

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**



**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE PÉLETES DE LIBERAÇÃO
BIFÁSICA MEDIANTE DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

SARAH MOHERDAUI MARTINS

CASCADEL - PR

2015

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS E FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE PÉLETES DE LIBERAÇÃO BIFÁSICA
MEDIANTE DELINEAMENTO EXPERIMENTAL**

SARAH MOHERDAUI MARTINS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, área de concentração em **Fármacos e Medicamentos**.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa

Co-orientador: Prof. Dr. Itamar Francisco Andrezza

CASCADEL – PR

2015

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

M346d Martins, Sarah Moherdau
Desenvolvimento e otimização de péletes de liberação bifásica mediante delineamento experimental./ Sarah Moherdau Martins. — Cascavel, 2015.
81 p.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa
Coorientador: Prof. Dr. Itamar Francisco Andrezza

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Campus de Cascavel, 2015
Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Ciências Farmacêuticas

1. Péletes. 2. Planejamento fatorial. 3. Cronoterapia. I. Rosa, Maurício Ferreira da. II. Andrezza, Itamar Francisco. III. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. IV. Título.

CDD 21.ed. 615.5
CIP – NBR 12899

Ficha catalográfica elaborada por Helena Soterio Bejio – CRB 9ª/965

SARAH MOHERDAUI MARTINS

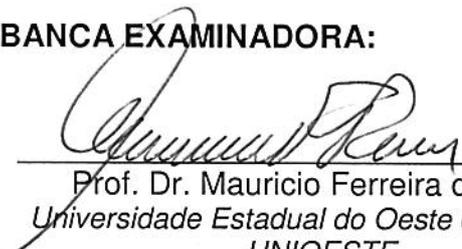
DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE PÉLETES DE LIBERAÇÃO BIFÁSICA
MEDIANTE DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

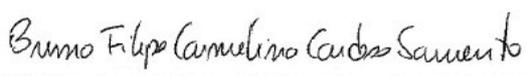
Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Farmacêuticas, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná, como pré-requisito para obtenção do título de Mestre. Área de concentração em Fármacos e Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa

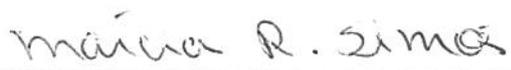
Co-orientador: Prof. Dr. Itamar Francisco Andreazza

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Mauricio Ferreira da Rosa
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE
Orientador


Prof. Dr. Bruno Filipe Carmelino Sarmento
Universidade do Porto - INEB/Portugal
Banca


Profa. Dr.ª Inara Staub Prochnau
Pontifícia Universidade Católica do Paraná - PUC
Banca


Profa. Dr.ª Márcia Regina Simões
Universidade Estadual do Oeste do Paraná - UNIOESTE
Banca

CASCAVEL – PR

2015

“Que Deus me dê serenidade para aceitar as coisas que não posso mudar, coragem para mudar as que posso e sabedoria para distinguir entre elas.”

(Reinhold Niebuhr)

Dedico este trabalho aos meus pais, Adriano e Elizabeth, aos meus irmãos Endrigo e Guilherme e ao meu noivo Pablo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente a Deus, por estar ao meu lado em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, irmãos, cunhadas e sobrinhas, e toda minha família, que sempre me apoiou e incentivou na realização dos meus sonhos.

Ao meu noivo, Pablo, por acreditar no meu potencial, me incentivar e apoiar mesmo nos momentos mais difíceis, por ser o alicerce de todo meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa pela orientação, aprendizado, amizade, paciência e confiança depositada para a realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Itamar Francisco Andreazza pela co-orientação, amizade, apoio e aprendizado.

A UNIOESTE, pelo Programa de Mestrado e viabilização da execução deste trabalho.

A Indústria Farmacêutica Prati-Donaduzzi, pelo grande incentivo e por ter possibilitado o uso dos equipamentos que foi de fundamental importância para a realização deste trabalho.

Aos meus companheiros de laboratório, Vanderson e Vinícius, pelo auxílio em todo o desenvolvimento deste trabalho, sem vocês eu não teria conseguido.

Ao nosso Gerente de PD&I Dr. Liberato Brum Junior, pelo apoio e incentivo durante esta jornada.

Ao Fábio, Marília, Emanuelle, Cláudia, Marcos, Leonardo e Alex, pela imensa ajuda com os resultados analíticos e outras contribuições a este trabalho.

Ao pessoal técnico do laboratório de PD&I da Prati- Donaduzzi, Alexandre, Beatriz, Leandro, Oliete e Paulo, pela ajuda com vários fracionamentos de testes, pelo convívio, conversas, amizade e apoio durante a realização deste trabalho.

A todos, que de alguma maneira, contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

Nos últimos anos, o interesse da indústria farmacêutica por novos sistemas de liberação de fármacos vem crescendo, visando sobretudo a otimização da terapêutica e a diminuição dos efeitos colaterais ocasionados pelos tratamentos convencionais. Os sistemas multiparticulados, além de possuírem vantagens tecnológicas e biofarmacêuticas quando comparadas aos sistemas monolíticos, possibilitam a obtenção de diferentes padrões de liberação de drogas, como por exemplo, o sistema bifásico, capaz de disponibilizar o fármaco em frações distintas para a corrente sanguínea, sendo ideais para o tratamento das doenças circadianas. Desta maneira, o presente trabalho teve como objetivo a obtenção de um sistema multiparticulado de liberação bifásica, com duração de 24 horas, utilizando a combinação dos materiais poliméricos hidroxipropilmetilcelulose e etilcelulose, bem como um planejamento fatorial completo 2^2 para a otimização da etapa de desenvolvimento. Além disso, foi desenvolvido e validado um método analítico por espectroscopia de UV capaz de quantificar o fármaco modelo utilizado, cloridrato de propranolol (PROP), nos ensaios de teor e dissolução desta forma farmacêutica. Utilizando-se a tecnologia de revestimento de núcleos inertes de sacarose, foi possível a obtenção do sistema proposto com um número reduzido de experimentos. Os péletes produzidos e utilizados nas formulações bifásicas apresentaram características mecânicas dentro dos parâmetros de qualidade esperados, demonstrando que a técnica é robusta e pode ser aplicada em escala industrial. O método analítico proposto para a quantificação do fármaco, mostrou-se linear, preciso, exato, robusto em relação a variações no comprimento de onda, marca de solvente e sonicação na faixa de concentração de $0,80 - 96 \mu\text{g mL}^{-1}$ e estável nas condições experimentais analisadas, evidenciando um método capaz de gerar resultados de alta confiabilidade e portanto apto a ser utilizado na rotina laboratorial de controle de qualidade.

Palavras-chave: péletes, planejamento fatorial, cronoterapia.

ABSTRACT

In recent years, the interest of the pharmaceutical industry for new drugs delivery system has been growing, especially aiming the optimization of therapy and reduction of side effects caused by conventional treatments. The multiparticulate systems, besides their technological and biopharmaceutical advantages when compared to the monolithic systems, allow obtaining different ways of drug delivery, such as the biphasic system, capable of delivering the drug in separate fractions into the bloodstream, and ideal for the treatment of circadian diseases. Thus, this study aimed to obtain a multi particulate system biphasic release, lasting 24 hours, using a combination of polymeric materials hydroxypropyl methylcellulose and ethyl cellulose, as well as a full factorial design 2^2 to optimize the development stage. Furthermore, it was developed and validated analytical method by UV spectroscopy able to quantify the model drug used, propranolol hydrochloride (PROP) test and the content of dissolution of the dosage form. Using the sugar spheres' coating technology, it was possible to obtain the proposed system with a reduced number of experiments. Pellets produced and used in the biphasic formulations showed mechanical characteristics within the expected quality parameters, showing that the technique is robust and can be applied on an industrial scale. The analytical method for the quantification of the proposed drug was linear, precise, accurate, robust against variations in wavelength of mark and sonication solvent in a concentration range of 0.80 - 96 mg L⁻¹ and stable the experimental conditions analyzed, showing a method capable of generating highly reliable results and therefore able to be used in the laboratory routine quality control.

Keywords: pellets, factorial design, chronotherapy.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	15
2.1 Objetivo geral.....	15
2.2 Objetivos específicos	15
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Cloridrato de propranolol	16
3.2 Formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO).....	17
3.2.1 Péletes	19
3.3 Processos de obtenção de péletes	20
3.3.1 Extrusão/esferonização	20
3.3.2 Revestimento de núcleos inertes.....	22
3.4 Sistemas de liberação de fármacos.....	26
3.4.1 Liberação imediata.....	26
3.4.2 Liberação modificada	26
3.4.3 Liberação bifásica	27
3.5 Polímeros na obtenção de formulações de liberação modificada	28
3.6 Delineamento experimental	30
4. CAPÍTULO I	32
5. CAPÍTULO II	45
6. CONCLUSÕES GERAIS	67
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	67
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
8.1 Referências bibliográficas da Fundamentação teórica.....	68
8.2 Referências bibliográficas do Capítulo I	74
8.3 Referências bibliográficas do Capítulo II	76
ANEXOS	80

LISTA DE TABELAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Tabela 1 Principais características físico químicas do cloridrato de propranolol.	17
Tabela 2 Estudos que utilizaram a mistura dos polímeros HPMC e EC para obtenção de sistemas de liberação modificada de fármacos.....	30

CAPÍTULO I

Tabela 1 Dados referentes à linearidade do método	40
Tabela 2 Resultados obtidos na análise de precisão intermediária do método espectrofotométrico para avaliação de doseamento e dissolução de cápsulas de liberação bifásica de PROP	42
Tabela 3 Resultados obtidos na análise de exatidão do método espectrofotométrico para cápsulas de liberação bifásica de PROP	42
Tabela 4 Dados relativos à robustez do método proposto.....	43
Tabela 5 Dados relativos à estabilidade das amostras.....	44

CAPÍTULO II

Tabela 1 Composição das formulações para escolha do agente aglutinante.	50
Tabela 2 Variáveis HPMC e EC e níveis (-1, 0 e 1) utilizados no delineamento experimental fatorial 2 ²	51
Tabela 3 Planejamento fatorial 2 ² para as variáveis codificadas: HPMC (mg) e EC (mg).....	51
Tabela 4 Formulação para obtenção dos péletes de liberação modificada	52
Tabela 5 Delineamento experimental fatorial 2 ² para as variáveis HPMC (mg) e EC (mg) com triplicada no ponto central e resposta tempo liberação 100% (min) para os perfis de liberação dos peletes de PROP de liberação modificada.	61
Tabela 6 Análise de variância (ANOVA) para o estudo de superfície de resposta do modelo linear para o tempo de liberação 100%.	62
Tabela 7 Análises de caracterização dos péletes obtidos.	64

ANEXOS

Tabela 1 Análise de variância da especificidade do método analítico.	80
Tabela 2 Análise de variância da precisão intermediária do método analítico.....	80
Tabela 3 Análise de variância da robustez do método analítico	80
Tabela 4 Análise de variância da estabilidade do fármaco em solução.....	81

LISTA DE FIGURAS

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Figura 1 Estrutura química do cloridrato de propranolol.....	16
Figura 2 Sistemas de classificação biofarmacêutica	16
Figura 3 Formas farmacêuticas que podem conter péletes	20
Figura 4 Etapas envolvidas no processo de extrusão/esferonização.....	20
Figura 5 Processo de formação de péletes por meio da tecnologia de extrusão/esferonização	21
Figura 6 Revestimento de núcleo inerte a partir da pulverização de uma solução de revestimento.....	22
Figura 7 Revestimento de núcleo inerte a partir da pulverização de uma suspensão de revestimento.....	22
Figura 8 Exemplos de sistemas de leitos fluidizados disponíveis para realizar a etapa de revestimento.....	23
Figura 9 Processo de revestimento realizado sistema de Wurster.....	24
Figura 10 Imagem do Diskjet [®] do leito fluidizado Bosch-Huttlin com os sistemas de pulverização: a) Vista lateral; b) Vista superior.....	25
Figura 11 Representação do sistema de pulverização presente no leito fluidizado Bosch-Huttlin e os 3 componentes que o compõe.	25
Figura 12 Doenças que sofrem alterações com o ritmo circadiano.....	28
Figura 13 Principais modificações químicas da celulose e seus derivados	29

CAPÍTULO I

Figura 1 Espectros de absorção na região do ultravioleta das soluções padrão de PROP (A) e placebo (B)	39
Figura 2 Representação gráfica da curva analítica e da equação da reta da solução padrão de PROP, obtida pelo método espectrofotométrico na região ultravioleta.....	40
Figura 3 Gráfico dos resíduos	41

CAPÍTULO II

Figura 1 Termograma de DSC para avaliação da incompatibilidade entre os componentes da formulação. A) Formulação final de PROP; B) PROP + Placebo dos péletes; C) PROP + talco; D) PROP + PVP K30; E) PROP + HPMC; F) PROP + EIS; G) PROP.....	56
Figura 2 Espectro de absorção no infravermelho A) PROP; B) PROP+EIS; C) PROP + HPMC; D) PROP + PVP K30; E) PROP + Talco; F) PROP + Placebo; G) Formulação final de PROP.	57
Figura 3 Perfis de dissolução dos péletes obtidos em C e C1.	59
Figura 4 Perfis de dissolução das formulações obtidas no delineamento experimental.....	60
Figura 5 Perfis de liberação bifásicos F8 e F9.	61
Figura 6 Mapa de contorno A) e superfície de resposta B) para os resultados experimentais do delineamento experimental fatorial 22. Resposta tempo de liberação 100% (min) em função da quantidade de HPMC (mg) e EC (mg)	63
Figura 7 Análise granulométrica e de morfologia externa dos péletes A) Análise granulométrica das EIS e dos péletes revestidos C, C1 e F5; B) Avaliação da morfologia externa das EIS em aumento de 70x e 1000x; C) Avaliação da morfologia externa de C em aumento de 70x e 1000x; D) Avaliação da morfologia externa de C1 em aumento de 70x e 1000x; E) Avaliação da morfologia externa de F5 em aumento de 70x e 1000x; F) Imagem transversal de F5 em aumento de 1000x com destaque na camada de revestimento do pélete.	65

LISTA DE ABREVIATURAS

- AD - Amostra solução doseamento
- AIS - Álcool Isopropílico
- ANOVA - Análise de variância
- AP - Amostra solução padrão
- AS - Amostra solução dissolução
- ASC - Área sob a curva
- C - Pélete de clordarto de propranolol com revestimento de ativo
- C1 - Pélete de clordarto de propranolol com revestimento de selagem
- DA - Densidade aparente
- DC - Densidade compactada
- DOE - Delineamento Experimental
- DP - Desvio padrão
- DPR - Desvio padrão relativo
- DSC - Calorimetria Exploratória Diferencial
- EC - Etilcelulose
- ED - Eficiência de dissolução
- EIS - Esferas inertes de sacarose
- f - Friabilidade
- F1 - Formulação 1
- f2 - Fator de similaridade
- F2 - Formulação 2
- F3 - Formulação 3
- F4 - Formulação 4
- F5 - Formulação 5
- F6 - Formulação 6
- F7 - Formulação 7
- F8 - Formulação 8
- F9 - Formulação 9
- FDA - *Food and Drug Administration*
- FFSO - Formas farmacêuticas sólidas orais
- HCl - Ácido clorídrico
- HPMC - Hidroxipropilmetilcelulose
- IVTF - Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

MEV - Microscopia eletrônica de varredura

N - Normal

PROP - Cloridrato de propranolol

PVP - Polivinilpirrolidona

PVP K30 - Polivinilpirrolidona K30

r - Coeficiente de correlação

R² - Coeficiente de determinação

RE - Resolução

RPM - Rotação por minuto

RTA - Refletância total atenuada

S - Esfericidade

SCB - Sistema de Classificação Biofarmacêutica

SKF - Smith Kline & French

SQR - Substância química de referência

TEC - Citrato de trietila

TGI - Tratogastointestinal

USP - *United States Pharmacopeia*

UV - Ultravioleta

UV-Vis - Ultravioleta-visível

1 INTRODUÇÃO

A via de administração oral é a mais utilizada, sendo considerada a mais conveniente e segura. Dentre uma variedade de formas farmacêuticas que podem ser administradas por esta via, os comprimidos e cápsulas estão entre os mais populares. Deste modo, é cada vez mais frequente o desenvolvimento de novas formulações que visam à obtenção de produtos com vantagens terapêuticas frente aos disponíveis no mercado (KUMAR et al.; 2012; ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; PATIL et al., 2013).

Os sistemas de administração podem apresentar-se como unitários ou multiparticulados, sendo que os sistemas multiparticulados apresentam vantagens quando comparados aos unitários, tais como melhor distribuição pelo trato gastrointestinal (TGI), desintegração facilitada, ausência de influência pelo esvaziamento gástrico, menor risco de toxicidade sistêmica e irritação local, além de possibilitar a obtenção de formas customizadas de liberação (BODMEIER, 1997; BAUER et al., 1998; HAGE JUNIOR, 1998; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; AULTON; ORTEGA, 2008; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013).

Dentre as alternativas atuais utilizadas na obtenção de sistemas terapêuticos mais eficazes, confiáveis e seguros, têm-se a utilização de formas farmacêuticas sólidas de liberação modificada, projetadas para modularem a cinética de liberação dos fármacos. Diversos modelos têm sido propostos visando estabelecer o efetivo controle tanto da velocidade quanto do local de liberação, desencadeando elevado grau de especificidade (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; LOPES et al., 2007).

O termo liberação modificada, é utilizado para descrever formas farmacêuticas que após uma administração única, apresentam características de liberação com base no tempo, na duração e/ou na localização com o propósito de suprir as desvantagens oferecidas pelos fármacos de liberação convencional. Como exemplos de sistemas de liberação modificada têm-se a liberação retardada, prolongada, repetida e controlada (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; ORTEGA, 2008).

A obtenção de um sistema de liberação modificada de fármacos pode ser alcançada, muitas vezes, com a utilização de polímeros com diferentes propriedades e características, dentre os mais utilizados têm-se a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e etilcelulose (EC), ambos derivados celulósicos, porém com características opostas: O HPMC apresenta alta capacidade de intumescimento em água e é bastante utilizado como formador de poros em formulações de liberação modificada,

enquanto a EC é insolúvel em água e resulta em filmes rígidos de baixa permeabilidade (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009; VILLANOVA, ORÉFICE; CUNHA, 2010).

Apesar das vantagens técnicas e terapêuticas da utilização desta forma de administração, a liberação modificada ainda constitui uma tecnologia pouco explorada no mercado brasileiro, pois a grande maioria dos produtos disponíveis no mercado nacional são desenvolvidos e produzidos no exterior, desencadeando ampla ausência de mão de obra especializada, atrelada a baixos investimentos, tão necessários à implementação desta tecnologia (OLIVEIRA; NITZ, 2011).

Dentre os tipos de liberação modificada existentes no âmbito farmacêutico, merece destaque o sistema bifásico, que destina-se à liberação do fármaco em diferentes etapas, sendo uma de ação imediata e a outra para a manutenção do efeito terapêutico por um período de tempo, resultando em quebra dos longos efeitos posológicos e eliminando a administração repetida do fármaco (JHA; RAHMAN; RAHMAN, 2011).

Representando os agentes farmacoterapêuticos candidatos e atrativos a este tipo de liberação, têm-se os anti-hipertensivos, anti-histamínicos, analgésicos, antipiréticos e antialérgicos, fármacos utilizados no tratamento de doenças conhecidas como circadianas, ou seja, doenças que sofrem maior ou menor expressão de acordo com o período do dia, uma vez que o organismo humano é complexo e está sujeito, constantemente, a alterações fisiológicas e bioquímicas, como é o caso da hipertensão, em que a ocorrência das manifestações relacionadas às complicações cardiovasculares ocorrem predominantemente nas primeiras horas da manhã, período em que a pressão arterial é mais elevada (MAGGI et al., 1999; OHDO, 2010; LONDHE; GATTANI; SURANA, 2010; JHA, RAHMAN; RAHMAN, 2011; DALLMANN, BROWN; GACHON, 2014; LIN; KAWASHIMA, 2012; VERDECCHIA et al., 2012).

Por se tratar de uma área pouco explorada e que possibilita uma infinidade de pesquisas, o desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas de liberação modificada podem resultar em formulações potencialmente exclusivas no mercado, proporcionando tratamentos inteligentes com elevada adesão dos pacientes, eliminando a administração repetida do fármaco e aumentando a assertividade terapêutica.

No contexto atual, o processo de desenvolvimento de novas apresentações comerciais, em geral é bastante moroso, e envolve uma série de pesquisas e

ensaios, resultando em elevados custos para o patrocinador. Sendo assim, cada vez mais têm-se utilizado ferramentas que otimizam a etapa de desenvolvimento, como é o caso da utilização do planejamento experimental, ferramenta que fornece informações mais precisas com menor número de experimentos (TYE, 2004; SINGH; KUMAR; AHUJA, 2005; RUBIN et al., 2006; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013).

Dessa forma, o presente trabalho tem como objetivo, partindo de um fármaco consagrado no mercado, o cloridrato de propranolol (PROP), propor um sistema multiparticulado de liberação bifásica, por meio de um planejamento experimental ² para otimização de tal formulação, utilizando como fatores os polímeros HPMC e EC para a obtenção do controle de liberação desejado.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Desenvolver sistema de liberação bifásico contendo cloridrato de propranolol como fármaco modelo.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o grau de interação entre os excipientes propostos e o fármaco modelo;
- Desenvolver e avaliar sistema de liberação bifásica;
- Modular a liberação do fármaco modelo, com a utilização de polímeros derivados da celulose;
- Estudar as variáveis de processo por meio de um planejamento fatorial;
- Avaliar o perfil de dissolução da formulação proposta;
- Realizar análises de caracterização da forma farmacêutica obtida.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Cloridrato de propranolol

O cloridrato de propranolol, Figura 1, escolhido como fármaco modelo deste trabalho, é um fármaco pertencente à classe dos β bloqueadores adrenérgicos não seletivos, prescrito para o tratamento de doenças cardiovasculares tais como angina, arritmias, hipertensão arterial e infarto do miocárdio (BORTOLOTTI; CONSOLIM-COLOMBO, 2009).

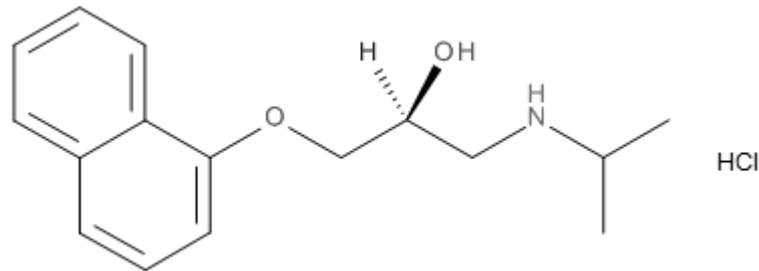


Figura 1 Estrutura química do cloridrato de propranolol (Adaptado de USP, 2014).

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), criado em 1995 e responsável por agrupar os fármacos de acordo com suas propriedades de solubilidade e permeabilidade, o cloridrato de propranolol é classificado como um fármaco de classe I –Alta solubilidade e permeabilidade (AMIDON et al., 1995).

Além da Classe I, existem ainda mais três classes nas quais os fármacos podem se enquadrar: Classe II: Baixa solubilidade e alta permeabilidade; Classe III: Alta solubilidade e baixa permeabilidade e Classe IV: Baixa solubilidade e baixa permeabilidade, Figura 2 (WHO, 2006; AULTON; ORTEGA, 2008).

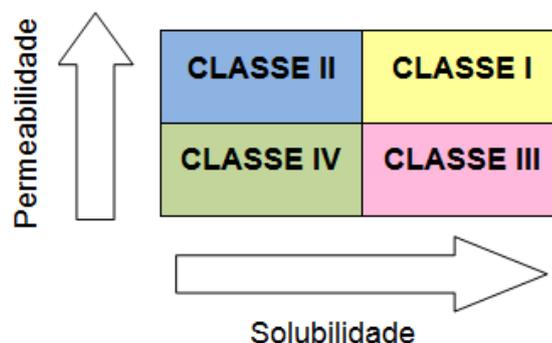


Figura 2 Sistemas de classificação biofarmacêutica (Adaptado de WHO, 2006).

Considerando que a absorção de fármacos administrados por via oral, na forma farmacêutica sólida, depende de fatores como a liberação ou dissolução do

fármaco nos fluidos fisiológicos e sua permeabilidade através das membranas biológicas, o conhecimento tanto das características físico químicas quanto farmacocinéticas do fármaco são fatores que devem ser considerados durante a etapa de desenvolvimento farmacotécnico. A Tabela 1 apresenta algumas características do fármaco modelo, cloridrato de propranolol (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Tabela 1 Principais características físico químicas do cloridrato de propranolol.

Parâmetro	Característica
Nome Químico	Cloridrato de 1-[(1-metiletil)amino]-3-(1-naftaleniloxi)-2-propanol (1:1) ¹
Número CAS	318-98-9 ²
Denominação Comum Brasileira (DCB)	07482 ¹
Fórmula Molecular	C ₁₆ H ₂₁ NO ₂ .HCl ^{1,2}
Massa Molecular	295.80 g/mol ^{1,2}
Aspecto	Pó branco ou quase branco ¹
Solubilidade	Solúvel em água (50 mg/mL) e etanol, pouco solúvel em clorofórmio, insolúvel em éter etílico ^{1,3}
Polimorfismo	Formas I, II e III (cristalinas), sendo a II a mais estável ^{4,5}
Armazenamento	Armazenar ao abrigo da luz ¹
Classificação Biofarmacêutica	Classe I ⁶
Ponto de Fusão	163-166°C ^{1,2}

Fonte ¹FARMACOPÉIA Brasileira, 2010; ²USP, 2014; ³MÖNKÄRE, et al., 2010; ⁴BARTOLOMEI et al., 1998; ⁵BARTOLOMEI et al., 1999; ⁶AMIDON et al., 1995.

O cloridrato de propranolol apresenta pico de concentração de 1 a 1,5 horas e meia vida de 4 a 6 horas, acarretando um esquema posológico com várias administrações diárias do fármaco, sendo assim, considerado um forte candidato ao desenvolvimento de uma formulação de liberação modificada (BRASIL, 2010b; AULTON; ORTEGA, 2008).

3.2 Formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO)

As formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO) podem ser constituídas de sistemas monolíticos ou multiparticulados. Nos sistemas monolíticos (comprimidos ou cápsulas) a unidade de liberação do ativo é unitária, enquanto nos sistemas multiparticulados a unidade de liberação é compreendida por várias unidades farmacêuticas distintas (péletes, microcomprimidos, grânulos ou micropartículas),

com o fármaco dividido em pequenas unidades funcionais (AULTON; ORTEGA, 2008; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007).

Embora seja possível a obtenção de perfis de liberação similares entre os sistemas monolíticos e multiparticulados, a utilização de várias subunidades como forma de liberação oferecem muitas vantagens sob o ponto de vista técnico e farmacológico quando comparados aos sistemas monolíticos (GANDHI; KAUL; PANCHAGNULA, 1999).

Dentre as vantagens oferecidas pelos sistemas multiparticulados frente aos sistemas monolíticos, se destacam:

Aspectos Farmacológicos

- Após a ingestão, ocorre uma distribuição mais uniforme pelo trato gastrointestinal (TGI) e conseqüentemente reduzem o risco de irritação local da mucosa do TGI pelos fármacos irritantes;
- Apresentam tempo de trânsito mais previsível e reprodutível, pois não sofrem influência do esvaziamento gástrico. Devido ao tamanho reduzido (< 2 mm), conseguem passar pelo piloro, sem retenção no estômago em decorrência do processo digestivo, comportando-se como líquido (BODMEIER, 1997; AULTON; ORTEGA, 2008).
- Menor risco de dose dumping, ou seja, a probabilidade da liberação acidental do fármaco em função de um defeito no revestimento funcional é reduzida, pois o fármaco encontra-se dividido em diversas unidades esféricas e a falha em uma delas não é significativa quando comparada ao sistema como um todo (GANDHI; KAUL; PANCHAGNULA, 1999; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; AULTON; ORTEGA, 2008).

Aspectos Tecnológicos

- Nos sistemas multiparticulados, a distribuição uniforme de seus componentes proporciona boas propriedades de fluxo e escoamento, o que facilita o processo industrial e possibilita a obtenção de um revestimento mais homogêneo quando estes são utilizados (REYNOLDS, 1970).
- Possibilita a junção de fármacos incompatíveis em uma única forma farmacêutica, sem que os mesmos entrem em contato direto (RATUL; BAQUEE, 2013).
- Permite a incorporação de fármacos com diferentes cinéticas de liberação em uma mesma forma farmacêutica, obtidas pela utilização de diferentes

tipos e quantidades de polímeros na etapa de revestimento (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

As unidades que compõem os sistemas multiparticulados podem ou não serem revestidas e de liberação convencional e/ou modificada, sendo que após sua obtenção são incorporadas à cápsulas de gelatina dura ou submetidas ao processo de compressão (GANDHI; KAUL; PANCHAGNULA, 1999).

3.2.1 Péletes

Os péletes são pequenas unidades esféricas constituídas pela aglomeração de ativos e excipientes, podendo ser obtidos por diferentes processos. Caracterizam-se por partículas esféricas bem definidas com diâmetros que variam de 100 a 2000 µm conforme a aplicação e técnica de obtenção. Além da indústria farmacêutica, são também utilizados na indústria alimentícia, polimérica e na obtenção de fertilizantes (GHEBRE-SELASSIE, 1989a; VERVAET; BAERT; REMON, 1995; GLATT, 2014).

A utilização dos péletes pela indústria farmacêutica se deu no início dos anos 1950, quando em 1952, a Smith Kline & French (SKF) lançou o Spansule[®], produto composto por núcleos inertes de sacarose, revestidos em várias camadas. Técnica até então, utilizada na indústria alimentícia para a obtenção de doces drageados, caracterizado por um processo longo e trabalhoso (HIRJAU et al., 2011; SHANKAR; GANESH; BHANUDAS, 2014).

Pesquisas foram conduzidas na tentativa de se obter técnicas mais rápidas, baratas e eficientes. Desta maneira, em 1964 a SKF patenteou uma nova técnica para a produção de péletes de liberação modificada, conhecida como *spray congealing*, que se baseava na pulverização, em ambiente de baixa temperatura, de solução lipídica do ativo que congelava na forma esférica. No mesmo ano, houve no Japão o surgimento do esferonizador, técnica apresentada por Nakahara, que consiste na extrusão, em pequenos cilindros, de uma massa úmida composta de fármacos e excipientes seguido de sua esferonização (NAKAHARA, 1966; GHEBRE-SELASSIE, 1989a).

Porém, foi apenas entre as décadas de 1950 e 1960, com a evolução e surgimento de novos polímeros, que o interesse por esta tecnologia aumentou, possibilitando a obtenção de sistemas com diversos tipos de liberação de fármacos (BAUER et al., 1998; HAGE JUNIOR, 1998; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013).

Atualmente, os péletes contendo substância ativa podem ser administrados

por meio de suspensões, cápsulas e comprimidos (Figura 3). Estão disponíveis no mercado brasileiro, uma variedade de produtos que utilizam esta tecnologia, como por exemplo Nexium[®], Cymbalta[®], Effexor[®] XR, Dimorf[®] LC, Peprazol[®], dentre outros (HIRJAU et al., 2011).

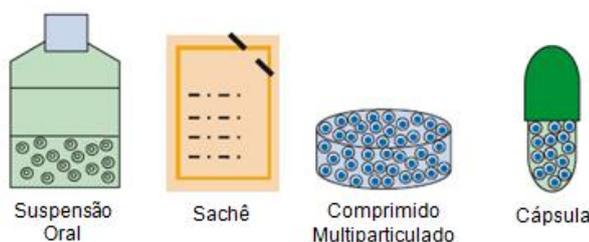


Figura 3 Formas farmacêuticas que podem conter péletes (Adaptado de GLATT, 2014).

3.3 Processos de obtenção de péletes

O processo de obtenção de péletes, também conhecido como peletização, pode ser representado por diversas técnicas e equipamentos. Dentre as técnicas existentes, as mais utilizadas na indústria farmacêutica são a compactação, representada pelo processo de extrusão/esferonização, e a técnica de revestimento de núcleos inertes que pode ocorrer por meio de adição de pó e solução aglutinante ou mediante aplicação de solução/suspensão de revestimento à estes núcleos, sendo porém este último preferível industrialmente devido a possibilidade de realizar várias etapas do processo em um único equipamento (KULKARNI et al., 2010; RATUL; BAQUEE, 2013; KORAKIANITI et al., 2000).

3.3.1 Extrusão/esferonização

Sua utilização na indústria farmacêutica foi descrita inicialmente em 1970 por Reynolds e Conine Hadley. É uma técnica de compactação que compreende várias etapas: Malaxagem, extrusão, esferonização, secagem e, em alguns casos, a etapa de revestimento, Figura 4 (SANTOS et al., 2004).

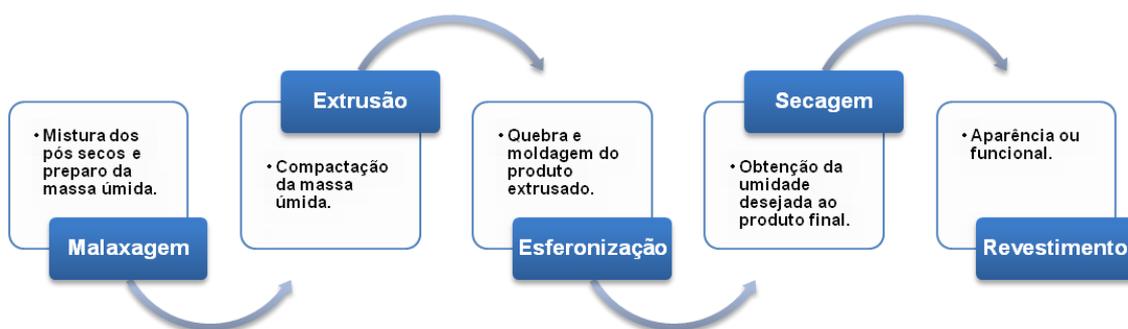


Figura 4 Etapas envolvidas no processo de extrusão/esferonização. Fonte: O autor.

Na primeira etapa ocorre a mistura do pó seco, compreendido pela matéria ativa e excipientes seguida da adição de líquido para granulação (solução aglutinante) resultando na massa úmida. Em seguida, a massa úmida é transferida para um extrusor, no qual sofre compactação e é modelada sob a forma de cilindros, que posteriormente são convertidos em péletes por meio do esferonizador, Figura 5 (SANTOS et al., 2004; SUPRIYA; RAJNI; RANA, 2012).

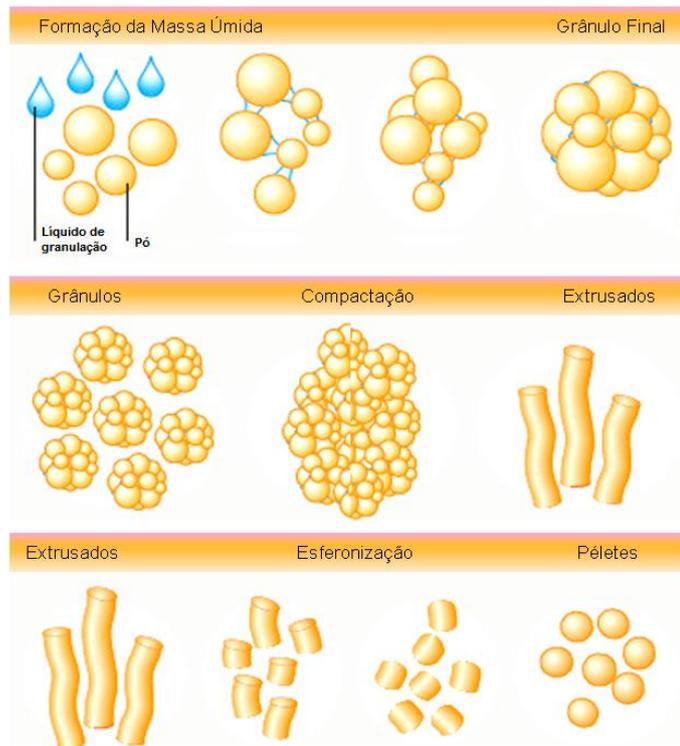


Figura 5 Processo de formação de péletes por meio da tecnologia de extrusão/esferonização (Adaptado de GLATT, 2011).

Na etapa de esferonização, a umidade obtida no interior dos péletes é forçada a sair para a superfície e deste modo confere plasticidade aos cilindros formados. Tal plasticidade, combinada com o atrito ao disco rotatório do esferonizador, cujo desenho e angulação são favoráveis a este processo, permite a conversão do material extrusado em estruturas esféricas (KULKARNI et al., 2010).

Após a obtenção dos péletes esféricos, estes são submetidos ao processo de secagem até que a umidade final desejada seja atingida. Nesta etapa, pode-se utilizar temperatura ambiente e/ou elevada, de acordo com as propriedades do fármaco, podendo ainda ser realizado por meio de bandejas, estufas ou até mesmo leito fluidizado. Uma vez secos, os péletes podem ser submetidos ao processo de

revestimento (SUPRIYA; RAJNI; RANA, 2012; AULTON; ORTEGA, 2008).

3.3.2 Revestimento de núcleos inertes

Os núcleos inertes consistem em pequenas esferas à base de sacarose ou celulose que permitem a incorporação de materiais por meio de revestimento, cujo objetivo principal é a formação de uma barreira protetora contra as condições ambientais, mascaramento de sabor e/ou modificação da cinética de liberação do fármaco (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON; ORTEGA, 2008).

O processo de revestimento de núcleos inertes compreende a deposição de camadas sucessivas de fármaco, podendo este estar em solução, suspensão ou pó seco. Nos casos em que o fármaco encontra-se em solução/suspensão, as partículas do fármaco encontram-se dissolvidas ou dispersas no líquido aglutinante, Figuras 6 e 7. Quando se trata da deposição de pó seco, uma solução aglutinante é pulverizada sobre os núcleos inertes e em seguida o pó é adicionado, entretanto os equipamentos habitualmente utilizados no preparo de péletes por revestimento de solução/suspensão, não podem ser utilizados para o revestimento por adição de pó (LAVANYA; SENTHIL; RATHI, 2011; KUMAR et al., 2011).



Figura 6 Revestimento de núcleo inerte a partir da pulverização de uma solução de revestimento (Adaptado de LAVANYA; SENTHIL; RATHI, 2011).

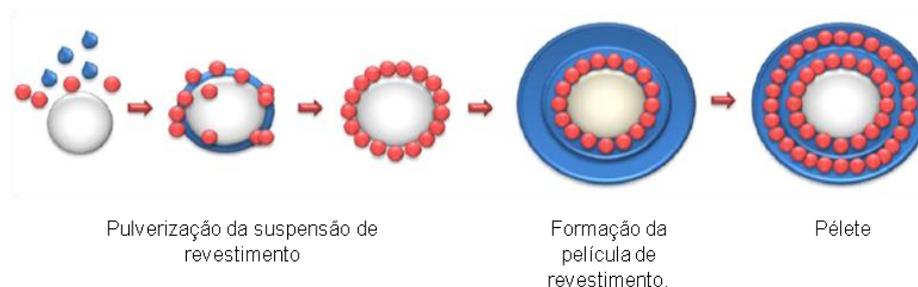


Figura 7 Revestimento de núcleo inerte a partir da pulverização de uma suspensão de revestimento (Adaptado de LAVANYA; SENTHIL; RATHI, 2011).

O revestimento por camadas de solução/suspensão, partindo de um núcleo inerte, produz partículas com distribuição uniforme de tamanho e ótima morfologia superficial, característica imprescindível quando se deseja alcançar uma liberação modificada por meio de revestimento (MEHTA; JONES, 1985).

O primeiro equipamento capaz de aplicar de maneira eficiente soluções e/ou suspensões de revestimento a base de polímeros, surgiu em 1953 com Dr. Dale Wurster. Neste mesmo ano, o laboratório Abbott, comercializou o primeiro fármaco revestido por película, estimulando ainda mais a utilização desta tecnologia na indústria farmacêutica (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013).

Os equipamentos capazes de executar o processo de revestimento, tornaram-se populares nas indústrias agrícolas, químicas e farmacêuticas e, com o advento de novas tecnologias, surgiram equipamentos cada vez mais modernos e eficazes para este processo, originado assim diferentes tipos de leitos fluidizados, dentre eles o leitos fluidizados top-spray, bottom-spray e tangencial-spray, Figura 8 (OLSEN, 1989; CHAUHAN; YADAV, 2011).

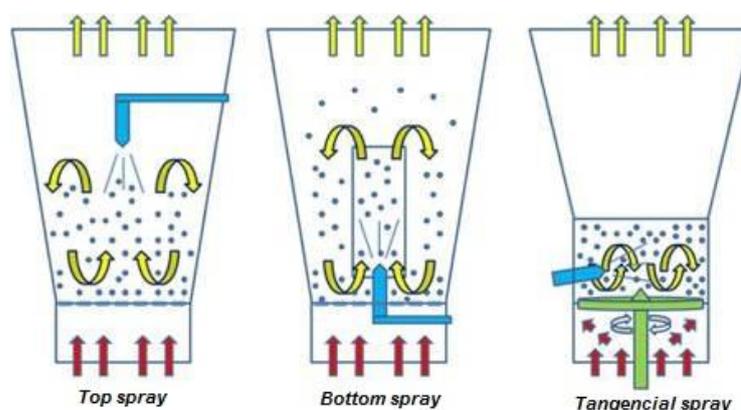


Figura 8 Exemplos de sistemas de leitos fluidizados disponíveis para realizar a etapa de revestimento (Adaptado de COLORCON, 2013).

O revestimento em leito fluidizado consiste na atomização do líquido de revestimento sobre as partículas (pós, grânulos, esferas, péletes) mantidas em suspensão por uma coluna de ar. É o processo mais eficiente quando se trata de revestimento de partículas pequenas, pois apresenta vantagens frente ao revestimento por drageadeiras convencionais, tais como: baixa tendência à aglomeração, altas taxas de aspensão e ar de secagem, dentre outras. Além disso, essa tecnologia permite a obtenção de um revestimento mais rápido e uniforme, pois a solução/suspensão é aspergida e seca praticamente ao mesmo tempo

(LEHMANN, 1991; ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013).

O leito fluidizado tornou-se muito popular para o revestimento de sistemas multiparticulados a partir da década de 1960, quer seja por minicomprimidos ou péletes, sendo o sistema em *bottom spray*, o mais utilizado para o revestimento deste tipo de forma farmacêutica, quando se trata de revestimento por solução/suspensão de revestimento. Dentre os equipamentos destinados ao revestimento em *bottom spray*, podemos citar o processo Wurster e o Diskjet® (COLORCON, 2013; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2013; MEHTA; JONES, 1985).

3.3.2.1 Sistema de revestimento Wurster

No revestimento pelo processo Wurster, Figura 9, as partículas a serem revestidas são alimentadas em uma coluna (tubo Wurster) e sustentadas por um fluxo de ar que entra em direção ascendente. Quando as partículas estão dentro da coluna, o líquido de revestimento é pulverizado enquanto as mesmas encontram-se suspensas. Após passar pela zona de revestimento, as partículas entram na câmara de expansão do leito fluidizado, desaceleram e caem de volta à câmara do produto e assim se inicia um novo ciclo. Enquanto as partículas estão suspensas e antes que atinjam a câmara do produto, o revestimento aspergido é seco pelo fluxo de ar quente que entra na câmara do equipamento, este processo evita que haja aglomeração das partículas. O ciclo de revestimento se repete até a obtenção de um nível desejado de revestimento (ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FLUID AIR, 2013).

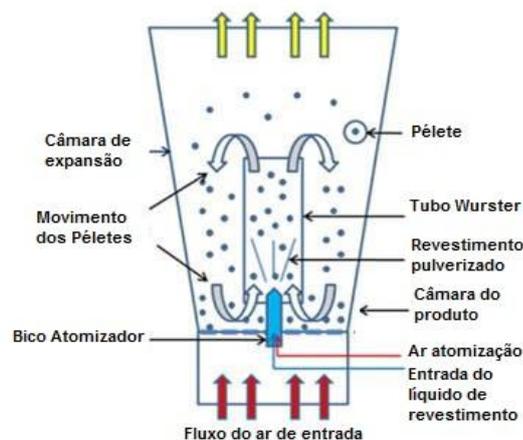


Figura 9 Processo de revestimento realizado sistema de Wurster (Adaptado de COLORCON, 2013).

A desvantagem do processo por Wurster, é a inacessibilidade ao bico de

aspersão do líquido de revestimento, pois uma vez que a mesma estiver obstruída toda operação deve ser interrompida para a retirada e limpeza do bico aspersor, o que representa uma barreira durante o processo produtivo (NAKAHARA, 1966; GHEBRE-SELASSIE, 1989b).

3.3.2.2 Sistema de revestimento Diskjet®

A tecnologia por Diskjet®, patenteada em 2004 por Thomas Werner e Martin Gross, refere-se a um elemento bottom bidimensional com múltiplos orifícios radiais, Figura 10a e 10b. Estes orifícios, com aproximadamente 45° de angulação, permitem a passagem de ar no equipamento com movimentos tangenciais no interior do mesmo. Cada sistema de pulverização de líquido de revestimento é compreendido por três componentes e estes se encontram dispostos na mesma posição dos orifícios e em lados opostos um do outro no disco do leito fluidizado, sendo responsáveis pela aspersão da solução/suspensão de revestimento, Figura 11 (WERNER; GROSS, 2004).

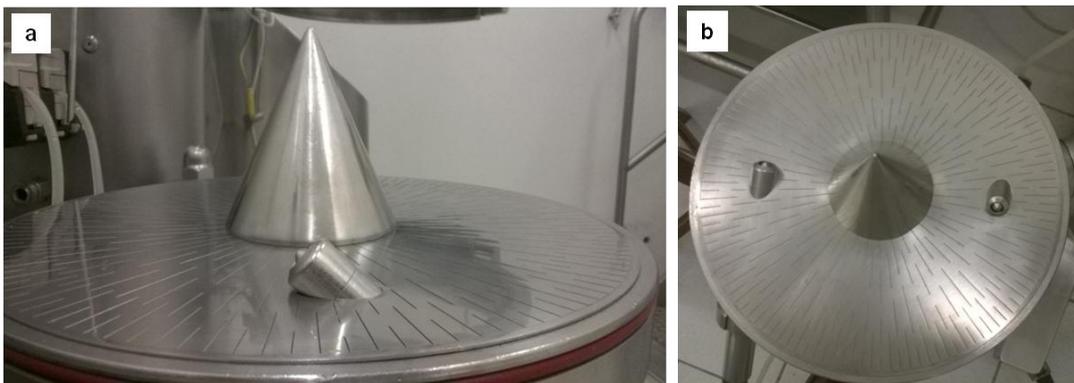


Figura 10 Imagem do Diskjet® do leito fluidizado Bosch-Huttlin com os sistemas de pulverização: a) Vista lateral; b) Vista superior.

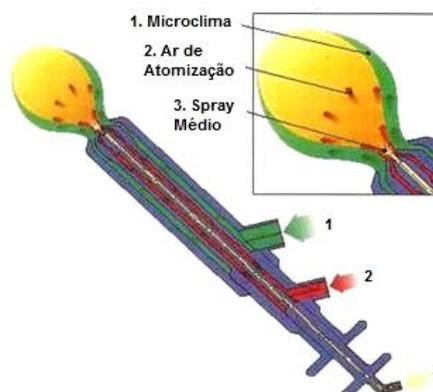


Figura 11 Representação do sistema de pulverização presente no leito fluidizado Bosch-Huttlin e os 3 componentes que o compõe.

O sistema de pulverização com o bico de três componentes, a disposição dos orifícios do equipamento e o fluxo de ar tangencial, possibilitam a obtenção da aplicação homogênea do revestimento, com perdas extremamente baixas do líquido de pulverização. Porém, apesar das vantagens envolvidas na utilização desta tecnologia, a mesma apresenta elevado custo, pois a confecção do disco com orifícios radiais é bastante trabalhosa e dispendiosa (BOSCH PACKAGING TECHNOLOGY, 2011).

3.4 Sistemas de liberação de fármacos

3.4.1 Liberação imediata

As FFSO de liberação convencional, também conhecidas como de liberação imediata, são destinadas a liberar rapidamente o fármaco após sua administração, com dissolução média de, no mínimo 75%, da substância ativa em até 45 minutos. Quanto ao tipo de dissolução estas podem ser muito rápida, como o mínimo de 85% de liberação do fármaco em até 15 minutos, ou rápida, de liberação mínima de 85% do fármaco ativo em até 30 minutos (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; BRASIL, 2010a).

Os excipientes utilizados para a obtenção de FFSO de liberação imediata, têm a função de dar suporte para a formulação, interferindo pouco nas características de dissolução. Embora haja divergência entre alguns documentos oficiais, o *Food and Drug Administration* (FDA) estabelece que de acordo com as características biofarmacêuticas do fármaco, tais formas farmacêuticas deverão liberar 85% do fármaco entre 15 e 60 minutos (FDA, U. S., 1997; COSTA; LOBO, 1999).

3.4.2 Liberação modificada

Alguns fármacos apresentam naturalmente longo tempo de ação, requerendo apenas uma administração diária para manter os níveis plasmáticos adequados para o efeito terapêutico. Entretanto, muitos outros requerem administração de várias doses diárias para obtenção dos efeitos terapêuticos desejados. Uma alternativa conhecida para tal inconveniente é o desenvolvimento de FFSO capazes de liberar o fármaco de maneira gradual, resultando em menor flutuação plasmática do fármaco, menor frequência de dosagem, quantidade reduzida de efeitos colaterais e maior adesão ao tratamento (NOËL et al., 2004; AULTON; ORTEGA, 2008; ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013).

As FFSO de liberação modificada compreendem as formulações que, devido a mecanismos específicos, capazes de controlar a extensão e a duração de ação do fármaco, modificam a cinética de liberação de fármacos e as diferem das formulações de liberação convencional administradas pela mesma via, sendo as principais (AULTON; ORTEGA, 2008; ALLEN JUNIOR; POPOVICH; ANSEL, 2013; FDA-CDER, 1997):

- Liberação retardada: O fármaco não é liberado após a administração, mas um tempo depois, como por exemplo, comprimidos com revestimento entérico, destinadas a resistir ao fluido gástrico e liberar o princípio ativo no fluido intestinal.
- Liberação prolongada: O fármaco é liberado gradualmente por um período prolongado de tempo.
- Liberação repetida: Uma dose do fármaco é liberada após a administração e uma segunda ou terceira doses são liberadas em tempos determinados.
- Liberação controlada: Liberam o fármaco em uma velocidade constante e fornecem concentrações plasmáticas que permanecem invariáveis com o tempo.

3.4.3 Liberação bifásica

Sistemas de entrega de fármacos bifásicos são projetados para liberação em duas taxas diferentes ou em dois períodos de tempos diferentes, podendo a primeira fração, ser representada pela liberação imediata, seguida da liberação prolongada (JHA; RAHMAN; RAHMAN, 2011; SUNIL et al., 2012).

A liberação prolongada, apesar das vantagens terapêuticas, apresenta um período de latência até alcançar o nível plasmático adequado, representando uma barreira a determinados tratamentos. Este tipo de problema pode ser evitado quando se utiliza um sistema de liberação bifásico, pois uma fração do fármaco é liberada imediatamente após a administração, exercendo a ação farmacológica e eliminando o tempo de latência (ROY, 2006; JITENDRA et al., 2011; JHA; RAHMAN; RAHMAN, 2011).

A liberação bifásica de fármacos é utilizada quando se deseja atingir uma liberação inicial do fármaco, para aliviar os sintomas da enfermidade, seguida de uma liberação constante por um período de tempo determinado. Algumas classes terapêuticas são mais adequadas para este tipo de liberação, como por exemplo, os anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), analgésicos, antipiréticos, anti-

hipertensivos, anti-histamínicos e os antialérgicos (MAGGI et al., 1999; LONDHE; GATTANI; SURANA, 2010).

Terapias voltadas ao tratamento das doenças que sofrem alterações com o ciclo circadiano (do Latim *circa diem*, sobre o dia), também conhecidas como Cronoterapias, têm se mostrado um alvo em potencial para a utilização de fármacos de liberação bifásica, uma vez que na manifestação de determinadas doenças, as funções da maioria dos órgãos variam de acordo com a hora do dia e seguem o ritmo biológico do corpo, tais como asma brônquica, infarto do miocárdio, angina de peito, hipertensão e doenças reumáticas (Figura 12), podendo desta maneira necessitar de concentrações plasmáticas diferentes do fármaco ao longo do dia e de acordo com a patologia (DUNCAN, 1996; VITATERNA; TAKAHASHI; TUREK, 2001; KONTUREK; BRZOZOWSKI; KONTUREK, 2011; DALLMANN; LIN; KAWASHIMA, 2012; DALLMANN; BROWN; GACHON, 2014;).



Figura 12 Doenças que sofrem alterações com o ritmo circadiano (Adaptado de HADI e RAO, 2012).

3.5 Polímeros na obtenção de formulações de liberação modificada

Muitas tecnologias podem ser empregadas para a modulação da liberação de um fármaco, dentre elas pode-se destacar a utilização de polímeros, excipientes bastante utilizados no desenvolvimento farmacotécnico, capazes de proporcionar ao fármaco diferentes características de liberação (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

O tipo e concentração de polímero empregado no desenvolvimento de uma formulação, está vinculado, tanto às características do fármaco e demais excipientes

utilizados, quanto ao tipo de liberação que se pretende obter, porém um ajuste na modulação do fármaco pode ser obtida por meio da mistura de polímeros com propriedades diferentes (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; OLIVEIRA, 2007).

Os materiais poliméricos mais comumente utilizados na indústria farmacêutica incluem HPMC, EC, polivinilpirrolidona (PVP), ésteres poliacrílicos, entre outros (ZHU, 2002). Dentre eles, merecem destaque os derivados celulósicos, com utilização industrial difundida devido a possibilidade de obtenção de derivados a partir de modificações químicas em sua estrutura (Figura 13), sendo reconhecidos como os polímeros mais seguros e aceitáveis para utilização em produtos farmacêuticos (KLEMM et al., 1998; PEKEL et al., 2004; KAMEL et al., 2008).

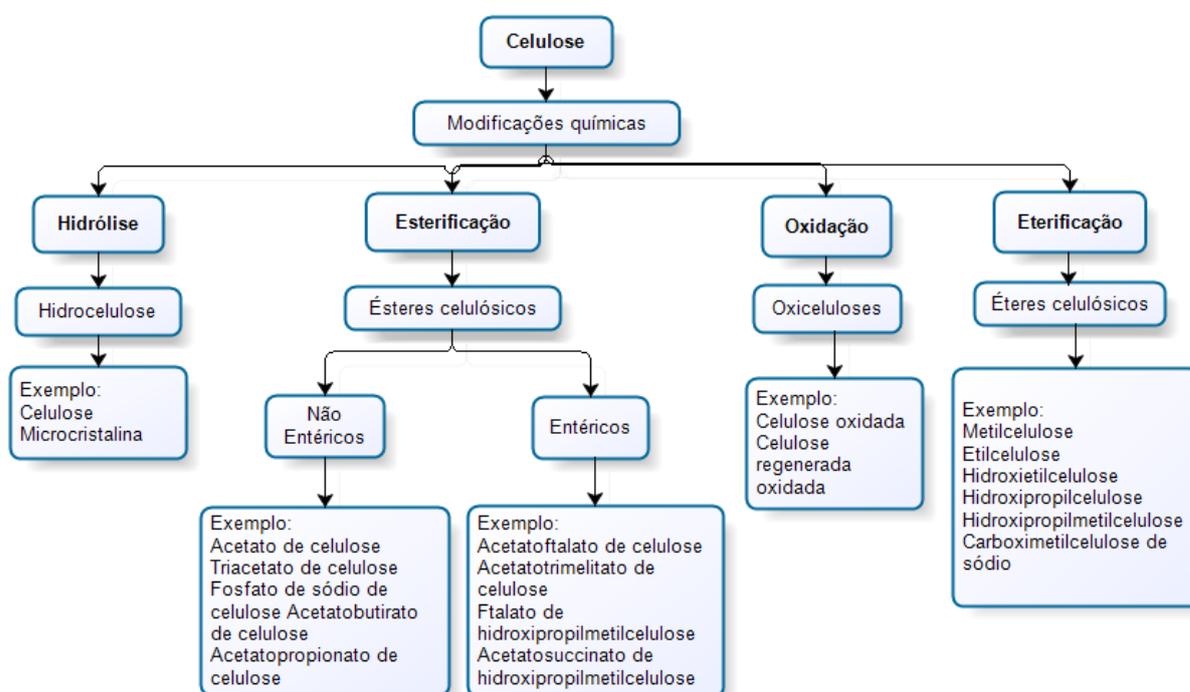


Figura 13 Principais modificações químicas da celulose e seus derivados (Adaptado de KUMAR e BANKER, 1993, VUEBA, 2006).

Dentre os polímeros celulósicos utilizados na obtenção de fármacos de liberação de modificada, destacam-se a HPMC e a EC. A HPMC também conhecida como hipromelose, é um polímero com alta capacidade de hidratação enquanto a EC é um polímero insolúvel de baixa permeabilidade, ambos bastante utilizados como agentes de revestimento em formulações farmacêuticas (KAMEL et al., 2008; ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

A EC em contato com água na faixa do pH fisiológico, permite a obtenção de uma membrana semipermeável capaz de controlar a liberação do fármaco. Sua utilização em combinação com polímeros solúveis, como o HPMC, é comum no

desenvolvimento farmacotécnico, principalmente quando se trata de um fármaco de alta solubilidade, uma vez que proporcionar 12 ou 24 horas de liberação nestes casos, pode ser um desafio na etapa de desenvolvimento (PILLAY; FASSIHI, 2000; VERHOEVEN; VERVAET; REMON, 2006; MILLER; MCGINIT, 2008).

Diversos são os estudos que utilizaram a combinação de HPMC e EC para a obtenção de sistemas de liberação modificada de fármacos, alguns deles estão descritos na Tabela 2.

Tabela 2 Estudos que utilizaram a mistura dos polímeros HPMC e EC para obtenção de sistemas de liberação modificada de fármacos.

Fármaco	Forma Farmacêutica	Autores	Ano
Teofilina	Minicomprimidos	MOHAMED et al.	2014
Succinato de Metoprolol	Comprimidos multiparticulados	GHARGE et al.	2014
Sulfato de Salbutamol	Comprimidos	WASIMUL et al.	2014
Glipizida	Péletes	SINGH; CHITKARA; SINGH	2014
Hidroclorotiazida	Comprimidos	MEHTA; TIWARI; RAJABI-SIAHLBOOMI.	2014
Sulfato de Salbutamol	Comprimidos	PACKIARAJ; VENKATESWARAN; JANAKIRAMAN.	2013
Cloridrato de propranolol	Péletes	SIRISHA et al.	2013
Cloridrato de Diltiazem	Comprimidos	ENAYATIFARD et al.	2009
Dipiridamol	Péletes	LEVINA; VUONG; RAJABI-SIAHBOOMI.	2007
Ibuprofeno	Minicomprimidos	LOPES et al.	2006
Teofilina	Péletes	FROHOFF-HÜLSMANN; SCHMITZ; LIPPOLD.	1999

3.6 Delineamento experimental

O processo de desenvolvimento de medicamentos, durante décadas foi realizado pelo processo de tentativa e erro, atrelado à experiência anterior, conhecimento e sabedoria do formulador, o que muitas vezes demandava tempo e esforço, com elevados números de experimentos. Deste modo, a indústria farmacêutica busca cada vez mais a redução do ciclo de vida de desenvolvimento e

a obtenção de processos mais robustos, aumentando sua competitividade no mercado (PISANO, 1997; SINGH; KUMAR; AHUJA, 2005).

O conceito de Delineamento Experimental (DOE) ,foi introduzido por Ronald Fischer em 1925 e representa uma técnica bastante útil no planejamento de experimentos, que permite avaliar os fatores que influenciam as características do produto resultante, com menor número de experimentos e resultados mais confiáveis (FISHER, 1971; DE BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2003).

O método de otimização das formulações empregando o DOE, é bastante utilizado no desenvolvimento de novos medicamentos, pois exigem menos experimentos para alcançar uma formulação com as características ideais de qualidade. Existem muitos tipos de planejamento experimental, sendo o planejamento fatorial o mais simples de ser utilizado (TYE, 2004; SINGH; KUMAR; AHUJA, 2005).

O planejamento fatorial inicia-se com a seleção das variáveis do processo, gerando como resultados, gráficos de superfície de resposta, cujo objetivo é atingir uma região ótima da superfície investigada, fornecendo uma base para a análise dos dados observados. Estes resultados permitem avaliar a interação entre os diferentes fatores, sendo este o principal componente de muitos processos de otimização (DE BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2003).

Um dos maiores objetivos do planejamento experimental é a maior precisão na resposta obtida, com o menor número de experimentos, permitindo assim, a obtenção de resultados mais confiáveis, poupando tempo e dinheiro. Sendo este método, bastante apropriado para a utilização na indústria farmacêutica, que apresenta alta concorrência e exige cada vez mais, menor tempo de desenvolvimento e processos mais robustos (TYE, 2004; NHA; SHIN; JEONG, 2013).

4. CAPÍTULO I

DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA QUANTIFICAÇÃO DE CLORIDRATO DE PROPRANOLOL EM SISTEMA MULTIPARTICULADO POR ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA

Sarah M. Martins^{a,b} Fabio P. de Souza^b, Vinicius Müller^b, Vanderson Galan^b, Itamar F. Andreazza^c e Maurício F. da Rosa^{a,*}

^aDepartamento de Farmácia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110 Cascavel – PR, Brasil

^bDepartamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação, Prati-Donaduzzi e Cia Ltda, 85903-630 Toledo – PR, Brasil

^cDepartamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Av. Lothário Meissner, 632, 80060-000 Curitiba – PR, Brasil

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHODOLOGY FOR QUANTIFICATION OF PROPRANOLOL HYDROCHLORIDE IN MULTIPARTICULATE SYSTEM BY SPECTROPHOTOMETRIC UV

Hypertension is one of the most important mortality risks in the world, consisting the main cause of deaths associated to cardiovascular diseases. In an attempt to obtain more effective treatments and applied to a large number of disorders, new methods of analysis are necessary to ensure the quality of the proposed therapeutic system. This work aimed to develop and validate a method directed to the quantification of a new multiparticulate system release of Propranolol Hydrochloride (PROP) by UV, following the recommended in RE 899/2003. The proposed method was linear, precise, accurate and robust in the range from 0.8 to 96 mg L⁻¹, which enables the utilization in the routine of a Quality Control laboratory.

Keywords: pellets; biphasic release; chronotherapy; validation

INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial é um dos principais fatores de risco para a mortalidade global, afetando um em cada três adultos com 25 anos ou mais e com prevalência geral de 22 % em adultos acima de 18 anos. Considerada a maior responsável pelas doenças cardíacas e derrames, representa cerca de 9,4 milhões das mortes relacionadas às doenças cardiovasculares a cada ano.^{1,2}

As complicações relacionadas às doenças cardiovasculares ocorrem predominantemente nas primeiras horas da manhã, uma vez que neste período a pressão arterial é mais elevada. Este fato está relacionado ao ritmo circadiano, que provoca oscilações fisiológicas e bioquímicas no organismo humano ao longo do dia.³⁻⁶

Na tentativa de obter um sistema terapêutico mais efetivo para o tratamento da hipertensão arterial que os existentes no mercado farmacêutico e, considerando as alterações fisiológicas provenientes do ritmo circadiano, foi desenvolvido em nosso laboratório, um sistema multiparticulado bifásico contendo o fármaco cloridrato de propranolol (PROP), composto por uma fração do fármaco de liberação imediata e a outra de liberação modificada. Este sistema direcionado ao tratamento da hipertensão arterial, visa minimizar os picos de hipertensão que ocorrem durante o período da manhã mantendo os níveis terapêuticos do fármaco ao longo do dia.⁷⁻⁹

O PROP, fármaco pertencente à classe dos β -bloqueadores adrenérgicos não seletivos, é amplamente prescrito para o tratamento de doenças cardiovasculares, tais como angina, arritmias, hipertensão arterial e infarto do miocárdio. No Brasil, os medicamentos contendo esse fármaco pertencem a Relação Nacional dos Medicamentos Essenciais (RENAME), representando um fármaco de amplo consumo e acesso pela população. Com relação à farmacocinética da forma de liberação imediata de PROP, o fármaco apresenta pico de concentração plasmática de 1 a 1,5 horas após administração e meia vida de 4 a 6 horas. Esse rápido tempo de absorção e meia vida, culmina na necessidade de várias administrações durante o dia, o que gera incômodo ao paciente, representando assim um forte candidato a sistemas de liberação modificada de fármacos.¹⁰⁻¹²

A preocupação com a qualidade dos medicamentos disponíveis no mercado vêm se intensificando ao longo dos anos, uma vez que parâmetros como qualidade e eficácia influenciam diretamente no tratamento de doenças e, conseqüentemente, na saúde do paciente. Sendo assim, as agências reguladoras têm exigido cada vez mais durante o registro de novos medicamentos que os métodos de análises utilizados sejam adequados.¹³⁻¹⁸

A quantificação do fármaco é de fundamental importância durante a etapa de

desenvolvimento e garantia da qualidade dos medicamentos, porém quando se trata de novos sistemas de liberação as metodologias analíticas não estão disponíveis em compêndios oficiais, devendo assim ser desenvolvida especificamente para o sistema em questão.¹⁹

A metodologia analítica prevê desde o preparo da amostra até a quantificação dos ativos, sendo que os procedimentos envolvidos no preparo e também na análise devem ser estabelecidos durante o desenvolvimento analítico, para posteriormente ser submetidos à validação do método. A otimização desses parâmetros se faz necessária, tendo em vista melhores resultados analíticos atrelados a menores tempos/custos de análise. Este processo, quando bem definido e documentado, oferece evidências às agências reguladoras e garante que o método proposto é reproduzível, eficiente e adequado para a utilização na rotina laboratorial.^{13,14,20}

Um método é considerado validado quando suas características estão de acordo com os pré-requisitos estabelecidos para cada finalidade metodológica ou toda vez que uma metodologia é desenvolvida ou sofre adaptações. Geralmente os critérios abordados são linearidade, exatidão, precisão, limites de detecção e quantificação, robustez e especificidade.^{15,21-23}

Na etapa de desenvolvimento de um método analítico, há grande interesse por métodos rápidos e eficientes, capazes de fornecer resultados precisos para a quantificação de fármacos, que possam ser implantados com facilidade na rotina laboratorial e, que acima de tudo, necessitem de pouco investimento. Um exemplo com essas características é a técnica de espectrofotometria de absorção na região do ultravioleta-visível (UV-Vis), uma técnica simples, rápida e de baixo custo, amplamente utilizada em laboratórios de controle de qualidade e de fácil manuseio.²⁴⁻²⁶

Deste modo, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e a validação de um método analítico para análise de doseamento e dissolução do PROP contido em um sistema multiparticulado de liberação modificada, pela técnica de espectroscopia de absorção no ultravioleta-visível (UV-Vis), visando sua utilização em análises de controle de qualidade de um novo sistema de liberação de fármaco.

PARTE EXPERIMENTAL

Substância química de referência e reagentes

A substância química de referência (SQR) utilizada foi o cloridrato de propranolol (PROP) - The United States Pharmacopeia (Lote: I1G348) com teor de 99,90 %.

Os reagentes utilizados, metanol e ácido clorídrico (HCl) foram adquiridos do fabricantes

Cromoline e Scharlau respectivamente, com grau analítico.

Amostras

Foram avaliadas cápsulas de cloridrato de propranolol 80 mg, contendo 40 mg de péletes de liberação imediata e 40 mg de péletes de liberação modificada.

Foi preparado também um placebo, contendo as mesmas quantidades estabelecidas na fórmula descrita acima com exceção do princípio ativo cloridrato de propranolol.

Desenvolvimento da metodologia analítica

Doseamento

Para a determinação do teor de PROP nas amostras, utilizou-se o conteúdo de 20 cápsulas (aproximadamente 7,28 gramas). Os péletes foram triturados com o auxílio de gral e pistilo e uma massa equivalente a 25 mg de PROP foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 25 mL. Foram adicionados 2 mL de metanol e o balão volumétrico foi levado ao banho ultrassônico (Unique[®] C3300), por 40 minutos. Posteriormente, foram adicionados 12,5 mL de metanol e o balão volumétrico foi levado ao banho ultrassônico por mais 20 minutos. Completou-se o volume do balão volumétrico com o mesmo solvente. Desta solução, uma alíquota de 2 mL foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e completado com solução aquosa de ácido clorídrico (HCl) 0,01 N. A concentração final obtida foi de 80 µg mL⁻¹ de PROP. Todas as soluções foram filtradas em filtro quantitativo de celulose. A solução foi analisada em espectrofotômetro de UV-Vis (Varian Cary[®] 50) a 289 nm, utilizando-se HCl 0,01 N para ajuste do zero.

Teste de dissolução in vitro

Para o teste de dissolução, foi utilizado um dissolutor USP 1,2,5,6 SOTAX[®] AT 7smart semiautomático UV-Vis online, e a quantificação realizada por meio do método espectrofotométrico na região do UV-Vis, conforme determinado no desenvolvimento da metodologia. As seguintes condições foram preconizadas: solução utilizada como meio de dissolução (1000 mL de HCl 0,01 N), temperatura (37 ± 0,5 °C), aparato (cesto; 100 rpm), seis cubas e tempo do ensaio (24 horas). A concentração final da amostra foi de 80 µg mL⁻¹, mesma concentração utilizada no teste de teor. As amostras foram quantificadas utilizando sistema com leitura online com detector de UV-Vis, utilizando-se comprimento de onda de 289 nm.

Validação do método analítico por espectrofotometria na região do UV

A validação da metodologia foi realizada, seguindo as recomendações para validação de métodos analíticos e bioanalíticos, descritos na Resolução N° 899, de 29 de maio de 2003, avaliando os parâmetros estabelecidos para as categorias I (doseamento) e III (dissolução).¹⁵

Preparo da solução padrão

Foi transferido 10 mg do padrão de PROP para um balão volumétrico de 25 mL. Foram adicionados 2 mL de metanol e levado ao banho ultrassônico por 10 minutos e em seguida o volume foi completado com solução de HCl 0,01 N. Desta solução foram transferidos 2 mL para um balão volumétrico de 10 mL e o volume foi completado com o mesmo diluente, resultando em uma solução de concentração de 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

Especificidade e seletividade

Para a definição do comprimento de onda de maior absorção do PROP, foi realizada uma varredura em UV-Vis entre os comprimentos de onda de 200 a 400 nm. A especificidade/seletividade do método foi determinada através da avaliação da interferência do placebo na quantificação do fármaco. O placebo consiste de todos os excipientes e revestimentos, incluindo as cápsulas, sem o ingrediente ativo. Esta avaliação foi realizada pesando-se 3 amostras da mistura de placebo, em triplicata, que foram então dispersas em HCl 0,01 N. A primeira amostra correspondendo a 100 % da quantidade de placebo presente na formulação e as 2 seguintes apresentavam um acréscimo de 25 % e 50 % de placebo em relação a primeira. A extração das amostras foi realizada a 37 °C e a porcentagem de interferência do placebo foi determinada em comparação com a solução padrão de PROP a 80 $\mu\text{g mL}^{-1}$.²⁷

Linearidade

Para a determinação da linearidade, foi construída uma curva de calibração, preparada a partir de soluções estoque a 400 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com concentrações de 0,8, 4, 8, 16, 32, 48, 64, 80 e 96 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de padrão de PROP avaliadas em triplicata. A equação da reta foi obtida pelo método dos mínimos quadrados e avaliada por análise de variância (ANOVA).

Intervalo

O intervalo especificado é a faixa entre os limites de quantificação superior e inferior de um

método analítico. É estabelecido pela confirmação de que o método apresenta exatidão, precisão e linearidade adequados quando aplicados a amostras contendo quantidades de substâncias dentro do intervalo especificado.

Precisão

Para a determinação da repetibilidade (precisão intra-corrída) foram realizadas 12 determinações na concentração de $80 \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo 6 determinações para o método de teor e 6 para o de dissolução. Para a precisão intermediária (precisão inter-corrídas), replicatas destas concentrações foram preparadas e analisadas por analistas diferentes em dias diferentes.

Exatidão

A exatidão foi realizada por ensaios de triplicada de amostras de SQR com concentrações de 0,8, 4, 48 e $96 \mu\text{g mL}^{-1}$, utilizando o método do placebo contaminado, sendo expressa pela relação entre a concentração determinada experimentalmente e a concentração teórica correspondente, de acordo com a equação abaixo:

$$\text{Exatidão} = \frac{\text{concentração média experimental}}{\text{concentração teórica}} \times 100 \quad \text{Eq. (1)}$$

Robustez

A robustez do método foi avaliada em triplicata, a partir de soluções na concentração de $80 \mu\text{g mL}^{-1}$, por meio de pequenas variações das condições analíticas do método. Os parâmetros alterados foram: comprimento de onda (284, 289 e 294 nm), tempo de sonicação (5, 10 e 15 minutos) e diferentes marcas do solvente HCl.^{14,15,28}

Estabilidade do fármaco em solução

A avaliação da estabilidade do fármaco em solução foi avaliada em três frentes: estabilidade do fármaco na solução padrão, nas amostras de doseamento e nas amostras de dissolução. As duas primeiras foram avaliadas a temperatura ambiente e a última a 37°C . As leituras foram avaliadas em 0, 12, 24 e 36 horas, e a faixa de aceitação para estabilidade das soluções foi de 98 % a 102 % comparando com a análise inicial das soluções.²⁷

Análise estatística

A análise estatística dos dados foi realizada por meio de análise de variância (ANOVA) unifatorial, em que os resultados foram considerados significativos quando a probabilidade se mostrou inferior a 5 % ($p < 0,05$, intervalo de confiança de 95 %), teste t de Student com nível de significância $\alpha = 0,05$ (intervalo de confiança de 95 %), com a utilização do software Microsoft Office Excel[®], versão 2007.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação do método analítico por espectrofotometria na região do UV

No espectro obtido pela varredura em UV-Vis (Figura 1), foi possível determinar que o comprimento de onda de máxima absorção do PROP ocorre em 289 nm e que não há sobreposição dos picos referentes ao fármaco e à solução de placebo nesta mesma faixa. Os valores obtidos para a interferência do placebo foram de 0,45 %, 0,22 % e 0,26 % para as concentrações de 100, 125 e 150 % de placebo, respectivamente, confirmando assim a ausência de interferentes pelos excipientes utilizados na formulação neste mesmo comprimento de onda e a especificidade do método, uma vez que estes valores não ultrapassam a especificação de 2,0 %.²⁷A análise variância (ANOVA, ANEXO –Tabela 1) demonstrou que não existe diferenças significativas entre as análises realizadas com as diferentes concentrações de placebo, tendo F calculado ($F_{cal} = 2,404$) $<$ F tabelado ($F_t = 5,143$).

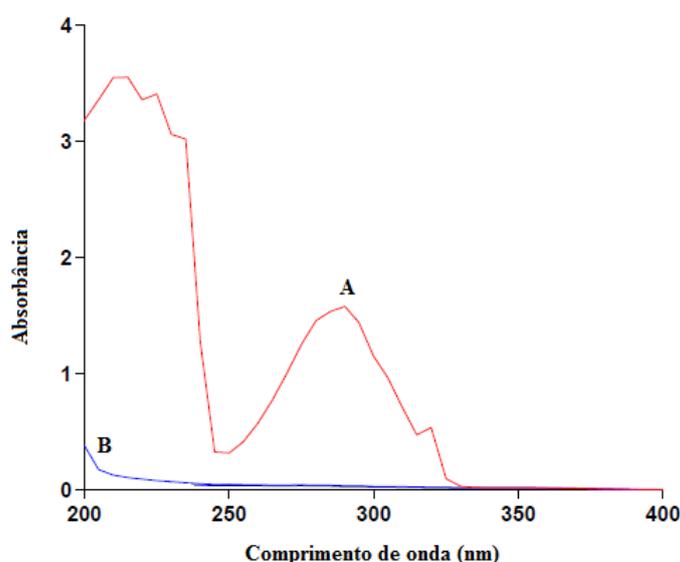


Figura 1. Espectros de absorção na região do ultravioleta das soluções padrão de PROP (A) e placebo (B)

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado. Sendo assim, a mesma foi obtida por meio da construção da curva analítica de PROP (Figura 2) pela análise de 9 concentrações diferentes da amostra, determinadas previamente de acordo com os dados do perfil de dissolução.^{15,22}

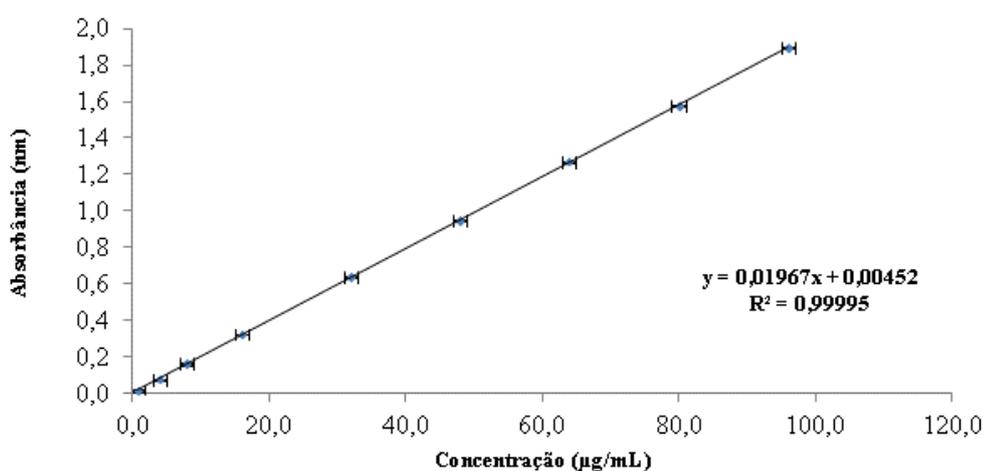


Figura 2. Representação gráfica da curva analítica e da equação da reta da solução padrão de PROP, obtida pelo método espectrofotométrico na região ultravioleta

Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo aceitável do coeficiente de correlação (r) deve ser 0,99, desta maneira a curva analítica obtida, foi linear no intervalo de 0,8 - 96 $\mu\text{g mL}^{-1}$, uma vez que os resultados obtidos se mostraram proporcionais à concentração do analito (Tabela 1).¹⁵

Tabela 1. Dados referentes à linearidade do método

Parâmetros	Resultado
Faixa de linearidade	0,8 – 96 $\mu\text{g mL}^{-1}$
Equação: $y = ax + b$	$y = 0,01967x + 0,00452$
Coefficiente de correlação (r)	0,9999

Apesar do valor do coeficiente de correlação estar dentro do valor especificado, faz-se necessário avaliar de maneira cuidadosa os resíduos da regressão linear (Figura 3) para garantir a adequação do ajuste linear à curva de calibração. É possível verificar que os resíduos seguem distribuição uniforme, variância constante (homocedastidade) e ausência de amostras atípicas confirmando desta maneira o ajuste adequado do método.^{29,30}

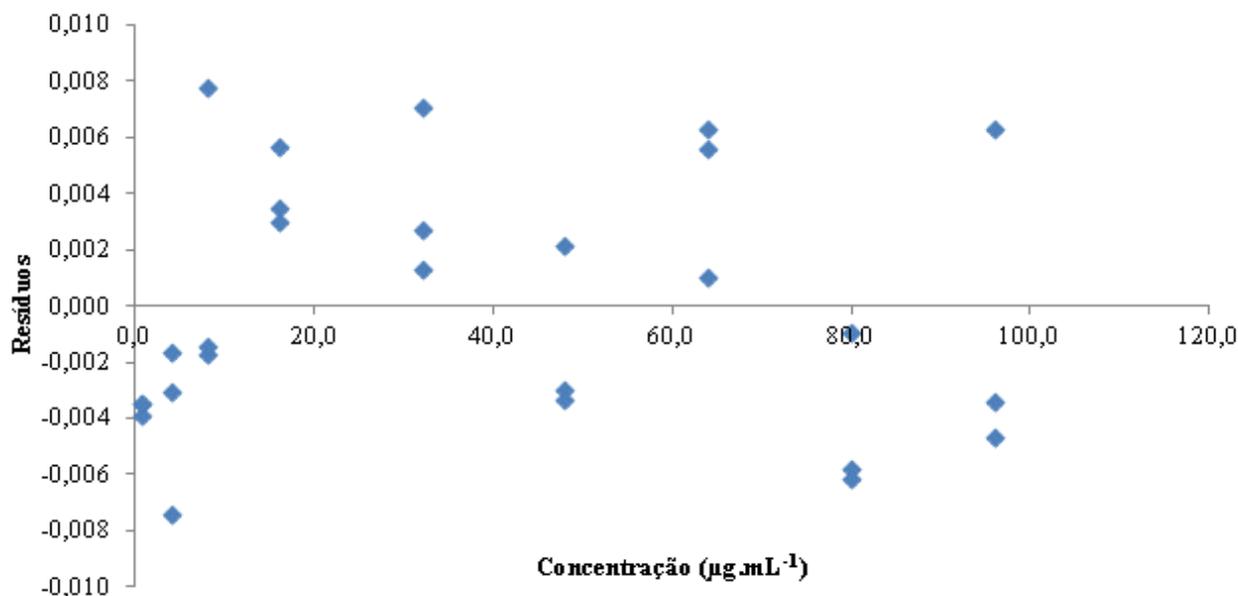


Figura 3. Gráfico dos resíduos

A precisão avalia a proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra. A repetibilidade foi avaliada em um único dia e pelo mesmo analista, sendo que os valores médios encontrados neste ensaio foram de $99,54\% \pm 0,96$ e $99,52\% \pm 0,73$ para as determinações de doseamento e dissolução respectivamente, não apresentando diferença significativa entre si com F calculado ($F_{\text{cal}} = 0,001$) < F tabelado ($F_{\text{t}} = 4,964$).¹⁵ A precisão intermediária foi determinada em dois dias diferentes por dois analistas diferentes. Os valores destas determinações estão expressos na Tabela 2, sendo que o desvio padrão relativo médio não ultrapassou o valor estabelecido de 5 %. A análise de variância (ANOVA, ANEXO –Tabela 2) demonstrou que não existe diferenças significativas entre as análises realizadas pelos Analistas 1 e 2 durante o período do estudo, com F calculado ($F_{\text{cal}} = 1,504$) < F tabelado ($F_{\text{t}} = 2,249$). Desta maneira, o método se mostrou preciso nas condições do presente experimento.^{14,15}

Tabela 2. Resultados obtidos na análise de precisão intermediária do método espectrofotométrico para avaliação de doseamento e dissolução de cápsulas de liberação bifásica de PROP

Metodologia		Concentração ^a Dia 1 (%)	Concentração ^a Dia 2 (%)
Doseamento	Analista 1	99,83 ± 0,66	99,33 ± 0,30
	Analista 2	100,02 ± 1,36	99,17 ± 0,43
Dissolução	Analista 1	98,81 ± 1,28	99,23 ± 0,31
	Analista 2	99,92 ± 1,17	99,08 ± 0,80

^a Média ± D.P.R (n = 6).

A exatidão do método é a proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor verdadeiro. No caso do presente estudo, o grau de recuperação foi determinado para as concentrações de 1, 5, 60 e 120 %.¹⁵ O limite estabelecido do nível de recuperação aceitável para produtos farmacêuticos está entre 95 - 105 %.²⁷ O ensaio realizado para todas as concentrações demonstrou a exatidão do método, uma vez que os resultados obtidos (Tabela 3) se mantiveram dentro dos limites especificados. A partir do teste *t* de *Student*, pode-se afirmar que o valor de recuperação encontrado é estatisticamente igual a 100 % para nível de significância $\alpha = 0,05$, *t* calculado ($t_{cal} = -0,952$) < *t* tabelado ($t_t = 1,717$).

Tabela 3. Resultados obtidos na análise de exatidão do método espectrofotométrico para cápsulas de liberação bifásica de PROP

Concentração teórica ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração média experimental ^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação ^a (%)	DPR (%)
0,80	0,80	100,55	1,90
4,00	3,98	99,40	1,73
48,00	48,58	101,21	0,74
96,00	96,29	100,31	0,28

^a Média (n = 3).

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas alterações dos parâmetros analíticos a fim de avaliar a susceptibilidade do método às variações. Os parâmetros analíticos modificados (Tabela 4) não apresentaram mudanças significativas no teor das amostras sendo, portanto considerado um método robusto no que se

refere a alteração da marca do solvente de HCl, tempo de sonicação e comprimento de onda.¹⁵ A análise de variância (ANOVA, ANEXO –Tabela 3) demonstrou que não existe diferenças significativas entre as análises realizadas com os diferentes parâmetros, tendo F calculado ($F_{cal} = 1,674$) < F tabelado ($F_t = 5,143$).

Tabela 4. Dados relativos à robustez do método proposto

Parâmetros variados		Absorbância da solução amostra ^a	Concentração do fármaco (%)	DPR (%)
Marca solvente	A	1,558	99,17	2,18
	B	1,554	98,87	0,59
	C	1,565	99,58	0,46
Tempo sonicação (min)	5	1,584	100,77	0,43
	10	1,581	100,64	0,53
	15	1,566	99,69	0,78
Comprimento de onda (nm)	284	1,568	99,79	0,46
	289	1,583	100,72	0,72
	294	1,546	98,39	0,62

^a Média (n = 6).

As condições de realização dos ensaios de estabilidade do fármaco em solução devem reproduzir as reais condições de manuseio das amostras devendo ainda ser realizadas durante, pelo menos, o tempo de dissolução de todo experimento. Os resultados obtidos nesta etapa estão demonstrados na Tabela 5. Pode-se observar que todas as amostras analisadas mantiveram-se dentro da faixa de aceitação preconizada, 98 a 102 %, durante o tempo de análise.^{15,27} A análise de variância (ANOVA, ANEXO –Tabela 4) demonstrou que não há diferenças significativas entre as análises realizadas nos diferentes períodos, tendo F calculado ($F_{cal} = 0,699$) < F tabelado ($F_t = 4,256$).

Tabela 5. Dados relativos à estabilidade das amostras

Tempo analisado (h)	Concentração AP ^a (%)	Concentração AD ^a (%)	Concentração AS ^a (%)
0	100,00	99,49	99,80
12	98,78	99,13	99,25
24	100,79	100,17	100,19
36	102,64	100,23	100,31
DPR (%)	1,61	0,54	0,48

^a Média (n = 3), AP = amostra solução padrão, AD = amostra solução doseamento, AS = amostra solução dissolução.

CONCLUSÃO

O método analítico proposto para a quantificação do PROP no sistema proposto, através da técnica espectrofotometria UV, mostrou-se linear, preciso, exato, robusto em relação às variações no comprimento de onda, marca de solvente e sonicação na faixa de concentração de 0,8 - 96 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Além disso, o método apresentou-se estável nas condições experimentais analisadas, evidenciando um método capaz de gerar resultados de alta confiabilidade e portando apto a ser utilizado na rotina laboratorial de controle de qualidade.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/CAPES pelo suporte financeiro e à Indústria Farmacêutica Prati- Donaduzzi Ltda por disponibilizar os equipamentos e a infraestrutura necessários para realização de parte deste trabalho.

5. CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO E OTIMIZAÇÃO DE SISTEMA MULTIPARTICULADO DE LIBERAÇÃO BIFÁSICA MEDIANTE DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Sarah Moherdau Martins^{a,b}, Vinicius Müller^b, Vanderson Galan^b, Fabio Pinheiro de Souza^b, Itamar Francisco Andreazza^c e Maurício Ferreira da Rosa^{a,*}

^aDepartamento de Farmácia, Universidade Estadual do Oeste do Paraná, 85819-110 Cascavel – PR, Brasil

^bDepartamento de Pesquisa, Desenvolvimento e Inovação, Prati-Donaduzzi e Cia Ltda, 85903-630 Toledo – PR, Brasil

^cDepartamento de Farmácia, Universidade Federal do Paraná, Av. Lothário Meissner, 632, 80060-000 Curitiba – PR, Brasil

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF MULTIPARTICULATE BIPHASIC SYSTEM BY EXPERIMENTAL DESIGN

In recent years, the interest of the pharmaceutical industry for new drug delivery system has been growing, especially for the low occurrence of side effects and the optimization of therapy. The multiparticulate systems, besides their technological and biopharmaceutical advantages when compared to the monolithic systems, allow the obtainment of different ways of drug releases. Among the delivery systems, those of the biphasic release are highlighted, being able to provide release systems aimed to diseases related to circadian rhythm changes. Thus, through the combination of cellulosic polymers hydroxypropylmethylcellulose and ethylcellulose and factorial experimental design 2^2 tool, it was possible to obtain a multiparticulate system with biphasic release up to 24 hours length, with a relatively few experiments and with appropriate quality requirements to provide its use in a pharmaceutical form.

Keywords: chronotherapy; pellets; factorial design

1. Introdução

Sistemas multiparticulados são, por definição, unidades funcionais que contêm o fármaco subdividido em péletes, grânulos, minicromprimidos ou a combinação desses (Zerbini e Ferraz, 2011). Os péletes são unidades esféricas constituídas pela aglomeração de ativos e excipientes, com diâmetros que variam de 100 a 2000 μm , podendo atuar como produto intermediário para a produção de sachês, cápsulas ou comprimidos. Sua utilização em sistemas multiparticulados foi impulsionada a partir das décadas de 1950 e 1960, com a evolução e o surgimento de novos polímeros (Ghebre-Selassie, 1989; Glatt, 2014; Kulkarni, 2010; Vervaet et al., 1995). Os sistemas multiparticulados apresentam vantagens quando comparados aos sistemas unitários, tais como uma melhor distribuição pelo trato gastrointestinal (TGI), desintegração facilitada, ausência de influência pelo esvaziamento gástrico, menor risco de toxicidade sistêmica e irritação local, além de possibilitar a obtenção de formas customizadas de liberação (Aulton e Ortega, 2008; Bauer et al., 1998; Bodmeier, 1997; Hage Junior, 1998; Lachman et al., 2013; Pezzini et al., 2007).

Em um regime terapêutico ideal, o fármaco deve atingir rapidamente o local de ação e sua liberação se manter constante durante o tratamento desejado. Alguns fármacos apresentam naturalmente longo tempo de ação, necessitando de apenas uma administração diária para manter os níveis plasmáticos adequados. Entretanto, muitos outros devem ser administrados repetidamente, podendo ocasionar em flutuações séricas do fármaco nos intervalos que antecedem a próxima administração (Allen Junior et al., 2013; Aulton e Ortega, 2008; Bruschi, 2015; Noël et al., 2004). Como alternativa para tal inconveniente, têm-se buscado cada vez mais a utilização de sistemas capazes de modular a liberação do fármaco de maneira gradual, proporcionando diminuição da frequência de administração, menor flutuação na concentração plasmática do fármaco, menores efeitos colaterais e maior adesão ao tratamento (Lopes et al., 2005; Pezzini et al., 2007; Villanova et al., 2010).

Dentre os tipos de liberação modificada existentes no âmbito farmacêutico, merece destaque o sistema bifásico, que destina-se à liberação do fármaco em diferentes etapas, sendo uma de ação imediata e a outra para a manutenção do efeito terapêutico por um período de tempo, resultando em quebra dos longos efeitos posológicos e eliminando a administração repetida do fármaco (Jha et al., 2011).

Representando os agentes farmacoterapêuticos candidatos e atrativos a este tipo de liberação, têm-se os fármacos anti-hipertensivos, anti-histamínicos, analgésicos, antipiréticos e antialérgicos. Esses fármacos são utilizados no tratamento de doenças conhecidas como circadianas, ou seja, doenças que sofrem maior ou menor expressão de acordo com o período

do dia, uma vez que o organismo humano é complexo e está sujeito constantemente a alterações fisiológicas e bioquímicas, como é o caso da hipertensão, em que a ocorrência das manifestações relacionadas às complicações cardiovasculares ocorrem predominantemente nas primeiras horas da manhã, período em que a pressão arterial é mais elevada (Dallmann et al., 2014; Jha et al., 2011; Lin e Kawashima, 2012; Londhe et al., 2010; Maggi et al., 1999; Ohdo, 2010; Verdecchia, et al., 2012).

Para a obtenção de um sistema de liberação específico, muitas vezes se faz necessária a utilização de revestimentos a base de polímeros, sendo comum nestes casos a mistura de polímeros com características e propriedades diferentes de solubilidade, como por exemplo a associação dos derivados celulósicos Hiproxipropilmetilcelulose (HPMC), de alta solubilidade em água, e Etilcelulose (EC) de característica insolúvel, amplamente utilizados em produtos farmacêuticos, visando à obtenção de sistemas modificados de liberação de fármacos (Kamel et al., 2008; Klemm et al., 1998; Lopes et al., 2005; Oliveira, 2007; Pekel et al., 2004).

Nos casos em que utiliza-se a associação de polímeros para a obtenção do perfil de liberação desejado, é de extrema importância o conhecimento de suas características e influências na formulação, a fim de diminuir o tempo de desenvolvimento e o número de ensaios. Sendo assim, cada vez mais têm-se utilizado ferramentas que otimizem a etapa de desenvolvimento, como é o caso da utilização do planejamento experimental, ferramenta que fornece informações mais precisas com menor número de experimentos (Lachman et al., 2013; Rubin et al., 2006; Singh et al., 2005; Tye, 2004). No cenário atual da indústria farmacêutica, busca-se cada vez mais a redução do tempo de desenvolvimento e a obtenção de processos mais robustos que aumentem a competitividade no mercado (Pisano, 1997; Singh et al., 2005).

Diante de tal panorama, a partir da utilização de um fármaco modelo de alta solubilidade, o cloridrato de propranolol (PROP), o presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de um sistema multiparticulado em péletes de liberação bifásica, utilizando a tecnologia de revestimento polimérico a base da associação de HPMC e EC, e a otimização da formulação por meio de planejamento fatorial ²².

2. Material e Métodos

2.1 Material

Cloridrato de propranolol, (PROP) (Iffect Chempar Co. Ltda, Índia), polivinilpirrolidona K30 –Plasdone® K30, (PVP K30) (Ashland, EUA); esferas inertes de sacarose 25-30 mesh, (EIS)

(JRS Pharma, Alemanha); etilcelulose N45 –Ethocel® N45 (EC) e hidroxipropilmetilcelulose 5cps –Methocel® E5 LV, (HPMC) (Colorcon, EUA); talco (Magnesita, Brasil) e citrato de trietila, (TEC) (Vertelus, EUA). As matérias-primas e excipientes utilizados foram gentilmente cedidas pela Prati- Donaduzzi Ltda Indústria Farmacêutica, Brasil.

2.2 Estudo de compatibilidade

A interação entre o fármaco e os excipientes foram avaliados por meio das análises de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (IVTF). Foram realizadas análises em amostras contendo o PROP puro, misturas binárias de PROP com excipientes na proporção 1:1, mistura do placebo da formulação final e o PROP na proporção 1:1 e também os péletes da melhor formulação obtida no final da etapa de desenvolvimento.

2.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As análises de DSC foram realizadas utilizando um equipamento DSC-1 (Mettler Toledo), operando sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL min^{-1}) e razão de aquecimento de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ na faixa de temperatura de 30 a $350 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Todos os resultados foram processados no *software* Star®, licenciado pela Mettler-Toledo®.

2.2.2 Espectroscopia no infravermelho (IVTF-RTA)

As análises de IVTF-RTA foram realizadas com a utilização de um Espectrofotômetro de Infravermelho por Transformada de Fourier (Spectrum 400®, Perkin –Elmer®) com acessório de sonda de refletância total atenuada (RTA) para infravermelho médio. Os espectros foram registrados a temperatura ambiente utilizando 20 varreduras, resolução de 4 cm^{-1} na faixa entre $4000 - 660 \text{ cm}^{-1}$.

2.3 Desenvolvimento das formulações de PROP em péletes de liberação bifásica

2.3.1 Preparo e composição dos péletes de PROP de liberação imediata

Para a escolha do agente aglutinante empregado na obtenção dos péletes foram preparadas 4 formulações (A a D), utilizando-se a solução dos polímeros PVP K30 ou HPMC em diferentes proporções. A composição das formulações é mostrada na Tabela 1.

Tabela 1: Composição das formulações para escolha do agente aglutinante.

Composição	A (%)	B (%)	C (%)	D (%)
PROP	11,32	11,32	11,32	11,32
PVP K30	1,89	-	-	-
HPMC	-	0,94	2,83	3,77
Talco	2,83	2,83	2,83	2,83
EIS	29,25	30,19	28,3	27,36
Álcool Isopropílico (AIS)	54,72	27,36	27,36	27,36
Água Purificada	-	27,36	27,36	27,36
Total	100	100	100	100

Para a formulação A, uma carga inicial de 1550 g de EIS foi revestida com uma solução alcoólica da mistura de PROP, PVP K30 e talco. Para as formulações B, C e D, as EIS (1600, 1500 e 1450 g respectivamente) foram revestidas com uma solução hidroalcoólica (1:1; p/p) contendo a mistura de PROP, HPMC e talco. O processo de revestimento de todas as formulações foi realizado em leito fluidizado (Bosch-Hüttlin® Unilab®), seguindo-se os parâmetros: Vazão do ar de entrada = 250 m³ h⁻¹, temperatura do ar de entrada = 40 – 45 °C, temperatura do produto = 37 – 39 °C, pressão de atomização = 1,20 bar, pressão de microclima = 0,25 bar, diâmetro do bico de atomização = 1,0 mm, diâmetro do air cap = 12 mm e taxa de atomização da suspensão de revestimento = 10 – 36 g min⁻¹. Após o final do processo de revestimento, os péletes foram secados por 30 minutos a 40 °C.

O rendimento (R%) das formulações foi calculado conforme:

$$R(\%) = \frac{\text{massa obtida de péletes revestidos}}{\text{massa inicial (excipientes + PROP)}} \times 100 \quad \text{Eq.(1)}$$

Das formulações iniciais, aquela com maior rendimento e performance foi utilizada para a continuação do desenvolvimento dos péletes.

A formulação escolhida, peso inicial de 1500 g de péletes revestidos de PROP, foi submetida ao revestimento de selagem, preparado a partir de uma dispersão coloidal aquosa de HPMC (8,2%; p/p). Os seguintes parâmetros foram seguidos: Vazão do ar de entrada = 250 m³ h⁻¹, temperatura do ar de entrada = 45 – 50 °C, temperatura do produto = 39 – 41 °C, pressão de atomização = 1,20 bar, pressão de microclima = 0,25 bar, diâmetro do bico de atomização = 1,0 mm, diâmetro do air cap = 12 mm e taxa de atomização da suspensão de revestimento = 10 – 14 g min⁻¹. Após o processo de revestimento, os péletes foram secados por 30 minutos a

40 °C.

2.3.2 Desenvolvimento e otimização dos péletes de PROP de liberação modificada

Para otimizar o desenvolvimento dos péletes de PROP de liberação modificada, foram realizados experimentos baseados em um planejamento fatorial completo com dois fatores em dois níveis (2^2) e triplicata no ponto central. As variáveis estudadas foram às concentrações dos polímeros de revestimento HPMC e EC na terceira camada de revestimento dos péletes, bem como a interação HPMC x EC na resposta do tempo de liberação do PROP. Para cada fator (HPMC e EC), foram utilizados dois níveis: -1 (baixo) e +1 (alto), conforme Tabela 2.

Tabela 2: Variáveis HPMC e EC e níveis (-1, 0 e 1) utilizados no planejamento fatorial 2^2 .

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
HPMC (mg)	2	4	6
EC (mg)	10	20	30

Os experimentos foram realizados de forma aleatória e com triplicata no ponto central. A matriz fatorial utilizada para o delineamento dos experimentos está mostrada na Tabela 3 e foi obtida pelo software *Design-Expert*[®] versão 7.1.3.

Tabela 3: Planejamento fatorial 2^2 para as variáveis codificadas: HPMC (mg) e EC (mg).

Experimentos efetuados de forma aleatória e com triplicata no ponto central.

Formulação	Sequência	Variáveis codificadas	
		HPMC (mg)	EC (mg)
F1	4	-1	-1
F2	3	1	-1
F3	5	-1	1
F4	2	1	1
F5	6	0	0
F6	1	0	0
F7	7	0	0

Para a obtenção dos péletes de liberação modificada foram utilizados como ponto de partida péletes de PROP com revestimento de selagem, sendo a carga inicial de 1500 g para cada

teste. O revestimento das formulações de F1 a F7 foram realizados a partir de uma solução hidroalcoólica (álcool:água 9:1 p/p) da mistura de EC, HPMC e TEC, conforme as quantidades descritas na Tabela 4. Os seguintes parâmetros foram seguidos: Vazão do ar de entrada = $250 \text{ m}^3 \text{ h}^{-1}$, temperatura do ar de entrada = $40 - 45 \text{ }^\circ\text{C}$, temperatura do produto = $35 - 37 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão de atomização = 1,20 bar, pressão de microclima = 0,25 bar, diâmetro do bico de atomização = 1,0 mm, diâmetro do *air cap* = 12 mm e taxa de atomização da suspensão de revestimento = $10 - 24 \text{ g min}^{-1}$. Após o final do processo de revestimento, os péletes foram secados por 30 minutos a $40 \text{ }^\circ\text{C}$.

Tabela 4: Formulação para obtenção dos péletes de liberação modificada.

Composição	F1 (mg)	F2 (mg)	F3 (mg)	F4 (mg)	F5 (mg)	F6 (mg)	F7 (mg)
Péletes Selados	337,60	337,60	337,60	337,60	337,60	337,60	337,60
EC	10	10	30	30	20	20	20
HPMC	2	6	2	6	4	4	4
TEC	1,2	1,6	3,2	3,6	2,4	2,4	2,4
Álcool 96 °GL*	682	682	682	682	682	682	682
Água Purificada*	68,2	68,2	68,2	68,2	68,2	68,2	68,2
Total	350,80	355,20	372,80	377,20	364,00	364,00	364,00

*Solvente evapora durante o processo.

2.3.3 Obtenção da formulação de péletes de liberação bifásica de PROP

Para a obtenção do sistema multiparticulado de liberação bifásica de PROP, diferentes proporções dos péletes de liberação imediata e modificada obtidos, foram acondicionadas em cápsulas de gelatina dura nº 1 para avaliação e comparação dos perfis de dissolução, resultando nas formulações F8 e F9. A concentração final de 80 mg de PROP foi mantida em cada uma das formulações.

2.4 Determinação do teor do fármaco

O teor de PROP dos péletes foi determinado utilizando espectrofotômetro UV/Vis (Varian Cary® 50). Uma massa de péletes equivalente a 25 mg de PROP foi pesada e transferida para um balão volumétrico de 25 mL. Foram adicionados 2 mL de metanol e o balão volumétrico foi levado ao banho ultrassônico (Unique®, C3300), por 40 minutos. Posteriormente, foram adicionados mais 12,5 mL de metanol e o balão volumétrico foi levado ao banho ultrassônico por mais 20 minutos. Completou-se o volume do balão volumétrico com o mesmo solvente.

Desta solução, uma alíquota de 2 mL foi transferida para um balão volumétrico de 25 mL e completado com solução de ácido clorídrico HCl 0,01 N. Todas as soluções foram filtradas em filtro quantitativo de celulose e a concentração final foi de 0,0800 mg/mL de PROP. A solução foi analisada em espectrofotômetro UV/VIS em 289 nm e os ensaios foram realizados em triplicata.

2.5 Perfil de dissolução

A dissolução dos péletes de PROP foi realizada por metodologia validada de acordo com Resolução nº 899, de 29 de maio de 2003 (Brasil, 2003), em dissolutor USP aparato 1 (cesta) Sotax[®] Semiautomático, acoplado a coletor automático de amostras, utilizando-se solução de ácido clorídrico (HCl 0,01 N, 1000 mL) a $37 \pm 0,5$ °C como meio de dissolução. As coletas e respectivas leituras ocorreram de maneira *online* em intervalo de tempo de 5, 10, 15, 20, 30, 60 e 90 min para os péletes com revestimento de ativo e com revestimento de selagem e em intervalos de: 30, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 480, 600, 720, 960, 1200 e 1440 minutos para os péletes de liberação modificada e bifásica. Para F3 o tempo de análise foi estendido para 2400 min. As amostras foram analisadas por espectrofotometria na região do ultravioleta a 289 nm, utilizando espectrofotômetro UV/Vis para a determinação da concentração de fármaco presente.

A eficiência de dissolução foi calculada a partir dos valores obtidos da área sob a curva (ASC) de dissolução, em um intervalo de tempo (t), pelo método descrito por Khan (1975):

$$ED(\%) = \frac{ASC_{(0-1440)}}{ASC_{TOTAL}} \times 100 \quad \text{Eq. (2)}$$

A equação considera a razão entre ASC no intervalo de tempo compreendido entre zero e 1440 min e a área total do retângulo (ASC_{TOTAL}), expressa em porcentagem.

O fator de similaridade (f2), foi avaliado a fim de comparar a similaridade entre porcentagem de fármaco dissolvida entre as formulações, de acordo com Costa e Lobo (2001); Maggio et al., (2008):

$$f2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right]^{0^{-0,5}} \right\} \times 100 \quad \text{Eq. (3)}$$

onde n é o número de ensaios; Rt é o valor de dissolução do produto de referência (em porcentagem) no tempo t e Tt é o valor de dissolução do produto teste (em porcentagem) no tempo t. Para que as curvas de dissolução sejam consideradas similares, o valor de f2 deve

estar compreendido entre 50 e 100 (Brasil, 2010).

2.7 Caracterização dos péletes obtidos

Os péletes que apresentaram as propriedades de liberação desejada para a obtenção das formulações bifásicas de PROP, F8 e F9, foram submetidos às análises de caracterização tais como avaliação granulométrica, densidade aparente (DA) e compactada (DC), friabilidade, perda por dessecação, esfericidade e avaliação da morfologia externa.

Para avaliação granulométrica, amostras de 100 g foram submetidas à agitação vibracional de 15 Hz por 10 minutos em um tamisador Impact Test Sieve Shaker SV001, utilizando-se as malhas 18, 20, 25, 30 e 35 mesh. Os resultados foram expressos em porcentagem de retenção da massa de péletes em cada malha.

A avaliação da densidade dos péletes foi obtida após avaliação de uma amostra de 50 g em proveta graduada de 250 mL, submetida a 200 batidas, com auxílio de densímetro de compactação Pharma Test PT-TD200 (Mehta et al., 2012). A friabilidade foi determinada pela perda de peso após oscilações horizontais de 240 oscilações min^{-1} por 240 s (European Pharmacopeia, 2008) e determina conforme Mehta et al., (2012):

$$F(\%) = \frac{\text{massa inicial } (m_1) - \text{massa final } (m_2)}{\text{massa inicial } (m_1)} \times 100 \quad \text{Eq. (4)}$$

A determinação do teor de umidade (n=3), foi realizada em balança de umidade por infravermelho Mettler-Toledo[®] HB43-S Halogen, com amostras de 2,0 g até temperatura máxima de 105 °C e massa constante. A porcentagem referente à perda de massa foi considerada como o teor de umidade da amostra.

A esfericidade (S) dos péletes, foi calculada de acordo com o descrito por Lovgren e Lundberg (1989), por meio da medição do comprimento e largura da imagem bidimensional dos péletes com a utilização de 20 unidades. O formato foi expresso como porcentagem de esfericidade, onde 100% corresponde a um círculo perfeito. O comprimento (diâmetro mais longo; dl) e a largura (diâmetro mais curto; dc) dos péletes foram considerados para o cálculo conforme representado abaixo:

$$S = \frac{dc}{dl} * 100 \quad \text{Eq. (5)}$$

A avaliação da morfologia externa dos péletes foi realizada por meio de imagens obtidas por

Microscopia eletrônica de varredura, (MEV) (Shimadzu[®], modelo SS 550). As amostras foram colocadas em um porta-amostras metálico e fixadas com fita adesiva de carbono, em seguida foram recobertas como uma fina camada de ouro, utilizando uma corrente de 4 mA por um período de 3 minutos.

3. Resultados e Discussão

O estudo de pré-formulação é uma etapa fundamental para reduzir ou prever possíveis intercorrências durante o processo de desenvolvimento de um medicamento (Allen Junior et al., 2013). Durante esta etapa, é importante avaliar a existência de incompatibilidades entre o ativo e os excipientes escolhidos para a etapa de desenvolvimento, pois uma formulação segura e eficaz depende da escolha cuidadosa dos seus componentes (Aulton e Ortega, 2008). As curvas de DSC obtidas para o PROP e para as misturas binárias são mostradas na Fig. 1. O termograma obtido para o PROP, mostrou um pico endotérmico acentuado em 163,73 °C, característico de um ponto de fusão (Farmacopeia Brasileira, 2010; Sahoo e Murthy, 2008). Os termogramas obtidos das misturas binárias entre os excipientes e o PROP não mostraram alterações significativas no pico endotérmico, com variações de 158,94 °C a 166,44 °C, indicando uma boa compatibilidade entre o PROP e os excipientes escolhidos. As amostras da mistura placebo e PROP e a formulação final de PROP também não mostraram alterações significativas quando comparado ao pico do PROP puro, indicando que mesmo após a utilização dos excipientes em conjunto e o processo de preparo, as características do fármaco se mantiveram.

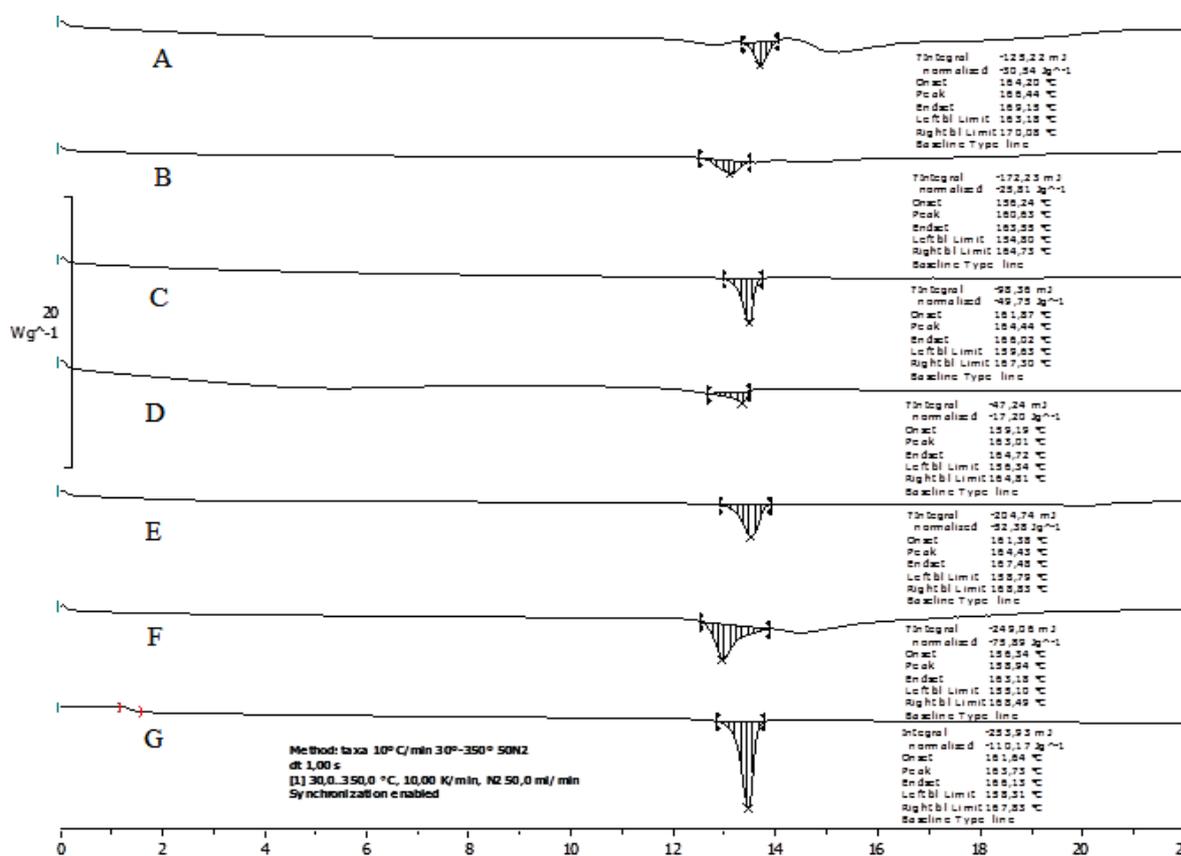


Fig. 1: Termograma de DSC para avaliação da incompatibilidade entre os componentes da formulação. A) Formulação final de PROP (pico endotérmico em 166,44 °C); B) PROP + Placebo dos péletes (pico endotérmico em 160,63 °C); C) PROP + talco (pico endotérmico em 164,44 °C); D) PROP + PVP K30 (pico endotérmico em 163,01 °C); E) PROP + HPMC (pico endotérmico em 164,43 °C); F) PROP + EIS (pico endotérmico em 158,94 °C); G) PROP (pico endotérmico em 163,73 °C).

Apesar da análise de DSC ser a mais utilizada em estudos de compatibilidade, a interpretação dos dados fornecidos nem sempre são fáceis, podendo levar a interpretações incorretas dos resultados. Além do mais, os resultados obtidos em altas temperaturas, podem não ser relevantes quando se trata da temperatura ambiente e/ou de armazenamento sendo aconselhável muitas vezes a utilização de técnicas confirmatórias, como por exemplo, a IVTF (Liltorp et al., 2011; Tiça et al., 2011). Por meio da análise de IVTF, é possível observar as bandas características do PROP: estiramento –OH ($3650-3200\text{ cm}^{-1}$), estiramento N-H de amina secundária ($3500-3100\text{ cm}^{-1}$), estiramento –CH dos aromáticos ($3100-3000\text{ cm}^{-1}$), C=C dos anéis aromáticos ($1600-1475\text{ cm}^{-1}$), estiramentos O-CH₂ assimétrico e simétrico (1240 e 1030 cm^{-1}) e α substituição do naftaleno 798 cm^{-1} (PAVIA et al., 2010). Os resultados obtidos na análise de IVTF, Fig. 2, confirmam a ausência de interação entre as amostras analisadas, uma vez que não são observadas alterações significativas nas bandas características do PROP.

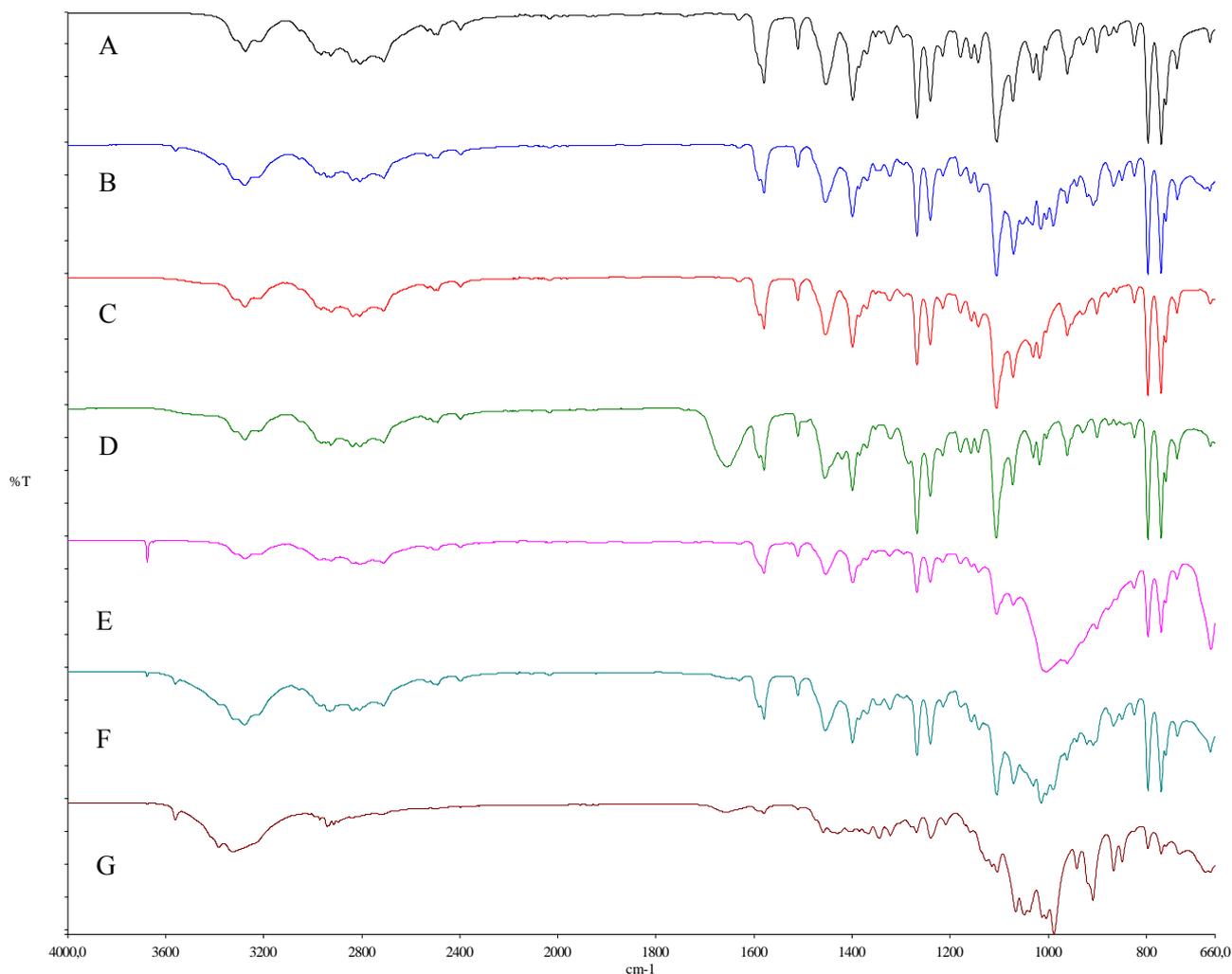


Fig. 2: Espectro de absorção no infravermelho A) PROP; B) PROP+EIS; C) PROP + HPMC; D) PROP + PVP K30; E) PROP + Talco; F) PROP + Placebo; G) Formulação final de PROP.

Testes de A a D, conforme descrito na Tabela 1, foram realizados com a finalidade de definir o agente aglutinante mais adequado na obtenção dos péletes de liberação imediata. Após a obtenção da formulação A, observou-se um rendimento de 85,7% e teor de 86% de PROP nos péletes, com a presença de muitos péletes aglomerados e pó fino no interior do equipamento durante o processo, sugerindo que o aumento do agente aglutinante, PVPK 30, na tentativa de corrigir a perda de pó, agravaria o processo de aglomeração dos péletes enquanto sua diminuição provocaria o aumento da perda de pó. Para a formulação B obteve-se 94,20% de rendimento e teor de PROP de 84,4%, neste caso foi possível observar uma perda considerável do ativo, o que foi confirmado com a presença de grande quantidade de pó fino no interior do leito fluidizado. Mesmo obtendo um rendimento acima de 90% no teste, o teor de PROP ficou abaixo do esperado.

Na tentativa de solucionar o problema de perda de pó durante o processo de revestimento de

B, foram realizados os testes C e D com aumento da quantidade do aglutinante HPMC para 2,83 e 3,77% respectivamente. No teste C, obteve-se rendimento de 98,7% e teor de 99,20% de PROP, enquanto em D, obteve-se rendimento de 92,10% e teor de 98,90% de PROP.

Mesmo com o alto teor apresentado nas duas formulações, a formulação D apresentou um rendimento menor quando comparado à C. Este fato se dá possivelmente devido à alta concentração de polímero aplicada que pode ter favorecido a aglomeração dos péletes durante a etapa de revestimento. Deste modo, a formulação C foi selecionada para a continuação dos experimentos, devido aos melhores resultados

nos quesitos de rendimento e valores de teor de PROP dentro do esperado.

Para evitar o contato do fármaco presente no revestimento de ativo com o revestimento funcional, uma camada de revestimento de selagem foi aplicada sobre os péletes com revestimento de ativo (C), originando a C1 com a finalidade de formar uma barreira entre estes dois revestimentos e impedindo assim, a migração do ativo para o revestimento funcional e possíveis problemas na liberação e estabilidade do fármaco (McGinity e Felton, 2008). Além de proteção contra a degradação, este revestimento permite a correção de defeitos e/ou rugosidades que possam existir na superfície dos péletes, permitindo que o revestimento funcional seja distribuído uniformemente por toda a superfície dos péletes (Prasad et al., 2013).

Os péletes de liberação modificada foram obtidos por meio da aplicação do revestimento funcional, composto por EC e HPMC sobre os péletes contendo revestimento de selagem (C1), com o propósito de obter um perfil de liberação de 24 horas (1440 minutos). A EC é um polímero derivado da celulose que possui uma boa capacidade de formar filmes transparentes, flexíveis e resistentes, porém insolúvel em água, enquanto o HPMC possui alta solubilidade em água, sendo, portanto bastante utilizado como formador de poro em revestimentos de liberação modificada (Rowe et al., 2009).

O TEC foi utilizado como agente plastificante na concentração de 10% em relação ao peso seco dos polímeros, a fim de melhorar as características de flexibilidade do filme, facilitar sua distribuição na superfície dos péletes e garantir homogeneidade do revestimento aplicado (Bauer et al., 1998; Dow Chemical, 2005).

Para a avaliação do perfil de dissolução dos péletes obtidos, pode-se observar conforme Fig. 3, que as formulações C e C1 apresentam liberação imediata, uma vez que ambas apresentam dissolução média maior que 75% da substância ativa em 30 minutos (Farmacopeia Brasileira, 2010), sendo a dissolução de C e C1 de $98,16\% \pm 1,127$ e $94,90\% \pm 2,362$ em 15 min respectivamente. Porém, mesmo apresentando liberação imediata, o perfil de liberação destas formulações não apresentam similaridade, com $f_2 = 37,90$.

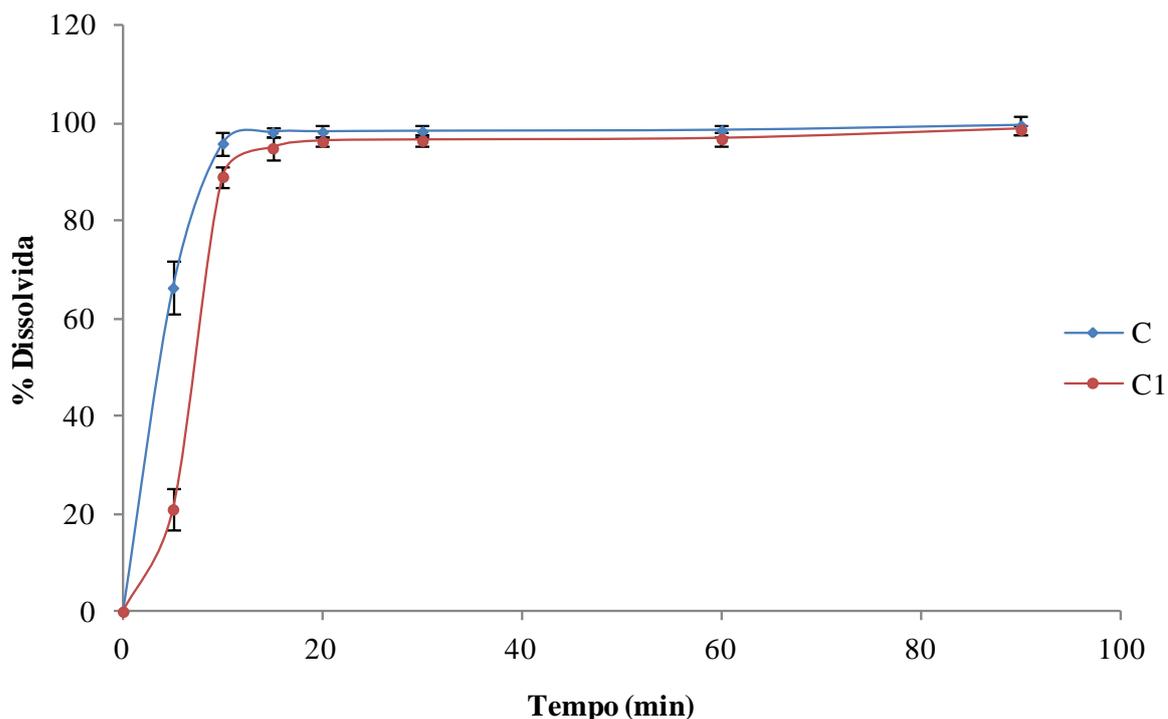


Fig. 3: Perfis de dissolução dos péletes obtidos em C e C1.

Os perfis de dissolução obtidos a partir do delineamento experimental, Fig. 4, mostram que as formulações F1 e F4 atingem respectivamente 100,1% e 101,93% de liberação do ativo em 960 min, mostrando um perfil de liberação de 16 horas. A formulação F2 atinge mais de 95,0% de liberação do ativo em 30 minutos, liberando toda a carga de ativo em até 90 minutos, se enquadrando assim como C e C1 na categoria de liberação imediata, enquanto a formulação F3 em 1440 min de ensaio libera apenas 84,2% da quantidade de ativo presente na formulação, indicando que seria necessário mais de 24 horas para liberar toda carga de PROP contida nos péletes, representando um perfil de liberação demasiadamente lento.

Os perfis obtidos pelas formulações F5, F6 e F7 por outro lado, mostram um perfil de liberação de 24 horas, atingindo o intuito de liberação de PROP durante este período. Deste modo, a formulação F5 foi aleatoriamente escolhida para representar a fração de liberação modificada da formulação bifásica.

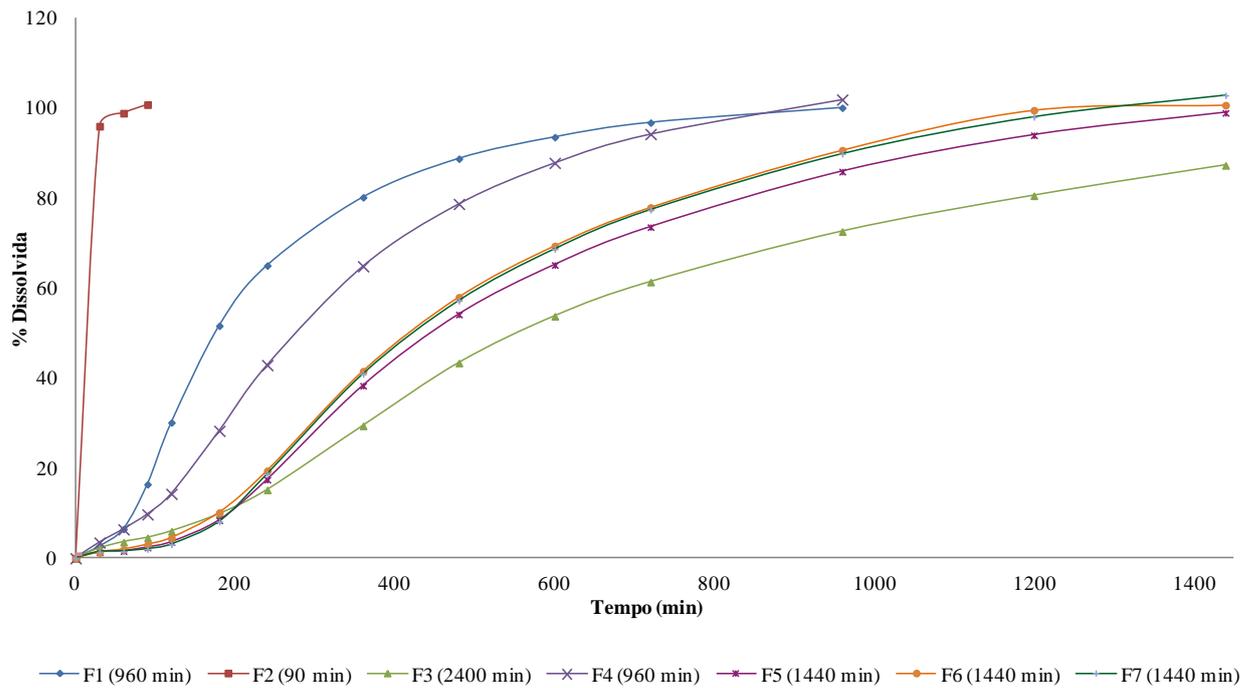


Fig. 4: Perfis de dissolução das formulações obtidas no delineamento experimental.

Para as formulações F8 (20 mg de C1 + 60 mg de F5) e F9 (40 mg de C1 + 40 mg de F5), destinadas à liberação bifásica foi possível a obtenção de perfis de liberação bifásico, Fig. 5, de modo que F9 apresentou um perfil de liberação mais rápido, quando comparada a F8 em até aproximadamente 600 min, prolongando a liberação em ambas formulações por um período de 24 horas. Os valores de eficiência de dissolução (ED) para as formulações F8 e F9 foram de $75,94\% \pm 0,23$ e $83,04\% \pm 0,50$ respectivamente com $f2 = 40$. Estes resultados mostram que mesmo com as duas formulações apresentando perfis de liberação de 24 horas, não há similaridade entre eles e que ainda, é possível a obtenção de perfis de liberação direcionados e exclusivos de acordo com a necessidade patológica por meio da associação de unidades farmacêuticas contendo diferentes cinéticas de liberação.

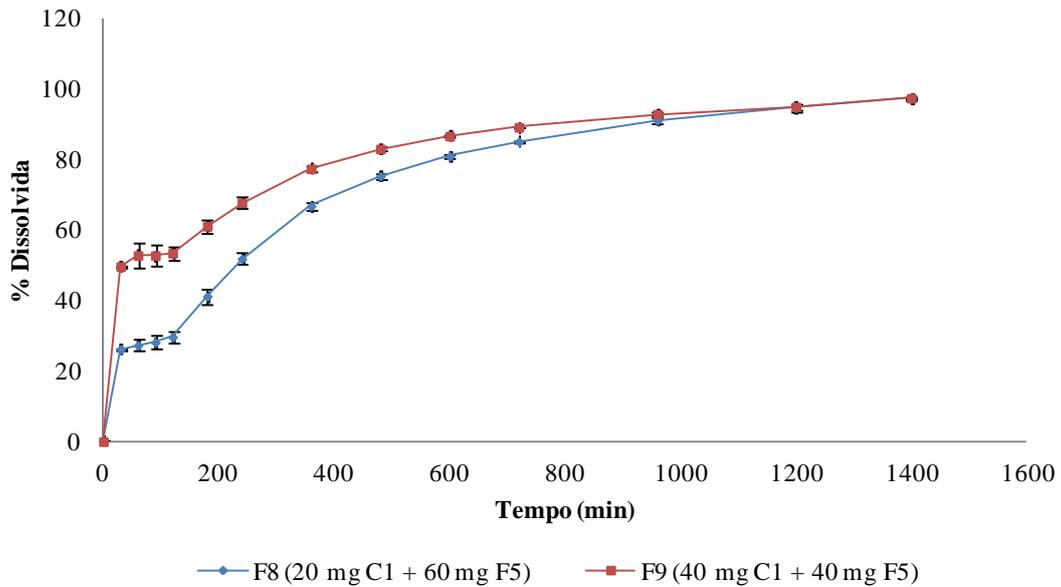


Fig. 5: Perfis de liberação bifásicos F8 e F9.

Por meio do estudo de planejamento fatorial 2^2 , foi possível avaliar qualitativamente e quantitativamente os fatores estatisticamente significativos que influenciam no tempo de liberação total do fármaco (100%) nos perfis de dissolução dos péletes de PROP de liberação modificada. Neste estudo foram avaliadas as variáveis independentes (HPMC e EC) e a interação entre essas variáveis. Os resultados obtidos para o delineamento experimental estão mostrados na Tabela 5.

Tabela 5: Planejamento fatorial 2^2 para as variáveis HPMC (mg) e EC (mg) com triplicada no ponto central e resposta tempo liberação 100% (min) para os perfis de liberação dos péletes de PROP de liberação modificada

Formulação	Sequência	Variáveis Reais		Tempo de Liberação 100% (min)
		HPMC (mg)	EC (mg)	
F1	4	2,00	10,00	960
F2	3	6,00	10,00	90
F3	5	2,00	30,00	2400
F4	2	6,00	30,00	960
F5	6	4,00	20,00	1440
F6	1	4,00	20,00	1440
F7	7	4,00	20,00	1440

O maior valor para o tempo de liberação de 100% do ativo foi obtido na Formulação F3 com menor quantidade do polímero solúvel HPMC (2 mg) e maior quantidade de EC (30 mg), sendo este de 2400 min, o que pode ocasionar em uma redução da biodisponibilidade do fármaco. Este fato pode ser um indicativo que nestas condições, poucos poros foram formados pelo polímero solúvel HPMC, frente a uma grande quantidade de polímero insolúvel EC, retardando assim a liberação do fármaco. O menor valor para o tempo de liberação de 100% do ativo foi obtido na formulação F2, com condição inversa, ou seja, maior quantidade de HPMC (6,00 mg) e menor quantidade de EC (10,00 mg). Nesta condição, tanto a quantidade do polímero insolúvel (EC) não foi suficiente para prolongar a liberação do fármaco, quanto a quantidade do polímero solúvel foi responsável pela formação de um número elevado de poros na película polimérica. Para as condições intermediárias, a liberação ficou entre 960 (F4) e 1440 min (F5, F6 e F7), este último, sendo considerado o ponto ótimo do estudo, atingindo 24 horas de liberação.

A significância dos fatores foi avaliada por meio de análise de variância (ANOVA), apresentados na Tabela 6. Foi possível observar que os fatores, HPMC e EC, individualmente, foram significativos para um modelo linear ($p < 0,05$), enquanto a interação entre os mesmos não foi significativa. A curvatura obtida para o modelo não foi significativa ($p > 0,05$), demonstrando que o modelo linear proposto é adequado para o experimento. Os resultados de $p_{\text{valor}} < 0,05$ indicaram que o modelo linear é adequado no nível de significância de 95%.

Tabela 6: Análise de variância (ANOVA) para o estudo de superfície de resposta do modelo linear para o tempo de liberação 100%.

Fonte de Variação	Soma Quadrados	Graus de Liberdade	Média Quadrados	$F_{\text{calculado}}$	P_{valor}
Modelo	$2,668 \times 10^6$	2	$1,334 \times 10^6$	49.27	0,0051
<i>HPMC (mg)</i>	$1,334 \times 10^6$	1	$1,334 \times 10^6$	49.27	0,0059
<i>EC (mg)</i>	$1,334 \times 10^6$	1	$1,334 \times 10^6$	49.27	0,0059
Curvatura	$1,953 \times 10^5$	1	$1,953 \times 10^5$	7.21	0,0747
Residual	81.225	3	27.075		
Total	$2,945 \times 10^6$	6			

O coeficiente de regressão (R^2) de 0,9705 significa que o modelo explica 97,05 % dos resultados obtidos. O modelo linear foi construído através da análise de regressão e descreve a relação entre as variáveis independentes significativas e a resposta, na qual o HPMC e EC são expressos em mg e o tempo de liberação em min, conforme equação abaixo:

$$\text{Tempo liberação } 100\% = 1102,50 - [(288,75 \times \text{HPMC}) + (57,75 \times \text{EC})] \quad \text{Eq. (6)}$$

O coeficiente positivo para a quantidade de EC e negativo para a HPMC, demonstraram que quanto maior a quantidade de EC, maior também é o tempo de dissolução para se atingir 100% de liberação. Por outro lado, quanto maior for a concentração de HPMC, menor é o tempo. Isso se deve às características de solubilidades de cada polímero.

O gráfico de superfície de resposta, Fig. 6 A, retrata de maneira tridimensional a resposta obtida, enquanto o mapa de contorno, Fig. 6 B, representa a imagem plana (vista superior) do gráfico de superfície. São representações úteis na localização de combinações específicas entre os fatores para o tempo de 100% de liberação. As cores e os padrões dos gráficos indicam as áreas que contêm o mesmo intervalo de respostas.

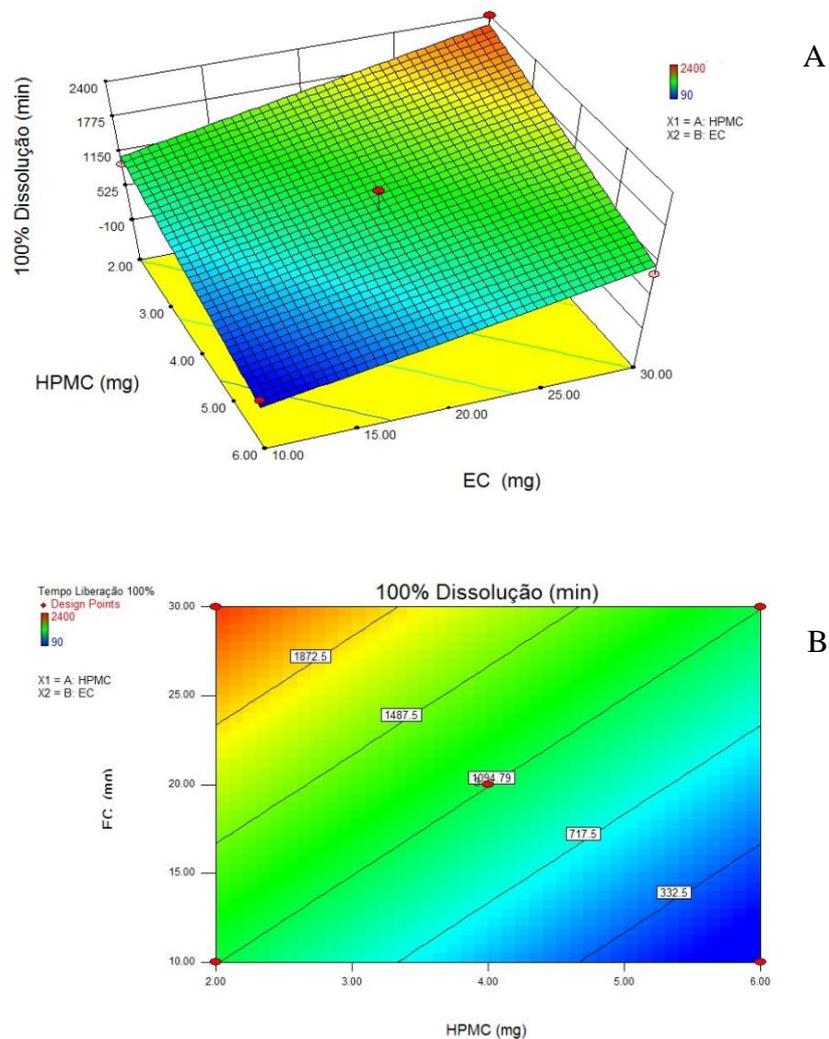


Fig. 6: Resultados experimentais do delineamento experimental fatorial 2^2 . Resposta tempo de liberação 100% (min) em função da quantidade de HPMC (mg) e EC (mg) A) Gráfico de superfície de resposta B) Mapa de contorno.

Os resultados obtidos após as análises de caracterização mostram que, para os péletes utilizados na obtenção das formulações bifásicas F8 e F9, tanto os valores de DA quanto de DC são semelhantes e que uma porcentagem maior que 90% destes mesmos péletes ficaram retidos entre as malhas 25 - 20 mesh (Tabela 7), evidenciando boa homogeneidade destes parâmetros. Todas as amostras apresentaram valores de umidade inferiores a 5,0%, especificação recomendada pela European Pharmacopeia (2008) e friabilidade < 0,40%, indicando valores aceitáveis de acordo com dados presentes na literatura (Déo et al., 2011). Após a avaliação da morfologia externa dos péletes, Fig. 7, foi possível observar o alisamento da superfície de C1 após o revestimento de selagem quando comparado à superfície de EIS e C e a homogeneidade do revestimento polimérico realizado em F5. Além disso, foi possível verificar que a espessura do revestimento polimérico parece estar distribuída de maneira uniforme por toda superfície do pélete, fato que pode ser atribuído aos valores adequados de esfericidade apresentados pelos péletes (Tabela 7).

Tabela 7: Análises de caracterização dos péletes obtidos.

Parâmetro	Amostras			
	EIS	C	C1	F5
DA (g/mL)	0,82	0,82	0,79	0,77
DC (g/mL)	0,85	0,87	0,85	0,82
Esfericidade ± DP	98,07 ± 0,012	98,22 ± 0,013	98,93 ± 0,006	99,02 ± 0,009
Perda por dessecação (%) ± DP	3,09 ± 0,12	1,25 ± 0,07	1,17 ± 0,10	1,66 ± 0,11
DP (Desvio padrão)				

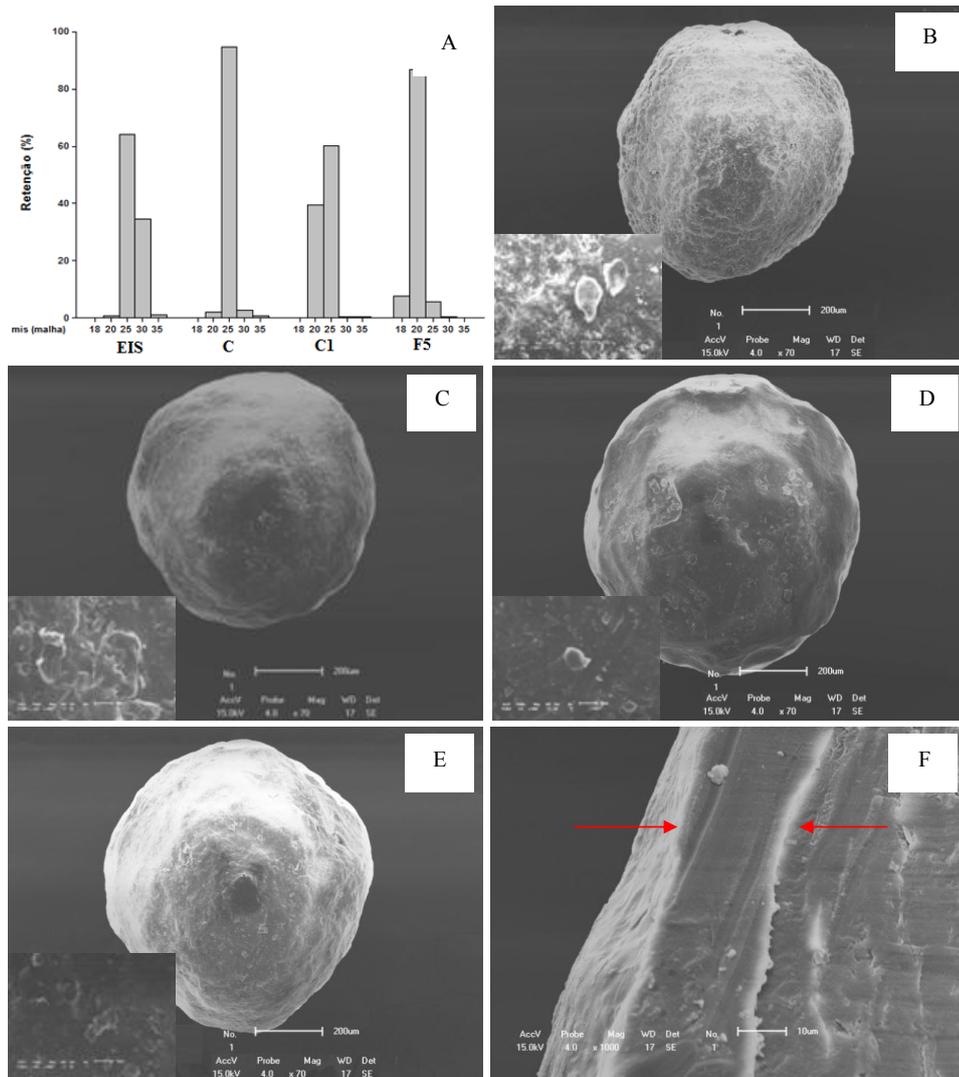


Fig. 7: Análise granulométrica e de morfologia externa dos péletes A) Análise granulométrica das EIS e dos péletes revestidos C, C1 e F5; B) Avaliação da morfologia externa das EIS em aumento de 70x e 1000x; C) Avaliação da morfologia externa de C em aumento de 70x e 1000x; D) Avaliação da morfologia externa de C1 em aumento de 70x e 1000x; E) Avaliação da morfologia externa de F5 em aumento de 70x e 1000x; F) Imagem transversal de F5 em aumento de 1000x com destaque na camada de revestimento do pélete.

CONCLUSÃO

Foi possível obter um sistema multiparticulado de liberação bifásica à base de revestimento polimérico com a associação dos polímeros HPMC e EC. O planejamento fatorial 2^2 utilizado proporcionou a otimização da etapa de desenvolvimento, uma vez que possibilitou a obtenção do perfil de liberação desejado de 24 horas com pequeno número de experimentos. Os péletes utilizados na obtenção das formulações bifásicas F8 e F9 apresentaram características mecânicas dentro dos parâmetros esperados, assegurando a qualidade dos péletes obtidos. Além disso, foi possível observar que a combinação de esferas com distintas características de liberação, possibilita a obtenção de diferentes perfis de liberação conforme a necessidade patológica.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/CAPES pelo suporte financeiro e à Indústria Farmacêutica Prati-Donaduzzi Ltda por disponibilizar os equipamentos e a infraestrutura necessários para realização de parte deste trabalho.

6. CONCLUSÕES GERAIS

Por meio da tecnologia de revestimento de esferas inertes de sacarose, foi possível obter um sistema multiparticulado de liberação bifásica utilizando polímeros derivados da celulose com características opostas de solubilidade. O planejamento experimental utilizado possibilitou a obtenção do perfil de liberação desejado de 24 horas com um número pequeno de experimentos. Além disso, a metodologia analítica desenvolvida e a proposta para a quantificação do fármaco modelo, mostrou-se adequada para utilização, garantindo resultados confiáveis e seguros para o trabalho desenvolvido.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tanto o sistema de liberação proposto, quanto o conceito utilizado no desenvolvimento podem ser aplicados a diferentes tipos de fármacos, podendo assim, ser utilizado para uma infinidade de tratamentos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

8.1 Referências bibliográficas da Fundamentação teórica

ALLEN JUNIOR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 9ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013. 716 p.

AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

AULTON, M. E.; ORTEGA, G. G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2ª. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.

BARTOLOMEI, M. et al. Thermal studies on the polymorphic modifications of (R, S) propranolol hydrochloride. **Thermochimica acta**, v. 321, n. 1, p. 43-52, 1998.

BARTOLOMEI, M. et al. Physico-chemical characterisation of the modifications I and II of (R, S) propranolol hydrochloride: solubility and dissolution studies. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 21, n. 2, p. 299-309, 1999.

BAUER, K. H. et al. **Coated Pharmaceutical Dosage Forms: Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods, and Raw Materials**. 2ª. ed. [S.l.]: CRC Press, 1998. 280 p.

BODMEIER, R. Tableting of coated pelles. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 43, n. 1, p. 1-8, 1997.

BORTOLOTTI, L. A.; CONSOLIM-COLOMBO, F. M. Betabloqueadores adrenérgicos. **Revista Brasileira Hipertensão**, v. 16, n. 4, p. 215-220, 2009.

BOSCH PACKAGING TECHNOLOGY. **Laboratory and pilot units: Mixing, Drying, Granulating, Coating**, 15 fev. 2011. Disponível em: <<https://boschpackagingpharmana.files.wordpress.com/2011/12/laboratory-and-pilot-units.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2015.

BRASIL. **Resolução - RE nº 31, de agosto de 2010**: Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. Brasília: Diário Oficial da União, 2010a.

BRASIL. **Rename: Formulário Terapêutico Nacional**. Ministério da Saúde. Brasília, p. 1135. 2010b.

CHAUHAN, J.; YADAV, P. Study of Scale up parameters of Fluidized bed Coating. **Der Pharmacia Sinica**, v. 2, n. 1, 2011.

COLORCON. **Products & Formulations: Fluid Bed Coatings**, 2013. Disponível em: <<http://www.colorcon.com/products-formulation/process/fluid-bed-coating>>. Acesso em: 14 fev. 2015.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Formas farmacêuticas de liberação modificada. **Revista Portuguesa de Farmácia**, Lisboa, v. 59, n. 4, p. 181-190, 1999.

DALLMANN, R.; BROWN, S. A.; GACHON, F. Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications. **Annual review of pharmacology and toxicology**, v. 54, p. 339-361, 2014.

DE BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer Experimentos: Pesquisa e Desenvolvimento na ciência e na indústria**. 2ª. ed. Campinas, SP: Editora da UNICAMP, 2003.

ENAYATIFARD, R. et al. Effect of hydroxypropyl methylcellulose and ethyl cellulose content on release profile and kinetics of diltiazem HCl from matrices. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 5, 2009.

DUNCAN, W. C. Circadian rhythms and the pharmacology of affective illness. **Pharmacology & therapeutics**, v. 71, n. 3, p. 253-312, 1996. ISSN 0163-7258.

FARMACOPÉIA Brasileira. 5ª. ed. Brasília: ANVISA, v. 2, 2010.

FDA, U. S. **Guidance for Industry: Dissolution testing of immediate-release solid oral dosage forms**. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 1997.

FDA-CDER. **Guidance for Industry: Extended release oral dosage forms: development, evaluation, and application of in vitro/in vivo correlations**. [S.I.]: Rockville, 1997. 1-24 p.

FISHER, R. A. **The design of experiments**. 9ª. ed. NewYork: Hafner Publishing Company, 1971.

FLUID AIR. A Division of Spraying Systems Company. **Advanced Fluid Bed Technology: Wurster Coating (Fluid Bed Coating)**, 2013. Disponível em: <http://www.fluidairinc.com/fluid_bed_advanced.html>. Acesso em: 14 fev. 2015.

FROHOFF-HÜLSMANN, M. A.; SCHMITZ, A.; LIPPOLD, B. C. Aqueous ethyl cellulose dispersions containing plasticizers of different water solubility and hydroxypropyl methylcellulose as coating material for diffusion pellets: I. Drug release rates from coated pellets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 177, n. 1, p. 69-82, 1999.

GANDHI, R.; KAUL, C. L.; PANCHAGNULA, R. Extrusion and spheronization in the development of oral controlled-release dosage forms. **Pharmaceutical science & technology today**, v. 2, n. 4, p. 160-170, 1999.

GHARGE, V. et al. Multiple-unit controlled release platform formulation by wruster process. **Int J Pharm Pharm Sci**, v. 6, p. 107-113, 2014.

GHEBRE-SELASSIE, I. Pellets: A general overview. In: _____ **Pharmaceutical pelletization technology**. New York: Marcel Dekker, 1989a. Cap. 1, p. 1-13.

GHEBRE-SELASSIE, I. Solution and suspension on layering. In: _____ **Pharmaceutical Pelletization Technology**. New York: Marcel Dekker Inc, 1989b. p. 158-159.

GLATT. **Innovative Technologies for Granules and Pellets**, 2011. Disponível em: <http://www.glatt.com/fileadmin/user_upload/content/pdf_downloads/AB_innovative_technologies_en_111017.pdf>. Acesso em: 15 Fev 2015.

GLATT. **Innovative Pelletising Technologies**, 2014. Disponível em: <<http://biopharma-asia.com/technical-papers/innovative-pelletising-technologies/>>. Acesso em: 07 fev. 2015.

HADI, M. A.; RAO, R. Novel Technologies in Formulations: An overview. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 1, n. 3, p. 415-431, 2012. ISSN 2277-7105.

HAGE JUNIOR, E. Aspectos históricos sobre o desenvolvimento da ciência e da tecnologia de polímeros. **Polímeros**, v. 8, n. 2, p. 6-9, 1998. ISSN 0104-1428.

HIRJAU, M. et al. Pelletization techniques used in pharmaceutical fields. **Practica Farmaceutica**, v. 4, n. 3, p. 206-211, 2011.

JHA, M. K.; RAHMAN, M. H.; RAHMAN, M. M. Biphasic oral solid drug delivery system: A review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 5, p. 1108-1115, 2011. ISSN 0975-8232.

JITENDRA, J. et al. Formulation and Evaluation of Indomethacin Bilayer Sustained Release Tablets. **International Journal of PharmTech Research**, v. 3, n. 2, p. 1132-1138, April-June 2011. ISSN 0974-4304.

KAMEL, S. et al. Pharmaceutical significance of cellulose: A review. **Express Polym Lett**, v. 2, n. 11, p. 758-778, 2008.

KLEMM, D. et al. **Comprehensive Cellulose Chemistry: Functionalization of cellulose**. [S.I.]: Wiley-VCH, v. 2, 1998.

KONTUREK, P.; BRZOZOWSKI, T.; KONTUREK, S. Gut clock: implication of circadian rhythms in the gastrointestinal tract. **Journal Physiology and Pharmacology**, v. 62, n. 2, p. 139-150, 2011.

KORAKIANITI, E. S. et al. Optimization of the pelletization process in a fluid-bed rotor granulator using experimental design. **Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 1, n. 4, p. 71-75, 2000.

KULKARNI, P. A. et al. Pelletization techniques as a Pharmaceutical tool in the multiparticulate drug delivery system: A review. **International Journal of Drug Formulation & Research**, v. 1, n. 1, p. 89-118, 2010. ISSN 2229-5054.

KUMAR, K. S. et al. Sustained release drug delivery system potential. **Terminology**, v. 1, n. 2, p. 46-56, 2012. ISSN 2277-7695.

KUMAR, V. et al. Multiple Unit Dosage Forms-Pellets And Pelletization Techniques: An Overview. **Internacional Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy**, v. 2, n. 1, p. 121-125, 2011. ISSN 2229-3566.

KUMAR, V.; BANKER, G. S. Chemically-Modified Cellulosic Polymers. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 19, n. 1-2, p. 1-31, 1993.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. **The Theory And Practice Of Industrial Pharmacy**. 4. ed. [S.I.]: CBS Publishers & Distributors Pvt. Limited, 2013.

LAVANYA, K.; SENTHIL, V.; RATHI, V. Pelletization technology: A quick review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 2, n. 6, p. 1337-1355, 2011. ISSN 0975-8232.

LEHMANN, K. Fluid-Bed spray coating. In: DONBROW, M. **Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy**. 0. ed. [S.I.]: CRC Press, 1991. Cap. 4, p. 73-96.

LEVINA, M.; VUONG, H.; RAJABI-SIAHBOOMI, A. R. The Effect of Hypromellose as a Pore-Former on Drug Release from Aqueous Ethylcellulose Film-Coated Dipyridamole-Loaded Non-Pareil Beads. **Controlled Release Society**, July 2007.

LIN, S.-Y.; KAWASHIMA, Y. Current status and approaches to developing press-coated chronodelivery drug system. **Journal of controlled release**, v. 157, n. 3, p. 331-353, 2012.

LONDHE, S.; GATTANI, S.; SURANA, S. Development of floating drug delivery system with biphasic release for verapamil hydrochloride: in vitro and in vivo evaluation. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 11, p. 361-367, 2010. ISSN 0975-5772.

LOPES, C. M. et al. Compressed mini-tablets as a biphasic delivery system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, n. 1, p. 93-100, 2006.

LOPES, C. M. et al. Compressed matrix core tablet as a quick/slow dual-component delivery system containing ibuprofen. **Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 8, n. 3, p. E195-E202, 2007.

LOPES, C. M.; LOBO, J. M. S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 2, p. 143-154, 2005.

MAGGI, L. et al. Formulation of biphasic release tablets containing slightly soluble drugs. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 48, p. 37-42, 1999.

MEHTA, A. M.; JONES, D. M. Coated pellets under the microscope. **Pharmaceutical Technology**, v. 9, n. 6, p. 52-60, 1985.

MEHTA, R. Y. M. S.; TIWARI, S. B.; RAJABI-SIAHLBOOMI, A. R. Application of Ethylcellulose Coating to Hydrophilic Matrices: A Strategy to Modulate Drug Release

Profile and Reduce Drug Release Variability. **AAPS PharmSciTech**, v. 15, n. 5, p. 1049-1059, 2014.

MILLER, D. A.; MCGINIT, J. W. Aqueous Polymeric film coating. In: AUGSBURGER, L. L.; HOAG, S. W. **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. 3^a. ed. New York: Informa Healthcare, v. 1, 2008. Cap. 12, p. 399-438.

MOHAMED, F. A. A. et al. Film-coated matrix mini-tablets for the extended release of a water-soluble drug. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 0, p. 1-8, 2014.

MÖNKÄRE, J. et al. Biocompatible photocrosslinked poly (ester anhydride) based on functionalized poly (ϵ -caprolactone) prepolymer shows surface erosion controlled drug release in vitro and in vivo. **Journal of Controlled Release**, v. 146, n. 3, p. 349-355, 2010.

NAKAHARA, N. **Method and Apparatus for Making Spherical Granules**. US Patent 3.277.520, 1966.

NHA, V. T.; SHIN, S.; JEONG, S. H. Lexicographical dynamic goal programming approach to a robust design optimization within the pharmaceutical environment. **European Journal of Operational Research**, v. 229, n. 2, p. 505-517, 2013.

NOËL, F. et al. Estudos de bioequivalência para formas de liberação modificada. **Interfarma**, v. 16, n. 7-8, p. 64-66, 2004.

OHDO, S. Chronotherapeutic strategy: rhythm monitoring, manipulation and disruption. **Advanced drug delivery reviews**, v. 62, n. 9, p. 859-875, 2010.

OLIVEIRA, G. C.; NITZ, M. Instituto Mauá de Tecnologia. **Desenvolvimento de pellets de Cloridrato de Diltiazem**, 2011. Disponível em: <<http://www.maua.br/pesquisas/recobrimento-de-pellets-de-cloridrato-de-diltiazem-de-liberacao-controlada>>. Acesso em: 09 fev. 2015.

OLIVEIRA, R. B. Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. **Revista eletrônica de farmácia**, v. 3, n. 1, p. 29-35, 2007. ISSN 1808-0804.

OLSEN, K. W. Batch Fluid-Bed Processing Equipment. **Pharmaceutical Technology**, 1989.

PACKIARAJ, J. M.; VENKATESWARAN, C. S.; JANAKIRAMAN, K. Formulation and evaluation of extended-release tablets of albuterol sulphate. **Indo American Journal of Pharm Research**, v. 3, n. 12, p. 1298-1321, 2013.

PATIL, L. P. et al. Extended release formulation: An overview. **Pharma Science Monitor**, v. 4, n. 1, p. 3522-3534, Jan 2013. ISSN 0976-7908.

PEKEL, N. et al. Radiation crosslinking of biodegradable hydroxypropylmethylcellulose. **Carbohydrate polymers**, v. 55, n. 2, p. 139-147, 2004.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 4, 2007.

PILLAY, V.; FASSIHI, R. A novel approach for constant rate delivery of highly soluble bioactives from a simple monolithic system. **Journal of controlled release**, v. 67, n. 1, p. 67-78, 2000.

PISANO, G. P. **The Development Factory**. Boston: Harvard Business School, 1997.

RATUL, D.; BAQUEE, A. A. Pellets and Pelletization Techniques: A critical review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 4, n. 4, p. 90-95, 2013. ISSN 2230-8407.

REYNOLDS, A. D. A new technique for production of spherical particles. **Manufacturing Chemist**, v. 41, n. 6, p. 40, 1970.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6. ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

ROY, S. K. **Formulation and Evaluation of sustained release bilayer tablets of Losartan Potassium**. Faculty of Engineering and Technology, Jadavpur University. [S.I.]. 2006.

RUBIN, E. A. et al. Emerging technologies supporting chemical process R\&D and their increasing impact on productivity in the pharmaceutical industry. **Chemical reviews**, v. 106, n. 7, p. 2794-2810, 2006.

SANTOS, H. M. M. et al. Obtenção de pellets por extrusão e esferonização farmacêutica: parte I. avaliação das variáveis tecnológicas e de formulação. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 40, n. 4, p. 455-470, 2004. ISSN 1516-9332.

SHANKAR, P. S.; GANESH, P. D.; BHANUDAS, S. R. Pelletization: A most significant technology in the pharmaceuticals. **World Journal of Pharmaceutical Research**, v. 3, n. 6, p. 1972-2003, 2014. ISSN 2277-7105.

SINGH, B.; KUMAR, R.; AHUJA, N. Optimizing drug delivery systems using systematic" design of experiments." Part I: fundamental aspects. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 22, n. 1, p. 27-105, 2005.

SINGH, C.; CHITKARA, D.; SINGH, A. Development and in vitro-in vivo evaluation of glipizide loaded multiunit pulsatile formulation for treatment of diabetic patients. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, n. 9, 2014.

SIRISHA, V. et al. Multiple unit extended release pellets of propranolol hydrochloride: preparation and characterization. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 5, n. 3, p. 191-197, 2013. ISSN 0975-1491.

SUNIL, S. A. et al. Design and evaluation of lornoxicam bilayered tablets for biphasic release. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, n. 4, p. 609-619, 2012.

SUPRIYA, P.; RAJNI, B.; RANA, A. C. Pelletization Techniques: A literature review. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 3, p. 43-47, 2012. ISSN 2230-8407.

TYE, H. Application of statistical 'design of experiments' methods in drug discovery. **Drug discovery today**, v. 9, n. 11, p. 485-491, 2004.

UNITED States Pharmacopeia (USP). 37^a. ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention 2014.

VERDECCHIA, P. et al. Day-night dip and early-morning surge in blood pressure in hypertension prognostic implications. **Hypertension**, 60, n. 1, 2012. 34-42.

VERHOEVEN, E.; VERVAET, C.; REMON, J. P. Xanthan gum to tailor drug release of sustained-release ethylcellulose mini-matrices prepared via hot-melt extrusion: in vitro and in vivo evaluation. **European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics**, v. 63, n. 3, p. 320-330, 2006.

VERVAET, C.; BAERT, L.; REMON, J. P. Extrusion-spheronisation: A literature review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 116, n. 2, p. 131-146, 1995.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Pharmaceutical applications of polymers. **Polímeros**, v. 20, n. 1, p. 51-64, 2010. ISSN 0104-1428.

VITATERNA, M. H.; TAKAHASHI, J. S.; TUREK, F. W. Overview of circadian rhythms. **Alcohol Research and Health**, v. 25, n. 2, p. 85-93, 2001.

VUEBA, M. L. **Comprimidos de libertação prolongada: Influência de polímeros celulósicos na modelação da cedência de fármacos pouco solúveis**. Tese (Doutorado) –Universidade de Coimbra. Coimbra, p. 382. 2006.

WASIMUL, H. et al. Formulation and evaluation of press coated tablets of salbutamol sulphate for time controlled release. **Asian Journal of Pharmaceutics**, v. 8, n. 3, p. 161-170, 2014.

WERNER, T.; GROSS, M. **Bottom element for a device for treating particulate material**. US Patent 6.705.025, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Proposal to waive in vivo bioequivalence requirements for WHO Model List of Essential Medicines immediate-release, solid oral dosage forms. **Technical Report Series**, n. 937, p. 391-437, 2006.

ZHU, Y. **Properties of Polymeric Drug Delivery Systems Prepared by Hot-melt Extrusion**. Tese (Doutorado) –The University of Texas. Austin, p.226, 2002.

8.2 Referências bibliográficas do Capítulo I

1. http://www.who.int/gho/ncd/risk_factors/blood_pressure_text/en/, acessada em Junho 2015.

2. http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/world_health_day_20130403/en/ acessada em Junho 2015.
3. Lin, S. Y.; Kawashima, Y.; *J. Controlled Release* **2012**, *157*, 331.
4. Ohdo, S.; *Adv. Drug Delivery Rev.* **2010**, *62*, 859.
5. Dallmann, R.; Brown, S. A.; Gachon, F.; *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **2014**, *54*, 339.
6. Verdecchia, P.; Angeli, F.; Mazzotta, G.; Garofoli, M.; Ramundo, E.; Gentile, G.; Ambrosio, G.; Reboldi, G.; *Hypertension* **2012**, *60*, 34.
7. Maggi, L.; Machiste, E. O.; Torre, M. L.; Conte, U.; *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **1999**, *48*, 37.
8. Jha, M. K.; Rahman, M. H.; Rahman, M. M.; *Int. J. Pharm. Sci. Res.* **2011**, *2*, 1108.
9. Londhe, S.; Gattani, S.; Surana, S. J.; *Pharm. Sci. Technol.* **2010**, *2*, 361.
10. Bortolotto, L. A.; Consolim-Colombo, F. M.; *Rev. Bras. Hipertens.* **2009**, *16*, 215.
11. Goodman, L. S.; Gilman, A. *As bases farmacológicas da terapêutica*, 10th ed., Rio de Janeiro, 2001.
12. http://www.sinfaerj.org.br/Arquivos/livro_rename_out_2013.pdf, acessada em Agosto 2015.
13. Ribani, M.; Bottoli, C. B. G.; Collins, C. H.; Jardim, I. C. S. F.; Melo, L. F. C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 771.
14. ICH - International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; Q 2(R1) - *Validation of Analytical procedures: text and methodology*, 2005.
15. Brasil, Ministério da Saúde, ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária; RE nº 899, de 29/05/2003, *Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*, MS: Brasília, 2003.
16. Grillo, R.; De Melo, N. F. S.; De Araújo, D. R.; De Paula, E.; Dias Filho, N. L.; Rosa, A. H.; Fraceto, L. F.; *Lat. Am. J. Pharm.* **2009**, *28*, 393.
17. Santana, A. K. M.; Nunes, L. C. C.; Medeiros, F. P. M.; Silva, M. J.; Lavra, Z. M. M.; Rolim-Neto, P. J.; *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* **2007**, *28*, 177.
18. Nascimento, G. N. L.; Rosa, D. L.; Nishijo, H.; Aversi-Ferreira, T. A.; *Braz. J. Pharm. Sci.* **2011**, *47*, 23.
19. Barros, C. B.; *Rev. Biológico* **2002**, *64*, 175.
20. La Roca, M. F.; Sobrinho, J. L. S.; Nunes, L. C. C.; Neto, P. J. R.; *Rev. Bras. Farm.* **2007**, *88*, 177.
21. Brasil, INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia: Normatização e Qualidade Industrial; *Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos*; DOQ-CGCRE-008, Revisão: Março de 2003.
22. Brito, N. M.; Ribeiro, M. L.; Amarante Junior, O. P.; Polese, L.; *Pesticidas: R. Ecotox. e Meio Ambiente* **2003**, *13*, 129.
23. Valentini, S. R.; Sommer, W. A.; Matioli, G.; *Acta Sci., Health Sci.* **2004**, *26*, 357.
24. Komarova, N. I.; Rogachev, A. D.; Chernyak, E. I.; Morozov, S. V.; Fomenko, V. V.; Salakhutdinov, N. F.; *Chem. Nat. Compd.* **2009**, *45*, 27.
25. Alves, L. D. S.; Rolim, L. A.; Fontes, D. A. F.; Rolim-Neto, P. J.; La Roca, M. F.; Soares Sobrinho, J. L.; *Quim. Nova* **2010**, *33*, 1967.

- 26.Spagnol, C. M.; Oliveira, T. S.; Isaac, V. L. B.; Corrêa, M. A.; Salgado, H. R. N.; *Phys. Chem.* **2015**, *5*, 16.
- 27.*The United States Pharmacopeia* (USP); 38th ed., United States Pharmacopoeial Convention: Rockville, 2015.
- 28.Borba, P. A. A.; Riekes, M. K.; Pereira, R. N.; Stulzer, H. K.; *Quim. Nova* **2013**, *36*, 582.
- 29.Ribeiro, F. A. de L.; Ferreira, M. M. C.; *Quim. Nova* **2008**, *31*, 164.
- 30.Gomes, M. L. P. C.; de Souza, S. V. C. *Quim. Nova* **2010**, *33*, 972.

8.3 Referências bibliográficas do Capítulo II

- Allen Junior, L. V., Popovich, N. G., & Ansel, H. C. (2013). *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos* (9^a ed.). Porto Alegre: Artmed.
- Aulton, M. E., & Ortega, G. G. (2008). *Delineamento de formas farmacêuticas* (2^a ed.). Porto Alegre: Artmed.
- Bauer, K. H., Lehmann, K., Osterwald, H. P., & Rothgang, G. (1998). *Coated Pharmaceutical Dosage Forms: Fundamentals, Manufacturing Techniques, Biopharmaceutical Aspects, Test Methods, and Raw Materials* (2^a ed.). CRC Press.
- Bodmeier, R. (1997). Tableting of coated pellets. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, *43*(1), 1-8.
- BRASIL. (2003). *Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003: Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos*. Brasília: Diário Oficial da União.
- BRASIL. (2010). *Resolução - RE nº 31, de agosto de 2010: Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo*. Brasília: Diário Oficial da União.
- Bruschi, M. L. (2015). *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*. Woodhead Publishing.
- Costa, P., & Lobo, J. M. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences*, *13*(2), 123-133.
- Dallmann, R., Brown, S. A., & Gachon, F. (2014). Chronopharmacology: new insights and therapeutic implications. *Annual review of pharmacology and toxicology*, *54*, 339-361.
- Déo, S. C., Andrezza, I. F., & Possamai, J. C. (2011). Development of mesalazine pellets coated with methacrylic-derived polymer. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *47*(1), 103-109.
- Dow Chemical. (2005). *Ethylcellulose Polymers: Technical Handbook*. Acesso em 2015 de 02 de 23, disponível em <http://www.dow.com/dowwolff/en/pdf/192-00818.pdf>
- EUROPEAN Pharmacopoeia. 7.ed. Strasbourg: Council of Europe, 2008.
- FARMACOPÉIA Brasileira. 5^a ed. Brasília: ANVISA, v. 2, 2010.

Ghebre-Selassie, I. (1989). Pellets: A general overview. In: Pharmaceutical pelletization technology (pp. 1-13). New York: Marcel Dekker.

Glatt. (16 de 05 de 2014). (Glatt) Acesso em 07 de 02 de 2015, disponível em Innovative Pelletising Technologies: <http://biopharma-asia.com/technical-papers/innovative-pelletising-technologies/>

Hage Junior, E. (1998). Aspectos históricos sobre o desenvolvimento da ciência e da tecnologia de polímeros. *Polímeros*, 8(2), 6-9.

Jha, M. K., Rahman, M. H., & Rahman, M. M. (2011). Biphasic oral solid drug delivery system: A review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(5), 1108-1115.

Kamel, S., Ali, N., Jahangir, K., Shah, S. M., & AL-Gendy, A. A. (2008). Pharmaceutical significance of cellulose: A review. *Express Polym Lett*, 2(11), 758-778.

Khan, K. A. (1975). The concept of dissolution efficiency. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 27(1), 48-49.

Klemm, D., Philipp, B., Heinze, T., Heinze, U., & Wagenknecht, W. (1998). *Comprehensive Cellulose Chemistry: Funcionalization of cellulose* (Vol. 2). Wiley-VCH.

Kulkarni, P. K. (2010). Pelletization techniques as a pharmaceutical tool in the multiparticulate drug delivery system: a review. *International Journal of Drug Formulation and Research*, 1, 89-118.

Lachman, L., Lieberman, H. A., & Kaning, J. L. (2013). *The Theory And Practice Of Industrial Pharmacy* (4 ed.). CBS Publishers & Distributors Pvt. Limited.

Liltorp, K., Larsen, T. G., Willumsen, B., & Holm, R. (2011). Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 55(3), 424-428.

Lin, S.-Y., & Kawashima, Y. (2012). Current status and approaches to developing press-coated chronodelivery drug system. *Journal of controlled release*, 157(3), 331-353.

Londhe, S., Gattani, S., & Surana, S. (2010). Development of floating drug delivery system with biphasic release for verapamil hydrochloride: in vitro and in vivo evaluation. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology*, 2(11), 361-367.

Lopes, C. M., Lobo, J. M., & Costa, P. (2005). Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(2), 143-154.

Lovgren, K., & Lundberg, P. J. (1989). Determination of sphericity of pellets prepared by extrusion/spheronization and the impact of some process parameters. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 15(14-16), 2375-2392.

- Maggi, L., Machiste, E. O., Torre, M. L., & Conte, U. (1999). Formulation of biphasic release tablets containing slightly soluble drugs. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics*, 48, 37-42.
- Maggio, R. M., Castellano, P. M., & Kaufman, T. S. (2008). A new principal component analysis-based approach for testing "similarity" of drug dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences*, 34(1), 67-77.
- McGinity, J. W., & Felton, L. A. (2008). *Aqueous Polymeric Coatings for Pharmaceutical Dosage Forms* (3^a ed., Vol. 176). CRC Press.
- Mehta, S., De Beer, T., Remon, J. P., & Vervaet, C. (2012). Effect of disintegrants on the properties of multiparticulate tablets comprising starch pellets and excipient granules. *International Journal of Pharmaceutics*, 422(1-2), 310-317.
- Noël, F., Neves, C. S., Gram, K. R., Rivelli, R. F., & Gonçalves, J. C. (2004). Estudos de bioequivalência para formas de liberação modificada. *Interfarma*, 16(7-8), 64-66.
- Ohdo, S. (2010). Chronotherapeutic strategy: rhythm monitoring, manipulation and disruption. *Advanced drug delivery reviews*, 62(9), 859-875.
- Oliveira, R. B. (2007). Polímeros na obtenção de sistemas de liberação de fármacos. *Revista eletrônica de farmácia*, 3(1), 29-35.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., Kriz, G. S., & Vyvyan, J. R. (2010). *Introdução à Espectroscopia* (4^a ed.). São Paulo: Cengage Learning.
- Pekel, N., Yoshii, F., Kume, T., & Güven, O. (2004). Radiation crosslinking of biodegradable hydroxypropylmethylcellulose. *Carbohydrate polymers*, 55(2), 139-147.
- Pezzini, B. R., Silva, M. A., & Ferraz, H. G. (2007). Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 43(4).
- Pisano, G. P. (1997). *The Development Factory*. Boston: Harvard Business School.
- Prasad, M. B., Vidyadhara, S., Sasidhar, R. L., Balakrishna, T., & Trilochani, P. (2013). Development and evaluation of diltiazem hydrochloride controlled-release pellets by fluid bed coating process. *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 4(2).
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (6 ed.). London: Pharmaceutical Press.
- Rubin, E. A., Tummala, S., Both, D. A., Wang, C., & Delaney, E. J. (2006). Emerging technologies supporting chemical process R&D and their increasing impact on productivity in the pharmaceutical industry. *Chemical reviews*, 106(7), 2794-2810.
- Singh, B., Kumar, R., & Ahuja, N. (2005). Optimizing drug delivery systems using systematic" design of experiments." Part I: fundamental aspects. *Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22(1), 27-105.

- Sahoo, J., Murthy, P., Biswal, S., Sahoo, S., & Mahapatra, A. (2008). Comparative study of propranolol hydrochloride release from matrix tablets with Kollidon SR or hydroxy propyl methyl cellulose. *AAPS PharmSciTech*, 9(2), 577-582.
- Tița, B., Fuliș, A., Bandur, G., Marian, E., & Tița, D. (2011). Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 56(2), 221-227.
- Tye, H. (2004). Application of statistical 'design of experiments' methods in drug discovery. *Drug discovery today*, 9(11), 485-491.
- Verdecchia, P., Angeli, F., Mazzotta, G., Garofoli, M., Ramundo, E., Gentile, G., . . . Reboldi, G. (2012). Day-night dip and early-morning surge in blood pressure in hypertension prognostic implications. *Hypertension*, 60(1), pp. 34-42.
- Vervaet, C., Baert, L., & Remon, J. P. (1995). Extrusion-spheronisation: A literature review. *International Journal of Pharmaceutics*, 116(2), 131-146.
- Villanova, J. C., Oréface, R. L., & Cunha, A. S. (2010). Pharmaceutical applications of polymers. *Polímeros*, 20(1), 51-64.
- Zerbini, A. P., & Ferraz, H. G. (2011). Sistemas multiparticulados: minicomprimidos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, 32(2), 149-158.

ANEXOS

Tabela 1 Análise de variância (ANOVA) da especificidade do método analítico.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	0,0927	2	0,0463	2,4037	0,1711	5,143
Dentro dos grupos	0,1157	6	0,0193			
Total	0,2089	8				

SQ = soma dos quadrados, gl = graus de liberdade, MQ = média dos quadrados.

Tabela 2 Análise de variância (ANOVA) da precisão intermediária do método analítico.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	8,2372	7	1,1767	1,5039	0,1938	2,2490
Dentro dos grupos	31,2975	40	0,7824			
Total	39,5347	47				

SQ = soma dos quadrados, gl = graus de liberdade, MQ = média dos quadrados.

Tabela 3 Análise de variância (ANOVA) da robustez do método analítico.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	2,0654	2	1,0327	1,6743	0,2644	5,143
Dentro dos grupos	3,7006	6	0,6168			
Total	5,7660	8				

SQ = soma dos quadrados, gl = graus de liberdade, MQ = média dos quadrados.

Tabela 4 Análise de variância (ANOVA) da estabilidade do fármaco em solução.

Fonte da variação	SQ	gl	MQ	F	valor-P	F crítico
Entre grupos	1,4610	2	0,7305	0,6991	0,5221	4,2565
Dentro dos grupos	9,4038	9	1,0449			
Total	10,8649	11				

SQ = soma dos quadrados, gl = graus de liberdade, MQ = média dos quadrados.