



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DA PARAÍBA  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**ISABELLY DA SILVA VENANCIO DE MACÊDO**

DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS: INCREMENTO DA  
SOLUBILIDADE AQUOSA DA RUTINA

CAMPINA GRANDE  
2017

**ISABELLY DA SILVA VENANCIO DE MACÊDO**

**DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS: INCREMENTO DA  
SOLUBILIDADE DA RUTINA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF/CCBS/UEPB, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões:

CAMPINA GRANDE

2017

É expressamente proibida a comercialização deste documento, tanto na forma impressa como eletrônica. Sua reprodução total ou parcial é permitida exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, desde que na reprodução figure a identificação do autor, título, instituição e ano da dissertação.

M134d Macêdo, Isabelly da Silva Venancio de.  
Desenvolvimento de dispersões sólidas [manuscrito] :  
Incremento da solubilidade aquosa da rutina / Isabelly da Silva  
Venancio de Macêdo. - 2017.  
105 p. : il. color.

Digitado.  
Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) -  
Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e  
da Saúde, 2017.  
"Orientação: Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões,  
Departamento de Farmácia".

1. Análise térmica. 2. Dispersão sólida. 3. Flavonoide. 4.  
Nutracêutico. 5. Rutina. I. Título.

21. ed. CDD 615.321

## ISABELLY DA SILVA VENANCIO DE MACÊDO

### DESENVOLVIMENTO DE DISPERSÕES SÓLIDAS: INCREMENTO DA SOLUBILIDADE DA RUTINA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – PPGCF/CCBS/UEPB, como requisito final para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

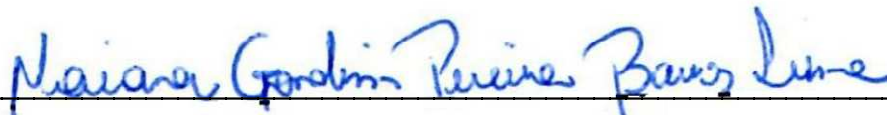
Aprovada em: **07/03/2017**

#### Banca Examinadora



---

Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões (Orientadora)  
Universidade Estadual da Paraíba- UEPB



---

Dra. Naiana Gondim Pereira Barros Lima  
Examinadora Interna: Universidade Estadual da Paraíba



---

Profa. Dra. Lidiane Pinto Correia  
Examinadora Externa: Faculdade Maurício de Nassau

# *Dedicatória*

*Aos meus pais, Adilson Venâncio de Macêdo e Maurisa da Silva Macêdo, que dedicaram a mim os esforços e recursos de suas vidas inteiras me fazendo ser quem sou, impulsionando os meus sonhos e me trazendo até aqui, dedico.*

# *Agradecimientos*

A Deus,

*“Porque dele e por ele, e para ele, são todas as coisas; glória, pois, a ele eternamente.”*

(Romanos 11:36)

Aos meus pais, por acreditarem que eu sempre posso ir além, por me conduzirem pelo melhor caminho, pelo amor, dedicação e incentivo. Todo o meu amor e gratidão;

Ao meu esposo, Diogo, que com tanto amor compreendeu minhas ausências e consolou minhas angústias, me ajudando em tudo e sendo o melhor companheiro que eu poderia ter durante cada passo dessa caminhada;

A minha orientadora, Profa. Dra. Mônica Oliveira da Silva Simões, por me acolher em seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos repassados, pela confiança, compreensão e amizade dispensados a mim durante esses dois anos de trabalho, serei sempre grata;

Ao meu co-orientador, Prof. Dr. Rodrigo Molina Martins, por me confiar dar prosseguimento a sua pesquisa, pela atenção, ensinamentos, disponibilidade... Nada do que eu escrever aqui será suficiente para agradecer;

A todos os professores do PPGCF-UEPB, em especial a Profa. Dra. Ana Cláudia de Medeiros Dantas e Prof. Dr. Bolivar Ponciano Goulart de Lima Damasceno que abriram as portas de seus laboratórios para o desenvolvimento dessa pesquisa;

A Profa. Dra. Sayonara Fook (UEPB) e Profa. Dra. Ana Paula Gomes (UFRN) que cederam material e equipamentos indispensáveis para que essa pesquisa pudesse ser realizada;

A Profa. Dra. Júlia Beatriz Pereira de Souza (UFCEG) que me incentivou e me ajudou a ingressar na pós-graduação;

Ao meu grupo de pesquisa, em especial a Msc. Fernanda Ílary por toda a contribuição durante a realização dessa pesquisa e a Ana Thayse e Karla Gomes pelo auxílio durante os experimentos;



Aos meus colegas de mestrado, em especial as minhas amigas Adriana, Allana e Karoll que estão comigo nessa caminhada desde a graduação e Simone, minha dupla nessa jornada;

A todos os funcionários do PPGCF e dos laboratórios pelas contribuições diárias, em especial a Airla Laana por toda a ajuda técnica durante a pesquisa e a minha gêmea Dilma Alcântara, sempre pronta a resolver qualquer problema e ouvir nossas lamúrias. Você é o coração desse programa!

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização desse trabalho;

*Minha sincera gratidão!*

*“Um pouco de ciência nos afasta de Deus.*

*Muito, nos aproxima.”*

**(Louis Pasteur)**

## RESUMO

Nas últimas décadas tem se expandido o desenvolvimento de nutracêuticos a partir da utilização de plantas que contêm metabólitos ativos para suporte no tratamento de diversas doenças. A rutina é um flavonoide natural extensamente conhecido por apresentar variedade de atividades farmacológicas como, por exemplo, antioxidante, anti-agregante plaquetária e antitumoral tornando-a um promissor candidato a nutracêutico para fins de quimioprevenção. Entretanto, sua baixa solubilidade em meio aquoso dificulta sua permeação nos sistemas biológicos diminuindo assim sua atividade terapêutica. O desenvolvimento de dispersões sólidas tem se mostrado como uma técnica eficaz para a promoção do incremento da solubilidade aquosa de fármacos. Esse trabalho teve como objetivo produzir micropartículas de dispersão sólida de rutina visando o incremento de sua solubilidade aquosa. As micropartículas foram produzidas por *spray-drying* usando um planejamento fatorial Box-Behnken. Foi usado como carreador polivinilpirrolidona (PVP K-30) e para secagem dióxido de silício coloidal (Aerosil® 200). As variáveis do processo estudadas foram a temperatura, porcentagem de Rutina e a porcentagem do Aerosil, totalizando 15 experimentos. Foram preparadas também misturas físicas do ativo com os adjuvantes nas proporções 1:1 e 1:9. Os resultados obtidos foram analisados pela técnica de superfície de resposta (ANOVA). Os parâmetros avaliados, além da solubilidade aquosa, foram rendimento, teor de umidade, solubilidade, dissolução *in vitro*. As micropartículas assim como as misturas físicas foram caracterizadas pelas técnicas de análise térmica: análise térmica diferencial e termogravimetria, difração de raios X e microscopia eletrônica de varredura. A análise estatística demonstrou que o rendimento sofreu influência de apenas uma variável, enquanto que o teor de umidade sofreu influência direta da temperatura em combinação com a porcentagem de aerosil. As micropartículas apresentaram bom rendimento (31% – 52%) e baixo teor de umidade (inferior a 2%). Quanto a solubilidade não houve alteração significativa entre as micropartículas relacionada aos parâmetros estudados. Porém, houve um aumento significativo da solubilidade das micropartículas quando relacionado ao fármaco puro, com incremento de solubilidade de até 9 vezes, além do excelente aumento no perfil de dissolução do fármaco. Com relação a análise térmica e técnicas complementares os resultados mostraram bom perfil de estabilidade térmica e física das micropartículas. Portanto, o desenvolvimento de dispersões sólidas microparticuladas contendo rutina por *spray drying* foi capaz de aumentar a solubilidade desse flavonóide, tornando-o um potencial candidato como nutracêutico para ser usado em dietas complementares.

**Palavras-chave:** Dispersão Sólida. Flavonoide. Rutina. Solubilidade. *Spray drying*.

## ABSTRACT

In recent decades to expand the development of nutraceuticals from the use of plants containing active metabolites for the support not treating various diseases. The rutin is a naturally occurring flavonoid widely known to exhibit a variety of pharmacological activities, such as antioxidant, antiplatelet and antitumor agonist making it a promising candidate for nutraceuticals for chemoprevention purposes. However, its low solubility in aqueous media hinders its permeation in biological systems, thus reducing its therapeutic activity. The development of solid dispersions has been shown to be an effective technique for promoting the increase of aqueous solubility of drugs. The aim of this work was to produce solid dispersion microparticles of rutin, aiming to increase their aqueous solubility. The microparticles were produced by spray-drying using a Box-Behnken factorial design. It was used as carrier polyvinylpyrrolidone (PVP K-30) and for drying colloidal silicon dioxide (Aerosil® 200). The variables of the process studied were the temperature, percentage of rutin and the percentage of Aerosil, totaling 15 experiments. Physical mixtures of the active compound with adjuvants in 1: 1 and 1:9 ratios were also prepared. The results obtained were analyzed by the surface response technique (ANOVA). The evaluated parameters, besides the aqueous solubility, were yield, moisture content, solubility, dissolution in vitro. The microparticles as well as the physical mixtures were characterized by thermal analysis techniques: differential thermal analysis and thermogravimetry, X-ray diffraction and scanning electron microscopy. Statistical analysis showed that the yield was influenced by only one variable, while the moisture content was influenced directly by temperature in combination with the percentage of aerosil. The microparticles showed good yield (31% - 52%) and low moisture content (less than 2%). Regarding the solubility, there was no significant change between the microparticles related to the studied parameters. However, there was a significant increase in the solubility of the microparticles when related to the pure drug, with a solubility increase of up to 9 times, besides the excellent increase in the dissolution profile of the drug. Regarding thermal analysis and complementary techniques, the results showed good thermal and physical stability profile of the microparticles. Therefore, the development of microparticulate solid dispersions containing rutin by spray drying was able to increase the solubility of this flavonoid, making it a potential candidate as a nutraceutical for use in complementary diets.

**Keywords:** Solid dispersion. Flavonoid. Rutin. Solubility. Spray drying.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%A	Porcentagem de Aerosil
%R	Porcentagem de Rutina
ANOVA	Análise de Variância
DS	Dispersão Sólida
DS3	Dispersão Sólida referente ao experimento 3
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
DRX	Difração de Raio X
DTA	Análise Térmica Diferencial
HPC	Hidroxipropilcelulose
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
MF	Mistura Física
MF1	Mistura Física na proporção 1:1
MF2	Mistura Física na proporção 1:9
PEG	Polietilenoglicol
PVP	Polivinilpirrolidona
R	Rendimento
T	Temperatura
TG	Termogravimetria
U	Umidade

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b>	Esqueleto base dos flavonoides e de suas principais classes.....	14
<b>Figura 2:</b>	Biossíntese de flavonoides.....	15
<b>Figura 3:</b>	Biossíntese de flavonoides (continuação).....	16
<b>Figura 4:</b>	Estrutura química da Rutina.....	18
<b>Figura 5:</b>	Classificação das DS.....	22
<b>Figura 6:</b>	Estrutura do PVP.....	25
<b>Figura 7:</b>	Representação da estrutura monomérica do PVP e a formação de ligação entre o fármaco (M) e o polímero.....	25
<b>Figura 8:</b>	Esquema de um sistema de spray-drying.....	29
<b>Figura 9:</b>	Representação esquemática do cubo multidimensional com os pontos do planejamento Box-Behnken a serem analisados.....	36
<b>Figura 10:</b>	Curva analítica obtida para a rutina na faixa de concentração de 10 a 62 µg/mL, por espectrofotometria Uv-vis em 370 nm.....	51
<b>Figura 11:</b>	Gráfico de superfície de resposta do rendimento (R) em função da porcentagem de Aerosil e da temperatura.....	55
<b>Figura 12:</b>	Gráfico da superfície de resposta da Umidade (U) em função da porcentagem de Aerosil e da Temperatura.....	59
<b>Figura 13:</b>	Perfil de dissolução in vitro comparativo entre a dispersão microparticulada de rutina (DS3) e a rutina isolada.....	63
<b>Figura 14:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA- Rutina .....	64
<b>Figura 15:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA- PVP K-30.....	65
<b>Figura 16:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA - Aerosil .....	65
<b>Figura 17:</b>	Curvas da análise termogravimétrica- TG das micropartículas contendo Rutina (DS3) e seus constituintes.....	66
<b>Figura 18:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA da MF1 e seus constituintes....	67
<b>Figura 19:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA da MF2 e seus constituintes...	67
<b>Figura 20:</b>	Curvas da análise térmica diferencial -DTA – comparativo entre DS3, MF1 e MF2.....	68
<b>Figura 21:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- Aerosil.....	69
<b>Figura 22:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- PVP K-30.....	70
<b>Figura 23:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- Rutina.....	71
<b>Figura 24:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- DS3.....	72
<b>Figura 25:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- MF1.....	73
<b>Figura 26:</b>	Curva de análise termogravimétrica -TG- MF2.....	73

<b>Figura 27:</b>	Difratograma da Rutina.....	75
<b>Figura 28:</b>	Difratograma do PVP K-30.....	75

### **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 29:</b>	Difratograma da DS3.....	76
<b>Figura 30:</b>	Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura – MEV..	77

## LISTA DE QUADROS

<b>Quadro 1:</b>	Descrição da solubilidade.....	19
<b>Quadro 2:</b>	Medicamentos disponíveis no mercado formulados por DS.....	23
<b>Quadro 3:</b>	Carreadores utilizados na formulação de DS.....	24
<b>Quadro 4:</b>	Utilização do Aerosil em formulações farmacêuticas e suas principais concentrações.....	26
<b>Quadro 5:</b>	Principais processos endotérmicos e exotérmicos que podem ser identificados por DTA.....	31



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b>	Planejamento Box-Behnken com suas variáveis codificadas e não condificadas.....	43
<b>Tabela 2:</b>	Fatores estudados no planejamento experimental Box-Behnken e seus níveis.....	46
<b>Tabela 3:</b>	Precisão do método espectrofotométrico validado.....	52
<b>Tabela 4:</b>	Exatidão do método espectrofotométrico validado.....	52
<b>Tabela 5:</b>	Rendimento das dispersões microparticuladas contendo Rutina obtidas por spray-drying.....	53
<b>Tabela 6:</b>	Análise de variância do rendimento das micropartículas contendo Rutina obtidas por spray-drying.....	54
<b>Tabela 7:</b>	Teor de umidade das dispersões microparticuladas contendo Rutina obtidas por spray-drying.....	57
<b>Tabela 8:</b>	Análise de variância do teor de umidade das micropartículas contendo Rutina obtidas por spray-drying.....	58
<b>Tabela 9:</b>	Solubilidade das micropartículas contendo Rutina produzidas por spray-drying.....	60
<b>Tabela 10:</b>	Análise de variância da solubilidade das micropartículas contendo Rutina obtidas por spray-drying.....	61
<b>Tabela 11:</b>	Eventos encontrados na análise térmica diferencial.....	68
<b>Tabela 12:</b>	Etapas da termogravimetria.....	74

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	19
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	23
2.1 Nutracêuticos .....	23
2.2 Flavonoides.....	23
2.3 Rutina .....	27
2.4 Solubilidade .....	29
2.5 Dissolução .....	30
2.6 Dispersões sólidas .....	31
2.6.1 Carreadores.....	33
2.6.1.1 Polivinilpirrolidona - PVP.....	35
2.6.1.2 Aerosil .....	36
2.6.2 Métodos de obtenção de dispersões sólidas .....	37
2.6.2.1 Microencapsulação .....	37
2.6.2.2 Spray-drying .....	38
2.6.3 Caracterização de dispersões sólidas.....	40
2.7 Análise Térmica.....	40
2.7.1 Análise Térmica Diferencial - DTA .....	41
2.7.2 Termogravimetria -TG .....	42
2.8 Técnicas complementares.....	43
2.8.1 Difração de Raios X -DRX.....	43
2.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV .....	44
2.9 Planejamento experimental.....	44
2.9.1 Planejamento Box-Behnken .....	45
3. OBJETIVOS.....	48
3.1 Objetivo geral .....	48
3.2 Objetivos específicos.....	48
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
4.1 Material.....	50
4.1.1 Matérias primas e solventes.....	50
4.1.2 Principais equipamentos .....	50
4.2 Métodos .....	50
4.2.1 Padronização de metodologia analítica para a quantificação da rutina por espectrofotometria no UV-Vis .....	50

4.2.2 Validação da metodologia analítica por espectrofotometria no Uv-Vis.....	51
4.2.3 Planejamento experimental para produção de micropartículas de Rutina.....	53
4.2.4 Preparo das dispersões sólidas por spray-drying.....	54
4.2.5 Preparo das misturas físicas.....	54
4.2.6 Determinação do rendimento do processo de spray-drying .....	54
4.2.7 Determinação do teor de umidade .....	54
4.2.8 Análise de variância por superfície de resposta.....	55
4.2.9 Estudo de solubilidade das dispersões sólidas.....	56
4.2.10 Estudo de dissolução in vitro.....	56
4.2.11 Estudo de análise térmica das dispersões sólidas .....	57
4.2.11.1 Análise Térmica Diferencial - DTA .....	57
4.2.11.2 Termogravimetria - TGA.....	57
4.2.12 Técnicas complementares.....	57
4.2.12.1 Difração de Raios-X - DRX .....	57
4.2.12.2 Microscopia Eletrônica de Varredura.....	58
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	60
5.1 Padronização e validação de metodologia analítica para a quantificação da rutina por espectrofotometria no UV-Vis .....	60
5.2 Rendimento do processo.....	63
5.3 Teor de umidade .....	66
5.4 Análise da solubilidade das dispersões sólidas microparticuladas.....	69
5.5 Análise do perfil de dissolução in vitro das dispersões sólidas microparticuladas .....	71
5.6 Caracterização das dispersões sólidas .....	73
5.6.1 Análise Térmica Diferencial - DTA .....	74
5.6.2 Termogravimetria - TG .....	79
5.6.3 Difração de raios x- DRX.....	85
5.6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV.....	88
6. CONCLUSÕES .....	90
REFERÊNCIAS .....	92

# *Introdução*

## 1. INTRODUÇÃO

Entende-se por nutracêutico um alimento (ou parte de um alimento) que fornece benefícios farmacológicos ou de saúde incluindo a prevenção e / ou tratamento de doenças. Durante as últimas décadas, o desenvolvimento de nutracêuticos tem se expandido com a utilização de plantas que contêm metabólitos ativos como suporte no tratamento de diversas doenças, sobretudo nas terapias de doenças crônicas podendo em alguns casos substituir a terapia farmacológica convencional (KALRA, 2003; PIEMONTESE, 2016).

A rutina (3, 3', 4', 5, 7, pentahidroxi-flavona-3-rutinosídeo) é um flavonoide de ocorrência natural, sendo abundantemente encontrado na natureza em diversos vegetais como, por exemplo, o trigo-sarraceno (*Fagopyrum esculentum*), a Uncária (*Uncaria elliptica*), e no fruto da árvore brasileira Fava-d'Anta (*Dimorphandra mollis*). A rutina é amplamente conhecida por apresentar diversas atividades como antioxidante, antitumoral, anti-inflamatória, antiagregante plaquetário, entre outras (FERES et al., 2006; SU et al., 2014), de maneira que a combinação dessas características a torna um interessante nutracêutico para fins de quimioprevenção.

Apesar de já ser utilizada na prevenção e/ou tratamento de insuficiência venosa e fragilidade capilar (VELASCO et al., 2008), sua baixa solubilidade em meio aquoso (0, 125g/L) associada a sua alta massa molecular (610.5175g/mol) limita sua capacidade de difusão e permeação nos sistemas biológicos, o que conseqüentemente diminui suas propriedades benéficas ao organismo e podem invalidar sua utilização em produtos farmacêuticos (OLIVEIRA et al., 2016).

Em geral, a solubilidade de fármacos pode ser melhorada pela diminuição do tamanho das partículas, aumento de temperatura do meio, alteração de pH, formação de misturas eutéticas, co-cristais e sais e com a utilização de determinados excipientes (ALSENZ; KANSY, 2007).

Entre as diversas técnicas que podem ser utilizadas com a finalidade de melhorar o perfil biofarmacêutico de fármacos pouco solúveis em água destaca-se a produção de dispersões sólidas. Essa técnica possibilita aumentar a solubilidade aparente de compostos lipofílicos sem diminuir seu potencial terapêutico (LOFTSSON; HREINSDOTTIR; MASSON, 2005). De acordo com Chiou e Riegelman (1971),

define-se dispersão sólida como a dispersão de um ou mais ingredientes ativos num veículo inerte ou matriz no estado sólido.

A dissolução do fármaco contido na dispersão sólida é influenciada por diversos fatores como o método de obtenção da dispersão, proporção e características do carreador utilizado, pH do meio de dissolução, temperatura e características das partículas resultantes da dispersão sólida, sendo os tipos de carreadores e o método de obtenção utilizados os aspectos de maior relevância para a determinação das propriedades da dispersão sólida (OZKAN et al., 2000).

Os polímeros apresentam-se como adjuvantes farmacotécnicos versáteis e promissores pela sua capacidade de controlar a liberação do fármaco, conservar a concentração do fármaco durante extenso período de tempo e/ou de liberar em um determinado tecido ou órgão alvo (YOSHIDA, 2009). No desenvolvimento de dispersões sólidas polímeros hidrofílicos tais como polivinilpirrolidona (PVP), polietilenoglicóis (PEGs), polioxilglicerídeos (Gelucires<sup>®</sup>), tem sido preferencialmente utilizados devido a sua alta tolerância fisiológica, e baixa toxicidade (DHIRENDRA et al., 2009; ELOY et al., 2012).

Apesar de muitos anos de extensa pesquisa, a aplicação de dispersões sólidas em produtos industrializados é limitada. A razão para isso pode ser devido a problemas com o método de preparação, reprodutibilidade, propriedades físico-químicas, transposição de escala do método de produção e/ou estabilidade (SERAJUDDIN, 1999; BREITENBACH, 2002). Para superar essas desvantagens a aplicação da tecnologia de microencapsulação, empregada na obtenção de formas sólidas a partir de dispersões sólidas, pode garantir uma maior homogeneidade e qualidade ao produto final (DHIRENDRA et al., 2009).

O desenvolvimento de dispersões sólidas microparticuladas utilizando a técnica por *spray drying* é um método interessante para melhorar a estabilidade e solubilidade de compostos pouco solúveis. O *spray drying* é capaz de produzir micropartículas esféricas com distribuição de tamanho reduzido. Em adição, o processo de produção das micropartículas é concluído em uma única etapa. O *spray drying* é comumente utilizado na indústria de alimentos e farmacêutica devido ao seu custo relativamente baixo, a sua alta produtividade, capacidade de conferir elevada estabilidade microbiológica de alimentos e produtos químicos e o risco diminuído de ocorrência de degradações biológicas (TEIXEIRA; TEIXEIRA; FREITAS, 2011, MARTINS et al., 2013).

Dentre os métodos que podem ser utilizados para a caracterização das dispersões sólidas destacam-se a detecção de cristalinidade e a detecção da estrutura molecular. Para isto, empregam-se técnicas de análise térmica bem como de espectrofotometria e microscopia eletrônica (DHIRENDRA et al., 2009).

Este estudo propõe a obtenção de micropartículas de dispersões sólidas de rutina (DS), com o objetivo de aumentar a solubilidade desse flavonóide, bem como sua caracterização por meio de técnicas de análise térmica diferencial (DTA), termogravimetria (TG), difração de raios X (DRX) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Além disso, desenvolver e validar o método analítico para quantificação da rutina por espectrofotometria no UV-Vis, e promover um estudo do perfil de dissolução dessas micropartículas, visando o incremento da solubilidade do fármaco e conseqüentemente a otimização da eficácia terapêutica em relação as formulações que contem rutina atualmente disponíveis no mercado.

# *Referencial Teórico*



## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Nutracêuticos**

É comprovado cientificamente que uma grande variedade de compostos naturais extraídos de plantas, em especial de frutas, verduras e legumes, possuem alguma atividade biológica que lhes confere capacidade de atuar na prevenção e no tratamento de diversas doenças, sendo já evidenciadas, por exemplo, atividade antioxidante, antimicrobiana, antitumoral e anti-inflamatória (CODEVILLA et al., 2015).

O sucesso desses estudos tem despertado um maior interesse na utilização de compostos bioativos para o incremento de formulações alimentícias e o desenvolvimento de nutracêuticos (ABBAS et al., 2015). Entende-se por nutracêuticos, alimentos ou ingredientes alimentares que possuem ação farmacológica trazendo algum tipo de benefício à saúde adicional à nutrição (ZLOTOGORSKI et al., 2013)

Os compostos bioativos são substâncias químicas sintetizadas pelos organismos vivos como metabólitos secundários com a finalidade principal de proteção contra fatores adversos (DENNY; BUTTRISS, 2007). Entre os compostos destacam-se flavonoides, alcaloides, terpenóides, taninos, entre outros. Entretanto, a baixa solubilidade aquosa, dificuldade de absorção e o alto tamanho molecular que configuram a maioria desses compostos limitam a sua utilização na produção de nutracêuticos uma vez que diminuem consideravelmente a sua biodisponibilidade e eficácia (CODEVILLA et al., 2015).

Nessa perspectiva pode-se considerar o estudo e desenvolvimento de dispersões sólidas com a finalidade de melhorar a biodisponibilidade de compostos pouco solúveis em água (JACOB et al., 2011).

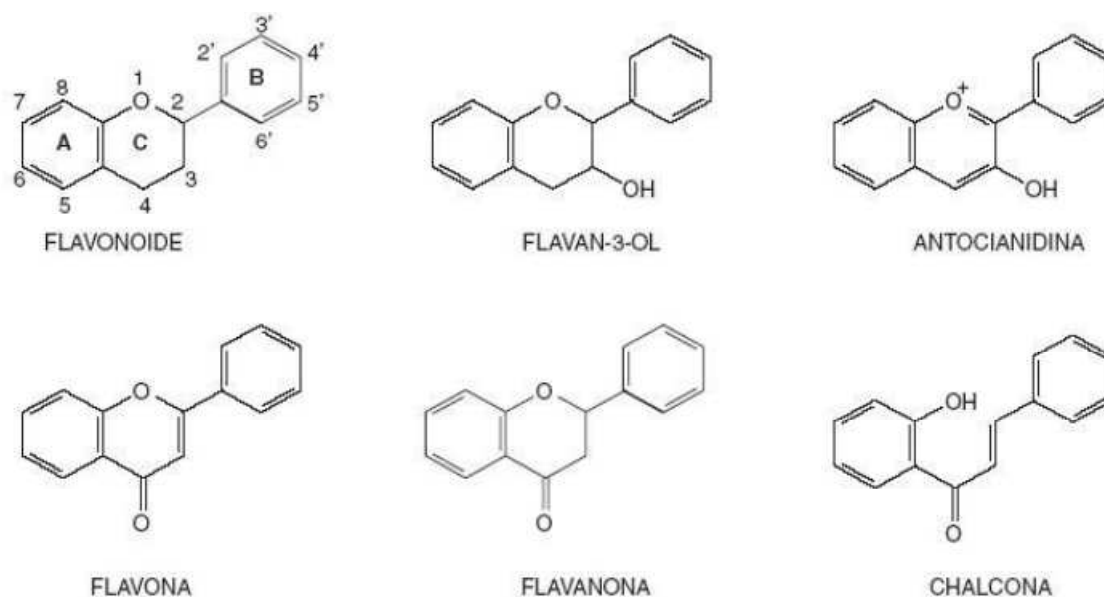
### **2.2 Flavonoides**

Flavonoides são compostos fenólicos de ocorrência natural numerosamente presentes em espécies vegetais. São amplamente conhecidos e estudados devido as suas inúmeras atividades biológicas que conferem efeitos benéficos à saúde humana como

atividade antioxidante, vasodilatadora, antiplaquetária, anti-inflamatória, antitumoral e antimicrobiana (SOUSA et al., 2015).

Quimicamente os flavonoides são conhecidos como metabolitos secundários de estrutura carbônica C6-C3-C6 (Figura 1). Variações nessa estrutura carbônica principal e no estado de oxidação determinam as classes de flavonoides: chalconas, flavonas, flavanonas, flavonóis e antocianidinas (Figura 1). (CUNHA; GODOY; BRAZ-FILHO, 2016). Estudos mostram que mais de 4000 tipos de flavonoides já foram identificados (CHUA, 2013).

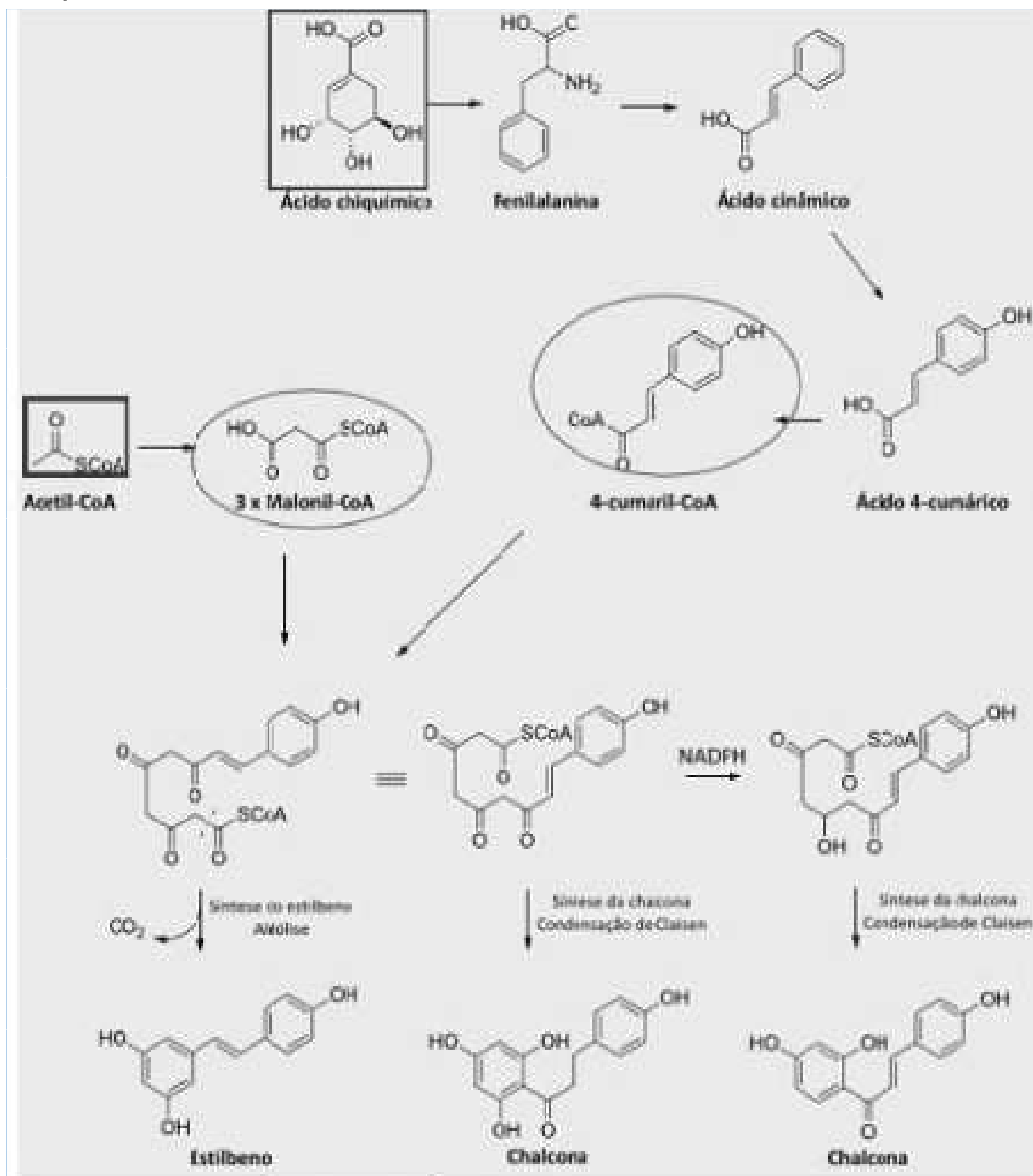
**Figura 1:** Esqueleto base dos flavonoides e de suas principais classes.



Adaptado: (LOPEZ; MONDRAGON; HERNANDEZ, 2006).

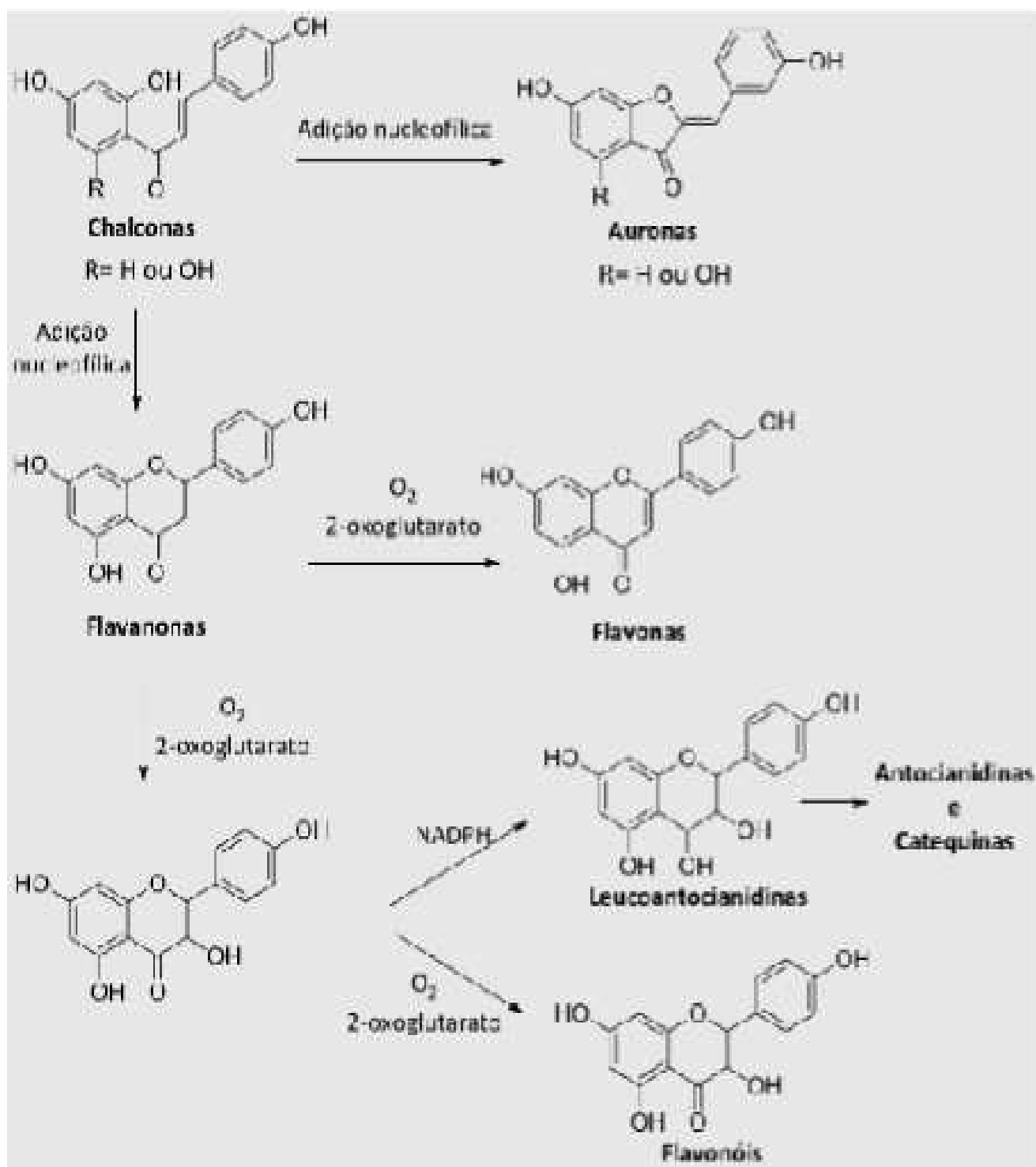
Os flavonoides são originados através da rota biossintética mista (Figuras 2 e 3) que dá origem ao seu esqueleto básico formado por dois anéis aromáticos, A e B, acoplados a três átomos de carbono que formam o anel C. Isto é, seu esqueleto flavanoídico deriva em parte da rota de formação do ácido chiquímico que origina o aminoácido fenilalanina, precursora do ácido cinâmico, responsável pela formação do anel aromático B e a junção com três átomos de carbono; e em parte pela via da acetil-CoA que por sua vez da origem a três moléculas de malonil-CoA que, através de reações subsequentes de hidroxilação e redução, levam a formação dos anéis A e C. (PEREIRA; RODRIGUES; VEGA, 2016).

**Figura 2:** Biossíntese de flavonoides.



Adaptado: (PEREIRA; RODRIGUES; VEGA, 2016)

**Figura 3:** Biossíntese de flavonoides (continuação).



Adaptado: (PEREIRA; RODRIGUES; VEGA, 2016)

Entre os flavonoides já conhecidos tem se destacado as pesquisas científicas com a rutina, flavonoide presente em diversas espécies vegetais, a exemplo das espécies que compõem os gêneros *Rheum* e *Asparagus*, sendo utilizada tradicionalmente no tratamento de enfermidades vasculares (VELAZQUEZ; MORALES; CONTRERAS, 2016).

### 2.3 Rutina

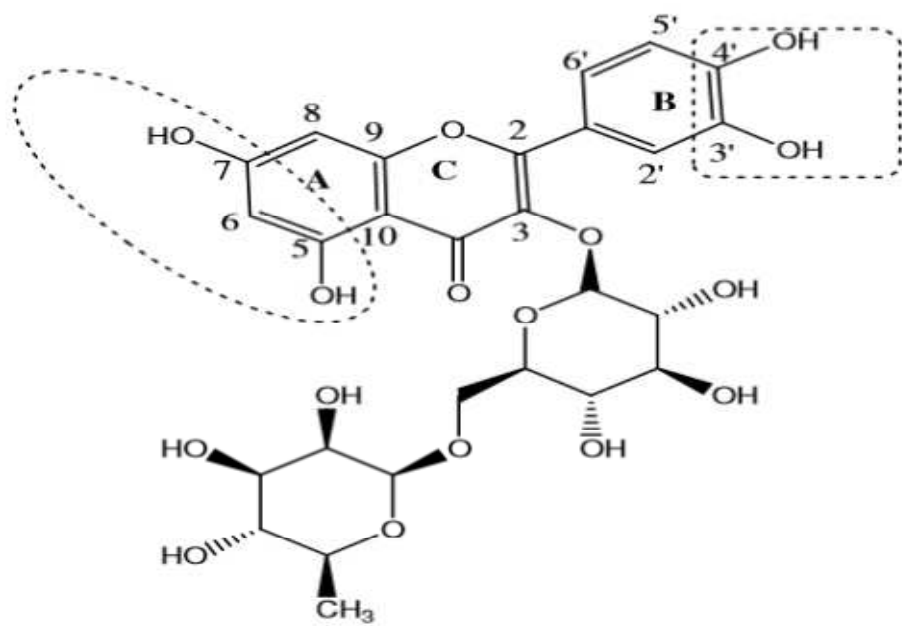
A rutina (3, 3', 4', 5, 7, pentahidroxiavona-3-rutinosídeo) é um flavonoide amplamente estudado devido a diversidade de atividades biológicas a ela atribuídas, além de sua larga distribuição na natureza, estando significativamente presente na dieta humana em grande diversidade de frutas, vegetais e cereais como uva, maçã, tomates, feijão vermelho, trigo sarraceno além de bebidas como o vinho tinto (BECHO; MACHADO; GUERRA, 2009).

A rutina foi descoberta em meados da década de 1930 pelo bioquímico húngaro Albert Szent-Gyorgyi, isolada em um de seus estudos com laranjas, sendo inicialmente classificada como vitamina e recebendo a nomenclatura de vitamina P. Estudos posteriores demonstraram que a substância se tratava de um flavonoide (NIJVELT et al., 2001). Tradicionalmente é utilizada como antioxidante e para o tratamento de doenças vasculares assim como a deficiência venosa e a permeabilidade capilar. Atua também melhorando a absorção da vitamina C, com a qual atua sinergicamente na proteção das estruturas capilares (NONES; NONES; TRENTIN, 2015, VALANDRO et al., 2015). Outras atividades como hipolipêmica, anti-inflamatória, anticancerígena, antiespasmódica, entre outras já foram descritas (RODRIGUES et al., 2003, LEITE et al., 2014, VELAZQUEZ et al., 2015).

Pertencente a classe dos flavonóis, é formada por quercetina e rutinose mais um dissacarídeo (glicose e raminose) ligado a posição 3 do seu anel pirano. Foi obtida inicialmente da *Ruta graveolens* em 1842, posteriormente passou a ser isolada da *Caparis spinosa*, tendo sua fórmula molecular ( $C_{12}H_{30}O_{16}$ ) finalmente estabelecida em 1896 (Figura 4). No Brasil a extração de rutina é feita quase que totalmente da Fava d'Anta (*Dimorphandra mollis*), sendo também essa espécie responsável por importante parte da produção mundial desse flavonoide (OLIVEIRA, 2015).

Antes de ser absorvida, tanto no organismo humano quanto em modelos animais, a rutina precisa ser hidrolisada e convertida em quercetina pelas glicosidases produzidas pelas bactérias da família *Enterobacteriaceae* no intestino. Uma vez que seu processo de absorção é dificultado pela presença dos açúcares que compoem a molécula, a hidrólise dessa molécula a confere maior afinidade pelas membranas celulares e conseqüentemente uma melhor absorção (BECHO et al., 2015). Apesar desse mecanismo, a baixa solubilidade em água (0,125 g/L) juntamente com a sua elevada massa molecular (610.5175 g/mol) precisam ser superadas para que haja aproveitamento mais efetivo de suas atividades biológicas, já que essas características limitam significativamente os processos de difusão e permeação nos sistemas biológicos (OLIVEIRA, 2015).

**Figura 4:** Estrutura química da Rutina.



Fonte: (OLIVEIRA, 2015).

\*Os grupamentos hidroxila em destaque são responsáveis pelo sequestro de radicais livres.

Atualmente a rutina é comercializada em forma de cápsulas produzidas industrialmente ou manipuladas podendo ser encontradas como único ativo ou associadas a outras substâncias como vitamina C e castanha da índia A dose diária recomendada de rutina varia entre 900mg e 3000mg.

## 2.4 Solubilidade

Em termos qualitativos entende-se como solubilidade a interação espontânea de duas ou mais substâncias com a finalidade de formar uma dispersão molecular homogênea. Quantitativamente a solubilidade pode ser definida como a quantidade de soluto capaz de se dissolver em um volume fixo de solvente a uma determinada temperatura. Um fármaco pode ser considerado como altamente solúvel quando sua dosagem mais elevada é soluvel em até 250ml de meio aquoso dentro de uma faixa de pH que pode variar entre 1,0 e 8,0 (MARTINS, 2010). De maneira geral, o Quadro 1 apresenta a descrição da solubilidade de uma substância.

**Quadro 1:** Descrição de solubilidade

<b>Nomenclatura</b>	<b>Quantidade de Solvente*</b>
Muito solúvel	Menos de 1 parte
Facilmente solúvel	1-10
Solúvel	10-30
Levemente solúvel	30-100
Pouco solúvel	100-1000
Muito pouco solúvel	1000=10.000
Praticamente insolúvel	Mais de 10.000

Adaptado: (KASSIN et al., 2003)

\*Quantidade aproximada de solvente para dissolver uma parte do soluto

Nos últimos anos tem se dado bastante ênfase a pesquisa sobre solubilidade de fármacos, isto porquê a cada dia há maior dificuldade de se descobrir novas moléculas com atividade farmacológica e também devido a grande quantidade de moléculas descobertas mas sem aplicação no mercado por apresentarem alguma restrição, sendo a baixa solubilidade o principal fator de restrição comum a grande maioria dessas moléculas (VARGAS; RAFFIN; MOURA, 2012). Aproximadamente 70% das substâncias com potencial terapêutico para o desenvolvimento de novos fármacos e mesmo grande parte dos fármacos já disponíveis no mercado apresentam dificuldade de atingir níveis sanguíneos terapêuticamente efetivos devido a sua baixa solubilidade em

água (GOMES et al., 2015). A solubilidade aquosa está intrinsecamente relacionada a absorção e por conseguinte à obtenção de resposta terapêutica satisfatória para a maior parte dos medicamentos administrados por via oral, isto é, quanto maior a solubilidade aquosa do fármaco mais rápida será a sua absorção (ALVES et al., 2012).

Melhorar a solubilidade aquosa de fármacos não é um desafio simples, visto que a solubilidade de uma substância pode ser afetada por diversos fatores como o tamanho da partícula, pH do meio e temperatura (ALMEIDA et al., 2009; PATIL et al., 2013). Entretanto, Storpirtis et al., (2009) elenca alguns métodos que podem ser usados para aumentar a solubilidade de um fármaco sem necessariamente alterar sua estrutura química, estando entre estes a micronização de partículas e o desenvolvimento de dispersões sólidas de primeira, segunda e/ou terceira geração, além de sugerir a secagem por pulverização (spray-drying) e a liofilização como técnicas eficientes para melhorar a solubilidade de fármacos pouco solúveis em água.

## **2.5 Dissolução**

Denomina-se dissolução o processo de transferência de moléculas ou íons do estado sólido para uma solução, isto é, as partículas sólidas separam-se e suas moléculas misturam-se com as moléculas do líquido e assumem a forma de solução. Em se tratando de fármacos, na maior parte das situações, apenas fármacos em solução são satisfatoriamente absorvidos, metabolizados, excretados e sobretudo possuem a capacidade de exercer sua ação farmacológica de forma eficaz (BABU; AREEFULLA; MALLIKARJUN, 2010).

A capacidade do fármaco estar disponível para ser absorvido e conseqüentemente desempenhar sua função terapêutica é avaliada a partir de estudos de dissolução, que permitem inferir sobre o perfil de liberação de um fármaco e de sua forma farmacêutica de origem por meio da análise em tempos pré-determinados. Dentre as diversas formas farmacêuticas, as formas farmacêuticas sólidas de uso oral são as que mais apresentam problemas com relação a biodisponibilidade e bioequivalência (RODRIGUES et al., 2006, BORTOLUZI; LAPORTA, 2008).

De acordo com o guia do sistema de classificação biofarmacêutica e um medicamento para apresentar uma alta dissolução deve ser capaz de liberar 85 % ou mais do seu ativo num tempo de 30 minutos usando o aparato I, especificado pela



farmacopeia americana, a 100 rpm (ou aparato II a 50 rpm) num volume de 900 mL ou menos em cada meio: 0,1 N de HCl ou um fluido gástrico sem enzimas; tampão (pH 4,5) e tampão 6,8 ou fluido intestinal sem enzimas (CHAVDA; PATEL; ANAND, 2010).

A determinação da dissolução para fármacos pouco solúveis é imprescindível, uma vez que é sabido que a taxa de dissolução é a etapa limitante no processo de absorção do fármaco. De maneira que o incremento da taxa de dissolução de fármacos pouco solúveis pode melhorar consideravelmente sua biodisponibilidade oral (MARTINS, 2010).

## **2.6 Dispersões sólidas**

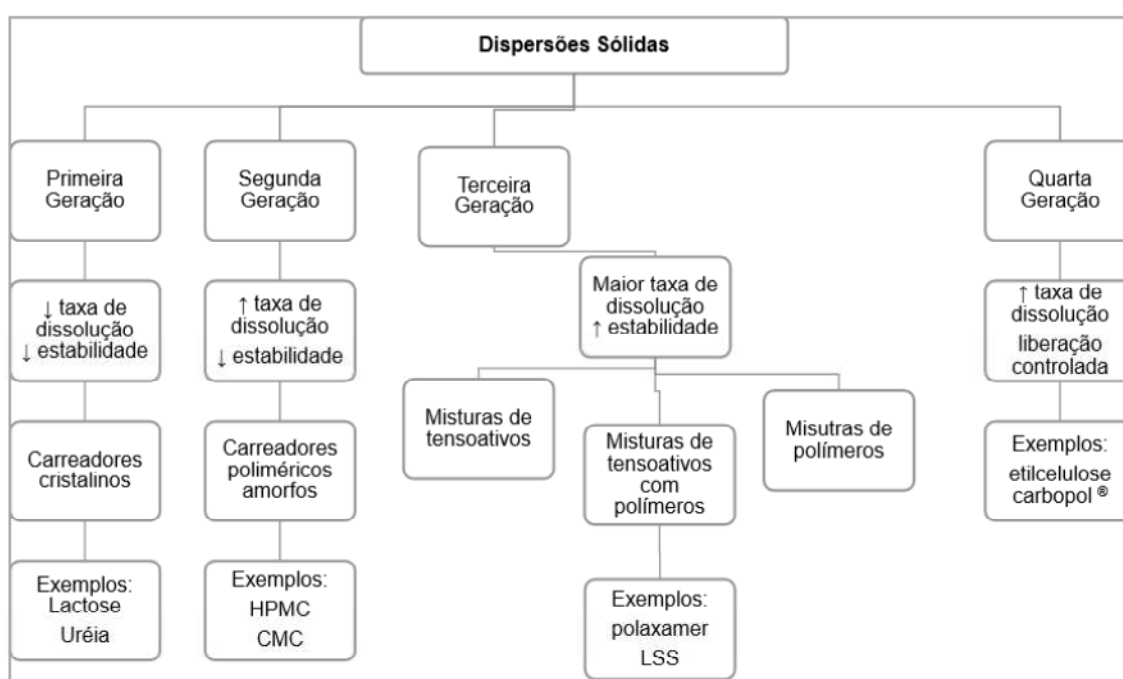
Entre as técnicas mais promissoras com a objetivo de melhorar a solubilidade e taxa de dissolução de fármacos em água destacam-se as dispersões sólidas. A utilização de drogas em portadores solúveis em água com essa finalidade foi descrita inicialmente por Sekiguchi e Obi (1961) e desde então a técnica vem sendo extensivamente estudada (LIMA et al., 2011). Por definição dispersão sólida é um produto sólido composto por dois ou mais constituintes diferentes, comumente, um fármaco com baixa solubilidade aquosa disperso em uma matriz ou carreador (SHARMA E JAIN, 2011).

De acordo com o seu surgimento e carreadores utilizados, as dispersões sólidas podem ser classificadas em quatro gerações como apresentado na Figura 5. A partir da década de 60 iniciou-se o desenvolvimento das chamadas dispersões sólidas de primeira geração, preparadas com carreadores cristalinos como ureia e açúcares, porém observou-se que apresentavam dificuldade na etapa de liberação do fármaco devido a sua grande estabilidade termodinâmica, comprometendo assim a biodisponibilidade do fármaco. Iniciou-se então o desenvolvimento de dispersões com carreadores amorfos, a exemplo do polivinilpirrolidona (PVP), que ficaram conhecidas como dispersões sólidas de segunda geração, essas apesar de aumentarem o perfil de solubilidade dos fármacos apresentaram baixa estabilidade física, sendo passível de recristalização. Para superar essas dificuldades passou-se a estudar a utilização de agentes surfactantes, emulsionantes e misturas de carreadores dando origem a terceira geração de dispersões sólidas a fim de elevar o grau de biodisponibilidade dos fármacos e garantir a

estabilidade da formulação (VILHELMSSEN; ELIASSEN; SCHAEFER, 2005; VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007; ALVES et al., 2012).

Mais recentemente já foram desenvolvidas as chamadas dispersões sólidas de quarta geração, caracterizadas por promover um sistema de controle de liberação de fármacos que além da baixa solubilidade em água apresentam curto tempo de meia-vida. Para isso utiliza-se carreadores insolúveis ou entumescentes, por exemplo, etilcelulose e carbopol, para retardar a liberação dos fármacos no meio de dissolução (VO; PARK; LEE, 2013).

**Figura 5:** Classificação das DS



Fonte: (AGUIAR, 2016)

\*HPCM- hidroxipropilmetilcelulose, CMC- carboximetilcelulose, LSS- lauril sulfato de sódio

É importante esclarecer que as dispersões sólidas não são meramente misturas físicas obtidas através de mistura mecânica do fármaco e seus carreadores. No processo de formação dos sistemas dispersos é estabelecida uma íntima interação entre o fármaco e os carreadores nos quais deve tornar-se disperso (LIU, 2000; AGUIAR, 2016). O aumento da biodisponibilidade dos fármacos quando incorporados em uma dispersão sólida é explicado pela diminuição do tamanho da partícula do fármaco que se aproxima do nível molecular e pelas características de molhabilidade e dispersibilidade conferidas pelos carreadores. Além disso as dispersões sólidas são capazes de produzir formas de

liberação prolongada dos fármacos, elevar a estabilidade química dos fármacos tanto em solução quanto em suspensão, assim como mascarar sabores desagradáveis e reduzir a ocorrência de efeitos colaterais (GOMES et al., 2015).

As características e efetividade das dispersões sólidas estão ligadas a diversos fatores, sendo os tipos de carreadores e as proporções utilizadas em conjunto com o método de obtenção os principais determinantes das propriedades da dispersão sólida (OZKAN et al., 2000). O Quadro 2 mostra exemplos de medicamentos disponíveis no mercado encontrados na forma de dispersões sólidas.

**Quadro 2:** Medicamentos disponíveis no mercado formulados por DS

<b>Nome comercial</b>	<b>Fármaco</b>	<b>Carreador</b>
Gris-PEG®	Griseofulvina	PEG 6000
Isoptin®	Verapamil	HPC/ HPMC
Kaletra®	Lopinavir/ Ritonavir	PVPVA
Sporanox®	Itraconazol	HPMC
Intelence®	Etravirina	HPMC
Certicam®	Everolimus	HPMC
Nivadil®	Nivaldipino	HPMC
Progarf®	Tacrolimus	HPMC
Rezulin®	Troglitazona	PVP
Cesamet®	Nabilone	PVP

Adaptado: (AGUIAR, 2016)

\*PEG- Polipropilenoglicol, HPC- Hidroxipropilcelulose, HPMC- Hidroxipropilmetilcelulose, PVP- Polivinilpirrolidona, PVPVA- Copolímero Vanilpirrolidona-Vinil Acetato.

### 2.6.1 Carreadores

A escolha dos carreadores para a formulação de uma dispersão sólida deve levar em consideração suas propriedades físico-químicas, parâmetros de solubilidade e o processo de obtenção ao qual serão submetidos (PAUDEL et al., 2013). Além disso os carreadores devem apresentar baixa toxicidade, ser reconhecidos como seguros pelas agências reguladoras e especificações farmacopéicas e não possuidores de atividade farmacológica (AGUIAR, 2016).

Como mostra o Quadro 3, é possível produzir dispersões sólidas com uma grande diversidade de substâncias a exemplo dos ácidos orgânicos (ácido cítrico), polióis (manitol e sorbitol), glicerídeos poliglicosilados, uréia e quitosana. Entretanto, polímeros hidrossolúveis como polietilenoglicol (PEG) e polivinilpirrolidona (PVP) tem

sido preferencialmente utilizados como carreadores no preparo de dispersões sólidas (BROMAN; KHOO; TAYLOR, 2001; LIMA et al., 2011).

Os polímeros hidrofílicos são utilizados no preparo de dispersões sólidas com a finalidade principal de inibir a cristalização por meio da redução da mobilidade molecular conferida à forma amorfa do fármaco disperso em uma matriz polimérica e dessa forma sustentar a solubilidade aumentada da dispersão (PAUDEL et al., 2013).

**Quadro 3:** Carreadores utilizados na formulação de DS

<b>Grupos</b>	<b>Carreadores</b>
Ácidos orgânicos e açúcares	Lactose
	Manitol
	Sorbitol
	Ácido cítrico
	Uréia
Polímeros	Poliétilenoglicol
	Polivinilpirrolidona
	Crospovidona
	Hidroximetilpropilcelulose
	Hidroxipropilcelulose
	Carboximetilcelulose
Tensoativos	Poloxamer 188
	Poloxamer 407
	Laurilpolioxilglicerideo
Emulsificantes	Monoleato de Sorbitan Etoxilado
	Lauril sulfato de sódio
	Colesterol

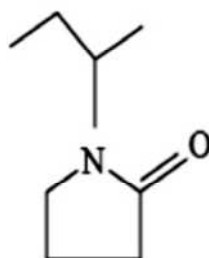
Adaptado: (AGUIAR, 2016)

Dentre os carreadores apresentados no quadro 3, o PVP tem se destacado. Diversos estudos tem mostrado a eficiência do uso do PVP para o desenvolvimento de dispersões sólidas, sobretudo de terceira geração, a exemplo dos estudos do incremento de solubilidade da loratadina realizados por Frizon (2011) e uma série de pesquisas voltadas para o incremento da solubilidade da sinvastatina realizadas por Ambike et al., (2005), Patel e Patel (2008), Silva et al., (2009), entre outros.

### 2.6.1.1 Polivinilpirrolidona - PVP

Também chamado de povidona (Figura 6), a polivinilpirrolidona (PVP) é um polímero sintético composto de grupos lineares de 1-vinil-2-pirrolidinona que possui a capacidade de formar ligações de hidrogênio com outras moléculas visto que contém grupos elétrons doadores, por exemplo, nitrogênio e oxigênio. Diferentes graus de polimerização podem originar polímeros de diversos pesos moleculares com quais está relacionada a sua viscosidade (VALERO; PEREZ-REVUELTA; RODRIGUEZ, 2003; GOUVEIA, 2011).

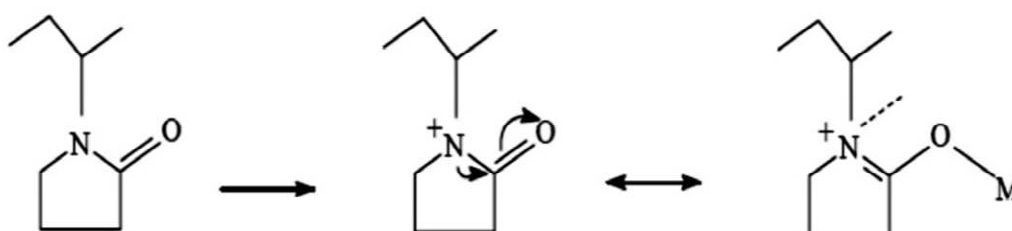
**Figura 6:** Estrutura do PVP



Fonte: (ALVES et al., 2012)

Em sua unidade monomérica o PVP apresenta um anel lactâmico que confere a polaridade da molécula o que pode ser explicado pela forte estabilização de ressonância devido a geometria planar desse anel e assim facilitando a formação de ligações de hidrogênio com fármacos pouco solúveis em água (ALVES et al., 2012), como mostra a Figura 7.

**Figura 7:** Representação da estrutura monomérica do PVP e a formação de ligação entre o fármaco (M) e o polímero



Fonte (ALVES et al., 2012).

Segundo a farmacopéia americana, o PVP é um pó higroscópico, geralmente branco, amorfo, inodoro, com temperatura de transição vítrea acima de 110 °C, solúvel em água assim como em etanol, metanol, ácidos e acetona (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2012).

Sua ampla utilização no desenvolvimento de formulações farmacêuticas está relacionada sobretudo à sua alta solubilidade aquosa, baixa toxicidade, tolerância fisiológica, diversidade de pesos moleculares e custo econômico relativamente baixo. Para a produção de dispersões sólidas são mais frequentemente utilizados o PVP K-12 E K-30, de pesos moleculares 2500 e 50.000, respectivamente. PVP de pesos moleculares superiores são mais utilizados em formulações com a finalidade de liberação controlada de fármacos (ALVES et al., 2012).

#### 2.6.1.2 Aerosil

O dióxido de silício coloidal, conhecido como aerosil, é uma sílica em forma de pó amorfo, brilhoso, branco-azulado, com tamanho de partícula em torno de 15 nm. É largamente utilizado em formulações farmacêuticas, cosméticas e até mesmo em produtos alimentares devido a sua capacidade de melhorar as propriedades de fluxo de pós secos em diversos processos, a exemplo da produção de comprimidos entre outros usos como mostra o Quadro 4 (LIMA NETO et al., 2012). Na produção de dispersões sólidas, o dióxido de silício coloidal é amplamente utilizado como agente adsorvente e de secagem das dispersões (CHAUHAN; SHIMP; PARADKAR, 2005).

**Quadro 4:** Utilização do Aerosil em formulações farmacêuticas e suas habituais concentrações

<b>Uso</b>	<b>Concentração</b>
Aerosóis	0,5 – 2,0
Agentes Estabilizantes de Emulsões	1,0 – 5,0
Agentes Espessantes	2,0 – 10,0
Agentes Suspensores	2,0 – 10,0
Lubrificantes	0,1 – 0,5

Adaptado: (LIMA NETO, 2012)

## 2.6.2 Métodos de obtenção de dispersões sólidas

As dispersões sólidas podem ser obtidas por diversos métodos, que são escolhidos de acordo com as características do fármaco utilizado juntamente com as características que se deseja obter para a forma farmacêutica final. Entre os métodos de obtenção de dispersões sólidas destacam-se a trituração, malaxagem, coevaporação, fusão, liofilização e spray-drying (RIEKES et al., 2010). Dentre eles, o spray-drying é uma das técnicas mais comumente utilizadas para o preparo de dispersões sólidas devido a possibilidade de fabricação contínua, facilidade de escalabilidade, uniformidade satisfatória da dispersão molecular, além da excelente relação custo-eficácia na produção em larga escala com altas recuperações, cerca de 95% (VO; PARK E LEE, 2013).

### 2.6.2.1 Microencapsulação

A microencapsulação é uma tecnologia que consiste na aplicação de um revestimento relativamente fino a pequenas partículas de sólidos, gotículas líquidas ou quantidades de gás (na faixa de 1 a 1000  $\mu\text{m}$ ) promovendo uma proteção completa ou parcial destas substâncias (CHAMBI; ALVIM; BARRERA-ARELLANO, 2008). O emprego desses sistemas possibilita o mascaramento dos sabores e dos odores indesejáveis eventualmente apresentados por algumas substâncias ativas, podendo também protegê-lo de fatores ambientais ou dos riscos proporcionados pelo próprio material encapsulado. Além disso, uma aplicação de grande importância das micropartículas consiste na modulação da liberação de compostos ativos, que pode proporcionar ao ativo uma liberação modificada, com inúmeras vantagens terapêuticas e econômicas (SILVA et al., 2003). As micropartículas também promovem um considerável aumento da taxa de dissolução de compostos com baixa solubilidade. As tecnologias mais utilizadas para se obter micropartículas são a coacervação, evaporação de solvente, extrusão, spray congealing e spray drying (ALBERTINI et al., 2008).

### 2.6.2.2 *Spray-drying*

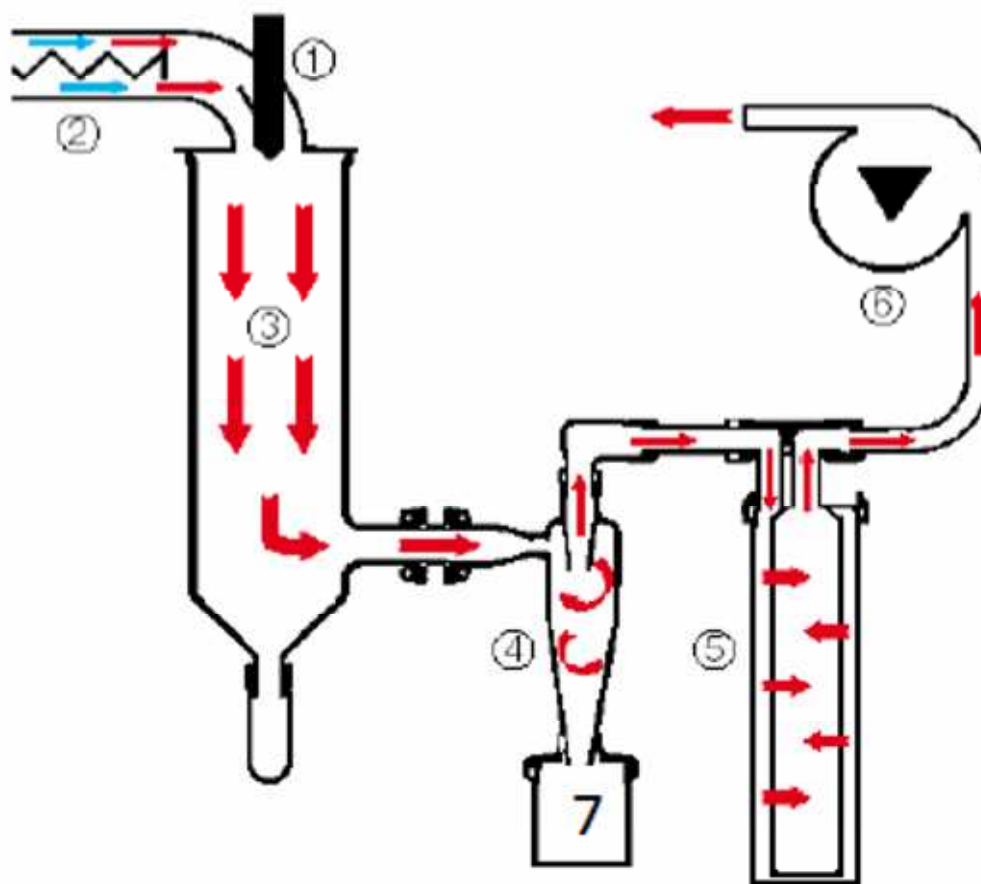
A técnica de secagem por aspersão (*spray-drying*) é uma tecnologia bastante eficiente para a fabricação de dispersões sólidas, já que permite a evaporação do solvente de forma extremamente rápida e eficiente resultando na transformação de uma solução em um material sólido particulado normalmente com tamanho de partícula reduzido, melhor solubilidade e com estabilidade satisfatória (PAUDEL et al., 2013). Outras vantagens conferidas pelo processo são a separação de materias com potencial de reação entre si, diminuição da volatilidade de algumas substâncias, mascaramento de sabores desagradáveis, assim como a possibilidade de proporcionar a liberação controlada de determinadas substâncias (CARMO; FERNANDES E BORGES, 2015).

Como mostra a Figura 8 e segundo as descrições de Valgas (2007) e Frizon (2011) o processo acontece da seguinte forma:

- A solução é aspirada até a parte superior através de um sistema de bombeamento, onde é aquecida;
- A solução e o gás são injetados juntamente na câmara de secagem pelo bico atomizador que possui saída para dois fluidos;
- A massa líquida começa a gotejar pelo bocal devido ao efeito da compressão, ocorrendo a secagem pela temperatura iniciando-se assim o processo de atomização;
- O sistema de sucção captura o pó atomizado para o reservatório onde acontece a separação entre as partículas finas e os aglomerados através da movimentação do gás;
- As partículas finas seguem o fluxo de sucção até serem retidas em um filtro;
- As partículas mais pesadas se direcionam ao reservatório de armazenamento devido a gravidade.



**Figura 8:** Esquema de um sistema de “spray-drying”



- 1- Bocal para fluidos;
- 2- Sistema de aquecimento;
- 3- Câmara de secagem;
- 4- Ciclone de separação de partículas;
- 5- Filtro de remoção de partículas finas;
- 6- Aspirador de geração de fluxo;
- 7- Reservatório do produto.

Adaptado: (VALGAS, 2007, FRIZON, 2011).

CHAUHAN; SHIMP; PARADKAR, (2005) obtiveram excelentes resultados com a formulação de dispersões sólidas utilizando a técnica de secagem por aspersão com o auxílio do dióxido de silício coloidal como adjuvante de secagem, demonstrando o elevado potencial da técnica em melhorar a solubilidade aquosa de fármacos pouco

solúveis em água. Incivek® e Intelence® são exemplos de formulações farmacêuticas disponíveis no mercado, elaboradas por meio de dispersões sólidas obtidas por secagem por aspersão (SMITHEY; GAO; TAYLOR, 2013).

### *2.6.3 Caracterização de dispersões sólidas*

A caracterização é uma etapa essencial para o desenvolvimento de dispersões sólidas assim como para o desenvolvimento das demais formulações farmacêuticas. De maneira geral o processo de caracterização de dispersões sólidas é realizado para comparar as características do fármaco puro, mistura física e da dispersão obtida podendo assim avaliar as vantagens da formulação. As principais técnicas utilizadas para caracterizar dispersões sólidas são as técnicas termoanalíticas como a calorimetria exploratória diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG). Além das técnicas termoanalíticas, normalmente são utilizadas técnicas complementares como difração de raios X, espectroscopia de infravermelho, ensaio de dissolução *in vitro* e microscopia eletrônica de varredura para uma caracterização completa (LEUNER; DRESSMAN, 2000; SETHIA; SQUILANTE, 2003; PEREIRA, 2014).

## **2.7 Análise Térmica**

A análise térmica compreende um grupo de técnicas a partir das quais uma propriedade física de uma substância ou seus produtos de reação é medida em função do tempo ou da temperatura ao passo que essa substância é submetida a uma programação controlada de temperatura sob uma atmosfera especificada (IONASHIRO; GIOLITO, 1980)..

As técnicas de análise térmica apresentam diversas aplicações e são amplamente utilizadas para a caracterização térmica de diferentes materiais de importância farmacêutica (TITTA et al., 2013). São técnicas analíticas relativamente rápidas e largamente utilizadas para avaliar as interações entre princípio ativo e excipiente através do deslocamento ou desaparecimento de eventos endotérmicos e exotérmicos, além de estudos de cinética de degradação, estabilidade de formas farmacêuticas, entre outros (TITTA et al., 2011). Diversos fatores como, por exemplo, pH, hidrólise, oxidação,

fotólise, temperatura e umidade são capazes de interferir no perfil de estabilidade de uma formulação farmacêutica, ressaltando a importância do desenvolvimento das formulações com base nos resultados obtidos da caracterização de seus excipientes por análise térmica, uma vez que a mudança das propriedades térmicas pode indicar a ocorrência de interações e/ou alterações entre os componentes das misturas e formulações (PROCÓPIO, 2010).

A calorimetria exploratória diferencial e a termogravimetria são as técnicas mais comumente utilizadas para o estudo da compatibilidade de fármacos com excipientes (MENDONÇA et al., 2014). A associação destas técnicas (DSC e TG) à análise térmica diferencial (DTA) produzem claras informações que permitem a compreensão dos mecanismos físico-químicos decorrentes dos processos de decomposição térmica e nos estudos e desenvolvimentos de novos compostos (ANDRADE et al., 2007)

### 2.7.1 Análise Térmica Diferencial - DTA

A análise térmica diferencial caracteriza-se por ser uma técnica que determina continuamente a diferença entre as temperaturas de um material de referência termicamente inerte e da amostra em estudo a medida que ambos são aquecidos em um forno. A análise das curvas obtidas possibilita através dos picos endotérmicos e exotérmicos (Quadro 5) a observação das reações químicas e mudanças físicas que ocorrem com os materiais envolvidos, além de evidências de interações entre esses componentes (BERNAL et al., 2002).

**Quadro 5:** Principais processos endotérmicos e exotérmicos que podem ser identificados por DTA.

<b>Processos endotérmicos</b>	<b>Processos exotérmicos</b>
Fusão	Adsorção
Vaporização	Cristalização
Sublimação	Oxidação
Absorção	Polimerização
Desidratação	Reações Catalíticas
Decomposição	

Adaptado: (PROCÓPIO, 2010)

A DTA é comumente utilizado em estudos de determinação do comportamento térmico, diagramas de fases, transição de fases e composição de produtos industrializados bem como dos pontos de fusão e ebulição de compostos orgânicos (PROCÓPIO, 2010).

A técnica DTA tem sido bastante utilizada devido a sua agilidade e simplicidade de realização, porém para o estudo de formulações farmacêuticas sugere-se a utilização da técnica em associação a outras técnicas termoanalíticas para a obtenção de resultados conclusivos acerca das possíveis interações e estabilidade, sobretudo para o estudo de armazenamento a longo prazo (CHADHA; BHANDARI, 2014, LAVOR et al., 2014).

### *2.7.2 Termogravimetria -TG*

A termogravimetria é uma técnica termoanalítica que baseia-se na variação de massa de uma amostra, em função da temperatura e tempo a medida que a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura. O processo acontece em uma microbalança contida em um forno. Essa análise permite verificar as alterações que a temperatura é capaz de causar as substâncias e assim determinar a temperatura de decomposição das mesmas. De acordo com o ganho ou perda pode-se interpretar a ocorrência de vários fenômenos como decomposição, oxidação, desidratação, entre outros (LEIVA et al., 2006; PEREIRA et al., 2009; MARTINS, 2010; MACHADO, 2011; PEREIRA, 2012).

A temperatura e o tempo são controlados e as variações da massa da amostra durante este processo são registrados pelo equipamento (WISS; SCHMUCK, 2010, OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011). Para o desenvolvimento de formulações farmacêuticas se faz necessária a realização de estudos de compatibilidade entre o ingrediente ativo farmacêutico e excipientes (MENDONÇA et al., 2013), nesses estudos é aplicada comumente a análise das amostras de forma simultânea por TG e DSC, sendo realizada sob as mesmas condições de ensaio (COSTA et al., 2013).

## 2.8 Técnicas complementares

Em uma mistura fármaco-polímero comumente ocorrem interações físico-químicas que resultam na perda da cristalinidade do fármaco e conseqüentemente há o aumento de sua solubilidade (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Frequentemente as misturas resultantes sofrem interações completamente diferentes das pretendidas inicialmente devido a complexidade dessas misturas. Dessa forma se faz necessário um grande número de testes de caracterização, de modo que, quando reunidos, podem proporcionar uma avaliação precisa das misturas formadas. Além dos já citados teste de solubilidade, teste de dissolução e análise térmica, tem importante papel na caracterização de misturas entre fármacos e polímeros, difração de raios X e a microscopia eletrônica de varredura (VARGAS; RAFFIN, MOURA, 2012).

### 2.8.1 Difração de Raios X -DRX

Os raios X são radiações eletromagnéticas com comprimento de onda ( $\lambda$ ) da ordem de 0,1-100 Å. Em cristalografia, o comprimento de onda utilizado está entre 0,5 2,5 Å, na mesma ordem de grandeza das distâncias interatômicas (BEZZON, 2013).O ordenamento dos átomos presentes em um material sólido cristalino faz com que os átomos se distribuam em planos cristalinos separados em entre si por distâncias interplanares ( $d$ ) da mesma ordem de grandeza dos comprimentos de onda dos raios X. A incidência de um feixe de raios X em uma amostra cristalina interage com os elétrons dos átomos presentes, originando o fenômeno da difração (MARTINS, 2010).

Nas análises farmacêuticas, a difração de raios X assume diversas funções. A difração de policristais, por exemplo, é uma importante ferramenta no estudo de polimorfismo, uma vez que além de permitir precisão nos resultados de estrutura cristalina, possibilita também o estudo de sistemas com mais de uma fase e conseqüentemente de diferentes polimorfos, podendo dessa maneira ser identificada a contribuição de cada fase (BOTEZ et al., 2003).

O interesse pelo estudo de polimorfos na área farmacêutica é crescente devido as diferentes formas cristalográficas em que uma mesma substância química pode ser isolada. Muitos podem se apresentar na forma de diferentes polimorfos, solvatados, anidros ou mesmo amorfos, diversidade essa que gera a necessidade de sua

caracterização para utilização em produtos farmacêuticos. Nesse sentido, a difração de raios X mostra-se como uma técnica eficiente e viável para a análise de fármacos bem como de misturas sólidas cristalinas por fornecer uma grande quantidade de informações sobre a estrutura das substâncias (ASHRAF-KHORASSANI et al., 2005, ANTÔNIO, 2010).

### *2.8.2 Microscopia Eletrônica de Varredura – MEV*

A microscopia eletrônica de varredura é uma técnica baseada na irradiação de um feixe fino de elétrons sob uma amostra. A interação do feixe de elétrons e a superfície da amostra provocam a emissão de uma série de radiações, entre elas: elétrons secundários, elétrons retrodispersados, fótons, raios X característicos, etc. Na MEV, a detecção dos elétrons secundários é responsável pela imagem de alta resolução da topografia da superfície da amostra analisada. Os aumentos podem chegar a 300.000 vezes, porém, para uma análise detalhada da superfície são utilizadas escalas entre nanômetros e centenas de micrômetros (MARTINS, 2010).

Essa técnica amplamente utilizada para a caracterização de dispersões sólidas através do estudo da morfologia de fármacos e carreadores, assim como de suas misturas. Além disso, a técnica permite também a visualização de como as partículas do fármaco estão dispersas no carreador e, eventualmente, o polimorfismo do fármaco (SETHIA; SQUILANTE, 2003).

## **2.9 Planejamento experimental**

Os métodos de planejamento experimental são ferramentas poderosas e vem sendo expressivamente utilizados para o estudo de substâncias em seus sistemas de interesse por proporcionarem, através de princípios estatísticos, a obtenção do máximo de informações úteis com um número reduzido de experimentos o que permite ao pesquisador otimizar o seu sistema maximizando ou minimizando algum tipo de resposta. Sua representação é feita por uma notação exponencial ( $x^n$ ), onde x representa

a quantidade de níveis que está sendo estudada e  $n$  a quantidade de fatores em estudo (MARTINS, 2010; FAES et al., 2011; MENDES, 2015).

São exemplos de planejamentos experimentais os planejamentos fatoriais, entendidos como a variação de todos os fatores estudados de forma constante e planejada. O planejamento fatorial pode ser do tipo completo onde são realizadas todas as combinações possíveis entre os diferentes fatores estudados, o que torna o procedimento demorado e oneroso. Existe também o planejamento fatorial do tipo fracionado onde o número de ensaios é reduzido, porém sem perder informações importantes, agilizando e barateando o processo (MARTINS, 2010; PEREIRA, 2012).

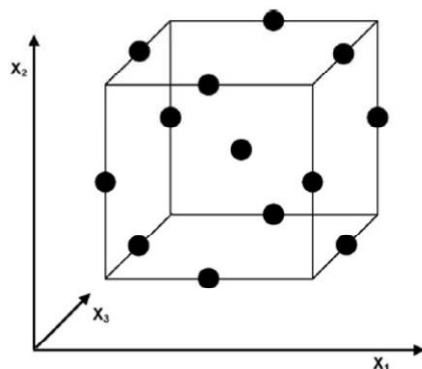
A escolha correta do planejamento a ser utilizado é fundamental para a otimização do experimento e deve levar em consideração a identificação do problema, a seleção dos parâmetros de interesse bem como os níveis a serem avaliados e a escolha das variáveis de resposta. O planejamento Box-Behnken, por exemplo, permite criar modelos quadráticos assim como explorar superfícies de resposta (MENDES, 2015).

### *2.9.1 Planejamento Box-Behnken*

O planejamento Box-Behnken é uma das metodologias de superfície de resposta mais difundidas. Esse método foi apresentado em 1960 e hoje é largamente utilizado para a otimização de processos que envolvem fatores experimentais pela capacidade de fornecer melhores condições de análises a esses processos. O Box-Behnken deriva da combinação entre planejamentos fatoriais fracionados, sendo uma espécie de planejamento rotacional em que cada variável apresenta três níveis e os pontos experimentais encontram-se distribuídos de maneira equidistante do ponto central (BOX E BEHNKEN, 1960; BEZZERRA et al., 2008; GOMES, 2013).

Como mostra a Figura 9 (FERREIRA et al., 2007), o modelo se caracteriza por um conjunto de pontos distribuídos medialmente em cada aresta de um cubo multidimensional com réplicas no ponto central (CHOPRA et al., 2007; MARTINS, 2010).

**Figura 9:** Representação esquemática do cubo multidimensional com os pontos do planejamento Box-Behnken a serem analisados



Fonte: (FERREIRA et al., 2007)

É importante ressaltar que esse modelo obedece a fórmula experimental  $N = 2k(k-1) + PC$ , onde  $k$  é a quantidade de variáveis e  $PC$  a quantidade de pontos centrais; que cada fator apresenta apenas três variáveis codificadas (-1, 0, 1) correspondentes respectivamente aos níveis baixo, intermediário e alto; e que o fato de não realizar combinações para todos os fatores é uma vantagem desse tipo de planejamento por evitar experimentos em condições extremas que normalmente geram resultados insatisfatórios (GUO et al., 2008; GOMES, 2013).



*Objetivos*

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1 Objetivo geral

Produzir dispersões sólidas de rutina por *spray-drying* através de um planejamento experimental Box-Behnken para incrementar sua solubilidade aquosa.

#### 3.2 Objetivos específicos

- ✓ Produzir misturas físicas e dispersões sólidas por meio de *spray-drying* utilizando carreadores hidrofílicos em diferentes proporções;
- ✓ Avaliar o perfil de solubilidade aquosa das dispersões sólidas de rutina e verificar as que apresentaram maior solubilidade comparado ao ativo puro;
- ✓ Utilizar um planejamento experimental do tipo Box-Behnken para estudar as variáveis do processo e suas influências nas dispersões sólidas de rutina;
- ✓ Estudar o perfil de dissolução *in vitro* das dispersões sólidas contendo rutina em comparação com a rutina pura;
- ✓ Caracterizar as dispersões sólidas de rutina obtidas no processo de *spray drying* que apresentaram maior solubilidade, bem como suas respectivas misturas físicas;
- ✓ Realizar um estudo de estabilidade das dispersões contendo rutina usando termoanálise, DTA e TG;
- ✓ Realizar um estudo de estabilidade complementar das dispersões contendo rutina usando DRX, e MEV.

# *Material e Métodos*

## 4. MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

#### 4.1.1 *Matérias primas e solventes*

- Rutina
- PVP K-30
- Aerosil<sup>®</sup> 200
- Etanol

#### 4.1.2 *Principais equipamentos*

- Analisador térmico - SDT Q600 - TA Instruments
- Espectrofotômetro - UVmini-1240 - Shimadzu
- Spray-dryer SD 0.5 - Labplant

### 4.2 Métodos

#### 4.2.1 *Padronização de metodologia analítica para a quantificação da rutina por espectrofotometria no UV-Vis*

Os estudos de quantificação de rutina nas dispersões sólidas foram feitos por meio de espectrofotometria na região do UV-Vis no comprimento de onda de 370 nm, de acordo com Ferreira e Colombo (2011), utilizando espectrofotômetro UV-mini 1240 da Shimadzu e cubeta de quartzo de um centímetro de caminho óptico. Para a padronização da quantificação da rutina foi construída uma curva de calibração com sete concentrações e observada sua linearidade. Essa metodologia foi validada como explica o tópico seguinte (4.2.2.). Os estudos de padronização da metodologia por UV-Vis foram utilizados para a quantificação de rutina nas dispersões sólidas e nos estudos de solubilidade e dissolução.

#### 4.2.2 Validação da metodologia analítica por espectrofotometria no Uv-Vis

A validação da metodologia analítica utilizada para a quantificação da rutina teve como principal objetivo garantir a qualidade e confiabilidade do método. O processo de validação avaliou os parâmetros analíticos de linearidade, precisão, exatidão e seletividade segundo especificado pela resolução nº 899 de 29 de maio de 2003 e pela Conferência Internacional sobre a harmonização dos requisitos técnicos para o registro de produtos farmacêuticos para uso humano em 2005. (BRASIL, 2003, ICH, 2005).

- Linearidade

A linearidade do método analítico foi avaliada por meio da construção de curvas analíticas para sete concentrações diferentes. Inicialmente foi preparada uma solução estoque de rutina na concentração de 100 mg/mL em meio aquoso. Partindo da solução estoque foram feitas sete diluições em água destilada nas proporções de 1:1, 1:2, 1:4, 1:6, 1:8, 1:10 e 1:12, obtendo-se soluções com concentrações finais de 10; 12; 14; 18; 25; 42 e 62 µg/mL, em seguida foi feita a leitura dessas soluções em espectrofotômetro Uv-Vis no comprimento de onda de 370 nm. O experimento foi realizado em triplicata. As curvas analíticas foram construídas a partir da relação entre as absorvâncias e suas respectivas concentrações. A análise estatística dos dados foi obtida pelo método de regressão dos mínimos quadrados e expressa pela equação de primeira ordem:

$$y = ax + b$$

Onde:

a- Coeficiente angular fornecido pela inclinação da reta;

b- Coeficiente linear, dado pelo ponto de interseção da reta com o eixo das ordenadas;

x- Concentrações das soluções;

y- Absorvâncias das soluções.

As faixas lineares foram calculadas utilizando-se o coeficiente de correlação linear (r), com o critério mínimo aceitável de 0,99 (BRASIL, 2003).

- Precisão

A precisão do método analítico espectrofotométrico foi avaliada através da leitura em sextuplicata de diluições da solução padrão na concentração do ponto médio da curva de calibração (18 µg/mL). A precisão foi avaliada em dois níveis, sendo eles a repetibilidade (precisão intra-corrída) e a precisão intermediária (inter-corrída), por analistas diferentes, sendo expressas como coeficiente de variação (CV%) de acordo com a equação:

$$CV = DP / CMD$$

Onde:

CV – Coeficiente de variação;

DP - Desvio padrão;

CMD – Concentração média determinada.

- Exatidão

A exatidão do método foi determinada por análises em triplicata de três soluções do fármaco em diferentes faixas de concentrações, sendo uma em baixa concentração, uma em média concentração e uma em alta concentração correspondendo respectivamente a 10; 18; 62 µg/mL. A análise foi realizada em triplicata e a exatidão foi expressa pela relação entre a concentração média determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente.

- Seletividade

Avaliou-se a seletividade por meio do estudo da interferência dos constituintes (Aerosil e PVP) na quantificação da rutina por espectrofotometria no Uv-Vis,  $\lambda = 370$  nm. A seletividade do método foi determinada pela análise de uma solução desses constituintes na concentração mais elevada analisada (62 µg/mL), sendo a solução de rutina submetida as mesmas condições. Todas as amostras foram filtradas em filtros de membrana de 0,45 µm e o experimento foi realizado em triplicata.

#### 4.2.3 Planejamento experimental para produção de micropartículas de Rutina

A obtenção das micropartículas de dispersão sólida de Rutina foi realizada utilizando um planejamento experimental do tipo Box-Behnken, onde cada fator é estudado em três níveis, +1 (nível alto), 0 (nível médio) e -1 (nível baixo), e três variáveis, X1, X2 e X3, num total de 15 experimentos. As variáveis estudadas foram temperatura (T), porcentagem de Rutina (%R) presente na dispersão e porcentagem de Aerosil (%A) presente na dispersão. A Tabela 1 a seguir mostra a matriz de planejamento com variáveis codificadas e não codificadas.

**Tabela 1:** Planejamento Box-Behnken com suas variáveis codificadas e não codificadas

Experimento	X1	X2	X3	T	%R	%A
1	-1	-1	0	60°C	500mg	1g
2	1	-1	0	100°C	500mg	1,5g
3	-1	1	0	60°C	1,5g	1,5g
4	1	1	0	100°C	1,5g	1g
5	-1	0	-1	60°C	1g	1g
6	1	0	-1	100°C	1g	1g
7	-1	0	1	60°C	1g	2g
8	1	0	1	100°C	1g	2g
9	0	-1	-1	80°C	500mg	1g
10	0	1	-1	80°C	1,5g	1g
11	0	-1	1	80°C	500mg	2g
12	0	1	1	80°C	1,5g	2g
13	0	0	0	80°C	1g	1,5g
14	0	0	0	80°C	1g	1,5g
15	0	0	0	80°C	1g	1,5g

\* Variáveis codificadas: X1 – Temperatura, X2 - %Rutina, X3% Aerosil \*Variáveis não codificadas: T- Temperatura, %R – porcentagem de rutina, %A- porcentagem de aerosil

#### 4.2.4 Preparo das dispersões sólidas por spray-drying

Para o preparo das dispersões sólidas foram inicialmente pesados a rotina, bem como os carreadores Aerosil e PVP nas quantidades determinadas para cada amostra do planejamento experimental. Após pesadas as amostras foram diluídas em solução de água destilada (50 %) e etanol (50%) e homogeneizadas com auxílio de agitador magnético seguindo então para o processo de nebulização.

Para a produção das micropartículas de dispersão sólida foi utilizado o aparelho de spray-dryer operando de acordo com os seguintes parâmetros:

- Vazão da bomba peristáltica de 0,3 L/h;
- Vazão do ar de secagem de 3,5 m<sup>3</sup>/min;
- Vazão do ar comprimido 40 L/min;
- Temperatura de entrada: 60°C (experimentos 1,3,5,7), 80°C (experimentos 9,10,11,12,13,14, 15), 100°C (experimentos 2,4, 6,8);
- Temperatura de saída: 60°C (experimentos 1,3,5,7), 80°C (experimentos 9,10,11,12,13,14, 15), 100°C (experimentos 2,4, 6,8).

#### 4.2.5 Preparo das misturas físicas

Para o preparo das misturas físicas foram utilizados PVP e Aerosil juntamente com o fármaco puro nas proporções de 1:9 (10% de Rutina, 45% Aerosil, 45% PVP) e 1:1 (50% de Rutina, 25% Aerosil, 25% PVP). Cada amostra foi homogeneizada manualmente por 10 minutos.

#### 4.2.6 Determinação do rendimento do processo de spray-drying

Os rendimentos dos experimentos foram determinados pela razão entre a massa das micropartículas obtidas (M1) e a massa de dispersão de Rutina em Aerosil e PVP (M2) como mostra a seguinte equação:

$$R = \frac{\text{massa obtida da dispersão sólida}}{\text{massa inicial carreadores + rotina}} \times 10$$



#### 4.2.7 Determinação do teor de umidade

A determinação do teor de umidade foi realizada utilizando-se balança analítica e estufa. Amostras de 300 mg de cada dispersão microparticulada foram pesadas e em seguida colocadas em estufa a temperatura de 110°C durante 1 hora, quando foram retiradas e novamente pesadas. Feito isso o processo foi repetido a cada 30 minutos até que amostras atingiram peso constante. As análises foram realizadas em triplicada e o teor de umidade fornecido em porcentagem.

#### 4.2.8 Análise de variância por superfície de resposta

A metodologia de superfície de resposta é fundamentalmente um conjunto de técnicas estatísticas usadas em pesquisa com a finalidade de determinar as melhores condições e fornecer maior conhecimento sobre determinado experimento, isto é, são aproximações matemáticas. Essa metodologia se compõe pelo planejamento e pela análise dos experimentos relacionando as respostas com os níveis de fatores quantitativos que afetam essas respostas (SILVA, 2008).

Os dados foram analisados estatisticamente usando o *software* Statística versão 7 (StatSoft), módulo visual “General Linear Model”. A análise estatística foi realizada nas variáveis utilizadas no planejamento tipo BoxBehnken (T, %R, %A) em relação aos resultados de caracterização destas micropartículas (rendimento, teor de umidade) Esta análise estatística teve o objetivo de escolher as melhores condições operacionais do equipamento e os experimentos para outras análises de caracterização. Os valores decodificados dos níveis de cada fator são mostrados na Tabela 2. Os níveis baixo, médio e alto estão representados como -1, 0 e +1, respectivamente. A análise estatística foi realizada considerando os três fatores avaliados (T, %R, %A), seus termos quadráticos (T<sup>2</sup>, %R<sup>2</sup>, %A<sup>2</sup>) e as interações dois a dois (T x %R, T x %A, %R x %A). Foi considerado como significativo os fatores (T, %R, %A), seus termos quadráticos (T<sup>2</sup>, %R<sup>2</sup>, %A<sup>2</sup>) e as interações dois a dois (T x %R, T x %A, %R x %A) que apresentaram valores menores que 5.

**Tabela 2:** Fatores estudados no planejamento experimental Box-Behnken e seus níveis

FATORES	NÍVEIS		
	-1	0	1
Temperatura	60°C	80°C	100°C
%Rutina	500mg	1g	1,5g
%Aerosil	1g	1,5g	2g

#### 4.2.9 Estudo de solubilidade das dispersões sólidas

O estudo da solubilidade foi feito a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1$  em água sob agitação magnética controlada por 48 horas. As dispersões foram pesadas e diluídas em água na concentração de 12, 5 mg/mL de rutina e seguiram para agitação com temperatura controlada como descrito acima. Posteriormente as amostras foram filtradas em membrana Millipore de 0,45  $\mu\text{m}$  usando um sistema a vácuo. Estas amostras foram diluídas e suas absorções foram determinadas em espectrofotômetro de UV em 370 nm. Todas as análises foram feitas em triplicata. A amostra de dispersão sólida com melhor solubilidade foi submetida à avaliação físico-química.

#### 4.2.10 Estudo de dissolução *in vitro*

O ensaio de dissolução foi realizado em aparelho de dissolução modelo 299 da Nova Ética de acordo com a metodologia utilizada por Cangussú (2002), nas condições descritas a seguir:

- Meio de dissolução: água destilada;
- Sistema de agitação: cesta;
- Velocidade de rotação: 100rpm;
- Tempo: 60 minutos.

Foram submetidas ao ensaio a rutina isolada e a dispersão sólida microparticulada que obteve melhor solubilidade (DS3). Para a realização do ensaio foram retiradas alíquotas de 4 mL de cada uma das soluções nos tempos de 5, 10, 15, 30, 45 e 60 minutos, sendo cada alíquota imediatamente repostada ao meio de dissolução.

A quantificação foi feita por espectrofotometria na região do UV, no comprimento de onda de 370 nm. O ensaio foi realizado em condição sink.

#### *4.2.11 Estudo de análise térmica das dispersões sólidas*

##### *4.2.11.1 Análise Térmica Diferencial - DTA*

A dispersão de número 3 do planejamento experimental (DS3), as misturas físicas nas proporções de 1:1 (MF1) e 1:9 (MF2), bem como seus constituintes em separado (Rutina, Aerosil e PVP) foram submetidos a análise térmica diferencial (DTA) no SDT Q600 - TA Instruments. 2 mg  $\pm$  0,05 de cada amostra foi pesada em porta-amostra de alumina. Estas foram e submetidas a um aquecimento na razão de 10°C/min de 25°C a 450°C em atmosfera de nitrogênio a 50 mL/min. Os dados obtidos foram avaliados com o software Universal Analysis 2000 da TA Instruments.

##### *4.2.11.2 Termogravimetria - TGA*

A dispersão de número 3 do planejamento experimental (DS3), as misturas físicas nas proporções de 1:1 (MF1) e 1:9 (MF2), bem como seus constituintes em separado foram submetidos a análise termogravimétrica por um SDT Q600 - TA Instruments. Foi utilizado 5 mg  $\pm$  0,01 de cada amostra que foi colocado em um cadinho de alumina e submetido a um aquecimento na razão de 10 °C/min de 100 a 900 °C em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 30 mL/min. Os dados obtidos foram avaliados com o software Universal Analysis 2000 da TA Instruments.

#### *4.2.12 Técnicas complementares*

##### *4.2.12.1 Difração de Raios-X - DRX*

Amostras de rutina, aerosil, pvp, misturas físicas e DS3 foram submetidas à análise de difração de raios-X. O equipamento usado nas análises foi um difratômetro

de raios X modelo D5005 Bruker-Siemens, equipado com uma fonte selada de cobre ( $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ) na faixa entre os ângulos de incidência  $2\theta$  entre  $2^\circ$  e  $50^\circ$  a uma velocidade angular de  $0,02^\circ/\text{s}$  operando numa voltagem de 40 kV e corrente de 30 Ma.

#### 4.2.12.2 Microscopia Eletrônica de Varredura

As morfologias das micropartículas foram obtidas pela análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV). Primeiramente as amostras receberam um banho de ouro em atmosfera de argônio e posteriormente foram analisadas usando um MEV da marca Philips modelo XL 30 FEG. As amostras analisadas foram a rutina, aerosil, pvp, misturas físicas e DS3. As análises foram feitas em aumentos de 500 a 40000 vezes.

*Resultados e  
Discussão*

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Padronização e validação de metodologia analítica para a quantificação da rotina por espectrofotometria no UV-Vis

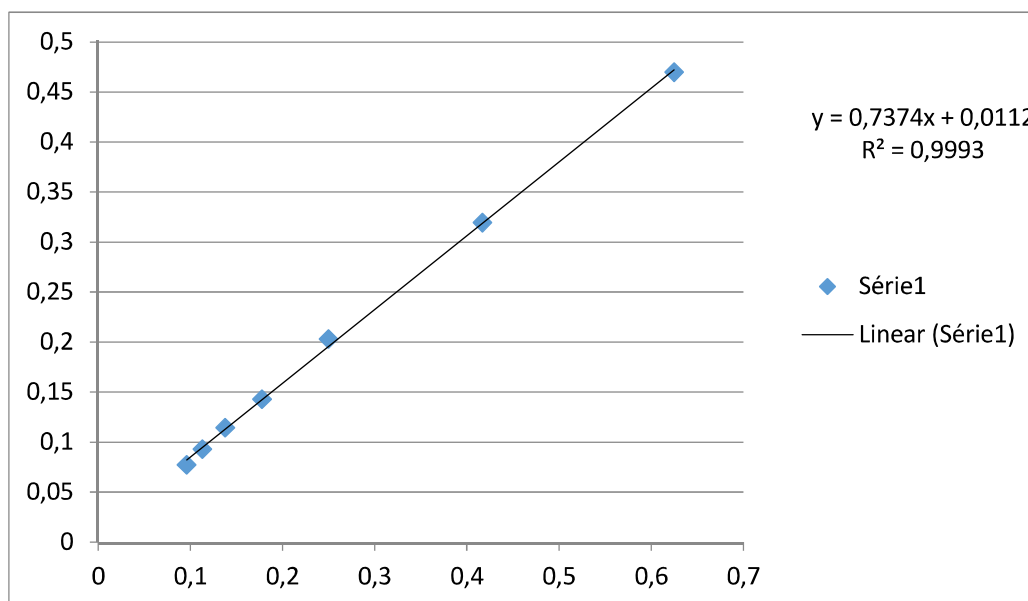
A espectrofotometria UV-Vis se consolidou como método para quantificação de substâncias por apresentar além de sensibilidade satisfatória, um baixo custo de execução e simples aplicação. A técnica é muito utilizada no controle de qualidade de produtos farmacêuticos e alimentícios (SILVA; SANTOS; BATISTUTI, 2013).

Um dos desafios da atualidade tem sido a quantificação de metabólitos secundários devido a diversidade e abundância presente nas matrizes vegetais. Nessa perspectiva a espectrofotometria UV-Vis consta em grande parte dos compêndios oficiais como metodologia eficiente para quantificação e controle de qualidade de drogas vegetais e seus derivados (MATOS et al., 2016).

A padronização da metodologia foi feita observando-se a linearidade alcançada pela curva de calibração construída que apresentou coeficiente de correlação linear  $r = 0,9993$ , seguindo-se então para o processo de validação da metodologia analítica. A validação da metodologia desenvolvida para a quantificação da rotina seguindo os parâmetros de linearidade, precisão, exatidão e seletividade foi realizada para garantir a confiabilidade e reprodutibilidade dos dados por espectrofotometria no UV-Vis.

A linearidade é descrita como a habilidade que uma metodologia analítica possui de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais a concentração do analito na amostra dentro de um intervalo especificado (BRASIL, 2003). A curva de absorbância versus a concentração da rotina apresentou resposta linear em uma faixa de concentração de 10 a 62  $\mu\text{g/mL}$ . A Figura 10 mostra a curva analítica para a rotina no comprimento de onda  $\lambda = 370\text{nm}$ .

**Figura 10:** Curva analítica obtida para a rotina na faixa de concentração de 10 a 62 µg/mL, por espectrofotometria Uv-vis em 370 nm.



Em conformidade com a análise estatística de regressão linear dos mínimos quadrados pode-se afirmar que o método é linear no intervalo de 10 a 62 µg/mL, obtendo-se um coeficiente de correlação linear  $r=0,9993$ , de acordo com a especificação da RDC 899/03 que tem  $r = 0,99$  como critério mínimo aceitável, e equação da reta  $y=0,7374x + 0,0112$ .

A precisão de um procedimento analítico expressa o grau de dispersão entre uma série de medidas obtidas por meio da múltipla amostragem de uma mesma amostra homogênea em condições previstas, isto é, avalia a proximidade dos resultados obtidos (BRASIL, 2003). Já a exatidão de um método analítico expressa o grau de concordância entre o valor obtido e o que é aceito como valor verdadeiro convencional ou valor teórico (ICH, 2005).

Como mostram as Tabelas 3 e 4, respectivamente, o método mostrou-se preciso com valores de coeficiente de variação inferiores a 5% para os ensaios intra e intercorrida de acordo com as recomendações da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA (2003). Com relação a determinação da exatidão, demonstrou-se proximidade entre os valores teóricos de concentração e os valores obtidos pelo método. De modo que é possível garantir que os valores de concentração encontrados estão próximos do valor real com percentual de erro irrelevante.

**Tabela 3:** Precisão do método espectrofotométrico validado

Parâmetro	Concentração Teórica (µg/mL)	Concentração Obtida (µg/mL)	Precisão (%)
Precisão Repetibilidade	18	17,86 ± 0,005	0,87
Precisão Intermediária			
Analista 1	18	18,27 ± 0,006	0,90
Analista 2	18	18,08 ± 0,008	1,23

**Tabela 4:** Exatidão do método espectrofotométrico validado

Parâmetro	Concentração Teórica (µg/mL)	Concentração Obtida (µg/mL)	Exatidão (%)
Exatidão			
Nível baixo	10	9,66 ± 0,003	93,15
Nível Médio	18	17,86 ± 0,005	98,61
Nível Alto	62	61,71 ± 0,004	98,09

A seletividade é um dos parâmetros mais importantes a ser avaliado no desenvolvimento de um método analítico e deve ser avaliado continuamente durante o processo de validação e subsequente utilização do método (SILVA et al., 2010). Segundo a legislação vigente, um método pode ser considerado seletivo quando nenhum interferente da matriz, na ausência de fármaco, apresenta absorvância no comprimento de onda específico para o fármaco que está sendo analisado (BRASIL, 2003, ICH, 2005).

Nesse estudo foi avaliado o grau de interferência do Aerosil e do PVP k-30 sobre a rutina. As amostras analisadas não apresentaram absorvância significativa no comprimento de onda de  $\lambda = 370$  nm. Portanto, o método mostrou-se seletivo para a rutina na presença dos componentes citados.



## 5.2 Rendimento do processo

A determinação do rendimento foi feita para cada um dos 15 experimentos, como está apresentado na Tabela 5. Foi possível observar que houve rendimento satisfatório para todos os experimentos variando de aproximadamente 31% (experimento 7) a 52% (experimento 8). Esses resultados foram considerados positivos e compatíveis com os resultados apresentados pela literatura para experimentos similares feitos com utilização de *spray-dryer* com capacidade de 1 litro/ hora que não apresentaram rendimentos superiores a 50% (AMERI; MAA, 2003, MARTINS, 2010).

**Tabela 5:** Rendimento das dispersões microparticuladas de rutina obtidas por *spray drying*

Experimento	T	%R	%A	Rendimento
1	60°C	500mg	1g	36,595
2	100°C	500mg	1,5g	40,000
3	60°C	1,5g	1,5g	32,803
4	100°C	1,5g	1g	47,080
5	60°C	1g	1g	36,785
6	100°C	1g	1g	48,817
7	60°C	1g	2g	31,771
8	100°C	1g	2g	52,053
9	80°C	500mg	1g	39,669
10	80°C	1,5g	1g	45,404
11	80°C	500mg	2g	37,646
12	80°C	1,5g	2g	50,158
13	80°C	1g	1,5g	45,305
14	80°C	1g	1,5g	43,857
15	80°C	1g	1,5g	44,776

Com relação a análise de variância (ANOVA) do processo, como mostra a Tabela 6, o único fator que afetou significativamente o rendimento do processo foi a temperatura (T), sendo significativa a 5%.

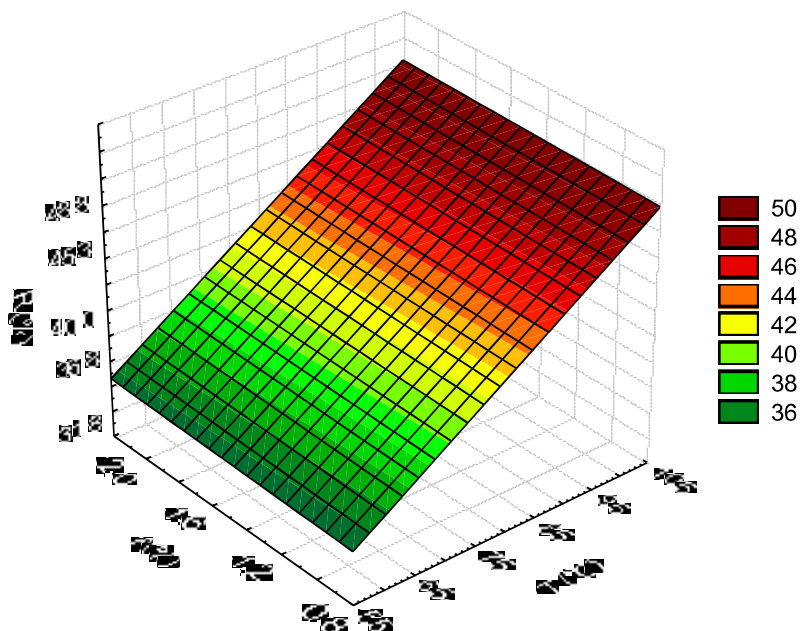
**Tabela 6:** Análise de variância do rendimento das micropartículas contendo rutina obtidas por *spray drying*.

Fatores	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P
T	312,450	1	312,450	26,7745	<b>0,003542*</b>
T <sup>2</sup>	37,682	1	37,682	3,2291	0,132274
R	57,970	1	57,970	4,9675	0,076280
R <sup>2</sup>	20,077	1	20,077	1,7205	0,246627
A	0,114	1	0,114	0,0097	0,925263
A <sup>2</sup>	3,025	1	3,025	0,2592	0,632327
TxR	29,550	1	29,550	2,5322	0,172419
TxA	17,016	1	17,016	1,4581	0,281230
RxA	11,482	1	11,482	0,9839	0,366781
Erro	58,348	5	11,670		

Significante a: \*5%

A Figura 11 mostra o gráfico da superfície de resposta do rendimento das dispersões sólidas microparticuladas obtidas pelo processo de *spray-drying* e corrobora com a análise de variância evidenciando a temperatura de produção das micropartículas como fator interferente no seu rendimento, não estando este relacionado a associação com outras variáveis do processo. Isto é, a medida que a temperatura de produção aumenta se obtém maior rendimento das micropartículas.

**Figura 11:** Gráfico de superfície de resposta do rendimento (R) em função da porcentagem de Aerosil (A) e da temperatura (T)



### 5.3 Teor de umidade

O teor de água remanescente em produtos farmacêuticos pode favorecer a ocorrência de contaminações microbianas e dessa maneira afetar a estabilidade física da formulação, o que torna o teste do teor de umidade imprescindível para evitar que ocorram alterações indesejáveis nas formulações (CARDOSO, 2014).

Sistemas produzidos com a utilização de polímeros hidrofílicos merecem atenção especial nesse sentido, uma vez que esse tipo de material tem a capacidade natural de absorver e reter umidade podendo comprometer a estabilidade desses sistemas (FAN; LEE; HAN, 2009). Como mostra a Tabela 7, os teores de umidade das 15 amostras foram satisfatórios estando bem abaixo dos 5% aceitáveis para esse tipo de formulação.

De modo geral, para formulações secas, teores de umidade inferiores a 5% são aceitos como indicadores de estabilidade porque a esse percentual normalmente não há crescimento microbiológico significativo como também estão diminuídas a ocorrência de reações de degradação química (PAGLIARUSSI; BASTOS; FREITAS, 2006).

**Tabela 7:** Teor de umidade das dispersões microparticuladas contendo rutina obtidas por *spray-drying*

<b>Experimento</b>	<b>T</b>	<b>%R</b>	<b>%A</b>	<b>Teor de Umidade</b>
1	60°C	500mg	1g	0,0993%
2	100°C	500mg	1,5g	0,0740%
3	60°C	1,5g	1,5g	0,0844%
4	100°C	1,5g	1g	0,0431%
5	60°C	1g	1g	0,1360%
6	100°C	1g	1g	0,0347%
7	60°C	1g	2g	0,0580%
8	100°C	1g	2g	0,0392%
9	80°C	500mg	1g	0,1246%
10	80°C	1,5g	1g	0,0151%
11	80°C	500mg	2g	0,0589%
12	80°C	1,5g	2g	0,0253%
13	80°C	1g	1,5g	0,0361%
14	80°C	1g	1,5g	0,0439%
15	80°C	1g	1,5g	0,0372%

Com relação a análise de variância pôde-se observar que apenas a relação entre a temperatura (T) e a porcentagem de Aerosil (TxA) interferiram significativamente no teor de umidade das amostras (Tabela 8).

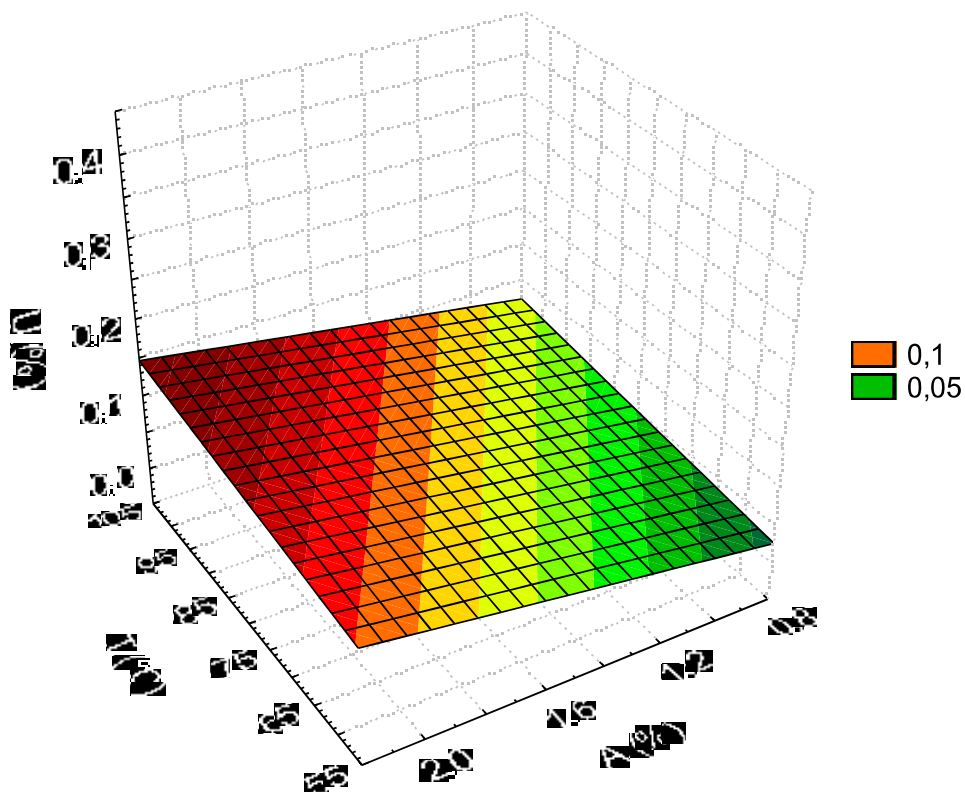
**Tabela 8** . Análise de variância do teor de umidade das micropartículas contendo Rutina obtidas por *spray drying*.

Fatores	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P
T	0,002813	1	0,002813	0,554187	0,490098
T <sup>2</sup>	0,016823	1	0,016823	3,314892	0,128296
R	0,005000	1	0,005000	0,985222	0,366488
R <sup>2</sup>	0,004523	1	0,004523	0,891247	0,388487
A	0,006613	1	0,006613	1,302956	0,305376
A <sup>2</sup>	0,008331	1	0,008331	1,641531	0,256318
TxR	0,000025	1	0,000025	0,004926	0,946766
TxA	0,048400	1	0,048400	9,536946	<b>0,027215*</b>
RxA	0,001225	1	0,001225	0,241379	0,644016
Erro	0,025375	5	0,005075		

Significante a: \*5%

A Figura 12 representa esses resultados no gráfico de superfície de resposta que assim como na análise de variância não identificou interferência de nenhum dos parâmetros isolados para o aumento ou diminuição do teor de umidade das micropartículas. O gráfico permite observar que quanto menor for a temperatura de produção das micropartículas assim como o teor de Aerosil, maior será o teor de umidade das micropartículas obtidas de maneira que a relação entre temperatura e a porcentagem de Aerosil interferiram diretamente no teor de umidade das micropartículas.

**Figura 12:** Gráfico de superfície de resposta da umidade (U) em função da porcentagem de aerossil (A) e da temperatura (T).



#### 5.4 Análise da solubilidade das dispersões sólidas microparticuladas

Assim como a rotina isolada, todos os experimentos foram submetidos ao ensaio de solubilidade sendo a determinação de suas concentrações realizadas por espectrofotometria UV-Vis a 370 nm. A solubilidade entre os experimentos apresentou variação aproximada entre 2  $\mu\text{g/ml}$  (experimento 11) e 9  $\mu\text{g/ml}$  (experimentos 1 e 9) como mostra a Tabela 9, sendo os experimentos 1, 8 e 9 os que apresentaram maior incremento de solubilidade.

**Tabela 9:** Solubilidade da rutina isolada e das micropartículas de rutina produzidas por spray-drying

<b>Experimento</b>	<b>Absorbância</b>	<b>Solubilidade</b>
1	0,8823	<b>9,450502</b>
2	0,5966	6,350963
<b>3</b>	<b>0,7770</b>	<b>8,308110</b>
4	0,3717	3,911039
5	0,3103	3,244915
6	0,3579	3,761324
7	0,5895	6,273935
8	0,4558	4,823434
9	0,8572	<b>9,178194</b>
10	0,3751	3,947925
11	0,2522	2,614592
12	0,3541	3,720098
13	0,4265	4,505560
14	0,4939	5,236778
15	0,4139	4,368864
Rutina	0,01705	0,180000

A análise estatística mostrou que não houve influência das variáveis do processo nos resultados da solubilidade (Tabela 10).



**Tabela 10:** Análise de variância da solubilidade das micropartículas contendo rutina obtidas por *spray drying*.

Fatores	Soma dos quadrados	Grau de liberdade	Quadrado médio	F	P
T	8,82000	1	8,82000	2,12658	0,204566
T <sup>2</sup>	3,51000	1	3,51000	0,84629	0,399811
R	7,41125	1	7,41125	1,78692	0,238898
R <sup>2</sup>	6,24000	1	6,24000	1,50452	0,274583
A	0,91125	1	0,91125	0,21971	0,658986
A <sup>2</sup>	4,88308	1	4,88308	1,17735	0,327418
TxR	0,42250	1	0,42250	0,10187	0,762502
TxA	1,10250	1	1,10250	0,26582	0,628127
RxA	10,24000	1	10,24000	2,46896	0,176917
Erro	20,73750	5	4,14750		

Significante a: \*5%

Os resultados dos experimentos chegaram a apresentar aumento de solubilidade de até  $\cong 9$  vezes em relação a rutina pura. Com relação as misturas físicas as micropartículas também apresentaram melhor perfil de solubilidade, porem pouco expressivo.

Anteriormente a esse estudo, alguns autores descreveram pesquisas com metodologias diferentes visando o incremento de solubilidade da rutina, a exemplo de Alluis, Perol; El Hajji; Dangles (2000) e Pedriali, (2005) que trabalharam com a síntese de derivados hidrossolúveis da rutina. Apesar da obtenção de derivados de rutina com a solubilidade aumentada, o processo de síntese torna-se dispendioso devido a sua complexidade e alto custo além da necessidade de estudos complementares que avaliem se a introdução de grupamentos químicos reflete alterações na atividade biológica e estabilidade do fármaco.

Analisando os resultados do planejamento fatorial foi escolhido o experimento 3 para os ensaios físico-químicos e determinação da dissolução *in vitro*. Essa escolha foi feita pelo fato que essa formulação contém maior quantidade de rutina do que o experimento 9. Além disso, o experimento 3 apresentou um aumento de solubilidade de 8 vezes.

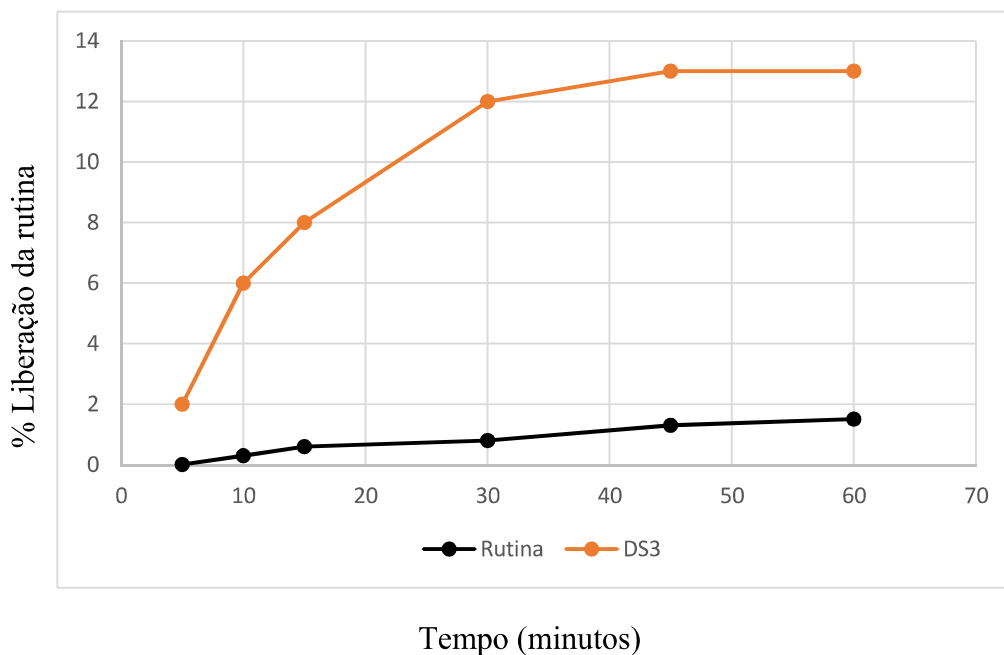
### 5.5 Análise do perfil de dissolução *in vitro* das dispersões sólidas microparticuladas

O ensaio de dissolução permite avaliar a taxa de liberação *in vitro* do fármaco analisado fornecendo informações úteis para o desenvolvimento de uma formulação. Os dados obtidos em um ensaio de dissolução possibilitam a construção de uma curva da porcentagem do fármaco dissolvido em função do tempo. Assim é possível determinar a quantidade de substância ativa dissolvida no meio de dissolução quando o fármaco é submetido à aparelhagem específica sob condições experimentais definidas (BEZZON, 2013, LEUNER; DRESSMAN, 2000).

O ensaio de dissolução é indispensável no desenvolvimento de dispersões sólidas, uma vez que esse é capaz de avaliar se houve aumento na taxa de dissolução do fármaco. Além da dispersão é importante que o ensaio de dissolução seja realizado também com o fármaco puro utilizado na produção das dispersões para que haja um parâmetro de comparação (LEUNER; DRESSMAN, 2000).

A Figura 13 é referente ao ensaio de dissolução *in vitro* da rotina pura e do experimento de número 3 do planejamento experimental (DS3). A taxa de dissolução do fármaco puro (rotina) ultrapassou a margem de 1% apenas após o tempo de 45 minutos de ensaio e atingindo apenas 1,5% de liberação ao final do ensaio (60 minutos) evidenciando sua baixa solubilidade aquosa. Com relação a DS3 é possível observar que houve um aumento significativo no perfil de dissolução do fármaco uma vez que no tempo de 5 minutos se observa uma taxa de dissolução de 2%, já ultrapassando o valor obtido durante todo o experimento com a rotina pura. Ao final do experimento, as dispersões microparticuladas liberaram 13% de rotina. Na prática, as dispersões sólidas são capazes de proporcionar uma liberação *in vitro* aumentada quando comparadas a outras formas farmacêuticas convencionais (CRAIG, 2002)

**Figura 13:** Perfil de dissolução *in vitro* comparativo entre a dispersão microparticulada de rutina (DS3) e a rutina isolada



O aumento do perfil de dissolução, assim como da solubilidade (tópico 5.4), das micropartículas em comparação ao fármaco puro pode ser explicado pelo efeito de solubilização promovido pelo carreador e por um aumento da molhabilidade do fármaco como sugerido por Damian et al., (2000). O incremento de solubilidade das micropartículas pode estar associado ainda ao método de obtenção da DS3 que conferiu diminuição no tamanho das partículas, as quais passaram a apresentar maior área superficial de contato possivelmente conduzindo a uma liberação mais rápida do ativo.

Os resultados obtidos mostraram que foi possível elevar consideravelmente a taxa de dissolução da rutina nas micropartículas produzidas por *spray drying* utilizando pvp k-30 como carreador.

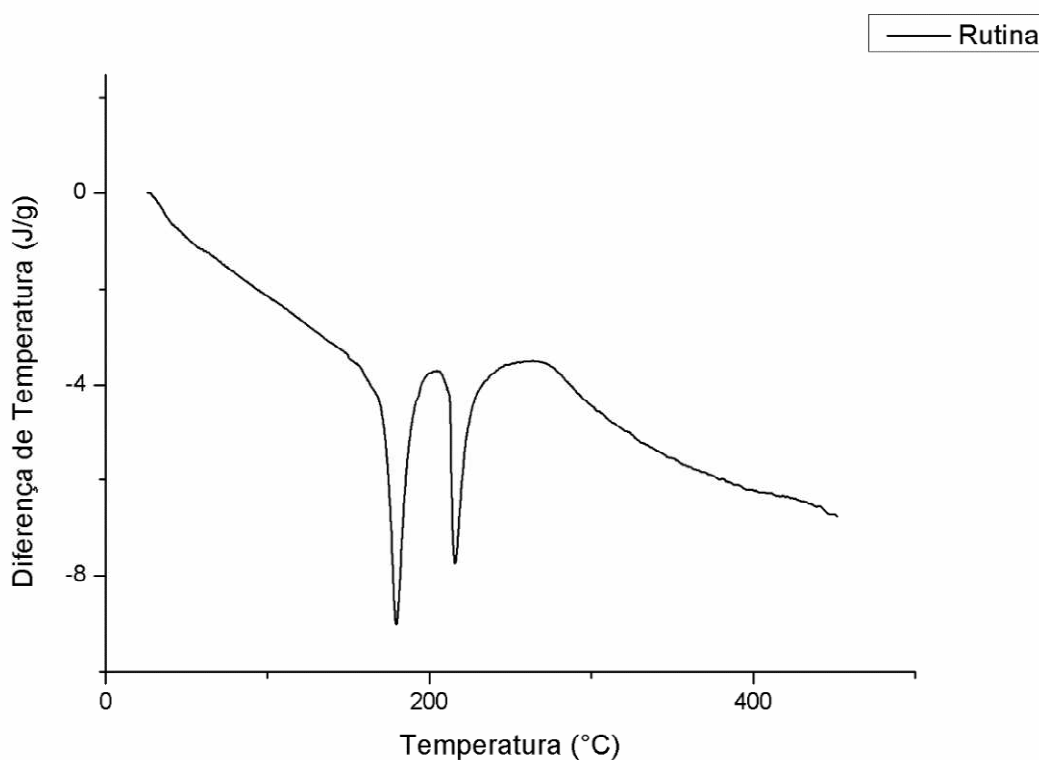
## 5.6 Caracterização das dispersões sólidas

Para a caracterização foi escolhida a amostra 3 do planejamento experimental por apresentar no contexto geral as melhores condições para a produção das micropartículas. Além dessa amostra foram feitas as caracterizações dos seus componentes isolados (rutina, PVP k-30 e Aerosil), bem como das misturas físicas

(MF1 e MF2), para avaliação de possíveis eventos decorrentes do processo de obtenção das micropartículas.

### 5.6.1 Análise Térmica Diferencial - DTA

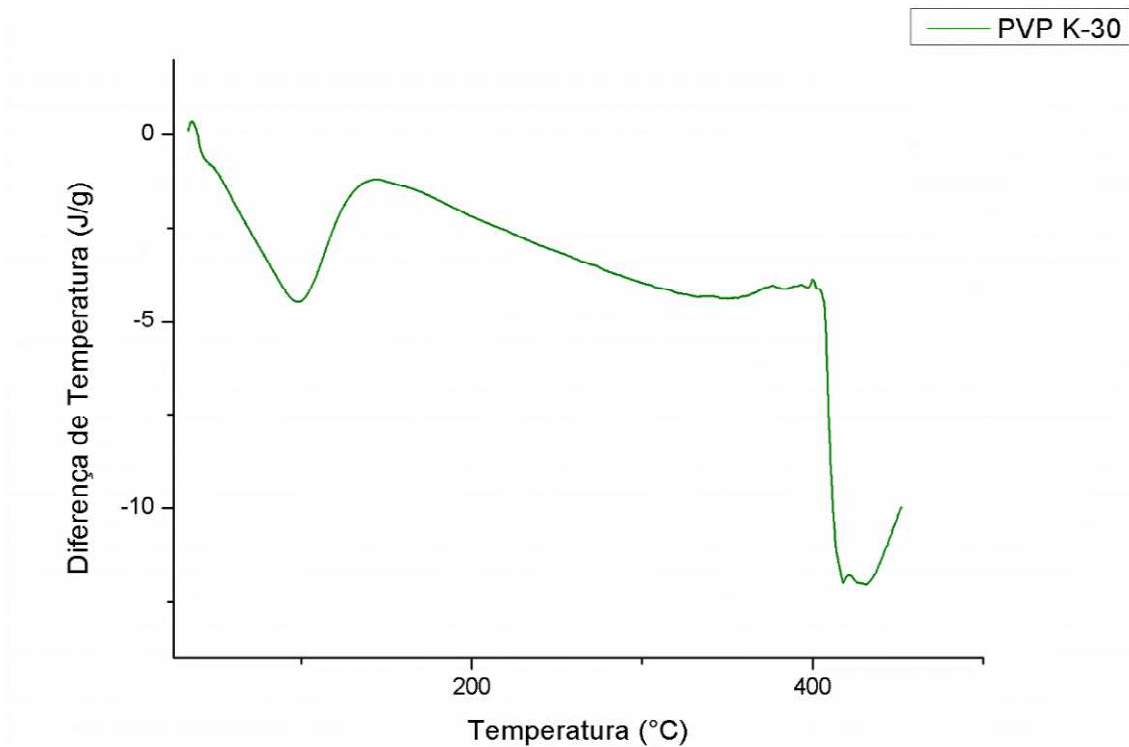
A análise térmica diferencial das amostras citadas foi utilizada com a finalidade de detectar possíveis interações entre a rutina e os demais constituintes das dispersões sólidas microparticuladas. A Figura 14 mostra a curva da rutina pura em que é possível observar o primeiro pico endotérmico a 179,74 °C característico da fusão da rutina. Noriega et al., 2010, em estudo de droga vegetal utilizando a rutina como marcador, descreve pico semelhante referente a fusão desse flavonoide. É possível ainda observar um segundo pico endotérmico a 215,79 °C possivelmente referente a interferentes constantes na matéria prima.



**Figura 14:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA- Rutina

A Figura 15 mostra a curva do PVP k-30 em que pode ser observado o primeiro pico endotérmico a 97,61°C referente a transição vítrea do material. Com o aumento da temperatura é possível identificar um segundo evento endotérmico no gráfico, também

descrito na Tabela 11, sugestivo de degradação. DU et al., (2006) em estudos com

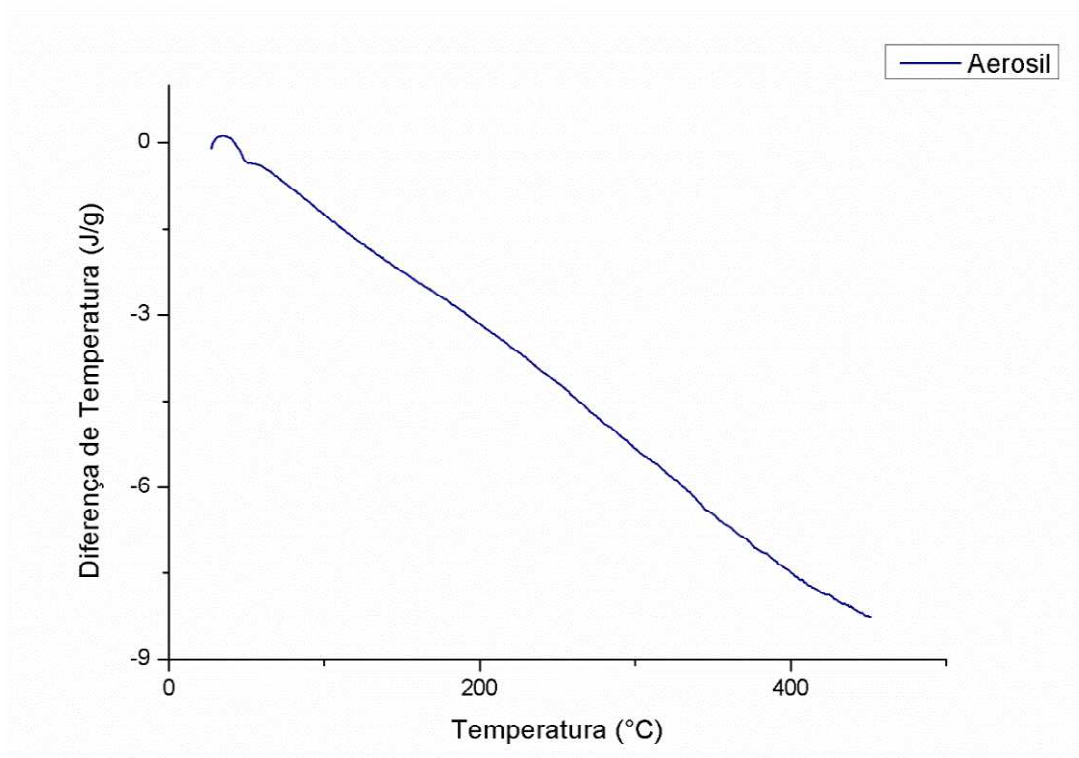


polímeros encontrou eventos semelhantes em curvas de DTA para PVP.

**Figura 15:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA- PVP-k30

A Figura 16 apresenta a curva do Aerosil onde nenhum pico pôde ser observado devido a apresentação amorfa dessa substância.

**Figura 16:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA – Aerosil

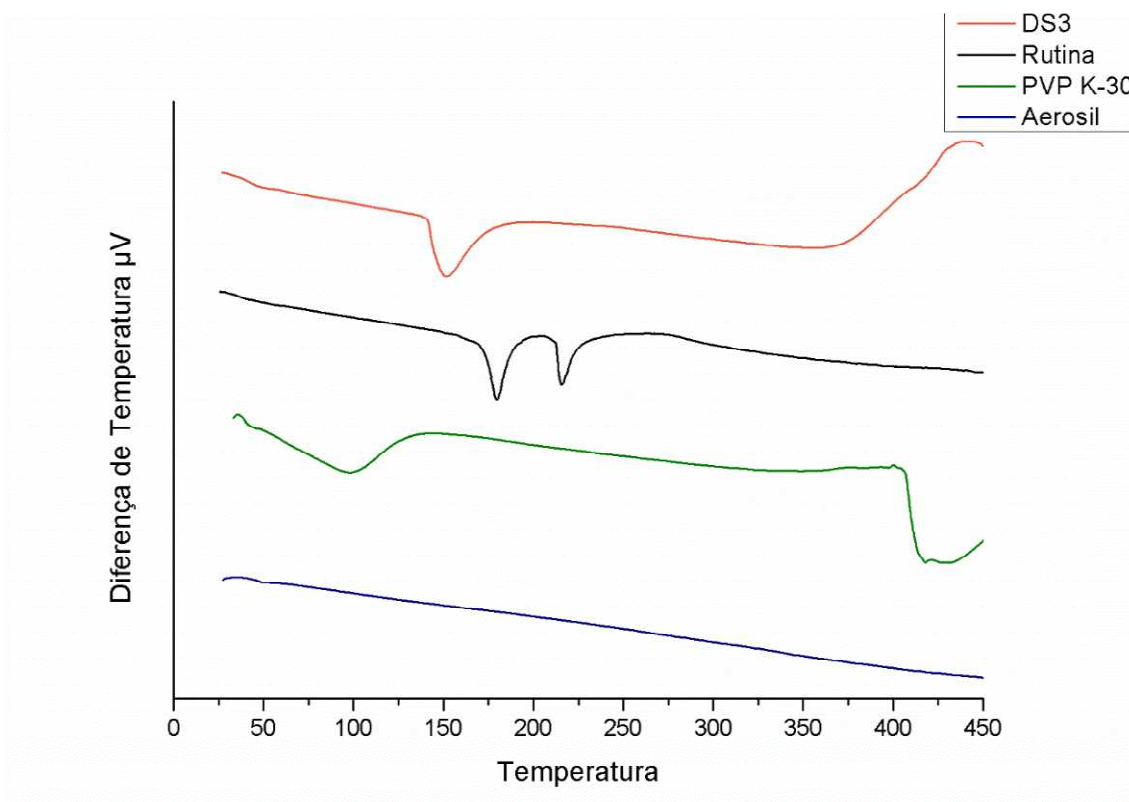


A Figura 17 mostra a curva da micropartícula de dispersão sólida de rutina (DS3) em comparação as curvas de seus constituintes. É possível observar que o primeiro pico encontrado na curva da rutina pura se repetiu na curva da DS3, ocorrendo porém uma antecipação, ocorrendo a 151,82 °C, antecipação essa que se deve a interação fármaco-excipiente. O segundo pico foi suprimido, e a 441,02 °C é possível observar um pico exotérmico sugestivo de processo de degradação.

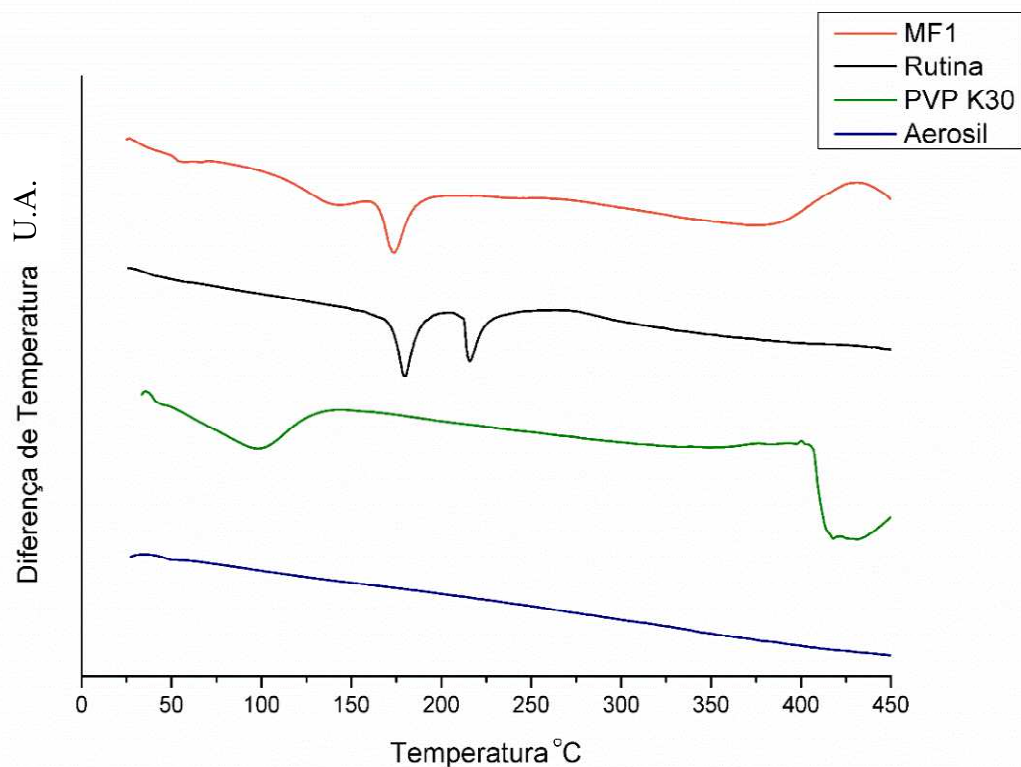
**Figura 17:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA das micropartículas contendo rutina (DS3) e seus constituintes

As figuras 18 e 19 apresentam as curvas de MF1 e MF2 (respectivamente) em comparação com as curvas de seus constituintes. Ambas mostram pequenos picos entre 100 e 125°C sugestivos de transição vítrea, podendo estar associados ao PVP como componente dessas misturas físicas, levando em consideração a descrição de transição vítrea  $T_g$  de 110°C da USP (2012) para essa substância. Semelhante a DS3 as curvas de MF1 e MF2 também apresentaram breves antecipações nos picos endotérmicos de fusão (173,44 °C e 173,73 °C, respectivamente) bem como picos sugestivos de processo de degradação (431,03 °C e 400,40 °C, respectivamente).

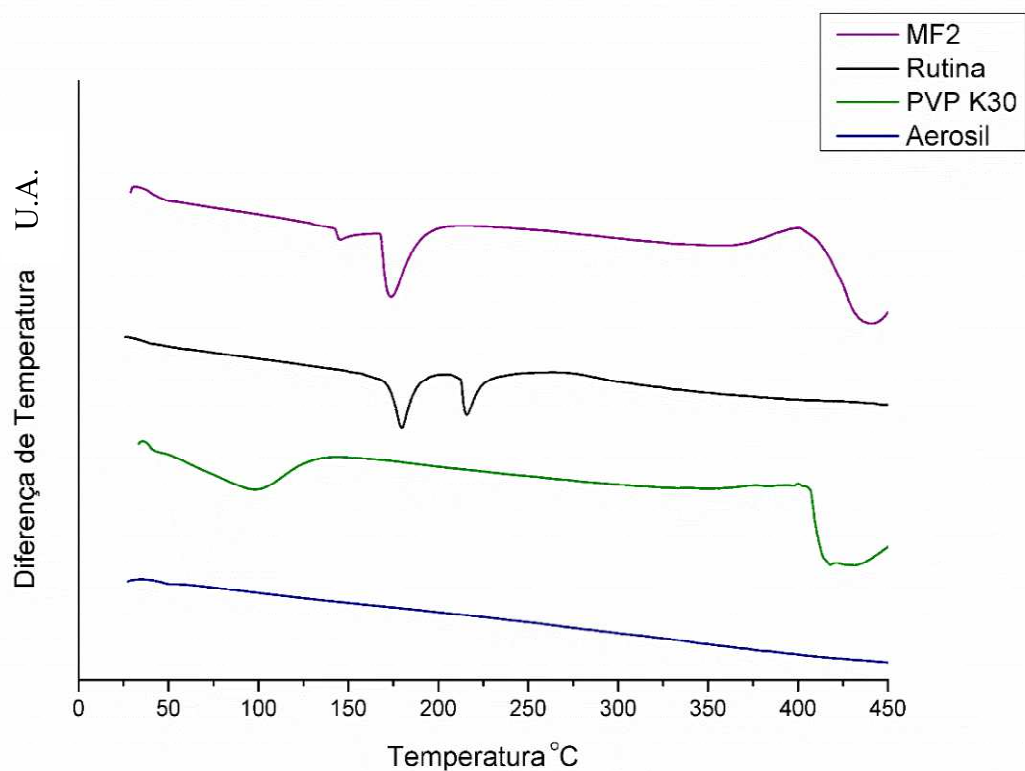
**Figura 18:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA da MF1 e seus



constituintes



**Figura19:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA da MF2 e seus constituintes

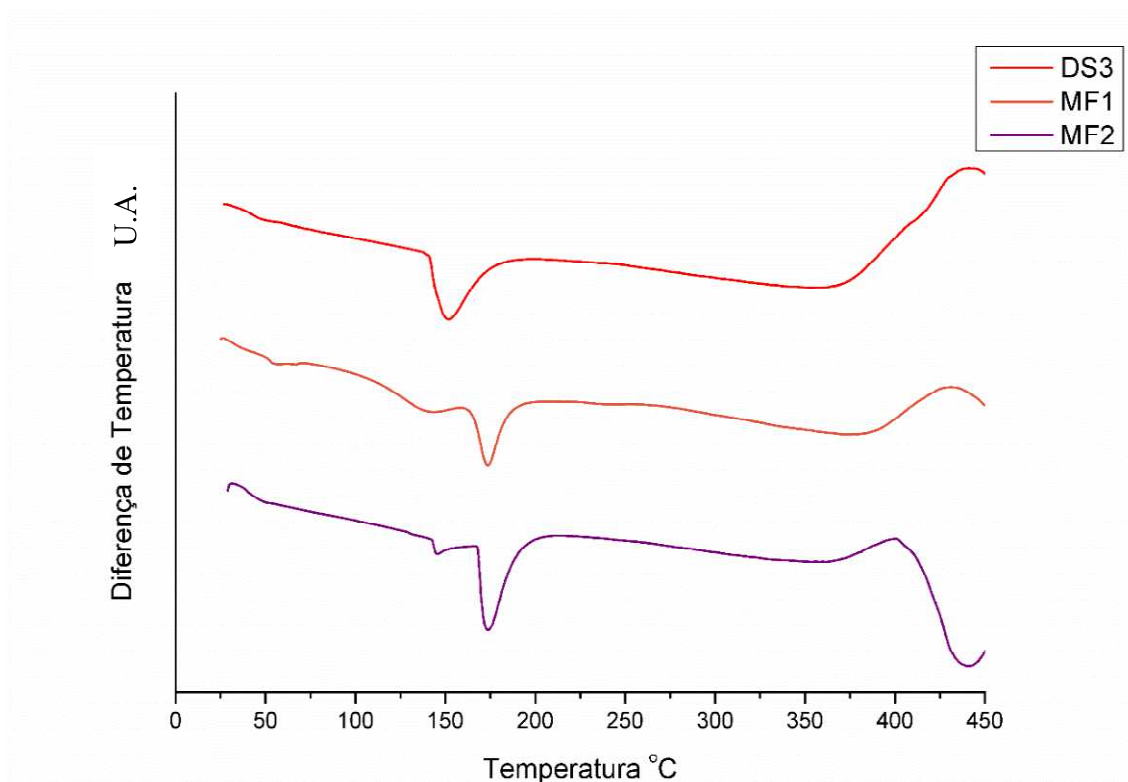


A Figura 20 permite a visualização e comparação da ocorrência dos eventos na DS3, MF1 e MF2. A instabilidade observada entre o perfil térmico das curvas pode ser



correlacionada ao aumento da solubilidade promovido pelas interações entre fármaco e excipiente levando também em consideração as alterações conferidas pelo processo de obtenção de cada amostra. As faixas de início e fim de cada evento bem como as diferenças de temperatura estão descritas na Tabela 11.

**Figura 20:** Curvas da análise térmica diferencial -DTA, comparativo entre DS3, MF1 e MF2



**Tabela 11:** Eventos térmicos encontrados na análise térmica diferencial

Curva	Evento 1			Evento 2		
	T0 °C	TF °C	$\Delta H$ J/g	T0 °C	TF °C	$\Delta H$ J/g
DS3	140,98	171,35	-279,85	401,19	438,81	124,32
MF1	167,96	182,90	-94,90	391,43	446,34	117,12
MF2	168,09	187,84	-175,56	376,46	434,06	346,60
Rutina	173,50	187,73	-137,32	212,58	223,35	-94,54
PVP K-30	53,75	123,82	-497,83	408,09	451,34	-575,19
Aerosil	*	*	*	*	*	*

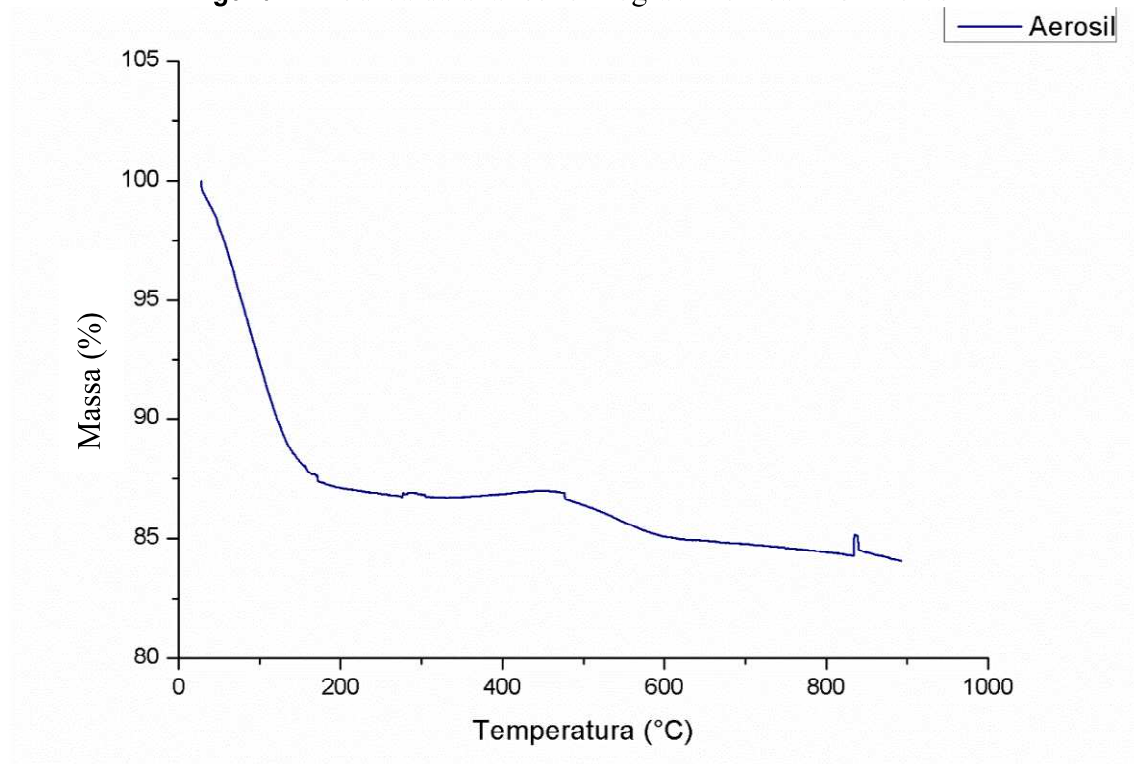
\*Ausência de identificação de evento térmico

### 5.6.2 Termogravimetria - TG

Entre as diversas aplicações da TG na área de insumos farmacêuticos, nesse trabalho a sua utilização teve por finalidade avaliar a estabilidade térmica das micropartículas de dispersão sólida de rutina (DS3) em comparação ao ativo puro, excipientes e misturas físicas (MF1 e MF2), uma vez que o processo de obtenção das micropartículas é submetido ao aquecimento térmico por um determinado período de tempo.

A Figura 21 apresenta a curva do Aerosil, que apesar de apresentar duas etapas de decomposição (Tabela 12), assim como no estudo de Alvarez; Salabarra e Perez (2013), não apresenta transições físicas importantes.

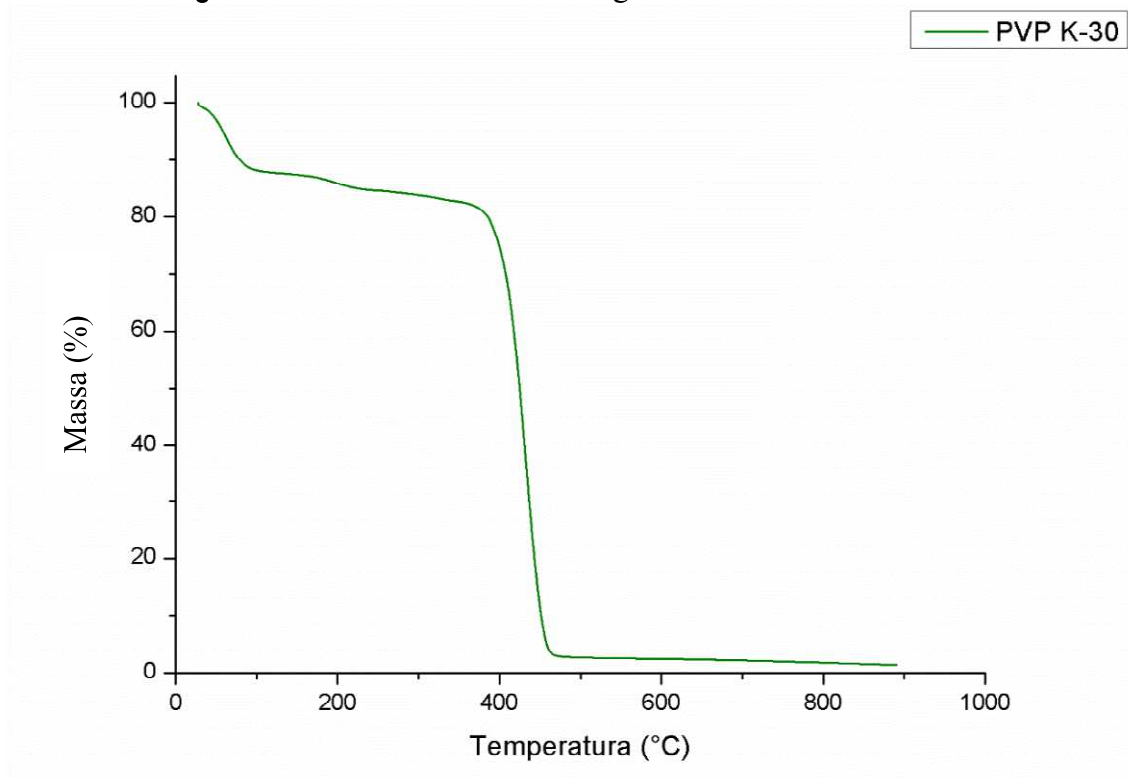
**Figura 21:** Curva da análise termogravimétrica- TG- Aerosil



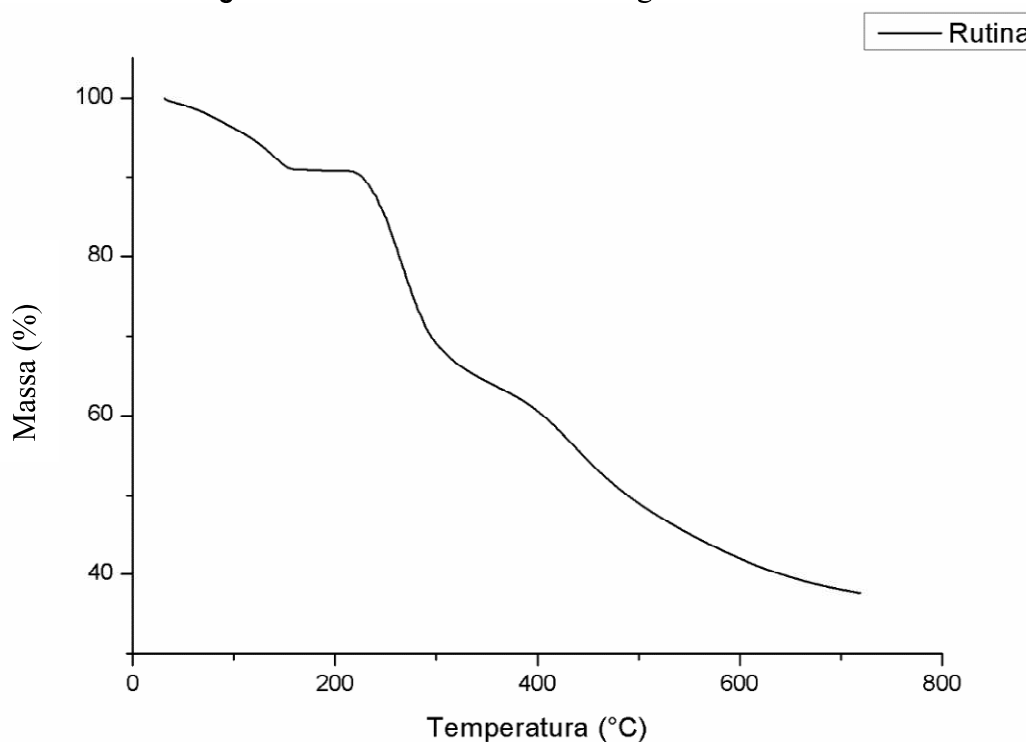
A Figura 22 apresenta a curva do PVP k-30, principal excipiente utilizado nesse estudo para incrementar a solubilidade da rutina por meio da produção de DS. A curva termogravimétrica do PVP k-30 indica duas etapas de decomposição, a primeira entre 30°C e 93°C com perda de massa de 11,5% referente a perda de umidade da amostra e evaporação de compostos voláteis. A segunda etapa entre 373°C e 475°C mostra a perda de massa mais expressiva da curva sendo de aproximadamente 78,9%. Esse

resultado corrobora com DU et al., (2006) que em pesquisa com polímeros isolados identificou nas suas curvas termogravimétricas que 95,25% do pvp se decompõe quando a temperatura é elevada até 500°C.

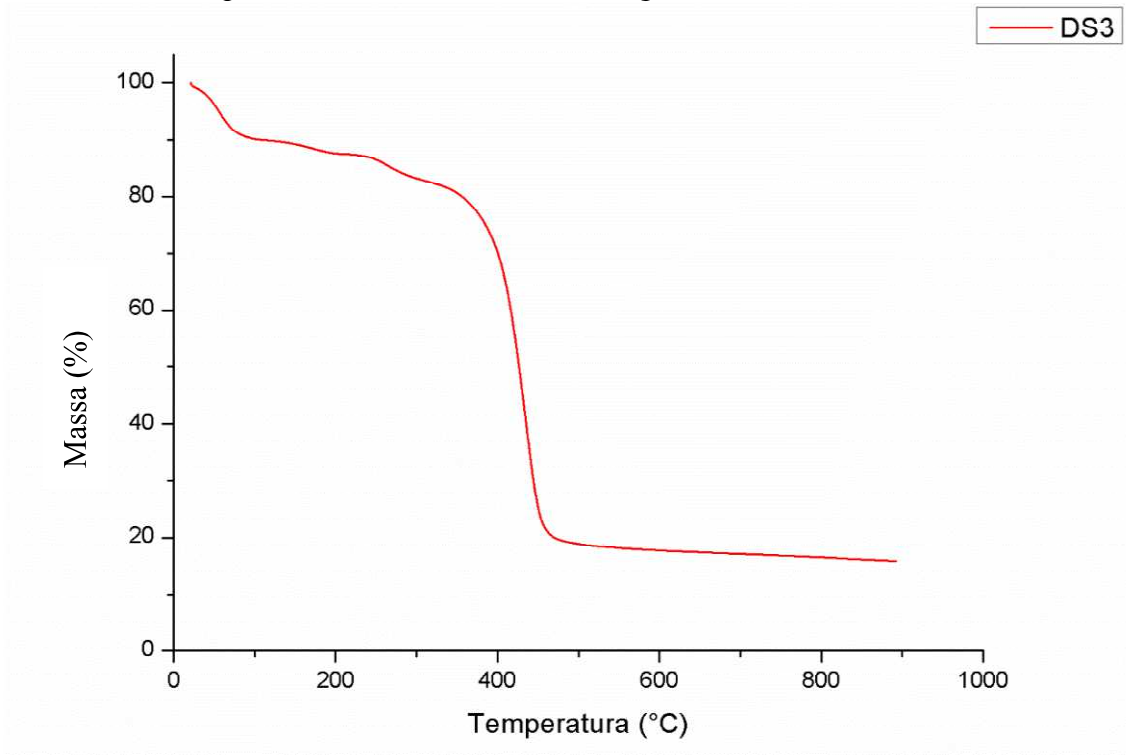
**Figura 22:** Curva da análise termogravimétrica- TG -PVP-K30



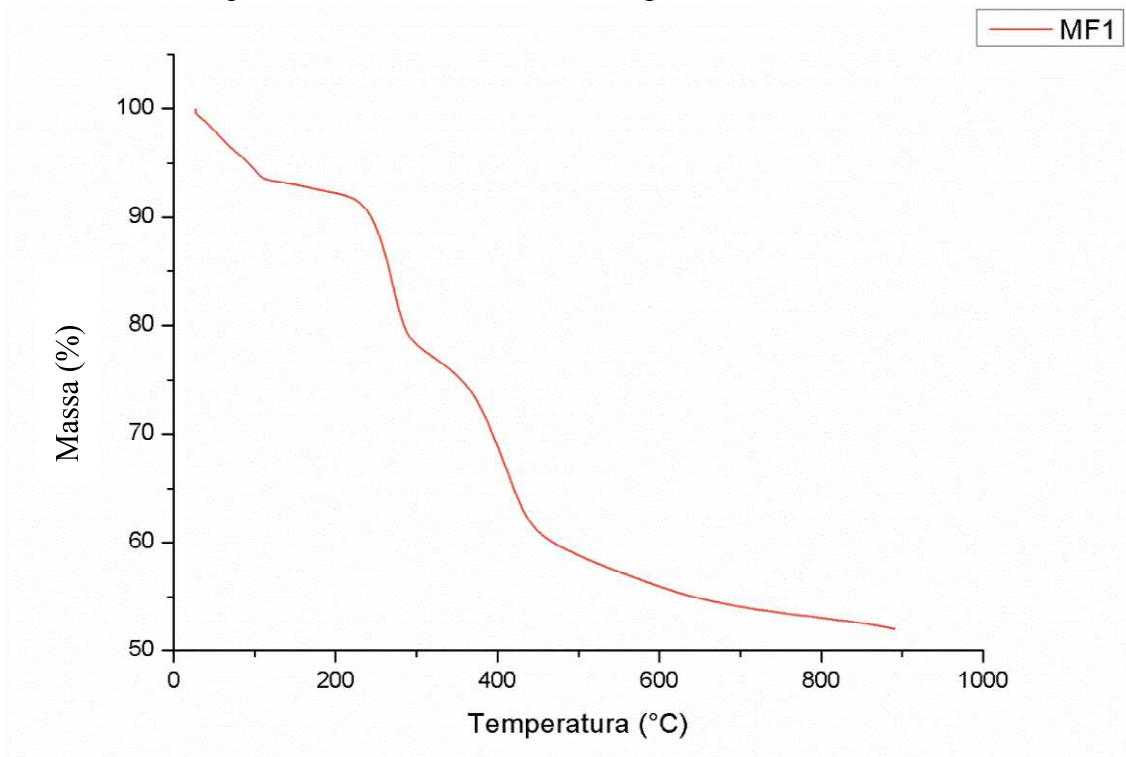
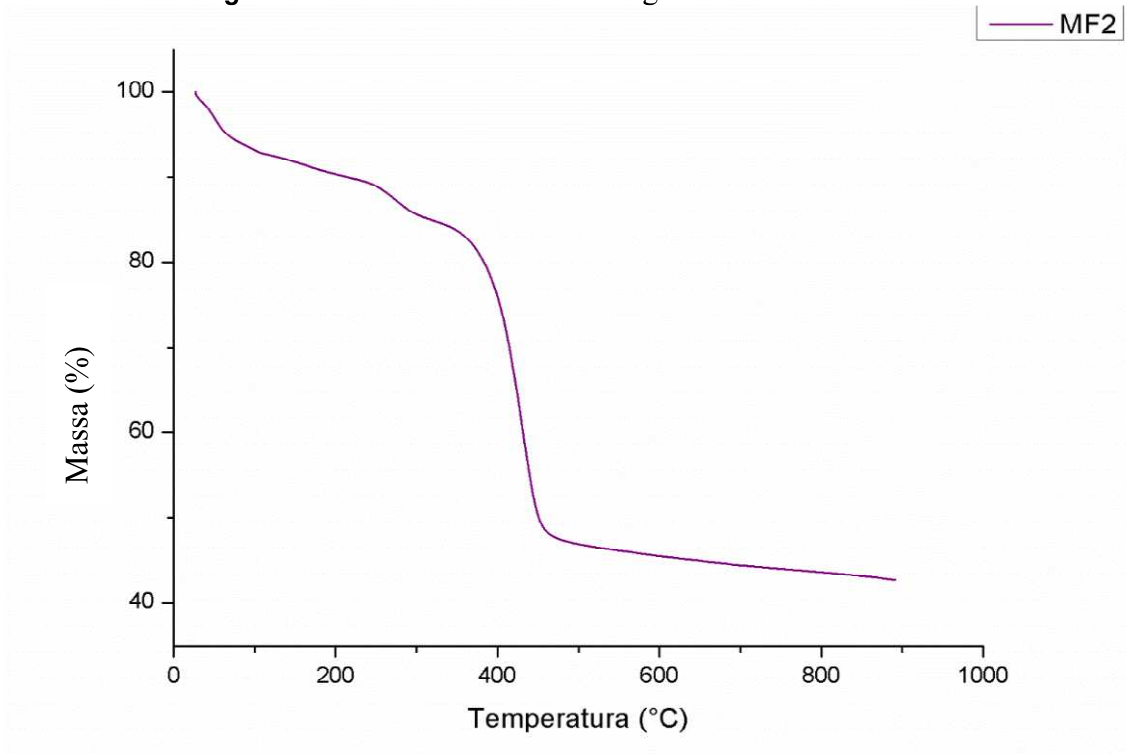
A Figura 23 mostra a curva termogravimétrica da rutina em que foi possível observar três etapas de perda de massa entre 30°C e 600°C. A primeira etapa ocorreu entre 30°C e 154°C, onde houve uma perda de massa de 8,8%, possivelmente correspondente a conversão da Rutina para a sua forma anidra. Entre 216°C e 300°C pôde-se observar uma rápida decomposição com perda de massa de aproximadamente 21,4%. A partir de 300°C a perda de massa ocorreu de forma gradativa até 600°C. Resultados semelhantes para curvas de TG de rutina foram encontrados por Costa et al., (2002) e mais recentemente por Oliveira, (2015). Estes autores sugeriram ainda que a decomposição da porção glicosídica da rutina ocorre a partir de 600°C havendo eliminação parcial do material carbonáceo formado nas etapas anteriores de decomposição

**Figura 23:** Curva da análise termogravimétrica -TG- Rutina

A Figura 24 apresenta a curva termogravimétrica da DS3, em que se observam duas etapas expressivas de perda de massa. A primeira etapa ocorreu rapidamente entre 30°C e 81,3°C com perda de massa correspondendo a 8,9%, semelhante a perda de massa observada no estudo da rutina pura, provavelmente associado a conversão da rutina para sua forma anidra bem como a perda de umidade da amostra. A partir de 81°C até 340°C o perfil de decomposição térmica da DS3 não se mostrou com grandes diferenças, havendo perda de massa irrisória, podendo-se sugerir que o processo de produção da DS3 alterou de forma positiva a estabilidade da rutina, visto que a DS3 manteve estabilidade térmica em faixa de temperatura superior a faixa de estabilidade térmica da rutina pura. A partir de 340°C até 474°C observou-se uma expressiva perda de massa de aproximadamente 61,8%. A partir dessa temperatura a curva mostrou-se estável com porcentagem mínima de perda de massa até 600°C.

**Figura 24:** Curva da análise termogravimétrica- TG – DS3

Os gráficos 25 e 26 mostram, respectivamente, as curvas termogravimétricas da MF1 e MF2. É possível observar que a curva de MF1 apresentou eventos semelhantes aos descritos pela curva da rutina pura, assim como a curva de MF2 se assemelhou a curva da DS3, o que pode ser explicado pela proporção das amostras, uma vez que 50% de MF1 é constituída de rutina e MF2 foi preparada nas mesmas proporções da DS3..As etapas de decomposição bem como a porcentagem de massa perdida em cada uma estão descritas na Tabela 12.

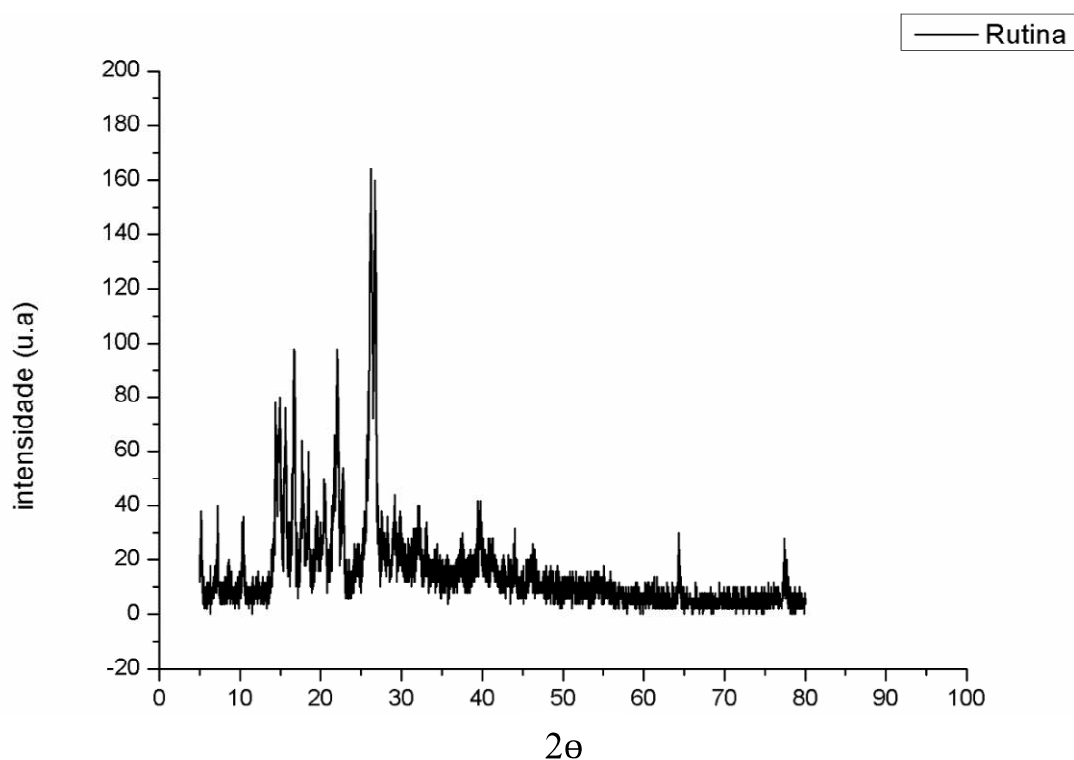
**Figura 25:** Curva da análise termogravimétrica- TG -MF1**Figura 26:** Curva da análise termogravimétrica -TG- MF2

**Tabela 12:** Etapas da termogravimetria

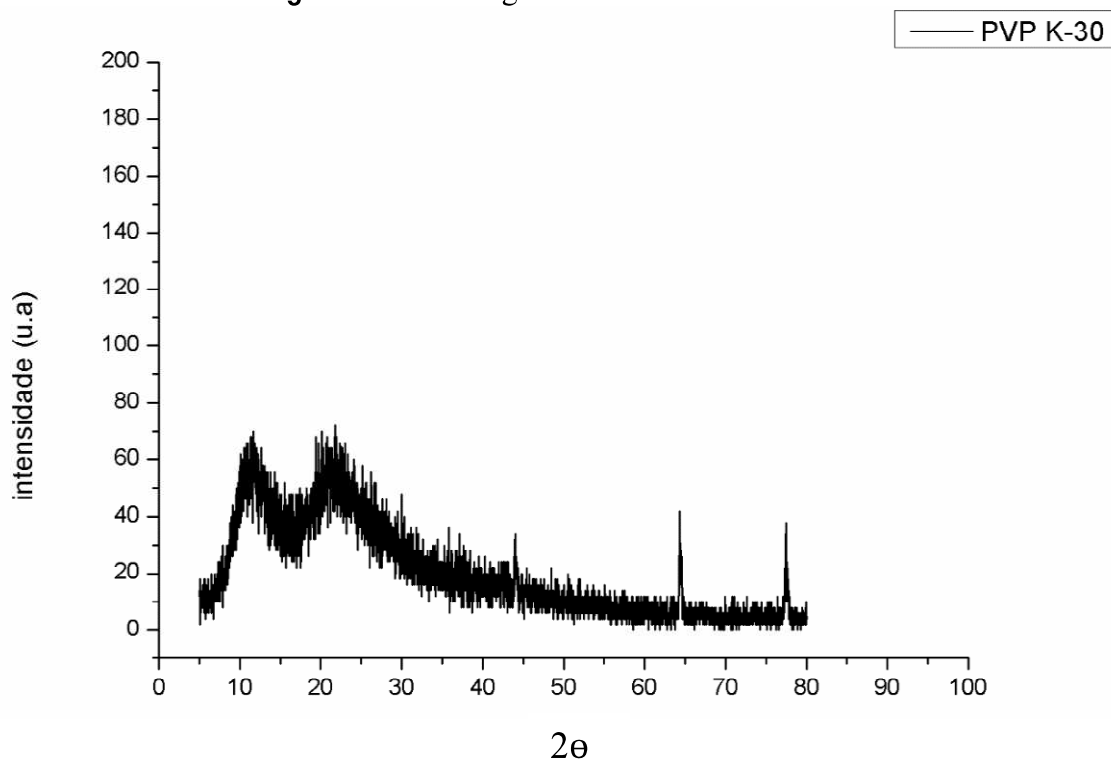
Amostra	Etapa 1			Etapa 2			Etapa 3		
	T0°C	TF°C	M(%)	T0°C	TF°C	M(%)	T0°C	TF°C	M(%)
Aerosil	30	190	12,7	275	600	1,6	*	*	*
PVP K-30	30	93	11,5	373	475	78,9	475	600	0,5
Rutina	30	154	8,8	216	300	21,4	300	600	27,1
DS3	30	81,3	8,9	340	474	61,8	474	600	2,0
MF1	30	109	5,9	215	300	14,0	300	600	22,3
MF2	30	93	6,3	224	470	48	470	600	2,2

### 5.6.3 Difração de raios x- DRX

A difração de raios x de pós é uma excelente técnica para a identificação de fases sólidas cristalinas uma vez que cada fase sólida cristalina possui um padrão específico de difração permitindo assim a sua identificação (MARTINS, 2010). Neste estudo análises de difração de raios x foram conduzidas com a finalidade de verificar mudanças na morfologia cristalina do fármaco. A Figura 27 apresenta o difratograma da rutina isolada. Os picos mais intensos foram identificados em ângulos  $2\theta$  em 17,1; 22,8 e o mais expressivo em 27,0, confirmando a característica cristalina da rutina descrita pela farmacopeia brasileira, uma vez que apresenta picos bem definidos (ANVISA, 2010).

**Figura 27:** Difratoograma da Rutina

No difratograma da Figura 28 (PVP k-30), é possível evidenciar que não ocorre a presença de picos definidos caracterizando o PVP como sólido amorfo, semelhantemente ao encontrado nos estudos de Santos, (2008); Van Drooge et al., (2006); Frizon, (2011), entre outros.

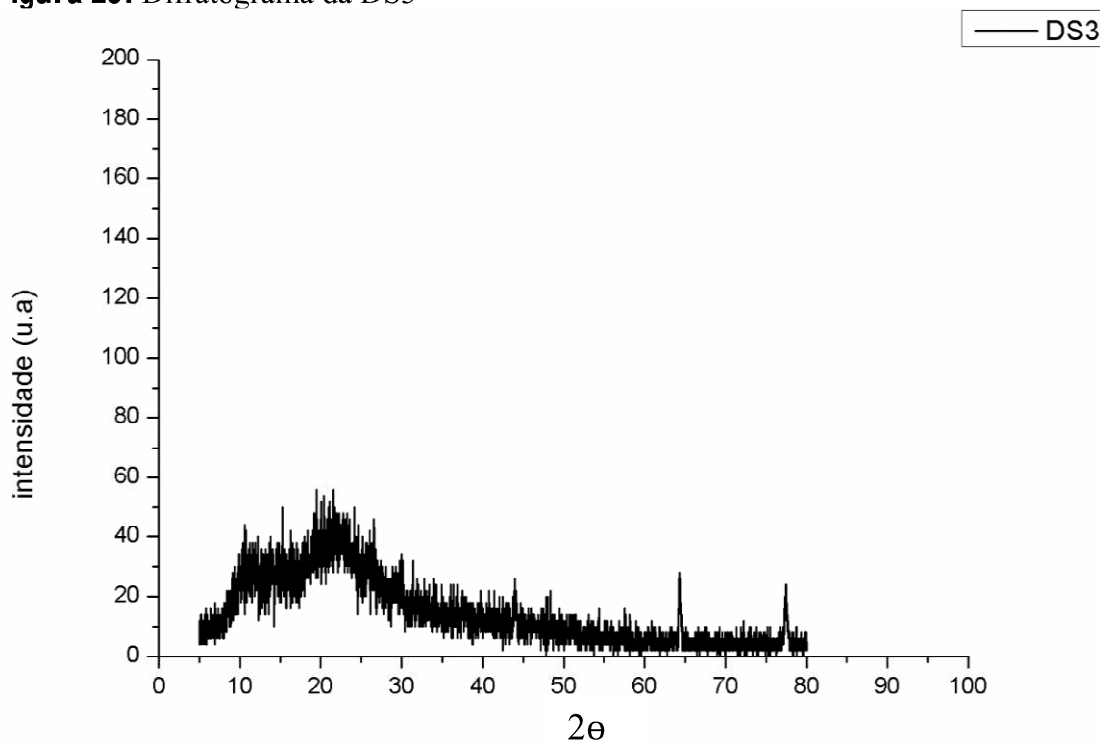
**Figura 28:** Difratoograma do PVP K-30



A Figura 29 é referente ao difratograma da DS3 em que observa-se completa amorfização da amostra através da presença de picos não definidos com ruídos abundantes, sugerindo que a amostra analisada não possui característica de cristalinidade. Sugere-se que o processo de amorfização se deu devido a mistura entre fármaco e carreador, uma vez que interações químicas entre estes podem alterar a organização do sistema, subvertendo a relação entre a entropia e entalpia do sistema, de modo favorável a manutenção do fármaco no estado amorfo (FRIZON, 2011).

A amorfização da amostra justifica ainda o incremento da solubilidade da DS3 quando comparada a rotina isolada. A utilização de formas amorfas de um fármaco é uma ferramenta útil para melhorar sua dissolução e biodisponibilidade. Fármacos cristalinos pouco solúveis em água quando no estado amorfo tendem a apresentar um aumento de solubilidade. Para fármacos com alta energia cristalina, uma alta composição amorfa pode ser obtida pela escolha dos carreadores os quais exibem interações específicas com o fármaco. Nas dispersões sólidas os fármacos estão presentes como soluções supersaturadas após a dissolução do sistema e se o fármaco precipitar será em uma forma polimórfica metaestável com alta solubilidade (SHARMA, et al, 2009).

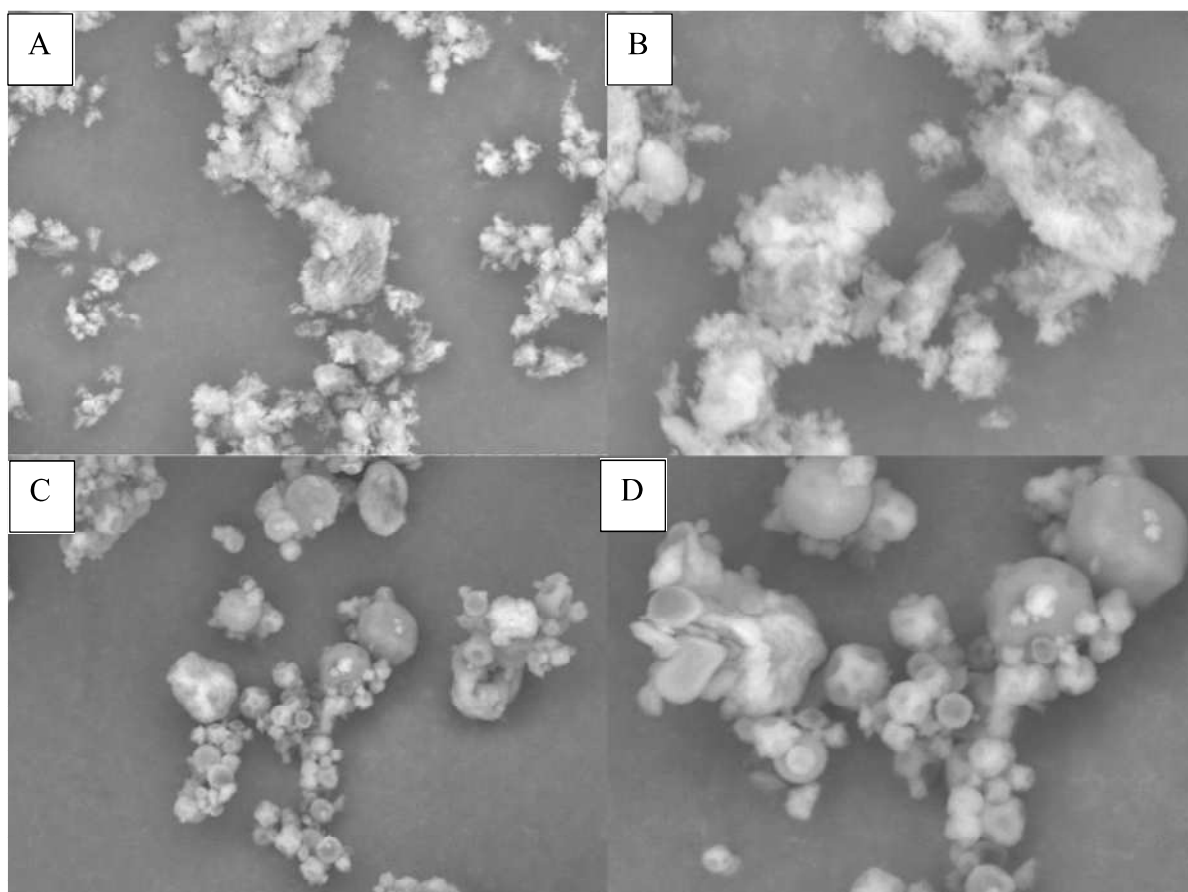
**Figura 29:** Difratoograma da DS3



#### 5.6.4 Microscopia Eletrônica de Varredura - MEV

A análise da morfologia das micropartículas foi feita por microscopia eletrônica de varredura. A Figura 30 A e B mostra as fotomicrografias da rutina pura nos aumentos de 2000x e 4000x em que é possível observar superfícies e formas irregulares características da morfologia cristalina do fármaco. As fotomicrografias (Figura 29 B e D) são referentes às micropartículas DS3, em que são observadas partículas mais regulares, de formato com tendência esférica e aglomeração característica do processo de secagem por *spray-drying* (PEIXOTO, 2012). Pode-se observar que na superfície das micropartículas não aparecem cristais de rutina mostrando que parte da rutina encontra-se dispersa no carreador.

**Figura 30:** Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura -MEV



- \* A- Rutina pura em aumento de 2000x
- B- Rutina pura em aumento de 4000x
- C- DS3 em aumento de 2000x
- D- DS3 em aumento de 4000x

*Conclusões*

## 6. CONCLUSÕES

Ao final deste trabalho foi possível concluir que o preparo das micropartículas de dispersão sólida de rutina por *spray-drying* obteve sucesso para com o objetivo a que se propôs, se mostrando como uma metodologia rápida e eficiente alcançando um significativo incremento da solubilidade quando comparado a rutina pura bem como um excelente aumento da taxa de dissolução *in vitro* da rutina em dispersão microparticulada quando comparada a sua forma isolada.

Ressalta-se ainda que as dispersões sólidas microparticuladas de rutina apresentam grande potencial para o desenvolvimento de nutracêuticos para fins de quimioprevenção, uma vez que obtiveram resultados satisfatórios que superaram as expectativas propostas por essa pesquisa, motivo pelo qual o presente estudo encerra-se apresentando como perspectiva futura estudos de pré-formulação para o desenvolvimento de um nutracêutico a partir das micropartículas de rutina obtidas.

# *Referências*

## REFERÊNCIAS

- ABBAS, S.; KARANGWA, E.; BASHARI, M.; HAYAL, K.; HONH, X.; SHARIF, H. R.; ZHANG, X. Fabrication of polymeric nanocapsules from curcumin-loaded nanoemulsion templates by self-assembly. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 23, p.81–92, 2015.
- AGUIAR, M. M. G. B. “Obtenção de Gel Mucoadesivo de Nistatina para o Tratamento da Candidíase Oral. Desenvolvimento e Caracterização de Dispersões Sólidas de Nistatina” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2016.
- ALBERTINI, B.; PASSERINI, N.; PATTARINO, F.; RODRIGUEZ, L. New spray congealing atomizer for the microencapsulation of highly concentrated solid and liquid substances. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 348-357, 2008.
- ALMEIDA, H. “Métodos para o incremento da solubilidade de substâncias activas pouco solúveis (BCS – Classe II)” Dissertação de Mestrado. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2009.
- ALSENZ, J; KANSY, M. High throughput solubility measurement in drug discovery and development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, n. 7, p. 546-567, 2007
- ALVES, L. D. S.; LYRA, M. A. M. D.; ROLIM, L. A.; PREMISCH, G. M. A.; ROLIM-NETO, P. J. Avanços, propriedades e aplicações de dispersões sólidas no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 1, p. 17-25, 2012.
- ÁLVAREZ, L. O. M.; SALABARRÍA, K. M.; PÉREZ, M. C. Compatibilidad química del piracetam determinada por calorimetría diferencial de barrido. **Revista Cubana de Farmacia**, v. 47, n. 1, p. 51-56, 2013.
- AMBIKE, A. A.; MAHADIK. K. R.; PARADKAR, A. Spray-Dried amorphous solid dispersions of simvastatin, a low Tg drug: in vitro and in vivo evaluations. **Pharm Res**, v. 22, n.6, p:990-98, 2005.
- AMERI, M.; MAA, Y-F. Spray drying of biopharmaceuticals: stability and process considerations, **Drying Technology**, v. 24, p. 763-768, 2003.

ANDRADE, J. I. K.; ROCCO, J. A. F. F.; BEZERRA, E. M.; IHA, M. E. V. S.; PINHEIRO, G. F. M. Análise térmica aplicada ao estudo de materiais energéticos. **Química Nova**, v. 30, n. 4, p. 952, 2007.

ANTONIO, S. G. "Aplicação da difração de raios X por policristais e do método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas no estudo de polimorfos cristalinos de fármacos." Tese de Doutorado, 161f., Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **5ª Edição da Farmacopéia Brasileira, v. 1 e 2**, Brasília, 2010.

ASHRAF-KHORASSANI, M.; TAYLOR, L. T.; KOETH, L. M.; ROUSH, J. A. Quantitative analysis of amoxicillin, clavulanic acid, and ticarcillin in multi-wells by liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry as a strategy for quality control. **Chromatographia**, v. 62, n. 9-10, p. 459-463, 2005.

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

BECHO, J. R. M.; MACHADO, H.; GUERRA, M. O. Rutina–estrutura, metabolismo e potencial farmacológico. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais-Animais e Humanos**, v. 1, n. 1, 2009.

BECHO, J. M. R.; PETERS, V. M.; MACEDO, R. M.; LUCINDA, L. M. F.; GUERRA, M. O. Avaliação toxicológica do flavanóide rutina no sistema reprodutor de ratos wista. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais-Animais e Humanos**, v. 7, n. 1, 2015.

BERNAL, C.; COUTO, A. B.; BREVIGLIERI, S. T.; CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais-DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p.849-855, 2002.

BERNARDI, L. S.; OLIVEIRA, P. R.; Murakami, F. S.; Silva, M. A. S. ;S. BORGMANN, H. M.; CARDOSO, S. G. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. **J Therm Anal Calorim**, v.97, p. 729–733, 2009.

BORTOLUZI, P.; LAPORTA, L. V. Equivalência farmacêutica e estudo comparativo dos perfis de dissolução de medicamentos contendo cimetidina. **Disciplinarum Scientia Saúde**, v. 8, n. 1, p. 21-38, 2008.

BEZERRA, M. A.; SANTELLI, R. E.; OLIVEIRA, E. P.; VILLAR, L. S.; ESCALEIRA, L. A. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. **Talanta**, v. 76, p. 965-977, 2008.

BEZZON, V. D. N. "Definição de limites para a identificação e quantificação de polimorfos do fármaco finasterida por difração de raios X por policristais." Dissertação de Mestrado, 199-f., Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2010.

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

BREITENBACH, J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.54, p. 107- 117, 2002.

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

BOTEZ, C. E.; STEPHENS, P. W.; NUNES, C.; SURYANARAYANAN, R. Crystal structure of anhydrous delta-d-mannitol. **Powder Diffraction**, v. 18, n. 3, p. 214-218, 2003

BOX, G. E. P.; BEHNKEN, D. W. Some new three level designs for study of quantitative variables. **Technometrics**, v.2, n.4, p. 455 - 475, 1960.

BUCHNER, N.; KRUMBEIN, A.; ROHN, S.; KROH, L. W. Effect of thermal processing on the flavonols rutin and quercetin. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, v. 20, n. 21, p. 3229-3235, 2006.

CANGUSSÚ, J. "Estudo de dissolução de cápsulas de gelatina dura contendo ginseng em diferentes formulações" Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2002.

CARDOSO, V. M. de O. "Síntese e caracterização de hidrogéis de amido retrogradado e goma gelana utilizados como matriz em sistemas de liberação cólon específica de fármacos." Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista Júlio Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo, Brasil, 2014.

CARMO, E. L. do; FERNANDES, R. V. de B.; BORGES, S. V. Microencapsulação por spray drying, novos biopolímeros e aplicações na tecnologia de alimentos. **Journal of Chemical Engineering and Chemistry**, v. 1, n. 2, p. 30-44, 2015.



CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.87, p.82– 97, 2014.

CHAMBI, H. N. M.; ALVIM, I.D.; BARRERA-ARELLANO, D.; GROSSO, C. R. F. Solid lipid microparticles containing water-soluble compounds of different molecular mass: production, characterization and release profiles. **Food Research International**, v. 41, p. 229-236, 2008.

CHAUHAN, B.; SHIMPI, S.; PARADKAR, A. Preparation and evaluation of glibenclamide-polyglycolized glycerides solid dispersions with silicon dioxide by spray drying technique. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, n. 2, p. 219-230, 2005.

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

CHIOU, W. L.; RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 60, n. 9, p.1281-1302, 1971.

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

CHUA, L. S. A review on plant-based rutin extraction methods and its pharmacological activities. **Journal of ethnopharmacology**, Amsterdam, v. 150, n. 3, p. 805-817, 2013.

CODEVILLA, C. F.; BAZANA, M. T.; SILVA, C. D. B.; BARIN, J. S.; MENEZES, C. R. Nanoestruturas contendo compostos bioativos extraídos de plantas. **Ciencia & Natura**, v.37, p.142-151, 2015.

COSTA, E. M.; BARBOSA FILHO, J. M.; NASCIMENTO, T. G.; MACÊDO, R. O. Thermal characterization of the quercetin and rutin flavonoids. **Thermochemica Acta**, v. 392, p. 79-84, 2002.

COSTA, S. P. M.; SILVA, K. E. R.; MEDEIROS, G. C. R.; ROLIM, L. A.; OLIVEIRA, J. F.; LIMA, M. C. A.; GALDINO, S. L.; PITTA, I. R.; NETO, P. J. R. Thermal behavior and compatibility analysis of the new chemical entity LPSF/FZ4. **Thermochemica Acta**. v.562, p.29– 34, 2013.

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

CUNHA, C. P.; GODOY, R. L. de O.; BRAZ-FILHO, R. Isolamento de Flavonoides de *Dipteryx odorata* por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 43-56, 2016.

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

DENNY, A.; BUTTRISS, J. Synthesis Report No 4: Plants Foods And Health: Focus on plant bioactives. **British Nutrition Foundation**, 2007. Disponível em: <[http://www.ipfn.ie/download/pdf/eurofir\\_report\\_plant\\_bioactives.pdf](http://www.ipfn.ie/download/pdf/eurofir_report_plant_bioactives.pdf)>. Acesso em: 11 mai. 2015.

DHIRENDRA, K.; LEWIS, S.; UDUPA, N.; ATIN, K. Solid dispersions: a review. **Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, n. 2, p. 234- 246, 2009.

DU, Y.; YANG, P.; MOU, Z.; HUA, N.; JIANG, L. Thermal decomposition behaviors of PVP coated on platinum nanoparticles. **Journal of applied polymer science**, v. 99, n. 1, p. 23-26, 2006.

ELOY, J. O.; OLIVEIRA, E. C. V. D.; OLIVEIRA, S. S. A. M.; SARAIVA, J.; MARCHETTI, J. M. Desenvolvimento e validação de um método analítico por CLAE para quantificação de ácido ursólico em dispersões sólidas. **Quimica Nova**, v. 35, n. 5, p. 1036-1040, 2012.

FAES, A.; FUERBRINGE, J. M.; MOHAMEDI, D.; WYSER, A. H.; CABOCHE, G. Design of experiment approach applied to reducing and oxidizing tolerance of anode supported solid oxide fuel cell. Part I: Microstructure optimization. **Journal of Power Sources**, v. 196, n. 17, p. 7058-7069, 2011.

FAN, X. J.; LEE, S. W. R.; HAN, Q. Experimental investigations and model study of moisture behaviors in polymeric materials. **Microelectronics Reliability**, v. 49, n. 8, p. 861- 871, 2009.

FERES, C. A.O.; MADALOSSO, R. C.; ROCHA, O. A.; LEITE, J. P. V.; GUIMARÃES, T. M. D. P.; TOLEDO, V. P. P.; TAGLIATI, C. A. Acute and chronic toxicological studies of *Dimorphandra mollis* in experimental animals. **Journal Ethnopharmacol**, v.108, p.450-456, 2006.

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

FERREIRA, C. H. A.; COLOMBO, R. Validation of an analytical method and spectrometric determination of flavonoids from sugarcane leaves and vinasse and comparison with an HPLC-UV method. **Química Nova**, v. 34, n. 9, p.1651-1655, 2011.

FRIZON, F. “Obtenção e caracterização das propriedades de dispersões sólidas de loratadina em polivinilpirrolidona.” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, Brasil, 2011.

GOMES, S. V. F. “Aplicação do planejamento Box-behnken na otimização de método de extração de flavonoides usando extração acelerada com solventes (ASE) e quantificação de marcadores químicos por CLAE-DAD-UV em espécies do gênero Passiflora.” Tese de Doutorado, Universidade Federal da Bahia. Salvador, Brasil, 2013.

GOMES, T. A.; COSTA, S. P. M.; MEDEIROS, G. C. R.; SILVA, C. R.; LYRA, M. A. M.; SILVA, K. E. R.; Neto, P. J. R. Estratégias utilizadas para o incremento da solubilidade do fármaco antiretroviral classe II: Efavirenz. **Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences**, v. 36, n. 2, 2015.

GOUVEIA, M. A. “Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de nimesulida.” Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil, 2011.

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

ICH, Expert working group. **Internacional Conference of harmonization of technical tequirements for registration of pharmaceuticals for human use**, 2005.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, v. 26, n. 121, p. 17-24, 1980.

JACOB, S.; NAIR, A. B.; PATIL, P. N.; PANDA, B. P. Solid state crystallinity, amorphous state, and its implications in the Pharmaceutical process. **International Journal of Pharmaceutical Science and Research**, v. 2, n. 3, p. 472-482, 2011.

KALRA, E. K. Nutraceutical-definition and introduction. **Aaps Pharmsci**, v. 5, n. 3, p. 27-28, 2003.

KASSIN, N.A.; WHITEHOUSE, M.; RAMACHANDRAN, C.; BERMEJO, M.; LENNERNAS, H.; HUSSAIN, A.S.; JUNGINGER, H.E; STAVICHANSKY, S.A.; MIDHA, K.K.; SHAH, V.P.; AMIDON, G.L. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular Pharmaceutics**, v. 1, p. 85-96, 2003.

LAVOR, E. P.; NAVARRO, M. V. M.; FREIRE, F. D.; ARAGÃO, C. F. S.; RAFFIN, F. N.; BARBOSA, E. G.; MOURA, T. F. A. L. Application of thermal analysis to the study of antituberculosis drugs–excipient compatibility. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. v.115, p.2303–2309, 2014.

LEIVA, C. R. M.; CRNKOVIC, P. M.; SANTOS, A. M. O emprego da termogravimetria para determinar a energia de ativação do processo de combustão de óleos combustíveis. **Química Nova**, v. 29, n. 5, p. 940, 2006.

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

LIMA, Á. A.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; SILVA, J. L.; CORRÊA-JÚNIOR, R. A.; LYRA, M. A.; SANTOS, F. L.; ROLIM-NETO, P. J. The use of solid dispersion systems in hydrophilic carriers to increase benzimidazole solubility. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 100, n. 6, p. 2443-2451, 2011.

LIMA NETO, S. A. “Preparação e caracterização analítica de dispersões sólidas cristalinas de glibenclamida, obtidas através de secagem por aspersão.” Tese de doutorado, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2012.

LINS, T. B. “Estudos de caracterização no estado sólido por análise térmica e determinação dos parâmetros analíticos de dissolução do formulado de ciprofloxacino.” Trabalho de Conclusão de Curso, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, Brasil, 2013.

LOFTSSON, T.; HREINSDÓTTIR, D.; MÁSSON, M. Evaluation of cyclodextrinsolubilization of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 302, n. 1, p. 18-28, 2005.

LOPEZ, F. A. T.; MONDRAGON, L. D.V.; HERNANDEZ, G. P. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: ¿Pueden ser una alternativa terapéutica? **Archivos de cardiología de México**, v. 76, p. 33-45, 2006.

MACHADO, M. O. “**Obtenção de micropartículas contendo dispersões sólidas de praziquantel por spray congealing.**” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, Brasil, 2011.

MARTINS, R. M. “Desenvolvimento de dispersões sólidas microparticuladas contendo carbamazepina por spray congealing.” Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2010.

MARTINS, R. R.; PEREIRA, S. V.; SIQUEIRA, S.; SALOMÃO, W. F.; FREITAS, L. A. P. Curcuminoid content and antioxidant activity in spray dried microparticles containing turmeric extract. **Food Research International**, v. 50, p.657-663, 2013.

MA, L. L.; FERNANDES, J. M.; FERREIRA, M. R. A.; LANGASSNE, S. M. Z; SOARES, L. Avaliação de metodologia analítica espectrofotométrica para quantificação de flavonoides totais nas folhas de *Kalanchoe brasiliensis* Camb.(Crassulaceae). **Boletim Informativo Geum**, v. 7, n. 2, p. 7-15, 2016.

MENDES, A. M. “Estudo da deposição de filmes finos de BaTi (1-X) Zr (X) O<sub>3</sub> por meio de planejamento Box-Behnken.” Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

MENDONÇA, C. M. S. de; LIMA, I. P. de B.; ARAGÃO, C. F. S.; GOMES, A. P. B. Thermal compatibility between hydroquinone and retinoic acid in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2277-2285, 2014.

NIJVELDT, R. J.; NOOD, E.; HOORN, D. E. C.; BOELEN, P. G.,; NORREM, K.; LEEUWEN, P. A. M., Flavonoids: a review of probable mechanisms action and potential applications. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 74, p. 418-25, USA, 2001.

NONES, J.; NONES, J.; TRENTIN, A. Rutina aumenta a sobrevivência das células-tronco da crista neural e atua contra danos causados pela aflatoxina B1. **Biotemas**, v. 28, n. 4, p. 1-8, 2015.

NORIEGA, P.; MATOS, J. R.; MERCURI, L.; SCOTT, M.; BACCHI, M. E. Thermal Characterization of *Passiflora edulis* Sims (Maracujá) by TG/DTG and DSC. In: **VII Congresso Brasileiro de Análise Térmica e Calorimetria (VII, CBRATEC)**, 2010.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v.34, p.1224-1230, 2011.

OLIVEIRA, C. A.; “Desenvolvimento, avaliação da segurança e eficácia clínica de sistemas nanoparticulados de gelatina contendo rutina.” Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2015.

OLIVEIRA, C. A.; DARIO, M. F.; SARRUF, F. D.; MARIZ, I. F. A.; VELASCO, M. V. R.; ROSADP, C.; BABY, A. R. Safety and efficacy evaluation of gelatin-based nanoparticles associated with UV filters. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 140, p. 531-537, 2016.

OZKAN, Y.; DOGANAY, N.; DIKMEN, N.; ISIMER, A.; Enhanced release of solid dispersions of etodolac in polyethylene glycol. **II Farmaco**, v. 55, n. 6, p. 433-438, 2000.

PAGLIARUSSI, R. S.; BASTOS, J. K.; FREITAS, L. A. P. Fluid bed drying of Guarana (*Paullinia cupana* HBK) extract: effect of process factors on caffeine content. **Aaps Pharmscitech**, v. 7, n. 2, p. E160-E166, 2006.

PATEL, R.; PATEL, M.; Preparation, characterization, and dissolution behavior of a solid dispersion of simvastatin with polyethylene glycol 4000 and polyvinylpyrrolidone K30. **J Disper Sci Technol**, v.29, p:193-204, 2008.

PATIL, P. H.; BELGAMWAR, V. S.; PATIL, P. R.; SURANA, S. J. Enhancement of solubility and dissolution rate of poorly water soluble raloxifene using microwave induced fusion method. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 49, n. 3, p. 571-578, 2013.

PAUDEL, A.; WORKU, Z. A.; MEEUS, J.; GUNS, S.; MOOTER, G. V. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: formulation and process considerations. **International journal of pharmaceuticals**, v. 453, n. 1, p. 253-284, 2013.

PEREIRA, J. G.; OKUMURA, F.; RAMOS, L. A.; CAVALHEIRO, E. T.; NÓBREGA, J. A. Termogravimetria: um novo enfoque para a clássica determinação de cálcio em cascas de ovos. **Química Nova**, v. 32, n. 6, p. 1661-1666, 2009.

PEREIRA, S. V. “Obtenção de dispersões sólidas microparticuladas de piroxicam por spray congealing.” Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2012.

PEREIRA, I. S. P.; RODRIGUES, V.F.; VEGA, M. R. G.; Flavonoides do Gênero Solanum. **Revista Virtual de Química**, v. 8, n. 1, p. 4-26, 2016.

PIEMONTESE, A. “Nutraceutical approach to the modulation of cholesterol metabolism: in vitro and in vivo studies.” Tese de Doutorado, Universidade de Parma, Parma, Itália, 2016.

PROCOPIO, J. V. V. “Estudos de parâmetros térmicos e de dissolução da sinvastatina na caracterização tecnológica da excipientes.” Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil, 2010.

RIEKES, M. K.; TAGLIARI, M. P.; GRANADA, A.; KUMINEK, G.; SILVA, M. A. S.; STULZER, H. K. Enhanced solubility and dissolution rate of amiodarone by complexation with  $\beta$ -cyclodextrin through different methods. **Materials Science and Engineering C**, v. 30, p. 1008-1013, 2010

RODRIGUES, H. G.; DINIZ, Y. S. A.; FAINE, L. A.; ALMEIDA, J. A., FERNANDES, A. A. H.; NOVELLI, E. L. B. Suplementação nutricional com antioxidantes naturais: efeito da rutina na concentração de colesterol-HDL. **Revista de Nutrição**, p. 315-320, 2003.

RODRIGUES, P. O.; STULZER, H. K.; CRUZ, A. P.; FOPPA, T.; CARDOSO, T. M.; SILVA, M. A. S. Equivalência farmacêutica entre comprimidos de propranolol comercializados no mercado nacional. **Infarma**, v. 18, n. 3/4, p. 16-21, 2006

SANTOS, A. S. “Avaliação das propriedades de estado sólido de dispersões de hidroclorotiazida em polivinilpirrolidona” Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, Brasil, 2008.

SEKIGUCHI; OBI. Studies on absorption of eutectic mixture 1. A comparison of the behaviour of eutectic mixture of sulphathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. **Chem Pharm Bull**, v.9 p.866–872, 1961.

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

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

SHARMA, A.; JAIN, C. P. Solid dispersion: A promising technique to enhance solubility of poorly water soluble drug. **International Journal of Drug Delivery**, v.3, p.149-70, 2011.

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

SILVA, W. B. “Otimização de sistemas ativos de isolamento de multicamadas.” Tese de Doutorado. Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2008.

SILVA, T. D. “Desenvolvimento de métodos analíticos e de formulações para estatinas” Dissertação de Mestrado, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais; Belo Horizonte, 2009.

SILVA, J. A., BEDOR, D. C., SOUSA, C. E., SANTANA, D. P., & EGITO, E. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de diclofenaco de dietilamônio em pele humana por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n. 1, p. 41-46, 2010.

SILVA, W. M.; SANTOS, F. R.; BATISTUTI, J. P.; Validação de um novo método analítico para quantificação de ácido fólico por espectrofotometria-UV. **Alimentos e Nutrição**, Araraquara, v. 24, n. 3, p. 275-282, 2013.

SMITHEY, D.; GAO, P.; TAYLOR, L. Amorphous solid dispersions: an enabling formulation technology for oral delivery of poorly water soluble drugs. **AAPS Newsmagazine**, v. 16, n. 1, p. 11-4, 2013.

Storpirtis S, Gonçalves JE, Chiann C, Gai MN. **Biofarmacotécnica**. Editora Guanabara Koogan; Rio de Janeiro, Brasil, 2009.



SOUSA, J.; FARIAS, M.; LEMOS, C.; SILVA, J.; SOUZA, M.; GONÇALVES, L. Avaliação da casca de *Passiflora edulis* como fonte de flavonoides. **Blucher Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 556-563, 2015.

SU, K.Y.; YU, C.Y.; CHEN, Y.W.; HUANG, Y.T.; CHEN, C.T.; WU, H.F.; CHEN, Y.L.S. Rutin, a Flavonoid and Principal Component of *Saussurea Involucrata*, Attenuates Physical Fatigue in a Forced Swimming Mouse Model. **International Journal of Medical Sciences**, v.11, n. 5, p. 528-537, 2014.

TEIXEIRA, C. C. C.; TEIXEIRA, G. A.; FREITAS, L. A. P. Spray drying of extracts from red yeast fermentation broth. **Drying Technology**, v. 29, p. 342–350, 2011.

TITA, B.; FULIAS, A.; BANDUR, G.; MARIAN, E.; TITA, D. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.56, p. 221– 227, 2011.

TITA, D.; JURCA, T.; FULIAS, A.; MARIAN, E.; TITA, B. Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 112, n. 1, p. 407-419, 2013.

TERENCE, L. F. de M. M. C.; FALDIN, S. B.; KUBOTA, V. H. Estudo da variação da massa molar do pvp funcionalizado com maleato de dietila pelo processo em emulsão. **Anais do 8º Congresso Brasileiro de Polímeros**, São Carlos, Brasil, 2006.

UNITED STATES PHARMACOPEIA USP 30 – NF25. Rockville: The United States Pharmacopeial Convection, 2012.

VALANDRO, F.; TASSINARY, J. A. F.; BIANCHETTI, P.; SCHMITT, B.; BRESCIANI, L.; STULP, S. Avaliação da liberação da rutina associada ao ultrassom contínuo. **Ciência e Natura**, v. 37, n. 3, p. 678 -683, 2015.

VALGAS, L. “Influência de variáveis de processamento sobre as propriedades elétricas de varistores de SnO<sub>2</sub> atomizados via spray dryer.” Tese de Doutorado. Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil, 2007.

VALERO, M.; REVUELTA, B. I. P. R.; RODRÍGUEZ, L. J. Effect of PVP K-25 on the formation of the naproxen:  $\beta$ -cyclodextrin complex. **International journal of pharmaceutics**, v. 253, n. 1, p. 97-110, 2003.

VAN DEN MOOTER, G.; AUGUSTIJNS, P.; BLATON, N.; KINGET, R. Physicochemical characterization of solid dispersions of temazepam with polyethylene

glycol 6000 and PVP K30. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 164, n. 1, p. 67-80, 1998.

VAN DROOGE, D. J.; HINRICHS, W. L. J.; VISSER, M. R.; FRIJLINK, H. W. Characterization of the molecular distribution of drugs in glassy solid dispersions at the nano-meter scale, using differential scanning calorimetry and gravimetric water vapour sorption techniques. **International journal of pharmaceutics**, v. 310, n. 1, p. 220-229, 2006.

VARGAS, M. R. W.; RAFFIN, F. N.; Moura, T. F. A. L. Strategies used for to improve aqueous solubility of simvastatin: a systematic review. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 4, p. 497-507, 2013.

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

VELÁZQUEZ, J. E. R.; MORALES, J. R. Z.; CONTRERAS, Á. J. A. Evaluación del efecto antinociceptivo de Rutina para la determinación de la DE50 en 2 modelos preclínicos. **Jóvenes en la Ciencia**, v. 2, n. 1, p. 6-10, 2015.

VELASCO, M.V.R.; BALOGH, T.S.; PEDRIALI, C.A.; SARRUF, F.D.; PINTO, C.A.S.O.; KANEKO, T.M.; BABY, A.R. Associação da rutina com p-metoxicinamato de octila e benzofenona-3: avaliação in vitro da eficácia fotoprotetora por espectrofotometria de refletância. **Latin American Journal of Pharmacy**, Buenos Aires, v.27, n.1, p.23-27, 2008.

VILHELMSSEN, T.; ELIASSEN, H.; SCHAEFER, T. Effect of a melt agglomeration process on agglomerates containing solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, v.303, p.132-142, 2005.

VO, C. L. N.; PARK, C.; LEE, B. J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 799-813, 2013.

WISS, J.; SCHMUCK, J. Cleaning validation using thermogravimetry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.104, p.315-321, 2011.

YOSHIDA, V. M. H. “Desenvolvimento e avaliação de sistemas gastrorretensivos flutuantes para liberação controlada de zidovudina, ” Dissertação de Mestrado, Universidade de Sorocaba, Sorocaba, 2009.

ZLOTOGORSKI, A.; DAYAN, A.; DAYAN, D.; CHAUSHU, G.; SALO, T.; VERED, M. Nutraceuticals as new treatment approaches for oral cancer – I: Curcumin. **Oral Oncology**, v.49, p.187-191, 2013.