
60	50,996	33,246	23,183	26,163	32,415	30,157	11,806
90	52,402	39,769	37,336	38,446	39,52	28,663	12,411
120	56,501	40,518	27,698	28,289	32,939	48,211	14,515
150	57,404	38,822	35,281	37,905	41,121	49,428	13,75

Tabela 16 - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,1%

Desvio padrão de cada um dos pontos de análise em meio 0,1%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	1,23	3,804	0,419	1,245	0,767	0,767	1,943
10	4,615	1,392	1,765	2,155	0,666	0,615	0,443
15	11,496	3,373	1,991	5,807	0,773	1,326	0,995
30	6,266	3,43	1,335	9,294	0,507	2,428	0,301
45	7,568	0,843	1,313	2,291	2,516	2,822	0,459
60	5,364	4,565	3,339	4,496	3,499	4,145	0,081
90	4,894	6,738	1,58	1,723	0,817	19,04976	0,837
120	8,036	0,83	4,423	2,026	2,485	4,642	0,759
150	8,454	1,491	5,334	10,292	1,498	2,911	1,21

Tabela 17 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio 0,25%

% DISSOLVIDA EM TODOS OS PONTOS DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO EM 0,25%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	39,363	39,409	24,181	30,903	93,823	77,957	28,891
10	49,914	44,035	34,81	40,146	99,891	85,05	40,146
15	54,45	46,447	40,366	43,675	93,974	84,988	43,630
30	63,6	55,202	49,057	55,025	91,537	84,995	52,284
45	68,637	61,646	53,256	62,214	90,595	83,319	57,364
60	71,942	64,686	57,949	67,537	88,201	83,689	61,145
90	76,516	69,516	65,12	72,675	87,494	83,558	67,084
120	79,358	71,514	69,659	77,587	86,971	84,25	70,291
150	80,818	74,736	72,819	80,027	88,967	83,943	73,194

Tabela 18 - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,25%

Desvio padrão de cada um dos pontos de análise em meio 0,25%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	2,959	2,646	2,03	11,807	13,565	7,118	2,665
10	3,794	1,674	2,821	10,107	16,853	12,374	3,205
15	3,192	0,615	0,893	7,878	3,857	9,979	2,639
30	2,344	3,135	1,679	5,835	1,752	7,621	0,807
45	1,628	2,928	1,512	4,134	3,274	5,206	0,530
60	0,594	3,703	1,909	2,842	1,208	5,368	0,198
90	0,605	2,759	3,116	1,601	1,579	4,574	0,605
120	0,77	4,165	0,958	1,284	1	3,873	0,387
150	1,063	3,957	0,072	1,85	5,934	3,771	1,301

Tabela 19 - % de EFV dissolvido em cada ponto de dissolução no meio 0,50%

% DISSOLVIDA EM TODOS OS PONTOS DO ENSAIO DE DISSOLUÇÃO EM 0,50%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	48,829	41,421	44,164	43,341	93,596	93,169	46,816
10	63,389	51,723	61,942	57,737	95,36	98,837	61,535
15	68,177	56,909	69,697	66,835	94,869	99,333	66,656
30	75,624	69,303	82,298	80,928	94,764	102,176	79,072
45	80,653	76,196	86,814	87,295	95,947	102,228	84,761
60	83,862	80,579	89,908	90,815	92,369	102,301	87,23
90	87,271	86,801	93,502	95,124	91,539	101,72	89,704
120	88,551	89,395	94,202	96,437	90,533	100,367	89,142
150	88,318	89,776	93,651	96,567	88,234	98,362	88,026

Tabela 20 - Desvio padrão em cada ponto de dissolução no meio 0,50%

Desvio padrão de cada um dos pontos de análise em meio 0,50%							
Tempo	A400	A401	A402	A403	A1	A2	IFA
5	2,696	0,838	3,812	3,293	0,96	0,267	6,8
10	3,4	2,354	7,241	6,543	0,476	0,698	6,778
15	2,513	0,939	6,24	5,049	0,71	0,883	5,268
30	3,256	1,986	4,014	4,687	0,334	0,82	3,696
45	3,939	0,454	2,919	3,619	2,694	1,368	4,02
60	3,479	0,491	1,815	2,517	0,665	3,493	2,214
90	3,25	1,19	1,048	1,601	0,75	0,879	1,478
120	2,229	1,582	0,741	0,79	0,407	1,066	0,649
150	2,313	1,803	1,023	0,641	0,473	0,612	0,661