

# **PREPARO, CARACTERIZAÇÃO E DESEMPENHO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS NANOESTRUTURADOS COM AÇÃO TUBERCULOSTÁTICA**

**Alessandra Lifritch Viçosa**

Tese em Ciência e Tecnologia de Polímeros, submetida ao Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciência e Tecnologia de Polímeros, sob orientação das professoras Bluma Guenther Soares e Maria Inês Ré.

Rio de Janeiro

2010

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

## **Tese de Doutorado**

Preparo, caracterização e desempenho de sistemas poliméricos nanoestruturados com ação tuberculostática.

**Autor:** Alessandra Lifschit Viçosa

**Orientadoras:** Bluma Guenther Soares

Maria Inês Ré

**Data da defesa:** 04 de fevereiro de 2010

**Aprovada por:**

---

Professora Bluma Guenther Soares, DSc  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA/UFRJ  
Orientadora/Presidente da Banca Examinadora

---

Professora Maria Inês Ré, DSc  
Instituto de Pesquisas Tecnológicas – IPT/USP  
Orientadora

---

Professora Maria Inês Bruno Tavares, DSc  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA/UFRJ

---

Professor Fernando Gomes de Souza Júnior, DSc  
Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA/UFRJ

---

Professora Glaucia Barbosa Candido Alves Slana, DSc  
Instituto de Tecnologia em Fármacos - FIOCRUZ

---

Professora Cheila Gonçalves Mothé, DSc  
Escola de Química – UFRJ

Rio de Janeiro

2010

## FICHA CATALOGRÁFICA

Viçosa, Alessandra Lifritch.

Preparo, caracterização e desempenho de sistemas poliméricos nanoestruturados com ação tuberculostática / Alessandra Lifritch Viçosa. – Rio de Janeiro, 2010.

xxiii, 192 f.: il.

Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) –Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano – IMA, 2009.

Orientadores: Bluma Guenther Soares e Maria Inês Ré

1. Nanocompósitos poliméricos. 2. Sistemas poliméricos . 3. Rifampicina. 4. Poli(álcool vinílico). 5. PVA. 6. Polímeros. I. Soares, Bluma Guenther (Orient.). II. Ré, Maria Inês. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano. IV. Título

Esta Tese de Doutorado foi desenvolvida nos Laboratórios do Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano da Universidade Federal do Rio Janeiro, do Instituto de Pesquisas Tecnológicas da Universidade de São Paulo e do Centre Rapsodee da Ecole des mines d'Albi Carmaux (EMAC - França) com apoio do Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos-FIOCRUZ).

## DEDICATÓRIA

Ao meu futuro filho Luciano Simões Pereira Junior que esteve comigo neste período final de tese, enfrentando comigo os desafios de finalizar este trabalho e ao mesmo tempo acalentando o coração de sua mãe, alimentando-a de esperança, afeto e força para continuar sempre em frente e em benefício da Ciência.

Ao pai, amigo, marido, companheiro de todas as horas, Luciano que não deixou nem mesmo as fronteiras impedirem a continuidade de nossa história.

Ao meu tio Kucilofe Lifsitch Filho e minha avó Lybia de Almeida Moraes Lifsitch (ambos *in memoriam*), que sempre me deram inspirações para estudar e trabalhar cada vez mais e sempre mantendo a humildade e a modéstia no coração.

Dedico este trabalho.

## AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre me manteve com saúde e me deu forças para enfrentar todos os obstáculos encontrados durante este período.

A professora Bluma Guenther Soares pela orientação, confiança, amizade, e compreensão.

A professora Maria Inês Ré pela mais que orientação, amizade, incentivo e compreensão dos momentos difíceis. Dentro ou fora da terra pátria sempre estive ao meu lado me ajudando e dando força. Foi e será sempre um grande prazer trabalhar com você, fonte de aprendizado e sabedoria a qual levarei por toda minha vida profissional e pessoal.

A grande revelação como mais que amigo e grande mestre, Caio Paranhos, que sempre estive de braços estendidos para prestar toda e qualquer ajuda. Obrigado por toda força, conselhos, companheirismo e amizade, sem você este trabalho não seria possível.

A toda a minha família, pelo apoio e compreensão da minha ausência ao longo destes anos.

A Farmanguinhos (FIOCRUZ) pelo incentivo financeiro e pela oportunidade de me permitir alcançar mais uma etapa importante de capacitação para minha vida profissional.

A todos os amigos do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica de Farmanguinhos, aos amigos do laboratório J-112 e a todos os professores e funcionários do IMA, por todo apoio e compreensão nos momentos em que precisava.

A todos os amigos franceses ou não do Centre Rapsodee por todo apoio, amizade e ensinamentos prestados durante minha estadia na França.

A todas as pessoas que diretamente ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

***Superação***

*“É surpreendente. Quando eu acredito que cheguei ao limite, descubro que é possível ir além.”*

Ayrton Senna (1960 – 1994)

*“Vencem aqueles que começam a luta pensando que, por mais árdua que seja, ela os leva para o endereço que se propuseram, sem pensar em derrotas.”*

Autor desconhecido

## RESUMO

**PREPARO, CARACTERIZAÇÃO E DESEMPENHO DE SISTEMAS POLIMÉRICOS  
NANOESTRUTURADOS COM AÇÃO TUBERCULOSTÁTICA**

Alessandra Lifschit Viçosa

Orientadoras: Bluma Guenther Soares e Maria Inês Ré

Um dos maiores desafios no processo de desenvolvimento de produtos farmacêuticos é formular utilizando fármacos pouco solúveis em água e de baixa velocidade de dissolução, tais como a rifampicina. Esta possui biodisponibilidade variável e é até hoje componente essencial do regime terapêutico para o tratamento da tuberculose, o que coloca a eficácia do mesmo em situação duvidosa. Este trabalho apresenta o preparo, caracterização e o desempenho *in vitro* de nanocompósitos poliméricos baseados em poli(álcool vinílico) diretamente associados a rifampicina sob a forma de hidrogéis e partículas obtidas por *spray-drying*. Dois tipos de argilas foram utilizadas: a montmorilonita e a sepiolita que influenciaram de formas diferentes as estruturas dos sistemas nanocompósitos poliméricos conferindo respostas diferentes de desempenho *in vitro*. Os resultados mostram que os sistemas desenvolvidos apresentam uso promissor na modulação da velocidade de dissolução da rifampicina. Em particular, os sistemas particulados se mostraram interessantes uma vez que permitem contribuir como material de partida para formulações farmacêuticas de uso oral. Uma nova forma de apresentação do fármaco obtida através de inovador processo de cristalização em anti-solvente na presença de agentes estabilizantes como a hidroxipropilmetilcelulose e a sepiolita também foi estudada. A redução do tamanho do fármaco para escala nanométrica assim como sua alteração de estrutura cristalina (amorfização) melhoraram as propriedades de solubilidade e cinética de dissolução da rifampicina e abrem uma possibilidade de preparação de materiais híbridos, poliméricos ou não, até o momento, não identificados na literatura.

Rio de Janeiro

2010

## ABSTRACT

**PREPARATION, CHARACTERIZATION AND PERFORMANCE OF NANOSTRUCTURED POLYMERIC SYSTEMS WITH TUBERCULOSTATIC ACTION**

Alessandra Lifsitch Viçosa

Thesis Supervisors: Bluma Guenther Soares e Maria Inês Ré

One of the biggest challenges in the pharmaceutical product development process is to formulate using poorly water soluble drug with slow dissolution rate, such as rifampicin. It has a variable bioavailability and is until today an essential component of the currently therapeutical regimen to tuberculosis treatment that places its efficacy in a doubtful situation. This work presents the preparation, characterization and *in vitro* performance of polymeric nanocomposites based on poly(vinyl alcohol) associated to rifampicin under hydrogels and spray-drying particles forms. Two types of clays had been used: montmorillonite and sepiolite that had influenced by different ways the polymeric nanocomposites systems structures and *in vitro* performance outcomes. The results show that the developed systems present promising use in modulating rifampicin dissolution rate. In particular, the particulate systems because of their potencial use as raw material for the oral pharmaceutical formulations use. A new drug presentation form obtained by innovative anti-solvent crystallization in the presence of stabilizers agents such as hydroxypropylmethylcellulose and sepiolite was also studied. The drug particle size reduction for nanometric scale as well as its crystalline structure change (amorphization) had improved the solubility properties and dissolution kinetic of rifampicin and opens a possibility of hybrid materials preparation , polymeric or not, until the moment not identified in the literature.

Rio de Janeiro

2010

## FOLHA DE DIVULGAÇÃO CIENTÍFICA

Publicações

- 1) Vicoso, A. L.; Gomes, A. C. O.; Soares, B. G.; Paranhos, C. M. Effect of sepiolite on the physical properties and swelling behavior of rifampicin-loaded nanocomposite hydrogels. *Express Polymer Letters*, v.3, n.8, p.518-524, 2009.
- 2) Vicoso, A. L.; Gomes, A. C. O.; Soares, B. G.; Ré, M.I.; Dias, S.T.; Paranhos, C. M. Preparation of co-spray dried microparticles containing rifampicin by spray-drying, *em redação*.
- 3) Vicoso, A. L.; Soares, B. G.; Ré, M.I.; Espitalier, F.; Paranhos, C. M. Antisolvent precipitation process as a promising technique to prepare ultrafine rifampicin particles, *em redação*.

Reuniões Científicas

- 1) EUROFILLERS 2009 – From macro to nanofillers for structural and functional polymer materials – Alessandria – Itália, 21-25 junho de 2009.

“Spray-dried nanocomposite microparticles to enhance the dissolution rate of a poorly water soluble drug”

A.L.Viçosa, B.G.Soares, M.I.Ré, S.T.Dias e C.M.Paranhos

- 2) 18° Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais (CBECiMat) - Porto de Galinhas – PE, 24-28 novembro de 2008.

“Estudo da incorporação de rifampicina na estabilidade de partículas nanoestruturadas baseadas em poli(álcool vinílico) obtidas por *spray-drying*.”

A.L.Viçosa, B.G.Soares, M.I.Ré, e C.M.Paranhos

- 3) Archipol 2007 – IV Simposio Chileno Argentino de Polímeros – Viña del mar, Chile, 02-05 dezembro de 2007.

“Optimization and characterization of rifampicin incorporation in nanocomposites hydrogels “

A.L.Viçosa, B.G.Soares, e C.M.Paranhos

## SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO	1
2 – OBJETIVOS	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
<b>3.1. Estratégias para alterar a solubilidade de fármacos</b>	4
<b>3.2. Materiais Híbridos</b>	6
3.2.1. Hidrogéis nanocompósitos	7
3.2.2. Uso de argilas para melhorar a taxa de dissolução de fármacos	10
3.2.2.1. Montmorilonita (MOM)	10
3.2.2.2. Sepiolita (SEP)	12
<b>3.3. Processo de secagem por atomização para associar fármaco e</b>	13
<b>3.4 - RIFAMPICINA: o fármaco-modelo</b>	16
3.4.1. – Principais características físico-químicas	18
3.4.2. Estratégias para aumento da biodisponibilidade	19
3.4.3 – Nanonização para aumento da biodisponibilidade	22
3.4.3.1. Líquidos iônicos	24
4 – MATERIAIS E MÉTODOS	25
<b>4.1. Reagentes e solventes</b>	25
<b>4.2. Lista de equipamentos</b>	26
<b>4.3. Polímero utilizado</b>	28
<b>4.4. Metodologia</b>	28
4.4.1. Preparação e caracterização dos hidrogéis nanocompósitos	28
4.4.1.1. Preparação dos hidrogéis nanocompósitos	28
4.4.1.2. Caracterização das suspensões	30
4.4.1.2.1. Viscosidade	30
4.4.1.2.2. pH	30
4.4.1.3. Caracterização dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila	31
4.4.1.3.1. Densidade real	31
4.4.1.3.2. Difração de raios X – DRX	31
4.4.1.3.3. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	31
4.4.1.3.4. Análise dinâmico-mecânica – DMA	32
4.4.1.3.5. Parâmetros de rede	32
4.4.1.3.6. Medidas de inchamento	33
4.4.1.3.7. Quantidade de PVA liberada dos hidrogéis.	34
4.4.1.3.8. Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila	34
4.4.1.3.9. – Perfil cinético de dissolução (in vitro) dos hidrogéis nanocompósitos	34
4.4.2. Preparação e caracterização das partículas híbridas obtidas por spray-drying	36
4.4.2.1. Preparação das partículas por spray-drying	36
4.4.2.2. Caracterização das suspensões	37
4.4.2.2.1. Viscosidade	37
4.4.2.3. Caracterização das partículas híbridas de PVA/argila	38
4.4.2.3.1. Morfologia	38
4.4.2.3.2. Análise granulométrica	38

4.4.2.3.3. Densidade de empacotamento	38
4.4.2.3.4. Área superficial	39
4.4.2.3.5. Difração de raios X – DRX	39
4.4.2.3.6. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	39
4.4.2.3.7. Teor de água	39
4.4.2.3.8. Teor de rifampicina e avaliação de rifampicina quinona	39
4.4.2.3.8.1. Fase Móvel	39
4.4.2.3.8.2. Mistura de Solventes	40
4.4.2.3.8.3. Curva de calibração	40
4.4.2.3.8.4. Solução Amostra	40
4.4.2.3.8.5. Parâmetros Cromatográficos	40
4.4.2.3.9. Cinética de sorção de vapor de água	41
4.4.2.3.10. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	41
4.4.3. Nanonização do fármaco modelo	42
4.4.3.1. Determinação experimental da solubilidade da rifampicina de partida	42
4.4.3.2. Processo de cristalização da rifampicina	43
4.4.3.2.1. A solubilização	44
4.4.3.2.2. A recristalização	44
4.4.3.2.3. Separação sólido-líquido – centrifugação	46
4.4.3.2.4. Operação de lavagem	47
4.4.3.2.5. Separação sólido-líquido – filtração	47
4.4.3.2.6. Operação de secagem	48
4.4.3.3. Cinética de cristalização da mistura LI:TP, na proporção 1:5.	48
4.4.3.4. Caracterização da rifampicina recristalizada	49
4.4.3.4.1. Morfologia	49
4.4.3.4.2. Análise granulométrica	49
4.4.3.4.3. Difração de raios X – DRX	49
4.4.3.4.4. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	49
4.4.3.4.5. Solubilidade em água do material recristalizado	50
4.4.3.4.6. Teor de água	50
4.4.3.4.7. Teor de rifampicina	50
4.4.3.4.8. Avaliação de rifampicina quinona	50
4.4.3.4.9. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	50
4.4.3.5. Modificações do processo de cristalização da rifampicina	51
4.4.3.6. Caracterização da rifampicina recristalizada modificada	51
4.4.3.6.1. Morfologia	51
4.4.3.6.2. Análise granulométrica	51
4.4.3.6.3. Difração de Raios X – DRX	51
4.4.3.6.4. Teor de água	51
4.4.3.6.5. Teor de rifampicina	52
4.4.3.6.6. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	52
4.4.4. Caracterizações para os materiais de partida.	52
4.4.4.1. Ângulo de contato	53
5 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
<b>5.1. Caracterização das substâncias de partida</b>	<b>56</b>
5.1.1. Rifampicina e polimorfos	56

5.1.1.1. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	56
5.1.1.2. Difração de raios X – DRX	58
5.1.1.3. Análises físicas e físico-químicas	59
5.1.1.4. Ângulo de contato	60
5.1.1.5. Morfologia	61
5.1.1.6. Cinética de sorpção de vapor de água	62
5.1.1.7. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	62
5.1.2. Montmorilonita (MOM)	63
5.1.2.1. Difração de raios X – DRX	64
5.1.2.2. Morfologia	64
5.1.3. Sepiolita (SEP)	65
5.1.3.1. Difração de raios X a alto ângulo – DRX	65
5.1.3.2. Morfologia	65
<b>5.2. Preparação e caracterização dos hidrogéis nanocompósitos</b>	67
5.2.1. Caracterização das suspensões	67
5.2.1.1. Viscosidade	67
5.2.1.2. pH	69
5.2.2. Caracterização dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila	70
5.2.2.1. Aspecto físico e densidade real	70
5.2.2.2. Difração de raios X – DRX	71
5.2.2.3. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	76
5.2.2.4. Análise dinâmico-mecânica – DMA	81
5.2.2.5. Parâmetros de rede	84
5.2.2.6. Medidas de inchamento	85
5.2.2.7. Quantidade de PVA liberada dos hidrogéis	88
5.2.2.8. Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila	89
5.2.2.9. – Perfil cinético de dissolução (in vitro) dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila	90
<b>5.3. Preparação e caracterização das partículas híbridas obtidas por spray-drying</b>	95
5.3.1. Rendimento do processo	95
5.3.2. Caracterização das suspensões	96
5.3.2.1. Viscosidade	96
5.3.3. Caracterização das partículas híbridas de PVA/argila	98
5.3.3.1. Morfologia	98
5.3.3.2. Análise granulométrica	105
5.3.3.3. Densidade de empacotamento	105
5.3.3.4. Área superficial	106
5.3.3.5. Difração de raios X – DRX	107
5.3.3.6. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	112
5.3.3.7. Teor de água	116
5.3.3.8. Teor de rifampicina e avaliação de rifampicina quinona	117
5.3.3.9. Cinética de sorpção de vapor de água	121
5.3.3.10. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	122
<b>5.4. Nanonização do fármaco modelo</b>	131

5.4.1. Determinação experimental da solubilidade da rifampicina de partida	131
5.4.2. Processo de cristalização da rifampicina	133
5.4.3. Cinética de cristalização da mistura LI:TP, na proporção 1:5	136
5.4.4. Caracterização da rifampicina recristalizada	137
5.4.4.1. Morfologia	137
5.4.4.2. Análise granulométrica	142
5.4.4.3. Difração de raios X – DRX	142
5.4.4.4. Calorimetria exploratória diferencial – DSC	143
5.4.4.5. Solubilidade em água do material recristalizado	144
5.4.4.6. Teor de água	144
5.4.4.7. Teor de rifampicina	145
5.4.4.8. Avaliação de rifampicina quinona	145
5.4.4.9. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	147
5.4.5. Modificações do processo de cristalização da rifampicina	148
5.4.6. Caracterização da rifampicina recristalizada modificada	151
5.4.6.1. Morfologia	151
5.4.6.2. Análise granulométrica	154
5.4.6.3. Difração de Raios X – DRX	154
5.4.6.4. Teor de água	155
5.4.6.5. Teor de rifampicina	156
5.4.6.6. Perfil cinético de dissolução (in vitro)	157
6 - CONCLUSÕES	164
7 – SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	167
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	168
9 - ANEXOS	182

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 3.1. Estrutura da montmorilonita em sua forma natural (Coelho, 2007).	11
Figura 3.2. Estrutura cristalina da sepiolita (Choudhury, 2009).	12
Figura 3.3. Representação esquemática do funcionamento do equipamento <i>spray-dryer</i> (Ré, 2006).	14
Figura 3.4. Fórmula estrutural da Rifampicina.	18
Figura 4.1. Estrutura química do PVA.	28
Figura 4.2. Montagem utilizada para o preparo dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.	29
Figura 4.3. Esquema geral de preparo dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.	30
Figura 4.4. Vista geral do equipamento de dissolução e detalhamento do posicionamento do cesto.	35
Figura 4.5. Vista geral do equipamento de laboratório tipo <i>spray-dryer</i> .	37
Figura 4.6. Esquema de um sistema de sorpção dinâmica de vapor (Goalard, 2005).	41
Figura 4.7. Esquema geral de recristalização da rifampicina.	43
Figura 4.8. Dispositivo para solubilização da rifampicina em líquido iônico.	44
Figura 4.9. Recristalização por efeito anti-solvente (a solução de rifampicina e vertida gota a gota no tampão fosfato).	45
Figura 4.10. Aspecto do sólido recuperado após centrifugação.	47
Figura 4.11. Aspecto do sistema de filtração à vácuo (a) e aspecto do sólido recuperado após filtração (b).	48
Figura 4.12. Definição do ângulo de contato $\theta$ entre uma gota líquida e uma superfície plana e horizontal. Nesta figura, $\gamma_S$ e $\gamma_{LV}$ são a energia de superfície do sólido e a tensão superficial do líquido em equilíbrio com o vapor, respectivamente; $\gamma_{SL}$ é a energia da interface sólido – líquido (Adamson, 1990).	54
Figura 4.13. Esquema simplificado do experimento de ângulo de contato (Goalard, 2005).	55
Figura 5.1. Curvas de DSC das formas I, II e amorfa de rifampicina. Pico A: decomposição da forma I a 261°C (255 – 266°C); Pico B: fusão da forma II a 189°C (180 – 197°C); Pico C: recristalização da forma I a 204°C (197 – 223°C); Pico D: decomposição da forma I a 258°C (247 – 266°C); Pico E: exoterma da forma amorfa a 209°C (196 – 229°C); Pico F: decomposição da forma amorfa a 258°C (236 – 278°C).	56
Figura 5.2. Curvas de DSC de RIFA e seus polimorfos I (RIFAF1) e II (RIFAF2).	57
Figura 5.3. Perfil de DRX das formas polimórficas I e II e amorfa de rifampicina. As áreas apresentadas nos retângulos destacam os picos característicos para as formas I e II. A forma amorfa apresenta um halo (Panchagnula, 2008).	58
Figura 5.4. Perfil de DRX de RIFA e seus polimorfos I (RIFAF1) e II (RIFAF2).	59
Figura 5.5. Aspecto da gota de solvente sobre o leito de pós de rifampicina durante o ensaio de ângulo de contato da rifampicina em água.	61
Figura 5.6. Fotomicrografias obtidas por MEV dos cristais de RIFA: (a) em maior e (b) menor magnificação.	61

Figura 5.7. Perfil cinético de dissolução dos cristais de RIFA em água.	62
Figura 5.8. Perfil de DRX para MOM.	64
Figura 5.9. Fotomicrografias obtidas por MEV de MOM em (a) maior e (b) menor magnificação.	64
Figura 5.10. Perfil de DRX para SEP.	65
Figura 5.11. Fotomicrografias obtidas por MEV de SEP: (a) agulhas individualizadas (circundadas de branco) e (b) aglomerados de sepiolita (Tartaglione, 2008).	66
Figura 5.12. Fotomicrografias obtidas por MEV da amostra de SEP utilizada neste trabalho: (a) presença de agulhas em maior magnificação e (b) presença de aglomerados de sepiolita em menor magnificação.	66
Figura 5.13. Perfil reológico das suspensões de PVA/MOM. Cada curva é a média das análises realizadas.	68
Figura 5.14. Perfil reológico das suspensões de PVA/SEP. Cada curva é a média das análises realizadas.	68
Figura 5.15. Aspecto físico dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila: (a) ausente de carga de fármaco e (b) com carga de fármaco.	70
Figura 5.16. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM (PVAM5R) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, de PVA com RIFA (PVAR) e dos materiais de partida MOM e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.	72
Figura 5.17.0 Perfil de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para MOM pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	73
Figura 5.18. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP (PVAS5R) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, de PVA com RIFA (PVAR) e dos materiais de partida SEP e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.	74
Figura 5.19. Perfil de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para SEP pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	75
Figura 5.20. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA.	77
Figura 5.21. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM . As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	79
Figura 5.22. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA.	80
Figura 5.23. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	81
Figura 5.24. Cinética do intumescimento dos hidrogéis de PVA em pH 7,4 à 30°C contendo MOM, na presença ou não do fármaco RIFA.	86
Figura 5.25. Cinética do intumescimento dos hidrogéis de PVA em pH 7,4 à 30°C contendo SEP, na presença ou não do fármaco RIFA.	86

Figura 5.26. Capacidade máxima de absorção de água pelos hidrogéis normalizado em relação à massa de PVA (massa absorvida/massa de PVA nos filmes).	87
Figura 5.27. Redução da capacidade de absorção de água dos hidrogéis (%) com relação à capacidade de absorção de água de hidrogéis puros de PVA.	88
Figura 5.28. Quantidade de PVA desprendida dos hidrogéis imersos em água durante 24 horas (% em massa).	89
Figura 5.29. Perfil cinético de dissolução da rifampicina a partir dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.	90
Figura 5.30. % Dissolvido de rifampicina a partir dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA após 10 e 60 min. de contato com o meio de dissolução (ensaio in vitro).	91
Figura 5.31. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA (grupo C1).	93
Figura 5.32. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA (grupo C2).	93
Figura 5.33. Comparação entre as curvas cinéticas experimentalmente obtidas e curvas calculadas pelo modelo de Higuchi para os grupos C1 e C2.	95
Figura 5.34. Perfil reológico das suspensões diluídas de PVA/MOM . Cada curva é a média das análises realizadas.	97
Figura 5.35. Perfil reológico das suspensões diluídas de PVA/SEP . Cada curva é a média das análises realizadas.	98
Figura 5.36– Aspecto físico das partículas híbridas obtidas da secagem das suspensões por spray-drying: (a) ausente de carga de fármaco e (b) e com carga de fármaco.	99
Figura 5.37. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAp e PVARp em : (a) maior e (b) menor magnificação.	100
Figura 5.38. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAM1p e PVAM5p em : (a) maior e (b) menor magnificação.	101
Figura 5.39. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAM1Rp e PVAM5Rp em : (a) maior e (b) menor magnificação.	102
Figura 5.40. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAS5p e PVAS1p em : (a) maior e (b) menor magnificação.	103
Figura 5.41. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAS5Rp e PVAS1Rp em : ((a) maior e (b) menor magnificação.	104
Figura 5.42. Perfis de raios X das partículas híbridas com RIFA e com a maior concentração de argila MOM (PVAM5Rp) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA (PVAp), de PVA com RIFA (PVARp) e dos materiais de partida MOM e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.	107
Figura 5.43. Perfil de raios X das partículas híbridas de PVA/MOM com e sem RIFA em comparação às partículas de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para MOM pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	108
Figura 5.44. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP (PVAS5Rp) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA(PVAp), de PVA com RIFA (PVARp) e dos materiais de partida SEP e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.	109

Figura 5.45. Perfil de raios X das partículas híbridas de PVA/SEP com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para SEP pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	110
Figura 5.46. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por spray-drying com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA.	112
Figura 5.47. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por spray-drying de PVA/MOM. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	114
Figura 5.48. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por spray-drying com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA.	115
Figura 5.49. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por spray-drying de PVA/SEP. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.	116
Figura 5.50. Fórmula estrutural da rifampicina quinona (Wollinger,2008).	118
Figura 5.51. Exemplo de cromatograma obtido para o doseamento de rifampicina nas partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.	119
Figura 5.52. Cromatograma obtido para RIFA.	120
Figura 5.53. Isotermas de sorpção de vapor d'água para RIFA pura e formulada com PVA e com PVA-argila.	122
Figura 5.54. Perfil cinético de dissolução da rifampicina a partir das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA obtidas por <i>spray-drying</i> .	123
Figura 5.55. % Dissolvido de rifampicina a partir das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA após 9 e 60 min de contato com o meio de dissolução (ensaio <i>in vitro</i> ).	124
Figura 5.56. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução das partículas híbridas obtidas por <i>spray-drying</i> .	125
Figura 5.57. Comparação entre as curvas cinéticas experimentalmente obtidas e curvas calculadas pelo modelo de Higuchi.	127
Figura 5.58. Representação do mecanismo de liberação da rifampicina das partículas obtidos por <i>spray-drying</i> segundo modelo de Higuchi.	128
Figura 5.59. Representação do mecanismo de liberação da rifampicina das partículas híbridas obtidas por <i>spray-drying</i> : partículas sofrem intumescimento e erosão.	129
Figura 5.60. Perfil cinético de dissolução das partículas híbridas de PVA/sepiolita/RIFA (PVAS1Rp e PVAS5Rp) e de PVA/RIFA (PVARp) em comparação aos perfis cinéticos obtidos de misturas físicas destes componentes preparadas nas mesmas proporções mássicas usadas nas formulações das partículas.	130
Figura 5.61. Estrutura do 1-etil 3-metil imidazolium metil-fosfonato (cátion = 1-etil-3-metil imidazolium; ânion = metil-fosfonato).	131
Figura 5.62. Variação da solubilidade da rifampicina com a composição da mistura de liquido ionico e tampão fosfato.	133
Figura 5.63. Cinética de cristalização da rifampicina para a relação LI:TF de 1:5.	137
Figura 5.64. Fotomicrografias obtidas por MEV: (a) RIFA de partida e (b)	137

recristalizada (condições: LI:TP de 1:5 ; 4h de agitação).	
Figura 5.65. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 03 (condições: LI/TP 1:10, 30 min de agitação) por ordem de magnificação.	139
Figura 5.66. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 07 (condições: LI/TP 1:10, 4h de agitação) por ordem de magnificação.	139
Figura 5.67. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 08 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação) por ordem de magnificação.	140
Figura 5.68. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 14 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação) por ordem de magnificação.	140
Figura 5.69. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 16 (condições: LI/TP 1:5, 30 s de agitação) por ordem de magnificação.	141
Figura 5.70. Perfil de DRX de RIFA e dos experimentos de recristalização pela técnica do anti-solvente.	142
Figura 5.71. Curvas de DSC de RIFA e do experimento de recristalização Cris03.	143
Figura 5.72. Exemplo de cromatograma obtido para a amostra de rifampicina recristalizada (Cris03).	146
Figura 5.73. Perfil cinético de dissolução das amostras de rifampicina recristalizadas em diferentes condições de processo em comparação aos cristais de partida.	147
Figure 5.74. Estrutura química do HPMC (Siepmann, 2001).	149
Figura 5.75. (a) Esquema do mecanismo de estabilização das nanopartículas de atorvastatina cálcica (ilustradas como pontos vermelhos) com HPMC (b) a partir do momento da adição do anti-solvente seguido de agitação (adaptado de Zhang, 2009).	149
Figura 5.76. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 09 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, sepiolita em LI) por ordem de magnificação.	152
Figura 5.77. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 10 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, sepiolita em tampão fosfato) por ordem de magnificação.	152
Figura 5.78. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 12 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, HPMC 0,1% em tampão fosfato) por ordem de magnificação.	153
Figura 5.79. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 15 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, HPMC 0,5% em tampão fosfato) por ordem de magnificação.	153
Figura 5.80. Perfil de DRX dos experimentos de recristalização pela técnica do anti-solvente modificada pelo adição de agentes dispersantes em comparação ao material recristalizado obtido pelo processo tradicional (amostra Cris14).	155
Figura 5.81. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada, obtida com (Cris 12 e 15 - condições experimentais: 4h, LI:TP de 1:5)) e sem HPMC (média dos experimentos Cris 08 e 14) no anti-solvente (tampão fosfato) em comparação com a RIFA de partida.	157
Figura 5.82. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada em presença de sepiolita (em líquido iônico ou em tampão fosfato) em comparação ao material obtido pelo processo de cristalização tradicional (média dos experimentos Cris 08 e 14) e RIFA de origem.	158
Figura 5.83. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada em	159

presença de sepiolita em líquido iônico (Cris 09) e em presença de HPMC (0,5% em tampão fosfato – Cris 15) comparados a RIFA de origem.

Figura 5.84. Aplicação do modelo matemático de primeira ordem aos perfis de liberação in vitro para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo. 161

Figura 5.85. Aplicação do modelo matemático de Hixson-Crowell aos perfis de liberação in vitro para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo. 161

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 3.1. Principais técnicas para melhorar a solubilidade ou para aumentar a área de superfície disponível para a dissolução (Adaptado de Patel, 2009).	6
Tabela 3.2a. Resumo dos sistemas de liberação de tuberculostáticos utilizando rifampicina.	20
Tabela 3.2b. Resumo dos sistemas de liberação de tuberculostáticos utilizando rifampicina.	21
Tabela 4.1. Composição e denominação das amostras hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.	30
Tabela 4.2. Modelos/ordens de liberação e suas respectivas equações matemáticas.	36
Tabela 4.3. Condições de operação do spray dryer de bancada.	37
Tabela 4.4. Denominação dos experimentos e descrição das condições de recristalização.	46
Tabela 4.5. Lista das caracterizações realizadas para os materiais de partida e item referência do texto relativo à metodologia utilizada.	53
Tabela 5.1. Características físicas e físico-químicas de RIFA.	60
Tabela 5.2. Ângulo de contato da rifampicina.	61
Tabela 5.3. % Dissolvido de rifampicina ao longo do tempo de 180 minutos.	62
Tabela 5.4. Resultados de viscosidade das suspensões nanocompósitos de PVA/argila.	67
Tabela 5.5. Resultados de pH das suspensões.	69
Tabela 5.6. Densidade real dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.	71
Tabela 5.7. Valores dos parâmetros cristalinos para os hidrogéis nanocompósitos.	76
Tabela 5.8. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para os hidrogéis nanoestruturadas.*	77
Tabela 5.9. Resultados de $T_g$ (alfa e beta) obtidos por DMA das amostras nanocompósitos de PVA/argila.	82
Tabela 5.10. Valores de $\overline{M}_c$ e tamanho de malha para os diversos Hidrogéis.	84
Tabela 5.11. Resultados de Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.	89
Tabela 5.12. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação (r) para os hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.	92
Tabela 5.13. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Higuchi dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.	94
Tabela 5.14. Rendimentos do processo de spray-drying.	96
Tabela 5.15. Resultados de viscosidade das suspensões diluídas de nanocompósitos de PVA/argila.	97
Tabela 5.16. Análise granulométrica das partículas híbridas de PVA/argila.	105
Tabela 5.17. Resultados de densidade máxima de empacotamento das partículas híbridas.	106
Tabela 5.18. Área superficial das micropartículas nanoestruturadas de PVA/SEP.	106
Tabela 5.19. Valores dos parâmetros cristalinos para as partículas híbridas.	111
Tabela 5.20. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as partículas híbridas obtidas por spray-drying.*	113
Tabela 5.21. Resultados de teor de água das partículas híbridas de	117

PVA/argila.	
Tabela 5.22. Resultados de teor em base seca de rifampicina nas partículas híbridas de PVA/argila obtidos por CLAE.	118
Tabela 5.23. Razão entre as áreas de RQUI/RIFA nas partículas híbridas de PVA/argila.	120
Tabela 5.24. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação (r) para as partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.	125
Tabela 5.25. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Higuchi das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.	126
Tabela 5.26. Solubilidade da rifampicina nos solventes puros.	131
Tabela 5.27. Solubilidade da rifampicina em diferentes solventes.	132
Tabela 5.28. Solubilidade da rifampicina em misturas de líquido iônico e tampão fosfato com diferentes composições	133
Tabela 5.29. Balanço de material e os rendimentos teórico para os experimentos de cristalização realizados com diferentes relações LI/TP.	134
Tabela 5.30. Rendimentos do processo de recristalização.	135
Tabela 5.31. Resultados de pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização por anti-solvente (medições realizadas entre 25 e 28 °C).	136
Tabela 5.32. Resultados de teor de água das amostras recristalizadas de rifampicina.	144
Tabela 5.33. Resultados de Teor de rifampicina em base seca nas amostras recristalizadas.	145
Tabela 5.34 - Razão entre as áreas de RQUI/RIFA na amostras recristalizada de rifampicina (Cris03).	146
Tabela 5.35 – Rendimentos do processo de recristalização.	150
Tabela 5.36 – Resultados de pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização modificada (medições realizadas entre 25 e 28 °C).	151
Tabela 5.37. Resultados de diâmetro médio das amostras de rifampicina recristalizadas pelo processo modificado.	154
Tabela 5.38. Resultados de teor de água das amostras recristalizadas obtidas pelo processo modificado.	155
Tabela 5.39. Resultados de Teor de rifampicina em base seca nas amostras recristalizadas pelo processo modificado.	156
Tabela 5.40. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação (r) para as partículas recristalizadas.	160
Tabela 5.41. Valores de k e equações de regressão a partir dos modelos de primeira ordem e Hixson-Crowell para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.	162
Tabela 5.42. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Hixson-Crowell para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.	163

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

<b>Abreviatura</b>	<b>Descrição</b>
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
DMSO	Dimetilsulfóxido
DSC	Calorimetria exploratória diferencial ( <i>differential scanning calorimetry</i> )
E"	Módulo de perda em tração
FDC	Associação em dose fixa ( <i>fixed-dose combination</i> )
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
ICH	International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceutical for Human Use (órgão regulamentador adotado pela União Européia, Estados Unidos e Japão)
<i>in</i>	preposição latina que significa "em"
LI	Líquido iônico
MOM	Montmorilonita sódica
OMS	Organização Mundial da Saúde ( <i>World Health Organization, WHO</i> )
PVA	Poli(álcool vinílico)
RIFA	Rifampicina
SCB	Sistema de classificação biofarmacêutica
SEP	Sepiolita
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
T <sub>g</sub>	Temperatura de transição vítrea
TP	Solução tampão fosfato 6,8
UR	Umidade relativa
USP	Farmacopéia Americana ( <i>The United States Pharmacopeia</i> )
UV-vis	Ultravioleta-visível

## 1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas terapias para a tuberculose, doença infecciosa do sistema respiratório, é um dos grandes desafios para a saúde pública (Sosnik, 2009). Dados epidemiológicos narram um crescente número de casos de tuberculose no Brasil e no mundo. Segundo a Organização Mundial da Saúde, cerca de um terço da população mundial (aproximadamente 2 bilhões de pessoas) está infectada por *Mycobacterium tuberculosis*, agente etiológico da tuberculose. Em 2008, foram relatados 9,4 milhões de novos casos de tuberculose no mundo equivalente a 139 casos por 100 mil habitantes. Ainda em 2008, 1,8 milhões de pessoas morreram no mundo, o equivalente a 4500 mortes por dia. Após a SIDA, a tuberculose é a segunda doença infecciosa que mais mata. A tuberculose é endêmica em países em desenvolvimento, mas a infecção ressurgiu em países desenvolvidos. O número de mortes por tuberculose está em crescimento no mundo e mais da metade de todas as mortes ocorrem somente na Ásia (WHO, 2009). O alto índice de pacientes co-infectados com SIDA/tuberculose fez com que a OMS declarasse emergência sanitária global desde 1993 (Sosnik, 2009). O Brasil ocupa o décimo oitavo lugar entre os 22 países com maior projeção de incidência de tuberculose no mundo, com 48 casos por 100 mil habitantes (WHO, 2009).

A farmacoterapia mais eficaz para a tuberculose é baseada em uma combinação multi-droga de isoniazida, pirazinamida, rifampicina e etambutol. A longa duração do tratamento e a grande quantidade de comprimidos do esquema terapêutico não são bem aceitos pelos pacientes e a baixa aderência ao tratamento é uma das principais razões da ineficácia do tratamento, contribuindo também para a resistência multi-drogas (Sosnik, 2009).

No intuito de melhorar este quadro, o uso de doses fixas combinadas (FDC - *Fixed Dose Combination*) baseadas em rifampicina, isoniazida, pirazinamida e etambutol em uma só formulação foi recomendado pela OMS, pelo Center for Disease Control (CDC) e pela International Union Against Tuberculosis and Lung Disease (IUATLD) (Toit, 2006), mas ainda assim a preocupação em termos epidemiológicos continua.

É de consenso que o principal problema no desenvolvimento de sistemas de liberação para atuação terapêutica da tuberculose é a baixa biodisponibilidade da rifampicina. A rifampicina é o único componente hidrofóbico das FDCs, pertencendo à classe II do SCB (baixa solubilidade e alta permeabilidade) (Panchagnula, 2004; Sosnik, 2009). O estado sólido da rifampicina tem sido postulado como um dos responsáveis pela

sua baixa/variável biodisponibilidade<sup>1</sup> em formulações orais de rifampicina (Agrawal, 2004).

Superar os principais inconvenientes tecnológicos dos agentes terapêuticos (solubilidade aquosa limitada, estabilidade e biodisponibilidade variáveis) para aumentar a aderência ao tratamento assim como aumentar a efetividade das drogas nos reservatórios infecciosos continua sendo um dos principais objetivos da Tecnologia Farmacêutica. Neste contexto, a nanotecnologia parece ser uma das mais promissoras abordagens. O mercado global de nanotecnologia baseado na liberação de fármacos espera crescer de cerca de US\$ 3,4 (2007) para US\$ 220 bilhões até 2015 (Sosnik, 2009).

Sistemas nanocompósitos que empregam polímeros hidrossolúveis têm sido amplamente usados em sistemas de liberação de fármacos, no preparo de sistemas poliméricos nanoestruturados com propriedades específicas (tais como melhoria das características de molhabilidade do fármaco, favorecimento de sua dissolução e solubilidade em condições fisiológicas) e representam uma estratégia de obtenção de novos sistemas poliméricos para liberação de fármacos de baixa solubilidade em água tais como a rifampicina (Aguzzi, 2007; Papadimitriou, 2009).

O desenvolvimento de sistemas de liberação de uso oral especialmente nos países em desenvolvimento ainda é uma necessidade onde sistemas injetáveis ou inalantes são caros e não muito bem aceitos pelos pacientes (Toit, 2006).

Dentro do contexto apresentado, o presente trabalho consiste no desenvolvimento e caracterização de sistemas poliméricos nanoestruturados baseados em poli(álcool vinílico) – PVA e argilominerais usando como fármaco modelo a rifampicina. O desempenho *in vitro* destes sistemas poliméricos para fins de utilização em formas farmacêuticas sólidas de uso oral também será abordado assim como a nanonização do fármaco modelo no intuito de melhorar seu estado sólido antes da incorporação nos sistemas poliméricos estudados.

O desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas de tuberculostáticos com propriedades programáveis como o controle da velocidade e perfil de dissolução do fármaco ampliará as possibilidades de tratamento da tuberculose, tornando as campanhas de combate à doença do Ministério da Saúde mais eficazes em benefício da saúde da população brasileira.

---

<sup>1</sup> Define-se biodisponibilidade como a velocidade e extensão com que um fármaco é absorvido a partir de uma forma farmacêutica e se torna disponível no local de ação (Storpirtis, 1995.)

## 2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem como objetivo principal a obtenção e caracterização de novos sistemas nanocompósito de poli(álcool vinílico) – montmorilonita (PVA/MOM) e poli(álcool vinílico) – sepiolita (PVA/SEP) associados a um fármaco pouco solúvel em meio aquoso, a rifampicina, de forma a modular sua liberação.

Para se atingir o objetivo principal, três estratégias serão investigadas, constituindo os objetivos específicos do trabalho:

1) Obtenção e caracterização de nanocompósitos de PVA/MOM e PVA/SEP associados à rifampicina sob a forma de hidrogel e em diferentes composições, visando avaliar o efeito da composição como modulador da liberação do fármaco.

2) Obtenção por secagem em *spray-drying* e caracterização de partículas híbridas de PVA/MOM e PVA/SEP associados à rifampicina, e em diferentes composições. Avaliar o efeito da composição como modulador da liberação do fármaco principalmente no que se refere ao desempenho biofarmacotécnico quando em formas farmacêuticas sólidas orais de uso popular no tratamento da tuberculose.

3) Obtenção do fármaco modelo sob a forma de nanopartícula, a partir da técnica de recristalização em anti-solvente, visando alterar e controlar suas características físico-químicas e velocidade de dissolução para incorporação futura nos sistemas nanocompósitos desenvolvidos.

### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. Estratégias para alterar a solubilidade de fármacos

Os fármacos são raramente administrados sozinhos, e sim como parte de uma formulação em combinação com vários componentes não medicinais com função farmacêutica variada e especializada. O desenvolvimento de uma formulação apropriada exige considerar as características físicas, químicas e biológicas de todas as substâncias e ingredientes utilizados no fabrico do produto. Uma propriedade físico-química importante dos fármacos é solubilidade, especialmente a solubilidade em sistemas aquosos. Vários novos fármacos com atividades farmacológicas interessantes vêm sendo descobertos, porém 35- 40% destes novos fármacos apresentam baixa solubilidade aquosa (Patel, 2009). Infelizmente muitos destes fármacos em potencial têm suas pesquisas abandonadas em seus estágios iniciais de desenvolvimento em função de problemas de solubilidade (Dhirendr, 2009). Segue abaixo a equação modificada de Noyes-Whitney com relação à velocidade de dissolução (Patel, 2009):

$$\frac{dC}{dt} = K \frac{DS}{Vh} (C_s - C_t) \quad (3.1)$$

Onde:

$dC/dt$  = velocidade de dissolução;

$K$  = coeficiente de dissolução ou de transferência de massa;

$D$  = coeficiente de difusão;

$S$  = área de superfície;

$V$  = volume do meio de dissolução;

$h$  = espessura da camada de difusão;

$C_s$  = solubilidade máxima no meio de dissolução;

$C_t$  = concentração do fármaco na solução no tempo  $t$ ;

$(C_s - C_t)$  = gradiente de concentração.

Para aumentar a velocidade de dissolução a partir da equação, as seguintes considerações podem ser feitas:

- Diminuição do tamanho de partícula do fármaco;
- Otimização das características de molhabilidade da superfície do fármaco;
- Diminuição da espessura da camada de difusão;
- Garantir a condição *sink*<sup>2</sup> de dissolução;
- Aumentar a solubilidade do fármaco.

A solubilidade e a velocidade de dissolução de um fármaco são determinantes na biodisponibilidade oral, e etapa limitante da absorção dos fármacos no trato gastrointestinal. Conseqüentemente a baixa solubilidade resulta em baixa biodisponibilidade e variação na concentração sanguínea do fármaco. Aumentar a biodisponibilidade oral de fármaco ainda é um dos temas mais desafiadores do desenvolvimento de fármacos. As diferentes modificações físicas e químicas geralmente utilizadas para contornar este desafio estão resumidas na Tabela 3.1.

---

<sup>2</sup> Condição *sink* - Descreve um sistema de dissolução que é suficientemente diluído de forma que o processo de dissolução não é impedido pela saturação do fármaco no meio. Uma condição *sink* existe se, na dissolução de 100 % do fármaco na maior dosagem do produto a ser testado, a concentração de não mais que 1/3 da saturação é atingida.

Tabela 3.1. Principais técnicas para melhorar a solubilidade ou para aumentar a área de superfície disponível para a dissolução (Adaptado de Patel, 2009).

<b>TÉCNICAS</b>	<b>Referências</b>
<b>I. MODIFICAÇÃO FÍSICA</b>	
<b>Tamanho de partícula</b>	
Redução de tamanho	(Gao, 2008; Keck, 2006)
Nanosuspensões	(Müller, 2001; Ambrus, 2009)
<b>Modificação do hábito cristalino</b>	(Hancock, 1997; Rasenakc, 2004; Shailesh, 2006)
<b>Polimorfos</b>	(Henk, 1997)
<b>Complexação/solubilização</b>	
Uso de tensoativos	(Wong, 2006; Ghebremeskel, 2007; Janssens, 2008)
Uso de ciclodextrinas	(Cirri, 2006; Rama, 2006; Carrier, 2007)
<b>Dispersão em carreadores</b>	
Misturas eutéticas	(Naima, 2001)
Dispersões sólidas	(Jain, 2006; Vasconcelos, 2007; Majerik, 2007; Papadimitriou, 2009; Dhirendr, 2009)
Soluções sólidas	(Dittgen, 1995)
<b>II. MODIFICAÇÃO QUÍMICA</b>	
<b>Pro-fármacos solúveis</b>	(Hemenway, 2007; Chassaing, 2008)
<b>Sais</b>	(Karavas, 2006)

O SCB para fármacos destaca a dissolução como etapa limitante para a absorção oral das classes II e IV. As formas farmacêuticas convencionais para esta classe de fármacos, no entanto, têm desempenho errados ou variáveis durante a avaliação pré-clínica e clínica. Como geralmente é mais caro alterações no redesenho da entidade química, nesses casos se faz necessário o desenvolvimento de formulações mais efetivas e capazes de superar estas limitações e liberar o fármaco na concentração ótima para o efeito terapêutico desejado (Shailesh, 2006).

### **3.2. Materiais Híbridos**

O desenvolvimento da ciência dos materiais trouxe importantes contribuições no avanço da tecnologia. A busca constante por novos materiais com desempenho e propriedades otimizadas para aplicações inovadoras e o aperfeiçoamento de materiais já existentes é um desafio e um dos motivos da evolução técnica e científica atual. Nesse contexto, encontra-se a possibilidade de combinar no nível molecular ou nanométrico os componentes orgânicos e inorgânicos, resultando em novos materiais conhecidos como híbridos organo-inorgânicos. Esses materiais híbridos, além de oferecerem a oportunidade de combinar de forma sinérgica as propriedades físico-químicas inerentes de seus constituintes, permitem obter novas propriedades, resultantes da combinação de seus componentes, devido ao tamanho reduzido dos domínios que os compõem (Benvenuti, 2009).

### **3.2.1. Hidrogéis nanocompósitos**

Hidrogéis são redes poliméricas tridimensionais constituídas de polímeros hidrofílicos ou parcialmente hidrofílicos, que apresentam grande capacidade de retenção de água, desde um limite mínimo de 10 – 20% até milhares de vezes seu peso seco em água (Peppas, 1986). Desde o trabalho pioneiro de Wichterle e Lim em hidrogéis de poli(hidroxi-etilmetacrilato) (Wichterle, 1960), uma enorme gama de hidrogéis, com as mais diversas propriedades e estruturas foi obtida, conseqüentemente expandindo o leque de aplicações para os mais diversos campos da ciência e tecnologia. Os hidrogéis se assemelham ao tecido natural mais que qualquer outra classe de biomateriais sintéticos. Isto se deve ao seu elevado conteúdo de água e consistência mole. Além disso, o alto conteúdo de água contribui para sua biocompatibilidade. Com isso eles podem ser usados em lentes de contato, membranas biosensoras, revestimento para corações artificiais, materiais para pele artificial e sistemas para liberação de fármacos. Estes sistemas de liberação baseados em hidrogéis podem ser usados para uso oral, retal, ocular, epidermal e subcutâneo (Peppas, 2000).

O poli(álcool vinílico) (PVA) é certamente um dos polímeros hidrofílicos mais utilizados na preparação de hidrogéis poliméricos para as mais diversas aplicações por possuir propriedades interessantes tais como: boa resistência química, processabilidade, biocompatibilidade e biodegradabilidade (Paranhos, 2007a)

Nos últimos anos, houve um enorme esforço mundial na busca pela compreensão dos princípios e mecanismos que regem o preparo e utilização dos chamados materiais nanocompósitos (Ray, 2003; Paul, 2008).

Nanocompósitos são polímeros carregados de partículas para os quais pelo menos uma dimensão das partículas dispersas está na faixa nanométrica. Segundo Paul e colaboradores, nanocompósitos são materiais que contêm partículas na faixa de tamanho de 1-100 nm (Paul, 2008). Podem-se distinguir três tipos de nanocompósitos dependendo de quantas dimensões das partículas dispersas estejam na faixa de nanômetros. Quando as três dimensões estão em tal faixa, está-se trabalhando com nanopartículas isodimensionais, assim como nanopartículas de sílica esféricas obtidas por métodos sol-gel *in situ* ou por polimerização promovida diretamente a partir de sua superfície, mas também podem incluir nanogrupos (*nanoclusters*) semicondutores e outros. Quando duas dimensões são nanométricas e a terceira é maior, formando estruturas alongadas, fala-se em nanotubos ou fios (*whiskers*), como, por exemplo, nanotubos de carbono e fios de celulose, os quais são extensivamente estudados como nanocargas de reforço, acarretando materiais com propriedades excepcionais. O terceiro tipo de nanocompósitos é caracterizado por apenas uma dimensão na faixa nanométrica. Nesse caso, a carga está presente na forma de lâminas de um a alguns nanômetros de espessura e centenas ou milhares de nanômetros de comprimento. Esta família de compósitos pode ser reunida sob o nome de nanocompósitos polímero-cristais lamelares. Esses materiais são quase exclusivamente obtidos pela intercalação do polímero (ou monômero subsequente polimerizado) dentro das galerias dos cristais lamelares hospedeiros (Alexandre, 2000).

Dentre todos os potenciais precursores nanocompósitos, aqueles baseados em argilas e silicatos lamelares têm sido os mais amplamente investigados, provavelmente devido aos materiais argilosos iniciais serem de fácil disponibilidade e porque sua química de intercalação tem sido estudada há longo tempo. Devido às partículas de tamanho nanométrico obtidas por dispersão, tais nanocompósitos exibem propriedades mecânicas, térmicas, ópticas e físico-químicas marcadamente melhoradas quando comparados com o polímero puro ou compósitos convencionais (microescala) (Lepoittevin, 2002). Materiais lamelares são potencialmente bem adequados para a modelagem de compósitos híbridos, pois seus elementos lamelares possuem alta resistência e rigidez ao plano e alta razão de aspecto (Pinnavaia, 1983). Virtualmente, todas as famílias de sólidos lamelares partilham desses atributos, mas as argilas esmectitas (por exemplo, montmorilonita) e silicatos lamelares relacionados são os materiais de escolha para a modelagem de

nanocompósitos poliméricos por duas razões principais. Primeiramente, eles exibem uma química de intercalação muito rígida, o que permite que eles sejam quimicamente modificados e tornem-se compatíveis com polímeros orgânicos para dispersão em uma escala nanométrica. Em segundo lugar, ocorrem de forma oblíqua na natureza e podem ser obtidos em uma forma mineralogicamente pura a baixo custo. Argilas esmectitas podem também ser sintetizadas sob condição hidrotérmica, mas argilas naturais purificadas normalmente oferecem uma vantagem de custo sobre os análogos sintéticos (Wang, 2000).

Segundo Kokabi, variados tipos de nanocompósitos de PVA-argila foram preparados e suas propriedades investigadas (Kokabi, 2007). Nanocompósitos de PVA-argila foram preparados por *casting* de uma suspensão de PVA e montmorilonita. Estudou-se a estrutura dos nanocompósitos obtidos e encontrou-se a coexistência de camadas de montmorilonita exfoliadas e intercaladas, especialmente em baixas e moderadas cargas desses silicatos, estes nanocompósitos tiveram as propriedades mecânicas, térmicas e de transmissão de vapor de água superiores ao do PVA puro e seus compósitos convencionais. Nanocompósitos de PVA-argila foram sintetizados pelo método de intercalação em solução usando argilas de troca iônica sódicas e de alquil-amônio. Estudos morfológicos mostraram que argilas sódicas foram mais facilmente dispersas na matriz de PVA que as de alquil-amônio, além de possuírem melhores propriedades mecânicas. Nanocompósitos de PVA-argila também foram preparados pelo mesmo método e experimentos de difusão de água e acetona *in situ* foram realizados. Foi observado que a carga de argila exerce pequena influência na taxa de retenção de água, enquanto a taxa de difusão da acetona é significativamente reduzida de acordo com o aumento da carga de argila no nanocompósito. Nanocompósitos de PVA-argila foram também preparados via polimerização via radical livre *in situ* com 2,2-azobisisobutironitrila como iniciador. A partir dele foram estudadas a estrutura, viscosidade, estabilidade térmica, resistência mecânica e propriedades óticas em comparação ao PVA puro. Nanocompósito de PVA-montmorilonita foram preparados via criogelificação e suas propriedades físicas e mecânicas investigadas (Kokabi, 2007).

Nanocompósitos de PVA contendo nanotubos de carbono foram preparados por dispersão direta dos nanotubos em solução aquosa de PVA por Tsai e Huang. A suspensão PVA/nanotubos foi submetida a ciclos de congelamento e descongelamento à -20°C. Os resultados indicam que a dispersão dos nanotubos de carbono na matriz de PVA se mostrou estável ao longo do tempo. O uso destes nanocompósitos em eletrodos

para voltametria cíclica mostrou que a aplicabilidade destes materiais como sensores eletroquímicos é bastante significativa (Tsai, 2000). Entre os trabalhos nacionais, destaca-se a preparação e caracterização de hidrogéis nanocompósitos de PVA-montmorilonita preparados por casting. Os resultados mostram que as razões de inchamento para os hidrogéis de PVA-montmorilonita diminuíram em presença da argila e que esta atua como estabilizante da rede polimérica (Paranhos, 2007a) Hidrogéis nanocompósitos de PVA-montmorilonita e poliéster sulfonado foram preparados e seu tamanho de volumes livres avaliado por espectroscopia de vida média do pósitron. (Paranhos, 2007b)

### **3.2.2. Uso de argilas para melhorar a taxa de dissolução de fármacos**

As argilas são usadas comumente para retardar e/ou promover liberação em sítio específico, mas também podem ser usadas para aumentar a dissolução de fármacos (Aguzzi, 2007). Monkhouse e Lach foram os primeiros a descrever o uso de sílica e ácido silícico como agentes adsorventes (Monkhouse, 1972 a, b). A esmectita aumentou a taxa de dissolução *in vitro* de fármacos insolúveis não-iônicos e de caráter ácido. A liberação do fármaco da superfície foi promovido pela ligação entre eles e concomitantemente a molhabilidade do fármaco aumentada em função das propriedades hidrofílicas da argila (McGinity, 1980; Kreuter, 1981; Takahashi, 1991a, b). Comprimidos preparados por compressão direta do adsorbato hidroclorotiazida-veegum apresentam completa dissolução (100 %) em 10 min enquanto os comprimidos do mercado liberam somente 50 % da dose no mesmo tempo (Aguzzi, 2007). O adsorbato Fenitoína – montmorilonita aumentou a biodisponibilidade deste fármaco em humanos em comparação às cápsulas de fenitoína sódica comerciais (Koeleman, 1990). Ito e colaboradores reportaram que níveis sanguíneos de indometacina em ratos a partir de formas farmacêuticas transdérmicas baseadas em compósitos fármaco-montmorilonita foram maiores quando comparados com compostos controle contendo apenas indometacina cristalina (Ito, 2001).

Neste trabalho as argilas de interesse foram a montmorilonita sódica e a sepiolita.

#### **3.2.2.1. Montmorilonita (MOM)**

A MOM pertence à família dos silicatos, mais especificamente ao grupo dos filossilicatos 2:1. De um modo geral, sua estrutura cristalina é composta por uma camada octaédrica central de hidróxido de alumínio ou magnésio unida, na forma de sanduíche, por duas camadas tetraédricas compostas de SiO<sub>4</sub>, sendo que na composição geral,

invariavelmente acompanham moléculas de água e se apresentam em uma estrutura lamelar uma vez que todos os membros desse grupo possuem hábito achatado ou em escama (Santos, 1989). A espessura das camadas é de aproximadamente 1 nm e suas dimensões laterais podem variar de 30 nm até centenas de micrômetros. Essas camadas se organizam empilhando-se umas sobre as outras (unidas por interações fracas do tipo *Van der Waals*) com espaçamentos regulares denominados espaçamentos intercamadas ou galerias. Substituições isomórficas de cátions de maior valência por cátions de menor valência no interior das camadas nem sempre são compensadas na estrutura de alguns argilominerais. Como consequência, é gerado um excesso de cargas negativas. Essas cargas negativas são contrabalançadas por cátions de metais alcalinos ou alcalino-terrosos situados no interior das galerias (Santos, 1989; Fonseca, 2003). Detalhes da estrutura da MOM são representados na Figura 3.1.

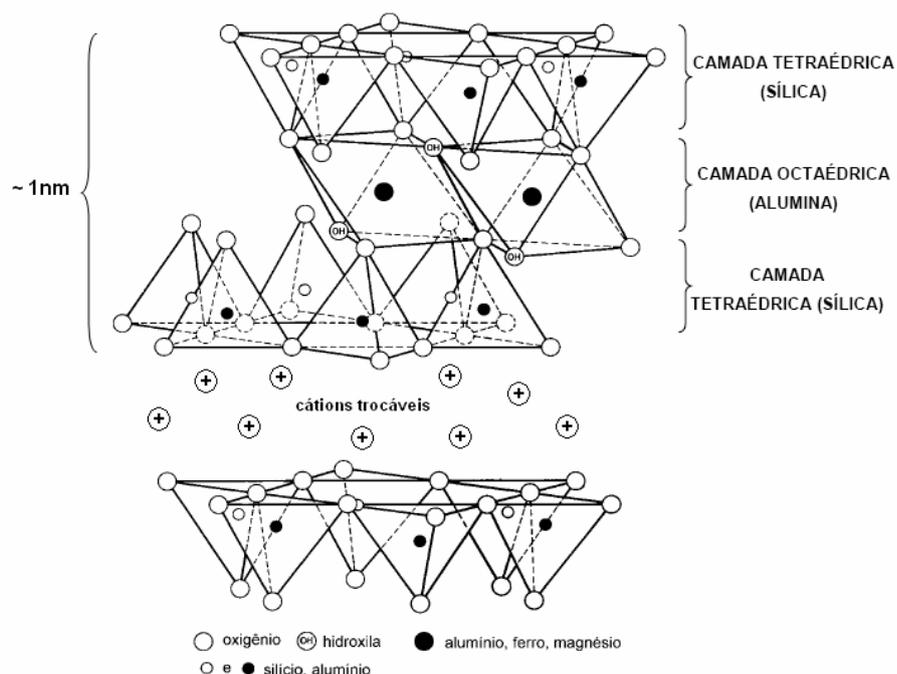


Figura 3.1. Estrutura da montmorilonita em sua forma natural (Coelho, 2007).

Este tipo de silicato é caracterizado por uma carga superficial moderada conhecida como capacidade de troca de cátions (CEC - *cation-exchange capacity*), sendo geralmente expressa em meq/100g. A MOM apresenta comprimento e largura de cerca de 250 nm, o que resulta em uma área superficial da ordem de 700 m<sup>2</sup>/g. Esse alto valor de área superficial é responsável pelas excepcionais alterações nas propriedades dos

polímeros com ela combinados (Wang, 2000). MOM é a argila mais empregada no estudo e obtenção de materiais poliméricos nanocompósitos (Ray, 2003).

Pelo fato de apresentar elevada hidrofiliçidade, MOM é amplamente utilizada para o preparo de nanocompósitos com polímeros hidrofílicos, tais como PVA, poli(N-isopropilacrilamida), poli(ácido láctico), entre outros (Forni, 1989; Lee, 2003; Lee, 2004; Ray, 2005).

### 3.2.2.2. *Sepiolita (SEP)*

Sepiolita é um argilo-silicato de magnésio hidratado e com fórmula geral  $\text{Si}_{12}\text{O}_{30}\text{Mg}_8(\text{OH})_4(\text{H}_2\text{O})_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ . Seu aspecto fibroso revela uma estrutura baseada na alternância de blocos e túneis (padrão zeolítico) que crescem na direção da fibra (eixo *c*). Cada bloco estrutural é composto de duas camadas tetraédricas de sílica e uma camada octaédrica central contendo magnésio. Devido à descontinuidade da camada externa de sílica, um significativo número de grupos silanol (Si-OH) está presente na superfície desta argila.

A estrutura cristalina da sepiolita pode ser vista na Figura 3.2. O espaçamento observado entre as lâminas gera poros do tipo zeólita, com seção transversal de  $3,5 \times 10,6 \text{ \AA}^2$ . A morfologia acicular da sepiolita gera uma área superficial com cerca de  $380 \text{ m}^2$ , consideravelmente maior do que a observada para silicatos lamelares do tipo montmorilonita ( $80 \text{ m}^2$ ). Esta elevada área superficial pode gerar uma elevada dispersão da argila na matriz polimérica, gerando interessantes propriedades (Kojdecki, 2005).

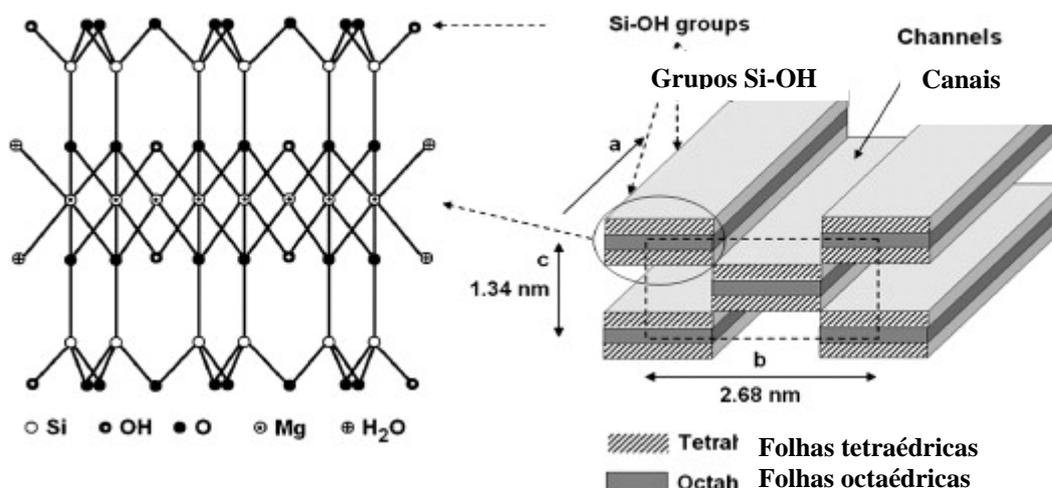


Figura 3.2. Estrutura cristalina da sepiolita (Choudhury, 2009).

Devido à sua estrutura zeolítica, sepiolita contém 4 diferentes tipos de moléculas de água: (i) higroscópica, referente à absorção de umidade do ar pelos grupos silanol presentes na superfície; (ii) zeolítica, moléculas de água que ocupam os canais zeolíticos sem que haja interações com a superfície dos mesmos; (iii) ligada, moléculas de água que interagem com íons insaturados localizados nas paredes internas dos canais; (iv) hidroxílica, resultante das interações entre as moléculas de água e os grupos silanol presentes nos trechos descontínuos da camada externa de sílica (Tartaglione, 2008).

A sepiolita é encontrada na Espanha (maior produtor mundial), seguida da Turquia (Anatólia) e dos Estados Unidos (Nevada). No Brasil, já foram identificadas pequenas jazidas em Ponte Alta (MG), Jacuba e São José do Tocantins (GO) e em Brumado (BA). Atualmente, as principais aplicações industriais da sepiolita são baseadas nas propriedades ab-adsortivas do argilomineral: agente clarificante e descorante de líquidos; auxiliar de filtração; ab-adsorvente industrial; suporte de catalisadores e de biocidas, além das suas excelentes propriedades reológicas em dispersões aquosas e em solventes orgânicos. Sepiolita também pode ser utilizada em desodorantes do meio ambiente; como ab-adsorvente de dejetos de animais (em “*cat litter*”, “banheiros de gatos”, principalmente na Europa); em tintas de asfalto; em agentes anti-empedrantes; em filtros de cigarros; em platisóis e borrachas; em nutrição animal; em detergentes; em cosméticos; em produtos agrícolas, como por ex. na formulação de fertilizantes; com espessador de graxas; em papéis para cópia sem carbono (Kojdecki, 2005).

Seu baixo teor de ferro a torna compatível com fármacos susceptíveis a oxidação (Hermosin, 1981).

Em função destas propriedades mostra-se um excelente material para ser usado como excipiente em produtos farmacêuticos (Viseras, 1999).

Os primeiros estudos sobre nanocompósitos de PVA/sepiolita surgiram ainda em 2006. Zheng e colaboradores investigaram nanocompósitos de epóxi reforçados com sepiolita e suas propriedades mecânicas (Zheng, 2006) Alkan e colaboradores, estudaram nanocompósitos de poli(vinil álcool) (PVA) com sepiolita natural e também tratada pelo calor pelo método de dispersão em solução (Alkan, 2009) e Viçosa e colaboradores, estudaram o efeito da sepiolita nas propriedades físicas e de inchamento de hidrogéis nanocompósitos contendo PVA, sepiolita e rifampicina (Viçosa, 2009)

### **3.3. Processo de secagem por atomização para associar fármaco e adjuvante**

A técnica de *spray-drying*, é uma tecnologia muito utilizada em diversos segmentos industriais, incluindo o farmacêutico. Embora necessite de investimentos médios ou elevados em instalações e operação, várias vantagens justificam a sua crescente utilização. Dentre essas vantagens está a reprodutibilidade da técnica para obtenção de partículas, a aplicabilidade tanto com materiais sensíveis quanto resistentes à temperatura, a capacidade de processar diversas matérias-primas e a flexibilidade na formulação. Os fatores de formulação e os parâmetros de processo determinam as propriedades das partículas produzidas (Ré, 2006). O processo envolve quatro estágios seqüenciais e pode ser observado na Figura 3.3: (a) Atomização dos materiais de alimentação através de um bico atomizador; (b) Contato das gotículas produzidas com o ar; (c) Secagem (d) Coleta do produto sólido (micropartículas) obtido. Em comparação com as outras técnicas de microencapsulação, a secagem por atomização oferece a vantagem de ser um processo de etapa única. Adicionalmente tem-se a rapidez, pequena dependência sobre as características de solubilidade do fármaco e do polímero, e facilidade de escalonamento.

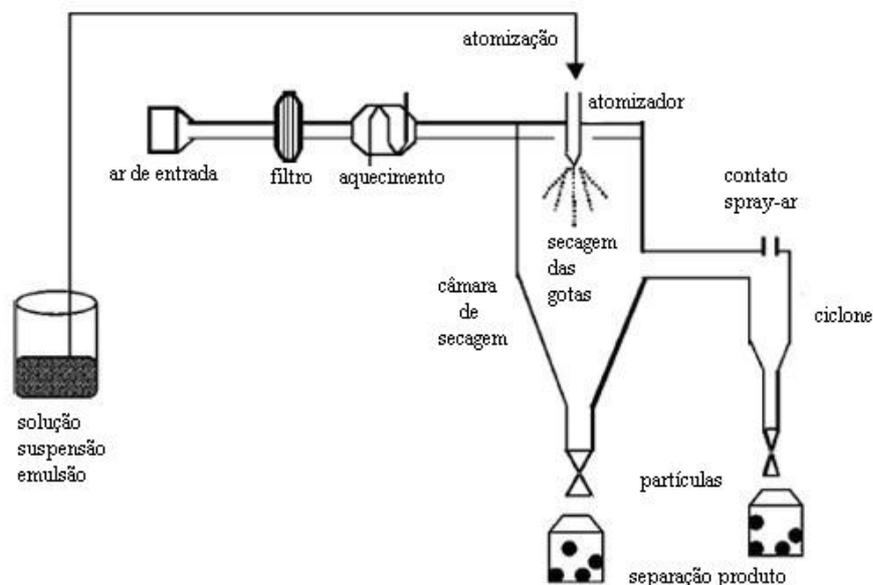


Figura 3.3. Representação esquemática do funcionamento do equipamento *spray-dryer* (Ré, 2006).

Essas características fazem com que a avaliação das suas potencialidades como um método de encapsulação de fármacos tenha se tornado uma área de pesquisa de interesse crescente (Ré, 1998; Ré, 2002; He, 1999).

Micropartículas contendo um agente ativo podem ser preparadas por *spray-drying* a partir de sistemas homogêneos (soluções) ou heterogêneos (dispersões). No caso de soluções, o ativo e o polímero estão co-dissolvidos em um mesmo solvente. No caso de dispersões, partículas finamente divididas do ativo são incorporadas a uma solução polimérica. A solução ou suspensão é atomizada e seca em secadores *spray-dryer*. Com a evaporação do solvente, o polímero precipita e aprisiona o sólido disperso (suspensão-mãe) ou os cristais precipitados (solução-mãe). A microestrutura gerada é mais usualmente conhecida como *microesfera* em aplicações médicas e farmacêuticas (Ré, 2006). A escolha do polímero depende de uma série de fatores como a necessidade de uso de materiais solúveis, biodegradáveis, dependendo da rota de administração ou eliminação e da região de absorção no caso de droga farmacêutica. Considerações de toxicidade, alergia e irritabilidade são de fundamental importância. Dentre as principais categorias de materiais encapsulantes que vem sendo utilizadas, podem-se mencionar alguns derivados de celulose (Wan, 1992; Zgoulli, 1999, Billon, 2000); polímeros e co-polímeros biodegradáveis derivados de ácidos poli-láticos e poli-glicólicos (Baras, 2000; Prior, 2000); polímeros e co-polímeros derivados de ácidos poliacrílicos e metacrílicos como Eudragit tipos L100-55, L30D, NE30D, RS30D, RS100 (Zgoulli, 1999;) e os polímeros como alginatos, quitosana e outras gomas naturais (Takeuchi, 1998; He, 1999).

Vários estudos apresentados na literatura têm avaliado a forma, a morfologia e outras características físicas de produtos microencapsulados por *spray-drying* como uma função das condições do processo e da formulação (Billon, 2000; Prior, 2000; Baras, 2000). No entanto, a possibilidade de formulação das micropartículas preparadas com polímero por *spray-drying* em formas sólidas diversas (comprimidos, suspensões ou dentro de cápsulas gelatinosas usadas como veículo de administração oral do medicamento) tem sido vista pela área farmacêutica como uma das grandes vantagens do processo de microencapsulação por *spray-drying* (Zgoulli, 1999; He, 1999). Isto porque o controle direto da liberação das drogas apenas pelas micropartículas produzidas por *spray-drying* nem sempre se mostra efetivo (He, 1999). Alguns destes autores acreditam que apenas substâncias de natureza lipofílica possam ser encapsuladas por *spray-drying*

e terem garantida uma liberação mais lenta e controlada. Comprimidos têm sido usados como um bom controle de dosagem de drogas com polímeros. Eles podem ser preparados por compressão direta de uma mistura de polímero e de um princípio ativo com outros excipientes que facilitem a compressão ou então mais recentemente a partir de micropartículas de droga e polímero preparadas por *spray-drying*. Os comprimidos preparados a partir deste último método têm demonstrado um melhor controle da liberação, porque o princípio ativo está impregnado ou aprisionado em uma matriz polimérica com propriedades de permeabilidade e solubilidade diferentes daquelas da mistura física de ambos os componentes (ativo-polímero). Como exemplo prático, pode-se mencionar o trabalho de Takeuchi e colaboradores que prepararam, por *spray-drying*, microesferas de teofilina com vários polímeros hidrofílicos em sistemas aquosos (Takeuchi, 1998). Eles atribuíram o bom controle da liberação da teofilina dos comprimidos à dispersão homogênea desta droga dentro das micropartículas geradas no processo de *spray-drying*. Apesar desse uso promissor de micropartículas de polímero e ativo produzidas por *spray-drying* para a preparação de comprimidos com maior controle da velocidade de liberação do ativo, esforços da comunidade técnico-científica internacional têm sido concentrados no desenvolvimento de formulações que permitam o uso das micropartículas, para controle direto da liberação do ativo. Darbandi e colaboradores estudaram as propriedades aerodinâmicas de micropartículas de rifampicina obtidas por *spray-drying* destinadas à absorção pulmonar (Darbandi, 2008). Dentre os polímeros utilizados, materiais hidrofílicos como carboximetilcelulose sódica (NaCMC), hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e metilcelulose (MC) têm sido empregados em função de suas características de hidratação e de capacidade de formação de gel na superfície das partículas, constituindo uma barreira efetiva à difusão de materiais ativos hidrossolúveis (Wan, 1992; Ermis, 1999; Billon, 2000). De acordo com a literatura, os melhores resultados foram obtidos com NaCMC, o que tem sido atribuído à sua maior hidrofiliabilidade em relação aos demais polímeros (Wan, 1992; Ermis, 1999).

### **3.4 - RIFAMPICINA: o fármaco-modelo**

É difícil fazer qualquer generalização com relação à biodisponibilidade da rifampicina tanto para formulações genéricas FDCs quanto para rifampicina sozinha pois a variabilidade foi encontrada em ambos os casos. Outros antituberculostáticos das composições FDC como a isoniazida, pirazinamida e etambutol não apresentam

problemas de biodisponibilidade pois pertencem a classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade) do BCS. A rifampicina é o único componente hidrofóbico das FDCs a qual pertence à classe II do BCS (baixa solubilidade e alta permeabilidade (Panchagnula, 2004; Agrawal, 2005), sendo portanto alvo de grande interesse de estudo e eleita aqui como fármaco-modelo. A rifampicina apresenta polimorfismo, e existe em duas formas polimórficas, forma I e II. Existe também na forma de hidrato e vários solvatos, os quais se convertem eventualmente em forma amorfa a temperatura ambiente ou após desolvatação. (Agrawal, 2004). A forma II é transformada em I pela mistura em presença de ácido esteárico a temperatura ambiente ou pelo aquecimento com n-octanol em cerca de 55 °C. A forma amorfa cristaliza em forma I a 50°C em presença de n-dodecano ou a temperatura ambiente na presença de n-octanol. (Pelizza, 1977). O polimorfismo tem sido postulado como sendo um dos responsáveis pela sua baixa/variável biodisponibilidade em formulações orais de rifampicina (Agrawal, 2004; Panchagnula, 2006a e b), porém alguns autores relatam que o polimorfismo não tem efeito na dissolução intrínseca da rifampicina, sendo o tamanho de partícula o mais importante (Panchagnula, 2006b; Panchagnula, 2008) Outro agravante é a proporção entre as formas I e II e teor de amorfo que pode variar de lote a lote de um mesmo processo de fabricação (Pelizza, 1977; Henwood, 2000; Henwood, 2001). A forma amorfa da rifampicina é reportada como tendo baixa velocidade de dissolução, porém recentes trabalhos mostram que o conteúdo de amorfo não tem efeito nos perfis de dissolução de cristais de rifampicina (Panchagnula, 2008).

Jindal e colaboradores relatam o efeito do tamanho das partículas na biodisponibilidade e dissolução da rifampicina. Eles observaram que o tamanho de partícula não tem efeito significativo na absorção desse fármaco. Entretanto, quando o fármaco é muito fino (diâmetro médio  $\leq 10 \mu\text{m}$ ), a presença de forças eletrostáticas pode resultar em formação de aglomerados afetando a dissolução e gerando uma baixa biodisponibilidade (Jindal, 1994).

A associação medicamentosa mais comum ocorre entre rifampicina e isoniazida. Porém, a rifampicina em meio ácido sofre uma hidrólise para formar a 3-formilrifampicina (3FRSV), que é insolúvel e muito pouco absorvida (Dekker, 2003). De acordo com Shishoo e colaboradores, o método de análise descrito nos compêndios farmacêuticos oficiais não consegue diferenciar a rifampicina do produto de degradação e o ensaio de dissolução não garante sua biodisponibilidade a partir de FDC (Shishoo, 1999). Dessa forma, a adequada caracterização das matérias-primas, visto às divergências encontradas

na literatura para a rifampicina, e das diversas formulações oriundas destas, têm uma importância primordial na garantia da eficácia do medicamento.

### 3.4.1. – Principais características físico-químicas

Sua fórmula molecular é  $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ , com peso molecular de 822,96 e sua fórmula estrutural esta representada na Figura 3.4 (Connors, 1986).

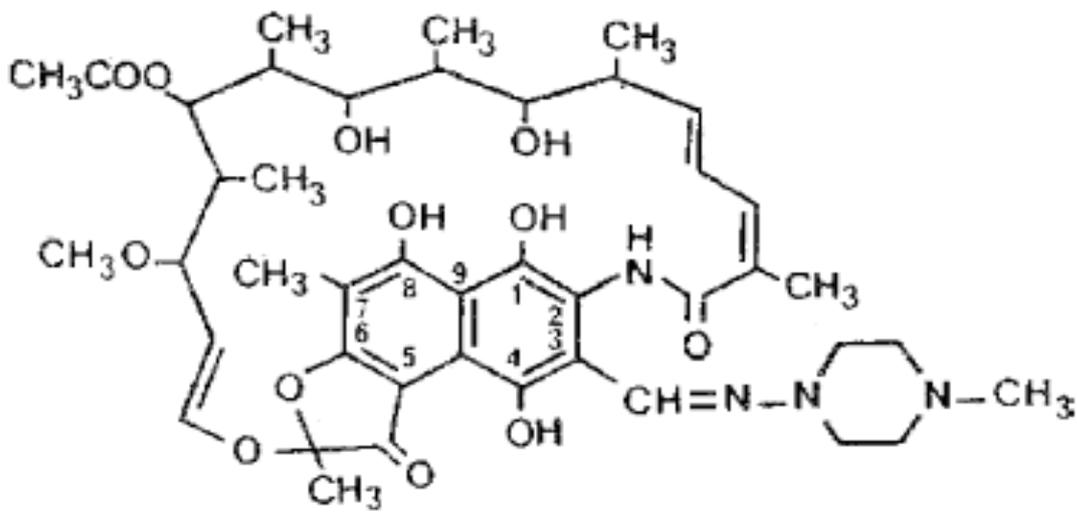


Figura 3.4. Fórmula estrutural da Rifampicina

Apresenta-se como pó cristalino, vermelho-amarronzado. Seu ponto de fusão varia de 183 a 188°C com decomposição. É totalmente solúvel em clorofórmio e DMSO; solúvel em acetato de etila, metanol e tetrahidrofurano; é levemente solúvel em água, acetona e tetracloreto de carbono (Connors, 1986; The Merck Index, 2001).

O pH resultante de uma suspensão aquosa a 1% de rifampicina fica entre 4 e 6,5. A função ácida da rifampicina tem sido associada às hidroxilas presentes nas posições C<sub>1</sub>, C<sub>4</sub> e C<sub>8</sub> (pKa = 1,7). Sua função básica é associada ao nitrogênio piperazínico (pKa = 7,9). A rifampicina deve ser armazenada em recipientes herméticos e sob temperaturas não superiores a 40°C (Connors, 1986; Martindale, 1996).

A degradação de rifampicina em soluções aquosas é um processo pH dependente. A rifampicina não é estável em pHs extremamente baixos. E também foi sugerido que em pHs alcalinos a rifampicina está sujeita a uma maior degradação. Deste modo, o pH onde a estabilidade é máxima deve ser esperado em algum ponto próximo à neutralidade

(Seydel, 1970; Jindal, 1995). Ela também sofre oxidação sob condições alcalinas na presença de oxigênio atmosférico tendo como produto de degradação a rifampicina-quinona. Estima-se que uma suspensão aquosa a 1% de rifampicina perca 20% da sua potência a cada 10 h à temperatura ambiente. Uma suspensão de 1% de rifampicina em um xarope simples (85% de glicose) também se mostrou química e biologicamente estável por 6 a 7 semanas se armazenada de 2 a 8°C (Connors, 1986).

### **3.4.2. Estratégias para aumento da biodisponibilidade**

Solubilidade e biodisponibilidade de fármacos são fatores inter-relacionados e freqüentemente constituem uma barreira no desenvolvimento de formas farmacêuticas. Nos tratamentos convencionais, muitas vezes, uma grande quantidade de fármaco é administrada e uma grande fração é excretada sem exercer nenhuma atividade. Alternativas eficientes que tornem os fármacos mais disponíveis para determinado sítio de absorção, com taxas de dissolução mais adequadas, têm sido amplamente descritas na literatura e visam direcionar os fármacos para sítios específicos do organismo, aumentar sua solubilidade em sistemas aquosos, promover sua liberação controlada e aumentar o efeito terapêutico (Lima, 2006).

Vários estudos vêm sendo feitos no desenvolvimento de sistemas de liberação, utilizando rifampicina conforme apresentados na Tabela 3.2.

Tabela 3.2a. Resumo dos sistemas de liberação de tuberculostáticos utilizando rifampicina.

Fármaco	Sistema de liberação e polímero empregado	Via de administração	Método de preparação	Referência
RIF, INH, PYZ, ETB	Micropartículas usando PLG	Oral, sozinho ou combinado	Dupla emulsificação e evaporação do solvente	(Ain , 2002)
RIF, INH, PYZ	Nanopartículas usando PLG	Oral	Emulsão múltipla	(Pandey, 2003)
RIF, INH	Bomba osmótica usando HPMC e NaCMC	Oral	Processo em Fase inversa	(Prabakaran, 2004)
RIF, INH	Micropartículas usando PLG	Subcutânea, inalatória	Dupla emulsificação e evaporação do solvente	(Dutt , 2001)
RIF	Microesferas usando PLG	Inalatória/Aerossol	Evaporação de solvente	(Barrow ,1998)
RIF, INH	Microesferas usando PLG	Inalatória	Combinação de extração e evaporação de solvente	(Sharma, 2001)
RIF	Micropartículas usando PLGA	Inalatória	<i>Spray-drying</i>	( Suarez , 2001)
RIF	Micropartículas usando PLGA	Inalatória	Evaporação de solvente e <i>spray-drying</i>	(O'hara, 2000)
RIF	Micropartículas usando quitosana-PLGA	-	Difusão de solvente em emulsão	(Manca, 2008)
RIF	Microesferas usando PLGA	Inalatória	Evaporação de solvente e Emulsificação em membrana	(Ito, 2004; Ito, 2008))
RIF	Nanopartículas usando PLGA	-	Difusão de solvente em emulsão	(Esmaeili , 2007)

RIF: Rifampicina, INH: isoniazida, PYZ: pirazinamida, ETB: etambutol, PLG: poli(DL-lactide-co-glicolide), PLGA: ácido poliláctico-co-glicólico), HPMC: hidropilmetilcelulose, NaCMC: carboximetilcelulose sódica,) L-PLA: poli(L-lactide).

Tabela 3.2b. Resumo dos sistemas de liberação de tuberculostáticos utilizando rifampicina.

RIF, INH, PYZ e RIF, INH, PYZ, ETB	Nanopartículas usando alginato	Inalatória	Geleificação cátion induzida do alginato	(Zahoor, 2005) (Zahoor, 2006)
RIF	Lipossomas aerossolisáveis formulados com lipossomas provenientes da fosfatidilcolina e colesterol do ovo	Inalatória	Lipossomas neutros são preparados pelo método do hidrogel.	(Vyas, 2004)
	Lipossomas catiônicos	-	Imobilização em poliestireno	(Pasquardini, 2008)
	Micropartículas de(L-PLA)	Inalatória	Processo de anti-solvente em meio supercrítico	(Patomchaivivat, 2008)
	Micro e nano partículas de Rifampicina pura	Inalatória	Processo de anti-solvente em meio supercrítico	(Reverchon, 2002)
	Complexo rifampicina-ciclodextrina	Inalatória	Complexação em suspensão	(Tewes, 2008)
RIF	Encapsulação com poli(vinil pirrolidona)- ácido poli(metacrílico)	Oral	-	(Kumar, 2009)

RIF: Rifampicina, INH: isoniazida, PYZ: pirazinamida, ETB: etambutol, PLG: poli(DL-lactide-co-glicolide), PLGA: ácido poliláctico-co-glicólico), HPMC: hidropropilmetilcelulose, NaCMC: carboximetilcelulose sódica,) L-PLA: poli(L-lactide).

Apesar das inúmeras formas de liberação apresentadas na Tabela 01 ainda se faz necessário o desenvolvimento de um sistema de liberação oral não sustentado ou lento, mas que garanta uma melhor biodisponibilidade da rifampicina por um melhor controle de sua dissolução no sistema fisiológico. (Toit, 2006).

### 3.4.3 – Nanonização para aumento da biodisponibilidade

Conforme já mencionado, a absorção oral de fármacos pouco solúveis em água pode ser melhorada pelo aumento da velocidade de dissolução do fármaco através do aumento da sua área superficial e, aumento da solubilidade de saturação,  $C_s$ , do fármaco. O primeiro aspecto pode ser atingido por micronização, entretanto para alguns produtos este procedimento não é suficiente devido à solubilidade muito baixa em meio aquoso. Desta forma, o aumento da área superficial não possibilita a obtenção de uma rápida velocidade de dissolução para atingir níveis plasmáticos terapêuticos. Porém, a transformação de microcristais do fármaco em nanocristais poderia aumentar sua absorção oral. Isto porque a redução para nanocristais, além de aumentar a velocidade de dissolução do fármaco (aumento da área superficial) aumenta, simultaneamente, a sua solubilidade de saturação ( $C_s$ ). Deste modo, as partículas de nanocristais podem ser administradas por via oral e por via intravenosa em suspensões aquosas. Alta biodisponibilidade (até 100%) de um fármaco pode ser obtida com nanocristais com diâmetro médio entre 200-400 nm. Nesta faixa de diâmetro é possível a aplicação destes fármacos por via intravenosa, já que seu tamanho é muito menor que o diâmetro dos vasos capilares (5-6 mm) (Durán, 2010). A nanonização de fármacos pode ser alcançada através de diferentes técnicas, que se distinguem entre as tecnologias *bottom-up* e *top-down*. A tecnologia *top-down* inicia seu processo a partir de macrosuspensões e a diminuição do tamanho de partícula é obtido por processo de atrito mecânico (moagem) (Mauludin, 2009; Eerdenbrugh, 2008)). A técnica de moagem mais estudada é a homogeneização à alta pressão (Gao, 2008; Keck, 2006). Tal método exige muito tempo, alta energia, introdução de impurezas, controle inadequado do tamanho de partícula e efeito eletrostático, favorecendo assim a técnica de *bottom-up* para produção de nanopartículas (Ali, 2009).

A tecnologia *bottom-up* (utilizada na terceira parte deste trabalho de doutorado) envolve métodos de precipitação e inicia com moléculas que estão dissolvidas e são precipitadas através da adição do anti-solvente. O processo de precipitação com anti-solvente é uma técnica promissora para a produção de partículas ultrafinas, a qual se baseia na mudança da supersaturação causada pela mistura da solução e o anti-solvente (Mauludin, 2009). Uma solução supersaturada é metaestável, o que quer dizer que qualquer perturbação pode provocar uma modificação do estado levando a um estado

final estável predeterminado (Shekunov, 2000). Neste método os dois solventes devem ser miscíveis. Idealmente o fármaco deve se dissolver no solvente e não no anti-solvente. A precipitação ocorre instantaneamente pela rápida desolvatação do fármaco. O principal ponto para preparar as partículas ultrafinas por precipitação anti-solvente é criar condições que favoreçam a formação rápida das partículas e pouco ou nenhum crescimento da partículas, evitando problemas de aglomeração (Mauludin, 2009). Com o objetivo de evitar o crescimento e aglomeração das partículas hidrofóbicas o HPMC vem sendo utilizado com estabilizante no anti-solvente aquoso por sua característica de não ser tóxico, fácil produção e boa solubilidade em água (Zhang, 2009). Esta técnica vem sendo empregada com sucesso na preparação de vários nanocristais de fármacos tais como a hidrocortisona (Ali, 2009), a espironolactona (Dong, 2009), a budesonida, o danazol, e a prednisolona (Zhang, 2009). Este procedimento necessita da mistura de dois solventes com algumas conseqüências limitantes:

- Introdução, na maioria dos casos, de um solvente inflamável e poluente em meio aquoso;
- A necessidade de separação posterior de solventes por destilação de alto custo;
- Preocupar com a remoção do solvente no produto acabado, que após secagem deve conter solventes em níveis limites aceitáveis, pois muitos solventes orgânico são tóxicos e de uso limitado na área farmacêutica. Dhirendra, 2009).

Neste trabalho utilizamos como solvente um novo potencial solvente para a área farmacêutica: o líquido iônico, o qual será brevemente apresentado a seguir.

A nanonização tem como vantagem o aumento da biodisponibilidade oral do fármaco nanocristalino (Durán, 2010; Kesisoglou, 2007). Esta biodisponibilidade pode ser aumentada ainda mais através da incorporação dos nanocristais em nanoestruturas como, por exemplo, em nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), carregadores lipídicos nanoestruturados (CLN) ou transformado em conjugado fármaco-lipídio (CFL).

Um aspecto importante no estudo de nanonização dos fármacos é a forma dos nanocristais formados, visto que a estrutura cristalina (forma) destes pode modificar vários aspectos da sua ação, assim como suas estabilidade e biodisponibilidade. Outros aspectos relevantes na obtenção de nanocristais são: a formação de uma fração amorfa no cristal ou cristais completamente amorfos. Isto é comumente obtido quando os cristais são reduzidos utilizando-se o processo de homogeneização à alta pressão. O aumento da fração amorfa leva a um aumento da concentração de saturação, já que os fármacos amorfos apresentam uma solubilidade de saturação maior que as formas cristalinas

(Durán, 2010). Este aumento pode estar associado pelo fato de nenhuma energia ser necessária para a quebra da estrutura cristalina durante o processo de dissolução. (Dhirendra, 2009). Shailesh e colaboradores narram que o perfil de dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água pode melhorar quando na forma amorfa, porém uma adequada preparação, caracterização e estabilização dessas formas deve ser otimizada (Shailesh, 2006). Logo, o aspecto de polimorfismo é importante e deve ser monitorado nas nanoformulações, devido às implicações tanto na solubilidade como nos outros parâmetros farmacocinéticos (Durán, 2010).

Keck e colaboradores, afirmam que independentemente da maneira da produção, os fármacos nanocristalinos têm grandes vantagens como, por exemplo, a utilização de sistemas simples de produção. Isto é de suma importância já que quanto mais complicado é o sistema de produção, mais tempo este produto ficará longe do mercado e dos pacientes. Sistemas simples podem chegar, rapidamente, a ser uma realidade de mercado. Outra vantagem importante dos nanocristais é que podem ser aplicados em várias rotas de administração, tais como oral, parenteral, ocular e pulmonar (Keck, 2006).

#### 3.4.3.1. Líquidos iônicos

Os líquidos iônicos são sais constituídos de cátions orgânicos (por exemplo de sais de imidazolium ou de piridinium), complexos com ânions inorgânicos ou orgânicos (por exemplo  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{Br}^-$ ,  $\text{AlCl}_4^-$ ,  $\text{PF}_6^-$  e  $\text{BF}_4^-$ , etc.) que tem por propriedade estarem no estado líquido à temperatura ambiente. Várias combinações de cátions e ânions podem existir para dar uma grande gama de líquidos iônicos com propriedades físico-químicas diversificadas: característica hidrofílica ou hidrofóbica, densidade, viscosidade, estabilidade e poder de dissolução de sais e de gases. Baseado sobre a idéia de uma tecnologia inovadora os líquidos iônicos tem como características serem:

- Não voláteis
- Não são inflamáveis
- Estáveis a altas temperaturas (até 200°C ou 400°C)
- Hidrofílicos ou hidrofóbicos
- Bons condutores ( eletrólitos)
- Ampla janela eletroquímica
- Estável frente à presença de água e oxigênio.

As propriedades físico-químicas dos líquidos iônicos dependem da natureza e do tamanho dos dois íons que o constituem. Por exemplo, os líquidos iônicos que contêm ânions cloreto, brometo ou trifluoroacetato são muito solúveis em água (hidrofílicos). Inversamente a isso sua associação a um ânion como hexafluorophosphato a solubilidade em água é muito limitada (hidrofóbicos), formando duas fases.

Apresentam, além disso, grande poder de solvatação tanto sobre compostos orgânicos quanto inorgânicos sem se coordenar ao produto solvatado. Em certas reações químicas, eles permitem obter uma melhor seletividade, diminuindo assim produtos secundários, proporcionando um melhor rendimento e otimização dos custos das matérias primas (Holbrey, 2003; Anthony, 2001; Brennecke, 2003; Seddon, 2000; Huddleston, 2001).

## **4. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1. Reagentes e solventes**

Os reagentes e solventes empregados no trabalho experimental parecem relacionados em ordem alfabética. O grau de pureza PA foi observado para todos os componentes. Todos os reagentes e solventes foram utilizados como recebido.

Acetonitrila - Carlo Erba.

Ácido bórico – Carlo Erba.

Ácido cítrico – Merck.

Ácido clorídrico – Vetec.

Ácido fosfórico - Merck.

Ácido sulfúrico – Vetec.

Benzoato de sódio - Labsynth

Cloreto de potássio – Vetec.

Cloreto de sódio – Vetec.

DMSO – Fluka.

Fosfato de potássio dibásico – Merck.

Fosfato de potássio monobásico – Merck.

Hidróxido de sódio – Vetec.

Hidroxipropilmetilcelulose ( viscosidade em 2% em solução aquosa a 20°C = 40 – 60 cp) - Sigma  
Iodeto de potássio – Isofar.  
Iodo - Isofar  
Líquido iônico (1-etil 3-metil imidazolium metil-fosfonato->98%) - Solvionic  
Montmorilonita sódica (MOM) - Cloisite Sódica - Southern Clay Products INC  
Óxido de alumínio ativado – Janssen Chimica  
Perclorato de sódio - Sigma  
Polissorbato 80 (Tween 80) - Vetec  
Rifampicina (RIFA) - Luohe Nanjiecun Pharm, China.  
Rifampicina padrão secundário - Farmanguinhos lote 200610073, teor de 98,59% em base seca, umidade de 0,7%.  
Rifampicina (polimorfos I e II) – amostras cedidas por Farmanguinhos  
Sepiolita (SEP) pó – Fluka  
Sulfato de cobre – B. Herzog.  
Sulfato de sódio anidro – Vetec.

#### **4.2. Lista de equipamentos**

Além das aparelhagens normalmente utilizadas na rotina laboratorial, foram utilizados os seguintes equipamentos:

##### **Equipamentos utilizados no IMA-UFRJ - Brasil:**

- Agitador mecânico, RW20, IKA.
- Analisador térmico dinâmico-mecânico (DMTA), TA Instruments, modelo Q800.
- Banho termostatizado TC502, Brookfield.
- Calorímetro diferencial exploratório (DSC), TA Instruments, modelo Q1000.
- Difratorômetro de raios X, Rigaku Inc., modelo Miniflex.
- Espectrofotômetro de ultravioleta-visível (UV-Vis), Varian, modelo Cary 100.
- Ultra Turrax T25 basic, IKA.
- Viscosímetro LVDV-III Ultra programmable rheometer (*Software Rheocalc Versão 3.0-1*), Brookfield.

### **Equipamentos utilizados na UEZO - Brasil:**

- Microscópio eletrônico de varredura (MEV), Jeol, modelo JSM-6490 LV.

### **Equipamentos utilizados no IPT- USP - Brasil:**

- Agitador mecânico RW11B, IKA.
- Analisador de tamanho de partícula Mastersizer 2000, Malvern.
- *Spray-dryer* 190, Buchi.
- Viscosímetro LVDV-III Ultra programmable rheometer (*Software Rheocalc* Versão 3.0-1), Brookfield.

### **Equipamentos utilizados no EMAC - França:**

- Agitador mecânico RZR202, Heidolph.
- Agitador mecânico RW11B, IKA.
- Analisador de área superficial ASAP 2010, Micromeritics.
- Analisador de densidade batida, ERWEKA SVM22.
- Analisador de sorção dinâmica de vapor (DVS – *Dynamic Vapour Sorption*).
- Analisador de tamanho de partícula Zetasizer – 3000HS, Malvern.
- Balança de infravermelho modelo LJ16, Mettler.
- Calorímetro diferencial exploratório (DSC), TA Instruments, modelo Q200.
- Centrífuga modelo Avanti J-30I, Beckman Coulter.
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência serie 1100, Agilent.
- Difractômetro de raios X Philips, modelo X'pert, detector X celerator.
- Dissolutor modelo DT60, Erweka.
- Espectrofotômetro de ultravioleta-visível (UV-Vis), Hewlett Packard, modelo HP 8452A.
- Microscópio eletrônico de varredura (MEV), Philips, modelo XL 30 ESEM ODP.
- Picnômetro a Hélio modelo AccuPyc 1330, Micromeritics.
- Tensiômetro/goniômetro – ILMS (*Software Windrop<sup>++</sup>*)

### 4.3. Polímero utilizado

O poli(álcool vinílico) (PVA) utilizado neste trabalho foi fornecido pela Aldrich (Estados Unidos). De acordo com o fabricante, o PVA utilizado apresenta as seguintes características: massa molar ponderal média ( $M_w$ ) = 85000-146000 g/mol e grau de hidrólise > 99%. A estrutura química do PVA é apresentada na Figura 4.1.

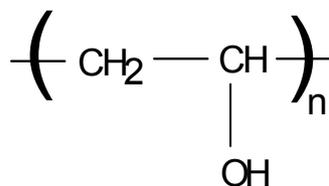


Figura 4.1. Estrutura química do PVA.

### 4.4. Metodologia

#### 4.4.1. Preparação e caracterização dos hidrogéis nanocompósitos

##### 4.4.1.1. Preparação dos hidrogéis nanocompósitos

Quantidades apropriadas dos argilominerais foram dispersas em água purificada e deixadas em contato por 1 hora, e em seguida submetidas à agitação mecânica por 30 min. PVA (5% p/v) foi adicionado à suspensão. Como antifúngico foi acrescentado benzoato de sódio 0,25% (p/v). A suspensão foi aquecida sob refluxo e agitação a 90°C durante 4 h. A Figura 4.2 apresenta a montagem utilizada. Após resfriamento até 40°C, rifampicina previamente dispersa em Polissorbato 80 foi adicionada em quantidades apropriadas e a suspensão final foi homogeneizada durante 10 min. com auxílio de um agitador de alto desempenho IKA UltraTurrax T25 a 6.500 rpm. A Figura 4.3 apresenta todo o fluxo de produção dos hidrogéis. As formulações e denominações das amostras hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila estão descritas na Tabela 4.1. Parte da suspensão final foi armazenada para produção das partículas híbridas, e outra vertida em placas de Petri e mantidas em geladeira entre 8-10°C por no mínimo 24 horas até a formação dos hidrogéis. A espessura dos hidrogéis foi controlada pelo volume de suspensão adicionado às placas. Os hidrogéis produzidos foram estocados em dessecador contendo sílica-gel á temperatura ambiente.

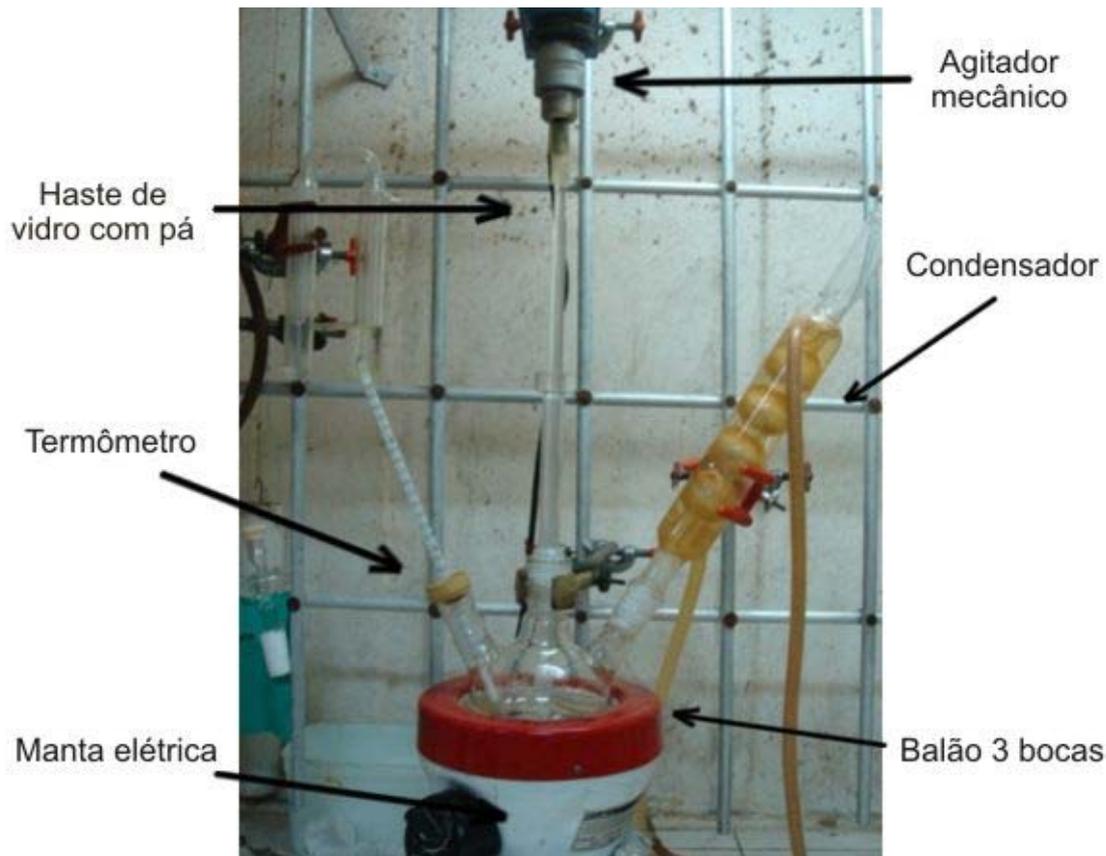


Figura 4.2. Montagem utilizada para o preparo dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.

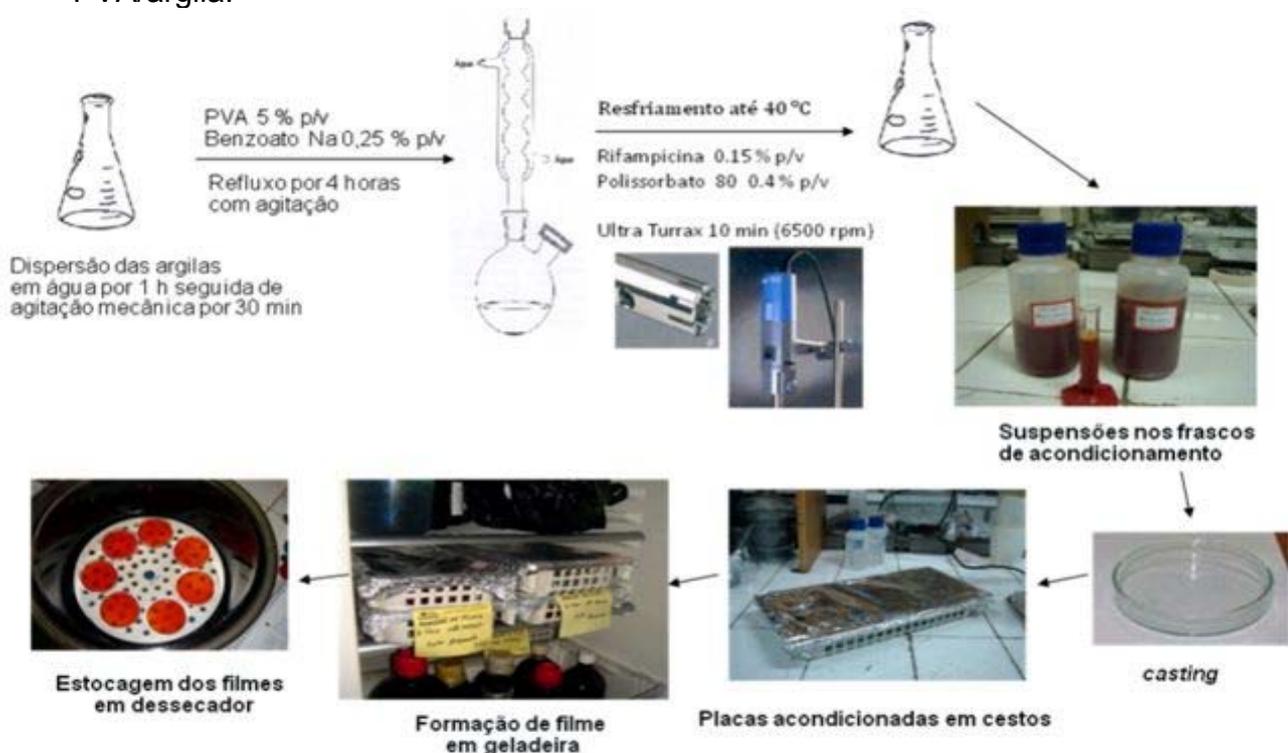


Figura 4.3. Esquema geral de preparo dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.

Tabela 4.1. Composição e denominação das amostras hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila.

Amostra	PVA*	MOM	SEP	RIFA	AT**
	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)	(%p/p)
PVA	88,5	-	-	-	11,5
PVAR	86,2	-	-	2,6	11,2
PVAM1	87,7	0,9	-	-	11,4
PVAM5	84,7	4,2	-	-	11,0
PVAM1R	85,5	0,9	-	2,6	11,1
PVAM5R	82,6	4,1	-	2,5	10,7
PVAS1	87,7	-	0,9	-	11,4
PVAS5	84,7	-	4,2	-	11,0
PVAS1R	85,5	-	0,9	2,6	11,1
PVAS5R	82,6	-	4,1	2,5	10,7

\*Todas as suspensões foram preparadas com PVA a 5% p/v.

\*\*AT = adjuvantes técnicos: benzoato de sódio 0,25% p/v (conservante) e polissorbato 80 0,4% p/v (tensoativo/estabilizante).

#### 4.4.1.2. Caracterização das suspensões

##### 4.4.1.2.1. Viscosidade

As amostras de suspensões foram avaliadas por medidas de viscosidade, usando um viscosímetro Brookfield LV DV-III na temperatura de 25°C, usando um adaptador para amostras pequenas, acoplado a um controlador de temperatura. As medidas foram avaliadas em diferentes taxas de cisalhamento, a fim de se determinar o comportamento reológico das amostras.

##### 4.4.1.2.2. pH

O pH das suspensões foi determinado através de pHmetro com eletrodo de vidro combinado a 25°C, calibrado em escala de 0,1 com as soluções tampão pH 4,0 e 7,0.

#### 4.4.1.3. Caracterização dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila

Os hidrogéis gerados foram submetidos a uma série de caracterizações para identificação de algumas de suas características químicas, físico-químicas e físicas.

##### 4.4.1.3.1. Densidade real

A densidade das amostras de hidrogel foi medida em um picnômetro a hélio AccuPyc 1330 utilizando porta amostra de 10 cm<sup>3</sup>, 30 purgas prévias às análises, taxa de equilíbrio de 0,005 psi/min à temperatura ambiente. Foram realizadas 25 determinações por amostra.

##### 4.4.1.3.2. Difração de raios X - DRX

O padrões de DRX para as amostras de hidrogéis foram obtidos à temperatura ambiente em um difratômetro Rigaku, modelo Miniflex, empregando radiação de cobre monocromática de  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ , a partir do cristal de grafite operando a 30 kV e 15 mA. As varreduras foram executadas utilizando-se as amostras em forma de hidrogel, em uma faixa de 2°- 40° (2  $\theta$ ) com passo de 0,05°/s à temperatura ambiente. A deconvolução das curvas de raios X foi realizada com o auxílio do programa *Origin 7.0*, utilizando-se um ajuste Gaussiano.

##### 4.4.1.3.3. Calorimetria exploratória diferencial – DSC

As análises de DSC dos hidrogéis nanocompósitos foram realizadas em um equipamento Perkin-Elmer DSC-7, operando a uma faixa de temperatura de 40 to 260 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, sobre atmosfera dinâmica de nitrogênio (80 ml/min). As amostras foram cortadas do centro de cada hidrogel, com massa aproximada de 10 mg. A temperatura de fusão cristalina,  $T_m$ , foi tomada como o máximo do pico endotérmico. Além disso, foi também calculado o grau de cristalinidade  $X_c$  (razão entre  $\Delta H$  e  $\Delta H_m^\circ$ , onde  $\Delta H_m^\circ$  é a entalpia de fusão do PVA 100 % cristalino (150 J/g).

#### 4.4.1.3.4. Análise dinâmico-mecânica – DMA

As propriedades termo-dinâmico-mecânicas dos hidrogéis obtidos (as amostras foram analisadas secas e não previamente inchadas) foram estudadas através do equipamento DMA modelo Q800 da TA Instruments, a uma frequência de 10 Hz no modo de tensão; as amostras apresentaram dimensões médias de 40 mm de comprimento, 7 mm de largura e espessura de 0,1 mm; as varreduras ocorreram na faixa de temperatura de -40°C até 100°C a uma taxa de aquecimento de 2°C/min. Para a determinação da transição vítrea da matriz polimérica foi considerado o valor de temperatura associado ao pico de máxima perda dinâmica (módulo de perda ou amortecimento, E''). O erro associado à T<sub>g</sub> observada é de 1,5 °C.

#### 4.4.1.3.5. Parâmetros de rede

Os parâmetros de rede das amostras foram calculados a partir de diversas equações empíricas (Matsuyama, 1997). Os valores de massa molar entre pontos de reticulação ( $\overline{M}_c$ ) foram calculados a partir do modelo de Flory-Rehner:

$$\overline{M}_c = -\delta_p \overline{V}_s \phi_p^{1/3} [\ln(1-\phi_p) + \phi_p + \chi \phi_p^2]^{-1} \quad (4.1)$$

onde  $\delta_p$  é a densidade do polímero,  $\phi_p$  é a fração volumétrica de polímero no gel,  $\chi$  é o parâmetro de interação polímero-solvente (PVA-água ~0,494) (Matsuyama, 1997) e  $\overline{V}_s$  é o volume molar da água (18 cm<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>).

A fração volumétrica de polímero pode ser calculada por:

$$\phi_p = \left[ 1 + \left( \frac{m_s}{m_d} - 1 \right) \frac{\delta_p}{\delta_s} \right] \quad (4.2)$$

onde m<sub>s</sub> e m<sub>d</sub> são as massas secas e inchadas, respectivamente, em água destilada por 24 horas a 30°C e  $\delta_s$  é a densidade da água.

O tamanho de malha foi estipulado pela equação:

$$\xi = l_c \left( 2\overline{M}_c / M_r \right)^{1/2} C_n^{1/2} \phi_p^{-1/3} \quad (4.3)$$

onde  $l_c$  é o comprimento da ligação C-C (1,54 Å),  $M_r$  é a massa molecular do grupo repetitivo do PVA ( $M_r = 44$  g/mol) e  $C_n$  é uma constante igual a 8,9.

#### 4.4.1.3.6. Medidas de inchamento

Amostras de 1x1cm dos hidrogéis foram imersas em 25 ml de solução-tampão pH 7,4 à temperatura ambiente. Antes da imersão as amostras tiveram suas espessuras avaliadas com um micrômetro Mitutoyo, com precisão de 0,001 mm. Em intervalos de tempo pré-determinados as amostras foram secas com auxílio de papel de filtro e rapidamente pesadas em balança analítica. Após este período, o grau de inchamento das amostras foi obtido a partir da equação:

$$S = \frac{m_i - m_s}{m_s} \times 100 \quad (4.4)$$

onde  $m_i$  e  $m_s$  são os pesos das amostras inchadas e secas, respectivamente. O desvio experimental aceitável foi fixado em 10 %. Todas as análises foram feitas em triplicata.

#### 4.4.1.3.7. Quantidade de PVA liberada dos hidrogéis.

A estabilidade estrutural dos hidrogéis foi avaliada por espectrofotometria. Os hidrogéis foram mantidos imersos em 25 ml de tampão 7,4 à temperatura ambiente. Após 24 h, uma alíquota de 10 mL do meio de imersão foi tratada com solução aquosa de ácido bórico 0,65M e solução aquosa de iodo 0,05M/ 0,15M iodeto de potássio. Sabe-se que complexos PVA e ácido bórico/iodo resultam em um complexo esverdeado. A

absorbância na luz visível foi medida em espectrofotômetro UV-visível Cary 100 (Varian) entre 600 e 750 nm (Joshi, 1979).

#### *4.4.1.3.8. Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila*

Aproximadamente 50 mg de hidrogel foram solubilizados em cerca de 20 g de DMSO. A amostra foi diluída em seguida 1:1 com DMSO para leitura de sua absorbância em espectrofotômetro UV-visível em 482nm. A análise foi feita em duplicata. A curva de calibração é apresentada no Anexo A.

#### *4.4.1.3.9. – Perfil cinético de dissolução (in vitro) dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila*

Para cada cuba de dissolução foram adicionados 300 ml de água purificada aquecendo o mesmo até  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Foram então adicionadas amostras de hidrogel de 2x2cm de peso conhecido e devidamente aprisionadas em cesto de aço inox malha 14 mesh (n = 3). Imediatamente após iniciou-se agitação com pás na velocidade de 50 rpm. Alíquotas de 5 ml foram retiradas a cada 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120 minutos e sem reposição do meio e com auxílio de sonda de plástico e seringa graduada. A Figura 4.4 mostra a aparelhagem de dissolução e detalhamento do cesto. As alíquotas foram filtradas em filtro 0,45  $\mu\text{m}$  e resfriadas. As absorbâncias das alíquotas foram lidas diretamente em espectrofotômetro UV - visível (HP 8452A Diode-Array Spectrophotometer), no comprimento de onda de 333 nm, usando cubeta de quartzo de 1 cm e água purificada como branco. A cinética de dissolução é representada através do gráfico de % dissolvido *versus* tempo (min). A curva de calibração é apresentada no Anexo B.

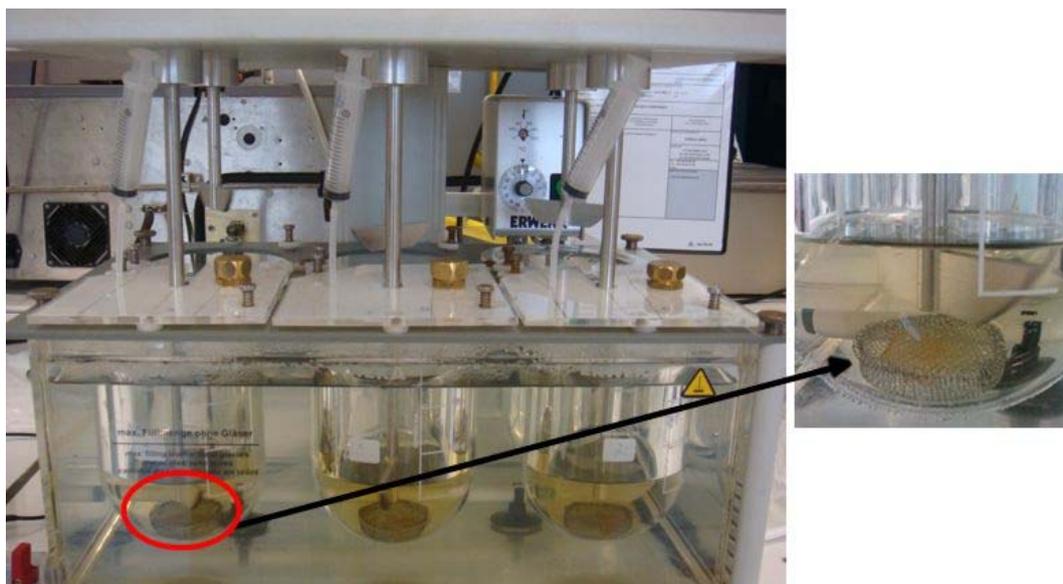


Figura 4.4. Vista geral do equipamento de dissolução e detalhamento do posicionamento do cesto.

A interpretação quantitativa dos valores obtidos no ensaio de dissolução é facilitada pelo uso de equações matemáticas que relacionam a curva de dissolução com vários parâmetros inerentes a forma farmacêutica de apresentação. Os principais modelos dependentes que foram utilizados no trabalho para a determinação da ordem de liberação de fármacos são apresentados na Tabela 4.2. A escolha do modelo cinético foi realizada pela avaliação do coeficiente de correlação  $R^2$ . O modelo mais adequado é aquele próximo da linearidade, tomando-se comumente os pontos que correspondem à fase ascendente das curvas (Rodrigues, 2008).

Tabela 4.2. Modelos/ordens de liberação e suas respectivas equações matemáticas.

Modelo/ordem	Equação
Primeira ordem	$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - e^{-kt}$
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^{1/2}$
Hixson-Crowell	$\left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right)^{1/3} = 1 - kt$

\*Onde  $M_t$  é a quantidade de fármaco liberada no tempo  $t$ ,  $M_\infty$  é a máxima quantidade de fármaco liberado no tempo infinito e  $k$  é a constante de liberação associada ao fármaco liberado (Rodrigues, 2008)

#### **4.4.2. Preparação e caracterização das partículas híbridas obtidas por *spray-drying***

##### **4.4.2.1. Preparação das partículas por *spray-drying***

A mesma metodologia de preparação das suspensões usada para preparação dos hidrogéis, descrita no item 4.4.1.1 foi também usada nesta fase do trabalho. As amostras foram identificadas conforme Tabela 4.1, porém incluindo a letra “p” ao final da codificação das amostras. As concentrações de PVA, argilas, RIFA e adjuvantes técnicos também foram exatamente as mesmas da Tabela 4.1. Quantidades apropriadas dos argilominerais foram dispersas em água purificada e deixadas em contato por 1 hora, e em seguida submetidas à agitação mecânica por 30 min. PVA (5% p/v) foi adicionado à suspensão. Como antifúngico foi acrescentado benzoato de sódio 0,25% (p/v). A suspensão foi aquecida sob refluxo e agitação a 90°C durante 4 h. Após resfriamento até 40°C, rifampicina previamente dispersa em polissorbato 80 foi adicionada em quantidades apropriadas e a suspensão final foi homogeneizada durante 10 min com auxílio de um agitador de alto desempenho IKA UltraTurrax T25 a 6.500 rpm, antes de serem submetidas à secagem por *spray-drying*.

A secagem das suspensões foi conduzida no Laboratório de Tecnologia de Partículas (IPT-USP) em São Paulo, em um Mini secador *spray-dryer* modelo 190 marca BÜCHI com capacidade nominal de evaporação de 1,5 kg H<sub>2</sub>O/h, operando continuamente com fluxos concorrentes de ar e líquido e um atomizador duplo fluido com mistura externa de fluidos, abertura do bico de 0,7 mm. Antes da secagem as amostras foram diluídas na proporção 1:1 com água purificada e agitadas mecanicamente por 10 minutos. A Figura 4.5 mostra o equipamento utilizado nos ensaios. As partículas preparadas foram imediatamente acondicionadas em dessecador e estocadas em temperatura ambiente. O rendimento do processo em percentual foi calculado para cada uma das amostras. As condições operacionais mantidas nos ensaios estão resumidas na Tabela 4.2.

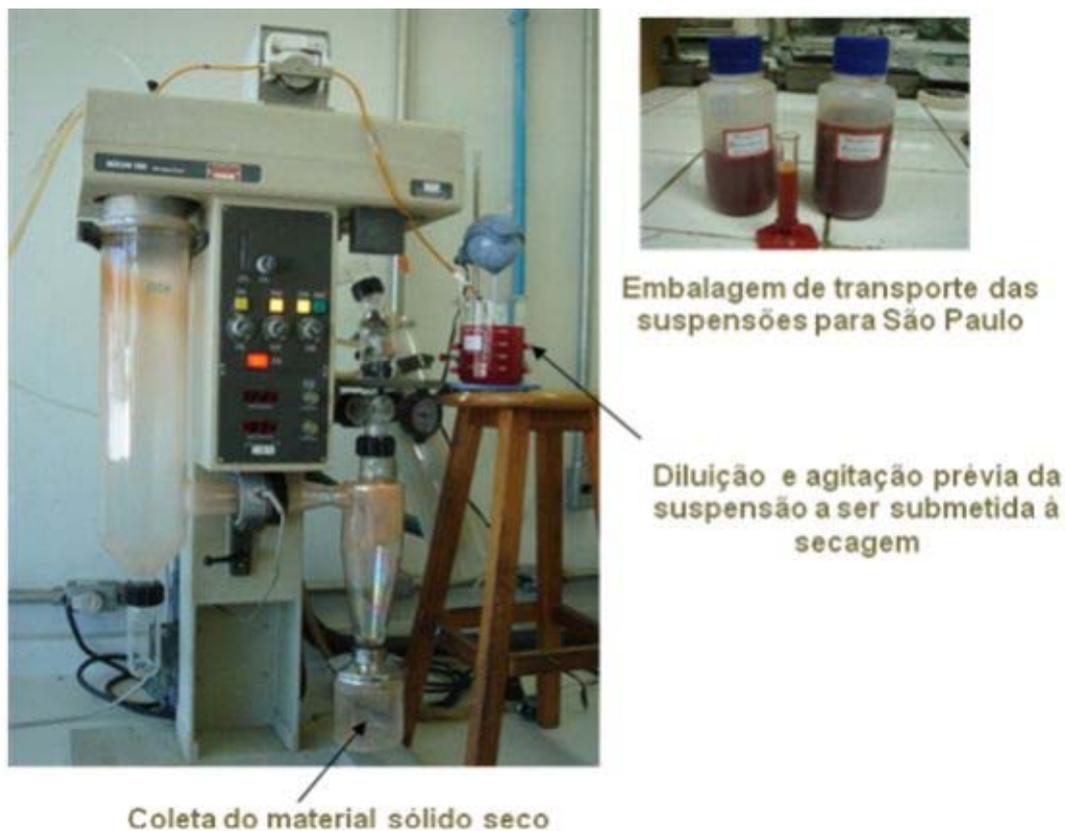


Figura 4.5. Vista geral do equipamento de laboratório tipo *spray-dryer*.

Tabela 4.3. Condições de operação do *spray-dryer* de bancada.

Condições de operação	
Vazão de alimentação da suspensão (ml)	150
Temperatura de entrada do ar no secador (°C)	120 -122
Temperatura de saída do ar no secador (°C)	84 – 90
Vazão de ar (NL/h)	600

#### 4.4.2.2. Caracterização das suspensões

##### 4.4.2.2.1. Viscosidade

As amostras de suspensões diluídas foram avaliadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.1.2.1.

##### 4.4.2.3. Caracterização das partículas híbridas de PVA/argila

As partículas geradas foram submetidos a uma série de caracterizações para identificação de algumas de suas características químicas, físico-químicas e físicas.

#### 4.4.2.3.1. *Morfologia*

As amostras em forma de pó foram visualizadas em um microscópio eletrônico de varredura (SEM) Jeol JSM-6490LV com detector de elétrons secundários, após recobrimento das amostras com ouro (10 µm).

#### 4.4.2.3.2. *Análise granulométrica*

As distribuições granulométricas das amostras foram analisadas em aparelho Malvern Mastersizer 2000, que opera pelo princípio de difração de raios laser, utilizando hexano como meio dispersante. Neste tipo de equipamento, o diâmetro médio ( $d_{(4,3)}$ ) é o equivalente àquele de uma esfera que possui a mesma área projetada que a partícula. E a distribuição de tamanho de partícula (*Span*) é definida como :

$$Span = d_{[v,0,9]} - d_{[v,0,1]} / d_{[v,0,5]} \quad (4.5)$$

onde  $d_{(v,0,1)}$ ,  $d_{(v,0,5)}$  e  $d_{(v,0,9)}$  representam os diâmetros acumulados de 10, 50 e 90 % das partículas, respectivamente.

#### 4.4.2.3.3. *Densidade de empacotamento*

A densidade de empacotamento máximo das partículas foi determinada segundo metodologia descrita na farmacopéia americana (USP 29, método 1). Introduziu-se em proveta graduada seca sem compactar quantidade adequada do pó (m) e segurando a proveta em sua base mediu-se o volume aparente ( $V_0$ ). Submeteu-se em seguida a mesma proveta a 500 ( $V_a$ ) e 750 ( $V_b$ ) batidas com auxílio de equipamento para medir densidade batida Erweka. Quando a diferença entre  $V_a$  e  $V_b$  era < 2%,  $V_b$  era adotado como o volume final ( $V_f$ ). De acordo com a necessidade submeteu-se novamente a mesma proveta a incrementos de 1250 batidas até que a diferença entre análises sucessivas fosse de 2 %. O experimento foi realizado em duplicata. A densidade de máximo empacotamento foi calculada dividindo-se a massa de pó pelo volume final  $V_f$ .

#### *4.4.2.3.4. Área superficial*

A área superficial das micropartículas nanoestruturadas contendo sepiolita e seus comparativos foram medidas sobre criptônio no equipamento Asap 2010, Micromeritics. Para análise da rifampicina pura foi utilizado gás nitrogênio. Todas as amostras foram previamente degaseificadas a 100°C.

#### *4.4.2.3.5. Difração de raios X – DRX*

As análises de difração de raios X foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.1.3.2.

#### *4.4.2.3.6. Calorimetria exploratória diferencial – DSC*

As análises de DSC foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.1.3.3, porém utilizando cerca de 4 mg de pó.

#### *4.4.2.3.7. Teor de água*

O teor de água das amostras foi determinado em Balança de infravermelho marca Mettler modelo LJ16, a 100°C e até massa constante. Foram utilizados pesos de amostra menores que 1 g. Os resultados foram reportados em %.

#### *4.4.2.3.8. Teor de rifampicina e avaliação de rifampicina quinona*

O teor de rifampicina nas micropartículas nanoestruturadas foi quantificado por cromatografia de alta eficiência segunda a metodologia USP 29, descrita abaixo.

##### *4.4.2.3.8.1. Fase Móvel*

Transferir 510mL de água purificada, 350mL de acetonitrila, 100mL de tampão fosfato, 20mL de ácido cítrico 1M e 20mL de perclorato de sódio 0,5M, para becher de 1000mL. Homogeneizar. Filtrar em membrana 0,45µm.

Preparo do Tampão Fosfato: Pesar 136,1g de fosfato de potássio monobásico e transferir para becher de 1000mL. Dissolver com 500mL de água purificada. Adicionar 6,3mL de ácido fosfórico P.A. Completar o volume com água purificada. Homogeneizar.

#### 4.4.2.3.8.2. *Mistura de Solventes*

Transferir 640mL de água purificada, 250mL de acetonitrila, 77mL de fosfato de potássio dibásico 1M, 23mL fosfato de potássio monobásico 1M e 10mL de ácido cítrico 1,0M para becher de 1000mL. Homogeneizar. Filtrar em membrana 0,45 $\mu$ m.

#### 4.4.2.3.8.3. *.Curva de calibração*

Quantidades adequadas de rifampicina padrão foram pesadas com exatidão e devidamente diluídas com acetonitrila, homogeneizadas e em seguida devidamente diluídas com a mistura de solvente de forma a preparar diluições com 20, 40, 60, 80 e 100 % de rifampicina. Cada uma foi homogeneizada e filtrada em membrana 0,45 $\mu$ m e utilizadas imediatamente após o preparo. A curva de calibração é apresentada no Anexo C.

#### 4.4.2.3.8.4. *Solução Amostra*

Pesar com exatidão 200mg de amostra e transferir para balão volumétrico de 50 ml. Adicionar 10 ml de água purificada e agitar por 20 minutos, em seguida completar o volume com acetonitrila e agitar por 20 minutos. Filtrar à vácuo com filtro 0,45 $\mu$ m .Diluir o filtrado 10 x com mistura de solvente, homogeneizar e filtrar em membrana 0,45 $\mu$ m e utilizar imediatamente após o preparo .

#### 4.4.2.3.8.5. *Parâmetros Cromatográficos*

Equipamento: Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência.

Coluna: Empacotamento L<sub>7</sub> de aço inox 10cm x 0,46mm (esférica) x 5 $\mu$ m.

Detector: UV.

Comprimento de Onda: 280nm.

Fluxo: Cerca de 1,5mL/minuto.

Tempo de retenção relativo: 0,6 para Rifampicina Quinona e 1,0 para Rifampicina.

Desvio padrão relativo: Máximo 1,0%.

Volume injetado: 50 $\mu$ L.

Ajustar o aparelho para os parâmetros cromatográficos descritos e fazer 2 injeções de cada solução padrão e amostras. A quantificação foi realizada a partir de curva de calibração com  $R^2$  mínimo de 0,999 (Anexo C)

#### 4.4.2.3.9. Cinética de sorção de vapor de água

O analisador dinâmico de sorção de vapor possui uma microbalança que permite efetuar diferenças de massa de até  $5 \times 10^{-6}$  g. Ela mede o ganho de massa da adsorção e da desorção de vapor d'água na amostra ao longo do tempo. A referência trata-se do recipiente de pesagem vazio em quartzo. A umidade é gerada por uma mistura de gás, seco e saturado de água em proporções controladas por um controlador de vazão.

As amostras são secas durante 1 hora com gás seco e depois submetidas a 1 ciclo de adsorção e dessorção à passos de 10 % por hora na faixa de 0 – 90 % de umidade. Somente as micropartículas nanoestruturadas contendo sepiolita e seus comparativos foram submetidas a esta análise. A duração das análises em 80 e 90 % foram de 600 min. A temperatura de trabalho foi de 25°C. A Figura 4.6 mostra um esquema de um sistema de sorção dinâmica de vapor.

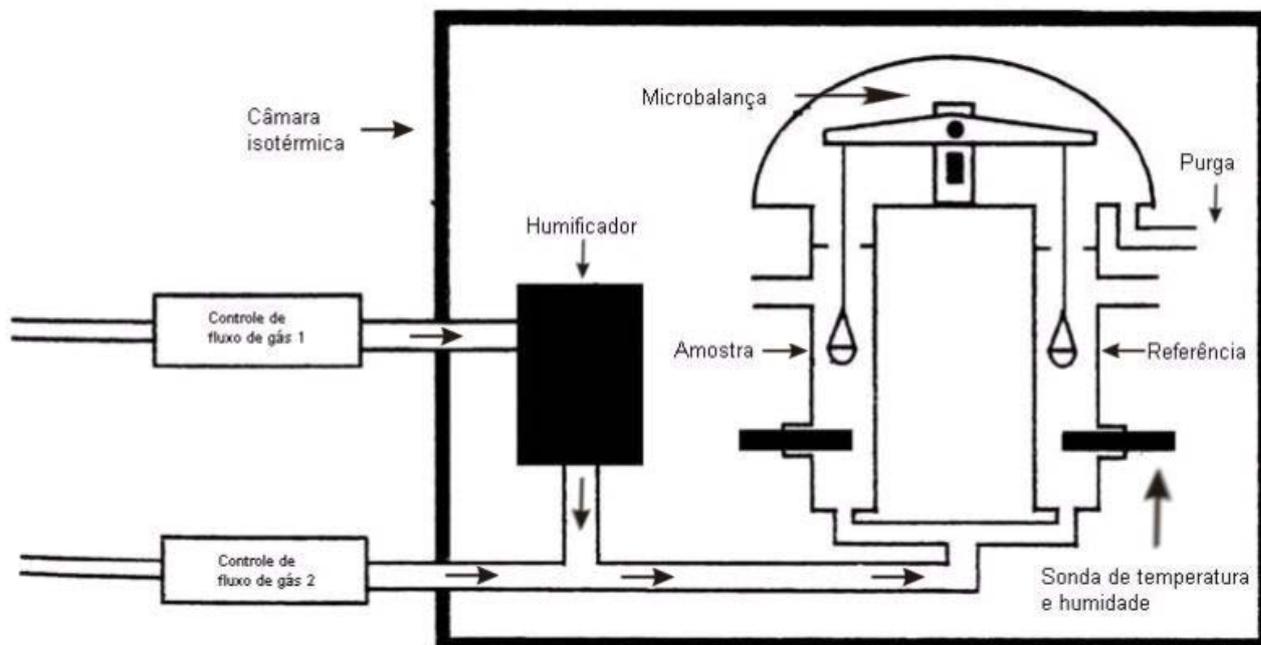


Figura 4.6. Esquema de um sistema de sorção dinâmica de vapor (Goalard, 2005).

#### 4.4.2.3.10. Perfil cinético de dissolução (in vitro)

Para cada cuba de dissolução foram adicionados 300 ml de água purificada aquecendo o mesmo até  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Foram então adicionadas cerca de 100 mg de amostra previamente peneiradas em malha 20 mesh ( $n = 3$ ), e imediatamente após

iniciou-se agitação com pás e na velocidade de 50 rpm. Alíquotas de 5 ml foram retiradas a cada 3, 6, 9, 12, 15, 30, 45 e 60 minutos, sem reposição do meio e com auxílio de sonda de plástico e seringa graduada. A Figura 06 mostra a aparelhagem de dissolução à exceção do detalhamento do cesto pertinente somente a dissolução dos filmes. Os pós foram dispersos diretamente no meio de dissolução. As alíquotas foram filtradas em filtro 0,45  $\mu\text{m}$  e resfriadas. As absorbâncias das alíquotas foram lidas diretamente em espectrofotômetro UV - visível (HP 8452A Diode-Array Spectrophotometer), no comprimento de onda de 333 nm, usando cubeta de quartzo de 1 cm e água purificada como branco. A cinética de dissolução é representada através do gráfico de % dissolvido *versus* tempo (min). A curva de calibração é apresentada no Anexo B.

A interpretação quantitativa dos valores obtidos no ensaio de dissolução segundo os modelos cinéticos segue conforme já descrito no item 4.4.1.3.9.

#### **4.4.3. Nanonização do fármaco modelo**

##### *4.4.3.1. Determinação experimental da solubilidade da rifampicina de partida*

A solubilidade da rifampicina nos solventes puros (água, tampão fosfato e líquido iônico) ou na mistura de solventes (mistura de líquido iônico e tampão fosfato 6,8 nas proporções em peso de 1:100, 1:20, 1:10 e 1:5) foi determinada segundo o seguinte procedimento: A solubilidade em líquido iônico foi medida pela adição de um excesso de rifampicina adicionado ao líquido iônico e mantidos sob agitação à temperatura de  $(30 \pm 2)^\circ\text{C}$  e sob pressão atmosférica durante 24 horas (a relação mássica máxima atingida de forma a que a viscosidade da mistura ainda permitisse agitação foi de 3 g do fármaco e aproximadamente 31 g de líquido iônico). A agitação foi garantida por agitador mecânico girando em velocidade constante. Após este tempo a mistura foi centrifugada e o sobrenadante diluído e dosado espectrofotometricamente usando espectrofotômetro UV-Vis no comprimento de onda de 482 nm para avaliar a quantidade de fármaco dissolvido frente a um padrão preparado no mesmo solvente e de concentração conhecida.

Soluções agitadas contendo quantidades em excesso de rifampicina foram mantidas à temperatura ambiente  $(25 \pm 2^\circ\text{C})$  e sob pressão atmosférica durante 24 horas (nos solventes puros, água e tampão fosfato) ou 56 h (nas misturas de solventes). A agitação foi garantida por agitadores magnéticos girando em velocidade constante. Dependendo do experimento, após 24 ou 56 horas, a agitação foi interrompida e a solução sobrenadante coletada (cerca de 0,8 g), com a ajuda de uma seringa com filtro de 37,8 milímetros de diâmetro e 0,2  $\mu\text{m}$  de porosidade (filtro Millipore ACRODISC PSF

GHP 0,2 $\mu$ m). O filtrado foi diluído no solvente adequado, para então ser analisado por espectrometria de UV-Vis e estimar a quantidade de fármaco dissolvido. A absorbância da rifampicina foi lida no comprimento de onda de 333nm nos meios aquosos e em 475nm na mistura de solventes (a curva de calibração a 475nm é apresentada no Anexo D). Os espectros no UV-visível encontram-se no Anexo E. Os ensaios foram feitos em duplicata.

#### 4.4.3.2. Processo de cristalização da rifampicina

A Figura 4.7 representa o esquema geral de cristalização da rifampicina.

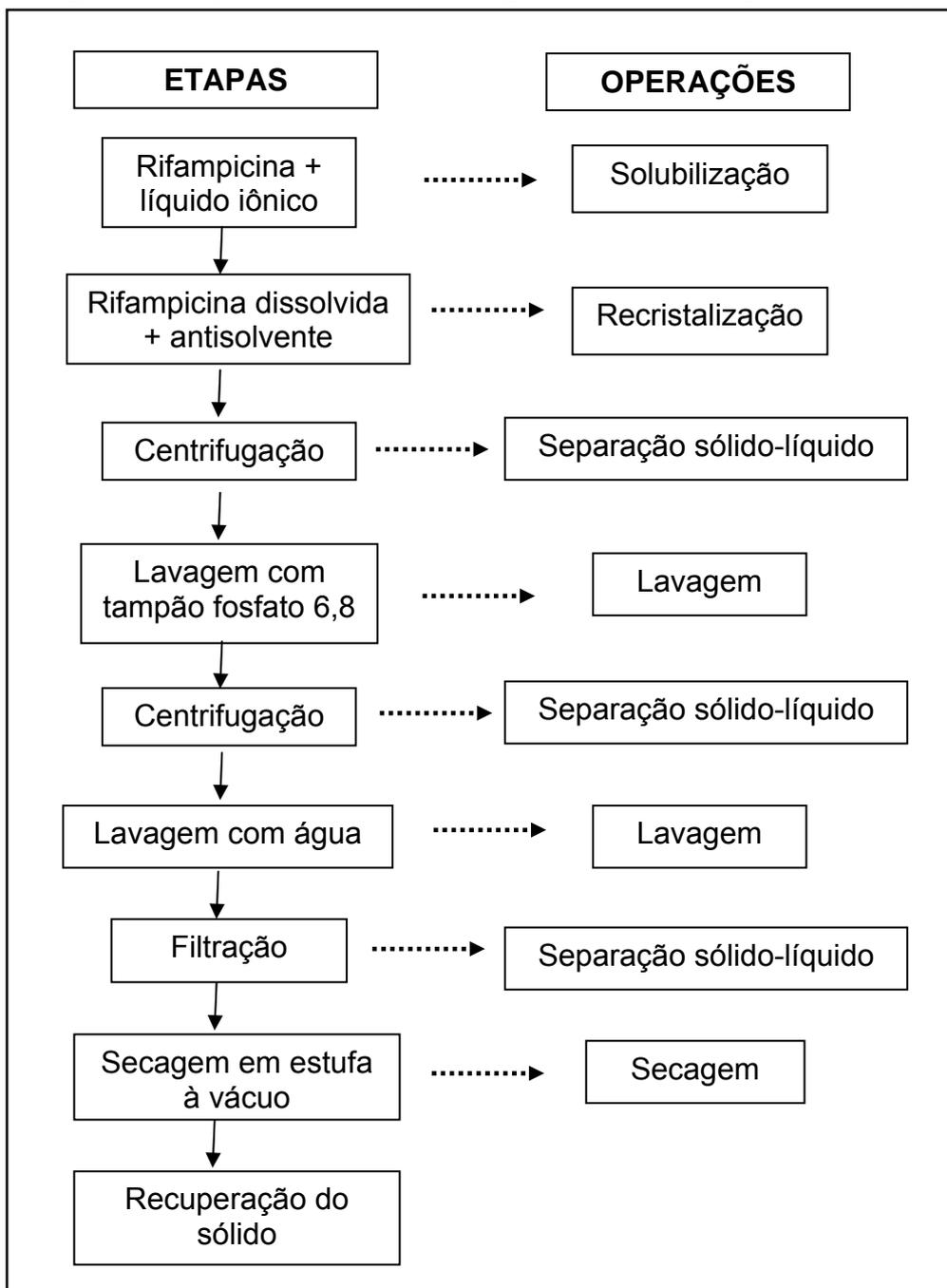


Figura 4.7. Esquema geral de recristalização da rifampicina.

Maiores detalhes de cada uma das operações são dadas a seguir.

#### 4.4.3.2.1. A solubilização

Foi realizada em líquido iônico à  $(30^{\circ}\text{C} \pm 2)^{\circ}\text{C}$  e sob agitação durante 3h (Figura 4.8).



Figura 4.8. Dispositivo para solubilização da rifampicina em líquido iônico.

Excepcionalmente no caso do experimento Cris09 (vide tabela 4.4) adicionou-se SEP a esta solução de forma a chegar a concentração de 0,5% p/p quando no total de meio reacional, ou seja, incluindo tampão fosfato.

#### 4.4.3.2.2. A recristalização

A recristalização ocorreu por adição da rifampicina solubilizada em anti-solvente (Figure 4.9). Uma solução de tampão fosfato pH 6,8 foi utilizada como anti-solvente para manter o pH da reação entre 6,0 e 6,6. A utilização de água nesta fase resultava em um meio ácido quando misturado ao resíduo ainda existente de líquido iônico. O pH ácido em torno de 3 pode favorecer a degradação do fármaco (Connors, 1986). Esta diminuição acentuada do pH é provavelmente devido a presença de impurezas no solvente líquido iônico.

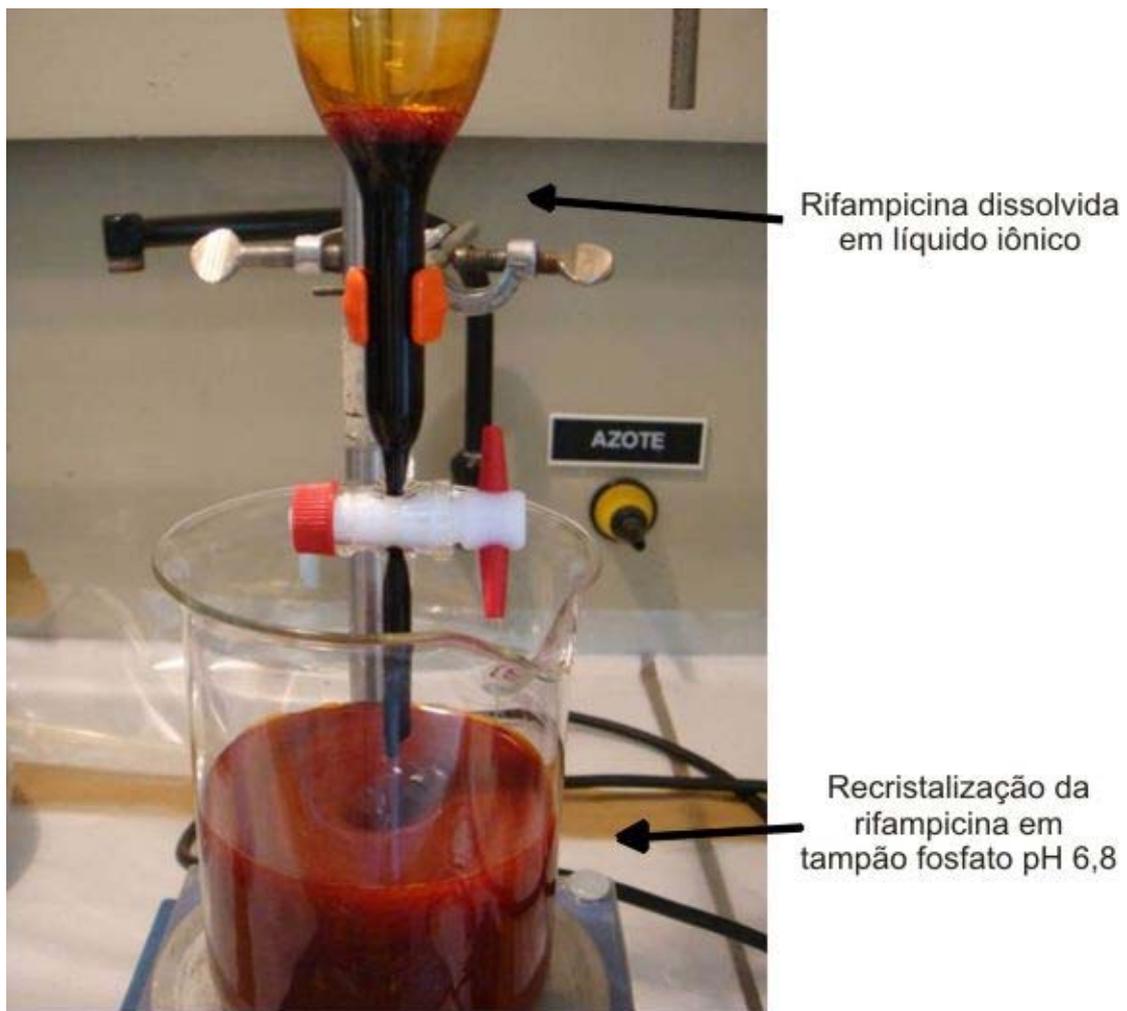


Figura 4.9. Recristalização por efeito anti-solvente (a solução de rifampicina é vertida gota a gota no tampão fosfato).

Uma vez sendo esta a etapa crítica do estudo de recristalização, alguns experimentos foram realizados no intuito de estudar a proporção mássica entre solvente (líquido iônico) e anti-solvente (Tampão fosfato 6,8), tempo de cristalização e redução da aglomeração dos cristais obtidos pelo uso de materiais com potencial ação dispersante. A denominação de cada experimento, assim como a descrição das condições de recristalização estudadas, encontram-se na Tabela 4.4.

Tabela 4.4. Denominação dos experimentos e descrição das condições de recristalização.

Código do experimento	Proporção LI:Tampão	Tempo de recristalização	Agente dispersante	Concentração do agente dispersante (%p/p)**
Cris03*	1:10	30 min	-	-
Cris07	1:10	4 horas	-	-
Cris08	1:5	4 horas	-	-
Cris09	1:5	4 horas	Sepiolita	0,5 (adicionada no LI)
Cris10	1:5	4 horas	Sepiolita	0,5 (adicionada no tampão)
Cris11	1:5	24 horas***	-	-
Cris12	1:5	4 horas	HPMC	0,1 (adicionado no tampão)
Cris13	1:5	24 horas***	-	-
Cris14	1:5	4 horas	-	-
Cris15	1:5	4 horas	HPMC	0,5 (adicionado no tampão)
Cris16	1:5	30 s	-	-
Cris17	1:5	24 horas***	-	-

\*O material recristalizado obtido foi a única amostra proveniente do estudo de recristalização utilizada na investigação de rifampicina quinona e na avaliação do perfil térmico por DSC.

\*\*Concentração no meio reacional (LI + TP).

\*\*\* Experimentos relativos ao estudo de cinética de recristalização.

#### 4.4.3.2.3. Separação sólido-líquido - centrifugação

Ao longo do procedimento de recristalização da rifampicina são realizadas 2 operações de centrifugação. Ao final do tempo de recristalização, a suspensão obtida é centrifugada para separar o sólido do sobrenadante (Figura 4.10). Esta separação acontece a uma velocidade de 30000 rpm (equivalente a 108.000 G), numa faixa de temperatura de 20 - 24°C durante 40min. O sobrenadante é filtrado (tamanho de poro de 0,2µm) e diluído com a mistura solvente de LI:TP pura para análise por UV no comprimento de onda de 475 nm e assim determinar a concentração de rifampicina perdida no sobrenadante.



Figura 4.10. Aspecto do sólido recuperado após centrifugação.

#### 4.4.3.2.4. Operação de lavagem

O sólido recuperado é lavado com um volume de tampão fosfato equivalente a cerca de 50% do seu volume original utilizado. A suspensão é agitada por 15 minutos antes de ser novamente centrifugada nas mesmas condições citadas no item 4.4.3.2.3. Este procedimento destina-se a lavar o sólido e eliminar o líquido iônico residual. Após a lavagem com tampão fosfato e centrifugação, o sólido recuperado é lavado uma segunda vez com um volume de aproximadamente 80ml de água para remover o tampão. O sobrenadante proveniente da lavagem com tampão fosfato pH 6,8 é filtrado (tamanho de poro de 0,2 $\mu$ m) e diluído com tampão fosfato pH 6,8 puro para análise por UV no comprimento de onda de 333 nm e assim determinar a concentração de rifampicina perdida durante esta operação de lavagem.

#### 4.4.3.2.5. Separação sólido-líquido – filtração

O sólido lavado com água é filtrado lentamente à vácuo e em papel de filtro com tamanho de poro de 0,20  $\mu$ m (Figura 4.11). O filtrado proveniente da lavagem com água é filtrado (tamanho de poro de 0,2 $\mu$ m) e diluído com água pura para análise por UV no comprimento de onda de 333 nm e assim determinar a concentração de rifampicina perdida durante esta operação de lavagem.

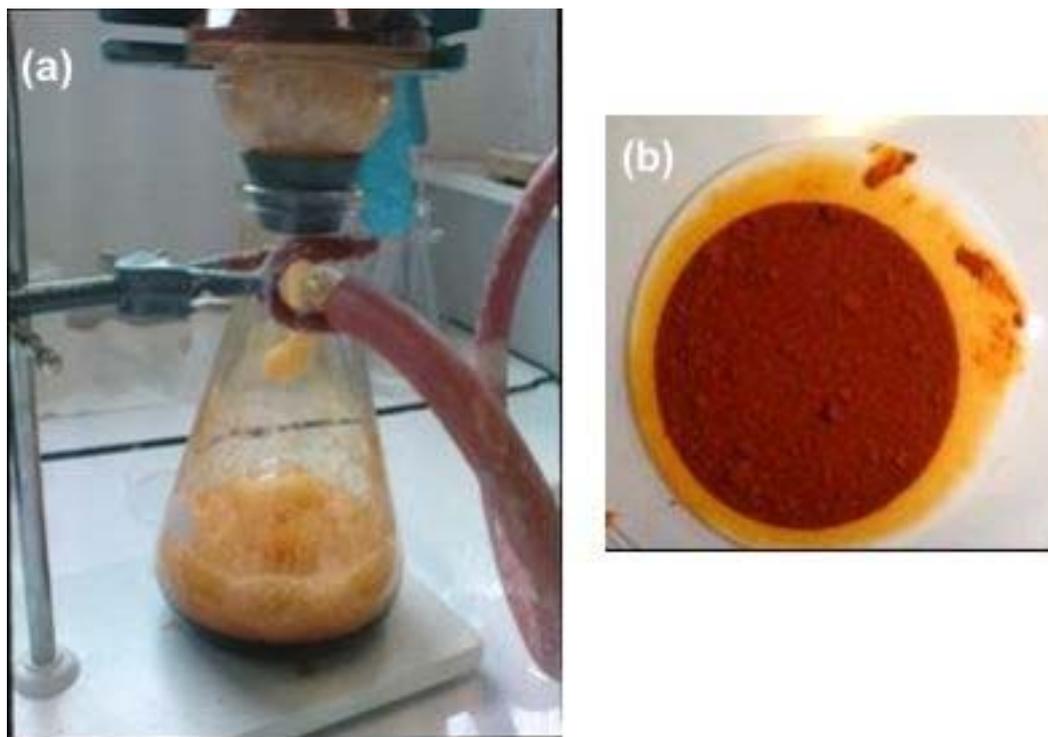


Figura 4.11. Aspecto do sistema de filtração à vácuo (a) e aspecto do sólido recuperado após filtração (b).

#### 4.4.3.2.6. Operação de secagem

A secagem foi realizada em estufa à vácuo na temperatura de 50°C durante 24 horas. O sólido obtido foi pesado para cálculo do rendimento do processo e depois devidamente acondicionado em embalagens plásticas e estocado em dessecador à temperatura ambiente e protegido da luz.

#### 4.4.3.3. Cinética de cristalização da mistura LI:TP, na proporção 1:5.

Após a adição da solução de rifampicina em líquido iônico (na concentração de 9% p/p) no anti-solvente (205g de TP), este sistema foi mantido sob agitação por um período de 24h, com amostragens sucessivas a cada 30 minutos nas primeiras 6 horas, que foram, então, filtradas (tamanho de poro de 0,2 $\mu$ m) e diluídas para serem analisadas por UV-Vis no comprimento de onda de 475 nm e determinar a concentração de rifampicina em solução. Este ensaio foi repetido três vezes.

#### *4.4.3.4. Caracterização da rifampicina recristalizada*

Os cristais gerados foram submetidos a uma série de caracterizações para identificação de algumas de suas características químicas, físico-químicas e físicas.

##### *4.4.3.4.1. Morfologia*

As amostras recristalizadas foram visualizadas em microscópio eletrônico de varredura Philips, modelo XL 30 ESEM ODP com detector de elétrons secundários, após recobrimento das amostras com ouro.

##### *4.4.3.4.2. Análise granulométrica*

O tamanho de partícula das amostras recristalizadas foram analisadas utilizando analisador de tamanho de partícula à laser Zetasizer – 3000HS. A amostra é previamente dispersa em 3 partes de solvente de diluição (solução aquosa de HPMC 0,1 %p/v) e sonogada para preparar um suspensão homogênea.

##### *4.4.3.4.3. Difração de raios X - DRX*

O padrões de DRX para as amostras recristalizadas foram obtidos à temperatura ambiente em um difratômetro de raios X Philips, modelo X'pert, detector X celerator, empregando radiação de cobre monocromática de  $\lambda = 1,5425 \text{ \AA}$ , a partir do cristal de grafite operando a 40 kV e 40 mA. As varreduras foram executadas utilizando-se as amostras em forma de pó, porta amostras giratório (8s/rotação), em uma faixa de  $5^\circ - 60^\circ$  ( $2\theta$ ) com passo de  $0,2^\circ$  por 15 segundos à temperatura ambiente. A superfície irradiada é de 10x10 mm.

##### *4.4.3.4.4. Calorimetria exploratória diferencial – DSC*

As análises do material recristalizado foram realizadas em calorímetro diferencial exploratório Q200, operando a uma faixa de temperatura de 20 a 300 °C, a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, sobre atmosfera dinâmica de nitrogênio (80 ml/min).

#### *4.4.3.4.5. Solubilidade em água do material recristalizado*

O ensaio de solubilidade em água foi realizado conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.1.

#### *4.4.3.4.6. Teor de água*

As análises de teor de água foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.2.3.7.

#### *4.4.3.4.7. Teor de rifampicina*

Aproximadamente 50 mg de material recristalizado foram solubilizados em cerca de 20 g de DMSO. A amostra foi diluída em seguida 1:1 com DMSO para leitura de sua absorbância em espectrofotômetro UV-visível em 482nm. A análise foi feita em duplicata. A curva de calibração é apresentada no Anexo A.

#### *4.4.3.4.8. Avaliação de rifampicina quinona*

A avaliação foi realizada por cromatografia de alta eficiência segunda a metodologia USP 29, conforme já descrito no item 4.4.2.3.8.

#### *4.4.3.4.9. Perfil cinético de dissolução (in vitro)*

Para cada cuba de dissolução foram adicionados 900 ml de água purificada aquecendo o mesmo até  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Foram então adicionadas cerca de 50 mg de amostra ( $n = 3$ ), e imediatamente após iniciou-se agitação com pás e na velocidade de 100 rpm. Alíquotas de 5 ml foram retiradas a cada em 3, 6, 9, 12, 15, 20, 30, 45, 60min depois a cada 30 minutos até 3h sem reposição do meio e com auxílio de sonda de plástico e seringa graduada. A Figura 4.4 mostra a aparelhagem de dissolução à exceção do detalhamento do cesto pertinente somente a dissolução dos filmes. O material recristalizado foi disperso diretamente no meio de dissolução. As alíquotas foram filtradas

em filtro 0,45 µm e resfriadas. As absorbâncias das alíquotas foram lidas diretamente em espectrofotômetro UV - visível (HP 8452A Diode-Array Spectrophotometer), no comprimento de onda de 333 nm, usando cubeta de quartzo de 1 cm e água purificada como branco. A cinética de dissolução é representada através do gráfico de % dissolvido *versus* tempo (min). A curva de calibração é apresentada no Anexo B.

A interpretação quantitativa dos valores obtidos no ensaio de dissolução segundo os modelos cinéticos segue conforme já descrito no item 4.4.1.3.9, porém utilizando somente um grupo de dados referente aos primeiros 15 minutos de experimento.

#### 4.4.3.5. Modificações do processo de cristalização da rifampicina

O processo segue a mesma metodologia já descrita no item 4.4.3.2, porém com a utilização dos agentes dispersantes sepiolita e HPMC.

#### 4.4.3.6. Caracterização da rifampicina recristalizada modificada

##### 4.4.3.6.1. Morfologia

As análises de MEV foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.1.

##### 4.4.3.6.2. Análise granulométrica

As análises de granulometria foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.2.

##### 4.4.3.6.3. Difração de Raios X – DRX

As análises de difração de raios X foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.3.

##### 4.4.3.6.4. Teor de água

As análises foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.6.

#### 4.4.3.6.5 Teor de rifampicina

As análises foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.7.

#### 4.4.3.6.6. Perfil cinético de dissolução (*in vitro*)

As análises foram realizadas conforme metodologia já descrita no item 4.4.3.4.9.

### **4.4.4. Caracterizações para os materiais de partida.**

Os materiais de partida, MOM, SEP, RIFA e seus polimorfos (polimorfos I e II) foram caracterizados e muitas das metodologias empregadas na análise deste materiais já foram descritas acima. No intuito de facilitar o entendimento a Tabela 4.5 apresenta todas as caracterizações realizadas para os referidos materiais, assim como o item referência já citado no texto referente à metodologia utilizada.

Tabela 4.5. Lista das caracterizações realizadas para os materiais de partida e item referência do texto relativo à metodologia utilizada.

Análises	Amostras					Item referência do texto
	MOM	SEP	RIFA	RIFAF1	RIFAF2	
Análise granulométrica (Zetasizer)	-	-	x	-	-	4.4.3.4.2
Análise granulométrica***	-	-	x	-	-	4.4.2.3.2
Área superficial	-	-	x	-	-	4.4.2.3.4
Avaliação de rifampicina quinona	-	-	x	-	-	4.4.2.3.8
Cinética de sorpção de vapor de água	-	-	x	-	-	4.4.2.3.9
Densidade de empacotamento	-	-	x	-	-	4.4.2.3.3
Densidade real	-	-	x	-	-	4.4.1.3.1
DRX	x	x	x	x	x	4.4.1.3.2* 4.4.3.4.3**
DSC	-	-	x	x	x	4.4.3.4.4
Morfologia	x	x	x	-	-	4.4.3.4.1
Perfil cinético de dissolução ( <i>in vitro</i> )	-	-	x	-	-	4.4.3.4.9
Solubilidade	-	-	x	-	-	4.4.3.1
Teor de água	-	-	x	-	-	4.4.2.3.7
Teor de rifampicina	-	-	x	-	-	4.4.3.4.7

*x indica análise realizada*

*- indica que a análise não foi realizada*

*\*Item referência para análise de MOM e SEP*

*\*\*Item referência para análise de RIFA e polimorfos*

*\*\*\* Meio dispersante óleo mineral.*

A análise de ângulo de contato foi realizada somente na amostra de RIFA e a metodologia encontra-se descrita abaixo.

#### 4.4.4.1. Ângulo de contato

A interação entre uma superfície e um determinado líquido pode ser estudada através da medida do chamado ângulo de contato  $\theta$ . Este é definido como o ângulo entre

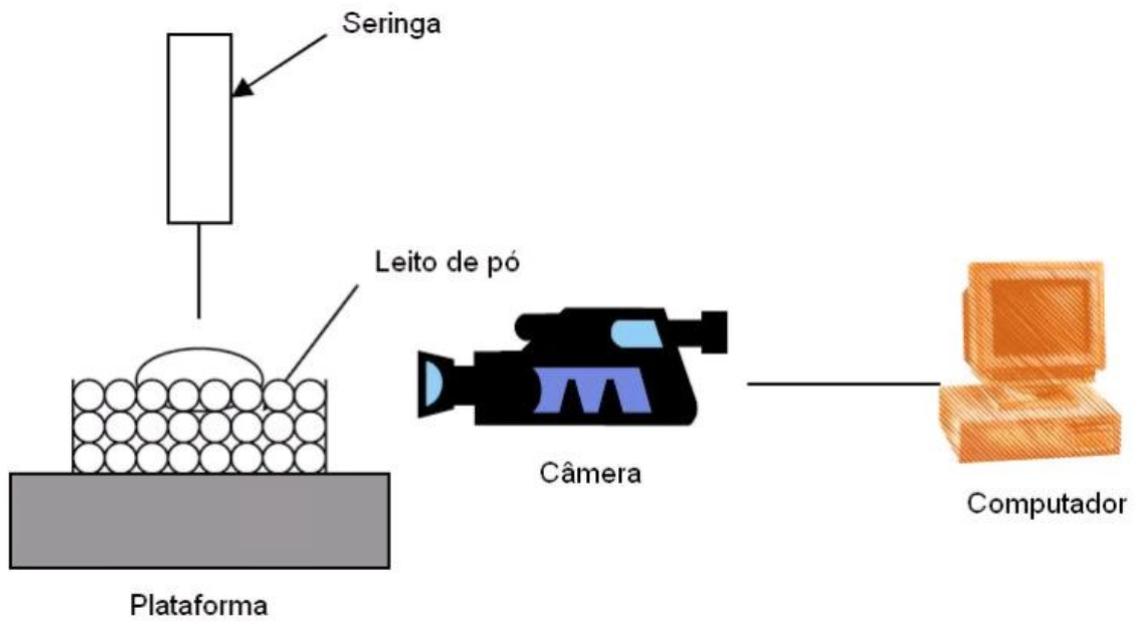
um plano tangente a uma gota do líquido e um plano contendo a superfície onde o líquido se encontra depositado, conforme esquematizado na Figura 4.12.



Figura 4.12. Ilustração do ângulo de contato  $\theta$  entre uma gota líquida e uma superfície plana e horizontal. Nesta figura,  $\gamma_S$  e  $\gamma_{LV}$  são a energia de superfície do sólido e a tensão superficial do líquido em equilíbrio com o vapor, respectivamente;  $\gamma_{SL}$  é a energia da interface sólido-líquido (Adamson, 1990).

O método direto mais utilizado para medidas de ângulo de contato consta da medida do perfil da gota de líquido sobre uma superfície sólida. Estes se referem ao método da gota sésil. No método da gota sésil, uma gota de um líquido é depositada sobre a superfície de um sólido por meio de uma micro seringa. A gota é observada com uma lente de baixo aumento, e o ângulo de contato é medido através de um goniômetro. Este tipo de medida é chamado de estático. O valor do ângulo de contato de uma gota de líquido depende da energia de superfície da amostra e da tensão superficial do líquido. Um fluido é considerado molhante quando  $0^\circ < \theta < 90^\circ$  e não-molhante quando  $90^\circ < \theta < 180^\circ$  (Dionísio, 2000; Gesser, 2000)

Para efetuar a determinação experimental do ângulo de contato, uma gota de cada solvente teste (água) de volume constante ( $10 \mu\text{l}$ ) foi colocada, por meio de uma seringa, sobre a superfície do sólido devidamente compactado de forma a proporcionar uma superfície o mais lisa possível. As medidas dos ângulos de contato foram feitas ao tempo de 0 s (a cinética de molhagem não foi levada em conta). Estas foram realizadas com auxílio de uma câmera que mede diretamente a imagem da gota sobre a superfície sólida, utilizando o Tensiômetro/goniômetro – ILMS dotado do *software Windrop*. As análises foram realizadas em sala de temperatura e umidade ambientes. As medidas foram feitas em duplicata e em pontos distintos da amostra sólida. O desvio experimental aceitável foi fixado em  $+ 1^\circ$ . A Figura 4.13 mostra, de forma simplificada, um esquema do experimento de ângulo de contato.



A Figura 4.13. Esquema simplificado do experimento de ângulo de contato (Goalard, 2005).

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Caracterização das substâncias de partida

#### 5.1.1. Rifampicina e polimorfos

Neste item apresentamos algumas caracterizações realizadas no fármaco modelo escolhido, rifampicina (RIFA), matéria prima de partida utilizada nas formas que foram objeto deste estudo (hidrogéis, partículas híbridas e fármaco recristalizado). Para fins comparativos algumas caracterizações também foram realizadas com as amostras representativas das formas polimórficas I e II, cedidas por Farmanguinhos. Outros ensaios realizados para RIFA e citados na Tabela 4.5 terão seus resultados discutidos ao longo dos demais subitens.

##### 5.1.1.1. Calorimetria exploratória diferencial – DSC

Segundo Agrawal (Agrawal, 2004), a Figura 5.1 mostra a análise calorimétrica diferencial exploratória das formas I, II e amorfa de rifampicina.

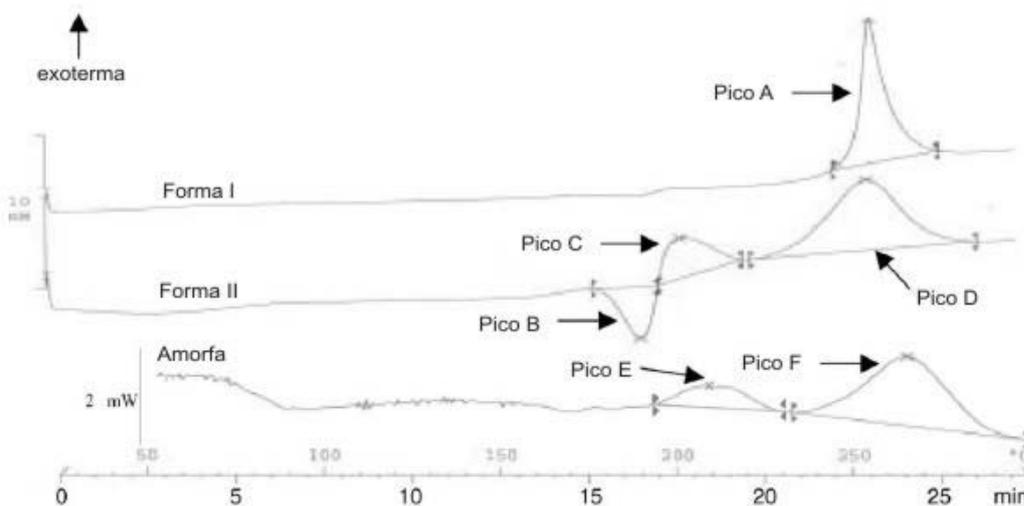


Figura 5.1. Curvas de DSC das formas I, II e amorfa de rifampicina. Pico A: decomposição da forma I a 261°C (255 – 266°C); Pico B: fusão da forma II a 189°C (180 – 197°C); Pico C: recristalização da forma I a 204°C (197 – 223°C); Pico D: decomposição da forma I a 258°C (247 – 266°C); Pico E: exoterma da forma amorfa a 209°C (196 – 229°C); Pico F: decomposição da forma amorfa a 258° C (236 – 278 °C).

A forma I se decompõe diretamente como indicado no exoterma entre 255 – 266°C. A forma II apresenta endoterma de fusão a 180 – 197 °C imediatamente seguido de recristalização em forma I (exoterma entre 197 – 223 °C) que finalmente se decompõe entre 247 – 266° C. Baseado nas fusões destas duas formas considera-se que a forma I é estável e a forma II é metaestável. A forma amorfa apresenta um evento exotérmico começando em 196°C, o qual em seguida se decompõe a 258°C. Para a forma amorfa as entalpias são comparativamente fracas. Um estudo complementar da forma amorfa foi realizado avaliando-se a integridade física das amostras estocadas em sílica gel à temperatura ambiente. Nenhuma cristalização foi evidenciada após um período de estocagem de 18 meses indicando que a Tg da forma amorfa é acima da temperatura ambiente o que sugere que esta forma tem baixa mobilidade molecular à temperatura ambiente e sugere boa estabilidade termodinâmica.

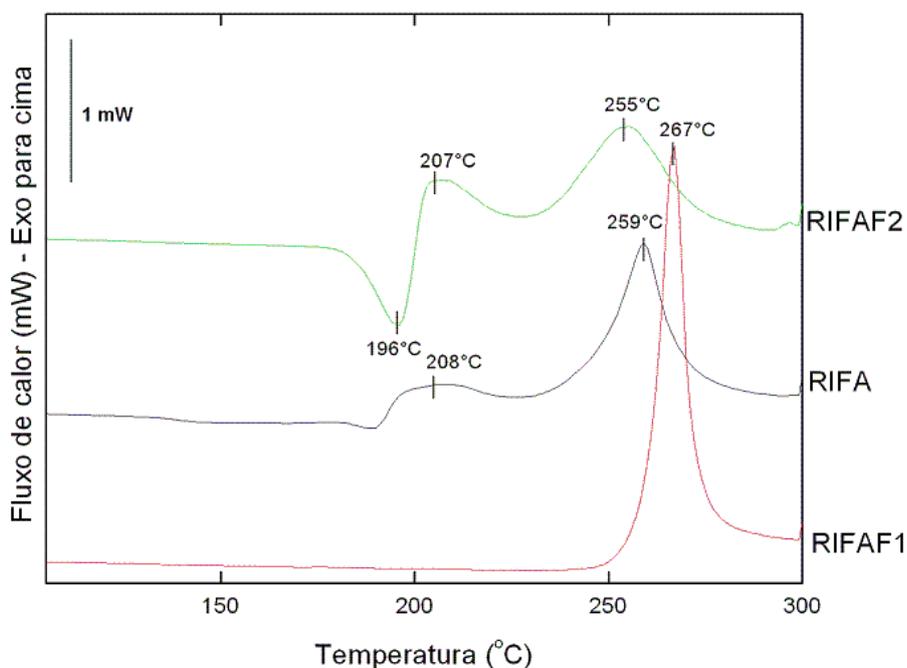


Figura 5.2. Curvas de DSC de RIFA e seus polimorfos I (RIFAF1) e II (RIFAF2).

Com base na Figura 5.2 a amostra RIFAF1 apresentou exoterma de decomposição em 267°C. A amostra RIFAF2 apresentou endoterma de fusão em 196°C, seguido de recristalização em forma I (exoterma em 207°C) que se decompõe em 255°C. Os picos obtidos para as amostras representativas das formas polimórficas I e II correspondem ao descrito na literatura. A amostra RIFA apresenta um exoterma a 208°C (189 – 226°C) seguido de decomposição a 259°C e segundo dados da literatura sugere ser a forma

amorfa da rifampicina, porém tal sugestão deve ser confirmada por DRX, caracterização esta apresentada a seguir.

#### 5.1.1.2. Difração de raios X - DRX

Segundo Panchagnula e colaboradores, as formas cristalinas de rifampicina apresentam picos característicos (a  $13,65$  e  $14,35^\circ$   $2\theta$  para a forma I e a  $9,93$  e  $11,10^\circ$   $2\theta$  para forma II) e a forma amorfa apresenta um halo sem picos bem definidos e de baixa intensidade (Figura 5.3) (Panchagnula, 2008).

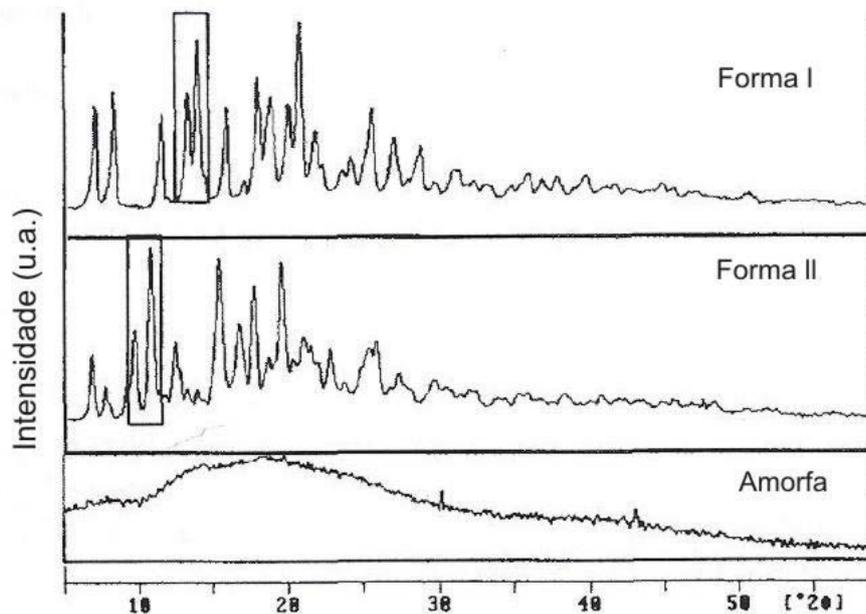


Figura 5.3. Perfil de DRX das formas polimórficas I e II e amorfa de rifampicina. As áreas apresentadas nos retângulos destacam os picos característicos para as formas I e II. A forma amorfa apresenta um halo (Panchagnula, 2008).

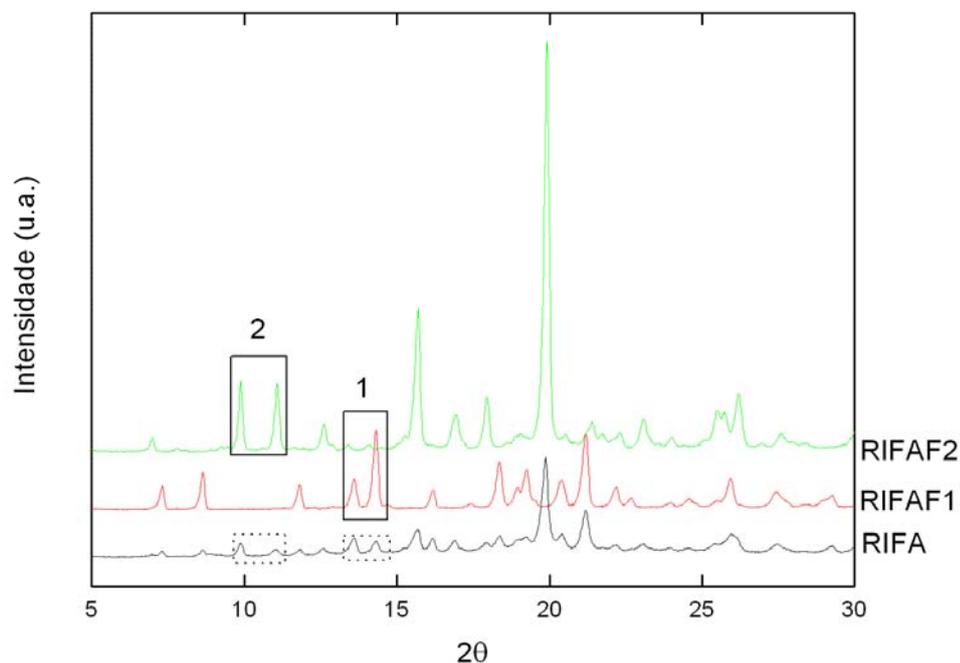


Figura 5.4. Perfil de DRX de RIFA e seus polimorfos I (RIFAF1) e II (RIFAF2).

As áreas destacadas com retângulos, 1 e 2, da Figura 5.4, representam os picos característicos das formas cristalinas I e II. As áreas destacadas com pontilhados na amostra RIFA, representam a presença dos mesmos picos representados nos retângulos 1 e 2 porém em menor intensidade.

Assim como descrito na literatura observamos para as amostras representativas das formas polimórficas I e II, os mesmos picos característicos para estas formas cristalinas (destacadas no retângulo como 1 e 2). Analisando somente baseado nos dados de DRX, sugere-se que a amostra RIFA, caracteriza-se como uma mistura das formas polimórficas I e II, pois apresenta os picos característicos de ambas as formas, porém com menor intensidade. A sugestão de forma amorfa para a amostra RIFA obtida por DSC não é totalmente verdadeira, já que o DRX desta mesma amostra mostra picos referentes à presença de estado cristalino na amostra. Sugere-se, portanto, que a amostra RIFA é uma mistura de formas polimórficas I, II e amorfa. A quantificação de cada uma destas formas não foi abordada neste trabalho.

### 5.1.1.3. Análises físicas e físico-químicas

A Tabela 5.1 mostra algumas características físicas e físico-químicas da rifampicina utilizada neste trabalho.

Tabela 5.1. Características físicas e físico-químicas de RIFA.

Análises	Resultados
<b>Análise granulométrica</b>	
$d_{(4,3)}$	324,86 $\mu\text{m}$
$d_{(v,0,1)}$	40,27 $\mu\text{m}$
$d_{(v,0,5)}$	238,18 $\mu\text{m}$
$d_{(v,0,9)}$	712,06 $\mu\text{m}$
Span	2,82
<b>Densidade real (<math>\text{g/cm}^3</math>)</b>	1,2422 $\pm$ 0,0004
<b>Densidade máxima de empacotamento (<math>\text{g/ml}</math>)</b>	0,742*
<b>Solubilidade em água (<math>\text{mg/g}</math>)</b>	0,720 $\pm$ 0,038
<b>Teor de água (%)*</b>	1,82**
<b>Área superficial (<math>\text{m}^2/\text{g}</math>)</b>	1,07 $\pm$ 0,01 ***
<b>Teor do fármaco em base seca (%)</b>	99,11 $\pm$ 0,95

\*n = 1

\*\*O desvio aceitável da análise foi ajustado para 0,3 %.

\*\*\*Gás nitrogênio.

#### 5.1.1.4. Ângulo de contato

O ângulo de contato entre rifampicina e água foi determinado (Figura 5.5 e Tabela 5.2). Observa-se que a água não “molha” a rifampicina, sendo o ângulo de contato superior à 90°. Este resultado já era esperado para água visto a natureza hidrofóbica da rifampicina.

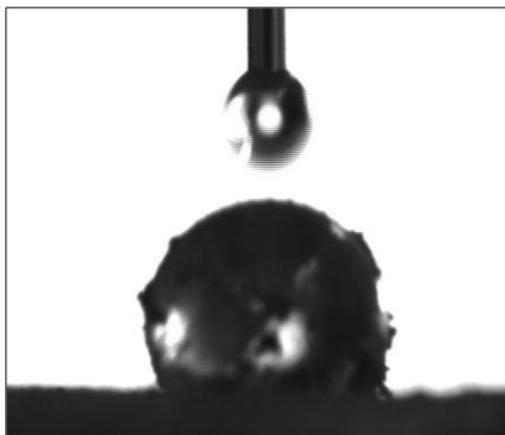


Figura 5.5. Aspecto da gota de solvente sobre o leito de pós de rifampicina durante o ensaio de ângulo de contato da rifampicina em água.

Tabela 5.2. Ângulo de contato da rifampicina.

Solvente	Ângulo de contato ( $\theta^\circ$ )	erro ( $\theta^\circ$ )
Água	115	$\pm 2$

#### 5.1.1.5. Morfologia

A amostra apresenta uma mistura de cristais irregulares tipo haste com outras partículas irregulares de aspecto aglomerado (Figura 5.6).

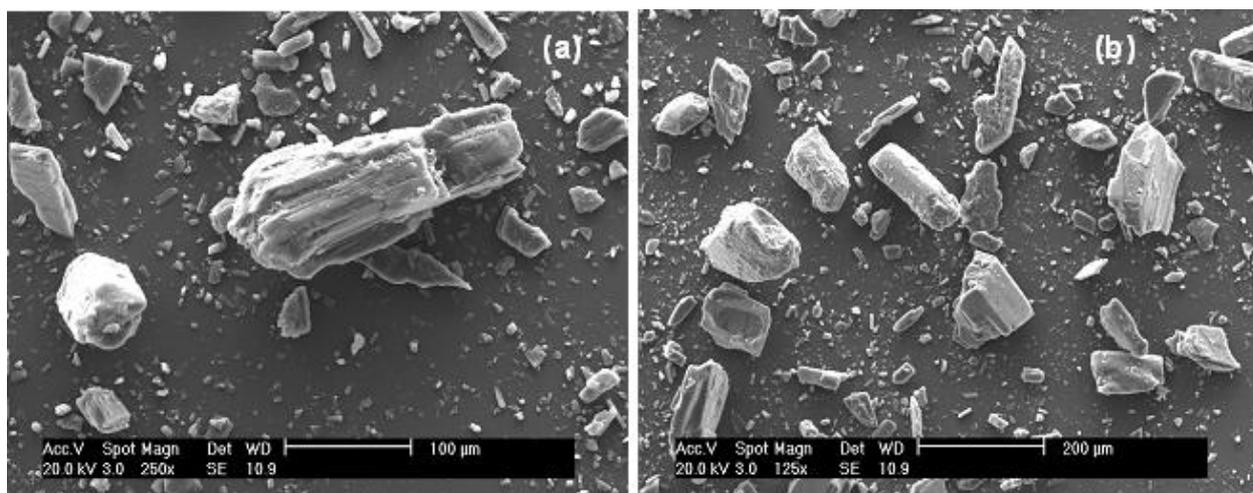


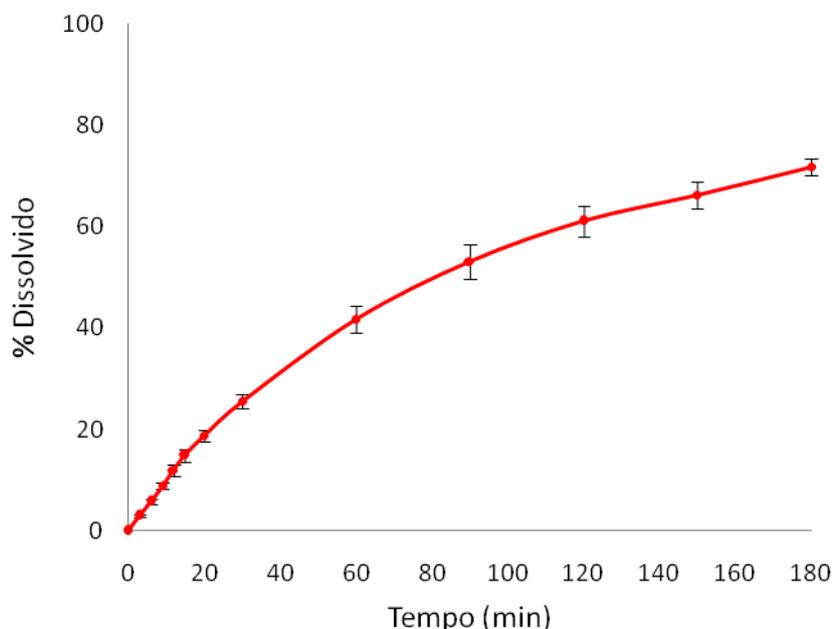
Figura 5.6. Fotomicrografias obtidas por MEV dos cristais de RIFA: (a) em maior e (b) menor magnificação.

#### 5.1.1.6. Cinética de sorção de vapor de água

Os resultados referentes a este ensaio encontram-se descritos no item 5.3.3.9.

#### 5.1.1.7. Perfil cinético de dissolução (in vitro)

A Figura 5.7 mostra o perfil cinético de dissolução dos cristais de RIFA em água ao longo do tempo de 180 minutos e a Tabela 5.3 destaca o percentual dissolvido de rifampicina em alguns dos tempos amostrados para facilitar a discussão.



A Figura 5.7. Perfil cinético de dissolução dos cristais de RIFA em água.

Tabela 5.3. % Dissolvido de rifampicina ao longo do tempo de 180 minutos.

Tempo (min)	% Dissolvido	Desvio padrão
15	14,85	1,21
45	34,50	2,44
90	53,06	3,35
180	71,68	1,72

Observa-se que a velocidade de dissolução de RIFA é lenta não atingindo mais que 35 % após 45 minutos e não mais que 72% após 3 horas de dissolução. Algumas características deste material compõem a explicação para este fato:

- 1) A amostra apresenta baixa solubilidade em água (0,72 mg/g, vide Tabela 5.1).
- 2) Possui elevado ângulo de contato com a água, em função de sua característica hidrofóbica, dificultando a molhabilidade dos cristais durante o ensaio de dissolução ( vide item 5.1.1.4).
- 3) Apresenta diâmetro médio de partícula elevado ( $d_{(4,3)} = 324,86 \mu\text{m}$ , vide Tabela 5.1), o que diminui a área de contato sólido-líquido no meio, dificultando também sua dissolução.
- 4) Segundo a análise de sorpção de vapor (DVS, vide item 5.3.3.9), RIFA adsorve pouca umidade quando exposta a umidades relativas de até 90% (~4%, UR de 90%), em função de sua baixa afinidade pelo vapor d'água.

O perfil cinético de dissolução de RIFA mostrado na Figura 5.7 será rerepresentado ao longo do trabalho em comparação aos perfis cinéticos apresentados para o fármaco recristalizado.

### *5.1.2. Montmorilonita (MOM)*

Neste item apresentamos algumas caracterizações realizadas para a montmorilonita (MOM) utilizada nos sistemas poliméricos desenvolvidos neste trabalho.

#### *5.1.2.1. Difração de raios X – DRX*

A curva de DRX da montmorilonita sódica é apresentada na Figura 5.8 na qual se pode constatar o pico característico em  $2\theta$  de  $7,7^\circ$ . Este valor encontra-se bem próximo dos valores relatados na literatura de  $2\theta$  entre  $7,4^\circ$  e  $7,5^\circ$  (Lin, 2002; Lee, 2004).

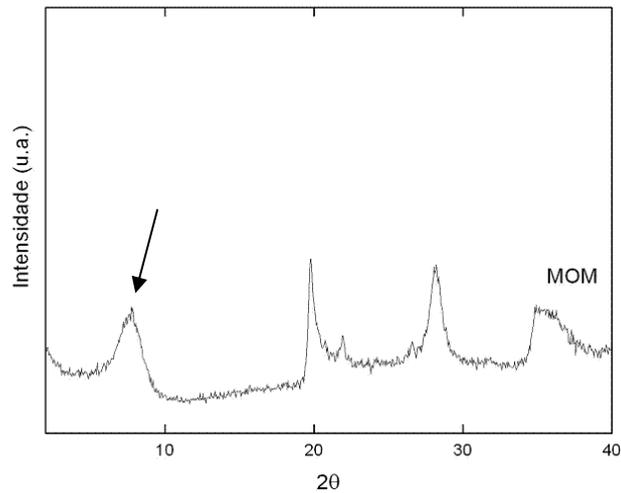


Figura 5.8. Perfil de DRX para MOM.

### 5.1.2.2. Morfologia

A MOM utilizada neste trabalho apresenta-se como partículas aglomeradas de aspecto irregular (Figura 5.9).

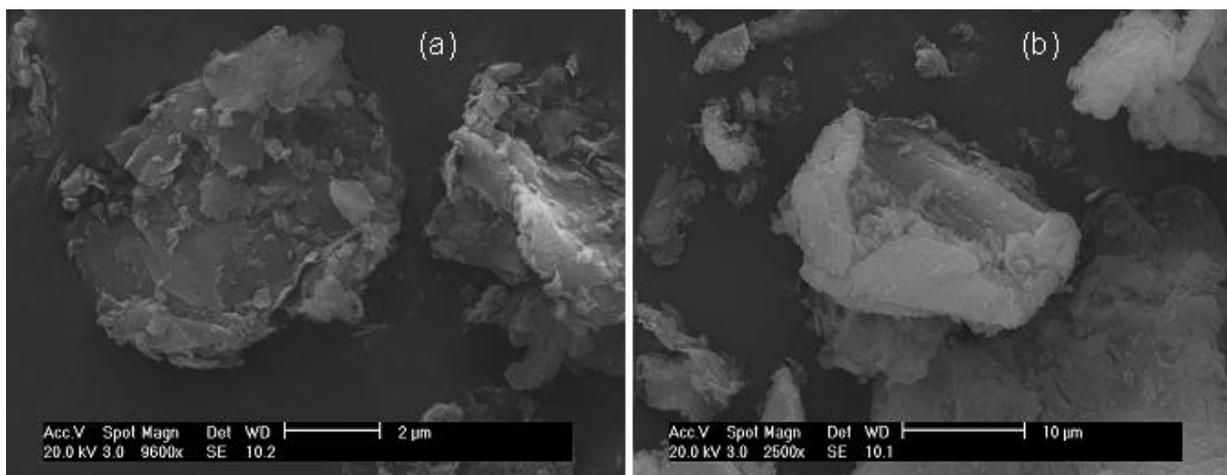


Figura 5.9. Fotomicrografias obtidas por MEV de MOM em (a) maior e (b) menor magnificação.

### 5.1.3. Sepiolita (SEP)

Neste item apresentamos algumas caracterizações realizadas para a sepiolita (SEP) utilizada nos sistemas poliméricos desenvolvidos neste trabalho.

#### 5.1.3.1. Difração de raios X a alto ângulo – DRX

A curva de DRX da sepiolita é apresentada na Figura 5.10 na qual se pode constatar o pico característico em  $2\theta$  de  $7,5^\circ$ . Este valor encontra-se bem próximo do valor relatado na literatura de  $2\theta$  de  $7,3^\circ$  (Tartaglione, 2008).

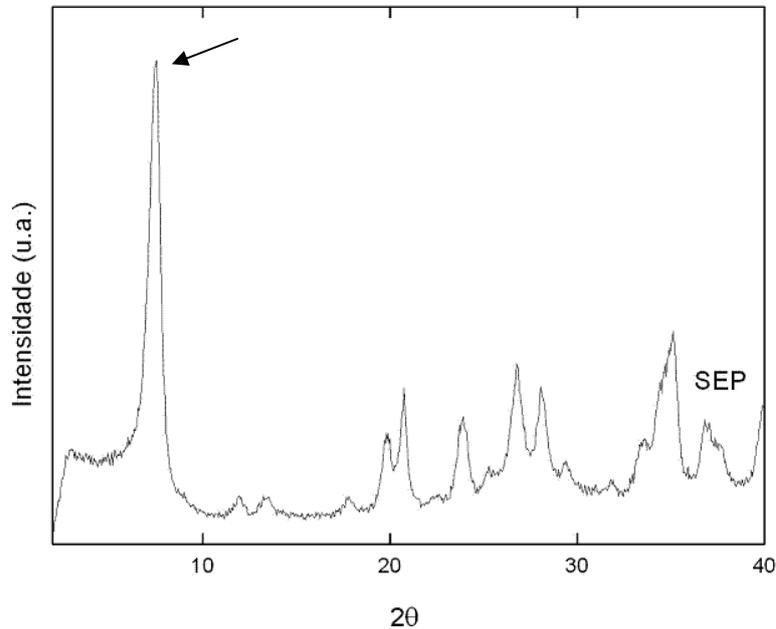


Figura 5.10. Perfil de DRX para SEP.

### 5.1.3.2. Morfologia

Tartaglione e colaboradores relatam que a partir da análise de MEV (Figura 5.11) pode-se observar que a sepiolita se assemelha a agulhas de aspecto fibroso não muito longas com cerca de 200 nm de espessura e que formam aglomerados com dimensões em torno de 5-10  $\mu\text{m}$  (Tartaglione, 2008).

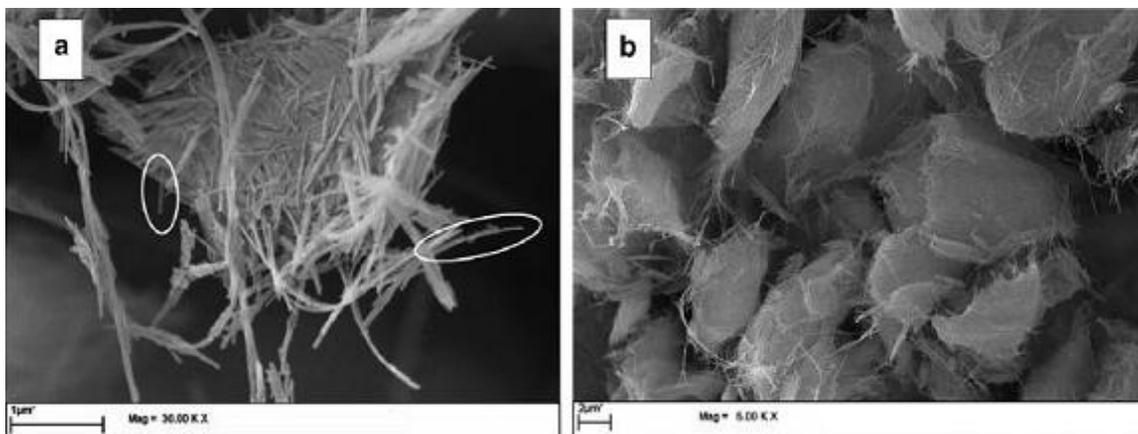


Figura 5.11. Fotomicrografias obtidas por MEV de SEP: (a) agulhas individualizadas (circundadas de branco) e (b) aglomerados de sepiolita (Tartaglione, 2008).

A SEP utilizada neste trabalho apresenta-se também em forma de agulhas (Figura 5.12a) que formam aglomerados de aspecto irregular (Figura 5.12b). Tal morfologia encontra-se de acordo com o descrito na literatura.

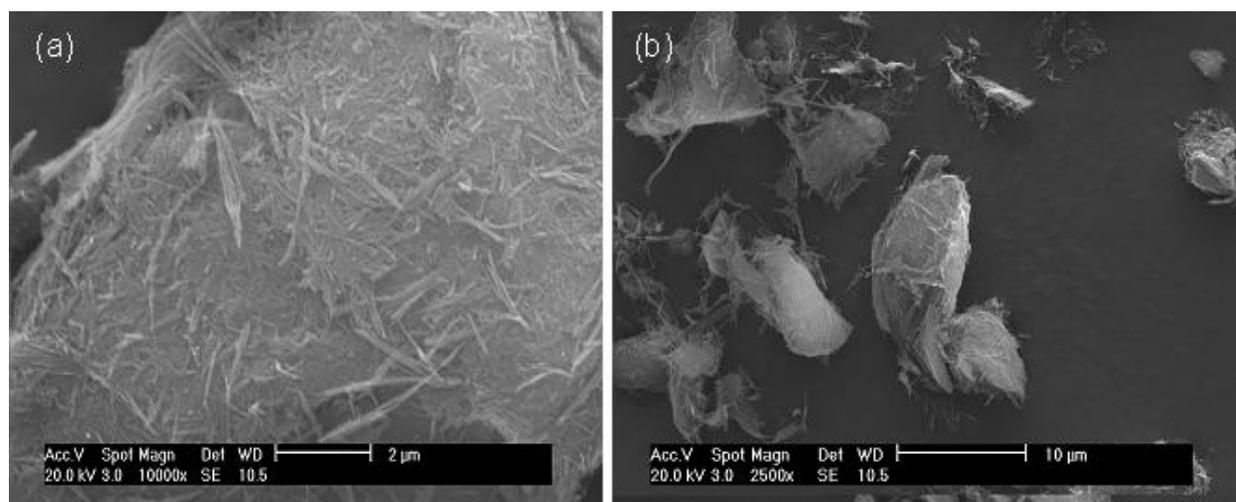


Figura 5.12. Fotomicrografias obtidas por MEV da amostra de SEP utilizada neste trabalho: (a) presença de agulhas em maior magnificação e (b) presença de aglomerados de sepiolita em menor magnificação.

## **5.2. Preparação e caracterização dos hidrogéis nanocompósitos**

### **5.2.1. Caracterização das suspensões**

#### **5.2.1.1. Viscosidade**

A viscosidade é fator importante para a elaboração da suspensão filmogênica para que os hidrogéis formados apresentem uma superfície contínua e espessura uniforme.

Valores altos de viscosidade podem comprometer a preparação e a qualidade dos filmes formados. (Henrique, 2008). Neste trabalho, avaliou-se este comportamento pela análise da viscosidade das diferentes suspensões formuladas. Os resultados da análise de viscosidade encontram-se na Tabela 5.4, enquanto as Figura 5.13 e 5.14 ilustram o perfil reológico das suspensões através do gráfico de tensão de cisalhamento *versus* velocidade de cisalhamento.

Tabela 5.4. Resultados de viscosidade das suspensões nanocompósitos de PVA/argila.

Amostra	Viscosidade (cP)	Desvio padrão
PVA	37,3	0,68
PVAR	34,6	0,24
PVAM1	34,0	0,28
PVAM5	35,4	0,62
PVAM1R	35,1	0,44
PVAM5R	36,6	0,48
PVAS1	35,4	0,17
PVAS5	38,7	1,25
PVAS1R	37,4	0,40
PVAS5R	44,1	1,06

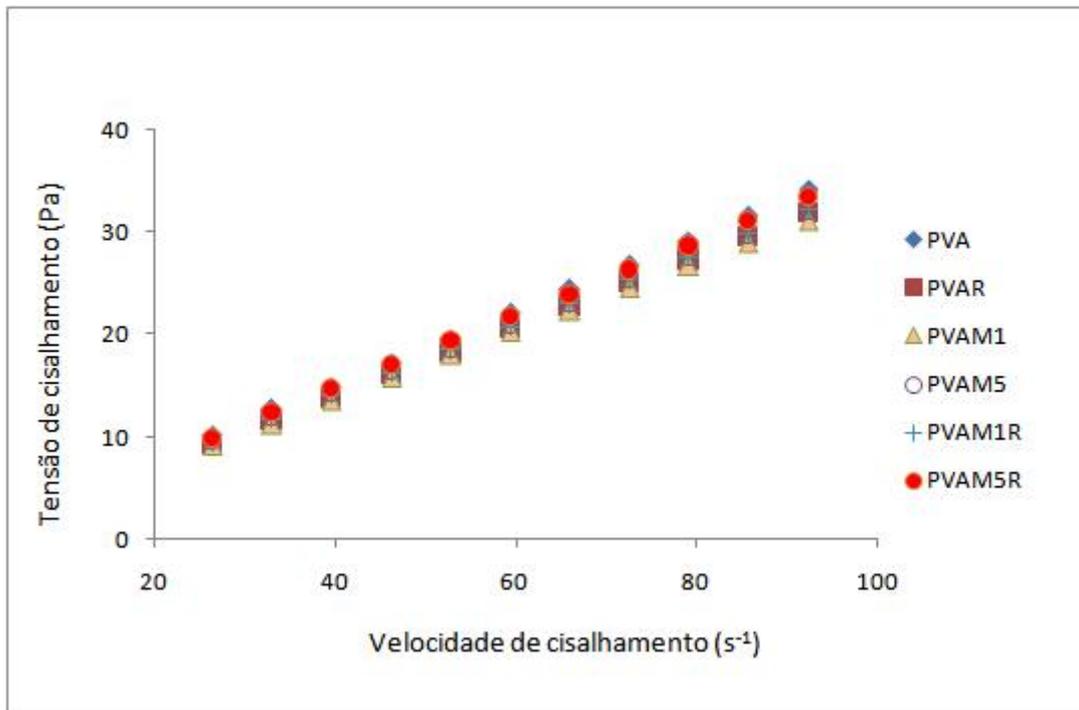


Figura 5.13. Perfil reológico das suspensões de PVA/MOM. Cada curva é a média das análises realizadas.

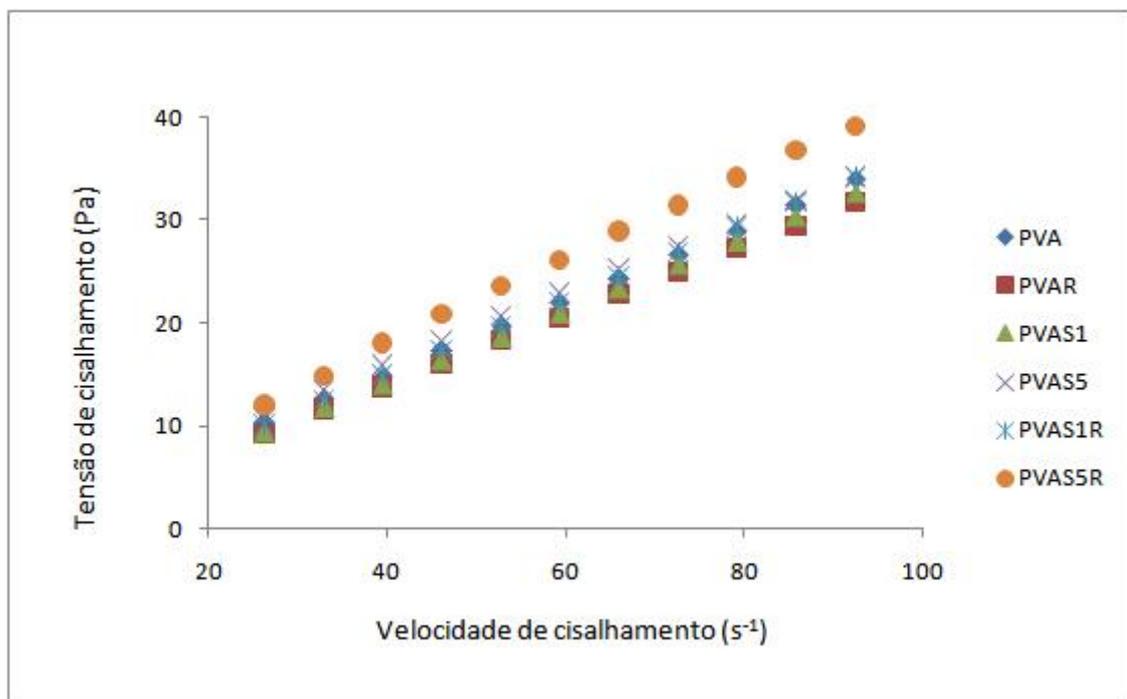


Figura 5.14. Perfil reológico das suspensões de PVA/SEP. Cada curva é a média das análises realizadas.

A incorporação dos argilo-minerais ou do fármaco não causou aumentos significativos de viscosidade nas suspensões ficando as mesmas entre 34 e 44 cP, o que se traduz por uma baixa viscosidade. Através das Figuras 5.13 e 5.14, vê-se que as suspensões preparadas apresentam um comportamento Newtoniano (relação linear entre velocidade de cisalhamento e tensão de cisalhamento) e que a viscosidade mantém-se constante com a variação da velocidade de cisalhamento (Kawatra, 1996).

#### 5.2.1.2. pH

A degradação do fármaco rifampicina em solução aquosa é um processo pH dependente. Em baixos valores de pH, a rifampicina pode sofrer hidrólise e em pH alcalino e presença de oxigênio atmosférico pode sofrer oxidação, e em ambos os casos com formação de subprodutos indesejáveis. O pH indicado para uma máxima estabilidade é próximo do neutro (Connors, 1986). A Tabela 5.5 mostra os resultados de pH das suspensões preparadas.

Tabela 5.5. Resultados de pH das suspensões.

Amostra	pH à 25 °C
PVA	6,1
PVAR	6,1
PVAM1	6,2
PVAM5	6,4
PVAM1R	6,9
PVAM5R	6,2
PVAS1	6,5
PVAS5	6,5
PVAS1R	6,2
PVAS5R	6,3

O pH de todas as suspensões encontra-se entre 6,0 e 7,0. Segundo Connors (Connors, 1986), esta faixa de pH pode garantir uma maior estabilidade do fármaco modelo quando o mesmo está em suspensão. Na preparação de hidrogéis, a forma de suspensão é uma fase intermediária do processo (a suspensão é preparada e

imediatamente vertida em placas de Petri para a etapa de “*casting*”, ou seja, sua estabilidade física a longo prazo não é necessariamente um limitante a ser resolvido).

## 5.2.2. Caracterização dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila

### 5.2.2.1. Aspecto físico e densidade real

A Figura 5.15 mostra o aspecto físico dos hidrogéis obtidos pela metodologia descrita. Os hidrogéis sem carga de fármaco são incolores, porém os hidrogéis contendo as argilas apresentam aspecto levemente turvo em função da presença das partículas de argila dispersas. Os hidrogéis contendo fármaco possuem cor vermelha e as formulações contendo argilas também possuem aspecto vermelho um pouco mais opaco. As fotos foram obtidas através de máquina fotográfica digital (modelo DSC-T70, marca Sony). A densidade real, medida por picnometria de hélio, varia de 1,6 a 1,8 g/cm<sup>3</sup>, dependendo da composição dos hidrogéis (Tabela 5.6).

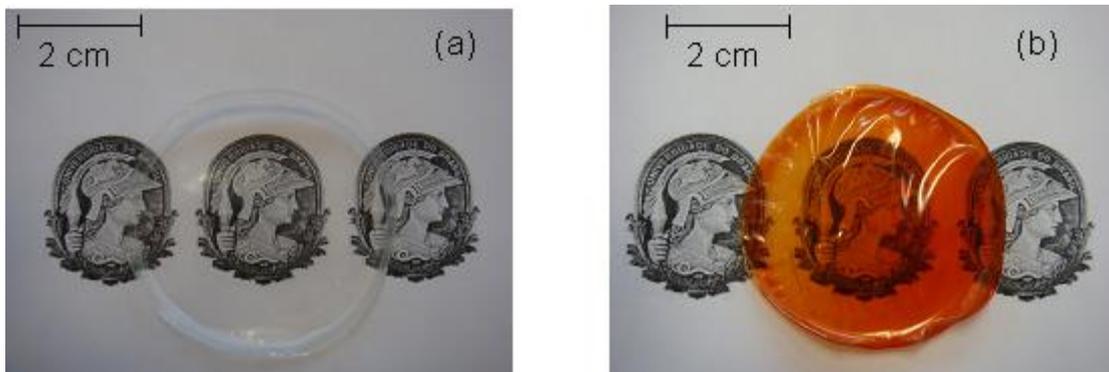


Figura 5.15. Aspecto físico dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila: (a) ausente de carga de fármaco e (b) com carga de fármaco.

Tabela 5.6. Densidade real dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila

Amostra	Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	Desvio padrão
PVA	1,7255	0,0171
PVAR	1,5909	0,0106
PVAM1	1,6495	0,0128
PVAM5	1,5805	0,0110
PVAM1R	1,6925	0,0209
PVAM5R	1,6998	0,0123
PVAS1	1,6715	0,0290
PVAS5	1,6386	0,0312
PVAS1R	1,8257	0,0332
PVAS5R	1,7427	0,0195

#### 5.2.2.2. Difração de raios X – DRX

O DRX foi utilizado para se avaliar a alteração na natureza cristalina da matriz de PVA em função da presença das argilas e de RIFA.

Sabe-se que o PVA apresenta um intenso pico de difração a  $2\theta = 19,4^\circ$  relacionado ao plano cristalográfico  $(10\bar{1})$  (Bunn, 1948). A Figura 5.16 mostra os perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA. Observa-se que a simples presença de RIFA ou MOM ou de ambas concomitantemente nas concentrações sugeridas neste trabalho não causou alteração na microestrutura cristalina da matriz de PVA, pois o pico de difração principal para PVA se manteve. O DRX das amostras contendo PVA (PVAR e PVAM5R) não mostram nenhuma evidência de reflexões cristalinas associadas a MOM e a RIFA.

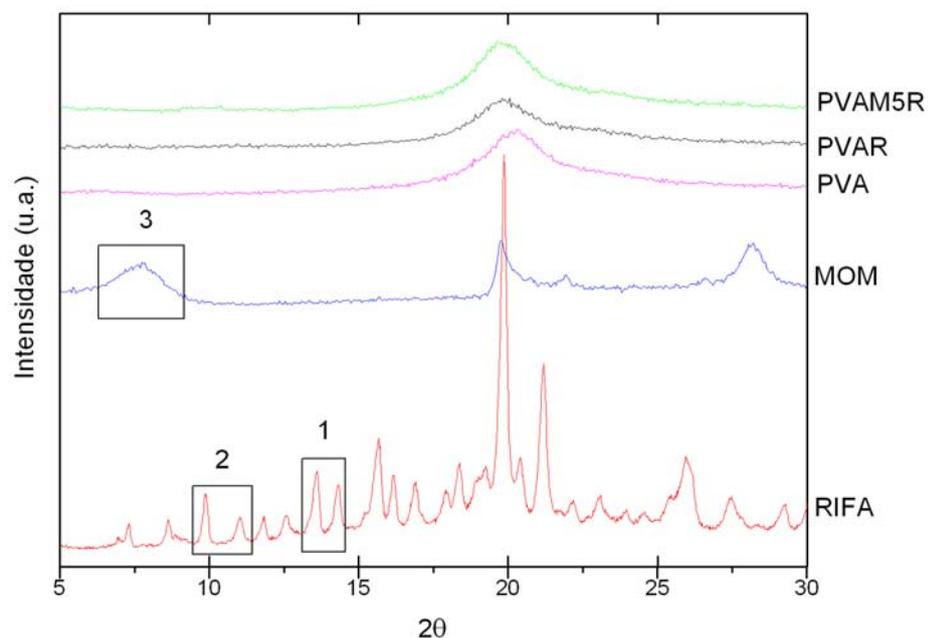


Figura 5.16. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM (PVAM5R) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, de PVA com RIFA (PVAR) e dos materiais de partida MOM e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.

Com o objetivo de visualizar o perfil de DRX de todos os hidrogéis preparados para a série utilizando a argila MOM tem-se a Figura 5.17 a qual apresenta os perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM com ou sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. .

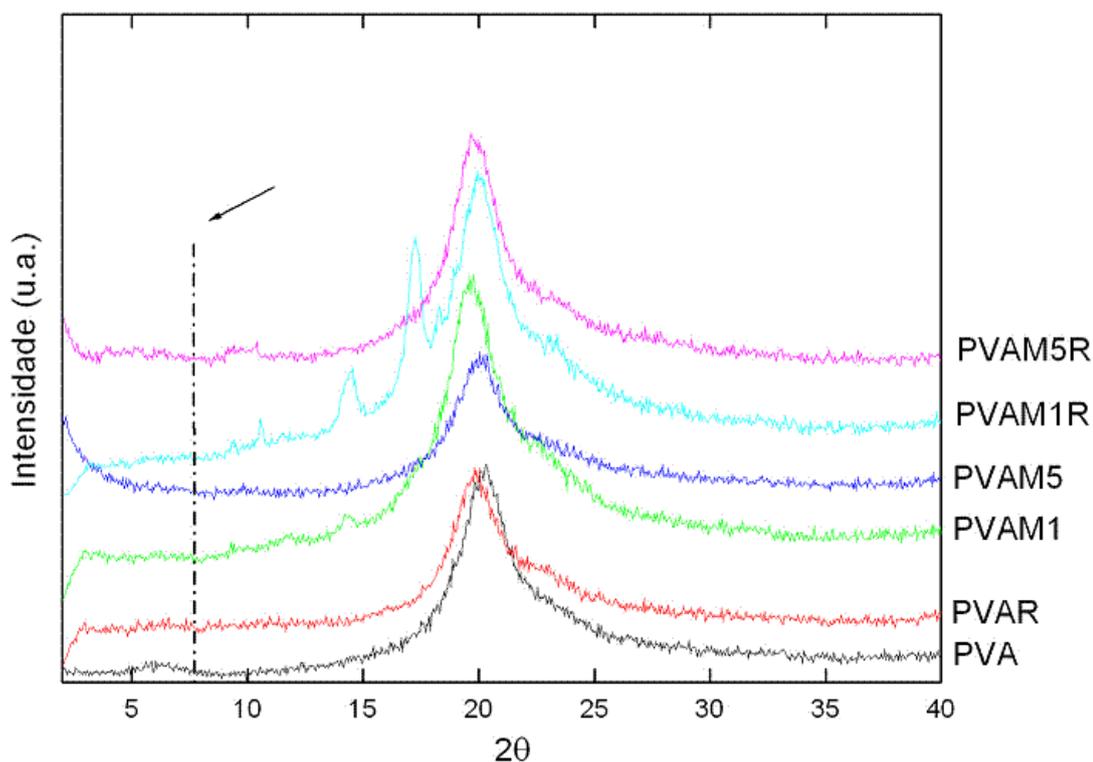


Figura 5.17. Perfil de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para MOM pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Da Figura 5.17 pode-se observar que para todas as amostras não se percebe a reflexão cristalina do plano basal (001) da MOM na região de  $2\theta$  compreendida entre  $2 - 10^\circ$ . Este fato é amplamente citado na literatura como um forte indicativo do processo de intercalação/esfoliação entre as cadeias poliméricas e as lamelas da argila.

Desta forma, os resultados indicam que, independentemente do teor de argila e da presença de RIFA nos hidrogéis, ocorre um processo de intercalação/esfoliação entre o PVA e a montmorilonita, resultado este coerente com os citados na literatura para o sistema PVA/MOM (Yu, 2003; Chang, 2003). É fato conhecido na literatura que diversos polímeros hidrofílicos lineares (PVA, poli(óxido de etileno), poli(pirrol), entre outros) apresentam grande capacidade de intercalação quando da presença de argilominerais dispersos na matriz polimérica (Thang, 1979; Lagaly, 1999).

A Figura 5.18 mostra os perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA. Observa-se que a

simples presença de RIFA ou SEP ou de ambas concomitantemente nas concentrações sugeridas neste trabalho não causou alteração na microestrutura cristalina da matriz de PVA, pois o pico de difração principal para PVA se manteve. O DRX das amostras contendo PVA (PVAR e PVAS5R) não mostram nenhuma evidência de reflexões cristalinas associadas a RIFA, porém na amostra PVAS5R pode-se observar um pico de difração não muito intenso referente ao pico de difração característico da sepiolita ( $2\theta = 7,3^\circ$  - 3a) o qual será discutido em detalhes a seguir.

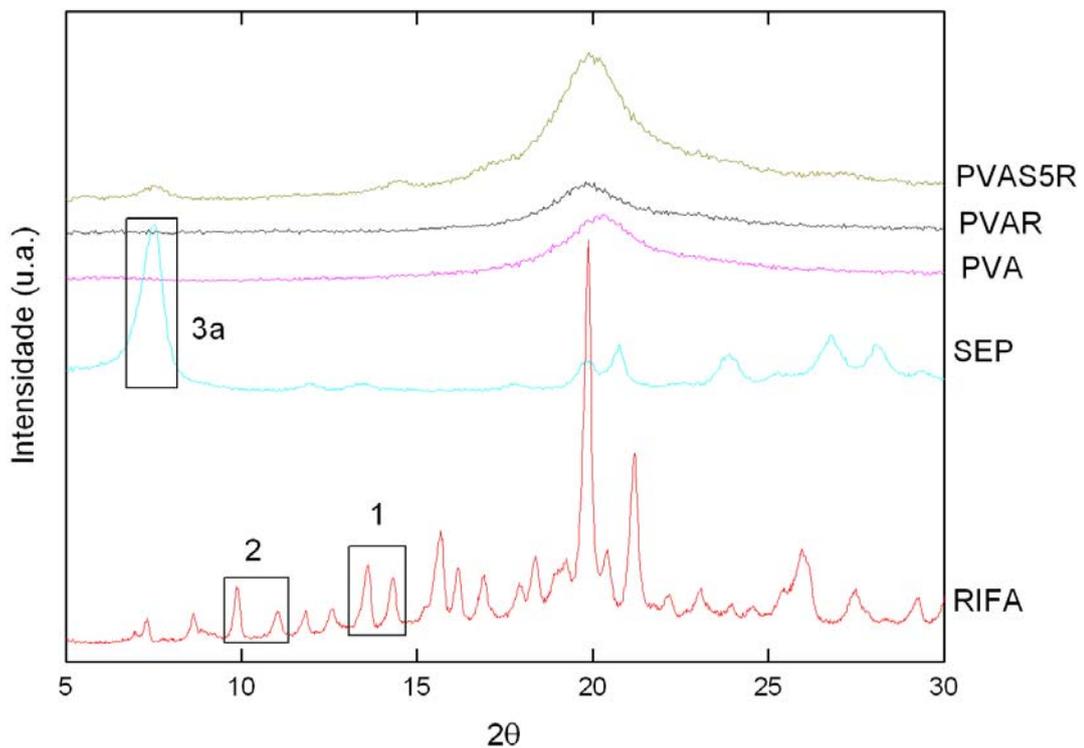


Figura 5.18. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP (PVAS5R) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA, de PVA com RIFA (PVAR) e dos materiais de partida SEP e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.

Com o objetivo de visualizar o perfil de DRX de todos os hidrogéis preparados para a série utilizando a argila SEP tem-se a Figura 5.19 a qual apresenta os perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP com ou sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. .

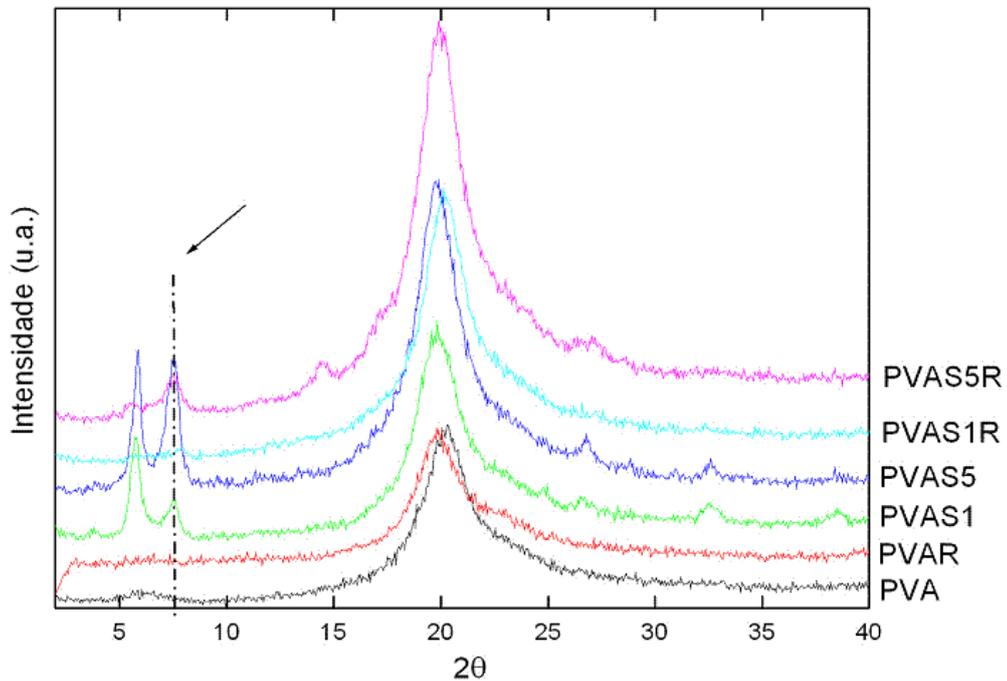


Figura 5.19. Perfil de raios X dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para SEP pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Da Figura 5.19 pode-se observar a presença do pico de difração característico da SEP nas amostras PVAS1, PVAS5 e PVAS5R. Isto indica a presença de fibras de SEP aglomeradas. Este mesmo comportamento foi reportado por Chen e colaboradores para nanocompósitos de sepiolita/poliuretano (Chen, 2007). Tal constatação não foi observada para a amostra PVAS1R a qual sugere-se ter a sepiolita mais bem dispersa na matriz polimérica.

De forma a se estudar as variações nos domínios cristalinos da matriz de PVA dos hidrogéis e dos hidrogéis nanocompósitos, os tamanhos cristalinos médios,  $L$ , foram estimados a partir da equação de Scherrer (Guinier, 1955):

$$L = \frac{\kappa\lambda}{\beta \cos \theta} \quad (5.1)$$

Onde  $k = 0,9$  é a constante de Scherrer,  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$  é o comprimento de onda do raio X empregado na análise,  $\beta$  é a largura à meia altura do pico de difração (em radianos) e  $\theta$  é o ângulo de Bragg. Os parâmetros cristalinos para o uso da equação de

Scherrer foram obtidos através da deconvolução das curvas de DRX com o uso do programa *Origin 7.0*. Os resultados dos parâmetros cristalinos calculados são apresentados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7. Valores dos parâmetros cristalinos para os hidrogéis nanocompósitos

Amostra	$2\theta$ (°)	L (Å)
PVA	20,3	34
PVAR	19,8	35
PVAM1	19,75	32
PVAM5	20,05	34
PVAM1R	19,95	46
PVAM5R	19,65	34
PVAS1	19,8	39
PVAS5	19,9	38
PVAS1R	20,2	36
PVAS5R	19,9	36

De acordo com a Tabela 5.7, observa-se que a incorporação de RIFA ou MOM ou da associação das duas, em comparação a amostra PVA, praticamente não altera o tamanho cristalino (L), à exceção da amostra PVAM1R que apresenta valor significativamente maior, resultado este não esperado. Observa-se valores discretamente maiores de L quando comparados a amostra PVA, na presença de SEP e SEP associada a RIFA. Sugere-se que a presença de SEP atua como obstáculo ao crescimento da nova fase cristalina de PVA, provavelmente em função de seu fator forma (Silva, 2007).

### 5.2.2.3. Calorimetria exploratória diferencial – DSC

A Figura 5.20 mostra as curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA. A Tabela 5.8 apresenta os valores da temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ), e o grau de cristalinidade  $X_c$  de todos os hidrogéis nanoestruturados.

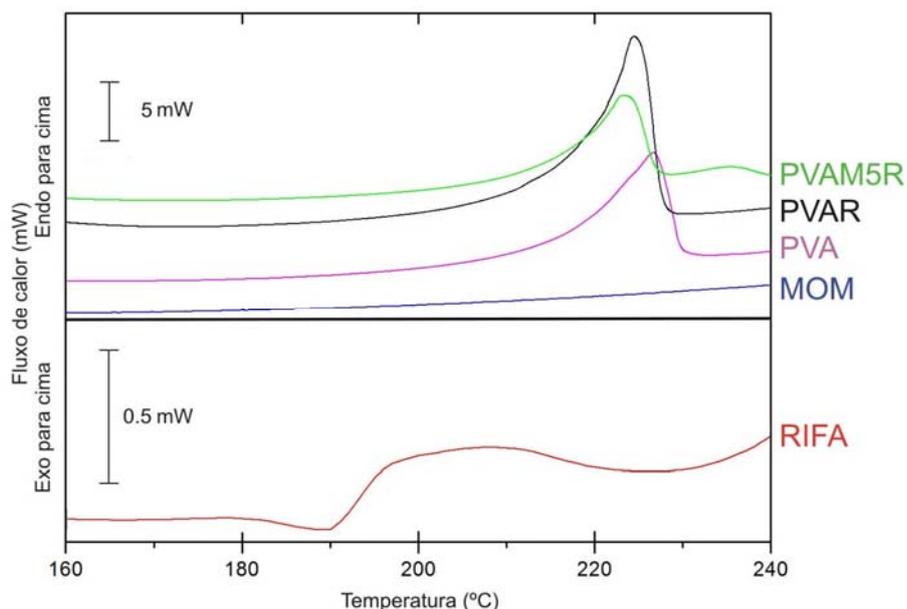


Figura 5.20. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA

Tabela 5.8. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para os hidrogéis nanoestruturadas \*

Amostras	$T_m$ (°C)	$X_c$ (%) <sup>a</sup>
PVA	227	37
PVAR	224	43
PVAM1	226	36
PVAM5	226	24
PVAM1R	225	32
PVAM5R	223	26
PVAS1	226	36
PVAS5	227	51
PVAS1R	224	45
PVAS5R	225	42

\*O erro experimental associado aos experimentos de análise térmica são  $\pm 0,8^\circ\text{C}$  e  $\pm 1,5\%$  para  $T_m$  e  $X_c$ , respectivamente.

<sup>a</sup>  $X_c$  é calculado pela razão  $\Delta H/\Delta H_m^\circ$ , onde  $\Delta H_m^\circ$  é a entalpia de fusão do PVA 100 % cristalino (150 J/g).

A partir da Figura 5.20, observa-se para o PVA um pico endotérmico a 227°C, correspondente a temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ) do PVA (Silva, 2007). A presença de RIFA (amostra PVAR) e de RIFA e MOM (amostra PVAM5R) causa leve deslocamento dos picos endotérmicos de fusão cristalina do PVA para temperaturas mais baixas. No caso da amostra PVAR, este efeito é atribuído às interações entre PVA e RIFA (via ligações hidrogênio) e pelo impedimento estérico em função de seu elevado peso molecular (823g/mol). Estes fatores simultâneos causam a desorganização dos arranjos lamelares durante a formação dos domínios cristalinos do PVA, resultando num aumento do número de cristais porém com baixa temperatura de fusão (Ricciardi, 2004). Com base na Tabela 5.8 o resultado de DSC indica diminuição da  $T_m$  de 226,6°C para 224,2°C. A temperatura de fusão de RIFA coincide com a temperatura de fusão do PVA, não sendo possível associar nas curvas de DSC dos hidrogéis qualquer evento térmico relacionado à presença deste fármaco. A argila MOM pura na faixa de temperatura representada na Figura 5.20 não apresenta nenhum evento térmico apresentando-se graficamente na forma de platô. Sugere-se que a RIFA na amostra PVAR atua como agente de nucleação sobre o PVA, resultando em domínios cristalinos menos ordenados e alto grau de cristalinidade quando comparado com a amostra PVA (o grau de cristalinidade da matriz de PVA aumenta de 37 para 43 %). Para teores maiores de argila, a mobilidade molecular das cadeias de PVA e conseqüentemente a capacidade de cristalizar, é drasticamente afetada pela formação de uma rede tridimensional de plaquetas de MOM na matriz do nanocompósito. Este comportamento explica o decréscimo observado no grau de cristalinidade da amostra PVAM5R (o grau de cristalinidade da matriz em relação ao PVA diminui de 37 para 26 %).

Com o objetivo de visualizar todas as curvas de DSC de todos os hidrogéis preparados para a série utilizando a argila MOM tem-se a Figura 5.21 a qual apresenta as curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM com ou sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA.

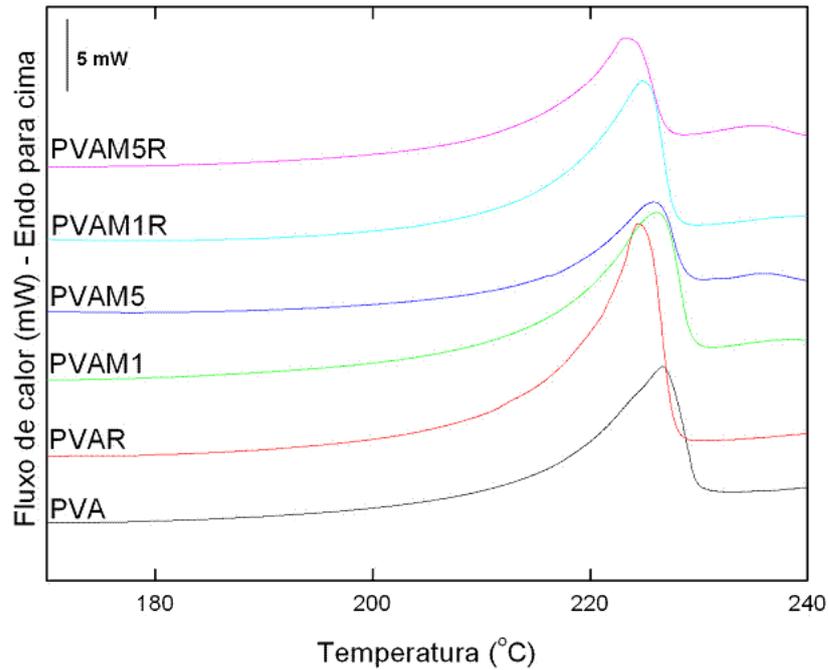


Figura 5.21. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM . As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Um pequeno teor de MOM (amostra PVAM1) não altera significativamente o aspecto gráfico da curva de DSC em relação ao PVA e nem os parâmetros de cristalinidade devido ao elevado grau de dispersão da MOM no sistema. A incorporação de RIFA no sistema (amostra PVAM1R) diminuiu atipicamente o grau de cristalinidade sem alteração da  $T_m$  . O mesmo comportamento em relação ao grau de cristalinidade da amostra PVAM5R observa-se para a amostra PVAM5, sem alteração significativa da  $T_m$  em função da ausência de RIFA na amostra.

A Figura 5.22 mostra as curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA.

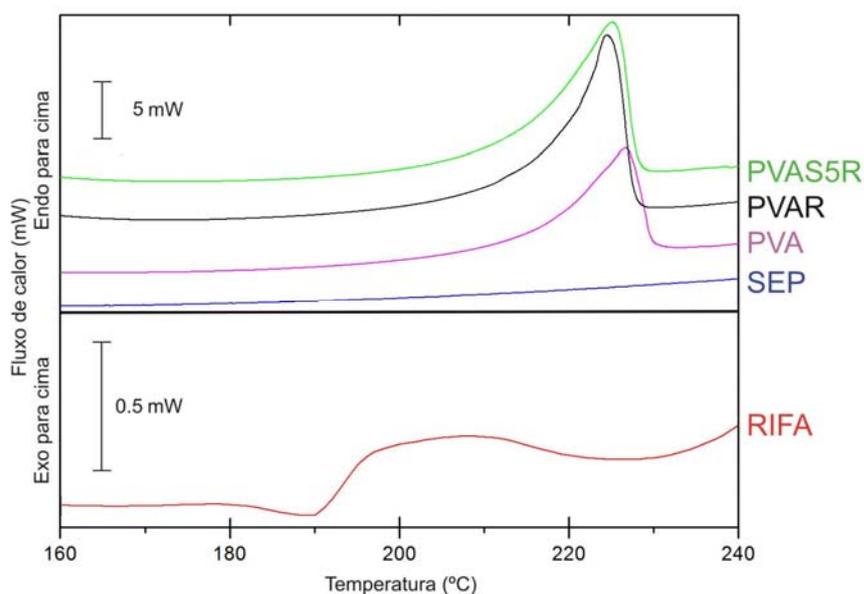


Figura 5.22. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA

A partir da Figura 5.22, observa-se que a presença de RIFA (amostra PVAR) e de RIFA e SEP (amostra PVAS5R) causa leve deslocamento dos picos endotérmicos de fusão cristalina do PVA para temperaturas mais baixas. Para a amostra PVAR este efeito já foi discutido acima. A temperatura de fusão de RIFA, assim como para os hidrogéis contendo MOM, coincide com a temperatura de fusão do PVA, não sendo possível associar nas curvas de DSC dos hidrogéis contendo SEP qualquer evento térmico relacionado à presença deste fármaco. A argila SEP pura na faixa de temperatura representada na Figura 5.22 não apresenta nenhum evento térmico apresentando-se graficamente na forma de platô, assim como MOM pura. Para teores maiores de SEP, ao contrário do que acontece com MOM, a SEP tem efeito de nucleação e a amostra comporta-se da mesma forma como PVAR. Este comportamento explica o aumento observado no grau de cristalinidade da amostra PVAS5R (o grau de cristalinidade da matriz em relação ao PVA aumentou de 37 para 42 %).

Com o objetivo de visualizar todas as curvas de DSC de todos os hidrogéis preparados para a série utilizando a argila SEP tem-se a Figura 5.23 a qual apresenta as curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP com ou sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA.

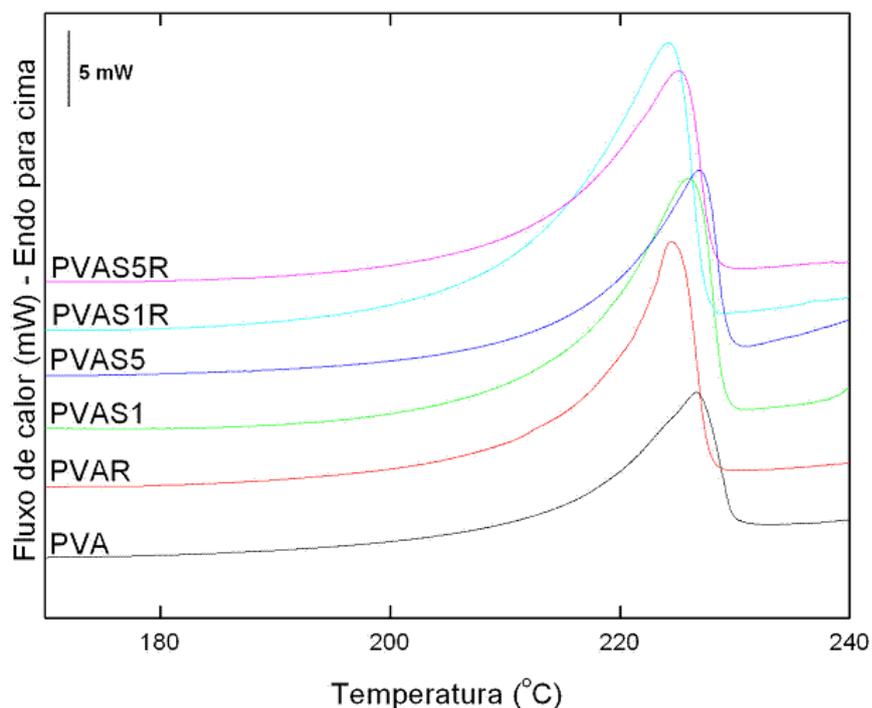


Figura 5.23. Curvas de DSC dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização

Um pequeno teor de SEP (amostra PVAS1) não altera significativamente o aspecto gráfico da curva de DSC em relação ao PVA e nem os parâmetros de cristalinidade devido ao elevado grau de dispersão da SEP no sistema. O mesmo comportamento em relação ao grau de cristalinidade e valor de  $T_m$  da amostra PVAS5R observa-se para a amostra PVAS1R. A amostra PVAS5 apresentou maior grau de cristalinidade, sem mudança na  $T_m$  em função do efeito de nucleação da sepiolita nesta concentração. Resultados similares foram reportados na literatura para nanocompósitos de polipropileno/sepiolita (Ma, 2007)

#### 5.2.2.4. Análise dinâmico-mecânica – DMA

A Tabela 5.9 mostra os valores de  $T_g$  (alfa e beta) obtidos a partir da relaxação dinâmico-mecânica das amostras dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila. Os espectros de relaxação dinâmico-mecânica das amostras encontram-se no Anexo F.

Tabela 5.9. Resultados de  $T_g$  (alfa e beta) obtidos por DMA das amostras nanocompósitos de PVA/argila.

Amostra	$T_\alpha$ (°C)	$T_\beta$ (°C)
PVA	60,72	-12,12
PVAR	63,37	- 11,72
PVAM1	59,92	-15,97
PVAM5	58,86	-13,98
PVAM1R	18,66	-23,13
PVAM5R	10,70	NV
PVAS1	18,94	NV
PVAS5	15,94	NV
PVAS1R	22,60	NV
PVAS5R	23,43	NV

\*NV = valor não visualizado

O PVA apresenta duas relaxações características,  $\alpha$  e  $\beta$ . A relaxação  $\alpha$  é característica dos movimentos micro-brownianos e cooperativos de segmentos da cadeia polimérica na fase amorfa, correspondendo a relaxação segmental associada à transição vítrea. De fato, PVA apresenta um destacado pico centrado a 60°C, que corresponde à temperatura de transição vítrea. Um pico secundário de baixa intensidade na região de -12°C caracteriza a transição  $\beta$ , que está normalmente associada aos movimentos de rotação/vibração do grupo lateral hidroxila. Entretanto, a transição  $\beta$  observada para as amostras estudadas situa-se a uma faixa de temperatura menor do que a reportada na literatura para o PVA ( $\approx 35^\circ\text{C}$ ) (McCrum, 1991). Este efeito pode ser o resultado da presença de umidade nas amostras investigadas. A transição se caracterizaria, portanto, como sendo o modo de rotação/vibração dos grupos hidroxilas conectados às moléculas de água ao redor da cadeia principal. Shafee e Naguib (Shafee, 2003) e Cendoya e colaboradores relataram o mesmo comportamento da transição  $\beta$  para matrizes de PVA com diferentes graus de reticulação e contendo nanopartículas de  $\text{CoFe}_2\text{O}_4$ , respectivamente (Cendoya, 2001).

De acordo com a Tabela 5.9 nota-se pequena variação dos valores de  $T_g$  para as amostras de PVAR, PVAM1 e PVAM5 em relação à amostra PVA. A incorporação de RIFA (amostra PVAR), e na concentração sugerida neste trabalho, desloca a  $T_g$  para uma maior temperatura indicando que a incorporação deste fármaco leva a uma restrição na

mobilidade segmental das cadeias do PVA. Esta restrição pode ser resultado de interações entre o PVA e o fármaco. Além disso, o elevado volume hidrodinâmico da rifampicina, associado a uma possível interação colaboraria para elevar a rigidez da cadeia polimérica.

O efeito da incorporação de MOM sobre a  $T_g$  de hidrogéis nanocompósitos é caracterizada pelo discreto aumento da  $T_g$  para menores teores de argila, seguido da diminuição na  $T_g$  para maiores teores de argila.

O aumento no grau de interação PVA/MOM eleva a quantidade de cadeias poliméricas que não cristalizam, aumentando o volume livre na interface PVA/MOM, causando a diminuição de  $T_g$ . Este comportamento foi observado por vários autores no tocante a sistemas nanocompósitos baseados em PVA (Silva, 2007; Bandi, 2006; Bandyopadhyay, 2005; Ogata, 1997).

Em nosso estudo observamos que quanto maior a concentração de MOM sugeridas neste trabalho e incorporadas nos sistemas (amostras PVAM1 e PVAM5) maior o deslocamento da  $T_g$  para um menor valor de temperatura indicando que a interface PVA-MOM apresenta um aumento no volume livre local, que corresponde a um aumento na dinâmica molecular das cadeias de PVA, resultando em uma diminuição da  $T_g$  observada (Bandi, 2006).

Pode-se observar também na Tabela 5.9 uma diminuição significativa dos valores de  $T_g$  para as amostras PVAM1R, PVAM5R, PVAS1, PVAS5, PVAS1R e PVAS5R.

Quanto maior a concentração de SEP sugeridas neste trabalho incorporadas aos sistemas, (amostras PVAS1 e PVAS5), mais evidente é o deslocamento da  $T_g$  para um menor valor de temperatura indicando que a interface PVA-SEP, de forma mais expressiva que para PVA-MOM, apresenta um aumento significativo no volume livre local e conseqüentemente na dinâmica molecular das cadeias de PVA. Este comportamento pode estar associado ao elevado fator de forma da sepiolita, que resultaria em uma distribuição de tamanhos de volume livres maiores que o observado para a MOM.

A simples presença de RIFA nos sistemas contendo MOM (amostras PVAMR1 e PVMR5) diminuiu significativamente o valor de  $T_g$  em relação aos mesmos sistemas sem carga de fármaco o que sugere que a presença simultânea de MOM/RIFA causa um considerável aumento no volume livre dos hidrogéis nanocompósitos PVA/MOM/RIFA.

Por outro lado, a presença de RIFA nos sistemas contendo SEP (amostras PVASR1 e PVSR5) aumentou discretamente os valores de  $T_g$  em relação aos mesmos sistemas sem carga de fármaco. Sugere-se que a presença de RIFA leva, assim como

para a amostra de PVAR, a uma restrição na mobilidade segmental das cadeias do PVA, porém em função da presença simultânea de SEP, os valores de  $T_g$  mantêm-se ainda assim baixos.

#### 5.2.2.5. Parâmetros de rede

Os valores de massa molecular média entre reticulações e o tamanho de malha das amostras são apresentados na Tabela 5.10.

Tabela 5.10. Valores de  $\overline{M}_c$  e tamanho de malha para os diversos hidrogéis

Amostra	$\overline{M}_c$ (g/mol)	$\xi$ (Å)
PVA	11528	189
PVAR	11599	192
PVAM1	11939	195
PVAM5	6803	138
PVAM1R	5324	117
PVAM5R	3697	94
PVAS1	19392	263
PVAS5	10041	175
PVAS1R	17384	243
PVAS5R	13524	209

O tamanho de malha pode dar uma idéia do espaço disponível para a difusão do soluto no hidrogel (Ende,1995), portanto quanto maior o tamanho de malha maior será o teor de água presente na rede o que pode permitir uma melhor difusão do soluto incorporado, no nosso caso rifampicina. Da Tabela 5.10 observamos valores de tamanho de malha muito próximos para as amostras PVA, PVAR e PVAM1, ou seja, a incorporação de rifampicina ou a menor concentração de MOM não alteram este parâmetro. Um maior teor de MOM (amostra PVAM5) diminui o tamanho de rede em função do provável empacotamento das cadeias poliméricas impostas pela presença de um maior teor da argila. A incorporação de rifampicina nos sistemas PVA/MOM diminui ainda mais o tamanho de malha, possivelmente em função do caráter hidrofóbico deste fármaco que dificulta a difusão de água na rede polimérica quando associado a esta argila. Para as amostras contendo SEP o perfil foi diferente onde a menor concentração

de SEP incorporada (amostra PVAS1) proporcionou um aumento significativo do tamanho de malha em relação ao PVA, já um maior teor de SEP reduziu o tamanho de malha possivelmente em função de um maior empacotamento das cadeias poliméricas impostas pela presença de um maior teor de SEP e também seu efeito de forma. A incorporação de rifampicina no sistema PVA/SEP diminui o tamanho de malha somente para a amostra com o menor teor de sepiolita (PVAS1R), possivelmente em função do caráter hidrofóbico deste fármaco, conforme já discutido acima para as amostras contendo MOM. Entretanto, a amostra PVAS5R, apresenta um considerável desvio deste perfil, pois o tamanho de malha aumenta em relação ao PVA e PVAS5 com a incorporação do fármaco.

O tamanho de malha das amostras contendo RIFA (PVAR, PVAM1R, PVAM5R, PVAS1R e PVAS5R) se relacionam com a previsão de desempenho de dissolução obtida no item 5.2.2.9, onde a o hidrogel carregado de fármaco com o maior teor de MOM (menor tamanho de malha) é o que apresenta a pior cinética de dissolução e o hidrogel carregado de fármaco com o menor teor de SEP (maior tamanho de malha entre as amostras carregadas de fármaco) apresenta a melhor cinética de dissolução.

#### *5.2.2.6. Medidas de inchamento*

As Figuras 5.24 e 5.25 representam as curvas cinéticas do intumescimento dos diferentes hidrogéis de PVA produzidos, contendo ou não as argilas MOM (PVAM1, PVAM5) e SEP (PVAS1 e PVAS5) e o fármaco de interesse do trabalho (PVAR, PVAM1R, PVAM5R, PVAS1R e PVAS5R)).

Ambas as Figuras mostram um comportamento similar dos hidrogéis no intumescimento, caracterizado por uma absorção rápida nos primeiros 15 minutos, estabilizando-se a seguir e mantendo-se estável até o final dos testes realizados (60 minutos).

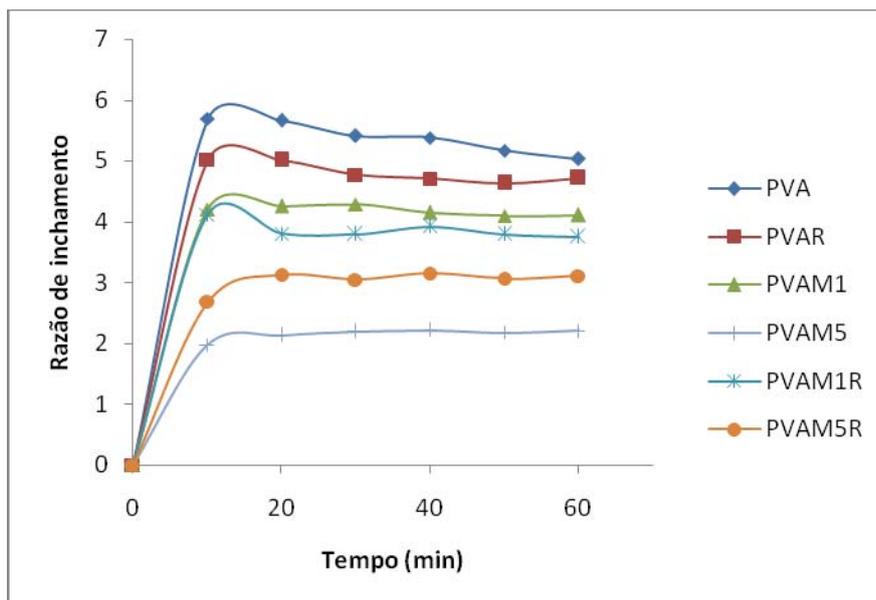


Figura 5.24. Cinética do intumescimento dos hidrogéis de PVA em pH 7,4 à 30°C contendo MOM, na presença ou não do fármaco RIFA.

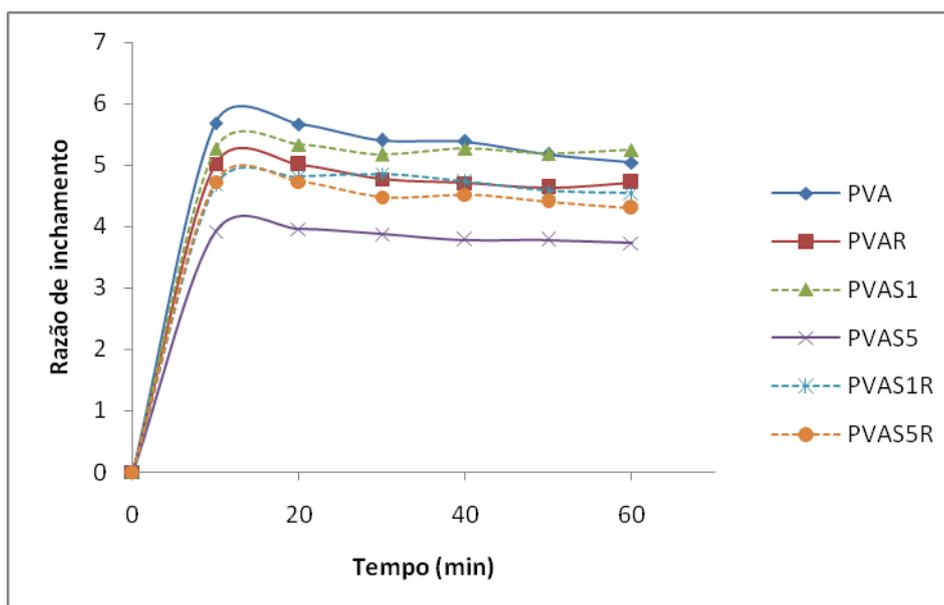


Figura 5.25. Cinética do intumescimento dos hidrogéis de PVA em pH 7,4 à 30°C contendo SEP, na presença ou não do fármaco RIFA.

As quantidades máximas de água absorvida, correspondentes ao platô das curvas obtidas estão representadas na Figura 5.26, normalizadas em relação ao teor de PVA nos filmes. Os dados mostram que a capacidade de absorção dos hidrogéis variam de 2,6 à 6,0, em função do tipo de carga usada (argila MOM ou SEP) e da sua concentração (0,9

ou 4% p/p) como também da presença do fármaco (RIFA). Na maioria dos casos, a incorporação das argilas e do fármaco reduziu a capacidade de absorção de água dos novos hidrogéis em comparação à capacidade de um hidrogel de PVA puro, mesmo levando-se em conta a massa de PVA presente nos filmes (normalização).

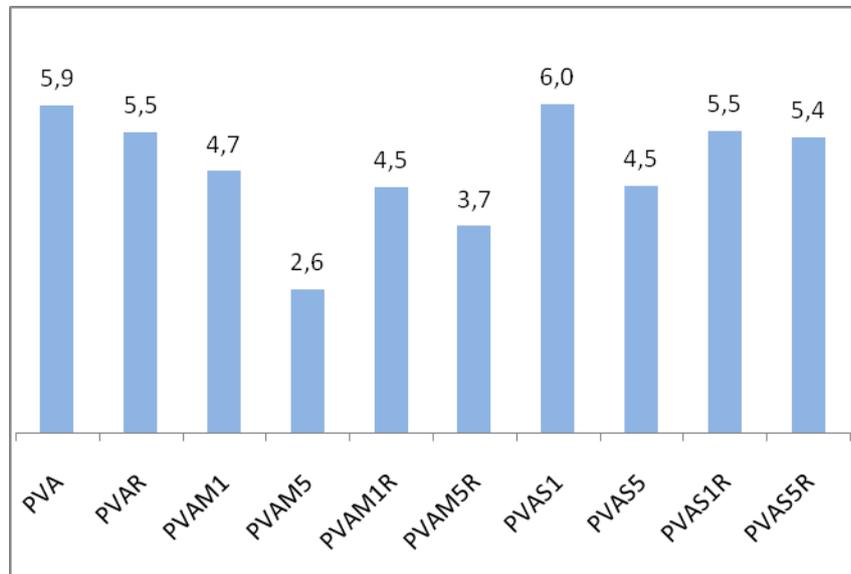


Figura 5.26. Capacidade máxima de absorção de água pelos hidrogéis normalizado em relação à massa de PVA (massa absorvida/massa de PVA nos filmes).

Para efeito de comparação direta do efeito das cargas ou do fármaco na capacidade de absorção de água dos hidrogéis, a Figura 5.27 reapresenta os dados na forma de percentual de redução da capacidade de absorção de água dos hidrogéis em relação a um hidrogel de PVA puro. A Figura 5.27 mostra que:

- a incorporação da argila MOM tem grande impacto na capacidade de absorção de água dos hidrogéis, sendo a capacidade reduzida de 20% até 56,3% com o aumento de MOM de 0,9% para 4 %p/p.
- a incorporação de SEP teve menor efeito nesta propriedade dos hidrogéis, sendo o efeito de redução (24,5%) observado apenas para a maior concentração de argila utilizada.
- a incorporação do fármaco também alterou esta propriedade dos filmes constituídos majoritariamente de PVA (redução de 8% apenas com a incorporação do fármaco).

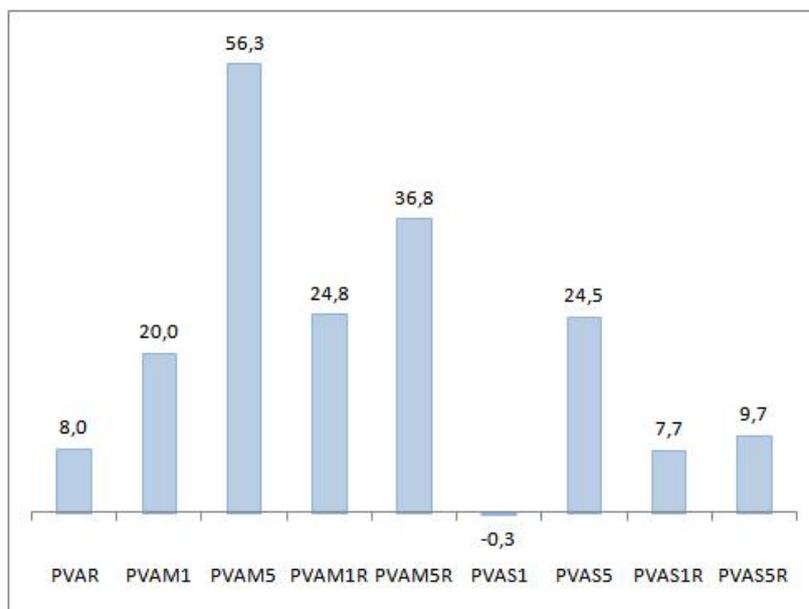


Figura 5.27. Redução da capacidade de absorção de água dos hidrogéis (%) com relação à capacidade de absorção de água de hidrogéis puros de PVA.

#### 5.2.2.7. Quantidade de PVA liberada dos hidrogéis.

A estabilidade dos hidrogéis foi avaliada determinando-se a quantidade de PVA que se desprende do filme em imersão do mesmo em meio aquoso durante um determinado período de tempo. A quantidade de PVA presente no meio aquoso foi então determinada (espectrometria no UV-visível, à 670 nm) e, através destas medidas, qualifica-se a estabilidade do filme em meio aquoso ou sua “capacidade de retenção polimérica” como descrito na literatura (Silva, 2007) : em um gel polimérico inchado, as cadeias poliméricas apresentam elevada mobilidade molecular devido ao efeito plastificante do solvente, mesmo estando o gel à temperaturas abaixo de sua transição vítrea. Esta mobilidade molecular efetivamente conduz as cadeias ao processo de reptação no interior do gel. De uma forma geral, se as cadeias não constituem parte da rede reticulada, em algum momento esta sairá do gel, alcançando a solução. Portanto, medindo-se o teor de polímero liberado no solvente a partir do hidrogel, qualifica-se a capacidade de retenção da microestrutura dos hidrogéis. A Figura 5.28 apresenta os dados obtidos relativos a este teste de estabilidade dos diferentes hidrogéis obtidos.

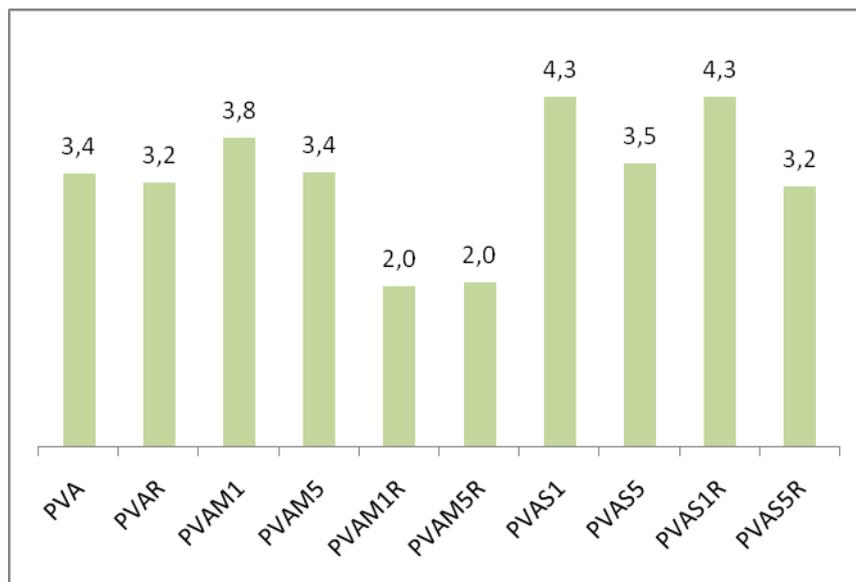


Figura 5.28. Quantidade de PVA desprendida dos hidrogéis imersos em água durante 24 horas (% em massa).

A perda é da ordem de 2 a 4,3%, comparável a dados de literatura : Hassan e co-autores reportaram a liberação de cerca de 2,5% de PVA a partir de criogéis de PVA utilizados na liberação de BSA (Hassan, 2000). De modo semelhante, Cascone e colaboradores calcularam em 3% e em 2% a perda de PVA a partir de criogéis de PVA contendo quitosana e dextrana, respectivamente (Cascone, 1999).

#### 5.2.2.8. Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila

A Tabela 5.11 mostra os resultados de teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila obtidos por espectrofotometria de UV-Vis.

Tabela 5.11. Resultados de Teor de rifampicina nos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA

Amostra	Teor (%p/p)	Desvio padrão
PVAR	2,47	0,0056
PVAM1R	2,52	0,0193
PVAM5R	2,87	0,0881
PVAS1R	2,55	0,0372
PVAS5R	2,43	0,1019

Os teores encontram-se entre 2,4 e 2,9 % p/p, o que bem corresponde ao valor teórico de rifampicina incorporada em peso seco em torno de 2,5 % p/p conforme descrito na Tabela 4.1.

#### 5.2.2.9. – Perfil cinético de dissolução (*in vitro*) dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila

A Figura 5.29 mostra curvas de dissolução representado duas cinéticas diferentes: nos primeiros 10 minutos, cerca de 80-82% de rifampicina são liberados dos hidrogéis de PVA e de PVA com SEP. Decorrido este período, a rifampicina continua sendo liberada dos filmes bem mais lentamente nos tempos subsequentes. No caso dos filmes estruturados com MOM, a liberação ocorre da mesma forma (2 fases de velocidades distintas) mas no final da primeira fase com uma liberação de cerca de 71% para a menor concentração de MOM (PVAM1R), patamar que foi reduzido para cerca de 60% com o aumento da concentração de MOM na formulação (PVAM5R). A Figura 5.30 ilustra este comportamento apresentando as quantidades de rifampicina liberadas nos primeiros 10 min e após 60 min.

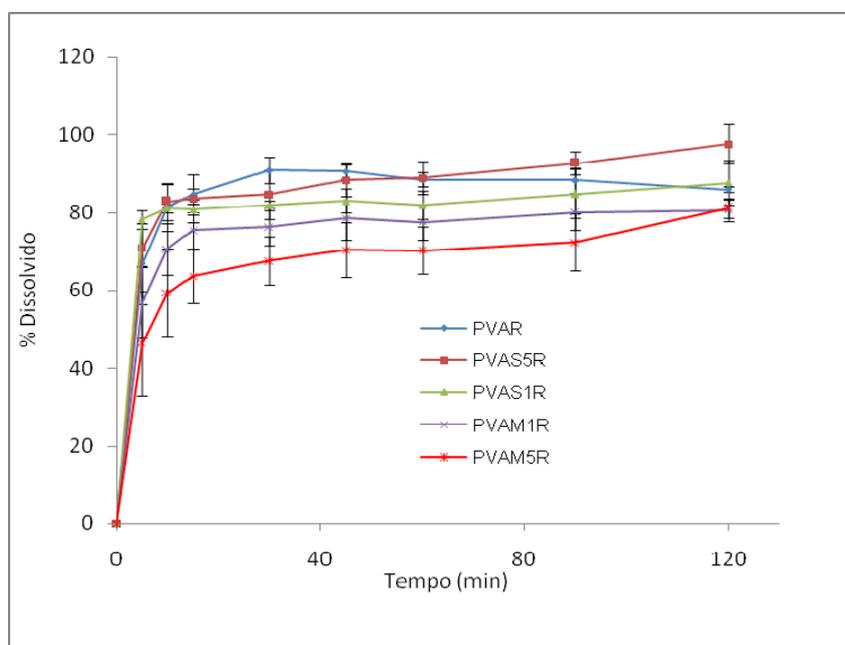
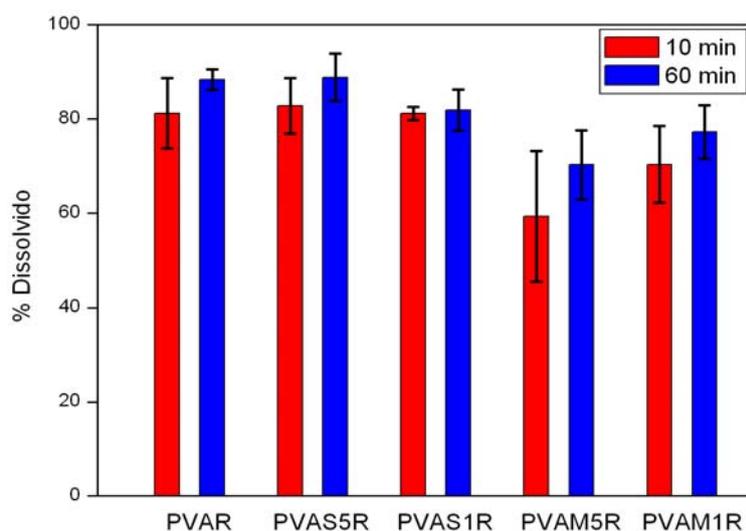


Figura 5.29. Perfil cinético de dissolução da rifampicina a partir dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.



A Figura 5.30. % Dissolvido de rifampicina a partir dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA após 10 e 60 min de contato com o meio de dissolução (ensaio *in vitro*)

A avaliação da cinética permite conclusões a respeito do processo de dissolução de determinada formulação, uma vez que possibilita conhecer: (i) a velocidade do processo; (ii) a quantidade máxima dissolvida e (iii) os pontos nos quais podem ocorrer mudanças significativas da dissolução (Marcolongo, 2003; Abdou, 1995; Dokoumetzidis, 2006). Para o estudo da cinética de dissolução deste trabalho, foram aplicados os modelos citados na Tabela 4.2 para dois conjuntos de dados. O primeiro levando-se em conta os dados de liberação até os primeiros 10 minutos de experimento (C1) e o segundo com os dados de tempos subsequentes (C2). Outros parâmetros relativos à cinética de dissolução como constante de velocidade de dissolução ( $k$ ), meia-vida de dissolução ( $t_{50\%}$ ) e porcentagem liberada em 10 min ( $Q_{10}$ ), estes dois últimos somente calculados para o grupo C1, também foram determinados. A Tabela 5.12 mostra o ajuste destes três modelos para os dados experimentais da Figura 5.30 e para os dois conjuntos de dados estudados (C1 e C2). Sugere-se que o modelo de Higuchi é o mais adequado para representar a cinética de dissolução dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila (coeficientes de correlação da ordem de 0,932 à 0,993 para C1 e da ordem de 0,932 à 0,994 para C2). No entanto, no caso das amostras de hidrogel PVAS1R e PVAR do grupo C2, o resultado não é satisfatório (coeficiente de correlação de 0,811 e 0,891,

respectivamente), ou seja, o modelo não é aplicável. O ajuste do modelo de Higuchi sugere que a etapa de dissolução da matriz polimérica dos hidrogéis e a difusão do fármaco através dos poros gerados é o mecanismo limitante da fração de rifampicina que é solubilizada no meio de dissolução.

Tabela 5.12. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação (r) para os hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA

Amostra	Grupo estudado*	Modelo de liberação		
		Primeira ordem	Higuchi	Hixson-Crowell
PVAR	C1	0,967	0,984	0,927
	C2	0,817	0,891	0,818
PVAM1R	C1	0,954	0,988	0,920
	C2	0,963	0,932	0,967
PVAM5R	C1	0,952	0,993	0,924
	C2	0,978	0,994	0,976
PVAS1R	C1	0,816	0,932	0,761
	C2	0,866	0,811	0,872
PVAS5R	C1	0,949	0,975	0,901
	C2	0,983	0,986	0,991

\*C1 = conjunto de dados levando-se em conta os primeiros 10 minutos de liberação do experimento.  
C2 = conjunto de dados levando-se em conta os dados de tempos subseqüentes.

Matematicamente, o modelo de Higuchi descreve o mecanismo de liberação dos fármacos como um processo de difusão fundamentado na 1ª lei de difusão de Fick, dependente da raiz quadrada do tempo, representada como  $M = kt^{1/2}$  nas Figuras 5.31 e 5.32, onde M é a quantidade total de material liberado no tempo t, e k é a constante cinética de liberação. A partir do modelo de Higuchi e das Figuras 5.31 e 5.32 foram determinados os parâmetros cinéticos descritos na Tabela 5.13.

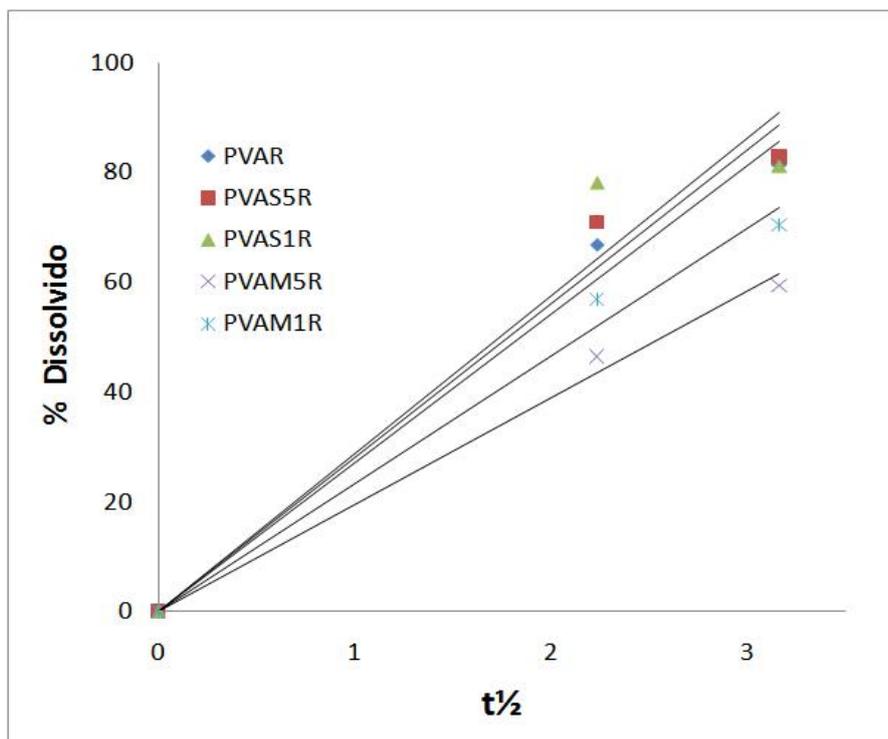


Figura 5.31. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA (grupo C1).

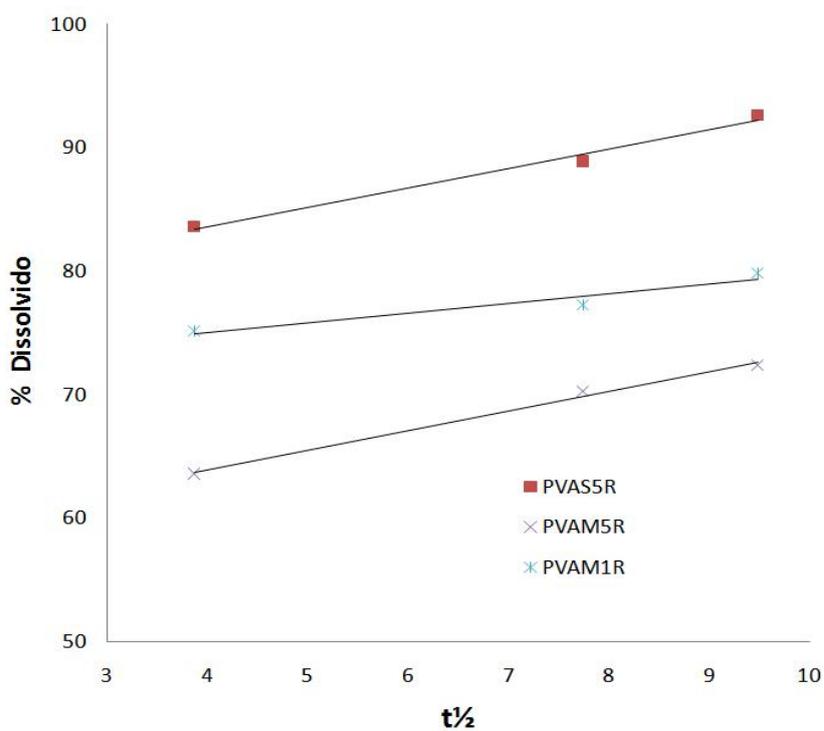


Figura 5.32. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA (grupo C2).

Tabela 5.13. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Higuchi dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/argila/RIFA.

Amostra	Grupo estudado*	k (min <sup>-1/2</sup> )	t <sub>50%</sub> (min)	Q <sub>10</sub> (%)	Equações de regressão **
PVAR	C1	27,08	3,41	85,63	y = 27,08x
PVAM1R	C1	23,28	4,58	73,87	y = 23,28x
	C2	0,78	-	-	y = 0,784x + 71,87
PVAM5R	C1	19,42	6,63	61,41	y = 19,42x
	C2	1,59	-	-	y = 1,588x + 57,56
PVAS1R	C1	28,74	3,02	90,95	y = 28,76x
PVAS5R	C1	28,00	3,19	88,54	y = 28,00x
	C2	1,57	-	-	y = 1,568x + 77,32

k = constante de velocidade de dissolução.

t<sub>50%</sub> = meia-vida de dissolução, ou seja, tempo no qual se dissolvem 50% da rifampicina.

Q<sub>10</sub> = quantidade de rifampicina dissolvida aos 10 minutos.

\*C1 = conjunto de dados levando-se em conta os primeiros 10 minutos de liberação do experimento.

C2 = conjunto de dados levando-se em conta os dados de tempos subsequentes.

\*\* x = t<sup>-1/2</sup> e y = % Dissolvido de rifampicina.

Analisando os valores de k, t<sub>50%</sub> e Q<sub>10</sub> para o grupo C1, observa-se para as amostras de hidrogel PVA/argila/RIFA a seguinte ordem de desempenho de dissolução:

$$k_{PVAM5R} < k_{PVAM1R} < k_{PVAR} < k_{PVAS5R} < k_{PVAS1R}$$

—————→  
melhor dissolução

Para o grupo C2 observa-se valores bem baixos de k o que condiz com perfil cinético de dissolução da rifampicina demonstrado na Figura 5.29, pois atinge-se o patamar da liberação onde o percentual dissolvido de rifampicina é praticamente constante ao longo do tempo e a velocidade de dissolução é lenta, não permitindo grandes diferenciações entre as amostras.

A Figura 5.33 apresenta os dados cinéticos obtidos experimentalmente para as formulações de maior concentração de argila, PVAS5R, em comparação aos dados calculados a partir das equações de Higuchi (Tabela 5.13). Nota-se a boa previsão da

quantidade de rifampicina dissolvida a partir destas formulações por este modelo matemático para os dois grupos de tempos estudados.

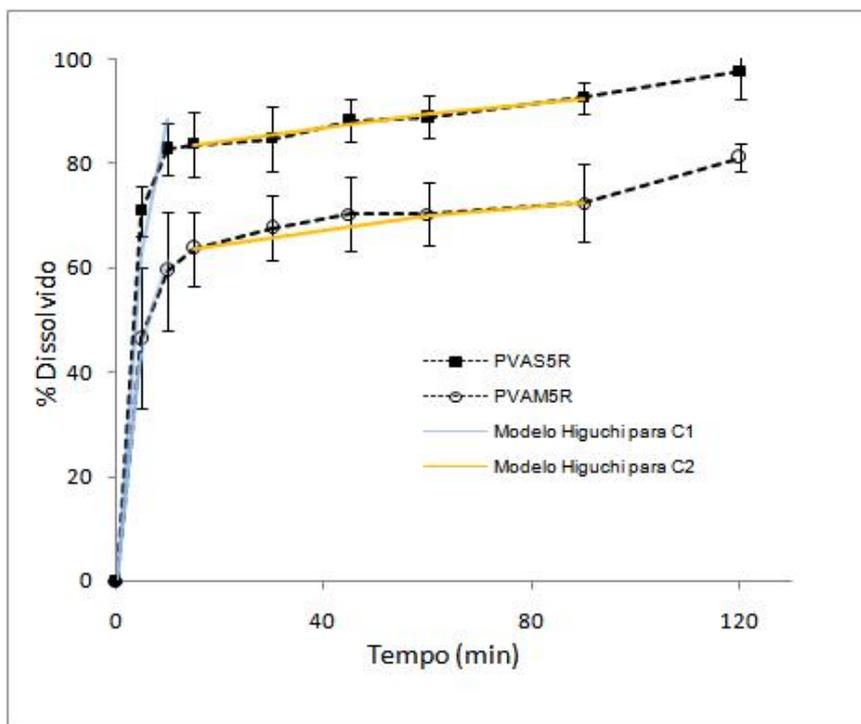


Figura 5.33. Comparação entre as curvas cinéticas experimentalmente obtidas e curvas calculadas pelo modelo de Higuchi para os grupos C1 e C2.

### 5.3. Preparação e caracterização das partículas híbridas obtidas por *spray-drying*

#### 5.3.1. Rendimento do processo

A Tabela 5.14 mostra os baixos rendimentos dos experimentos realizados por *spray-drying*. Para o tipo de equipamento utilizado (de bancada) é comum baixos níveis de rendimento (20 – 50%) devido sua geometria não ser otimizada para níveis elevados de produção. A otimização da produção não foi o foco deste trabalho.

Tabela 5.14. Rendimentos do processo de *spray-drying*.

Amostra	% p/p *
PVA	33,3
PVAR	27,8
PVAM1	29,2
PVAM5	37,7
PVAM1R	21,9
PVAM5R	28,7
PVAS1	16,8
PVAS5	20,7
PVAS1R	34,1
PVAS5R	34,8

\*n = 1

### 5.3.2. Caracterização das suspensões

#### 5.3.2.1. Viscosidade

O comportamento reológico de uma suspensão pode ser bastante influenciado pelos parâmetros físicos e químicos da suspensão tais como pH, forma e distribuição de tamanho das partículas e espécies envolvidas. A avaliação do comportamento reológico de suspensões é de grande importância no processamento por *spray-drying* uma vez que possibilita um melhor controle da operação de nebulização. Neste trabalho, avaliou-se este comportamento pela análise da viscosidade das diferentes suspensões formuladas. Os resultados da análise de viscosidade das suspensões diluídas encontram-se na Tabela 5.15, enquanto as Figuras, 5.34 e 5.35, ilustram o perfil reológico destas suspensões através do gráfico de tensão de cisalhamento *versus* velocidade de cisalhamento.

Tabela 5.15. Resultados de viscosidade das suspensões diluídas de nanocompósitos de PVA/argila.

Amostra	Viscosidade (cP)	Desvio padrão
PVA	7,5	0,42
PVAR	7,0	0,56
PVAM1	7,8	0,56
PVAM5	6,6	0,58
PVAM1R	6,9	0,53
PVAM5R	7,0	0,65
PVAS1	7,1	0,67
PVAS5	7,1	0,89
PVAS1R	7,7	1,14
PVAS5R	7,6	0,99

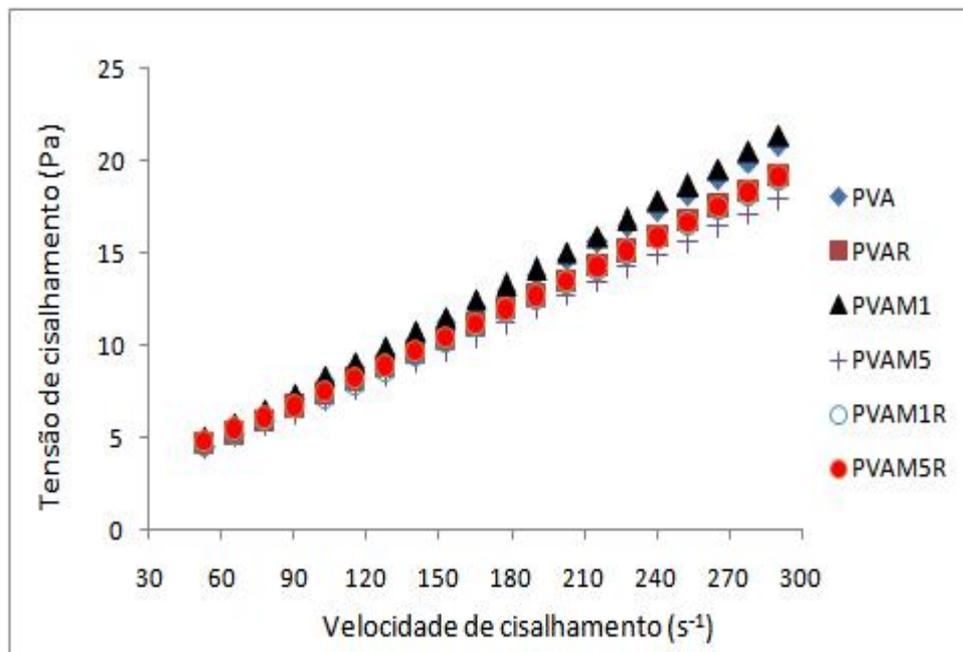


Figura 5.34. Perfil reológico das suspensões diluídas de PVA/MOM. Cada curva é a média das análises realizadas.

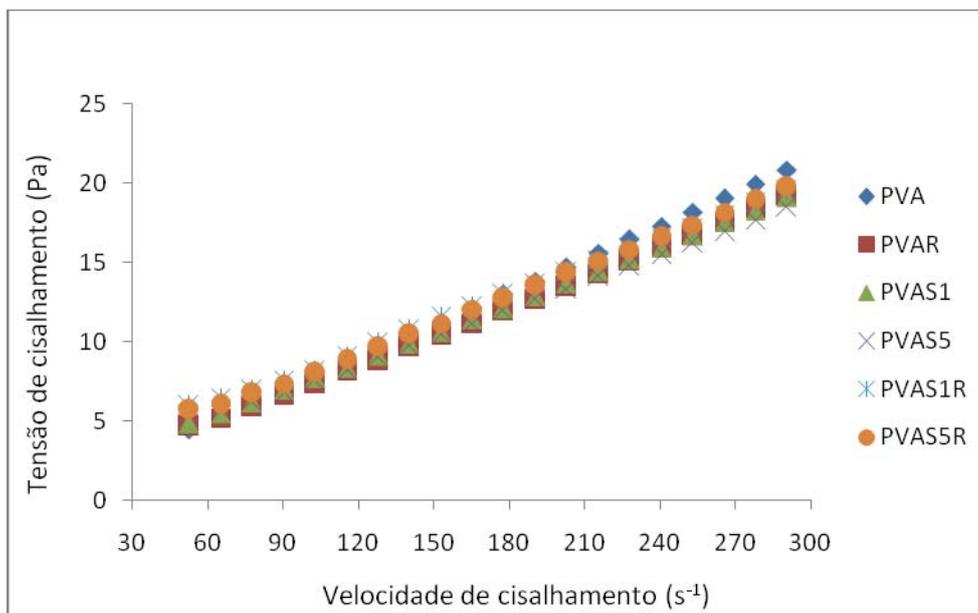


Figura 5.35. Perfil reológico das suspensões diluídas de PVA/SEP . Cada curva é a média das análises realizadas.

A diluição 1:1 com água das suspensões diminuiu significativamente a viscosidade passando as mesmas de uma faixa de viscosidade de 34 a 44 cP para a faixa de 6,6 a 7,8 cP, o que se traduz por uma viscosidade muito baixa porém ainda assim adequada para a operação de nebulização no *spray-drying*. Através das Figuras 5.34 e 5.35, vê-se que as suspensões diluídas preparadas apresentam um comportamento Newtoniano pelo fato de existir uma relação linear entre velocidade de cisalhamento e tensão de cisalhamento, ou seja, que a viscosidade mantém-se constante com a variação da velocidade de cisalhamento (Kawatra, 1996).

### 5.3.3. Caracterização das partículas híbridas de PVA/argila

#### 5.3.3.1. Morfologia

A Figura 5.36 mostra o aspecto físico das partículas híbridas obtidas da secagem das suspensões diluídas por *spray-drying*. Os pós sem carga de fármaco são brancos. Os pós contendo fármaco possuem cor laranja avermelhada. As fotos foram obtidas através de máquina fotográfica digital (modelo DSC-T70, marca Sony).

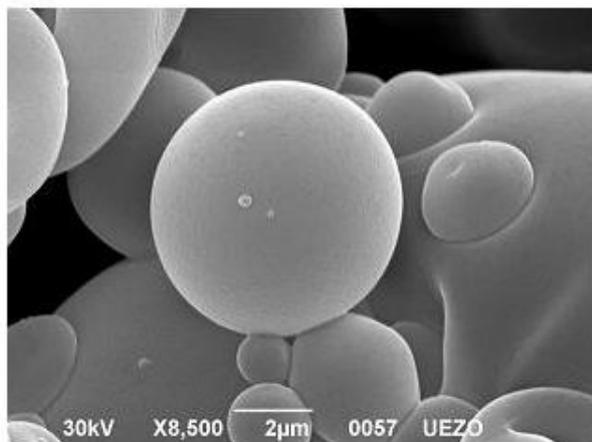


Figura 5.36– Aspecto físico das partículas híbridas obtidas da secagem das suspensões por *spray-drying*: (a) ausente de carga de fármaco e (b) e com carga de fármaco.

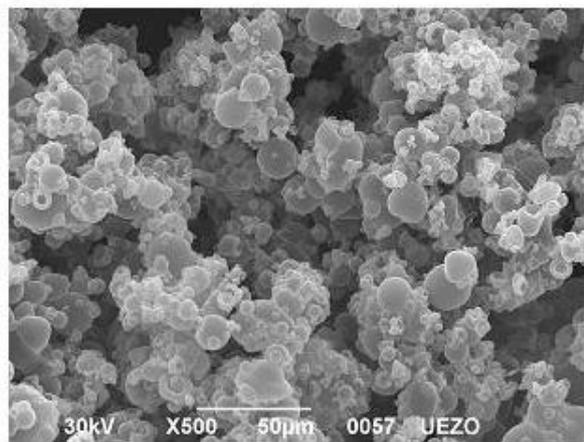
As Figuras 5.37 até 5.41 mostram as fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas obtidas por *spray-drying*.

PVAp

(a)

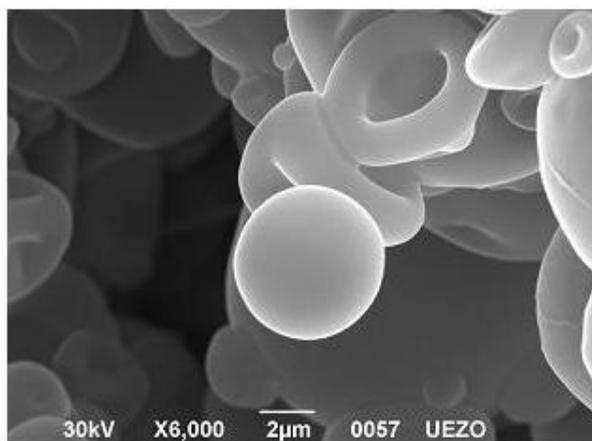


(b)



PVARp

(a)



(b)

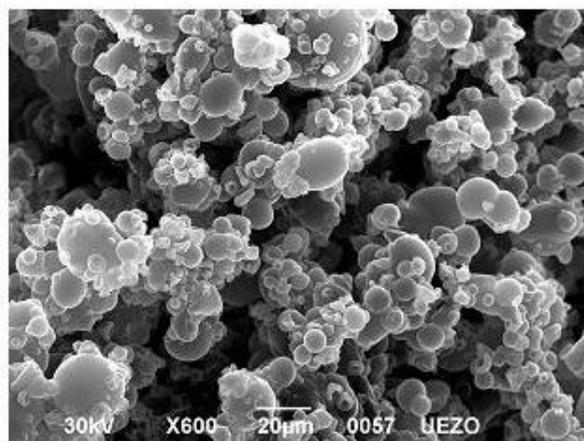
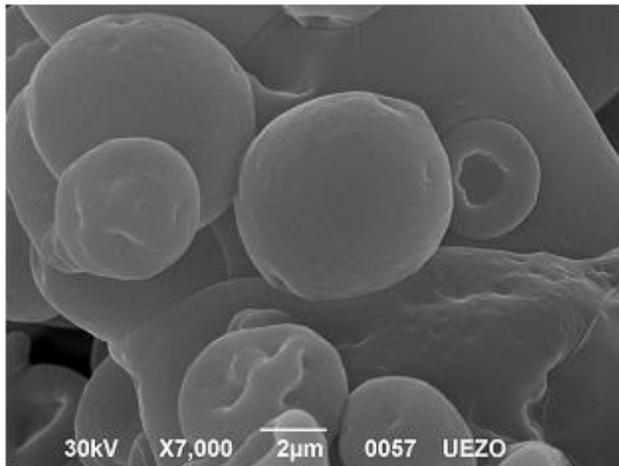


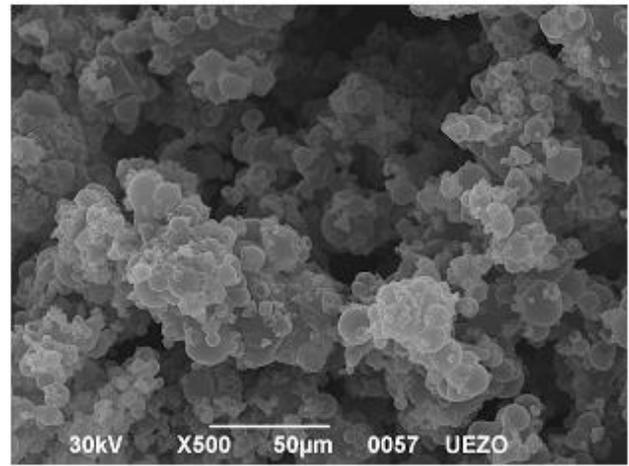
Figura 5.37. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAp e PVARp em : (a) maior e (b) menor magnificação.

PVAM1p

(a)

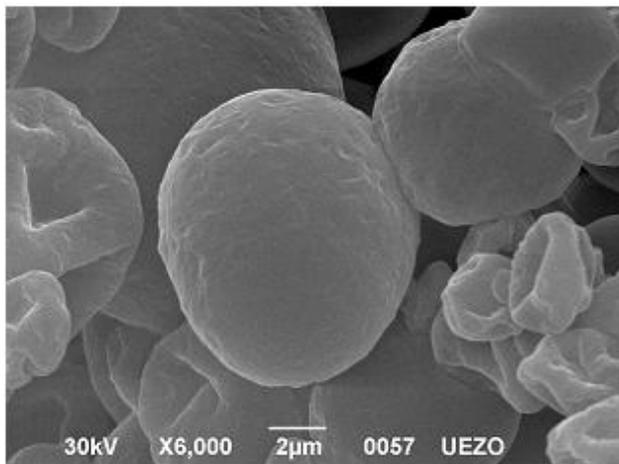


(b)



PVAM5p

(a)



(b)

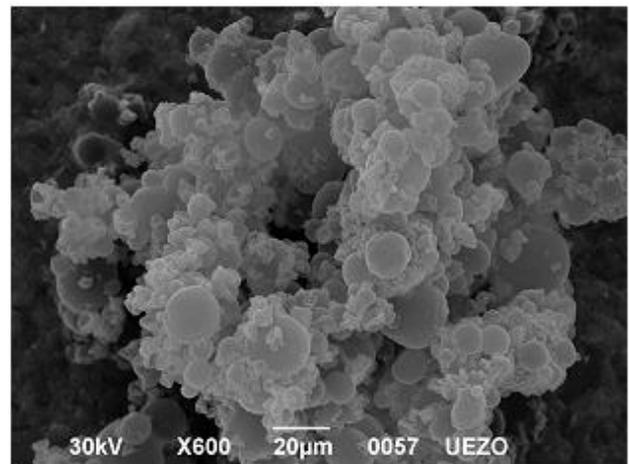
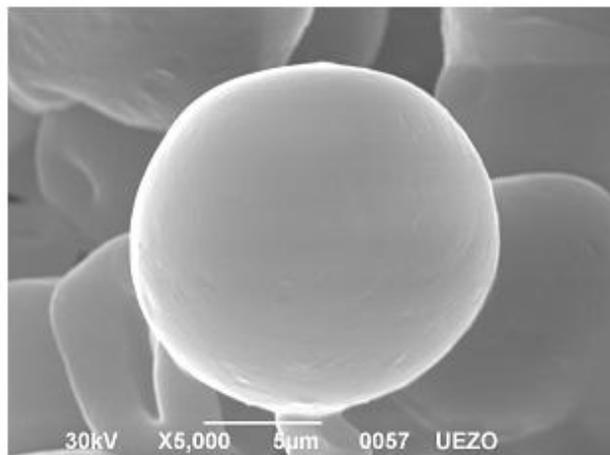


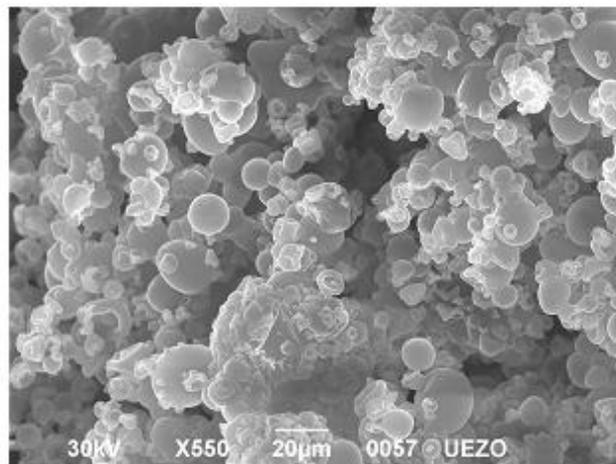
Figura 5.38. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAM1p e PVAM5p em : (a) maior e (b) menor magnificação.

PVAM1Rp

(a)

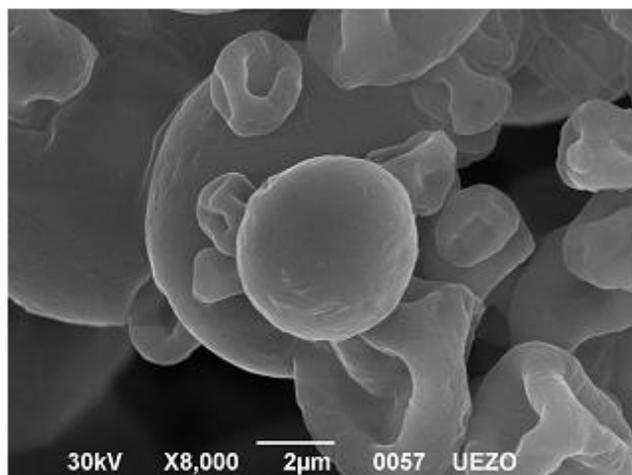


(b)



PVAM5Rp

(a)



(b)

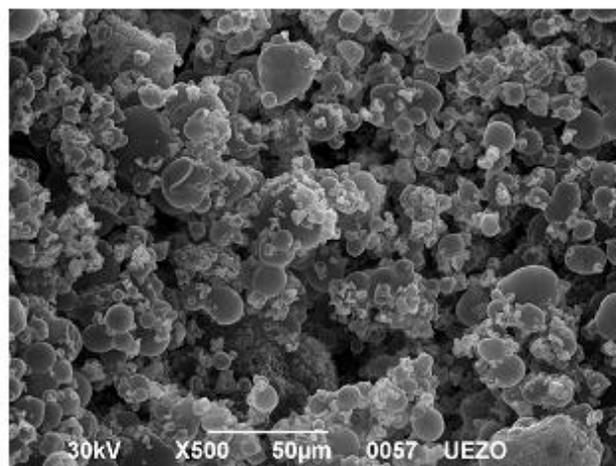
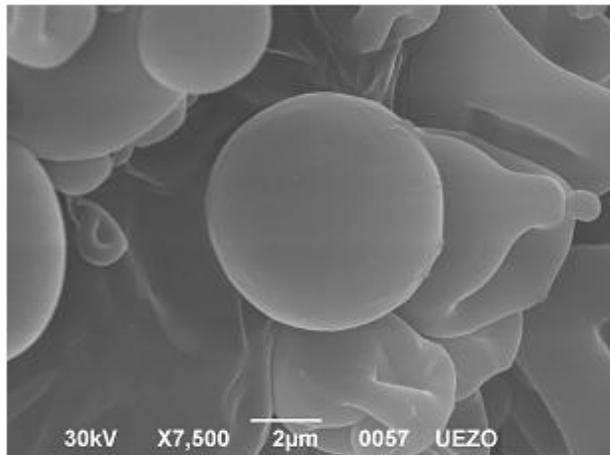


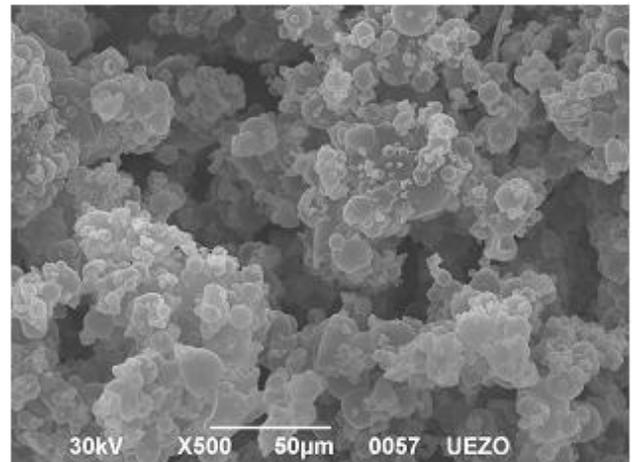
Figura 5.39. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAM1Rp e PVAM5Rp em : (a) maior e (b) menor magnificação.

PVAS5p

(a)

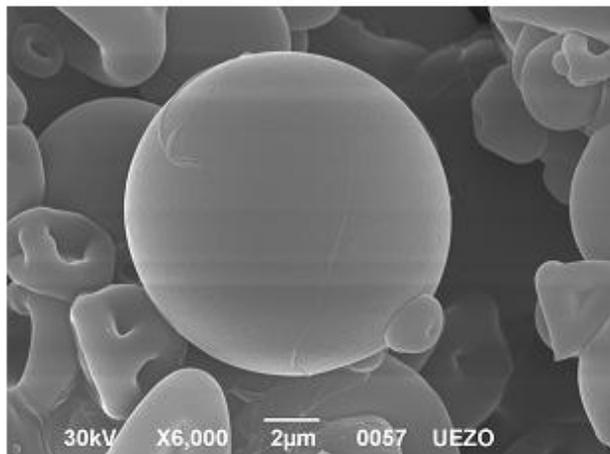


(b)



PVAS1p

(a)



(b)

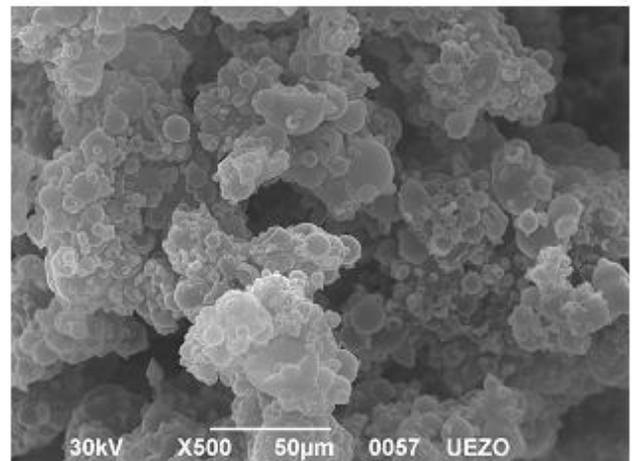
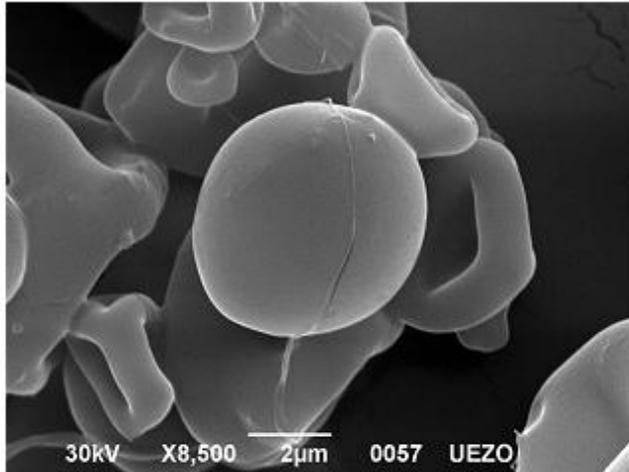


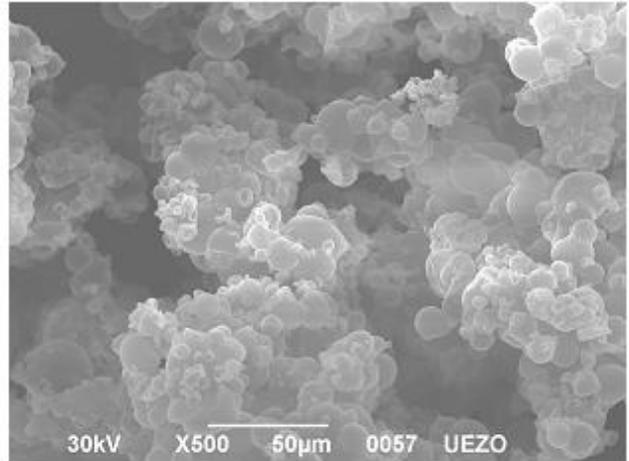
Figura 5.40. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAS5p e PVAS1p em : (a) maior e (b) menor magnificação.

PVAS5Rp

(a)

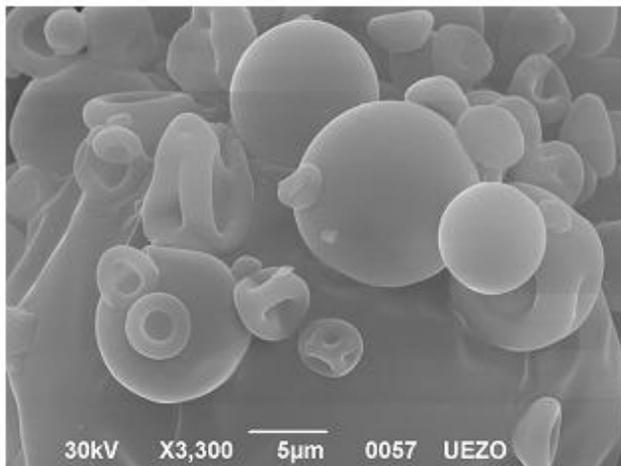


(b)



PVAS1Rp

(a)



(b)

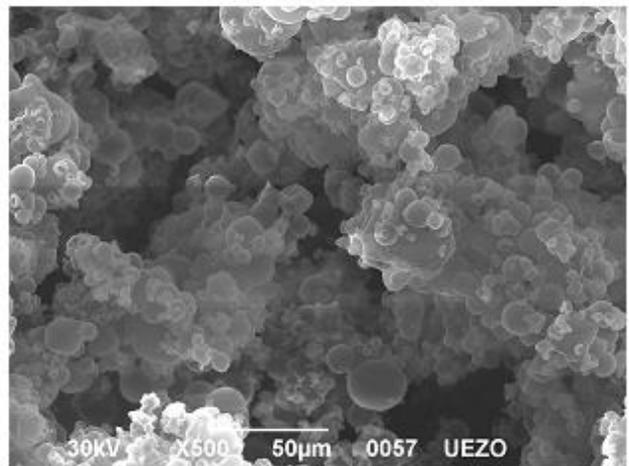


Figura 5.41. Fotomicrografias obtidas por MEV das partículas híbridas de PVAS5Rp e PVAS1Rp em : (a) maior e (b) menor magnificação.

Observa-se a presença de partículas predominantemente esféricas, de tamanhos variados, mas inferiores a 10 microns em sua maioria. Em geral, pode-se observar que o conjunto de partículas possui aspecto aglomerado e que a presença dos argilominerais não levou a alterações significativas no aspecto físico das partículas obtidas quando observamos em maior magnificação. As dimensões das partículas observadas por MEV estão consistentes com os resultados obtidos por difração a laser narrados logo abaixo.

### 5.3.3.2. Análise granulométrica

A Tabela 5.16 mostra os resultados da análise granulométrica das partículas híbridas de PVA/argila.

Tabela 5.16. Análise granulométrica das partículas híbridas de PVA/argila.

Amostras	Diâmetro das micropartículas ( $\mu\text{m}$ )				Span
	$d_{(4,3)}$	$d_{(v,0,9)}$	$d_{(v,0,5)}$	$d_{(v,0,1)}$	
PVAp	23,36	47,71	19,27	4,75	2,23
PVARp	32,07	54,41	25,39	9,55	1,77
PVAM1p	21,55	44,05	16,93	4,69	2,32
PVAM5p	27,52	51,23	16,54	4,53	2,82
PVAM1Rp	60,64	98,93	39,71	9,70	2,25
PVAM5Rp	32,62	53,99	22,18	6,10	2,16
PVAS1p	47,78	116,02	21,11	3,76	5,32
PVAS5p	31,63	69,17	18,11	4,60	3,57
PVAS1Rp	30,97	60,09	22,73	7,13	2,33
PVAS5Rp	36,70	71,64	22,41	5,86	2,94

Os diâmetros médios de partícula encontram-se entre 21 e 61  $\mu\text{m}$ . Esta variação parece estar mais intimamente ligada a tendência a aglomeração das partículas, conforme mostrado por MEV, que a um efeito direto de sua composição química.

### 5.3.3.3. Densidade de empacotamento

A Tabela 5.17 mostra os valores de densidade de empacotamento para as partículas de rifampicina formuladas com PVA e argilas. As partículas apresentam baixa densidade, da ordem de 0,06-0,10 g/ml. Nenhum efeito da formulação nesta característica dos pós é observado. Os valores de densidade das partículas são muito próximos da densidade da amostra PVA, o que se explica pela sua proporção majoritária nas formulações (> 82% em massa).

Tabela 5.17. Resultados de densidade máxima de empacotamento das partículas híbridas.

Amostra	Densidade de máximo empacotamento (g/ml)
PVAp	0,08 ± 0,001
PVARp	0,08 ± 0,001
PVAM1p	0,08 ± 0,001
PVAM5p	0,10 ± 0,001
PVAM1Rp	0,07 ± 0,001
PVAM5Rp	0,08 ± 0,003
PVAS1p	0,07 ± 0,002
PVAS5p	0,08 ± 0,001
PVAS1Rp	0,06 ± 0,001
PVAS5Rp	0,07 ± 0,001

#### 5.3.3.4. Área superficial

Determinou-se a área superficial apenas para as formulações de partículas contendo SEP/RIFA em comparação às formulações PVAp e PVARp. A área superficial das partículas é pequena e encontra-se na faixa de 1,57 a 1,77 m<sup>2</sup>/g, como mostra a Tabela 5.18, superiores à área específica dos cristais de rifampicina pura que é de 1,07 m<sup>2</sup>/g.

Tabela 5.18. Área superficial das partículas híbridas de PVA/SEP.

Amostra	Área superficial (m <sup>2</sup> /g)	Gás usado na análise
RIFA	1,07± 0,01	nitrogênio
PVAp	1,65± 0,03	criptônio
PVARp	1,57± 0,01	criptônio
PVAS1Rp	1,77± 0,02	criptônio
PVAS5Rp	1,60± 0,01	criptônio

### 5.3.3.5. Difração de raios X – DRX

Os resultados de DRX para as partículas híbridas contendo MOM e comparativos são idênticos aos obtidos para as mesmas formulações em hidrogéis conforme apresentado na Figura 5.42 (ver item 5.2.2.2).

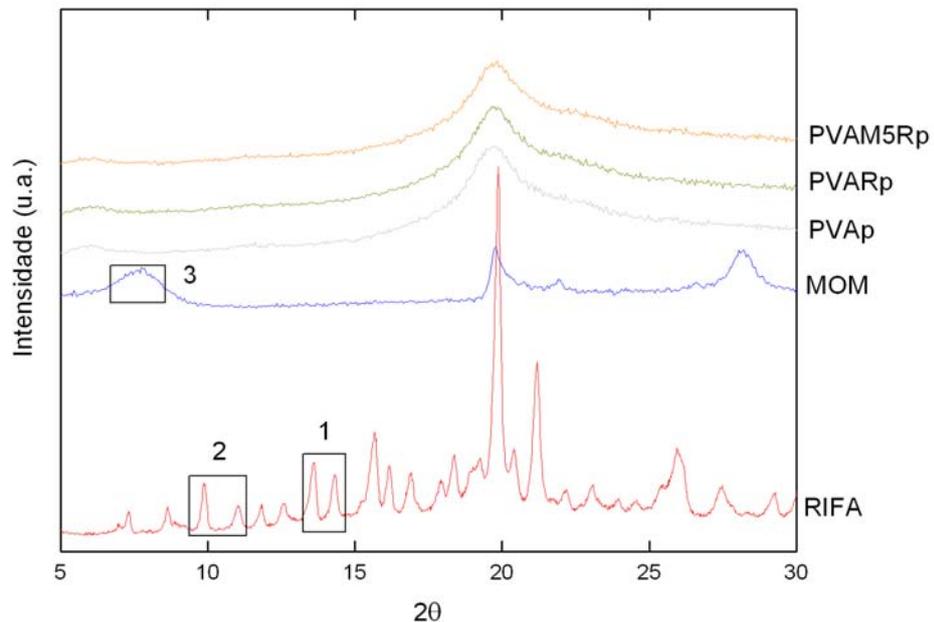


Figura 5.42. Perfis de raios X das partículas híbridas com RIFA e com a maior concentração de argila MOM (PVAM5Rp) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA (PVAp), de PVA com RIFA (PVARp) e dos materiais de partida MOM e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.

Com o objetivo de visualizar o perfil de DRX de todas as partículas preparadas para a série utilizando a argila MOM tem-se a Figura 5.43 a qual apresenta os perfis de raios X das partículas híbridas de PVA/MOM com ou sem RIFA em comparação às partículas de PVA e PVA/RIFA.

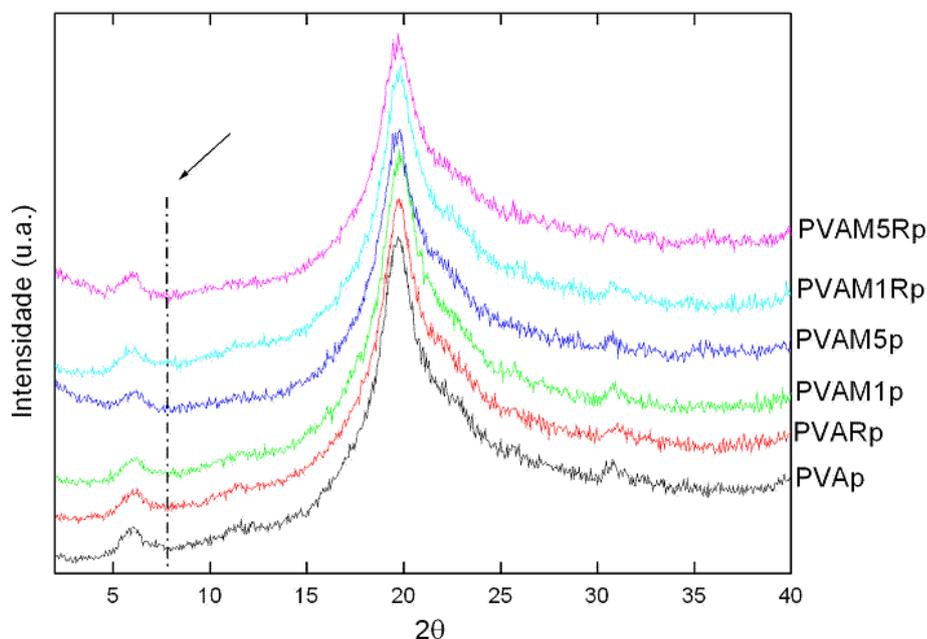


Figura 5.43. Perfil de raios X das partículas híbridas de PVA/MOM com e sem RIFA em comparação às partículas de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para MOM pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Da Figura 5.43 pode-se observar os mesmos resultados conforme já discutidos para as mesmas formulações em hidrogéis (ver item 5.2.2.2)

A Figura 5.44 mostra os perfis de raios X das partículas com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com os perfis de raios X das partículas de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA. Observa-se, *a priori*, que a simples presença de RIFA ou SEP ou de ambas concomitantemente nas concentrações sugeridas neste trabalho não causou alteração na microestrutura cristalina da matriz de PVA, pois o pico de difração principal para PVA se manteve. O DRX das amostras contendo PVA (PVARp e PVAS5Rp) não mostram nenhuma evidência de reflexões cristalinas associadas de RIFA, porém para SEP discutiremos em maior detalhes a seguir.

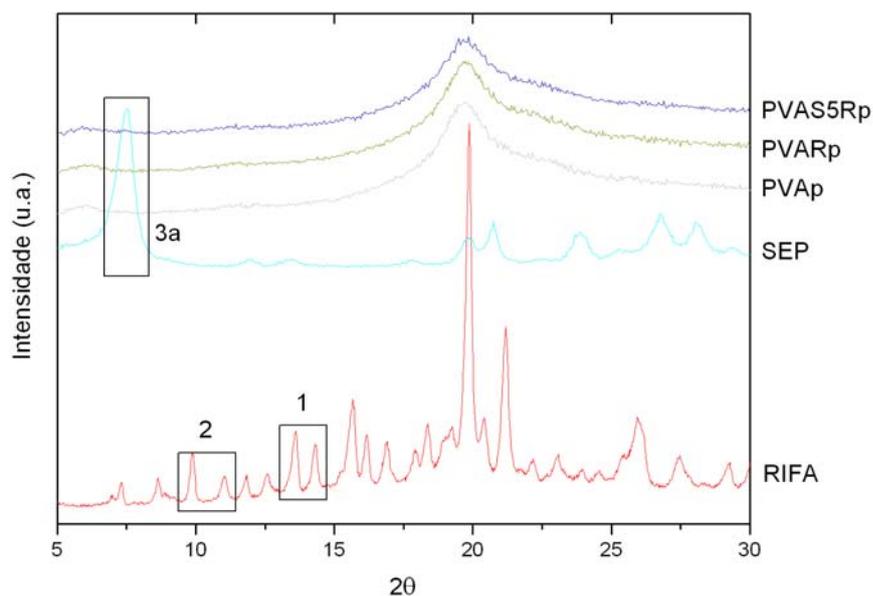


Figura 5.44. Perfis de raios X dos hidrogéis nanocompósitos com RIFA e com a maior concentração de argila SEP (PVAS5Rp) em comparação com os perfis de raios X dos hidrogéis de PVA(PVAp), de PVA com RIFA (PVARp) e dos materiais de partida SEP e RIFA. Estes dois últimos tiveram seus picos de difração característicos assinalado com retângulos.

Com o objetivo de visualizar o perfil de DRX de todos os hidrogéis preparados para a série utilizando a argila SEP tem-se a Figura 5.45 a qual apresenta os perfis de raios X das partículas híbridas de PVA/SEP com ou sem RIFA em comparação às partículas de PVA e PVA/RIFA. .

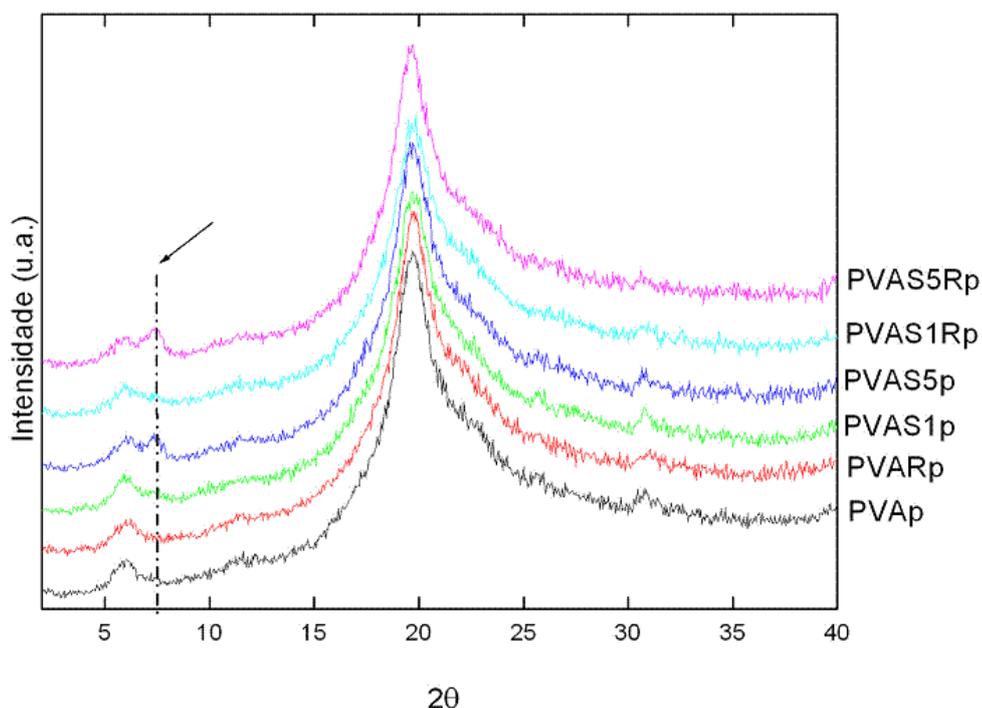


Figura 5.45. Perfil de raios X das partículas híbridas de PVA/SEP com e sem RIFA em comparação aos hidrogéis de PVA e PVA/RIFA. A linha pontilhada indica a região do pico de difração principal para SEP pura. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Da Figura 5.45 pode-se observar, além pico de difração principal para PVA, a presença, porém em baixa intensidade, do pico de difração característico da sepiolita ( $2\theta = 7,3^\circ$ ) nas amostras PVAS5 e PVAS5R. Isto indica a presença de fibras de sepiolita aglomeradas, provavelmente em função de uma maior concentração de argila na formulação facilitando a aglomeração. Tal fato não foi observado para as demais amostras para as quais sugere-se estar a sepiolita mais bem dispersa na matriz polimérica.

Assim como para os hidrogéis os tamanhos cristalinos médios,  $L$ , foram estimados a partir da equação de Scherrer e os resultados dos parâmetros cristalinos calculados são apresentados na Tabela 5.19.

Tabela 5.19. Valores dos parâmetros cristalinos para as partículas híbridas.

Amostra	$2\theta$ (°)	L (Å)
PVAp	19,7	34
PVARp	19,7	46
PVAM1p	19,8	34
PVAM5p	19,8	39
PVAM1Rp	19,7	38
PVAM5Rp	19,9	36
PVAS1p	19,6	36
PVAS5p	19,7	32
PVAS1Rp	19,7	32
PVAS5Rp	19,9	29

De acordo com a Tabela 5.19, observa-se que a incorporação MOM ou SEP em menores concentrações e em comparação a amostra PVAp, praticamente não altera o tamanho cristalino (L). Observa-se que a incorporação de maior concentração de MOM nas partículas, em comparação a amostra PVAp, aumenta discretamente o tamanho cristalino (L) e de forma contrária, mas também discreta, a maior concentração de SEP diminui o tamanho cristalino (L). Observa-se que a incorporação somente de RIFA nas partículas, em comparação a amostra PVAp, aumenta significativamente o tamanho cristalino (L). Este comportamento está provavelmente associado ao impedimento estérico causado pela presença de rifampicina nas partículas restringindo a mobilidade molecular das cadeias de PVA durante o crescimento cristalino, impedindo-as de estabelecer domínios cristalinos bem definidos (Silva, 2007). Com relação às amostras de MOM carregadas com fármaco observa-se tamanho cristalino (L) maiores que quando comprados com as amostras de SEP também carregadas com fármaco. Tal fato pode colaborar no entendimento do perfil de dissolução das amostras de PVA/SEP/RIFA, já que baixos valores L sugerem menor barreira à difusão do fármaco do sistema polimérico favorecendo assim a performance de dissolução.

### 5.3.3.6. Calorimetria exploratória diferencial – DSC

A Figura 5.46 mostra as curvas de DSC das partículas híbridas com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA. A Tabela 5.20 apresenta os valores da temperatura de fusão cristalina ( $T_m$ ), e o grau de cristalinidade  $X_c$  de todos as partículas híbridas.

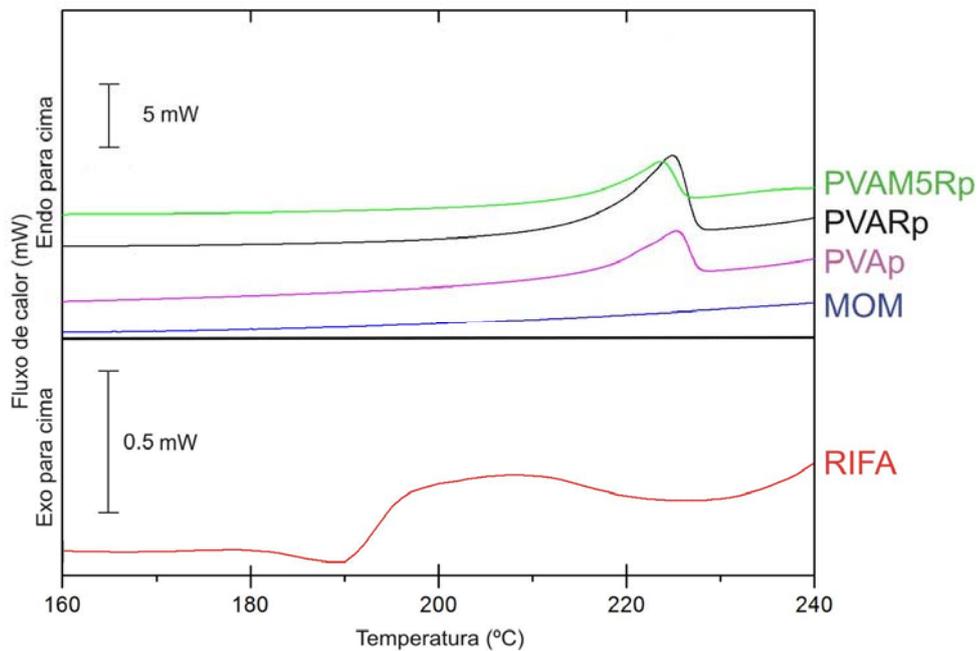


Figura 5.46. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* com RIFA e com a maior concentração de argila MOM em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida MOM e RIFA.

Tabela 5.20. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para as partículas híbridas obtidas por *spray-drying*.\*

Amostras	T <sub>m</sub> (°C)	X <sub>c</sub> (%) <sup>c</sup>
PVAp	225	36
PVARp	225	34
PVAM1p	226	61
PVAM5p	224	25
PVAM1Rp	224	29
PVAM5Rp	224	32
PVAS1p	226	36
PVAS5p	226	30
PVAS1Rp	225	41
PVAS5Rp	224	34

\*O erro experimental associado aos experimentos de análise térmica são  $\pm 0,8^{\circ}\text{C}$  e  $\pm 1,5\%$  para T<sub>m</sub> e X<sub>c</sub>, respectivamente.

<sup>a</sup> X<sub>c</sub> é calculado pela razão  $\Delta H/\Delta H_m^{\circ}$ , onde  $\Delta H_m^{\circ}$  é a entalpia de fusão do PVA 100 % cristalino (150 J/g).

A partir da Figura 5.46, observa-se para o PVAp um pico endotérmico a 227°C, correspondente a temperatura de fusão cristalina (T<sub>m</sub>) do PVA (Silva, 2007). A presença de RIFA (amostra PVARp) e de RIFA e MOM (amostra PVAM5Rp) causa leve deslocamento dos picos endotérmicos de fusão cristalina do PVA para temperaturas mais baixas. Diferentemente das amostras de hidrogéis, sugere-se que a RIFA na amostra PVARp não atua como agente de nucleação já que o grau de cristalinidade da matriz de PVA diminuiu de 36 para 34 % sem alterações de T<sub>m</sub> o que leva a crer que nenhuma alteração de cristalinidade ocorre na amostra com a incorporação de RIFA em relação a amostra PVA. As mesmas observações feitas para os hidrogéis valem quanto ao comportamento térmico de RIFA e MOM puras. Para teores maiores de argila, as amostras comportam-se de forma idêntica aos hidrogéis observando-se para a amostra PVAM5Rp um decréscimo no grau de cristalinidade da (o grau de cristalinidade da matriz em relação ao PVA diminui de 37 para 26 %).

Com o objetivo de visualizar todas as curvas de DSC de todas as partículas híbridas preparadas para a série utilizando a argila MOM tem-se a Figura 5.47 a qual apresenta as curvas de DSC das partículas híbridas de PVA/MOM com ou sem RIFA em comparação às partículas de PVA e PVA/RIFA.

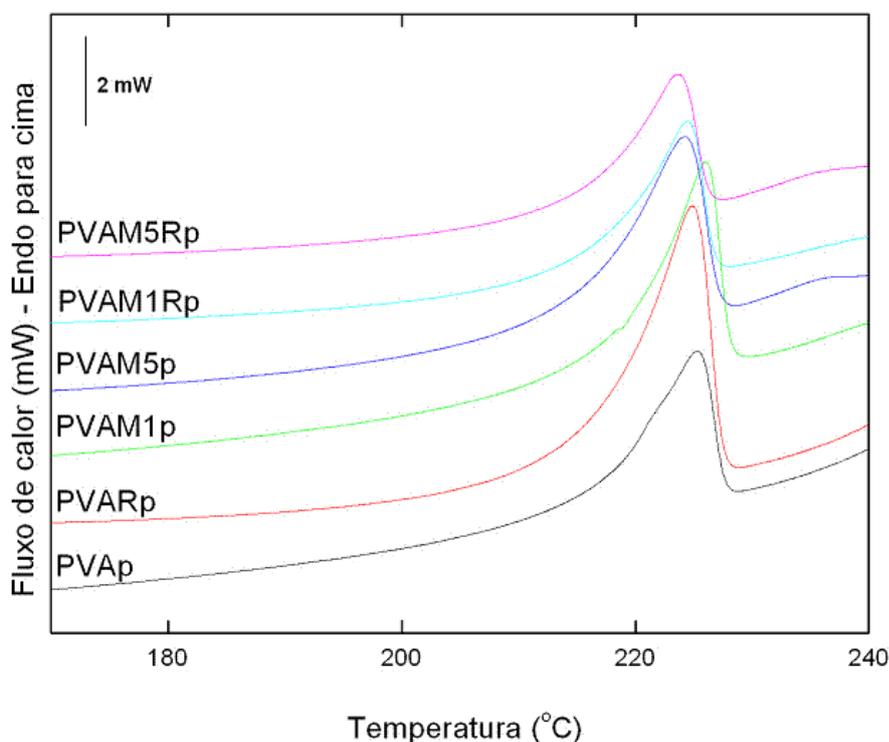


Figura 5.47. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* de PVA/MOM . As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

Um pequeno teor de MOM (amostra PVAM1p) alterou os parâmetros de cristalinidade atuando a MOM como agente de nucleação. A incorporação de RIFA no sistema (amostra PVAM1Rp) diminuiu atipicamente o grau de cristalinidade sem alteração da  $T_m$  assim como para os hidrogéis. O mesmo comportamento em relação ao grau de cristalinidade da amostra PVAM5Rp observa-se para a amostra PVAM5p, sem alteração significativa da  $T_m$  em função da ausência de RIFA na amostra.

A Figura 5.48 mostra as curvas de DSC das partículas híbridas com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC das partículas de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA.

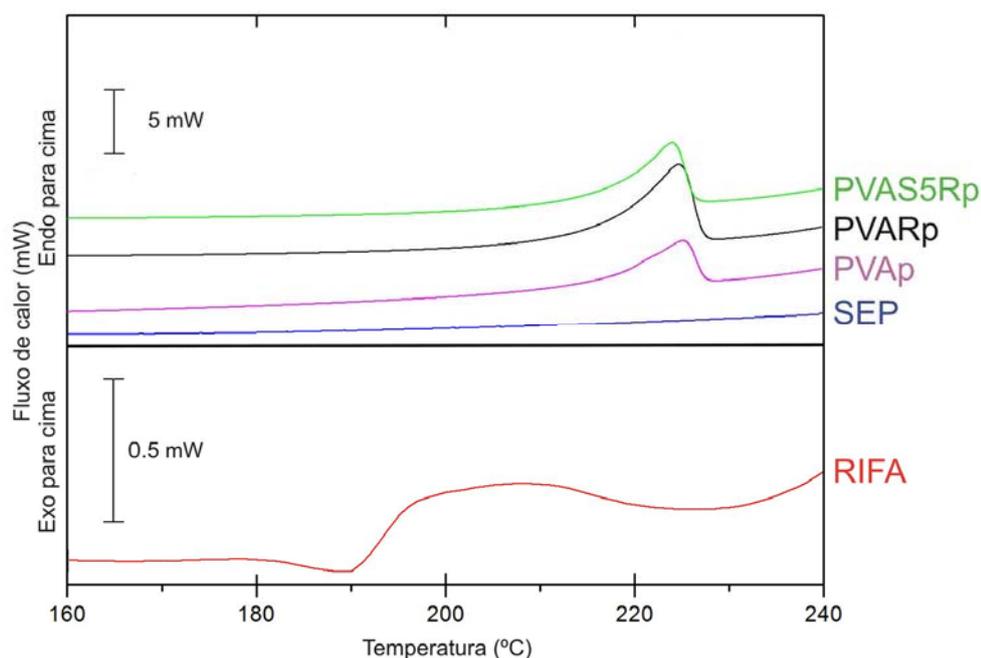


Figura 5.48. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* com RIFA e com a maior concentração de argila SEP em comparação com as curvas de DSC dos hidrogéis de PVA, PVA/RIFA, e dos materiais de partida SEP e RIFA.

A partir da Figura 5.48, podemos considerar as mesmas discussões já feitas para a amostra de PVARp. Para a amostra PVAS5Rp diferentemente para o observado nos hidrogéis, a sepiolita não mais atua como agente de nucleação, observando-se uma diminuição do grau de cristalinidade em relação ao PVA (o grau de cristalinidade da matriz em relação ao PVA diminuiu de 36 para 34 %) porém sem alterações significativas para  $T_m$ . O mesmo tipo de abordagem utilizada no discurso dos hidrogéis contendo SEP pode ser adotado aqui para as amostras de RIFA e SEP puras.

Com o objetivo de visualizar todas as curvas de DSC de todas as partículas híbridas preparadas para a série utilizando a argila SEP tem-se a Figura 5.49 a qual apresenta as curvas de DSC das partículas híbridas de PVA/SEP com ou sem RIFA em comparação as partículas de PVA e PVA/RIFA.

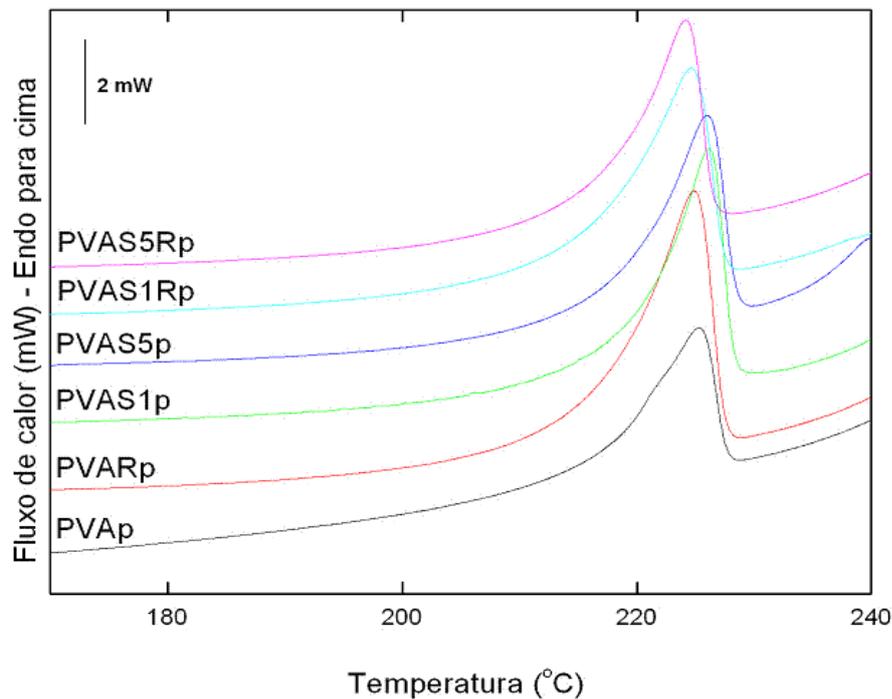


Figura 5.49. Curvas de DSC das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* de PVA/SEP. As curvas foram deslocadas verticalmente para melhor visualização.

O mesmo comportamento para o hidrogel foi observado para as formulações equivalente às amostras PVAS1p e PVAS1Rp. O mesmo comportamento em relação ao grau de cristalinidade e valor de  $T_m$  da amostra PVAS5Rp observa-se para a amostra PVAS5p.

#### 5.3.3.7. Teor de água

As partículas híbridas apresentaram um teor de água entre 3% e 5% como mostrado na Tabela 5.21.

Tabela 5.21. Resultados de teor de água das partículas híbridas de PVA/argila.

Amostra	Teor de água (%)*
PVAp	4,02
PVARp	4,94
PVAM1p	4,00
PVAM5p	5,07
PVAM1Rp	3,97
PVAM5Rp	3,90
PVAS1p	5,05
PVAS5p	4,09
PVAS1Rp	4,90
PVAS5Rp	4,09

\*O desvio aceitável da análise foi ajustado para 0,3 %.

#### 5.3.3.8. Teor de rifampicina e avaliação de rifampicina quinona

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica de separação que, em menos de trinta anos, passou a ser um dos métodos analíticos mais utilizados para fins qualitativos e quantitativos na indústria farmacêutica (Tonhi, 2002). O uso de CLAE inclui acompanhamento das etapas de produção, controle de qualidade de matérias primas, testes de estabilidade e estudos de impurezas e produtos de degradação (ICH, 2000). Nos produtos farmacêuticos consideram-se como impurezas as substâncias presentes na matéria prima do fármaco, como co-produtos ou intermediários da síntese. Já os produtos de degradação resultam da reação do fármaco com excipientes (insumos ou matérias primas sem atividade biológica) ou componentes da embalagem. O conjunto de impurezas e produtos de degradação é chamado de substâncias relacionadas (ICH, 2006). A velocidade da oxidação de rifampicina foi avaliada em quatro formulações comerciais onde o teor de rifampicina quinona aumentou entre 1,75 e 2,30 % após um ano de estocagem. No entanto, o armazenamento a 4°C resultou em um aumento muito lento de seu conteúdo (Zak, 1982). Apesar de haver pouca informação quanto a toxicidade dos produtos de degradação da rifampicina na literatura a investigação da presença dos mesmos é citada em algumas farmacopéias (Wollinger, 2008). Na Farmacopéia Americana (USP, 2006) além do teor de rifampicina avalia-se também o

percentual de substâncias relacionadas, em especial a rifampicina quinona (Figura 5.50). A análise é realizada por CLAE e a quantificação das substâncias relacionadas é feita por comparação da área do sinal cromatográfico da mesma com a de um padrão de rifampicina. Os critérios de aceitação para a rifampicina quinona encontram-se entre 1,5% a 4% (Wollinger,2008). A instabilidade da rifampicina reflete-se nos critérios de aceitação, extraordinariamente elevados, para seus produtos de degradação (THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEIA, 2006).

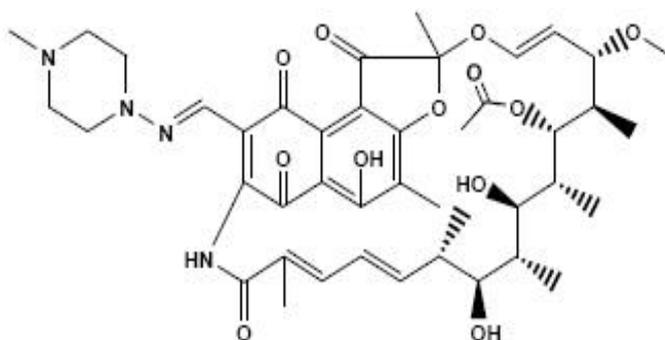


Figura 5.50. Fórmula estrutural da rifampicina quinona (Wollinger,2008).

No intuito de se avaliar os teores de rifampicina incorporados nas partículas híbridas, PVA/argila/RIFA estas foram analisadas por CLAE e os resultados de teor apresentados na Tabela 5.22.

Tabela 5.22. Resultados de teor em base seca de rifampicina nas partículas híbridas de PVA/argila obtidos por CLAE.

Amostra	Teor (%p/p)	Desvio padrão
PVARp	2,60	0,0064
PVAM1Rp	1,87	0,0235
PVAM5Rp	2,26	0,0324
PVAS1Rp	2,57	0,0172
PVAS5Rp	2,68	0,0271

Os teores encontram-se entre 1,87 e 2,68 % p/p. Os resultados obtidos para as amostras contendo MOM (1,87% para PVAM1Rp e 2,26% para PVAM5Rp) não foram

esperados já que encontram-se significativamente distantes de 2,5%, valor este teórico da quantidade de rifampicina incorporada nas partículas, conforme descrito na Tabela 4.1.

Para explicar estes valores abaixo do esperado observou-se durante o processo de extração das amostras PVAM1Rp e PVAM5Rp resíduo alaranjado o que pode indicar a não total extração de rifampicina da matriz polimérica. A avaliação de teor por esta metodologia para as amostras contendo montmorilonita não é aplicável, pois alguma interação entre PVA/MOM/RIFA ocorre de maneira que a liberação da rifampicina para o meio extrator (de natureza mixta aquosa/não aquosa) não é favorecida.

Para efeitos de ilustração a Figura 5.51 mostra o aspecto do cromatograma obtido na análise de CLAE para as partículas de PVA/argila/RIFA.

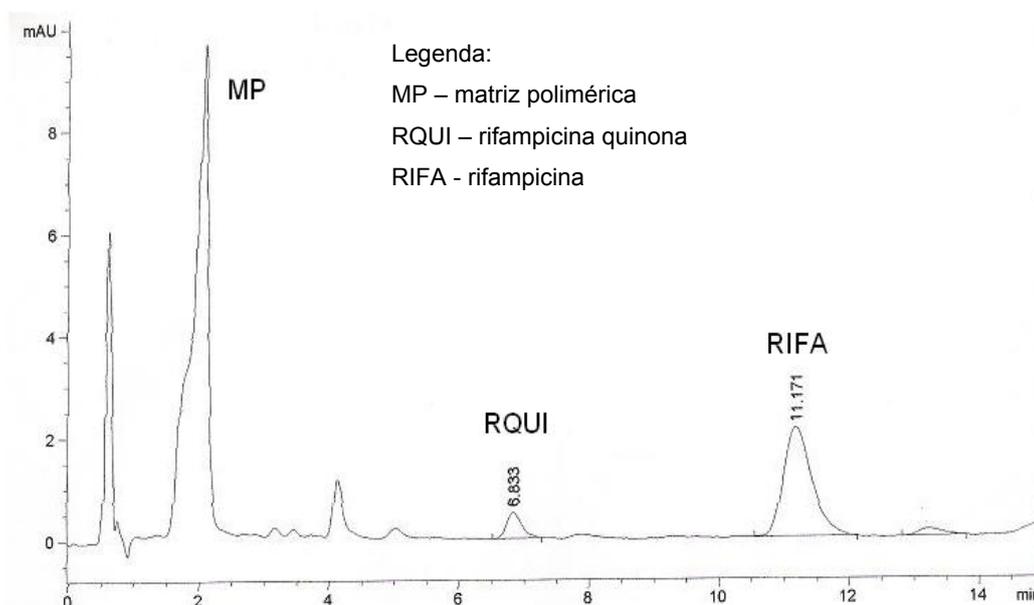


Figura 5.51. Exemplo de cromatograma obtido para o doseamento de rifampicina nas partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.

Em todos os cromatogramas o tempo de retenção para a rifampicina é em torno de 11 minutos e para rifampicina quinona é em torno de 6 minutos. Na falta de disponibilidade de padrão de rifampicina quinona para esta análise, a identificação do pico para a mesma baseou-se na relação indicada na USP 29 (que descreve que o tempo de retenção relativo para rifampicina quinona é em torno de 0,6 e 1,0 para rifampicina).

Para fins comparativos submeteu-se a RIFA de partida às mesmas condições cromatográficas das partículas obtendo-se um cromatograma (Figura 5.51) bem parecido com a Figura 5.52, à exceção da presença do pico referente à matriz polimérica (MP).

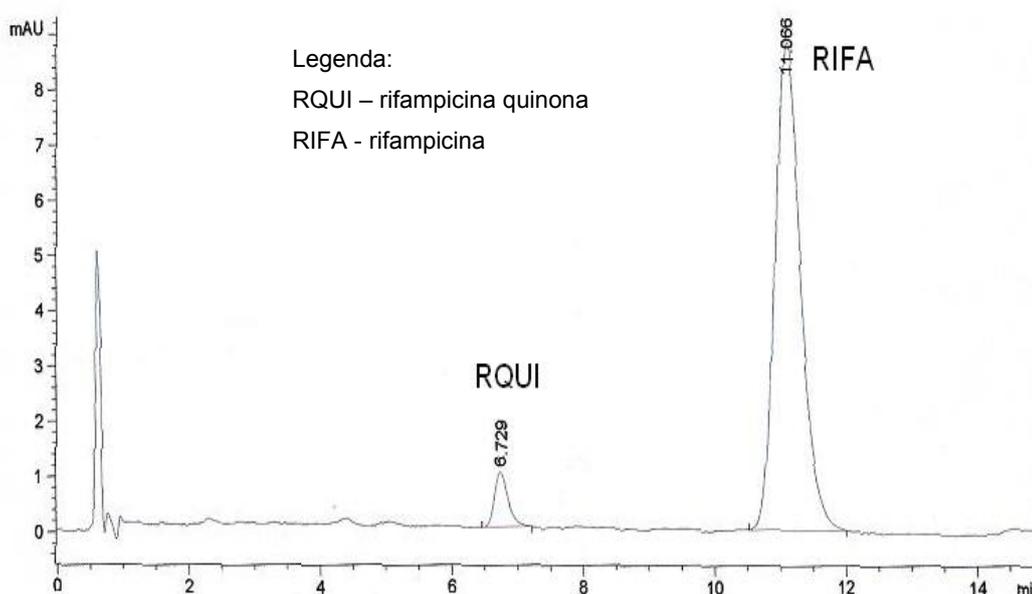


Figura 5.52. Cromatograma obtido para RIFA.

No intuito de se avaliar a proporção entre fármaco e o produto de degradação comparou-se as áreas do sinal cromatográfico da rifampicina quinona e rifampicina e calculou-se as razões RQUI/RIFA apresentadas na Tabela 5.23.

Tabela 5.23. Razão entre as áreas de RQUI/RIFA nas partículas híbridas de PVA/argila.

Amostra	Razão entre as áreas RQUI/RIFA
RIFA	0,06
PVARp	0,15
PVAM1Rp	0,13
PVAM5Rp	0,13
PVAS1Rp	0,15
PVAS5Rp	0,15

Houve um aumento da razão RQUI/RIFA nas partículas híbridas de PVA/argila em relação ao material de partida RIFA. Por um lado o resultado mostra-se razoável já que expusemos a RIFA ao meio aquoso sem controle de tempo quando ainda na forma de suspensão diluída (etapa prévia à secagem por spray), por outro tal aumento pode-se tratar apenas de uma limitação analítica referente ao preparo da amostra, pois as partículas passam por um processo prévio extrativo (água/acetoneitrila) que o material de partida não passa, o que pode ter favorecido a degradação do fármaco no sistema polimérico ainda dentro da vidraria analítica. Desta forma não podemos julgar a qualidade das partículas híbridas com relação à presença de produtos de degradação. Um aprofundamento do estudo da metodologia cromatográfica, do processo extrativo das amostras e da estabilidade das soluções diluídas a serem injetadas deverá ser futuramente realizado.

#### *5.3.3.9. Cinética de sorpção de vapor de água*

Determinou-se a cinética de sorpção de vapor de água apenas para as formulações de partículas contendo PVA/SEP/RIFA (amostras PVAS1R e PVAS5R) em comparação com as formulações PVARp e RIFA pura. As características de sorpção de vapor destes pós foram avaliadas por DVS. As isotermas de equilíbrio de sorpção de umidade (primeiro ciclo) para cada amostra é apresentada na Figura 5.53. Embora os dois ciclos tenham sido obtidos para cada material (sorpção e dessorpção), apenas o primeiro ciclo é apresentado devido ao processo ser reversível. A Figura 5.52 mostra que os pós formulados com PVA e argila tem maior afinidade pelo vapor d'água que a rifampicina pura: a rifampicina pura adsorve pouca umidade quando exposta a umidades relativas de até 90% (~4%, UR de 90%). Já os pós formulados por spray adsorvem uma maior quantidade de umidade quando expostos às mesmas condições de umidade relativa (~ 32%, UR de 90%). Estes dados explicam em parte o comportamento dos pós na dissolução frente à rifampicina pura que é bastante hidrofóbica, o que foi posteriormente constatado pela medida do seu ângulo de contato ( $\theta = 115^\circ$ , vide item 5.1.1.4).

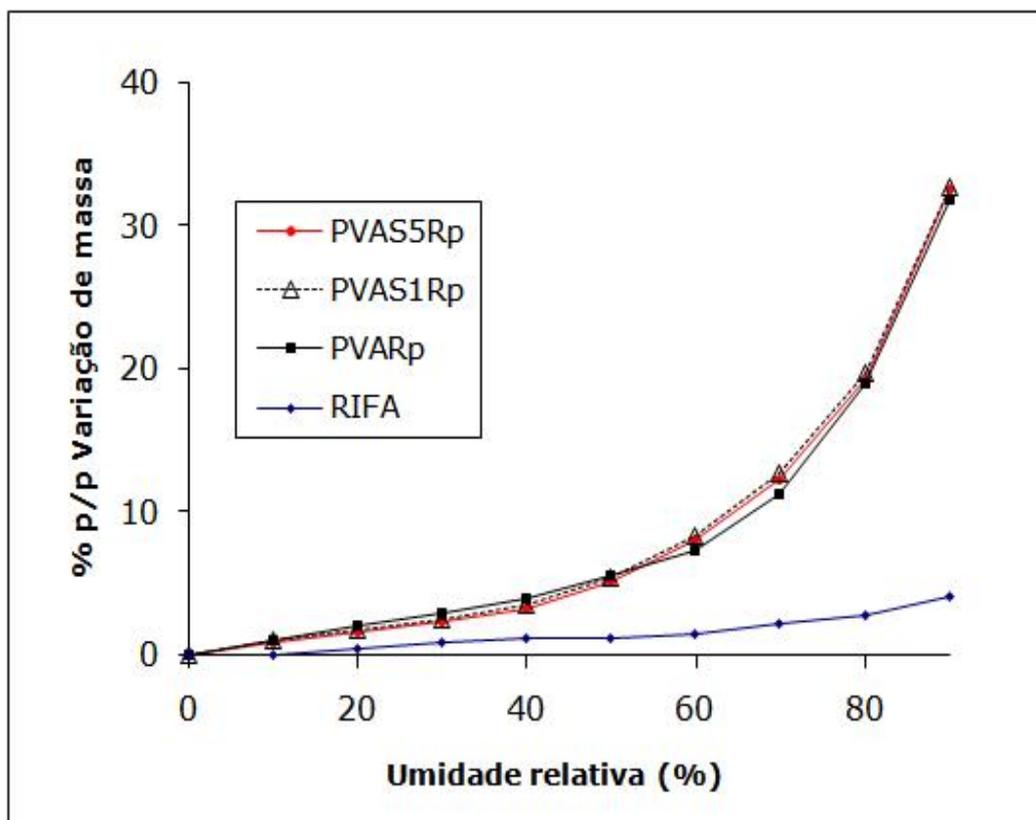


Figura 5.53. Isotermas de sorção de vapor d'água para RIFA pura e formulada com PVA e com PVA-argila.

#### 5.3.3.10. Perfil cinético de dissolução (*in vitro*)

A Figura 5.54 mostra as curvas de dissolução para os pós obtidos da secagem das suspensões contendo rifampicina-PVA-argilas por *spray-drying*. Observa-se que a liberação da rifampicina se dá em duas etapas de velocidades diferentes : uma primeira onde cerca de 60% a 80% do fármaco é liberado em cerca de 9 min, seguida de uma fase de liberação bem mais lenta que se manteve até os 60 min de duração dos ensaios de dissolução, o que pode ser visualizado na Figura 5.54. Além disso, nota-se que a presença das argilas nas partículas híbridas alterou a dissolução do fármaco, sendo o efeito dependente do tipo e da concentração da argila usada: a liberação da rifampicina foi aumentada com a presença de SEP e retardada pela MOM.

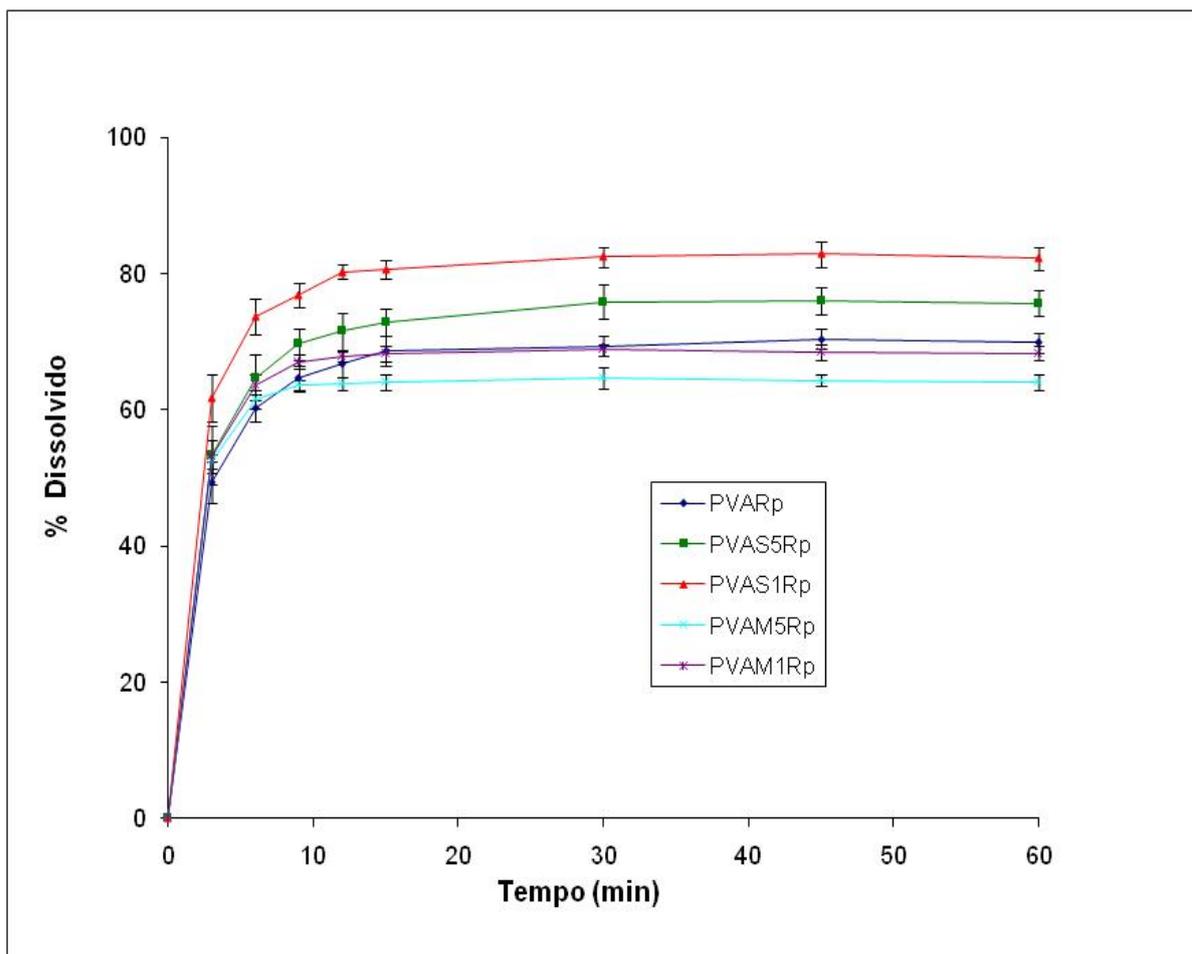


Figura 5.54. Perfil cinético de dissolução da rifampicina a partir das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA obtidas por *spray-drying*.

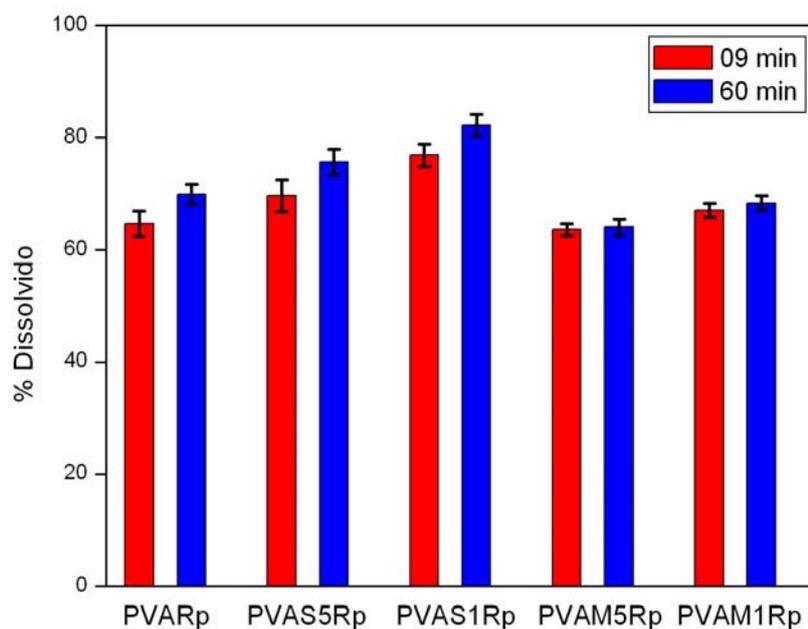


Figura 5.55. % Dissolvido de rifampicina a partir das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA após 9 e 60 min de contato com o meio de dissolução (ensaio *in vitro*).

Para o estudo da cinética de dissolução deste trabalho, foram aplicados os modelos citados na Tabela 4.2. Assim como para os hidrogéis outros parâmetros relativos à cinética de dissolução como constante de velocidade de dissolução ( $k$ ), meia-vida de dissolução ( $t_{50\%}$ ) e porcentagem liberada em 10 min ( $Q_{10}$ ). A Tabela 5.24 mostra o ajuste destes três modelos para os dados experimentais da Figura 5.54, sugerindo que o modelo de Higuchi é o mais adequado para representar a cinética de dissolução dos pós obtidos por *spray-drying* (coeficientes de correlação da ordem de 0,976 à 0,985). Um melhor ajuste do modelo de Hixson-Crowell seria um indicativo de que a etapa limitante deste processo de liberação da rifampicina dos pós seria a dissolução dos cristais de rifampicina após liberação da matriz de PVA puro ou de PVA-argila sepiolita e não a difusão através destas matrizes. No entanto, o ajuste do Modelo de Higuchi como o mais apropriado para representar os dados cinéticos obtidos neste estudo sugere que a etapa de dissolução da matriz polimérica e difusão do fármaco através dos poros gerados torna-se o mecanismo limitante da fração de rifampicina que é solubilizada no meio de dissolução.

Tabela 5.24. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação (r) para as partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.

Amostra	Modelo de liberação		
	Primeira ordem	Higuchi	Hixson-Crowell
PVARp	0,931	0,985	0,898
PVAM1Rp	0,924	0,981	0,887
PVAM5Rp	0,906	0,976	0,898
PVAS1Rp	0,938	0,980	0,898
PVAS5Rp	0,933	0,984	0,898

Assim como para os hidrogéis, fez-se a aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* demonstrada na Figura 5.54. A partir do modelo de Higuchi e da Figura 5.56 foram determinados os parâmetros cinéticos descritos na Tabela 5.25.

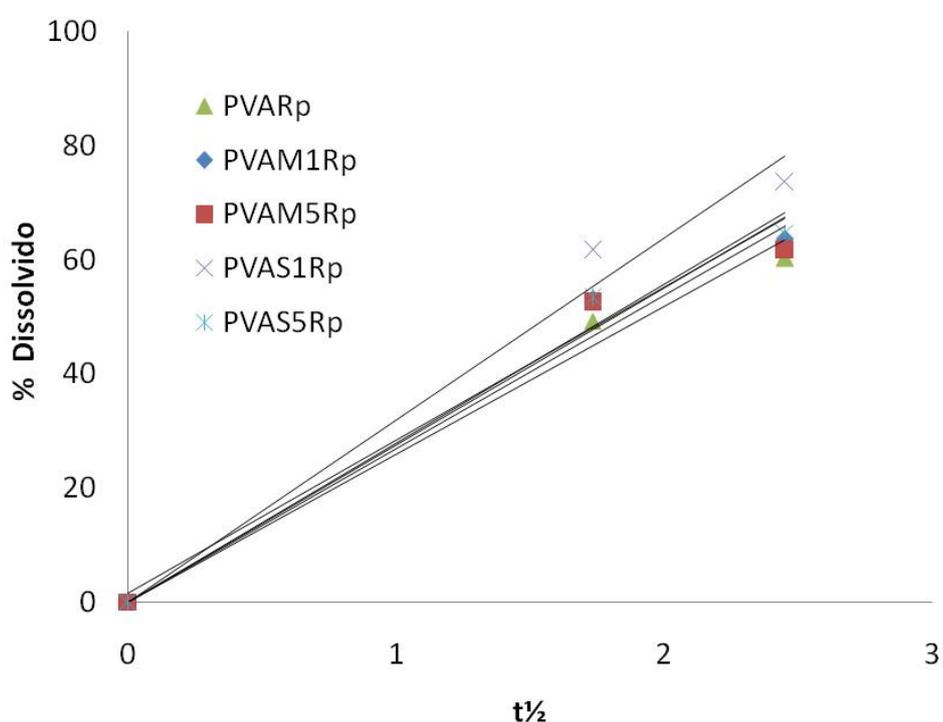


Figura 5.56. Aplicação do modelo matemático de Higuchi para a dissolução das partículas híbridas obtidas por *spray-drying*.

Tabela 5.25. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Higuchi das partículas híbridas de PVA/argila/RIFA.

Amostra	k (min <sup>-1/2</sup> )	t <sub>50%</sub> (min)	Q <sub>10</sub> (%)	Equações de regressão *
PVARp	25,90	3,73	81,90	y = 25,90x
PVAM1Rp	27,55	3,29	87,12	y = 27,55x
PVAM5Rp	26,86	3,47	84,94	y = 26,86x
PVAS1Rp	31,91	2,46	100,91	y = 31,91x
PVAS5Rp	27,89	3,21	88,20	y = 27,89x

k = constante de velocidade de dissolução.

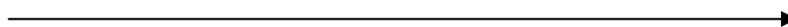
t<sub>50%</sub> = meia-vida de dissolução, ou seja, tempo no qual se dissolvem 50% da rifampicina.

Q<sub>10</sub> = quantidade de rifampicina dissolvida aos 10 minutos.

\* x = t<sup>1/2</sup> e y = % Dissolvido de rifampicina.

Analisando os valores de k, t<sub>50%</sub> e Q<sub>10</sub>, observa-se para as partículas híbridas de PVA/argila/RIFA a seguinte ordem de desempenho de dissolução:

$$k_{\text{PVARp}} < k_{\text{PVAM5Rp}} < k_{\text{PVAM1Rp}} < k_{\text{PVAS5Rp}} < k_{\text{PVAS1Rp}}$$



melhor dissolução

A Figura 5.57 apresenta os dados cinéticos obtidos experimentalmente para as formulações de PVA e rifampicina (PVARp) e de PVA-sepiolita-rifampicina (PVAS5Rp), em comparação aos dados calculados a partir da equação de Higuchi (Tabela 5.25). Nota-se a boa previsão da quantidade de rifampicina dissolvida a partir destas formulações por este modelo matemático.

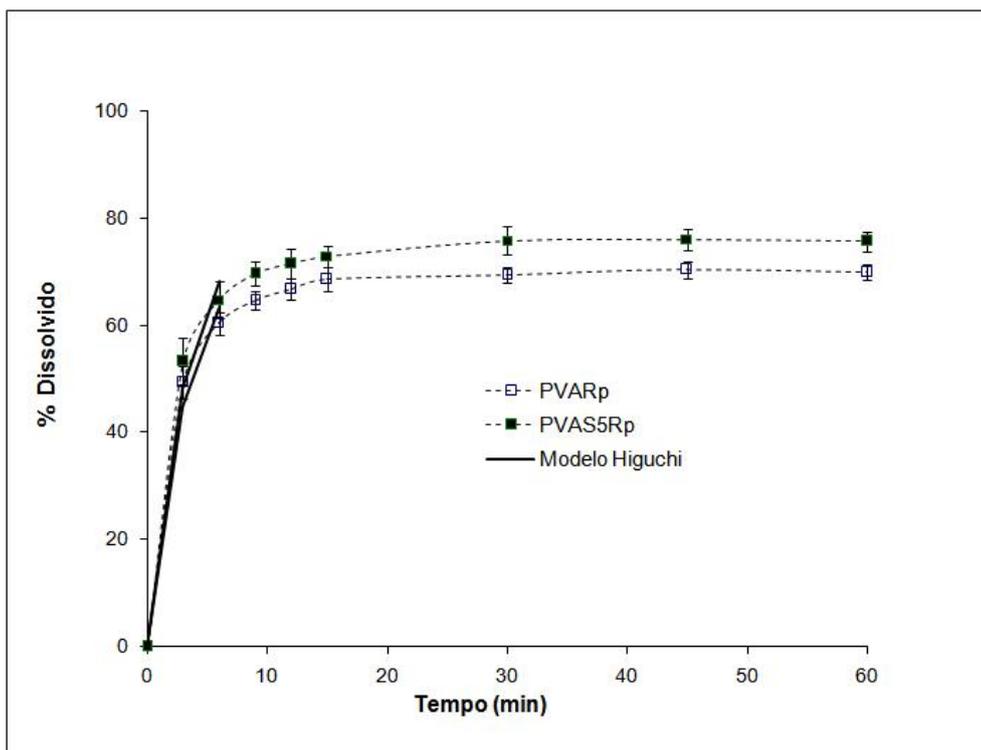


Figura 5.57. Comparação entre as curvas cinéticas experimentalmente obtidas e curvas calculadas pelo modelo de Higuchi.

O modelo de Higuchi é frequentemente utilizado para descrever a velocidade de liberação controlada de um fármaco a partir de um sistema matricial. Esse modelo de difusão, supõe que uma matriz porosa degradável em uma fase líquida se dissolve lentamente no meio a partir da penetração do líquido através de seus poros. O material dissolve-se lentamente na fase líquida e difunde através da estrutura da matriz pelas interconectividades entre os poros. Este mecanismo, proposto para representar o mecanismo de liberação das partículas híbridas obtidas por *spray-drying* é ilustrado na Figura 5.58.

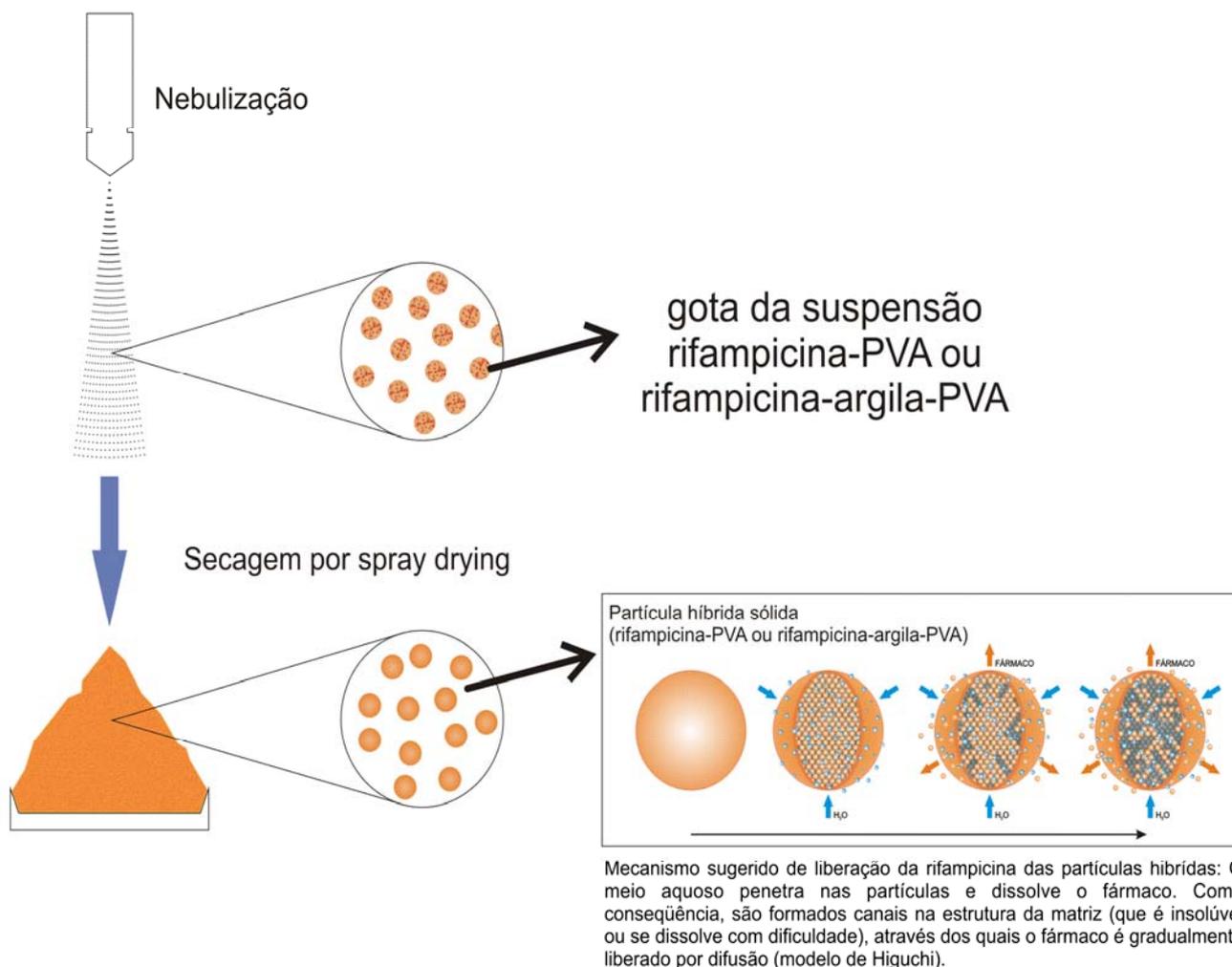


Figura 5.58. Representação do mecanismo de liberação da rifampicina das partículas obtidos por *spray-drying* segundo modelo de Higuchi.

A matriz de PVA (com ou sem argilas) é hidrofílica. Neste caso, no processo de dissolução, o meio aquoso deve hidratar a matriz polimérica que intumescce e forma uma camada gelificada. A rifampicina contida nessa camada dissolve e difunde a partir da matriz ou é liberado quando ela sofre erosão. Quando a camada gelificada erode, expõe a superfície da partícula novamente e o processo se repete. Este mecanismo deve corresponder ao real mecanismo de liberação da rifampicina para as partículas obtidas por *spray-drying*, o que piora o ajuste dos dados cinéticos ao modelo de Higuchi visto que este é aplicado com maior exatidão a matrizes pouco solúveis que não apresentam capacidade de intumescimento como ilustrado na Figura 5.59.

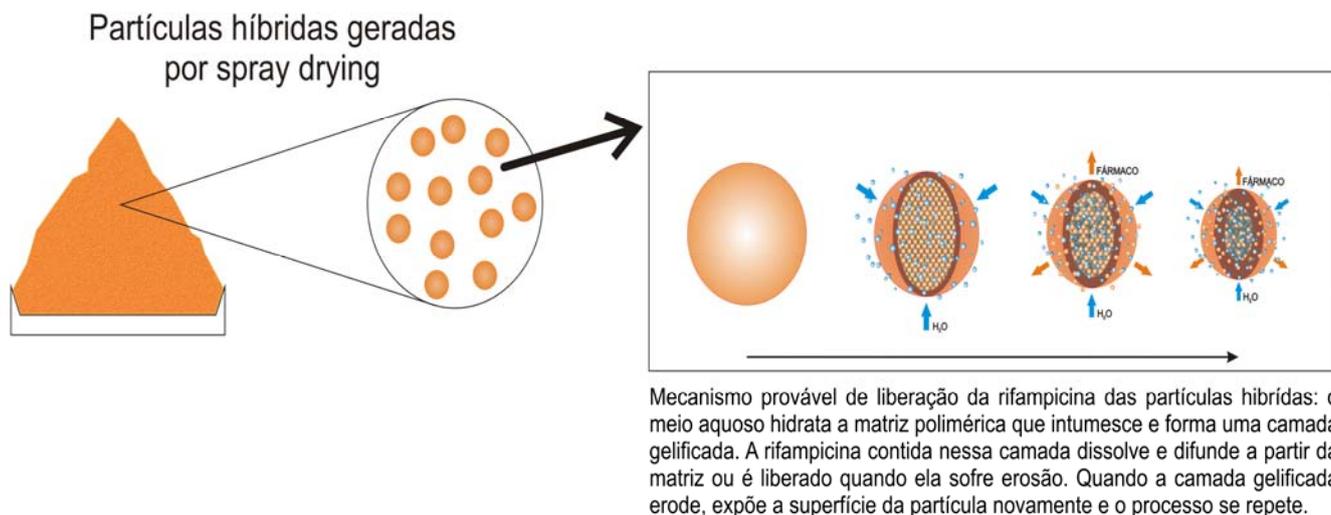


Figura 5.59. Representação do mecanismo de liberação da rifampicina das partículas híbridas obtidas por *spray-drying*: partículas sofrem intumescimento e erosão.

A Figura 5.60 mostra os perfis de dissolução das partículas híbridas de PVA/sepiolita/RIFA (amostras PVAS1Rp e PVAS5Rp) e de PVA/RIFA (amostra PVARp) em comparação aos perfis cinéticos obtidos de misturas físicas destes componentes preparadas nas mesmas proporções mássicas usadas nas formulações das partículas. Nota-se que o efeito obtido com a secagem dos cristais de rifampicina dispersos em solução de PVA na presença ou não da argila sepiolita é bastante diferente do efeito obtido na dissolução da rifampicina apenas misturada fisicamente a estes mesmos componentes. Portanto, a formação de uma matriz polimérica, nanoestruturada ou não, altera o mecanismo de liberação dos cristais de rifampicina para o meio de dissolução e acelera a sua dissolução como desejado.

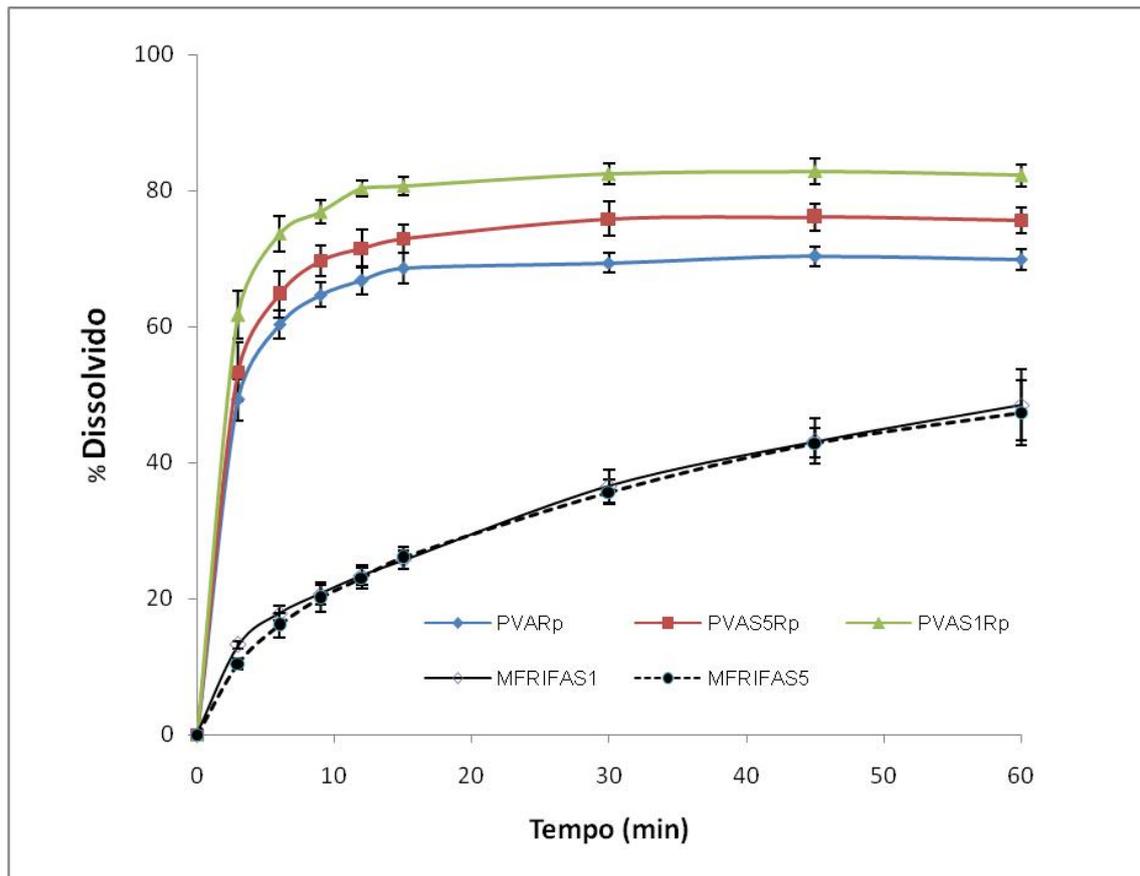


Figura 5.60. Perfil cinético de dissolução das partículas híbridas de PVA/sepiolita/RIFA (PVAS1Rp e PVAS5Rp) e de PVA/RIFA (PVARp) em comparação aos perfis cinéticos obtidos de misturas físicas destes componentes preparadas nas mesmas proporções mássicas usadas nas formulações das partículas.

## 5.4. Nanonização do fármaco modelo

### 5.4.1. Determinação experimental da solubilidade da rifampicina de partida

Os valores experimentais de solubilidade da rifampicina nos solventes puros são demonstrados na Tabela 5.26.

Tabela 5.26. Solubilidade da rifampicina nos solventes puros.

Solventes puros	Solubilidade da rifampicina (mg/g)
Água	0,72 ± 0.038
Tampão fosfato	1,02 ± 0.036
Líquido iônico*	≥ 90,0

\*n = 1

A solubilidade da rifampicina em meios aquosos é baixa ficando na ordem de 1 mg/g de solvente. O líquido iônico usado foi o 1-etil 3-metil imidazolium metil-fosfonato (densidade = 1,2 g/ml) (Figura 5.61).

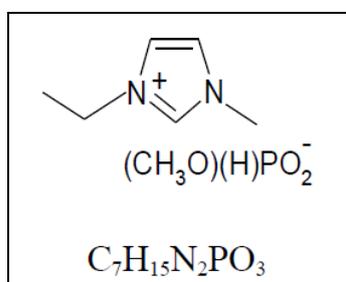


Figura 5.61. Estrutura do 1-etil 3-metil imidazolium metil-fosfonato (cátion = 1-etil-3-metil imidazolium; ânion = metil-fosfonato).

A solubilidade da rifampicina neste líquido iônico é superior à 90mg/g de solvente e mostrou-se ser um bom solvente para a rifampicina, quando comparado com outros solventes (resumo da literatura na Tabela 5.27).

Tabela 5.27. Solubilidade da rifampicina em diferentes solventes.

Solvente	Solubilidade (mg/ml)	Classificação	Referência	Observações
<b>1-etil 3-metil imidazolium metil-fosfonato</b>	<b>108</b>			
<b>Água</b>	<b>2,5</b>	Muito pouco solúvel	(Mehta, 2007)	à 25 °C, 10 g são solúveis em 100 ml de água em pH 2,0; 0,4 g/100 ml em pH 5,3 e 0,28 g/100 ml em pH 7,3.
<b>Tampão fosfato</b>	<b>3,8</b>	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Óleo de soja	45,4	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Miritato de isopropila	10,0	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Palmitato de isopropila	6,6	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Ácido oléico	> 250	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Etil oleato	6,3	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Polissorbato 80	22,0	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Polissorbato 20	20,1	-	(Mehta, 2007)	à 30 °C
Álcool etílico	-	Pouco solúvel	(Martindale, 2002)	-
Acetona	-	Pouco solúvel	(Martindale, 2002)	-
Metanol	60	Solúvel	(Reverchon, 2000; Martindale, 2002)	à temperatura ambiente
Clorofórmio	-	Solúvel	(Martindale, 2002)	-
Acetato de etila	40	Solúvel	(Reverchon, 2000; Martindale, 2002)	à temperatura ambiente
DMSO	120 (à temperatura ambiente)	-	(Reverchon, 2000; THE MERCK INDEX, 2001)	à 15°C, 10 mg/ml em DMSO é estável por 18 meses (Karlson, 1969)
n-metil 2-pirrolidona	80	-	(Reverchon, 2000)	à temperatura ambiente
Diclorometano	60	-	(Reverchon, 2000)	à temperatura ambiente
Tetrahidrofurano	-	Livremente solúvel	(THE MERCK INDEX, 2001)	-
Tetracloroeto de carbono	-	Pouco solúvel	(THE MERCK INDEX, 2001)	-

Os valores experimentais de solubilidade de rifampicina em misturas de líquido iônico e tampão fosfato são apresentados na Tabela 5.28.

Tabela 5.28. Solubilidade da rifampicina em misturas de líquido iônico e tampão fosfato com diferentes composições

Mistura de LI /TP (% de líquido iônico na mistura)		Proporção mássica LI:TP	Solubilidade da rifampicina (mg/g de solução)
0,99	(1:100)	1,4	
4,8	(1:20)	2,1	
9,1	(1:10)	2,9	
16,7	(1:5)	4,0	

A Figura 5.62 reúne os dados experimentais de solubilidade da rifampicina no líquido iônico, tampão fosfato e suas misturas em diferentes proporções. Ela mostra que a solubilidade da rifampicina aumenta na mistura de líquido iônico e tampão fosfato com o aumento da proporção de líquido iônico; no entanto, a solubilidade da rifampicina é ainda baixa em uma mistura com 16,7% de líquido iônico (4,0mg/g de solução) em comparação com a solubilidade deste fármaco no líquido iônico puro (>90mg/g de solvente). Esta composição da mistura (LI:TP 1:5) foi então fixada para uma segunda série de experimentos realizadas, sendo que inicialmente a proporção fixada foi de LI:TP 1:10.

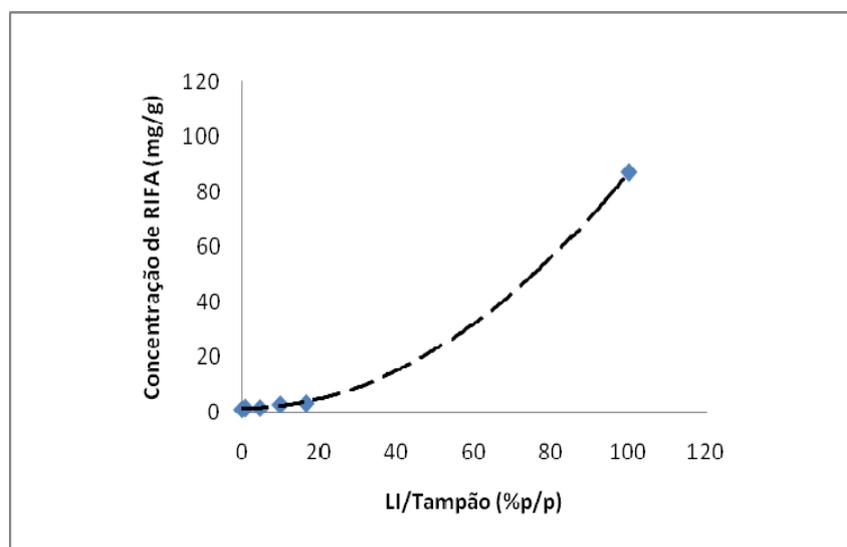


Figura 5.62. Variação da solubilidade da rifampicina com a composição da mistura de líquido iônico e tampão fosfato.

#### 5.4.2. Processo de cristalização da rifampicina

A experiência de cristalização foi realizada em diferentes condições operacionais. Em resumo as variáveis estudadas foram:

- A relação de massa entre solvente (líquido iônico) e anti-solvente (tampão fosfato).

- O tempo de agitação do sistema rifampicina solvente/anti-solvente: 30 segundos ou 4 horas.

Os balanços de materiais foram realizados para determinar a rendimento do processo em termos de massa de sólido recristalizado. Partindo de uma proporção em massa de líquido iônico: tampão fosfato de 1:5 ou 1:10. A Tabela 5.29 apresenta os pesos utilizados e os cálculos teóricos do desempenho esperado de cada um desses experimentos.

Tabela 5.29. Balanço de material e os rendimentos teórico para os experimentos de cristalização realizados com diferentes relações LI/TP.

Item	Relação LI / TP	
	1/10	1/5
Massa de LI - MLI (g)	42,2	42,2
Massa inicial de rifampicina - MRif (g)	4,17	4,17
Concentração de rifampicina no líquido iônico (mg/g de solvente)	89,9	89,9
Massa de anti-solvente utilizada - MTP (g)	410,8	211,2
Massa total do sistema de rifampicina (MRif+MLI+MTP) - Mtotal (g)	457,2	257,6
Concentração de rifampicina no sistema - Cexp (mg/g de solução)	9,1	16,2
Concentração de equilíbrio de rifampicina no sistema Rif-LI-TP Ceq (mg/g) - (Vide Tabela 5.27)	2,9	4,0
(Cexp – Ceq) = $\Delta C$ (mg/g)	6,2	12,2
Massa de rifampicina recuperada teoricamente Mteo=( $\Delta C$ * Mtotal) (g)	2,85	3,14
Rendimento máximo teórico (%) (Mteo / MRif) *100	<b>68,2</b>	<b>75,3</b>

Teoricamente, no final dos experimentos devem ser obtidos rendimentos de 75,3% para o proporção LI:TP de 1:5 e de 68,2% para LI:TP 1:10 (a cinética não é levada em conta neste cálculo). O cálculo do rendimento, assim como a saturação do meio reacional é interferido pela diluição que a adição do anti-solvente proporciona. Como as saturações para as razões solvente:anti-solvente (1:5 e 1:10) são próximas, o efeito de diluição

proporciona um rendimento mais importante para uma razão solvente:anti-solvente baixa, ou seja, 1:5. O controle de massa de todas as etapas de manipulação foi realizado para estimar as perdas devido às transferências (soluções preparadas, frascos esvaziados, filtros e sólidos recuperados). As perdas de rifampicina para o meio reacional e durante as etapas de lavagem com tampão fosfato e água também foram calculadas. O sólido recuperado foi pesado após a secagem. A quantidade resultante é chamada de massa seca. Finalmente o rendimento do processo em termos de sólido recristalizado é calculado pela divisão da massa seca pela massa inicial de rifampicina (Tabela 5.30).

Tabela 5.30. Rendimentos do processo de recristalização

Amostra	Proporção LI:TP	Tempo de processo	Rendimento % p/p	Perda de rifampicina% p/p*
Cris03	1:10	30 min	24,6	**
Cris07	1:10	4 h	36,0	53,2
Cris08	1:5	4 h	47,2	50,0
Cris14	1:5	4 h	48,9	45,4
Cris 16	1:5	30 s	45,8	40,2

\*referente às perdas de rifampicina para os meios sobrenadantes (meio reacional, lavagens com tampão fosfato e água), \*\*não foi determinado.

Conforme previsto pelos cálculos de rendimento teórico, pode-se observar melhores rendimento para a proporção LI:TP de 1:5. A diferença observada entre os rendimentos teóricos e os rendimentos experimentais obtidos é devido a um efeito cinético, pois a cristalização não é concluída após 4 horas, além das perdas durante as transferências e lavagens. O experimento Cris03 não teve seu rendimento levado em conta pelo fato de se tratar de um experimento ainda preliminar de cristalização, porém o sólido obtido foi submetido a algumas caracterizações no intuito de se avaliar o estado sólido do produto obtido por este inovador sistema de cristalização. Uma vez sendo a estabilidade da rifampicina pH dependente, o pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização por anti-solvente foi monitorado e encontram-se listados na Tabela 5.31.

Tabela 5.31. Resultados de pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização por anti-solvente (medições realizadas entre 25 e 28 °C)

Amostra	Etapas do processo		
	Após centrifugação	Após lavagem com tampão fosfato	Após lavagem com água
Cris03	6,3	6,8	7,0
Cris07	6,3	6,8	7,0
Cris08	6,0	6,7	7,0
Cris14	6,6	6,8	7,1
Cris 16	6,6	6,8	7,1

A faixa de pH de trabalho mostrou-se entre 6,0 e 7,1, ou seja, próximas às condições de neutralidade onde a estabilidade da rifampicina é máxima.

#### 5.4.3. Cinética de cristalização da mistura LI:TP, na proporção 1:5

A cinética foi realizada no intuito de se avaliar o efeito do tempo sobre a produção de cristais (rendimento). Durante os experimentos de cristalização, observou-se que, após a separação de cristais, mais cristais começavam a aparecer no sobrenadante (após cerca de 30 minutos). Para entender esses resultados, determinou-se a variação na quantidade de rifampicina em solução ao longo do tempo e comparou-se estes valores com a concentração de equilíbrio do sistema (solubilidade da rifampicina em LI:TP 1:5, apresentados na Tabela 5.28). Este teste foi realizado em triplicata e o valor médio utilizado para plotar o gráfico de concentração de rifampicina versus tempo (Figura 5.63).

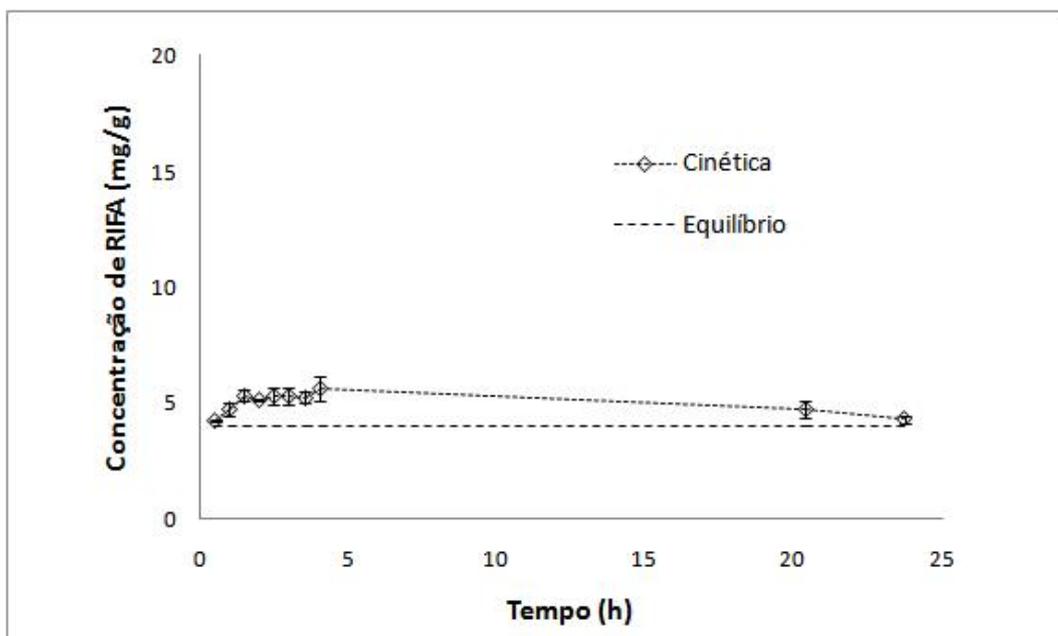


Figura 5.63. Cinética de cristalização da rifampicina para a relação LI:TF de 1:5.

#### 5.4.4. Caracterização da rifampicina recristalizada

##### 5.4.4.1. Morfologia

A Figura 5.64 mostra fotomicrografias obtidas por MEV de cristais recristalizados de rifampicina, em comparação com cristais da rifampicina de partida (RIFA).

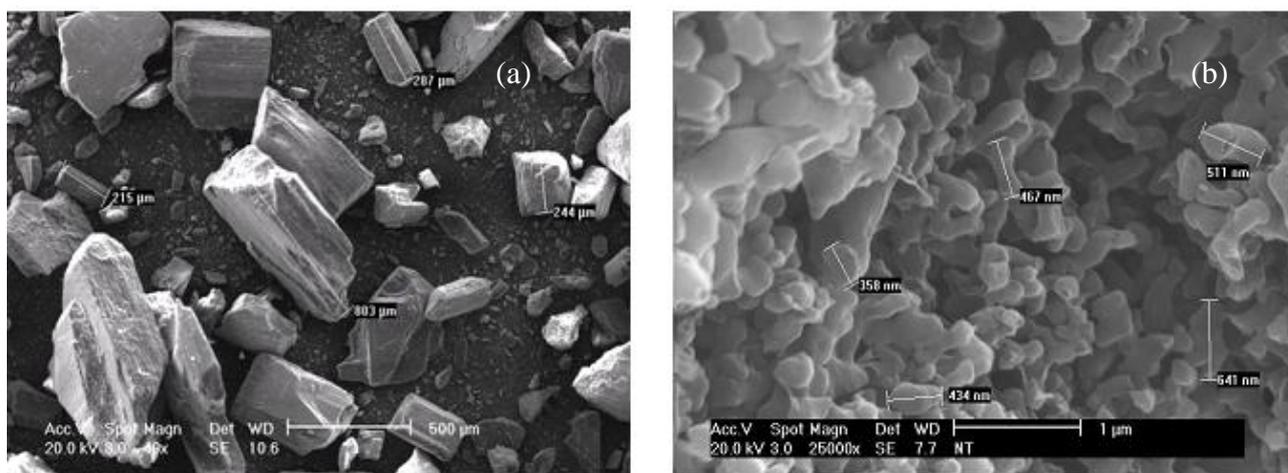


Figura 5.64. Fotomicrografias obtidas por MEV: (a) RIFA de partida e (b) recristalizada (condições: LI:TP de 1:5 ; 4h de agitação).

A recristalização gera formas e tamanhos de cristais diferentes dos cristais de origem. A Figura 5.64b mostra partículas sem forma específica e de tamanho nanométrico visivelmente bem aglomeradas. O tamanho pequeno dos cristais poderia explicar em parte a rápida dissolução dos mesmos (a ser explicada mais a frente), apesar do efeito negativo de aglomeração. Esta aglomeração pode ter ocorrido durante o tempo de agitação do sistema e também durante a etapa de secagem em estufa. As demais fotomicrografias obtidas por MEV (Figuras 5.65 até 5.69) encontram-se a seguir e estão organizadas por ordem de magnificação  $a < b < c$ , onde pode-se observar nas menores magnificações o aspecto das partículas aglomeradas assim como na maior magnificação, formas tais como já descritas para Figura 5.64b.

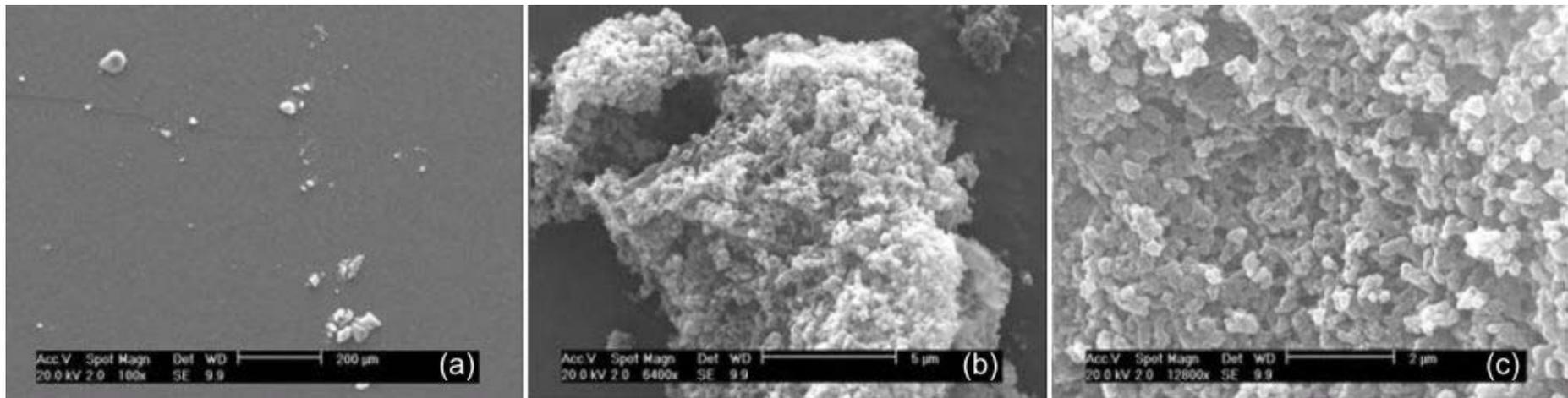


Figura 5.65. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 03 (condições: LI/TP 1:10, 30 min de agitação) por ordem de magnificação.

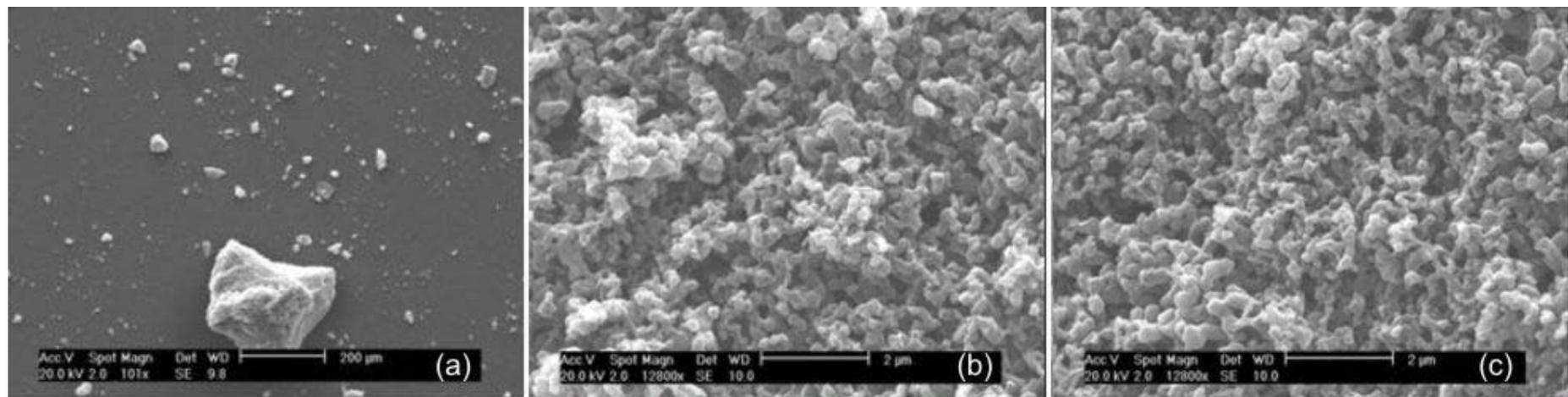


Figura 5.66. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 07 (condições: LI/TP 1:10, 4h de agitação) por ordem de magnificação.

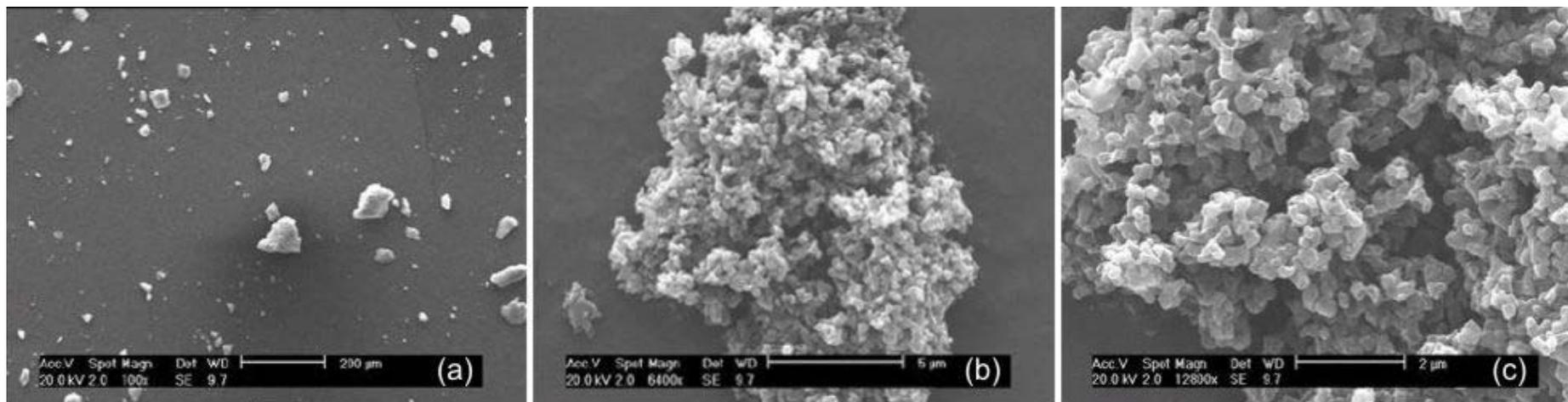


Figura 5.67. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 08 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação) por ordem de magnificação.



Figura 5.68. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 14 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação) por ordem de magnificação.

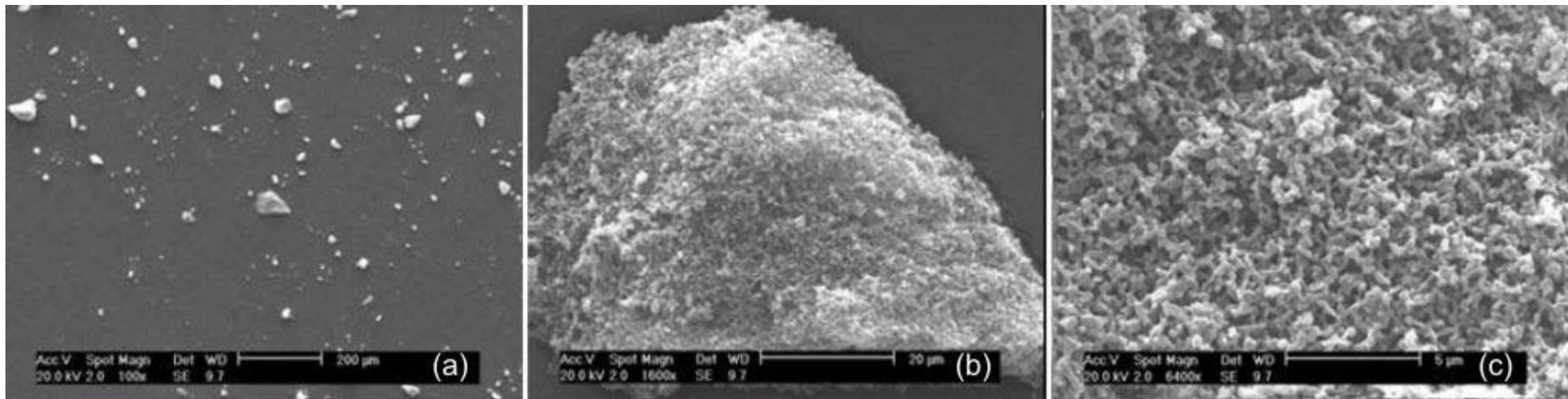


Figura 5.69. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 16 (condições: LI/TP 1:5, 30 s de agitação) por ordem de magnificação.

#### 5.4.4.2. Análise granulométrica

A análise foi realizada apenas para a amostra Cris08 (condições de processo: proporção LI:TP 1:5, 4 h de agitação) a qual apresentou um diâmetro médio de partícula de 282,7 nm. Apesar do tamanho nanométrico o material encontra-se bastante aglomerado.

#### 5.4.4.3. Difração de raios X – DRX

Conforme já discutido no item 5.1.1.2 sugere-se que a amostra RIFA (material de partida), caracteriza-se como uma mistura das formas polimórficas I, II e amorfa, pois apresenta os picos característicos de ambas as formas (porém com menor intensidade) e além disso os resultados de DSC indicam presença de forma amorfa. O perfil de DRX das amostras recristalizadas apresentadas na Figura 5.70 foi bem diferente do perfil da RIFA, pois não apresenta picos definidos e sugere-se que estas amostras estejam em estado amorfo segundo descrito em literatura e também já discutido no mesmo item 5.1.1.2.

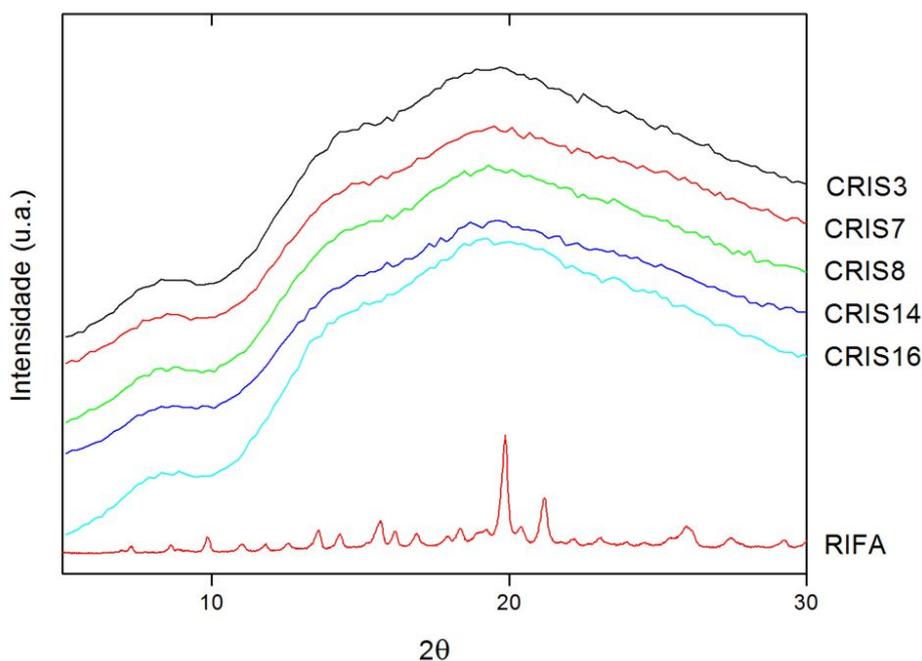


Figura 5.70. Perfil de DRX de RIFA e dos experimentos de recristalização pela técnica do anti-solvente.

As variações das condições de processo avaliadas (proporção LI:TP e tempo de recristalização), em princípio geraram sólidos de mesma característica, ou seja, amorfos.

#### 5.4.4.4. Calorimetria exploratória diferencial – DSC

Com base na Figura 5.71 a amostra Cris 03 apresentou exoterma de decomposição em 267°C. A amostra RIFAF2 apresentou endoterma de fusão em 196°C, seguido de recristalização em forma I (exoterma em 207°C) que se decompõe em 255°C. Os picos obtidos para as amostras representativas das formas polimórficas I e II correspondem ao descrito na literatura. A amostra RIFA apresenta um exoterma a 208°C (189 – 226°C) seguido de decomposição a 259°C e segundo dados da literatura sugere ser a forma amorfa da rifampicina, porém tal sugestão deve ser confirmada por DRX, caracterização esta apresentada a seguir.

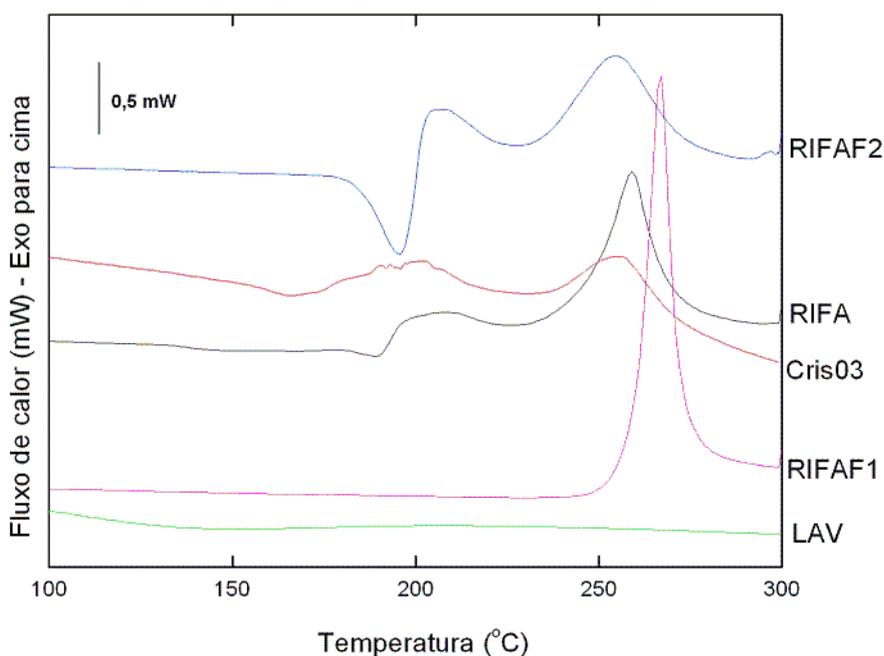


Figura 5.71. Curvas de DSC de RIFA e do experimento de recristalização Cris03.

Com base na Figura 5.71 observa-se que a amostra Cris03 e RIFA apresentaram perfis térmicos semelhantes (Cris03 apresenta exoterma na faixa de 170 – 220°C seguido de decomposição a 257°C enquanto que RIFA apresenta exoterma entre 189 – 226°C seguido de decomposição a 259°C). Frente a essas informações e também resultados de DRX observados no item acima (5.4.4.3) pode-se sugerir que o material recristalizado é amorfo. No intuito de se avaliar o pequeno ruído observado no largo exoterma entre 170 – 220°C para a amostra Cris03, submetemos alumina às mesmas condições de recristalização da rifampicina (mistura em líquido iônico/tampão fosfato, seguido de

lavagens com tampão fosfato e água). Isto foi realizado na hipótese de que algum material residual proveniente do ensaio de recristalização pudesse estar afetando este sinal, porém tal hipótese não foi constatada já que nenhum evento térmico foi observado para alumina após a simulação do ensaio de recristalização (código LAV na Figura 5.71)

#### 5.4.4.5. Solubilidade em água do material recristalizado

Verificou-se que a solubilidade em água do material recristalizado (solubilidade da amostra Cris08 em água = 0,94 mg/g  $\pm$  0,041) foi maior do que os cristais originais de rifampicina (solubilidade da amostra RIFA = 0,72 mg/g  $\pm$  0,038) com um aumento de cerca de 30% . O aumento da solubilidade pode estar associado à redução do tamanho de partícula obtido após o processo de recristalização.

#### 5.4.4.6. Teor de água

As partículas recristalizadas apresentaram um teor de água entre 6% e 9% como mostrado na Tabela 5.32.

Tabela 5.32. Resultados de teor de água das amostras recristalizadas de rifampicina

Amostra	Teor de água (%)*
Cris03	6,93
Cris07	8,91
Cris08	7,00
Cris14	7,55
Cris16	6,80

\*O desvio aceitável da análise foi ajustado para 0,3 %.

#### 5.4.4.7. Teor de rifampicina

A Tabela 5.33 mostra os resultados de teor de rifampicina em base seca das amostras recristalizadas obtidos por espectrofotometria de UV-Vis.

Tabela 5.33. Resultados de Teor de rifampicina em base seca nas amostras recristalizadas

Amostra	Teor (%p/p)	Desvio padrão
Cris03	93,12	3,34
Cris07	107,63	3,79
Cris08	96,06	1,95
Cris14	98,37	*
Cris16	95,07	1,69

*\*Em função de problemas durante a análise n=1 para esta amostra*

Os teores encontram-se entre 93 e 108 % p/p. A USP 29 menciona na monografia da matéria prima rifampicina um teor de pureza em base seca entre 95 e 103 %, porém o método utilizado é por CLAE, método este que não foi possível de se utilizar nesta etapa do trabalho. Desta forma não podemos comparar os resultados obtidos, porém leva-se a crer que a ordem de grandeza dos valores de teores obtidos estejam adequados.

#### 5.4.4.8. Avaliação de rifampicina quinona

Para efeitos de ilustração a Figura 5.72 mostra o aspecto do cromatograma obtido na análise de CLAE para o material recristalizado Cris03.

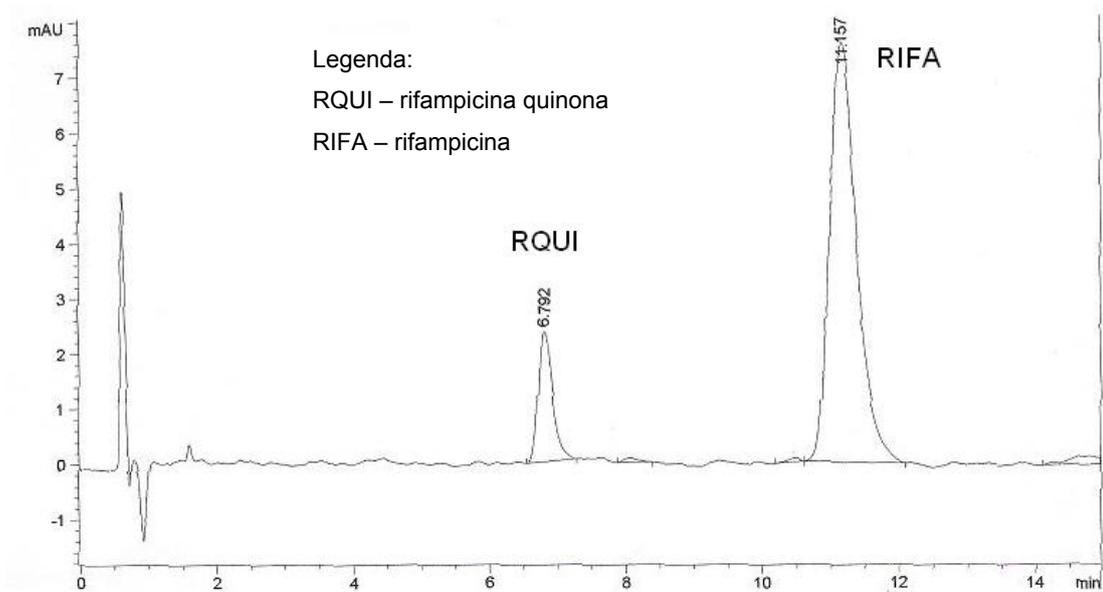


Figura 5.72. Exemplo de cromatograma obtido para a amostra de rifampicina recristalizada (Cris03).

No cromatograma observamos que o tempo de retenção para a rifampicina recristalizada é em torno de 11 minutos e para rifampicina quinona é em torno de 6 minutos. Assim como já discutido no item 5.3.3.8 a identificação do pico de rifampicina quinona baseou-se na relação indicada na USP 29 (que descreve que o tempo de retenção relativo para rifampicina quinona é em torno de 0,6 e 1,0 para rifampicina). A mesma relação também foi encontrada para a RIFA de partida (vide Figura 5.52).

No intuito de se avaliar a proporção entre fármaco e o produto de degradação comparou-se as áreas do sinal cromatográfico da rifampicina quinona e rifampicina e para as amostra RIFA e Cris03 e calculou-se as razões RQUI/RIFA apresentadas na Tabela 5.34.

Tabela 5.34 - Razão entre as áreas de RQUI/RIFA na amostras recristalizada de rifampicina (Cris03)

Amostra	Razão entre as áreas RQUI/RIFA
RIFA	0,06
Cris 03	0,10

Observamos apenas um aumento discreto da razão entre áreas para a rifampicina recristalizada quando comparada com a RIFA de partida. Sugere-se, portanto, que o processo de recristalização adotado com o uso do solvente inovador líquido iônico não favorece a degradação da rifampicina e o aumento da razão observado pode ser proveniente de outros fatores, como das limitações analíticas do método analítico utilizado conforme já discutido no item 5.3.3.8.

#### 5.4.4.9. Perfil cinético de dissolução (*in vitro*)

A Figura 5.73 apresenta as curvas de dissolução para as amostras de rifampicina recristalizada em diferentes condições de processo.

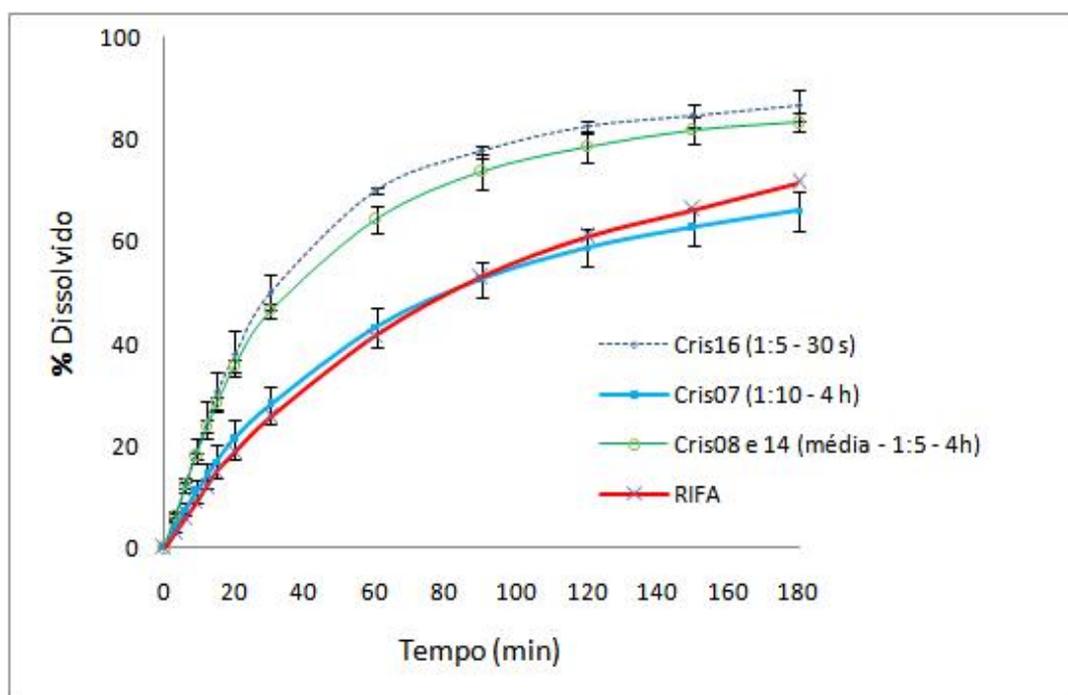


Figura 5.73. Perfil cinético de dissolução das amostras de rifampicina recristalizadas em diferentes condições de processo em comparação aos cristais de partida.

A curva para Cris 16 corresponde a um ensaio onde o tempo de cristalização foi de 30s a contar da introdução de todo o volume de solução de rifampicina em líquido iônico no tampão fosfato, sendo os materiais cristalizados imediatamente lavados e secos.

A curva 08 e 14 (média) refere-se a médias dos resultados de dissolução obtidos para os experimentos Cris 08 e 14 ambos realizados nas mesmas condições de processo (LI:TP 1:5 e 4h de agitação) pois trata-se da duplicação do procedimento de cristalização o qual adotamos para a continuidade dos estudos de cristalização (estudo de agentes dispersantes para conter a aglomeração do material recristalizado).

A comparação entre as curvas apresentadas na Figura 5.73 mostra que:

- as curvas mostram o efeito positivo da recristalização pelo aumento da dissolução dos materiais recristalizados pelo processo desenvolvido neste trabalho em comparação com a RIFA de partida, o que depende da proporção entre solvente e anti-solvente usados no sistema; no sistema estudado, a dissolução é melhorada para LI:TP de 1:5.

- com relação ao tempo de recristalização (4h ou 30s), é fato que nos primeiros 20 primeiros minutos as duas curvas se sobrepõem, e observa-se uma tendência de melhor performance para o menor tempo de recristalização; esta tendência se deve muito provavelmente ao menor grau de aglomeração dos cristais rapidamente retirados do meio líquido onde, após formação, estes tendem a se aglomerar.

A análise cinética da liberação *in vitro* do material recristalizado será abordada no item 5.4.6.6.

#### *5.4.5. Modificações do processo de cristalização da rifampicina*

No intuito de reduzir a aglomeração observada no material recristalizado obtido até então, estudamos o efeito de um agente dispersante (polímero solúvel em tampão fosfato) sobre a cristalização de rifampicina. O polímero utilizado foi a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), cuja estrutura química é dada na Figura 5.74. O HPMC é um éter de celulose obtido por modificação química de pasta de celulose de funcionalidade complexa em sua cadeia de polissacarídeo apresentando característica anfifílica (hidrofílica e hidrofóbica) que o torna funcional para diminuir da tensão interfacial entre um meio hidrofílico e um meio hidrofóbico.

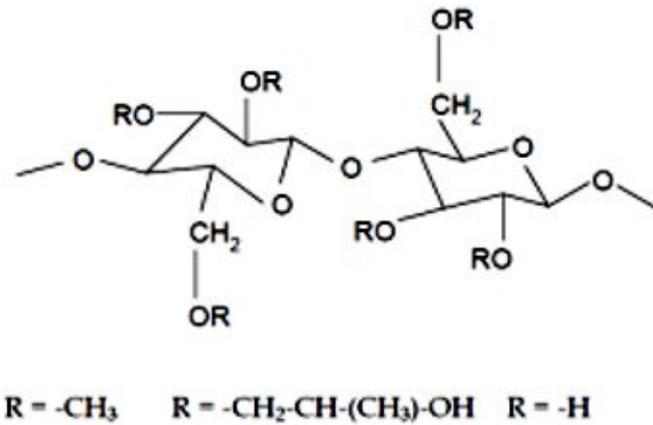


Figure 5.74. Estrutura química do HPMC (Siepmann, 2001).

Da literatura sabemos que a molécula de HPMC solúvel no anti-solvente (água) pode também melhorar a dispersão e reduzir a aglomeração de cristais de atorvastatina cálcica a partir do mecanismo mostrado no esquema da Figura 5.75 (Zhang, 2009). Esta última ilustra que o HPMC é adsorvido na superfície das nanopartículas formadas durante a introdução da solução orgânica na fase aquosa, que inibe a aglomeração de partículas.

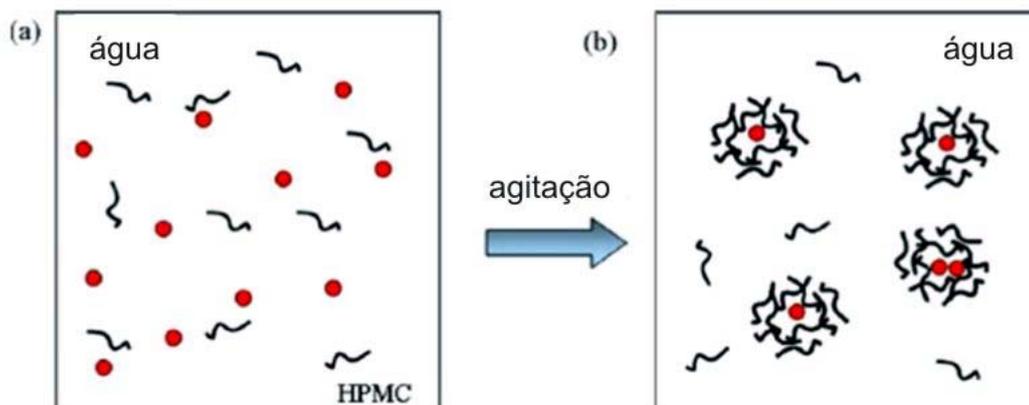


Figura 5.75. (a) Esquema do mecanismo de estabilização das nanopartículas de atorvastatina cálcica (ilustradas como pontos vermelhos) com HPMC (b) a partir do momento da adição do anti-solvente seguido de agitação (adaptado de Zhang, 2009).

Uma segunda hipótese de reduzir a aglomeração dos cristais foi testada inserindo-se sepiolita no sistema de cristalização. Duas formas de incorporação foram testadas:

- Sepiolita incorporada no líquido iônico contendo a rifampicina dissolvida,
- Sepiolita introduzida no anti-solvente (tampão fosfato).

A proporção inicialmente utilizada de sepiolita para a massa de RIFA foi de 3:1 com base na mesma proporção destes dois materiais nas formulações de hidrogel (codificada como PVAS1R) assim como das partículas (codificada com PVAS1Rp) com a menor relação mássica de sepiolita. A proporção mássica a mesma utilizada nas formulações dos hidrogéis e partículas com projeção futura da incorporação do material recristalizado obtido (híbrido RIFA/SEP) diretamente ao sistema polimérico estudado nos itens anteriores (itens 5.2 e 5.3).

Os materiais recristalizados obtidos tiveram seus rendimentos calculados (Tabela 5.35) e foram também caracterizados (discussão no item a seguir). Assim como no item 5.4.2, o pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização modificado foram monitorados e encontram-se listados na Tabela 5.36.

Tabela 5.35 – Rendimentos do processo de recristalização

Amostra	Agente dispersante	Rendimento % p/p	Perda de rifampicina % p/p*
Cris09	Sepiolita em LI	59,79	45,58
Cris10	Sepiolita em TP	61,04	40,61
Cris12	HPMC 0,1% em TP	46,43	45,66
Cris 15	HPMC 0,5% em TP	49,10	45,29

\*referente às perdas de rifampicina para os meios sobrenadantes  
(meio reacional e lavagens com tampão fosfato e água)

Tabela 5.36 – Resultados de pH dos sobrenadantes das diferentes etapas do processo de recristalização modificada (medições realizadas entre 25 e 28 °C)

Amostra	Etapas do processo		
	Após centrifugação	Após lavagem com tampão fosfato	Após lavagem com água
Cris09	6,0	6,7	7,0
Cris10	6,0	6,7	7,1
Cris12	6,5	7,0	7,4
Cris 15	6,6	6,8	7,1

A faixa de pH de trabalho mostrou-se entre 6,0 e 7,4, e também próximas à neutralidade assim como o material recristalizado obtido pelo processo convencional, sem uso de dispersantes.

#### 5.4.6. Caracterização da rifampicina recristalizada modificada

##### 5.4.6.1. Morfologia

Em termos de morfologia as partículas geradas a partir do processo de cristalização modificado (com uso de dispersantes) não foi muito diferente do aspecto morfológico do material recristalizado obtido pelo processo tradicional. Observou-se também partículas sem forma específica e aglomeradas. Para as amostras Cris 09 e 10 além do aspecto aglomerado das partículas de rifampicina, observou-se também a presença de agulhas de sepiolita, a qual foi recuperada junto com o material recristalizado ao final do processo, pelo fato de não se solubilizar no meio reacional. O fato de ainda assim se observar partículas aglomeradas se deve, provavelmente, ao tempo de agitação do sistema e também a etapa de secagem em estufa. As demais fotomicrografias obtidas por MEV (Figuras 5.76 até 5.79) encontram-se a seguir e estão organizadas por ordem de magnificação  $a < b < c$ , onde pode-se observar nas menores magnificações o aspecto das partículas aglomeradas assim como na maior magnificação, formas tais como já descritas para Figura 5.64b.

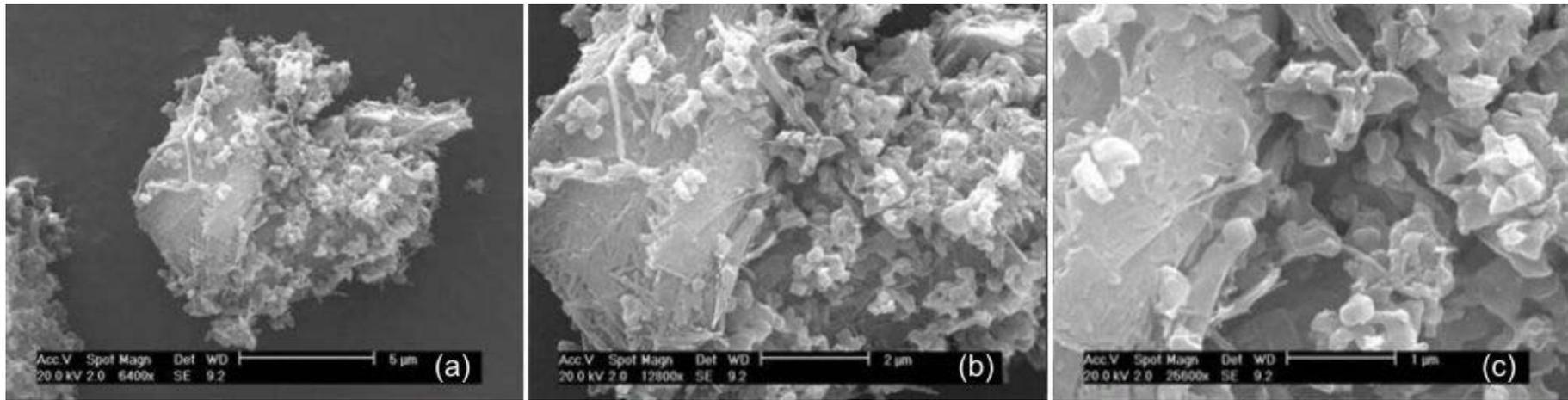


Figura 5.76. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 09 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, sepiolita em LI) por ordem de magnificação.

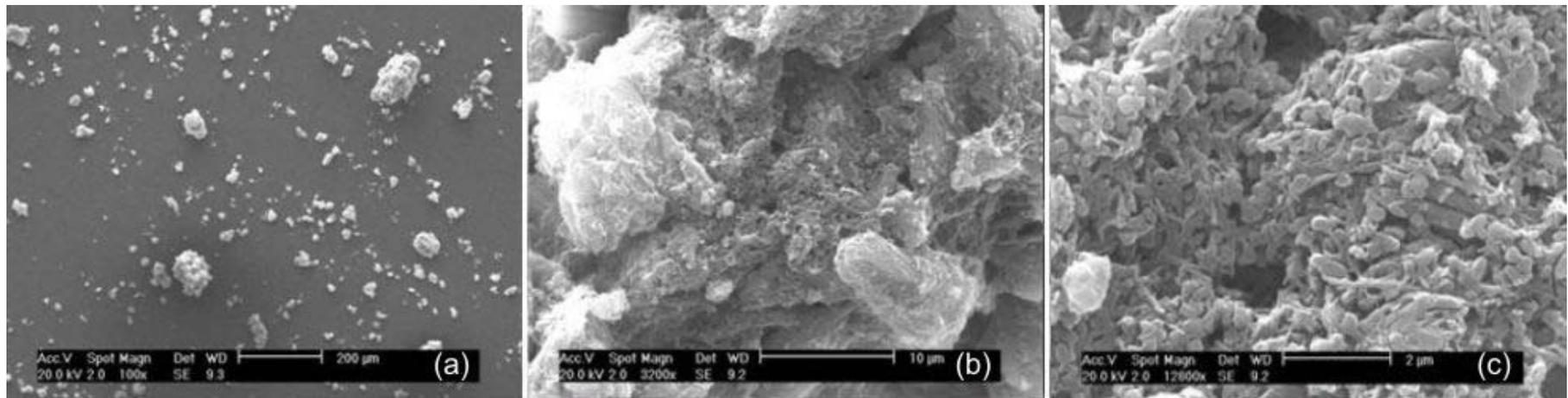


Figura 5.77. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 10 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, sepiolita em tampão fosfato) por ordem de magnificação.

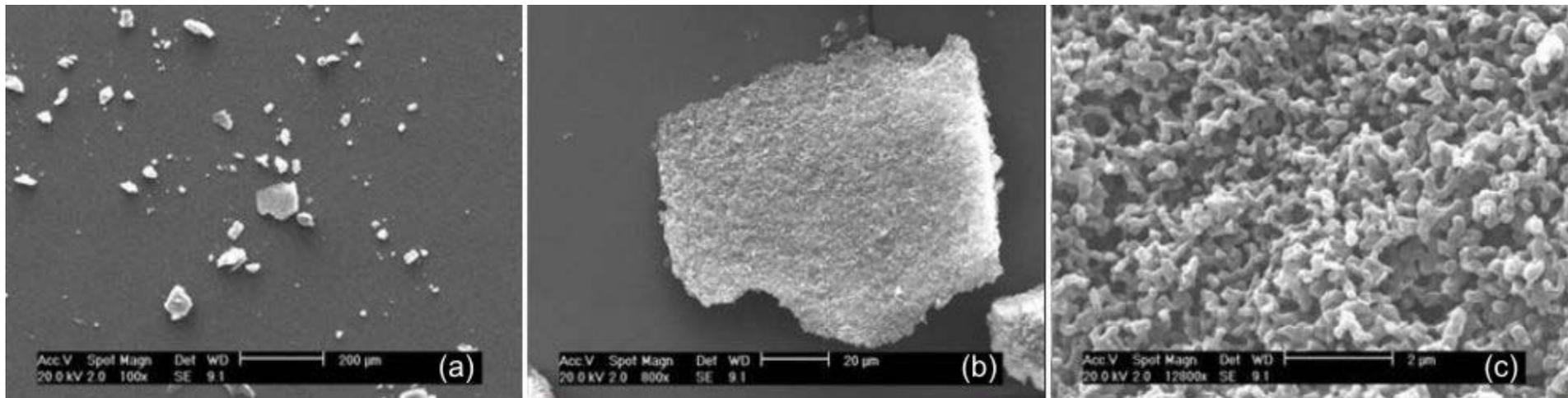


Figura 5.78. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 12 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, HPMC 0,1% em tampão fosfato) por ordem de magnificação.

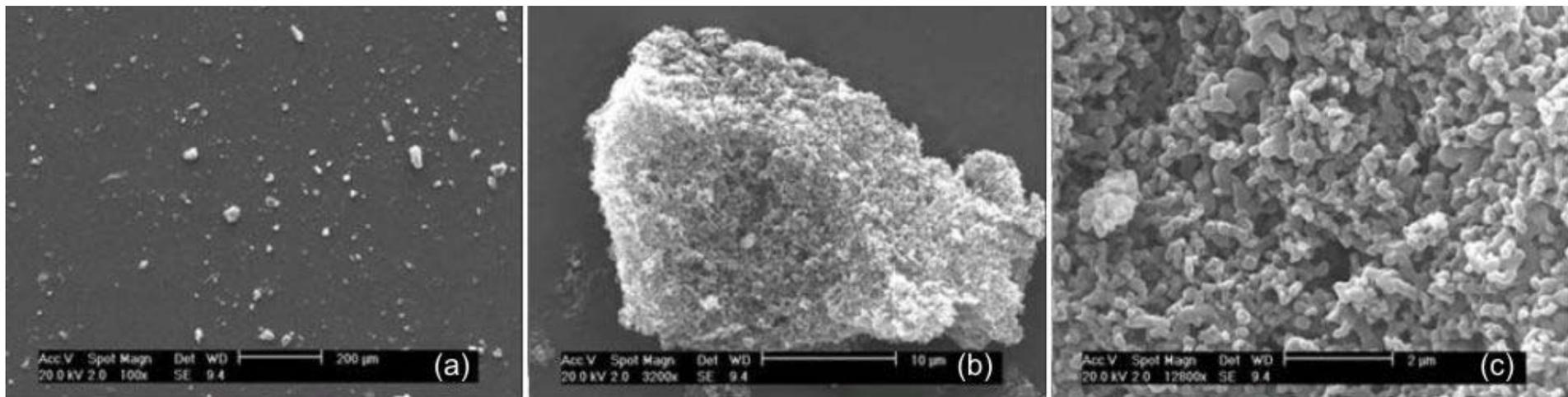


Figura 5.79. Fotomicrografias obtidas por MEV do experimento Cris 15 (condições: LI/TP 1:5, 4 h de agitação, HPMC 0,5% em tampão fosfato) por ordem de magnificação.

#### 5.4.6.2. Análise granulométrica

A tabela 5.37 mostra os resultados de diâmetro médio de algumas amostras de material recristalizado obtidas pelo processo modificado de cristalização. Os diâmetros obtidos foram maiores que para o material recristalizado pelo processo tradicional, porém tal fato deve estar associado à característica de aglomeração que ainda assim estes materiais possuem.

Tabela 5.37. Resultados de diâmetro médio das amostras de rifampicina recristalizadas pelo processo modificado.

Amostra	dp (nm)
Cris10	433,5
Cris12	310,5
Cris 15	353,3

\*dp = diâmetro médio

#### 5.4.6.3. Difração de Raios X – DRX

O perfil de DRX das amostras recristalizadas Cris 12 e 15 apresentadas na Figura 5.80 foi similar ao perfil obtido para a amostra Cris 14 (proveniente da cristalização tradicional), ou seja, o material obtido também se encontra no estado amorfo e a presença do agente dispersante HPMC não alterou esta característica.

O perfil de DRX das amostras recristalizadas Cris 09 e 10 também apresentados na Figura 5.79 foi bem diferente do perfil da amostra Cris 14. A presença de sepiolita misturada com o material recristalizado é evidenciada pelo difratograma (Figura 5.80), pois observa-se o pico característico de sepiolita em  $2\theta$  de  $7,5^\circ$  conforme ilustrado na Figura 5.10. Nenhum pico referente à rifampicina pode ser observado sugerindo-se que a mesma encontra-se no estado amorfo.

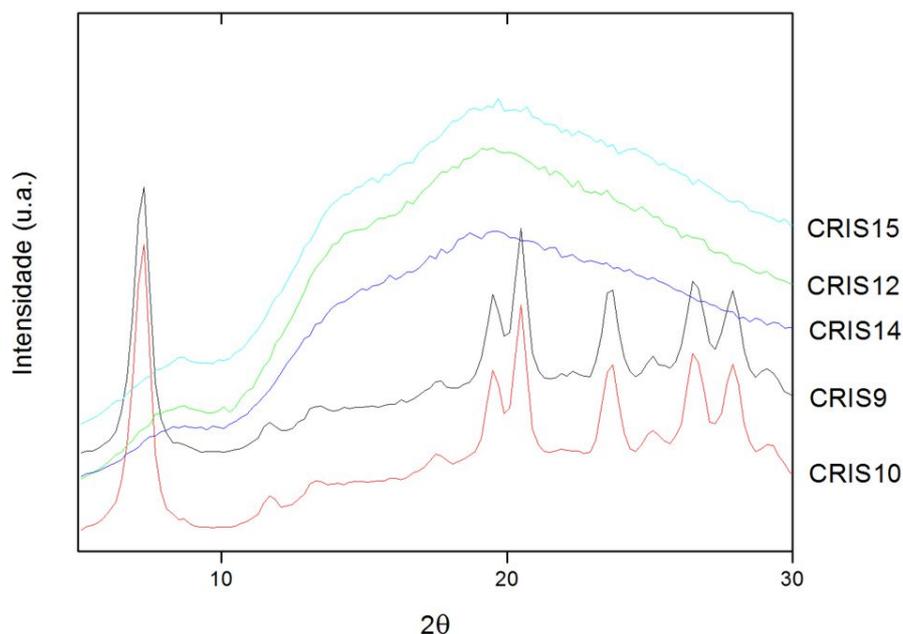


Figura 5.80. Perfil de DRX dos experimentos de recristalização pela técnica do anti-solvente modificada pelo adição de agentes dispersantes em comparação ao material recristalizado obtido pelo processo tradicional (amostra Cris14).

#### 5.4.6.4. Teor de água

As partículas recristalizadas obtidas pelo processo modificado apresentaram um teor de água entre 6% e 11% como mostrado na Tabela 5.38.

Tabela 5.38. Resultados de teor de água das amostras recristalizadas obtidas pelo processo modificado.

Amostra	Teor de água (%)*
Cris09	8,57
Cris10	9,43
Cris12	5,94
Cris 15	11,32

\*O desvio aceitável da análise foi ajustado para 0,3 %.

As amostras Cris 09 e 12 apresentaram teores de umidade bem similares às amostras obtidas pelo processo tradicional. As amostras Cris 10 e 15 já apresentaram valores de umidade maiores. Para a amostra Cris 10 sugere-se que isso se deve a presença da argila sepiolita que possui característica absorvente de água e neste experimento estas agulhas de sepiolita devem estar mais disponíveis pelo fato de terem sido adicionadas no anti-solvente, aumentando a afinidade do material pela umidade do ar. Para a amostra Cris 15 a maior concentração (0,5%) de HPMC (polímero hidrofílico) pode alterar a afinidade do material com a água assim como a umidade do ar.

#### 5.4.6.5. Teor de rifampicina

A Tabela 5.39 mostra os resultados de teor de rifampicina em base seca das amostras recristalizadas via processo modificado obtidos por espectrofotometria de UV-Vis.

Tabela 5.39. Resultados de Teor de rifampicina em base seca nas amostras recristalizadas pelo processo modificado

Amostra	Teor (%p/p)	Desvio padrão
Cris09	57,10	2,41
Cris10	57,38	1,87
Cris12	90,70	2,98
Cris 15	97,76	0,89

Os teores para as amostras Cris 12 e 15 encontram-se entre 90 e 98 % p/p faixa bem próxima dos resultados de teores obtidos para os materiais recristalizados pelo processo tradicional. Os teores obtidos para as amostras Cris09 e 10 mostram-se em torno de 57 % p/p. O baixo teor de rifampicina nestas amostras é em função do efeito diluição que as partículas de sepiolita exerceram nestas misturas, já que a mesma é recuperada junto com a

rifampicina ao final do processo de recristalização. No entanto entre as amostras o desvio foi bem pequeno, o que significa uma boa reprodutibilidade dos processos de recristalização independente de onde se adiciona o agente dispersante.

#### 5.4.6.6. Perfil cinético de dissolução (*in vitro*)

Os materiais recristalizados obtidos pelo processo modificado foram caracterizados pelo teste de dissolução. A partir da Figura 5.81 podemos concluir que as partículas obtidas em presença de HPMC no processo anti-solvente dissolvem mais facilmente do que aquelas obtidas sem HPMC (processo tradicional) e mais ainda se comparados com a RIFA de origem. Isto pode ser explicado pelo fato que o HPMC aumentar a afinidade da partícula pela água melhorando sua dispersão quando em contato com o meio de dissolução. O efeito é discretamente maior quando se utiliza a concentração de 0,5 %.

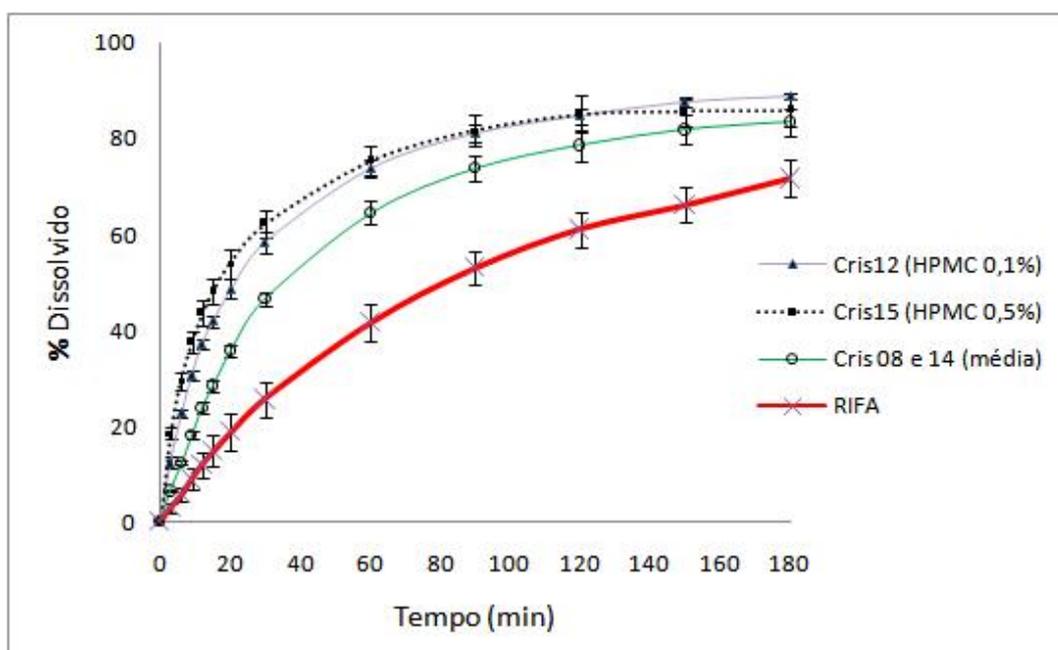


Figura 5.81. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada, obtida com (Cris 12 e 15 - condições experimentais: 4h, LI:TP de 1:5)) e sem HPMC (média dos experimentos Cris 08 e 14) no anti-solvente (tampão fosfato) em comparação com a RIFA de partida.

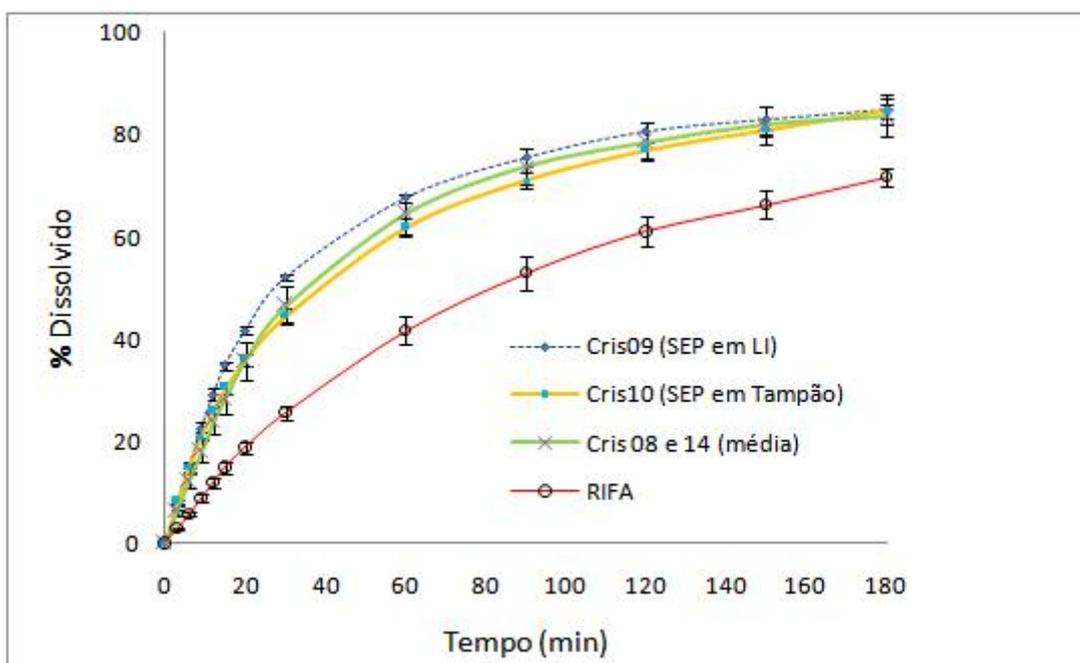


Figura 5.82. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada em presença de sepiolita (em líquido iônico ou em tampão fosfato) em comparação ao material obtido pelo processo de cristalização tradicional (média dos experimentos Cris 08 e 14) e RIFA de origem.

A Figura 5.82 mostra que a presença de sepiolita no sistema afeta a formação das partículas de rifampicina, melhorando sua dissolução. As hipóteses testadas basearam-se na possibilidade da sepiolita, por um lado servir de suporte aos cristais de rifampicina imediatamente após a formação dos mesmos (quando incorporada no líquido iônico em presença da rifampicina em solução) evitando assim a formação de aglomerados; por outro lado, este mesmo efeito poderia ser obtido estando a sepiolita previamente dispersa no tampão fosfato. A dissolução das partículas é melhorada de forma praticamente independente da incorporação da rifampicina no sistema, apesar de uma aparente tendência de aumento deste efeito pela incorporação da sepiolita no líquido iônico.

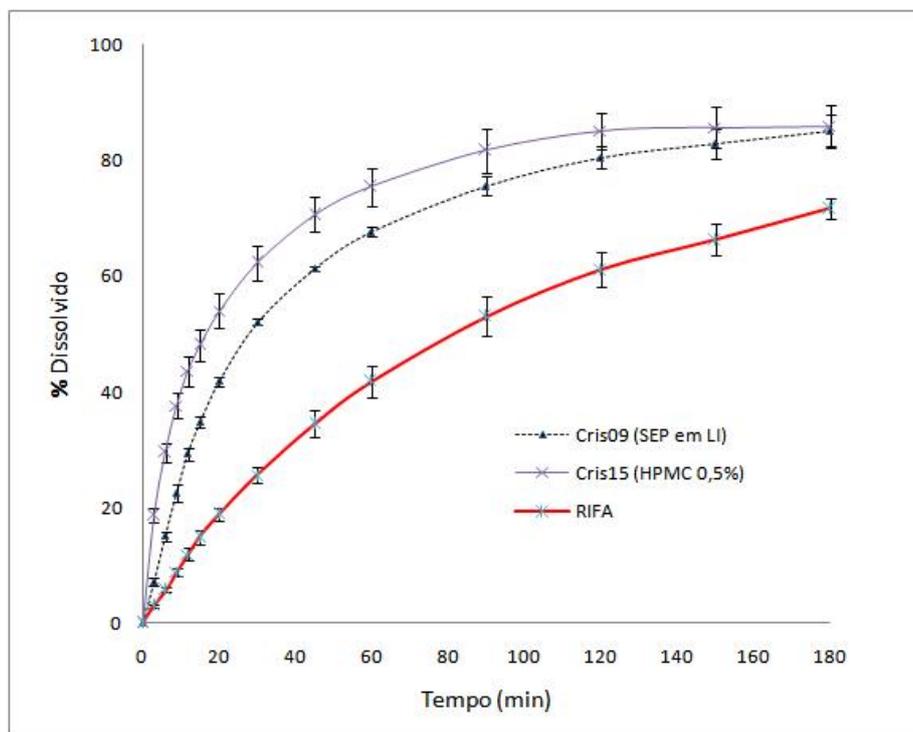


Figura 5.83. Perfil cinético de dissolução da rifampicina recristalizada em presença de sepiolita em líquido iônico (Cris 09) e em presença de HPMC (0,5% em tampão fosfato – Cris 15) comparados a RIFA de origem.

A partir da Figura 5.83 pode-se concluir que as duas estratégias de agentes dispersantes (sepiolita no líquido iônico e HPMC 0,5% em tampão fosfato) são boas para o processo de dissolução da rifampicina em água. Estes resultados, embora preliminares, abrem uma possibilidade de preparação de materiais híbridos de formulação base idêntica à utilizada nos sistemas hidrogéis e nas partículas híbridas obtidas por *spray-drying* (PVA-sepiolita-rifampicina) partindo-se do fármaco já associado à sepiolita pelo método de recristalização apresentado neste trabalho. Tal procedimento não existe ainda descrito na literatura.

Para o estudo da cinética de dissolução desta parte do trabalho, foram aplicados os modelos de Hixson-Crowell e o modelo de primeira ordem (vide Tabela 4.2). O modelo de primeira ordem descreve a liberação de sistemas para os quais a velocidade de dissolução é dependente da concentração do fármaco que se dissolve. Alguns autores têm utilizado o modelo de primeira ordem como método de comparação modelo dependente de perfis de

dissolução de formas farmacêuticas sólidas de liberação convencional (Ishi, 1996), dentre estas, comprimidos de liberação imediata (Serra, 2007).

O modelo de Hixson-Crowell (Hixson, 1931) propõe que a velocidade de liberação é limitada pela velocidade de dissolução das partículas do fármaco. Este modelo tem sido usado para descrever o perfil de liberação tendo em vista a diminuição da superfície das partículas de fármaco à medida que a dissolução ocorre. Outros parâmetros relativos à cinética de dissolução como constante de velocidade de dissolução ( $k$ ), meia-vida de dissolução ( $t_{50\%}$ ) e porcentagem liberada em 45 min ( $Q_{45}$ ) também foram calculados. A Tabela 5.39 mostra o ajuste destes dois modelos para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo comparados a RIFA de partida. Observou-se valores de  $r$  muito próximos ( $>0,983$ ), mostrando que os dados experimentais se ajustam a ambos os modelos (Tabela 5.40).

Tabela 5.40. Modelo de liberação segundo o coeficiente de correlação ( $r$ ) para as partículas recristalizadas.

Amostra	Modelo de liberação	
	Primeira ordem	Hixson-Crowell
RIFA	0,999	0,999
RECRIS*	0,999	0,999
Cris12	0,992	0,988
Cris15	0,988	0,983
Cris09	0,999	0,998

\*RECRIS – média dos resultados de dissolução dos experimentos Cris08 e 14.

A partir desta análise, pode-se concluir que, no caso das partículas de rifampicina recristalizada, a liberação do fármaco é imediata (convencional), no entanto, a etapa de dissolução é a etapa limitante deste processo de liberação do fármaco em meio aquoso. As Figuras 5.84 e 5.85 mostram respectivamente o ajuste dos modelos de primeira ordem e Hixson-Crowell para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.

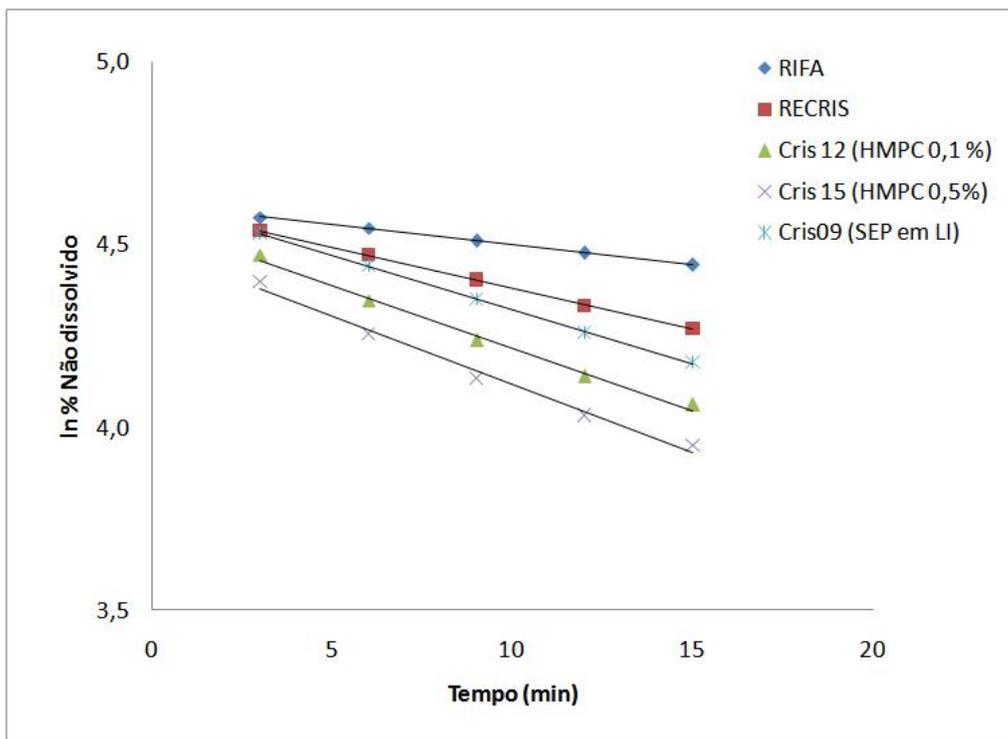


Figura 5.84. Aplicação do modelo matemático de primeira ordem aos perfis de liberação *in vitro* para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.

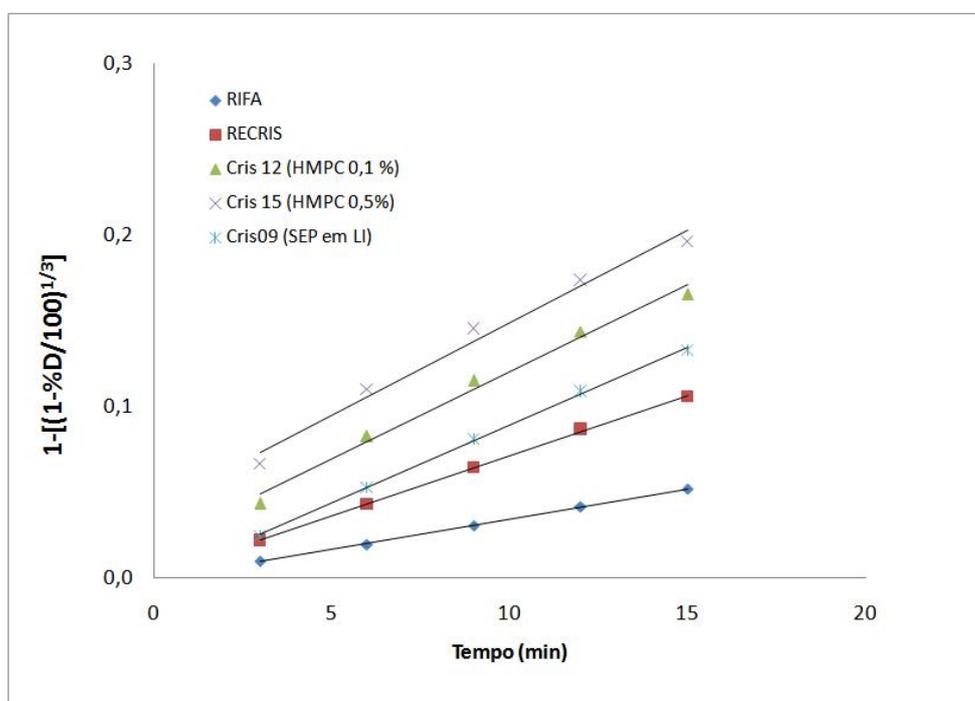


Figura 5.85. Aplicação do modelo matemático de Hixson-Crowell aos perfis de liberação *in vitro* para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.

A partir do modelo de primeira ordem e de Hixson-Crowell foram determinados os valores de k para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo (Tabela 5.41).

Tabela 5.41. Valores de k e equações de regressão a partir dos modelos de primeira ordem e Hixson-Crowell para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.

Amostra	Modelos			
	Primeira ordem		Hixson-Crowell	
	k (min <sup>-1/2</sup> )	Equações de regressão *	k (min <sup>-1/2</sup> )	Equações de regressão **
RIFA	-0,011	y = -0,011x + 4,609	0,003	y = 0,003x - 0,001
RECRIS*	-0,022	y = -0,022x + 4,607	0,007	y = 0,007x + 0,001
Cris12	-0,034	y = -0,034x + 4,559	0,010	y = 0,010x + 0,018
Cris15	-0,037	y = -0,037x + 4,490	0,010	y = 0,010x + 0,041
Cris09	-0,029	y = -0,029x + 4,618	0,009	y = 0,009x - 0,001

k = constante de velocidade de dissolução.

\* x = t e y = ln % Não dissolvido

\*\* x = t e y = 1-[(1-%Dissolvido/100)<sup>1/3</sup>]

Embora os valores de k não possam ser utilizados para comparação direta uma vez que os mesmos variam consideravelmente entre os modelos cinéticos, sua importância está no fato de que são empregados nos cálculos de t<sub>50%</sub> (meia vida de dissolução). Este último é de extrema importância, na medida em que se estabelece o tempo necessário para que 50% do fármaco esteja dissolvido. Assim, para produtos nos quais a liberação do fármaco é mais rápida, os valores de t<sub>50%</sub> serão mais baixos.

Com base nos parâmetros obtidos pela cinética de Hixson-Crowell (modelo mais próximo do que representa fisicamente o processo de dissolução das partículas recristalizadas obtidas neste trabalho) calculou-se o tempo médio necessário para dissolução de 50% (t<sub>50%</sub>) da rifampicina presente nas diferentes amostras geradas assim como Q<sub>45</sub> (quantidade % de rifampicina dissolvida aos 45 minutos) (Tabela 5.42). O tempo de 45 minutos foi escolhido com base na Farmacopéia Americana (USP) que descreve para formas

farmacêuticas sólidas de liberação imediata contendo rifampicina uma especificação para o ensaio de dissolução de  $Q_{45} \geq 80\%$ <sup>3</sup>, apesar de utilizar condições de dissolução diferentes das desenvolvidas neste trabalho.

Tabela 5.42. Valores médios (n=3) dos parâmetros de dissolução a partir do modelo Hixson-Crowell para alguns dos experimentos de melhores resultados obtidos neste estudo.

Amostra	$t_{50\%}$ (min)	$Q_{45}$ (%)
RIFA	68,4	35,50
RECRIS*	29,3	68,00
Cris12	18,8	84,94
Cris15	16,5	86,81
Cris09	22,8	79,04

$t_{50\%}$  = meia-vida de dissolução, ou seja, tempo no qual se dissolvem 50% da rifampicina.

$Q_{45}$  = quantidade de rifampicina dissolvida aos 45 minutos.

Com base no parâmetro  $t_{50\%}$  observa-se que os materiais recristalizados na presença de HPMC dissolvem a rifampicina no menor espaço de tempo. Em seguida teríamos o material recristalizado com sepiolita (quando incorporada em líquido iônico), seguido do material somente submetido à recristalização tradicional sem uso de agentes dispersantes. RIFA como já se esperava (vide item 5.1.1.7) apresentou o pior valor de  $t_{50\%}$ . Com base no parâmetro  $Q_{45}$  as amostras Cris 12, 15 e 09 mostram-se promissoras na sua utilização direta em formulações sólidas orais, visto ao seu bom desempenho de dissolução no tempo estabelecido da USP.

<sup>3</sup> O valor de Q é encontrado nas monografias de dissolução da USP e define-se como o percentual mínimo liberado a partir da dosagem declarada de fármaco na forma farmacêutica num intervalo de tempo determinado.

## 6. CONCLUSOES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que as três estratégias tecnológicas que foram investigadas (hidrogéis nanocompósitos obtidos por *casting*, partículas híbridas de PVA/argilas obtidas por *spray-drying* e a diminuição ao nível nanométrico do tamanho do fármaco modelo influenciaram a velocidade de dissolução da rifampicina.

Quanto aos sistemas hidrogéis, estes foram utilizados neste trabalho como ferramenta de estudo das formulações PVA/argila/RIFA e não como tecnologia escalonável para a indústria farmacêutica.

O estudo permitiu a obtenção de informações valiosas com relação ao efeito da composição química e estrutura física destes sistemas nanocompósitos nas características funcionais dos hidrogéis como a capacidade de liberação de uma substância ativa neles contido (no caso, o fármaco rifampicina).

Além disso, comprovou-se que estes hidrogéis apresentam um elevado grau de dispersão das argilas na matriz de PVA, com elevada característica de sistema nanocompósito.

Dependendo da argila utilizada, constatou-se efeitos diferentes nas estruturas dos hidrogéis e respostas diferentes de desempenho na liberação da rifampicina:

- A sepiolita permite melhor liberação da rifampicina pelo fato do fator de forma desta argila permitir um aumento significativo no volume livre local e conseqüentemente na dinâmica molecular das cadeias de PVA (com diminuição dos valores de  $T_g$ ), além disso, os sistemas contendo sepiolita apresentaram maior tamanho de malha em função de interações menos intensas entre esta argila e a matriz polimérica.

- A montmorilonita proporcionou os piores resultados de dissolução para rifampicina, pois apresentaram valores de tamanho de malha menores e interações mais intensas com a matriz polimérica.

Quanto às partículas híbridas estudadas também comprovou-se que estas comportam-se de forma diferente de uma simples mistura física dos componentes como comprovado pelos testes de dissolução *in vitro*:

- As partículas contendo sepiolita apresentaram os melhores resultados de dissolução de rifampicina pelo fato de possuírem pequenos valores de tamanhos cristalinos médios (L) sendo assim menor barreira à difusão do fármaco do sistema polimérico.

- As partículas contendo montmorilonita apresentaram os piores resultados de dissolução de rifampicina, acarretado pelo estado aglomerado das partículas (o que pode ser observado pela variação dos tamanhos de partícula médios destas formulações) e, conseqüentemente, diminuindo sua área de contato com o meio e também pelo fato de possuírem grau de cristalinidade ( $X_c$ ) variável entre as amostras.

Os sistemas em partículas se mostraram interessantes uma vez que geram estrutura que permite controlar a velocidade de dissolução da rifampicina. Estas partículas poderiam contribuir como material de partida para formulações farmacêuticas de uso oral já que melhoram as características físico-químicas como a molhabilidade do fármaco modelo. Restam às partículas problemas tecnológicos associados ao controle de aglomeração.

Uma nova forma de apresentação do fármaco foi explorada neste trabalho, inovando-se o processo (utilizando líquidos iônicos como solvente) e na forma de apresentação da rifampicina (nanocristais). Os resultados mais significativos foram:

- Redução do tamanho do fármaco para escala nanométrica melhorando assim as propriedades de solubilidade e cinética de dissolução.

- Alteração da estrutura cristalina do fármaco (amorfização) também favorecendo os parâmetros citados acima.

- Possibilidade de controle do tamanho dos cristais pela presença de agentes estabilizantes (dispersantes) como o HPMC e argilas (sepiolita).

Os estudos de recristalização, embora ainda preliminares, abrem uma possibilidade de preparação de materiais híbridos (PVA-sepiolita-rifampicina) partindo-se de cristais associados à sepiolita pelo método de recristalização estudado, o que poderia ser explorado na continuidade desta linha de investigação. Nenhum trabalho similar de associação destas argilas a um fármaco durante sua recristalização foi identificado na literatura.

## 7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Realizar estudo mais aprofundado quanto à melhoria da aglomeração das partículas híbridas obtidas por *spray-drying*.

Realizar estudo da estabilidade da rifampicina recristalizada.

Uma vez apresentando a nova rifampicina (recristalizada) uma solubilidade maior em meio aquoso, otimizar a incorporação de um teor mais alto de fármaco nos sistemas poliméricos, facilitando assim a caracterização e investigação dos sistemas nanocompósitos obtidos, pois permitiria também o estudo em diferentes concentrações de PVA e argilas.

Realizar medidas de espalhamento de raios X a baixo ângulo (SAXS), de modo a acessar regiões que possam dar indicações do grau de dispersão e do tamanho dos domínios cristalinos do PVA e das partículas de argila.

Obtenção de imagens por microscopia eletrônica de transmissão (TEM) dos sistemas hidrogéis e das partículas, de modo complementar os estudos de morfologia para caracterização de sistemas nanoestruturados.

Realizar microscopia Raman dos sistemas hidrogéis e das partículas, na busca de uma melhor discriminação dos componentes da formulação, principalmente quanto a dispersão das argilas e do fármaco rifampicina na matriz polimérica de PVA.

Avaliar a citotoxicidade dos sistemas poliméricos obtidos, de modo a confirmar sua utilização como biomaterial compatível.

## 8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDOU, H.M. Dissolution. In: Remington: **The science and practice of pharmacy**. 19. ed. Easton: Mack Publishing Company, v.1, p.593-604, 1995.

ADAMSON, A.W. **Physical Chemistry of Surfaces**. California: A Wiley Interscience Publication, 1990.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P.V.; PILLAI, O.; PACHAGNULA, R. Solid-state characterization of rifampicin sample and its biopharmaceutic relevance. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v.22, p.27-144, 2004.

AGRAWAL, S.; PANCHAGNULA, R. Implication of Biopharmaceutics and Pharmacokinetics of Rifampicin in Variable Bioavailability from Solid Oral Dosage Forms. **Biopharmaceutics & Drug Disposition**, v.26, p.321-334, 2005.

AGUZZI, C.; CEREZO, P.; VISERAS, C.; CARAMELLA, C. Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations. **Applied Clay Science**, v.36, p.22–36, 2007.

AIN, Q.; SHARMA, S.; GARG, S.K.; KHULLER, G.K. Role of poly [DL-lactide-co-glycolide] in development of a sustained oral delivery system for antitubercular drug(s). **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.239, n.1-2, p.37-46, 2002.

ALEXANDRE, M.; DUBOIS, P. Polymer-layered silicate nanocomposites – preparation, properties and uses of a new class of materials. **Materials Science and Engineering**, v.28, p.1-63, 2000.

ALKAN, M.; BENLIKAYA, R. Poly(vinyl alcohol) Nanocomposites with Sepiolite and Heat-Treated Sepiolites. **Journal of Applied Polymer Science**, v.112, p.3764–3774, 2009.

ANTHONY, J.L. MAGINN, E.J.; BRENNECKE, J.F. Solution Thermodynamics of Imidazolium-Based Ionic liquids and Water. **Journal of Physical Chemistry B**, v.105, p.10942-10949, 2001.

AMBRUS, R.; KOCBEK, P.; KRISTL, J.; SIBANC, R.; RAJKÓ, R.; SZABÓ, R.P. Investigation of preparation parameters to improve the dissolution of poorly water-soluble meloxicam, **International Journal of Pharmaceutics**, v.381, p.153–159, 2009.

BANDI, S.; SCHIRALDI, D.A. Glass Transition Behavior of Clay Aerogel/Poly(vinyl alcohol) Composites . **Macromolecules**, v.39, p.6537-6545, 2006.

BANDYOPADHYAY, A.; DE SARKAR, M.; BHOWMICK, A. Poly(vinyl alcohol)/silica hybrid nanocomposites by sol-gel technique: Synthesis and properties. **Journal of Materials Science**, v.40, p.5233-5241, 2005.

BARAS, M.; BENOIT, R.; POULAIN-GODEFROY, S.; SCHACHT, CAP T.; RON, S.; GILLARD, M.R.; RIVEAU, E. Vaccine properties of antigens entrapped in microparticles produced by spray drying technique and using various polyester polymers. **Vaccine**, v.18, p.1495-1505, 2000.

BARROW, E.L.; WINCHESTER, G.A.; STAAS, J.K.; QUENELLE, D.C.; BARROW, W.W. Use of microsphere technology for targeted delivery of rifampin to *Mycobacterium tuberculosis*-infected macrophages. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.42, p.2682-2689, 1998.

BENVENUTTI, E.V.; MORO, C.C.; COSTA, T.M.H. Materiais híbridos à base de sílica obtidos pelo método sol-gel. **Química Nova**, v.32, n.7, p.1926-1933, 2009.

BILLON, D.; BATAILLE, O.; CASSANAS, L.; JACOB, B.F. Development of spray-dried acetaminophen: Microparticles using experimental designs. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.203, p.159-168, 2000.

CARRIER, R.L.; MILLER, L.A.; AHMED, M. The utility of cyclodextrins for enhancing oral bioavailability. **Journal of Controlled Release**, v.123, p.78-99, 2007.

CASCONE, M.G.; MALTINI, S.; BARBANI, N. Effect of chitosan and dextran on the properties of poly(vinyl alcohol) hydrogels. **Journal of Materials Science: Materials in Medicine**, v.10, p.431-435, 1999.

CENDOYA, I.; LÓPEZ, D.; ALEGRÍA, A.; MIJANGOS, C. Dynamic and dielectrical properties of poly(vinyl alcohol) and poly(vinyl alcohol)-based nanocomposites. **Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics**, v.39, p.1968-1975, 2001.

CHANG, J.H.; JANG, T.G.; IHN, K.J.; LEE, W.K.; SUR, G.S. Poly(vinyl alcohol) Nanocomposites with Different Clays: Pristine Clays and Organoclays. **Journal of Applied Polymer Science**, v.90, p.3208-3214, 2003.

CHASSAING, C.; BERGER, M.; HECKEROTH, A.; ILG, T.; JAEGER, M.; KERN, C.; SCHMID, K.; UPHOFF, M. Highly water-soluble prodrugs of anthelmintic benzimidazole carbamates: Synthesis, pharmacodynamics, and pharmacokinetics. **Journal of Medicinal Chemistry**, v.51, p.1111-1114, 2008.

CHEN, H.; ZHENG, M.; SUN, H.; JIA, Q. Characterization and properties of sepiolite/polyurethane nanocomposites. **Materials Science and Engineering: A**, p.445-446, p.725-730, 2007.

CHOUDHURY, A. K.; BHOWMICK, C.O. Novel role of polymer-solvent and clay-solvent interaction parameters on the thermal, mechanical and optical properties of polymer nanocomposites. **Polymer**, v.50, p.201-210, 2009.

CIRRI, M.; MAESTRELLI, F.; CORTI, G.; FURLANETTO, S.; MURA, P. Simultaneous effects of cyclodextrin complexation, pH and hydrophilic polymer on naproxen solubilization. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.42, p.126-131, 2006.

COELHO, A.C.V.; SANTOS, P.S.; SANTOS, H.S. Argilas especiais: argilas quimicamente modificadas – uma revisão. **Química Nova**, v. 30, n. 5, p. 1282-1294, Julho 2007.

CONNORS, K.A.; AMIDON, G.L.; STELLA, V.J. **Chemical Stability of Pharmaceuticals - A Handbook for Pharmacists - 2<sup>a</sup> Edition**. Wiley Interscience, p.728, 1986.

DARBANDI, M.A.; ROUHOLAMINI, N.A.; GILANI, K.; TAJERZADEH, H. The effect of vehicles on spray drying of rifampicin inhalable microparticles: In vitro and in vivo evaluation. **Daru**, v.16, n.3, p.128-135, 2008.

DEKKER, T.G.; LOTTER, A.P. Anti-tuberculosis 4FDC tablets-mystery to chemistry. **The international journal of tuberculosis and lung disease**, v.7, p.205-206, 2003.

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.

DIONÍSIO, M.; SOTOMAYOR, J. A Surface Chemistry Experiment Using an Inexpensive Contact Angle Goniometer, **Journal of Chemical Education**, v.77, n.1, p.59-62, 2000.

DITTMER, M.; FRICKE, S.; GERECKE, H.; OSTERWALD, H. Hot spin mixing: a new technology to manufacture solid dispersion – part 1: testosterone. **Pharmazie**, v.50, n.3, p. 225-226, 1995.

DOKOUMETZIDIS, A.; PAPADOPOULOU, V.; MACHERAS, P. Analysis of dissolution data using modified versions of Noyes-Whitney equation and the Weibull function. **Pharmaceutical Research**, v.23, n.2, p.256-261, 2006.

DUTT, M.; KHULLER, G.K. Chemotherapy of *Mycobacterium tuberculosis* infections in mice with a combination of isoniazid and rifampicin entrapped in poly(dL-lactide-co-glycolide) microparticles. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.47, n.6, p.829-35, 2001.

ENDE, M.T.A.; HARIHARAN, D.; PEPPAS, N.A. Factors influencing drug and protein transport and release from ionic hydrogels, **Reactive Polymers**, v.25, p.127-137, 1995.

ERMIS, A.J.; YUKSEL, P. Preparation of spray-dried microspheres of indomethacin and examination of the effects of coating on dissolution rates. **Journal of microencapsulation**, v.16, n.3, p.315-324, 1999.

ESMAEILI, F.; NASR, M.H.; MALEKSHAHI, M.R.; SAMADI, N.; ATYABI, F.; DINARVAND, R. Preparation and antibacterial activity evaluation of rifampicin-loaded poly lactide-co-glycolide nanoparticles. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v.3, p.161– 167, 2007.

FONSECA, M.G.; AIROLDI, C. Híbridos inorgânico-orgânicos derivados da reação de filossilatos com organossilanos. **Química Nova**, v.26, n.5, p.699-707, 2003.

FORNI, F.; IANNUCELLI, V.; COPPI, G.; BERNABEI, M.T. Effect of montmorillonite on drug release from polymeric matrices. **Archiv der Pharmazie**, v.322, n.11, p.789-793, 1989.

GAO L.; ZHANG, D.; CHEN, M. Drug nanocrystals for the formulation of poorly soluble drugs and its application as a potential drug delivery system. **Journal of Nanoparticle Research**, v.10, p.845–862, 2008.

GESSER, H.D. A Demonstration of Surface Tension and Contact Angle. **Journal of Chemical Education**, v.77, n.1, p.58-59, 2000.

GHEBREMESKEL, A.N.; VEMAVARAPU, C.; LODAYA, M. Use of surfactants as plasticizers in preparing solid dispersions of poorly soluble API: Selection of polymer–surfactant combinations using solubility parameters and testing the processability. **International Journal of Pharmaceutics**, v.328, p.119–129, 2007.

GOALARD, C. Etude physico-chimique du procede de dispersion des poudres libres et agglomerees em milieu liquide. 2005. Tese (Doutorado em Science des Procédés - Génie des procede) - L'institut National Polytechnique de Toulouse, 2005. Orientador: John A. Dodds.

GUINIER, A.; FOURNET, G. **Small-angle scattering of x-rays**. New York: John Wiley, 1955.

HANCOCK B.C.; ZOGRA G. Characteristics and significance of the amorphous state in pharmaceutical systems (review). **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.86, p.1-12, 1997.

HASSAN, C.M.; STEWART, J.E.; PEPPAS, N.A. Diffusional characteristics of freeze/thawed poly(vinyl alcohol) hydrogels: Applications to protein controlled release from multilaminate devices. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.49, p.161-165, 2000.

HE, A.; DAVIS, M.; ILLUM, J. Chitosan microspheres prepared by spray drying. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.187, p.53-65, 1999.

HEMENWAY, J.N.; ADDAE, K.N.; GUARINO, V.R.; STELLA, V.J. Preparation, characterization and in vivo conversion of new water-soluble sulfenamide prodrugs of carbamazepine. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.17, p.6629–6632, 2007.

HENRIQUE, C.M.; CERDA, M.P.; SARMENTO, S.B.S. Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.1, p.231-240, 2008.

HENWOOD, S.Q.; DE VILLIERS, M.M.; LIEBENBERG, W.; LOTTER, A.P. Solubility and dissolution properties of generic rifampicin raw materials. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.26, n.4, p.403-8, 2000.

HENWOOD, S.Q.; LIEBENBERG, W.; TIEDT, L.R.; LOTTER, A.P.; DE VILLIERS, M.M. Characterization of the solubility and dissolution properties of several new rifampicin polymorphs, solvates, and hydrates. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.27, n.10, p.1017-30, 2001.

HERMOSIN, M.C.; CORNEJO, J.; WHITE, J.L.; HEM, S.L. Sepiolite, a potencial excipient for drugs subject to oxidative degradation. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.70, n.2, p.189 – 192, 1981.

HOLBREY, J.D.; VISSER, A.E.; ROGERS, R.D. Solubility and salvation in ionic liquids. Ed. Wasserscheid P., Welton T. Ionic Liquids in Synthesis. **Green Chemistry**, p.68-81, 2003.

HUDDLESTON, J.G.; VISSER, A.E.; RICHERT, W.M.; WILLAUER, H.D.; BROKER, G.A.; ROGERS, R.D. Characterization and comparison of hydrophilic room temperature ionic liquids incorporating the imidazolium cation. **Green Chemistry**, v.3, p.156-164, 2001.

ICH. HARMONIZED TRIPARTITE GUIDELINE. Q6(A) Specifications : Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. 2000. Disponível em: [www.ich.org](http://www.ich.org). Acesso em: 20 de dezembro de 2009.

\_\_\_\_\_. \_\_\_\_\_. Q3B(R2) Impurities in new drug products. 2006. 12p. Disponível em: [www.ich.org](http://www.ich.org). Acesso em: 20 de dezembro de 2009.

ISHI, K.; SAITOU, R.; YAMADA, R.; ITAI, S.; NEMOTO, M. Novel approach determination of correlation between in vivo and in vitro dissolution using the optimization technique. **Chemical & Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v.44, n.8, p.1550-1555, 1996.

ITO, F.; MAKINO, K. Preparation and properties of monodispersed rifampicin-loaded poly(lactide-co-glycolide) microspheres , **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**, v.39, p.17–21, 2004.

ITO, F.; FUJIMORI, H.; HONNAMI, H.; KAWAKAMI, H.; KANAMURA, K.; MAKINO, K. Effect of polyethylene glycol on preparation of rifampicin-loaded

PLGA microspheres with membrane emulsification technique. **Colloids and Surfaces B: Biointerface**, v.66, p.65–70, 2008.

JAIN, R.K.; SHARMA, D.K.; JAIN, S.; KUMAR, S.; DUA, J.S. Studies on solid dispersions of nimesulide with pregelatinized starch. **Biosciences, biotechnology research Asia**, v.3, n.1a, p. 151-153, 2006.

JANSSENS, S.; HUMBEECK, J.V.; MOOTER, G.V.D. Evaluation of the formulation of solid dispersions by co-spray drying itraconazole with Inutec SP1, a polymeric surfactant, in combination with PVPVA 64. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n.70, p.500–505, 2008.

JINDAL, K.C.; CHAUDHARY, R.S.; SINGLA, A.K.; GANGWAL, S.S.; KHANNA, S. Dissolution test method for rifampicin-isoniazid fixed dose formulations. **Journal of Pharmaceutical & Biochemical Analysis**, v.12, p.493-497, 1994.

JINDAL, K.C.; CHAUDHARY, R.S.; SINGLA, A.K.; GANGWAL, S.S.; KHANNA, S. Effects of Buffers and pH on Rifampicin Stability. **Pharmazeutische Industrie**, v.57, n.5, p.420-422, 1995.

KARAVAS, E.; KTISTIS, G.; XENAKIS, A.; GEORGARAKIS, E. Effect of hydrogen bonding interactions on the release mechanism of felodine from nanodispersions with polyvinylpyrrolidone. **European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.63, p.103-114, 2006.

KARLSON, A.G.; ULRICH, J.A. Stability of rifampicin in Dimethylsulfoxide. **Applied Microbiology**, v.18, n.4, p.692-693, 1969.

KAWATRA, S.K.; BAKSHI, A.K.; RUSESKEY, M.T. The effect of viscosity on the cut (d50) size of hydrocyclone classifiers. **Minerals Engineering**, v.9, n.8, p.881-91, 1996.

KECK, C.; MULLER, R.H. Drug nanocrystals of poorly soluble drugs produced by high pressure homogenization. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.62, p.3–16, 2006.

KOELEMAN, H.A.; VANZYL, R.; STEYRI, N.; BONESCHANS, B.; STEYN, H.S. Influence of montmorillonite on the dissolution and bioavailability of phenytoin. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.16, n.5, p.795–805, 1990.

KOJDECKI, M.A.; BASTIDA, J.; PARDO, P.; AMOROS, P. Crystalline microstructure of sepiolite influence by grinding. **Applied Crystallography**, n. 38, p.888-889, 2005.

KOKABI, M.; SIROUSAZAR, M.; HASSAN, Z.M. PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing, **European Polymer Journal**, n.43, p.773–781, 2007.

KREUTER, J. Enhancement of the dissolution rate of 8-methoxypsoralen by adsorption to silica and montmorillonite. **Acta pharmaceutica fenn**, v.90, n.1, p.95–98, 1981.

KUMAR, K.N.A.; RAY, S.B.; NAGARAJA, V.; RAICHUR, A.M. Encapsulation and release of rifampicin using poly(vinyl pyrrolidone)-poly(methacrylic acid) polyelectrolyte capsules, **Materials Science & Engineering C**, v.29, n.8, p. 2508-2513, 2009.

LAGALY, G. Introduction: from clay mineral-polymer interactions to clay mineral-polymer nanocomposites. **Applied Clay Science**, v.15, p.1-9, 1999.

LEE, W.F.; FU, Y.T. Effect of Montmorillonite on the Swelling Behavior and Drug-Release Behavior of Nanocomposite Hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v.89, p.3652-3660, 2003.

LEE, W.F.; JOU, L.L. Effect of the intercalation agent content of montmorillonite on swelling behavior and drug release behavior of nanocomposite hydrogels. **Journal of Applied Polymer Science**, v.94, p.74-82, 2004.

LEPOITTEVIN, B.; DEVALCKENAERE, M.; PANTOUSTIER, N.; ALEXANDRE, M.; KUBIES, D.; CALBERG, C.; JÉRÔME, R.; DUBOIS, P. Poly( $\epsilon$ -caprolactone)/clay nanocomposites prepared by melt intercalation: mechanical, thermal and rheological properties. **Polymer**, v.43, p.4017-4023, 2002.

LIMA, A.C. Obtenção e caracterização de dispersões sólidas de praziquantel. p.83, 2006.

LIN, F.H.; LEE, Y.H.; JIAN, C.H.; WONG, J.; SHIEH, M.; WANG, C. A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. **Biomaterials**, v.23, p.1981–1987, 2002.

MA, J.; BILOTTI, E.; PEIJS, T.; DARR, J.A. Preparation of polypropylene/sepiolite nanocomposites using supercritical CO<sub>2</sub> assisted mixing. **European Polymer Journal**, v.43, p.4931-4939, 2007.

MANCA, M.L.; LOY, G.; ZARU, M.; FADDA, A.M.; ANTIMISIARIS, S.G. Release of rifampicin from chitosan, PLGA and chitosan-coated PLGA microparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.67, p.166-170, 2008.

MAJERIK, V.; CHARBIT, G.; BADENS, E.; HORVÁTH, G.; SZOKONYA, L.; BOSCH, N.; TEILLAUD, E. Bioavailability enhancement of an active substance by supercritical antisolvent precipitation. **Supercritical Fluids**, v.40, p.101-110, 2007.

MATSUYAMA, H.; TERAMOTO, M.; URANO, H. Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane. **Journal of Membrane Science**, v.126, p.151-160, 1997.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica.** P.127, 2003.

MARTINDALE **The Extra Pharmacopeia.** 31 ed. London: Royal Pharmaceutical Society, p.250-253, 2002.

MCCRUM, N.G.; READ, B.E.; WILLIAMS, G. **Anelastic and dielectric effects in polymeric solids.** Dover: New York, p. 327-343, 1991.

MCGINITY,, J.W.; HARRIS, M.R. Increasing dissolution rates of poorly soluble drugs by adsorption to montmorillonite. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.6 n.1, p.35–48, 1980.

MEHTA, S.K.; KAUR, G.; BHASIN, K.K. Analysis of tween based microemulsion in the presence of TB drug rifampicin, **Colloids and Surfaces B. Biointerfaces**, v.60, p.95-104, 2007.

MONKHOUSE, D.C.; LACH, J.L. Use of adsorbents in enhancement of drug dissolution I. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.61, n.9, p.1430–1435, 1972a.

MONKHOUSE, D.C.; LACH, J.L. Use of adsorbents in enhancement of drug dissolution II. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.61, n.9, p.1435–1441, 1972b.

MÜLLER, R.H.; JACOBS, C.; KAYSER, O. Nanosuspensions as particulate drug formulations in therapy: Rationale for development and what we can expect for the future. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v.47, p.3-19, 2001.

NAIMA, Z.; SIRO, T.; DORADO, GG.; MANUEL, J.; CHANTAL, C.; RENÉ, C.; JEROME, D. Interactions between carbamazepine and polyethylene glycol (PEG) 6000: characterisations of the physical, solid dispersed and eutectic mixtures. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.12, p.395–404, 2001.

OGATA, K.; KAWAKAGE, S.; OGIHARA, T. Poly(vinyl alcohol)-clay and poly(ethylene oxide)-clay blends prepared using water as solvent. **Journal of Applied Polymer Science**, v.66, p.573-581, 1997.

O'HARA, P.; HICKEY, A.J. Respirable PLGA microspheres containing rifampicin for the treatment of tuberculosis: manufacture and characterization. **Pharmaceutical Research**, v.17, p.955-961, 2000.

PANCHAGNULA, R.; AGRAWAL, S. Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects of variable bioavailability of rifampicin. **International Journal of Pharmaceutics**, v.271, p.1–4, 2004.

PANCHAGNULA, R.; BEDI, S.; YASVANTH, A. Polymorphism of Rifampicin in FDCs: Correlation with *in vitro* Dissolution Test. **Clinical Research and Regulatory Affairs**, v. 23, n.2, p.53-70, 2006a.

PANCHAGNULA, R.; BEDI, S.; YASVANTH, A. Rifampicin Dissolution: Polymorphism or Crystal Defects. **Clinical Research and Regulatory Affairs**, v. 23, n.2, p.71-83, 2006b.

PANCHAGNULA, R.; BHARDWAJ, V. Effect of amorphous content on dissolution characteristics of rifampicin. **Drug development and industrial pharmacy**, v.34, p.642-649, 2008.

PANDEY, R.; SHARMA, A.; ZAHOOR, A.; SHARMA, S.; KHULLER, G.K.; PRASAD, B. Poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticle-based inhalable sustained drug delivery system for experimental tuberculosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.52, p.981-986, 2003.

PAPADIMITRIOU, S.; BIKIARIS, D. Dissolution rate enhancement of the poorly water-soluble drug Tibolone using PVP, SiO<sub>2</sub>, and their nanocomposites as appropriate drug carriers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.35, n.9, p.1128–1138, 2009.

PARANHOS, C.M.; SOARES, B.G.; OLIVEIRA, R.N.; PESSAN, L.A. Poly(vinyl alcohol)/clay-based nanocomposite hydrogels: Swelling behavior and characterization. **Macromolecular materials and engineering**, v.292, n.5, p.620-626, 2007a.

PARANHOS, C.M.; SOARES, B.G.; MACHADO, J.C.; WINDMO LLER, D.; PESSAN, L.A. Microstructure and free volume evaluation of poly(vinyl alcohol) nanocomposite hydrogels. **European Polymer Journal**, V.43, P.4882–4890, 2007b.

PATEL, R.; MASNOON, N.M.; PATEL, M. Formulation strategies for improving drug solubility using solid dispersions. **Pharmaceutical Reviews**, v.7, n. 6, 2009.

PAUL, D.R.; ROBESON, L.M. Polymer nanotechnology: Nanocomposites. **Polymer**, v.49, p.3187–3204, 2008.

PELIZZA, G.; NEBULON, M.; FERRARI, P. Polymorphism of rifampicin. **Farmaco – Edizione Scientifica**, v.32(7), p.471-481, 1977.

PASQUARDINI, L.; LUNELLI, L.; VANZETTI, L.; ANDERLE, M.; PEDERZOLLI, C. Immobilization of cationic rifampicin-loaded liposomes on polystyrene for drug-delivery applications. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v.62, p.265–272, 2008.

PATOMCHAIWAT, V.; PAERATAKUL, O.; KULVANICH, P. Formation of Inhalable Rifampicin–Poly(l -lactide) Microparticles by Supercritical Anti-solvent

Process. **American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSciTech**, v.9, n.4, p.1119-1129, 2008.

PEPPAS, N.A. **Hydrogels in medicine and pharmacy**, volume 1. CRC Press Boca Raton, 1986.

PEPPAS, N.A.; BURES, P.; LEOBANDUNG, W.; ICHIKAWA, H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, n.50, p.27-46, 2000.

PINNAVAIA, T.J. Intercalated clay catalysts. **Science**, v.220, p.365-371, 1983.

PRABAKARAN, D.; SINGH, P.; JAGANATHAN, K.S.; VYAS, S.P. Osmotically regulated asymmetric capsular systems for simultaneous sustained delivery of anti-tubercular drugs. **Journal of controlled release**, v.95(2), p.239-248, 2004.

PRIOR, H.; GAMAZO, Y.; IRACHE, K.; MERKLE, J.C.; GANDER, T. Gentamicin encapsulation in PLA/PLGA microspheres in view of treating Brucella infections. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.196, p.115-125, 2000.

RAMA, A.C.R. Complexos de inclusão de indometacina com hidroxipropil- $\beta$ -ciclodextrina. Estudos de dissolução e coeficiente de partição. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, p.59-68, 2006.

RAY, S.S.; BOUSMINA, M. Biodegradable polymers and their layered silicate nanocomposites: In greening the 21st century materials world. **Progress in Materials Science**, v.50, p.962-1079, 2005.

RAY, S.S.; OKAMOTO, M. Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. **Progress in Polymer Science**, v.28, p.1539-1641, 2003.

RÉ, M.I. Formulating Drug Delivery Systems by Spray Drying. **Drying Technology**, v.24, p.433-446, 2006.

Ré, M.I. Microencapsulation by Spray Drying. **Drying Technology**, v.16(2), p.1195-1236, 1998.

RÉ, M.I.; ZANIN, M.H.A.; DIAS, S.T.; SANTOS, M.A.V. Influência do uso de formas encapsuladas de Sais de ferro e zinco na preparação de comprimidos de poliminerais. In: Congresso Brasileiro de Sistemas Particulados, 2002, São Carlos. Anais de Congresso, 2002.

REVERCHON, E.; MARCO, I.D.; PORTA, G.D. Rifampicin microparticles production by supercritical antisolvent precipitation. **international journal of pharmaceutics**, v.243, p.83-91, 2002.

RICCIARDI, R.; AURIEMMA, F.; DE ROSA, C.; LAUPRETE, F. X-ray diffraction analysis of poly(vinyl alcohol) hydrogels, obtained by freezing and thawing techniques. **Macromolecules**, v.37, p.1921, 2004.

RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.M.; SILVA, M.A.S.; MATOS, J.R. Caracterização Termoanalítica e Estudo do Perfil de Dissolução de Comprimidos contendo Metronidazol. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.4, p.528-34, 2008.

SANTOS, P.S. **Ciência e Tecnologia de Argilas**. Vol. 1; 2ª ed.; Edgard Blücher, São Paulo – SP, 1989.

SEDDON, R.K.; STARK, A.; TORRES, M.J. Influence of chloride, water and organic solvents on the physical properties of ionic liquids. **Pure Appl. Chem.** v.72, n.12, p.2275-2287, 2000.

SERRA, C.H.R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%) . **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**. v.43, n.1, 2007.

SEYDEL, J.K. Physico-chemical studies on rifampicina. **Antibiotics and Chemotherap**, v.16, p.380-91, 1970.

SHAFEE, E.E.; NAGUIB, H.F. Water sorption in cross-linked poly(vinyl alcohol) networks. **Polymer**, v.44, p.1647-1653, 2003.

SHAIRESH, V.B.; ARPANA, R.P.; GUDITI, V.S.; VARSHA, B.P. A comparative study of approaches used to improve solubility of roxithromycin. **Powder Technology**, n.169, p.22–32, 2006.

SHARMA, R.; SAXENA, D.; DWIVEDI, A.K.; MISRA, A. Inhalable microparticles containing drug combinations to target alveolar macrophages for treatment of pulmonary tuberculosis. **Pharmaceutical Research**, v.18, p.1405-1410, 2001.

SHISHOO, C.J.; SHAH, S.A.; RATHOD, I.S.; SAVALE, S.S.; KOTECHA, J.S.; SHAH, P.B. Stability of rifampicin in dissolution medium in presence of isoniazid. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.190, p.109-123, 1999.

SILVA, C.M.P. Preparo e caracterização de hidrogéis nanocompósitos baseados em poli(álcool vinílico). 2007. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Polímeros) – Instituto de Macromoléculas Professora Eloisa Mano, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2007. Orientadores: Bluma Guenther Soares e Luiz Antônio Pessan.

SOSNIK, A; CARCABOSO, A.M; GLISONI, R.J; MORETTON, M.A. ; CHIAPPETTA, D.A. New old challenges in tuberculosis: Potentially effective nanotechnologies in drug delivery. **Advanced Drug Delivery Reviews** (2009) *in press*.

STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos: aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. **Revista. Farmacêutica e. Bioquímica. Universidade de São Paulo**, v.31, n. 2, p. 63-70, 1995.

SUAREZ, S.; O'HARA, P.; KAZANTSEVA, M.; NEWCOMER, C.E.; HOPFER, R.; MCMURRAY, D.N.; HICKEY, A.J. Airways delivery of rifampicin microparticles for the treatment of tuberculosis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.48, p.431-434, 2001.

TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-guest interaction between swelling clay minerals and poorly water-soluble drugs: 1. Complex formation between a swelling clay mineral and griseofulvin. **Journal of inclusion phenomena and molecular recognition in chemistry**, v.10, p.283-297, 1991a.

TAKAHASHI, T.; YAMAGUCHI, M. Host-guest interactions between swelling clay minerals and poorly water-soluble drugs: II. Solubilization of griseofulvin by complex formation with a swelling clay minerals. **Journal of colloid and interface science**, v.146, p.556-564, 1991b.

TAKEUCHI, U.; YASUJI, L.; HINO, M.; YAMAMOTO, K.; KAWASHIMA, L. Spray-dried composite particles of lactose and sodium alginate for direct tableting and controlled releasing. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.174, p.91-100, 1998.

THANG, B.K.G. **Formation and properties of clay-polymer complexes**. Amsterdam: Elsevier , 1979.

TARTAGLIONE, G.; TABUANI, D.; CAMINO, G. Thermal and morphological characterisation of organically modified sepiolite, **Microporous Mesoporous Mater**. v.107, p.161-168, 2008.

TEWES, F.; BRILLAULT, J.; COUET, W.; OLIVIER, J.C. Formulation of rifampicin-cyclodextrin complexes for lung nebulization. **Journal of Controlled Release**, n.129, p.93-99, 2008.

THE INTERNATIONAL PHARMACOPOEIA. 4.ed. World Health Organization, 2006.[Document QAS/04.114/FINAL] Disponível em: [www.who.org](http://www.who.org). Acesso em: 20 de dezembro de 2009.

**THE MERCK INDEX**: an encyclopedia of chemicals, drugs and biologicals. 13 ed. New Jersey: MERCK & CO, p.8382-8383, 2001.

TOIT, L.C. du; PILLAY, V.; DANCKWERTS, M.P. Tuberculosis chemotherapy: current drug delivery approaches. **Respiratory Research**, v.7, n.1, p.118, 2006.

TONHI, E.; COLLINS, K.E.; ISABEL C.S.F.; JARDIM, I.C.F.S.; COLLINS\*, C.H. Fases Estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase

reversa(CLAE-FR) baseadas em superfícies de óxidos inorgânicos funcionalizados. **Química Nova**, v.25, n.4, 2002.

TSAI, T.Y. **Polyethylene terephthalate-clay nanocomposites**, Capítulo 9. *In* Polymer-Clay Nanocomposites. Editado por T.J. Pinnavaia e G.W. Beall. John Wiley & Sons. 2000.

**UNITED STATES PHARMACOPEIA (USP) 29**, 2006.

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

VIÇOSA, A.L.; GOMES, A.C.O.; SOARES, B.G.; PARANHOS, C.M. Effect of sepiolite on the physical properties and swelling behavior of rifampicin-loaded nanocomposite hydrogels. **Express Polymer Letters**, v.3, n.8, p.518–524, 2009.

VISERAS, C.; GALINDO, A.L. Pharmaceutical applications of some spanish clays (sepiolite, palygorskite, bentonite) : some preformulation studies. **Applied Clay Science**, v.14, p.69–82, 1999.

VYAS, S.P.; KANNAN, M.E.; JAIN, S.; MISHRA, V.; SINGH, P. Design of liposomal aerosols for improved delivery of rifampicin to alveolar macrophages. **Internacional Journal of Pharmaceutics**, v.269(1), p.37-49, 2004.

WAN, L.; HENG, L.; CHIA, R. Spray drying as a process for microencapsulation and the effect of different coating polymers. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.18(9), p.997-1011, 1992.

WANG, Z.; MASSAM, J.; PINNAVAIA, T.J. **Epoxy-clay nanocomposites**. Capítulo 7. *In* Polymer-Clay Nanocomposites. Editado por T.J. Pinnavaia e G.W. Beall. John Wiley & Sons. 2000.

WHO – WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. Disponível em: [http://www.who.int/tb/publications/global\\_report/en/index.html](http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/index.html) . Acesso em 20 de dezembro de 2009.

WICHTERLE, O.; LIM, D. “Hydrophilic gels for biological use”. **Nature**, v.185, p.117-118, 1960.

WOLLINGER, W. Influência dos excipientes na degradação dos fármacos da associação dos tuberculostáticos isoniazida e rifampicina em comprimidos / Wagner Wollinger. – Rio de Janeiro, 2008. xxi, 154 f.: il. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Instituto de Química, Departamento de Química Analítica, 2008. Orientadores: Cláudio Cerqueira Lopes e Glaucia Barbosa Candido Alves Slana

WONG, S.M.; KELLAWAY, I.W.; MURDAN, S. Enhancement of the dissolution rate and oral absorption of a poorly water soluble drug by formation of surfactant-containing microparticles. **International Journal of Pharmaceutics**, v.317, p.61–68, 2006.

YU, Y.H.; LIN, C.Y.; YEH, J.M.; LIN, W.H. Preparation and properties of poly(vinyl alcohol)–clay nanocomposite materials. **Polymer**, v.44, p.3553–3560, 2003.

ZAK, A.; SNEZHNOVA, L.P.; SHATROVA, V.M.; POLISAR, R.D.; IL'INSKAYA, N.A.; POZDNYAKOV, E.G. Related impurities in rifampicin formulations and methods for their determination. **Antibiotiki** (Moscow), v.27, n.8, p.569-573, 1982.

ZAHOOR, A.; PANDEY, R.; SHARMA, S.; KHULLER, G.K. Pharmacokinetic and pharmacodynamic behaviour of antitubercular drugs encapsulated in alginate nanoparticles at two doses. **International Journal of antimicrobial agents**, v.27(5), p.409-416, 2006.

ZAHOOR, A.; SHARMA, S.; KHULLER, G.K. Inhalable alginate nanoparticles as antitubercular drug carriers against experimental tuberculosis. **International Journal of antimicrobial agents**, v.26(4), p.298-303, 2005.

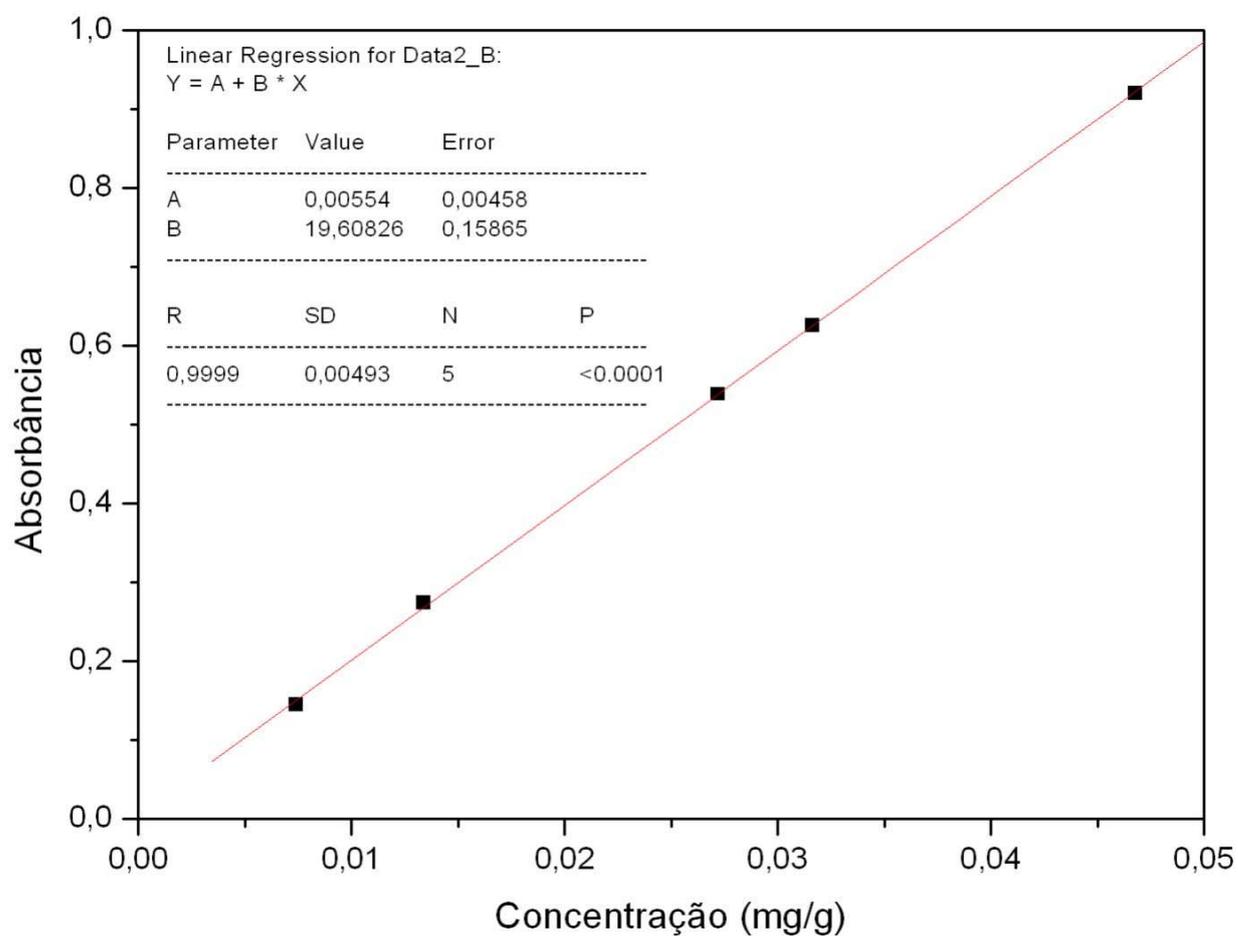
ZHENG, Y.; ZHENG, Y. Study on Sepiolite-Reinforced Polymeric Nanocomposites. **Journal of Applied Polymer Science**, v.99, p.2163-2166, 2006.

ZGOULLI, M.; GREK, S.E.; BARRE, R.R.; GOFFINET, M.L.; THONART, N.; ZINNER, J. Microencapsulation of erythromycin and clarithromycin using a spray drying technique. **Journal of microencapsulation**, v.16, n.5, p.565-571, 1999.

## 9 – ANEXOS

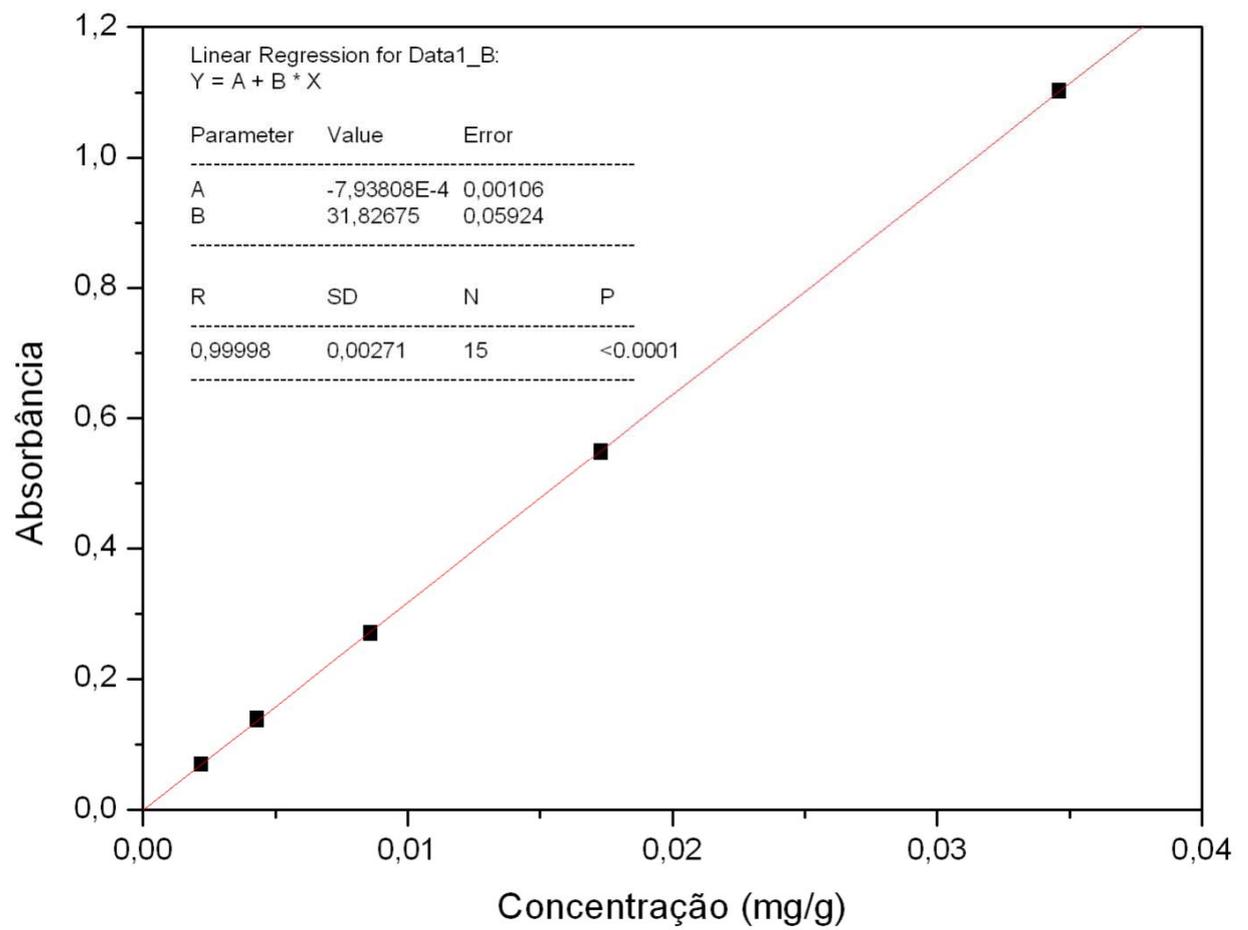
### ANEXO A

Curva de calibração para rifampicina para análise em UV-Visível a 482 nm e em meio de DMSO.



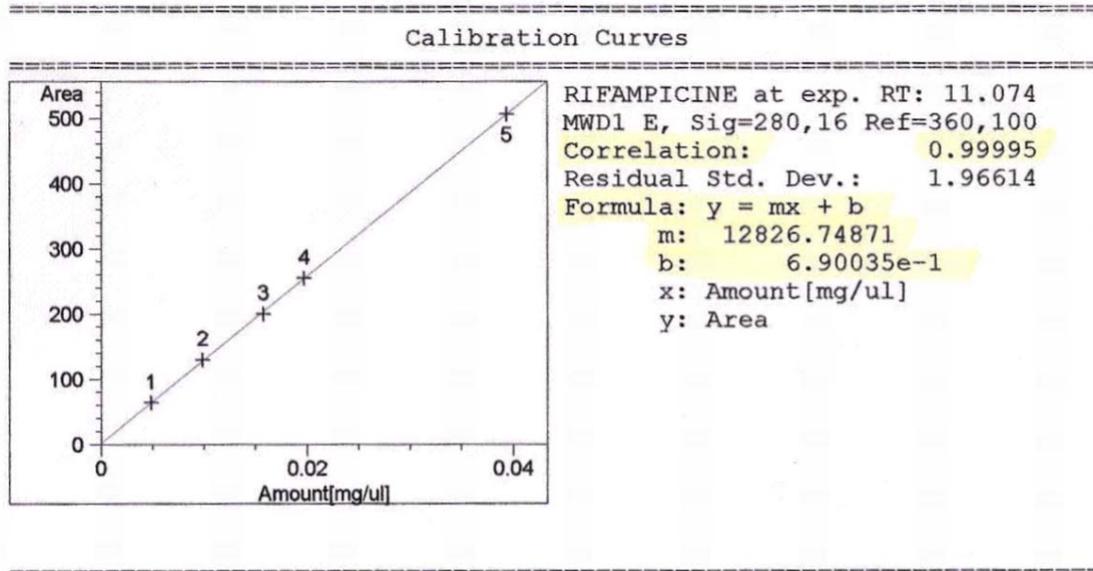
## ANEXO B

Curva de calibração para rifampicina para análise em UV-Visível a 333 nm e em meio aquoso.



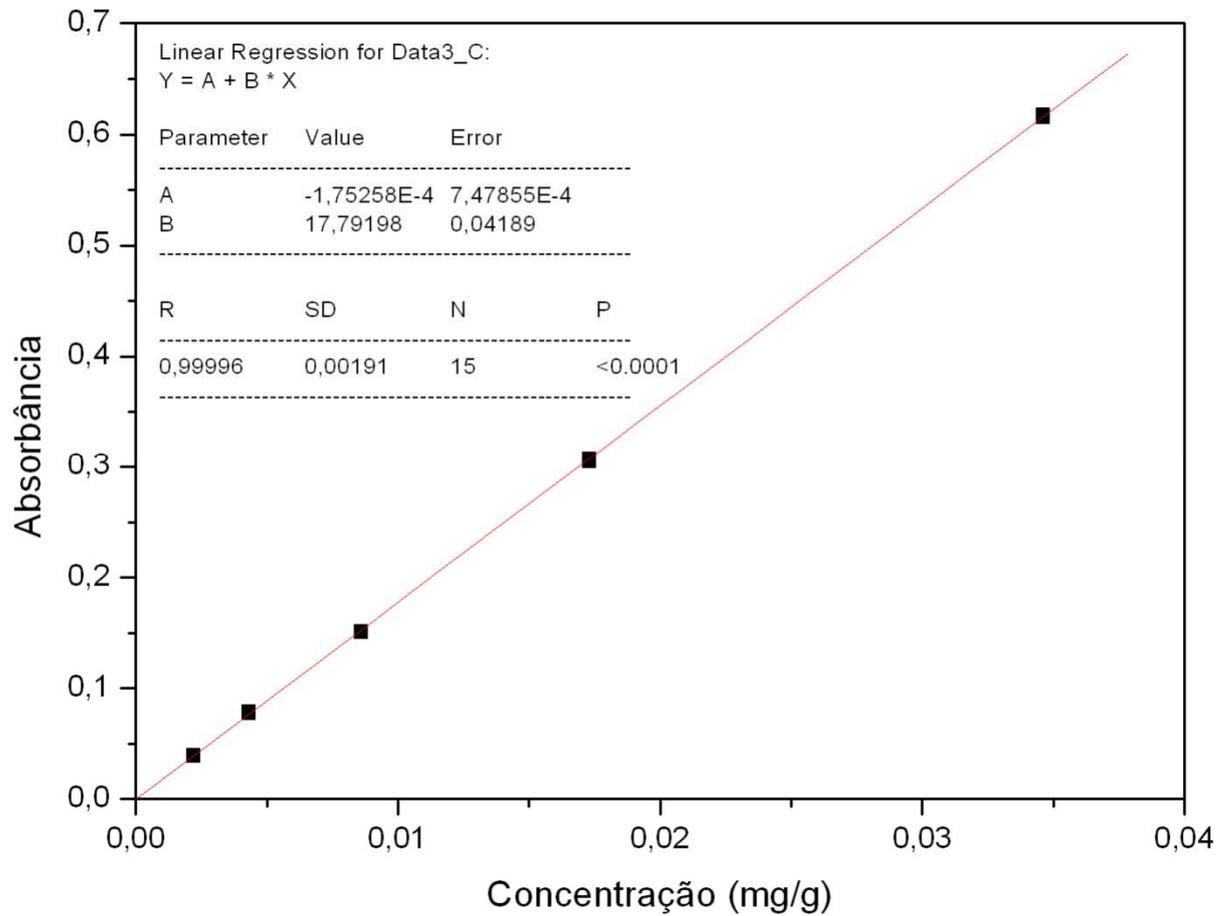
## ANEXO C

Curva de calibração para rifampicina para análise em CLAE.  
(gerado a partir do equipamento).



## ANEXO D

Curva de calibração para rifampicina para análise em UV-Visível a 475 nm e em meio de Líquido iônico/tampão 6,8.



## **ANEXO E**

### **Lista de espectros de UV-Visível indicando as regiões de absorção para rifampicina em diferentes meios:**

Figura E.1. Espectro de UV-Visível para Rifampicina em meio aquoso.

Figura E.2. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de solução tampão pH 6,8 e (b) da solução tampão pH 6,8 pura.

Figura E.3. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de DMSO e (b) de DMSO puro.

Figura E.4. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de líquido iônico e (b) de líquido iônico puro.

Figura E.5. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio da mistura líquido iônico e solução tampão 6,8 (1:5) e (b) da mistura líquido iônico e solução tampão 6,8 (1:5) pura.

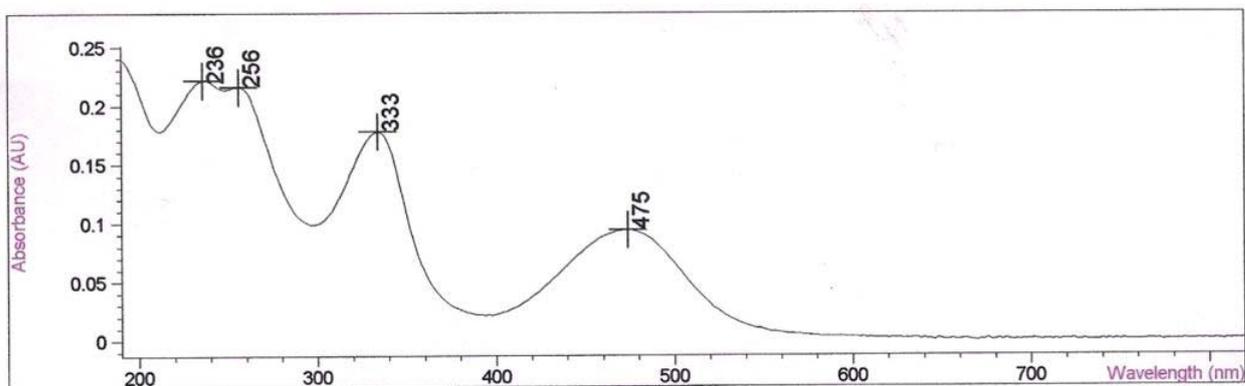


Figura E.1. Espectro de UV-Visível para Rifampicina em meio aquoso.

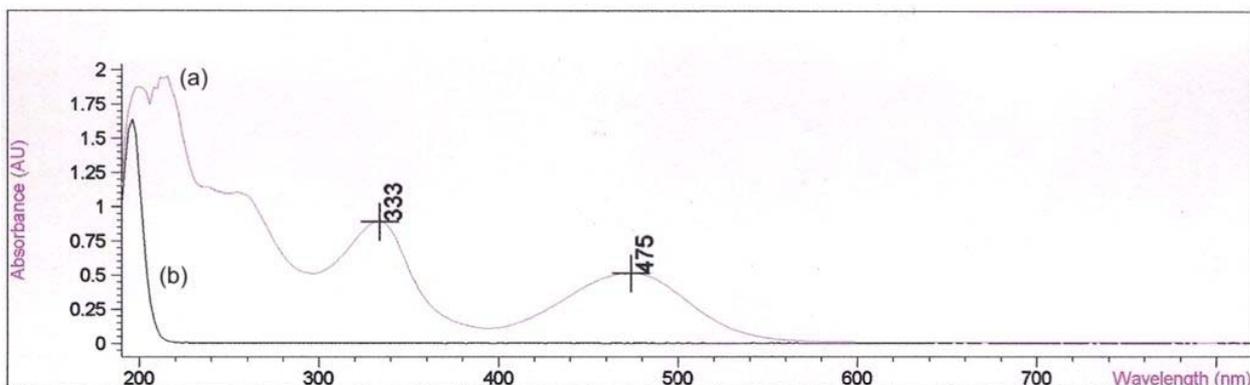


Figura E.2. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de solução tampão pH 6,8 e (b) da solução tampão pH 6,8 pura.

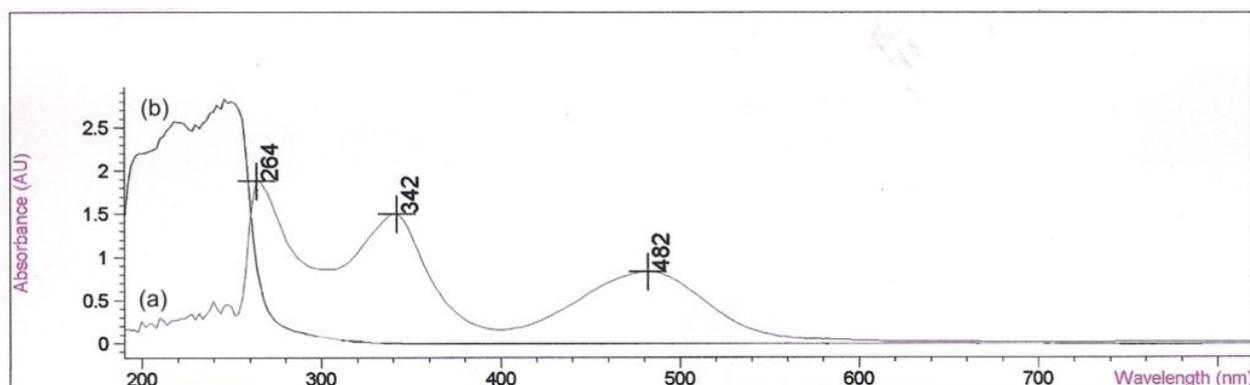


Figura E.3. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de DMSO e (b) de DMSO puro.

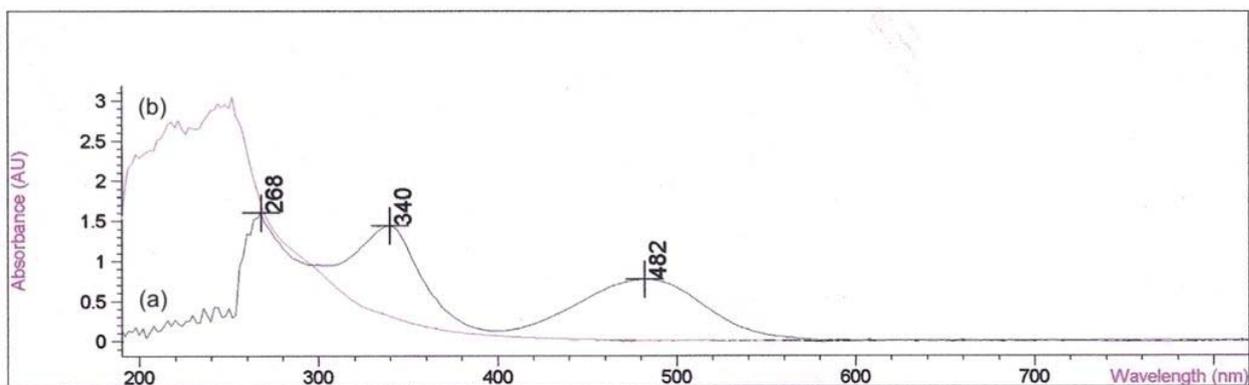


Figura E.4. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio de líquido iônico e (b) de líquido iônico puro.

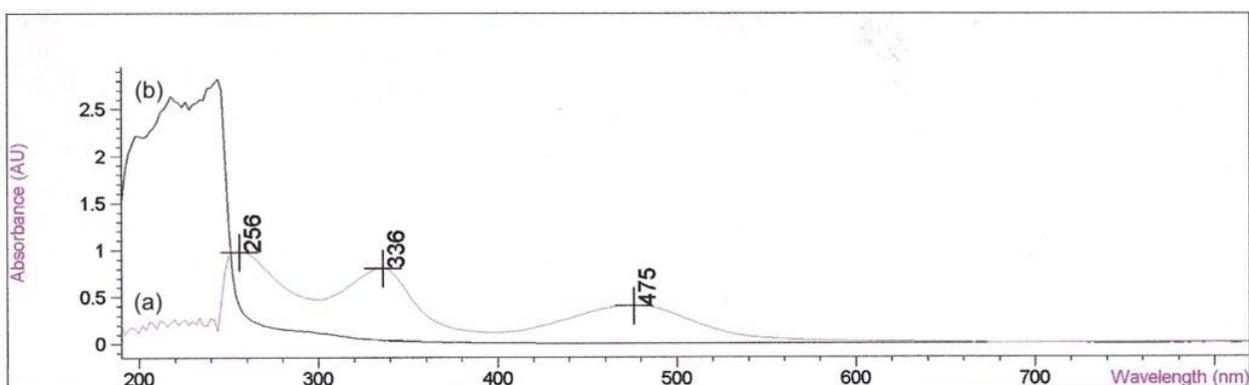


Figura E.5. Espectro de UV-Visível: (a) de rifampicina em meio da mistura líquido iônico e solução tampão 6,8 (1:5) e (b) da mistura líquido iônico e solução tampão 6,8 (1:5) pura.

## **ANEXO F**

### **Lista de espectros de relaxação dinâmico-mecânica:**

Figura F.1. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica do hidrogel PVA a 1 Hz .

Figura F.2. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM a 1 Hz.

Figura F.3. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP a 1 Hz.

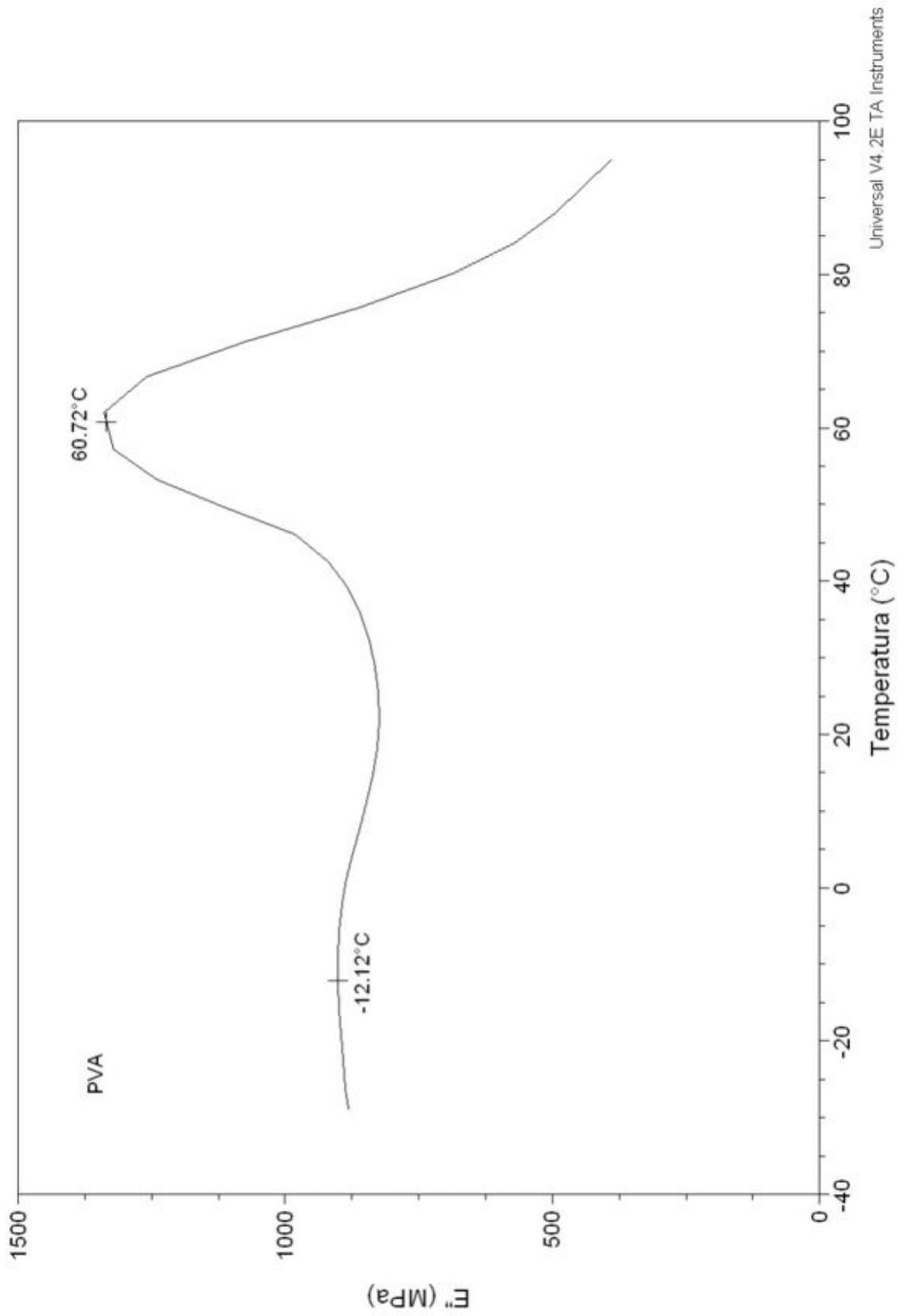


Figura F.1. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica do hidrogel PVA a 1 Hz .

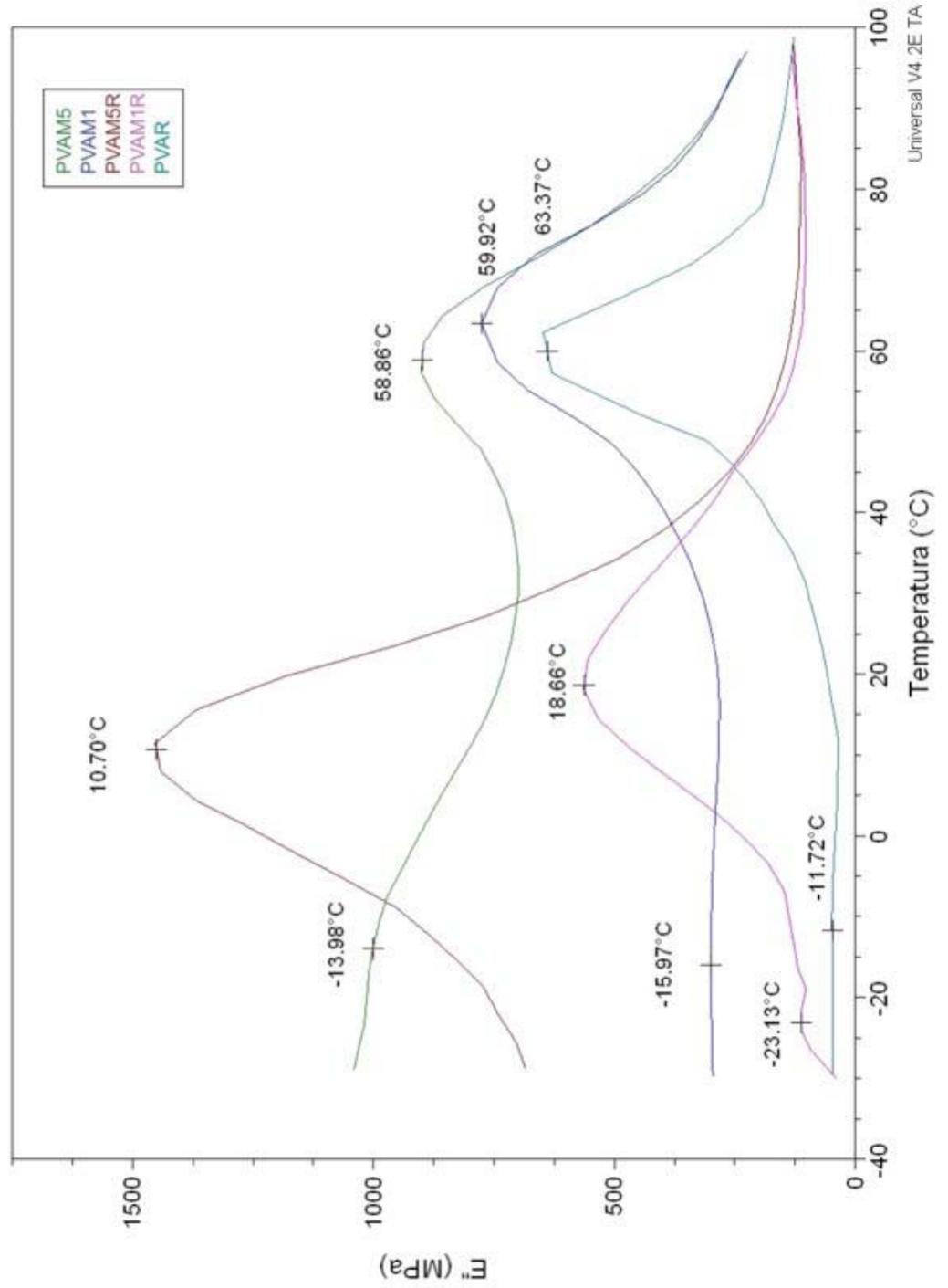


Figura F.2. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/MOM a 1 Hz.

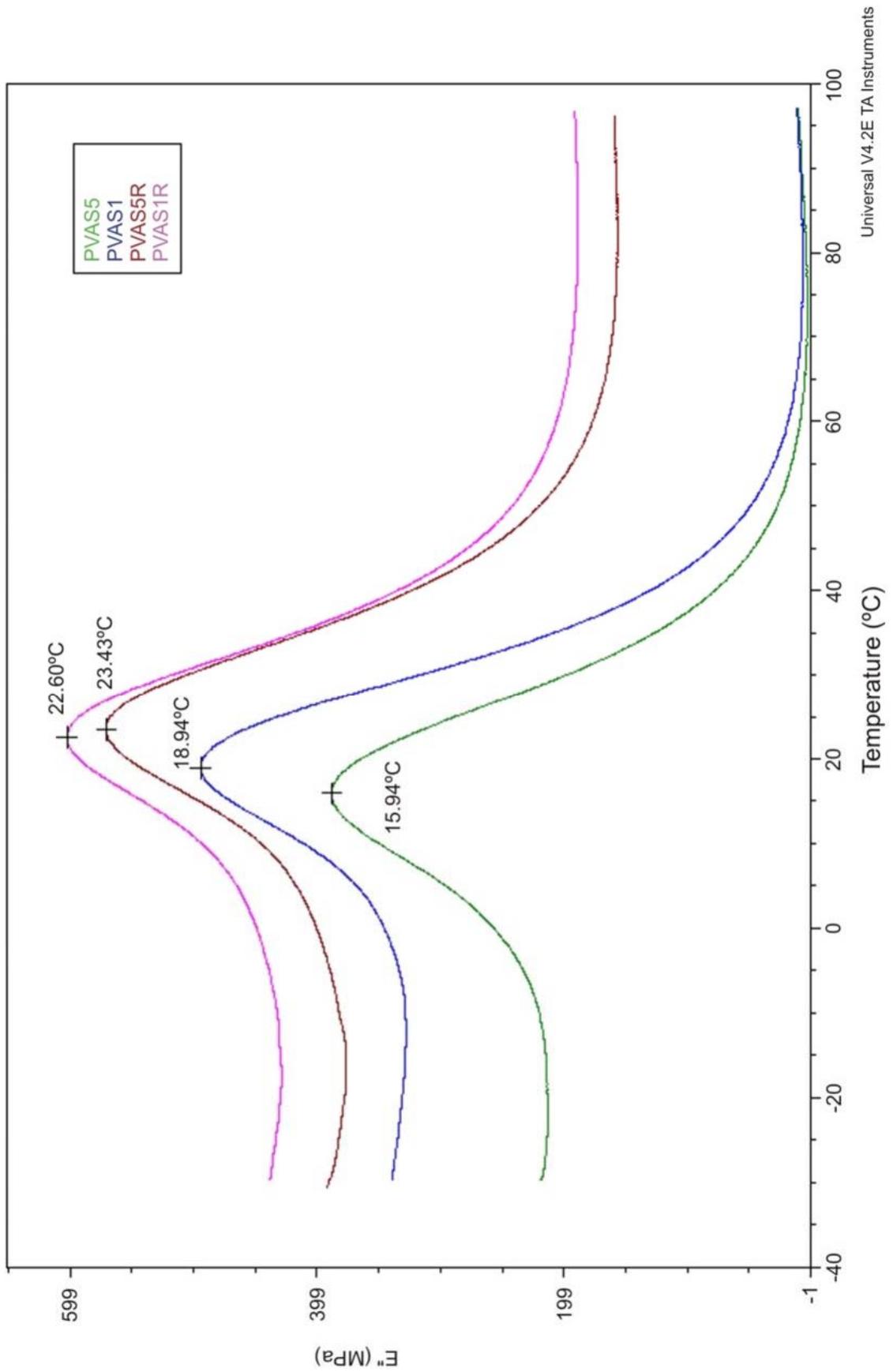


Figura F.3. Espectro de relaxação dinâmico-mecânica dos hidrogéis nanocompósitos de PVA/SEP a 1 Hz.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)