

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

Tatyane Martins Marcos

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ÁCIDOS GRAXOS EM ATUAR
COMO INIBIDORES DE PRECIPITAÇÃO EM SOLUÇÕES
SUPERSATURADAS DO FÁRMACO NIMODIPINO**

Florianópolis

2019

Tatyane Martins Marcos

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ÁCIDOS GRAXOS EM ATUAR COMO
INIBIDORES DE PRECIPITAÇÃO EM SOLUÇÕES SUPERSATURADAS DO
FÁRMACO NIMODIPINO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do Título de Farmacêutica.

Orientadora: Prof. Dra. Hellen Karine Stulzer

Coorientadora: MSc. Maria Terezinha França

Florianópolis

2019

Tatyane Martins Marcos

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE ÁCIDOS GRAXOS EM ATUAR COMO
INIBIDORES DE PRECIPITAÇÃO EM SOLUÇÕES SUPERSATURADAS DO
FÁRMACO NIMODIPINO**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do
Título de Farmacêutica e aprovado em sua forma final pelo Curso de
Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 28 de novembro de 2019.

Prof (a). Mareni Rocha Farias, Dr.(a)
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof.(a) Hellen Karine Stulzer, Dr.(a)
Orientador(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof.(a) Angela Machado de Campos, Dr.(a)
Avaliador(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Giovana Carolina Bazzo, Dr.(a)
Avaliador(a)
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado ao meu querido avó, José Martins (*in memoriam*), que me ensinou que não há um sonho que não possa ser alcançado quando você luta por ele.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço imensamente aos meus pais, Gilson e Mari, por além da vida, dão todos os dias o maior amor do mundo à mim. Sem vocês, nada disso seria possível, o sonho de ser graduada em uma das melhores Universidades do Brasil não seria alcançado. Obrigada por lutarem ao meu lado e me apoiarem em tudo.

Agradeço a minha orientadora, Prof. Hellen Stulzer, por ter acreditado em mim e me dar a chance de mergulhar no mundo da ciência e pesquisa, e principalmente na área profissional que pretendo seguir. Você me inspira, profissionalmente e pessoalmente, a buscar o meu lugar como mulher no mundo científico.

A minha co-orientadora, Maria, que tive o prazer de acompanhar por 2 anos durante sua pesquisa de doutorado. Você sempre terá o seu lugar no meu coração, ensinou-me muito mais do que ser pesquisadora. Agradeço sempre a você, por tudo e por tanto.

A minha família, por me apoiar em todos os momentos, principalmente Karissa e Maria Eduarda. Obrigada por todas as vezes que vocês me deram aquela palavra de carinho que precisava para seguir em frente.

As minhas amigas que fiz nessa trajetória, Gabriela, Stephanie, Carolinne, Victória e Veridiana, obrigada pelos momentos de apoio mútuo nas horas difíceis e pelas alegrias incontáveis. Agradeço a Amanda, que me fez abrir os olhos para essa profissão incrível e por todos os momentos que foi meu porto seguro.

Aos amigos do Laboratório de Controle de Qualidade da UFSC, agradeço pelos anos de convivência, pelo carinho, pela ajuda em diversos momentos, e principalmente pela amizade que ficará para a vida. Aos professores, Marcos Segatto e Simone Cardoso, obrigada pelos conselhos e palavras de afeto e suporte em todos os momentos que compartilhamos.

Ao meu querido avô, José Martins (*in memoriam*), queria poder agradecer ao senhor com um abraço por todo o amor que você me deu. Cada momento de incentivo, o senhor estava no meu coração.

Agradeço a todos que conviveram comigo durante esses anos de graduação, mas não foram citados, a minha eterna gratidão.

RESUMO

Um dos aspectos mais desafiadores no desenvolvimento de novas formulações na indústria química e farmacêutica é a baixa solubilidade dos fármacos. Além disso, esses compostos geralmente estão associados com a lipofilicidade e portanto, ambas características prejudicam e dificultam o processo de dissolução e absorção dos medicamentos pois afetam a biodisponibilidade no trato gastrointestinal. Uma das mais recentes alternativas estudadas para superar essa limitação são as formulações baseadas em lipídios, ou *Lipid-Based Formulations* (LBFs). Esse sistema de liberação compreende o fármaco solubilizado em excipientes de origem lipídica, como os ácidos graxos, utilizados nesse estudo. Há relatos que as LBFs são capazes de gerar um estado de supersaturação do fármaco, que proporciona uma estratégia viável para melhorar a absorção desses compostos, porém pode propiciar uma precipitação devido à alta concentração do princípio ativo no ambiente. Os ácidos graxos, ácido esteárico (AE), palmítico (AP) e láurico (AL) foram estudados como possíveis inibidores de precipitação em soluções envolvendo o nimodipino (NMD). O NMD é um bloqueador de canais de cálcio utilizado para o tratamento da hipertensão arterial sistêmica, distúrbios neurológicos e vasoespamos em decorrência de hemorragia subaracnóidea. O fármaco apresenta duas formas polimórficas, as quais apresentam diferentes propriedades como solubilidade e ponto de fusão. Portanto, a matéria-prima foi analisada através das técnicas de caracterização do estado sólido e constatada a presença do polimorfo conhecido como Mod I. Além disso, também foi desenvolvida a metodologia de quantificação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método demonstrou ser linear em uma ampla faixa e específico para o fármaco em meios contendo os três ácidos graxos. A determinação da solubilidade experimental de equilíbrio do NMD foi realizada em meios como, água, soluções tampão pH 1,6 e 6,5, e solvente orgânico. Para o teste com os ácidos graxos, o meio para dispersão escolhido foi o tampão pH 6,5 em duas concentrações de 25 e 50 µg/mL, entre eles o melhor desempenho do fármaco foi em AP em menor concentração, apresentando $2,25 \pm 0,12$ µg/mL. Todos foram distintos da água ($p < 0,05$), porém ainda se mostram a baixa solubilidade do NMD. Para avaliar a capacidade dos ácidos

graxos em atuarem como inibidores de precipitação, o NMD foi adicionado em meios contendo esses compostos sob as mesmas condições do experimento anterior. Nos meios contendo os ácidos graxos a 50 µg/mL, obtiveram maiores concentrações no início da análise, porém em 25 µg/mL, o NMD conseguiu manter uma concentração maior que a solubilidade aquosa durante aproximadamente 240 minutos. O melhor desempenho foi em meio contendo AE, em ambos os testes demonstrados, atingindo 31,92 µg/mL em 10 minutos. Os resultados são promissores e interessante, no entanto, espera-se um aprofundamento sobre as possibilidades que as LBFs podem proporcionar para contornar a limitação da baixa solubilidade aquosa dos fármacos.

Palavras chave: solubilidade, formulações baseadas em lipídios, supersaturação, nimodipino, ácidos graxos.

ABSTRACT

One of the most challenging aspects in the development of new formulations in the chemical and pharmaceutical industry is the low solubility of drugs. In addition, these compounds are generally associated with lipophilicity and therefore both of these characteristics affect the dissolution and absorption process of medications as their bioavailability in the gastrointestinal tract. One of the most recent alternatives studied to overcome this limitation is lipid-based formulations (LBFs). This drug delivery system comprises the drug solubilized in lipid excipients, such as fatty acids, used in this study. LBFs are reported to be capable of generating a state of drug supersaturation, which provides a viable strategy for improving the absorption of these compounds. Then may provide precipitation due to the high concentration of the drug in the environment. Fatty acids, stearic acid (AE), palmitic acid (AP) and lauric acid (AL) were studied as possible precipitation inhibitors in solution containing nimodipine (NMD). NMD is a calcium channel blocker used for the treatment of systemic arterial hypertension, neurological disorders and vasospasm due to subarachnoid hemorrhage. The drug has two polymorphic forms, which have different properties involving up to solubility and melting point, therefore, the material was analyzed by solid state characterization techniques and indicated the presence of the polymorph known as Mod I. A high performance liquid chromatography (HPLC) quantification methodology adapted from a method already used in house was also developed. The method has been shown to be linear over a wide range and drug specific in media containing the three fatty acids. Determination of experimental equilibrium solubility of NMD was performed in media such as pH 6.5 and 1.6 buffer solutions, water and organic solvent. For the fatty acids tests, the dispersion medium chosen was pH 6.5 buffer at two concentrations of 50 and 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, among which the best drug performance was in lower concentration AP, presenting $2.25 \pm 0.12 \mu\text{g}/\text{mL}$. All were distinct from water ($p < 0.05$), but still show the low solubility of NMD. Analyzes to evaluate the ability of fatty acids to act as precipitation inhibitors, NMD was added in media containing these compounds under the same conditions as the previous experiment. At 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$, higher concentrations were obtained at the beginning of the analysis, then at 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$, NMD was able to remain higher than aqueous solubility for approximately 240 minutes. The best

performance was in medium containing AE in both demonstrated tests, reaching 31.92 $\mu\text{g} / \text{mL}$ in 10 minutes. The results are promising and interesting, however, it is expected to deepen the possibilities that LBFs can provide to improve the limitation of low aqueous solubility of drugs.

Key words: Solubility. Lipid-Based Formulations. Supersaturation. Nimodipine. Fatty acids.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Sistema de Classificação Biofarmacêutica descrito por Amidon e colaboradores em 1995..... | 16 |
| Figura 2. Perfis idealizados de como as LBFs podem agir na solubilização de fármacos pouco solúveis em comparação com o fármaco cristalino isolado..... | 18 |
| Figura 3. Crescimento em números de publicações sobre LBFs na plataforma PubMed, com produtos LBFs comercializados sobrepostos nas datas correspondentes de lançamento do mercado..... | 19 |
| Figura 4. Concentração do fármaco em função do tempo em sistemas supersaturados..... | 20 |
| Figura 5. Estrutura molecular do NMD..... | 23 |
| Figura 6. Empacotamento cristalino e célula unitária de (A) Mod I e (B) Mod II..... | 24 |
| Figura 7. Curva de DSC do NMD..... | 34 |
| Figura 8. Espectro FT-IR do NMD..... | 35 |
| Figura 9. Curva de calibração média do NMD obtida por CLAE a 235 nm, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r^2)..... | 36 |
| Figura 10. Solubilidade do NMD em diferentes meios a 37 °C..... | 37 |
| Figura 11. Solubilidade de equilíbrio do NMD em meios contendo os ácidos graxos em concentração de 50 e 25 µg/mL a 37°C..... | 39 |
| Figura 12. Perfis de concentração versus tempo da avaliação da influência dos diferentes carreadores (AE, AP e AL) em (A) 25 e (B) 50 µg/mL a 37°C..... | 40 |
| Figura 13. Dados de AUC do estudo de supersaturação do NMD em ácidos graxos nas concentrações de (A) 25 e (B) 50 µg/mL a 37 °C..... | 42 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1. Característica do fármaco e excipientes. MM= massa molar (g/mol), NC= número de carbonos na cadeia principal (para ácidos graxos), \ PF= ponto de fusão, logP (coeficiente de partição) e solubilidade aquosa..... | 22 |
| Tabela 2. Formas farmacêuticas registradas contendo NMD..... | 25 |
| Tabela 3. Dados referentes à especificidade do método de quantificação por CLAE..... | 37 |

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

ACN: Acetonitrila

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AUC: área sob a curva

CLAE: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DMSO: dimetilsulfóxido

DRX: Difração de raio-X de pó

DSC: Calorimetria Exploratória Diferencial

FDA: Departamento de Administração de Alimentos e Medicamentos ou *U.S. Food and Drug Administration*

FT-IR: Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier

HAS: Hipertensão Arterial Sistêmica

LBFs: *“Lipid-Based Formulations”* ou Formulações Baseadas em Lipídios

MeOH: Metanol

mg: miligrama

min: minuto

mL: mililitro

NMD: Nimodipino

PIB: Produto Interno Bruto

SSM: *Solvent-Shift Method*

TGI: Trato gastrointestinal

µg: micrograma

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1. INTRODUÇÃO..... | 15 |
| 1.1 SOLUBILIDADE..... | 15 |
| 1.2 FORMULAÇÕES BASEADAS EM LIPÍDIOS..... | 17 |
| 1.3 SOLUÇÕES SUPERSATURADAS..... | 20 |
| 1.4 SELEÇÃO DE EXCIPIENTES: ÁCIDOS GRAXOS..... | 21 |
| 1.5 NIMODIPINO..... | 23 |
| 2. JUSTIFICATIVA..... | 26 |
| 3. OBJETIVOS..... | 28 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 28 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 28 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS..... | 29 |
| 4.1 MATERIAIS..... | 29 |
| 4.2 MÉTODOS..... | 29 |
| 4.2.1 Caracterização do estado sólido..... | 29 |
| 4.2.1.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)..... | 29 |
| 4.2.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)..... | 29 |
| 4.2.2 Desenvolvimento da metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)..... | 30 |
| 4.2.2.1 Instrumentação e condições cromatográficas..... | 30 |
| 4.2.2.2 Linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)..... | 30 |
| 4.2.2.3 Especificidade..... | 30 |
| 4.2.3 Determinação experimental da solubilidade do fármaco cristalino..... | 31 |
| 4.2.4 Avaliação da influência dos carreadores como inibidores de precipitação..... | 31 |

| | |
|--|----|
| | 14 |
| 4.2.5 Análise estatística | 32 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO | 33 |
| 5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO..... | 33 |
| 5.1.1 DSC..... | 33 |
| 5.1.2 FT-IR..... | 34 |
| 5.2 DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE..... | 35 |
| 5.2.1 Linearidade, LD e LQ | 36 |
| 5.2.2 Especificidade | 36 |
| 5.3 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO CRISTALINO | 37 |
| 5.4 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS CARREADORES COMO INIBIDORES DE PRECIPITAÇÃO | 39 |
| 6. CONCLUSÃO | 44 |
| REFERÊNCIAS..... | 45 |

1. INTRODUÇÃO

1.1 SOLUBILIDADE

A solubilidade é um parâmetro físico-químico que abrange a medida do grau de mistura molecular entre dois compostos puros no equilíbrio termodinâmico. A determinação exata da solubilidade aquosa de insumos farmacêuticos é importante para desenvolver formulações, principalmente na etapa envolvendo estudos de pré-formulação e dissolução, compreender o controle de qualidade e as limitações de fármacos com baixa liberação. A capacidade de medir essa propriedade de um composto é afetada por diversos fatores, como área superficial, tamanho de partícula, pH e temperatura do meio, polaridade, natureza do soluto e solvente, entre outros (NETZ; ORTEGA, 2002; USP, 2011).

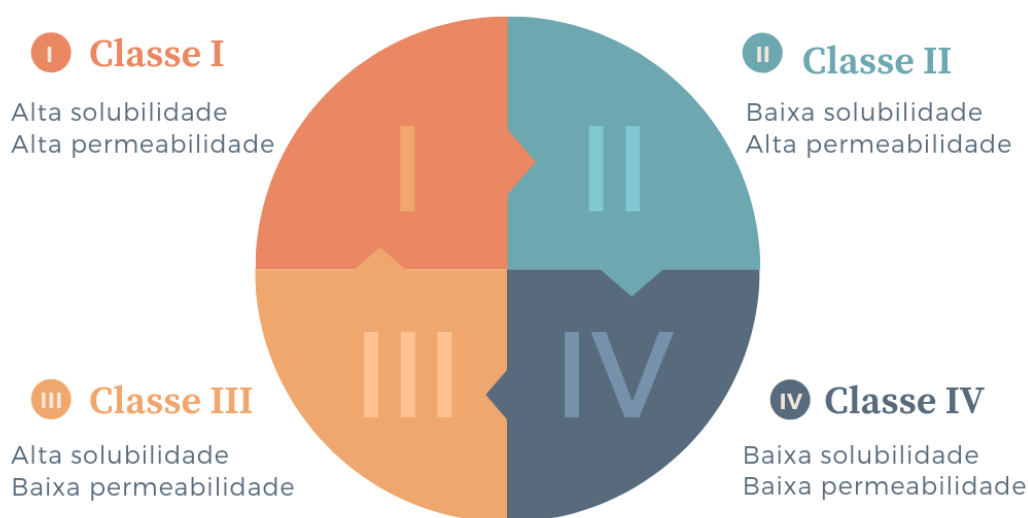
Fármacos pouco solúveis geralmente estão associados a propriedades como hidrofobicidade e lipofilicidade, sendo, portanto fatores limitantes na solubilização e conseqüentemente, no processo de dissolução, que é prejudicado. A molécula necessita superar a energia necessária para romper a rede cristalina para interagir com as moléculas do solvente durante o processo de solvatação (DITZINGER et al, 2019). Devido a essa baixa solubilidade maiores doses de fármaco podem ser requeridas. Contudo, o uso de altas dosagens diárias, muitas vezes, resulta em alta variabilidade na biodisponibilidade e aumenta o risco de toxicidade aos pacientes (KERNS; DI, 2008; WILLIAMS; WATTS; MILLER, 2016).

O progresso feito na área de química farmacêutica e na inovação em triagem de alto rendimento levou à produção de um grande número de candidatos para potenciais novas moléculas com atividade terapêutica. No entanto, ao mesmo tempo, essas técnicas introduziram compostos com a problemática de baixa solubilidade aquosa na indústria farmacêutica. Estima-se que mais de 40 % dos fármacos no mercado possuem essa limitação biofarmacêutica (LIPINSKI et al, 2012; GILYAR, FIKSTAD, TYAVANAGIMATT, 2006).

No intuito de identificar os fármacos em relação à solubilidade e permeabilidade foi desenvolvido o Sistema de Classificação Biofarmacêutica

(SCB), a fim de obter melhores índices de correlação entre a dissolução *in vitro* de fármacos e a biodisponibilidade *in vivo*. O SCB baseia-se no reconhecimento que a dissolução de um fármaco e sua permeabilidade gastrointestinal são os parâmetros essenciais que controlam a taxa e a extensão da absorção. Dessa forma, os fármacos são classificados em quatro classes distintas (AMIDON et al., 1995), descritas na Figura 1.

Figura 1. Sistema de Classificação Biofarmacêutica descrito por Amidon e colaboradores em 1995.



Fonte: Elaborado pela autora através da plataforma Canva®, 2019.

A crescente quantidade de fármacos com baixa solubilidade levou a indústria farmacêutica a buscar alternativas para contornar a questão da solubilidade, explorando abordagens químicas, físicas ou de tecnologia farmacêutica. Durante muito tempo, essas estratégias para contornar a baixa absorção e biodisponibilidade desses fármacos abordavam melhorias na solubilidade e velocidade de dissolução no trato gastrointestinal. No entanto, diversos estudos têm demonstrado que o aumento da solubilização intestinal pode ter caráter temporário, principalmente para fármacos altamente permeáveis, SCB II. Nesse sentido, a manutenção de um estado de supersaturação no trato gastrointestinal (concentração de soluto em solução superior à solubilidade de equilíbrio termodinâmica) pode ser suficiente para promover uma melhor absorção de fármacos com baixa solubilidade aquosa

(BROUWERS; BREWSTER; AUGUSTIJNS, 2009; DAHAN et al., 2016; WEBSTER; JACKSON; BELL, 2017; WILSON et al., 2018).

1.2 FORMULAÇÕES BASEADAS EM LIPÍDIOS

Entre as opções para contornar a limitação biofarmacêutica relativa à biodisponibilidade estão as formulações baseadas em lipídios, do inglês “*Lipid-Based Formulations*” (LBFs). Estas são definidas como sistemas de liberação, compostos pelo fármaco em mistura com excipientes como triglicerídeos, glicerídeos parciais, surfactantes e co-solvente. A principal vantagem das LBFs é aprimorar a solubilização *in vivo* do fármaco quando dissolvido em lipídios (POUTON, 2000; SAVLA et al, 2017). É relatado na literatura que o aumento da solubilidade aparente do trato gastrointestinal (TGI), proporcionado por LBFs, pode ter efeito positivo na permeabilidade em membranas biológicas (FEENEY et al., 2016).

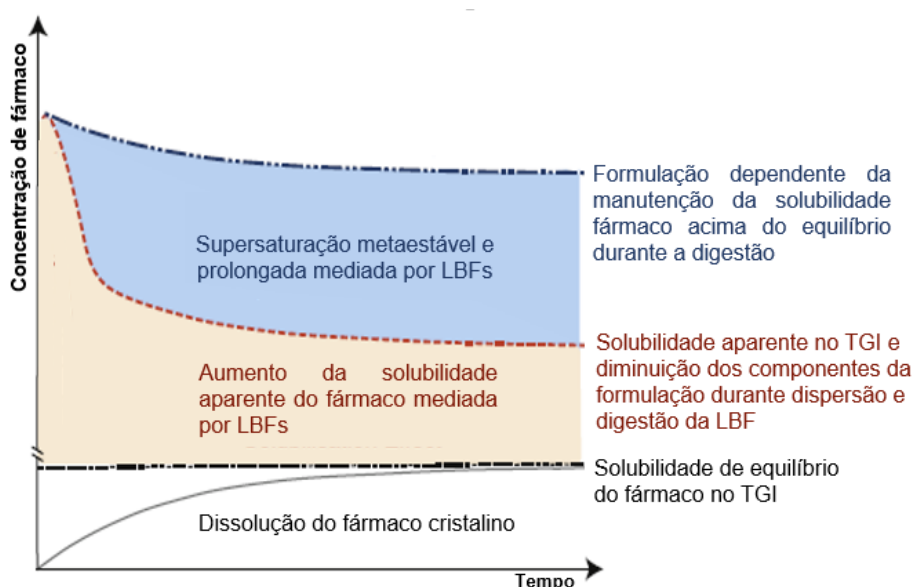
Dentre os possíveis mecanismos discutidos na literatura de como as LBFs aumentam a absorção por via oral, estão: aumento da solubilidade gastrointestinal do fármaco, promoção de supersaturação, inibição da cristalização ou facilitação da precipitação na forma amorfa, efeitos no efluxo e na permeabilidade intestinal, influência no metabolismo no intestino, aumento do tempo de residência no TGI e a absorção linfática. Moléculas que estão próximas ou além das regras de Lipinski, conhecidas como “regra dos 5”, são candidatas para as LBFs e possuem bom desempenho relatado em aumentar a absorção oral (KUENTZ, 2012; FEENEY et al, 2016; DITZINGER et al, 2019). Em 1997, Lipinski e colaboradores estudaram mais de 2000 fármacos e observaram propriedades físico-químicas essenciais para uma boa solubilidade em água e permeabilidade intestinal, entre elas, estão: logP, número de doadores e aceptores de hidrogênio na molécula, peso molecular e os pontos de interação com o alvo farmacológico (LIPINKSI, 2004).

LBFs compreendem o fármaco na forma solubilizada, o que contorna a etapa de dissolução e é provavelmente a principal razão para o seu melhor desempenho como sistema de liberação. No entanto, é importante que as formulações mantenham o fármaco solubilizado, para que esta facilite a etapa de absorção. A alta solubilização do fármaco nas LBFs produz um efeito de

supersaturação, e posteriormente também aumenta o limite de solubilidade na presença de lipídeos (KUENTZ, 2018). Baseado na capacidade de gerar uma maior concentração além da concentração de solubilidade, as LBFs são vistas como formas de dosagens supersaturáveis efetivas, o que é similar a outros sistemas amplamente estudados, como por exemplo, as dispersões sólidas (KAWAKAMI, 2012; SUN et al, 2016; ZHANG et al, 2018; RIEKES et al, 2014).

Durante o trânsito intestinal, o fármaco é solubilizado em uma mistura complexa de estruturas coloidais contendo excipientes na formulação, sais biliares endógenos, fosfolipídios e colesterol, que podem sustentar o efeito de supersaturação por um tempo prolongado. Contudo, visto que este é um estado metaestável termodinamicamente, pode ocorrer a precipitação do fármaco e consequentemente, reduzir a absorção (ALSKÄR et al, 2018; KUENTZ, 2018). Na figura 2, adaptada de Feeney e colaboradores (2016), é possível visualizar diferentes perfis de concentração para um dado fármaco pouco solúvel e como as LBFs podem influenciar na forma de liberação de modo diferenciado (KUENTZ, 2018).

Figura 2. Perfis idealizados de como as LBFs podem agir na solubilização de fármacos pouco solúveis em comparação com o fármaco cristalino isolado.

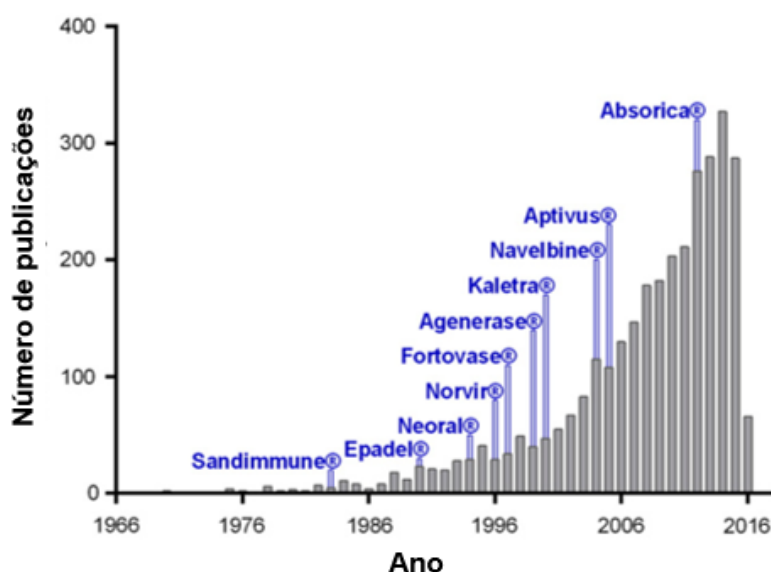


Fonte: Adaptado de Feeney et al, 2016.

As principais vantagens associadas às LBFs para fármacos pouco solúveis e altamente lipofílicos abordam a questão farmacocinética no TGI,

evitando uma dependência da taxa de dissolução e aumentando a solubilidade intestinal uma vez que os excipientes da formulação se misturem com os fluidos gastrointestinais. No geral, é uma estratégia viável para melhorar a absorção limitada desses compostos lipofílicos (ALSKÄR et al, 2019). No entanto, apesar desse sistema de liberação ainda não ser amplamente utilizado no mercado farmacêutico, há um crescente número de produtos envolvendo essa técnica na última década. De acordo com a plataforma PubMed as pesquisas ganharam forças (Figura 3) após o sucesso comercial e clínico de formulações de ciclosporina, como o Sandimmune® e Neoral®, cujas propriedades aumentaram o foco no tamanho de partícula da dispersão formada durante a ruptura das cápsulas como um possível indicador do desempenho *in vivo* das LBFs (FEENEY et al, 2016).

Figura 3. Crescimento em números de publicações sobre LBFs na plataforma PubMed, com produtos LBFs comercializados sobrepostos nas datas correspondentes de lançamento do mercado.



Fonte: Adaptado de Feeney et al, 2016.

Esse sistema de liberação também apresenta melhorias biofarmacêuticas e pode aprimorar características como, permeabilidade, trânsito e metabolismo gastrointestinal, e mascaramento de sabor do princípio ativo. Comercialmente, as LBFs oferecem oportunidades adicionais ao paciente de tratamento, como uma combinação com uma gama de diferentes formas farmacêuticas que podem ser adequadas às suas preferências (FEENEY et al.,

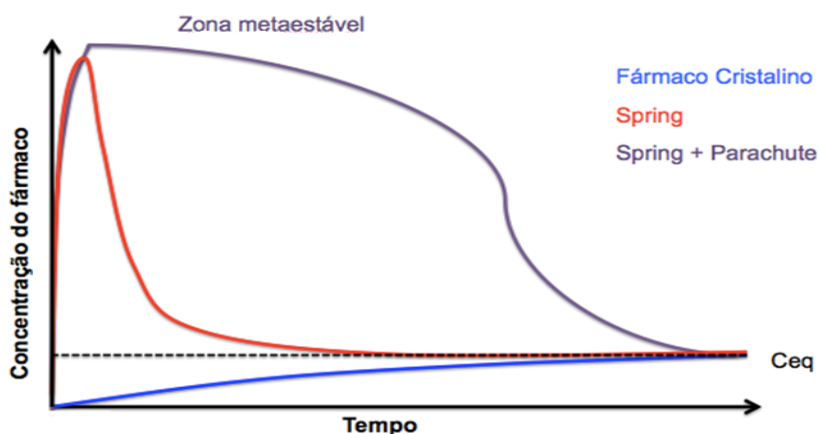
2016). Atualmente, sob um ponto de vista industrial, existem mais de 35 produtos com a tecnologia de LBFs disponíveis no mercado e um número desconhecido de potenciais projetos sendo desenvolvidos (HOLM, 2019).

1.3 SOLUÇÕES SUPERSATURADAS

No contexto de sistemas de liberação de fármacos administrados por via oral, o estado de supersaturação se refere a geração e manutenção transitória da sua concentração acima da sua solubilidade de equilíbrio em fluidos gastrointestinais. A supersaturação produz efeito na atividade termodinâmica de fármacos solubilizados, e com isso pode aumentar significativamente a etapa de absorção (YEAP et al, 2019).

Nas LBFs, altas concentrações podem ser obtidas em comparação aos fármacos cristalinos, que possuem uma cinética de dissolução lenta (FEENEY et al, 2016; WILLIAMS et al, 2013). Uma rápida dispersão acontece paralelamente com uma rápida liberação inicial do fármaco para sistemas auto emulsificantes. O composto é liberado em uma fase coloidal aquosa que essencialmente resulta em uma solubilização conhecida como concentração aparente. Todavia, uma visão mais estrita considera verdadeiramente liberado, apenas o fármaco livre. Esse aumento inicial na concentração além da solubilidade termodinâmica é chamado de “*spring*”, e a habilidade de sustentar a supersaturação do fármaco é considerado o “*parachute*” (GÚZMAN et al, 2007), como é demonstrado na Figura 4.

Figura 4. Concentração do fármaco em função do tempo em sistemas supersaturados.



Fonte: FRANÇA, M. T.; MARCOS, T.M.; STULZER, H.K (2018).

Sistemas supersaturados de liberação de fármacos possuem o fármaco em formas altamente energéticas ou outras formas de dissolução rápida, que propiciam a geração de concentrações intraluminais acima da solubilidade de saturação. Polimorfos metastáveis, sais, cocristais, sistemas amorfos e formulações baseadas em lipídios, que serão abordadas posteriormente, são algumas das formas sólidas utilizadas por via oral mais relevantes, que possuem potencial para formar soluções supersaturadas (ALMEIDA E SOUSA et al., 2016; BEVERNAGE et al., 2012; KUENTZ, 2018). Uma vez que esses sistemas possuem o risco de precipitar, o que pode comprometer a etapa de absorção, inibidores de precipitação estão sendo empregados para estabilizar e manter a supersaturação no TGI e maximizar a duração da alta concentração do fármaco (WARREN et al, 2010), o quais serão abordados posteriormente nesse trabalho.

1.4 SELEÇÃO DE EXCIPIENTES: ÁCIDOS GRAXOS

A alta solubilidade do fármaco, em particular bases fracas ionizáveis, é tipicamente atingida em ambiente de baixo pH, como o estômago, e reduz com a transição para condições de pH mais neutras, como intestino delgado. Com isso, os sistemas de supersaturação influenciados por esse mecanismo, possuem uma energia termodinâmica alta (alto potencial de absorção) quando comparado com o fármaco no equilíbrio (solubilidade), ou abaixo da solubilidade. No entanto, essa transição de um estado de alta energia para o equilíbrio é energeticamente favorecida, e, portanto a supersaturação pode levar a uma precipitação a fim de retornar ao equilíbrio (FEENEY et al., 2016; PUI et al., 2018).

Dessa forma, as formulações podem envolver excipientes chamados de inibidores de precipitação, que devem evitar uma potencial cristalização no meio, para que a então solução supersaturada se mantenha por um tempo suficiente para promover absorção do fármaco. Muitas vezes, necessita-se de aditivos capazes de inibir ou retardar a precipitação do fármaco em solução. Esses excipientes agem como um estabilizador do ambiente, mas apenas

quando não chega ao grau máximo de supersaturação (DITZINGER et al., 2019; STILLHART; KUENTZ, 2016; TAYLOR; ZHANG, 2016).

Nos últimos anos, o uso de lipídios como excipiente está sendo amplamente investigado. Os fosfolipídios são moléculas com característica anfifílica e consistem em uma parte hidrofóbica e outra hidrofílica, como ácidos graxos. Essa propriedade específica permite que os fosfolipídios tenham um papel importante para a formação da bicamada lipídica. A natureza anfifílica facilita o aumento da solubilidade de fármacos pouco solúveis através da formação de complexos ou micelas (PRATAP; GANGADHARAPPA, & MRUTHUNJAYA, 2017). Os lipídios são biodegradáveis, de baixo custo, inertes fisiologicamente, não tóxicos e aprovados pelos órgãos regulatórios para uso em produtos farmacêuticos (REITZ; KLEINEBUDE, 2007). Assim sendo, destaca-se o uso de ácidos graxos como parte da formulação, tanto atuando no aumento da solubilidade do fármaco, quanto como um possível inibidor da precipitação no estado supersaturado do sistema de liberação. Na tabela abaixo, estão demonstrados os ácidos graxos pré-selecionados tendo a literatura como base.

Tabela 1. Característica do fármaco e excipientes. MM= massa molar (g/mol), NC= número de carbonos na cadeia principal (para ácidos graxos), PF= ponto de fusão, logP (coeficiente de partição) e solubilidade aquosa.

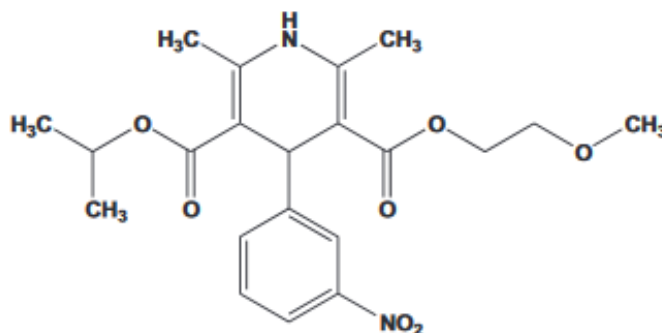
| Compostos | MM | NC | PF (°C) | logP | Solubilidade aquosa |
|-------------------------|--------|----|---------|------|---|
| NMD | 418,44 | - | 125 | 3,05 | 1,18 µg/mL a 25 °C (em tampão fosfato pH 6,5) |
| Ácidos graxos | | | | | |
| Ácido Esteárico (AE) | 284,48 | 18 | 68,8 | 8,23 | 0,597 µg/mL a 25 °C |
| Ácido Láurico (AL) | 256,43 | 16 | 61,8 | 7,17 | 4,81 µg/mL a 25 °C |
| Ácido Palmítico (AP) | 200,32 | 12 | 43,2 | 4,60 | 0,04 µg/mL a 25 °C |

Fonte: Pubchem database, 2019; PUI et al. 2018.

1.5 NIMODIPINO

O nimodipino (NMD), fármaco modelo desse estudo, é classificado com base no SCB como classe II (SCB), ou seja, possui baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade em membranas biológicas. Este fármaco tem baixa biodisponibilidade oral (apenas 13%) (SWEETMAN, 2009), o que o faz um ótimo candidato para o desenvolvimento de uma nova formulação aplicando-se as técnicas para obtenção de LBFs. O NMD, cuja estrutura está exposta abaixo (Figura 5), é uma dihidropiridina e atua como bloqueador de canais de cálcio.

Figura 5. Estrutura molecular do NMD.



Fonte: PUI et al, 2018

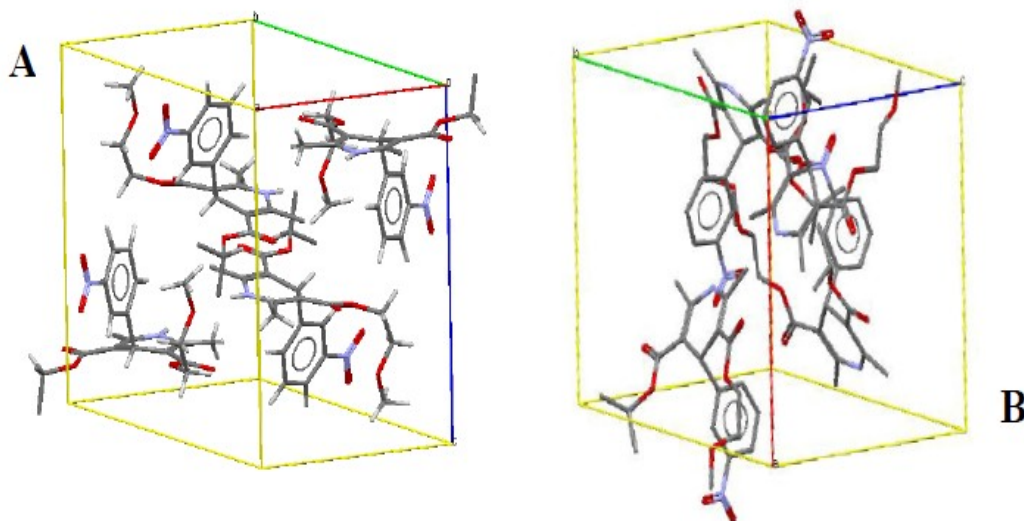
O NMD é um anti-hipertensivo recomendado na profilaxia e tratamento de isquemias causadas por espasmos de vasos cerebrais, após hemorragia subaracnóidea e aneurisma (NGUYEN, 2004). A hipertensão arterial sistêmica (HAS) é considerada um dos principais problemas de saúde pública no Brasil, elevando o custo médico-social, principalmente por suas complicações, como doença cerebrovascular, arterial coronariana e insuficiência renal e cardíaca (BRASIL, 2010).

Este, possui a capacidade de atravessar a barreira hematoencefálica devido à sua natureza lipofílica e pode ser utilizado também no tratamento de enxaqueca e demência. O NMD também é um antioxidante e possui atividade inibitória na enzima fosfodiesterase tipo 1. Por ter efeitos neuroprotetores, faz parte do manejo clínico de pacientes com hemorragia subaracnóidea e reduz a

severidade do déficit neurológico causados por vasoespasmos (ANSARI et al, 2019).

No entanto, além da sua solubilidade baixa, o NMD possui dois polimorfos, sendo um outro fator a ser levado em consideração para o desenvolvimento de uma formulação. Ambos foram descritos por Grunerberg, Keil e Henck em 1995. O polimorfo Modificação I (Mod I) ou a forma metaestável é uma forma racêmica que apresenta uma maior solubilidade em água ($0,36 \pm 0,07 \mu\text{g mL}^{-1}$) em comparação com a Modificação II (Mod II), a qual possui uma solubilidade aquosa de $0,18 \pm 0,07 \mu\text{g mL}^{-1}$ e é a forma mais estável (RIEKES et al, 2014). O Mod I se apresenta em forma de um composto racêmico, de sistema cristalino com 4 moléculas na sua unidade assimétrica, no entanto, o Mod II é mais estável a temperatura ambiente e é um conglomerado ortorrômbico que também possui 4 moléculas na sua unidade assimétrica (GRUNERBERG; KEIL; HENCK, 1995). A figura 6, adaptada de Riekes (2013), representa o empacotamento cristalino de ambos os polimorfos.

Figura 6. Empacotamento cristalino e célula unitária de (A) Mod I e (B) Mod II.



Fonte: Adaptado de Riekes, 2013.

Muitas outras técnicas já foram aplicadas e relatadas na literatura para contornar as limitações biofarmacêuticas do NMD, como dispersões sólidas com diversos excipientes poliméricos, tais como PVP, HPMC e PEG4000 (RIEKES et al, 2014; ADINARAYANA; RAJEDRAN; RAO, 2010; PUI et al, 2018). No entanto, ainda não há relato do estudo de ácidos graxos como possíveis inibidores de precipitação em LBFs de NMD, o que é interessante

tanto do ponto de vista tecnológico para a produção de um futuro medicamento, quanto na perspectiva de um tratamento mais efetivo e seguro.

Atualmente, há dois medicamentos com o princípio ativo na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) com o registro ativo, ou seja, é reconhecido, adequado à legislação sanitária e pode ser comercializado em território brasileiro (ANVISA, 2019). A tabela 2 apresenta as formas farmacêuticas contendo NMD registradas na ANVISA em pesquisa realizada pela autora na plataforma da própria agência regulatória.

Tabela 2. Formas farmacêuticas registradas contendo NMD.

| Nome comercial | Detentora do registro/ Ano de registro | Forma farmacêutica | Apresentação | Vencimento do registro |
|-----------------------|--|---------------------------|---|-------------------------------|
| MIOCARDIL® | Vitamedic Indústria Farmacêutica LTDA / 2000 | Comprimido revestido | 30 mg / 30 comprimidos revestidos Ou 30 mg / 500 comprimidos revestidos (uso hospitalar) | 12/2020 |
| NIMOVAS® | Diffucap – Chemobrás Química e Farmacêutica / 1999 | Comprimido revestido | 30 mg | 01/2024 |

Fonte: Plataforma de consultas, ANVISA, 2019.

2. JUSTIFICATIVA

Como consequência da baixa solubilidade aquosa dos fármacos, a absorção e a biodisponibilidade são fatores prejudicados, afetando diretamente o sucesso do medicamento durante o tratamento dos pacientes com HAS. Grande parte da população brasileira e mundial sofre com HAS, portanto um medicamento com uma melhor performance poderia aumentar a efetividade e a segurança, visto que é um tratamento a longo prazo. As doenças cardiovasculares em geral ocupam o 2º lugar entre as principais causas de mortes no país, com uma taxa de mortalidade de 55,96 % e permanece atrás somente de doenças isquêmicas cardíacas, com um total de 79,95 % de óbitos (BRASIL, 2016).

É relatado que no Brasil um a cada quatro adultos possuem HAS, e o principal fator prejudicial é a alimentação com altos níveis de sódio. Recentemente, o Ministério da Saúde divulgou que 34 pessoas morrem por hora devido aos eventos cardiovasculares, totalizando aproximadamente 302 mil óbitos no ano de 2017 (BRASIL, 2019). Sob o ponto de vista socioeconômico, estudos realizados anteriormente afirmam que no Brasil o custo anual para o tratamento da HAS no Sistema Único de Saúde (SUS) foi de aproximadamente R\$ 969.231.436,00 e, no Sistema Suplementar de Saúde, de R\$ 662.646.950, representando 0,08 % do produto interno bruto (PIB) brasileiro no período estudado (DIB et al, 2010).

Embora o NMD não conste na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) (BRASIL, 2018), esse medicamento é padronizado para uso hospitalar em diversos estados do Brasil. Por exemplo, no estado do Espírito Santo o NMD é um dos principais medicamentos no protocolo clínico para Abordagem aos Pacientes com Acidente Vascular Cerebral (AVC), com a indicação de prevenção de tratamento de vasoespasmos cerebrais (ESPIRITO SANTO, 2018). O Departamento de Administração de Alimentos e Medicamentos (FDA) dos Estados Unidos reconheceu e aprovou o uso do NMD pela primeira vez em 1988. No entanto, é recomendado estritamente para o manejo de vasoespasmos seguidos de hemorragia subaracnóidea (DAS, ZITO, 2019).

A estratégia abordada nesse trabalho pode trazer resultados promissores e inovadores, tendo em vista que estudos relacionando os ácidos graxos como excipientes atuando como inibidores de precipitação ainda não foram abordados profundamente na literatura. Pesquisas anteriores relacionam os ácidos graxos com fármacos no intuito de investigar o comportamento durante a dissolução *in vitro* e o seu uso adjuvante de estabilidade em diversos processos de obtenção (VERVAECK et al., 2015). Além disso, uma crescente porcentagem de moléculas que estão sob estudo de pré-formulação nas indústrias farmacêuticas são compostos SCB classe II e IV (SAVLA, 2017), como o NMD.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a capacidade de ácidos graxos em inibir a precipitação do fármaco pouco solúvel nimodipino em soluções supersaturadas tendo em vista o aperfeiçoamento das suas propriedades biofarmacêuticas.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Realizar a caracterização físico-química do fármaco adquirido através de distintas técnicas do estado sólido, como calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR), a fim de identificar a forma polimórfica da matéria prima.
- ✓ Desenvolver metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) para quantificar o fármaco NMD em solução, isolado, associado com os excipientes.
- ✓ Determinar experimentalmente a solubilidade do fármaco em diferentes meios de dissolução contendo ácidos graxos, incluindo soluções tampão com diferentes pH.
- ✓ Avaliar a capacidade dos ácidos graxos pré-selecionados na inibição da precipitação do fármaco em soluções supersaturadas.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

O NMD foi adquirido de Pharma Nostra Comercial LTDA (Rio de Janeiro, Brasil). O ácido esteárico foi gentilmente cedido pela BASF South America (São Paulo, Brasil). Os ácidos láurico e palmítico foram adquiridos através da Metaquímica Produtos LTDA (Jaraguá do Sul, Brasil). Os solventes metanol (MeOH), acetonitrila (ACN) e dimetilsulfóxido (DMSO) estavam disponíveis no Laboratório de Controle de Qualidade desta Universidade. A água ultrapura foi obtida a partir do Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos).

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Caracterização do estado sólido

A caracterização do estado sólido faz parte dos estudos pré-formulação a fim de identificar a forma polimórfica em questão. O fármaco NMD foi previamente analisado através das técnicas apresentadas abaixo:

4.2.1.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas de DSC contendo aproximadamente 2 mg de amostras contendo NMD foram obtidas em célula Shimadzu DSC-60, utilizando cadinhos de alumínio hermeticamente fechados e acoplada a software TA-60. A faixa de temperatura analisada foi de 25 a 150 °C, a uma taxa de aquecimento de 2 °C/min e sob atmosfera de dinâmica de N₂ de 100 mL/min.

A presente técnica forneceu resultados sobre os materiais cristalinos, visto que geralmente apresentam eventos endotérmicos bem resolvidos e relatados na literatura.

4.2.1.2 Espectroscopia vibracional na região do infravermelho (FT-IR)

As análises espectroscópicas FT-IR foram realizadas em equipamento Perkin Elmer modelo Frontier FT-NIR/MIR, disponível no Laboratório de Controle de Qualidade, do Departamento de Ciências Farmacêuticas desta

Universidade. As amostras com o fármaco foram colocadas diretamente no amostrador e analisadas na região de $4000 - 600 \text{ cm}^{-1}$, em temperatura ambiente, com uma média de 16 varreduras em resolução espectral de 4 cm^{-1} .

A espectroscopia FT-IR forneceu espectros relativos às fases cristalinas das matérias-primas.

4.2.2 Desenvolvimento da metodologia analítica por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

4.2.2.2 Instrumentação e condições cromatográficas

A metodologia analítica por CLAE foi desenvolvida utilizando um cromatógrafo PerkinElmer® Series 200 com detector UV em 235 nm, adaptando o método utilizado por Riekes e colaboradores (2014), tendo em vista a substituição do solvente orgânico acetonitrila, o qual possui alto custo, por metanol. Os experimentos foram conduzidos em coluna cromatográfica de fase reversa Merck (Darmstadt, Alemanha) Purospher® Star RP-18 (250 x 4,6 mm; 5 μm). Uma pré-coluna Phenomenex (Torrance, Estados Unidos) foi utilizada para proteger a coluna. A fase móvel foi composta por MeOH:água (75:25, v/v), em fluxo de $1,0 \text{ mL min}^{-1}$, a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. As amostras foram filtradas em filtro de membrana de $0,45 \mu\text{m}$, e um volume de injeção de $50 \mu\text{L}$.

4.2.2.3 Linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

As curvas de calibração foram obtidas através de cinco concentrações variando entre 0,25 a $45 \mu\text{g/mL}$. As análises foram realizadas em triplicata e a curva média foi obtida por regressão linear.

Os valores de LD e LQ foram calculados a partir do desvio padrão da resposta (σ) e coeficiente angular (s), obtidos através da equação da reta média.

4.2.2.4 Especificidade

A especificidade do método foi determinada através da análise de soluções de NMD isolado, na presença de AE, AL e AP, e os ácidos graxos sem NMD, em uma concentração de 2,5 µg/mL. Todas as amostras foram analisadas em triplicata.

4.2.3 Determinação experimental da solubilidade do fármaco cristalino

As análises foram realizadas por meio de adição do fármaco em excesso nos meios de dissolução: água, solução tampão pH 1,6, solução tampão pH 6,5, DMSO 0,25 e 0,50 % em incubadora shaker Nova Técnica, modelo NT 715. As amostras foram mantidas a 37 °C e 240 rpm de agitação até determinação de concentração constante do fármaco em solução. Alíquotas foram coletadas nos tempos de 4, 24 e 48 horas e filtradas em filtro de membrana 0,45 µm. A determinação quantitativa foi realizada através de metodologia analítica por CLAE, descrita no item 4.2.2.

4.2.4 Avaliação da influência dos carreadores como inibidores de precipitação

A análise da influência do carreador na inibição da precipitação do fármaco foi realizada através do método *Solvent Shift* (SUN et al, 2016). O fármaco foi previamente solubilizado em DMSO, solvente orgânico miscível em água. Quantidades equivalentes a 24 mg/mL foram adicionadas à 25 mL dos meios de dissolução pH 6,5 (com ou sem a adição dos carreadores). As soluções de ácidos graxos foram testadas na concentração de 50 e 25 µg/mL. Os experimentos foram realizados em incubadora shaker Nova Técnica, modelo NT 715, a 37°C, 240 rpm por 240 minutos. Alíquotas foram coletas nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 120, 180 e 240 minutos e imediatamente diluídas em solução de ACN:água (60:40, v/v) na proporção de 1:1 de solução diluição para amostra. A determinação quantitativa foi realizada através de metodologia analítica por CLAE, descrita no item 4.2.2.

4.2.5 Análise estatística

A análise estatística dos dados foi conduzida através de análise de variância ANOVA e teste de Tukey para comparação de médias e cálculos de área sob a curva (AUC). O teste-*t* de Student para interpretação de equilíbrio em determinação da solubilidade. Em todos, os resultados significativos apresentaram probabilidade menor que 5 % ($p < 0,05$ com intervalo de confiança de 95 %). Os *softwares* utilizados foram o GraphPad Prism ® 6, Microsoft Excel® e DDSolver®.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO

As propriedades físico-químicas dos fármacos no estado sólido estão relacionadas estreitamente com aspectos como biodisponibilidade, solubilidade, procedimentos farmacotécnicos e condições de administração (CUFFINI et al, 2001). O polimorfismo é descrito como sistemas cristalinos onde os compostos podem existir em estruturas chamadas células unitárias, porém todas possuem a mesma composição elementar (BRITTAIN, 2008).

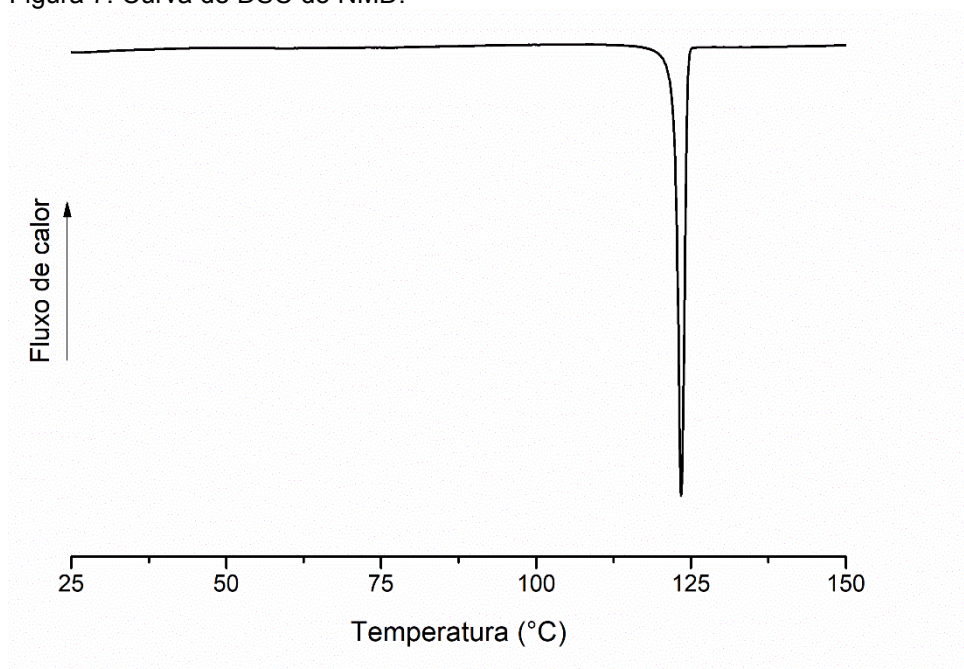
Dessa forma, nas indústrias químicas e farmacêuticas a forma polimórfica é altamente relevante e estudada no desenvolvimento, pois além dos fatores citados acima, pode influenciar a estabilidade. Há um esforço tanto por parte do setor industrial quando pelas agências regulatórias em casos de definição do melhor polimorfo. Entre os métodos mais utilizados estão: espectroscopia de ressonância magnética nuclear, difração de raio-X de pó, espectroscopia de Raman, análise termogravimétrica, DSC e FT-IR (HALEBLIAN, MCCRONE, 1969; TISHMACK, 2003; ROBERT et al, 2006).

5.1.1 DSC

Métodos de análise térmica consistem em tudo que pode detectar uma característica do sistema em função da temperatura. Entre eles, o DSC é uma das técnicas mais recomendadas, a qual permite a detecção quantitativa de processos em que a energia é requerida ou gerada (SUN et al, 2016; LEUNER, DRESSMAN, 2000).

A figura 7 mostra a curva de DSC obtida para o NMD obtido comercialmente e disponibilizada no Laboratório de Controle de Qualidade.

Figura 7. Curva de DSC do NMD.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

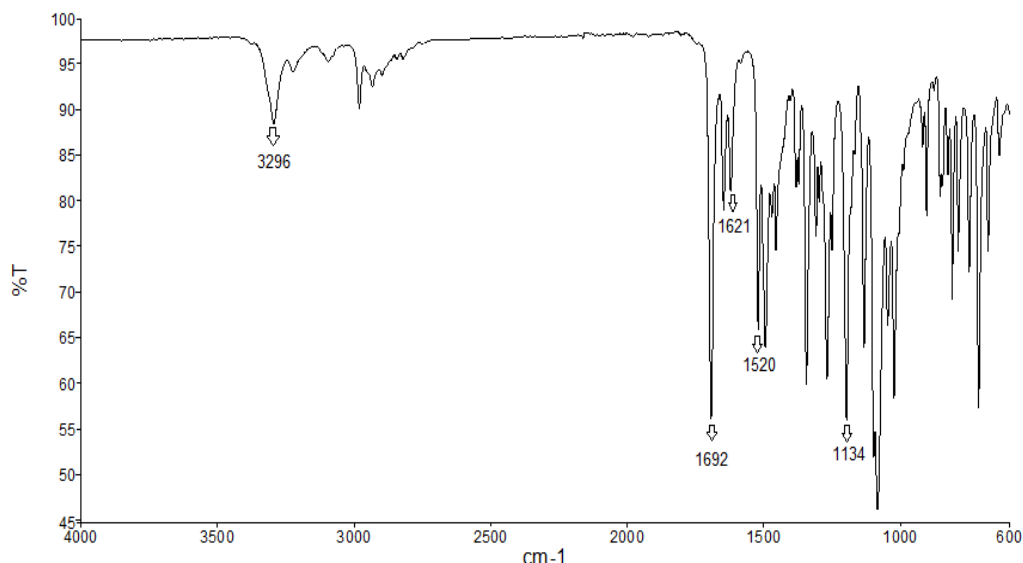
Como pode ser observado acima, a matéria-prima apresenta um único evento de fusão em 123,39 °C com calor de fusão de 98,30 J/g, relacionando então com a forma polimórfica descrita na literatura como Mod I. Ambas formas do NMD conhecidas possuem eventos de fusão distintos, uma vez que Mod I e Mod II mostram endotermas de 124 ± 1 °C e 116 ± 1 °C, respectivamente (GRUNENBERG, KEIL, HENCK, 1995. RIEKES et al, 2014).

5.1.2 FT-IR

O FT-IR é uma técnica simples e confiável, frequentemente utilizada na caracterização de materiais cristalinos. Esse método possui a capacidade de detectar a ocorrência de ligações de hidrogênio, intra ou intermolecular, o que geralmente leva a mudanças de frequência vibracional (ZHOU et al, 2016).

Através da técnica de FT-IR, a figura 8 mostra o espectro de IV obtido para o NMD.

Figura 8. Espectro FT-IR do NMD.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Conforme a imagem acima, bandas características do NMD foram detectadas, como: estiramento N-H (3292 cm^{-1}), grupamento carbonila em forma de éster C=O (1692 cm^{-1}), ligação aromática C=C (1621 cm^{-1}), $-\text{NO}_2$ (1520 cm^{-1}) e C-O (1134 cm^{-1}) (LEE et al, 2017).

Além do DSC, os polimorfos também podem ser diferenciados pela espectroscopia FT-IR. As diferenças entre as formas cristalinas do NMD são relativas à banda de estiramento N-H, enquanto para Mod I esta banda aparece em 3293 cm^{-1} , em Mod II a mesma se encontra em 3270 cm^{-1} (BARMPALEXIS, KACHRIMANIS, GEORGARAKIS, 2011). Esse resultado corrobora com o DSC, para a confirmação da identidade polimórfica do fármaco como Mod I.

5.2 DESENVOLVIMENTO DA METODOLOGIA ANALÍTICA POR CLAE

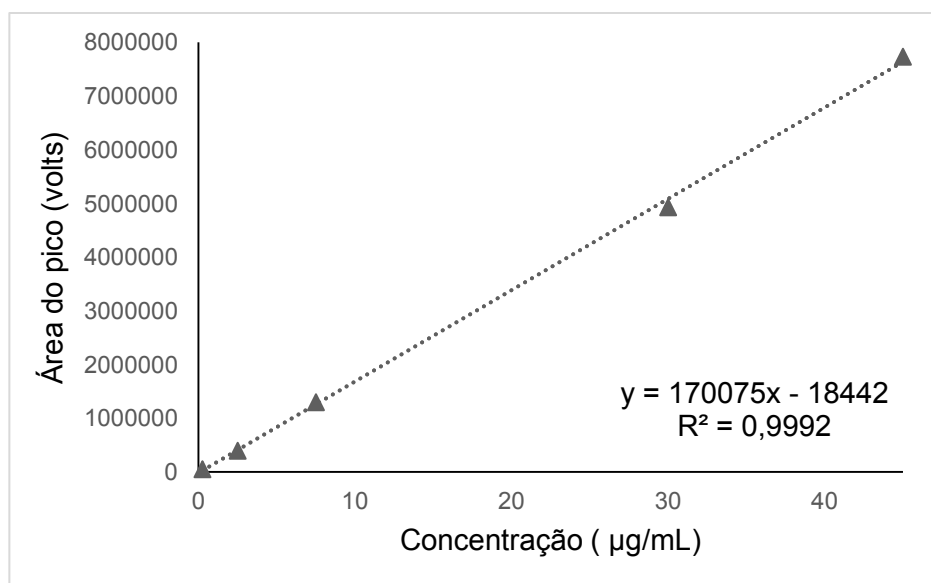
O método utilizado como base de Riekes e colaboradores (2014) foi adaptado principalmente pela questão dos solventes utilizados na fase móvel. A necessidade dessa mudança ocorreu devido ao uso de ACN, MeOH e água nas proporções de 55:11:34 (v/v/v), com um fluxo de 0,5 mL/min, o que resultava em uma análise de 20 minutos para cada amostra. Com o objetivo de otimizar a quantificação e diminuir custo, levando em consideração a quantidade de análises elevada, todos esses parâmetros sofreram alterações.

Esse ajuste foi de extrema importância para esse projeto, visto que o solvente ACN possui um valor aproximadamente 3 vezes maior do que o MeOH. Além disso, o tempo de análise foi reduzido para 12 min com o tempo de detecção do NMD em 9,6 min.

5.2.1 Linearidade, LD e LQ

A avaliação da linearidade demonstrou que o NMD apresentou uma correlação linear na faixa de 0,25 a 45 $\mu\text{g/mL}$, com um coeficiente de correlação linear superior a 0,99 ($r^2 > 0,99$). A equação da reta obtida para a reta média de calibração (Figura 9) é dada em termos de $y = ax + b$, onde x é referente à concentração em $\mu\text{g/mL}$ e y corresponde à área do pico em volts.

Figura 9. Curva de calibração média do NMD obtida por CLAE a 235 nm, com sua respectiva equação da reta e coeficiente de correlação (r^2).



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Os valores de LD e LQ foram de 0,234 e 0,708 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, garantindo a sensibilidade de quantificação do método na faixa de trabalho utilizada.

5.2.2 Especificidade

Os cromatogramas referentes às análises de soluções dos excipientes isolados não apresentaram nenhum pico correspondente ao NMD, levando em conta o tempo de retenção de aproximadamente 9,6 minutos. No entanto, nas amostras que continham o NMD isolado e em presença dos ácidos graxos, o

pico relativo ao fármaco foi detectado, com as medidas de áreas em volts demonstradas abaixo (Tabela 3).

Tabela 3. Dados referentes à especificidade do método de quantificação por CLAE.

| Amostras | Área média (volts) | Concentração média \pm desvio padrão ($\mu\text{g/mL}$) |
|-------------|--------------------|---|
| NMD isolado | 156744 | 2,06 \pm 0,21 |
| NMD em AE | 159964 | 2,10 \pm 0,10 * |
| NMD em AL | 233696 | 2,97 \pm 0,52 ** |
| NMD em AP | 158008 | 2,07 \pm 0,20 * |

(*) $p > 0,05$ | (**) $p < 0,05$

Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

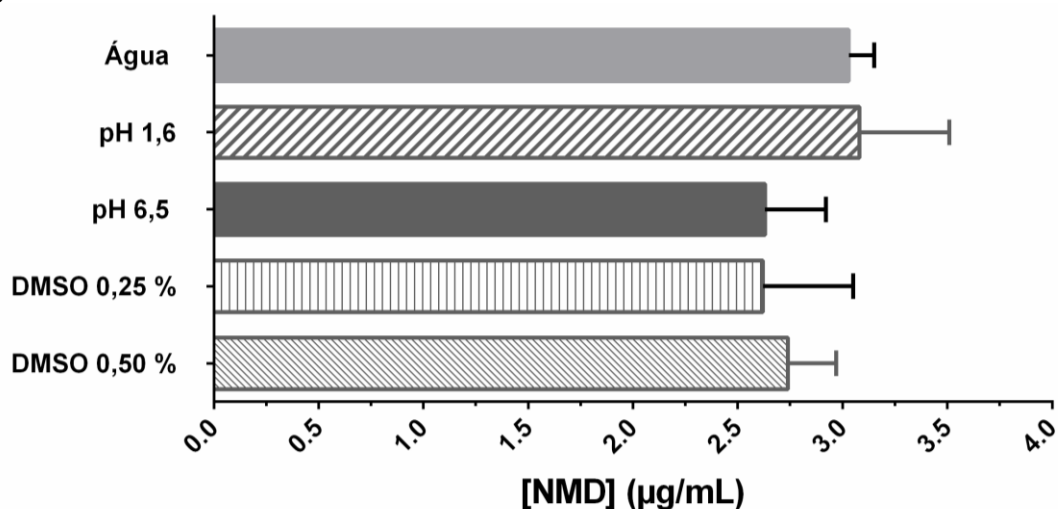
Em comparação com o NMD isolado, a quantificação do fármaco não foi afetada pelos ácidos graxos AE e AP, com uma diferença de concentração insignificantes ($p > 0,05$). Porém, observa-se que os valores para o NMD são significativamente afetados em ambiente contendo o AL ($p < 0,05$).

É importante ressaltar que nos testes contendo apenas os ácidos graxos, o fármaco não foi detectado, o que é um ponto positivo e demonstra que não houve a contaminação durante o preparo das amostras.

5.3 DETERMINAÇÃO EXPERIMENTAL DA SOLUBILIDADE DO FÁRMACO CRISTALINO

A figura 10 exhibe os valores de solubilidade obtidos para o NMD em diversos meios, como água, soluções tampão pH 6,5 e 1,6, e em DMSO 0,50 e 0,25 %.

Figura 10. Solubilidade do NMD em diferentes meios a 37°C.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

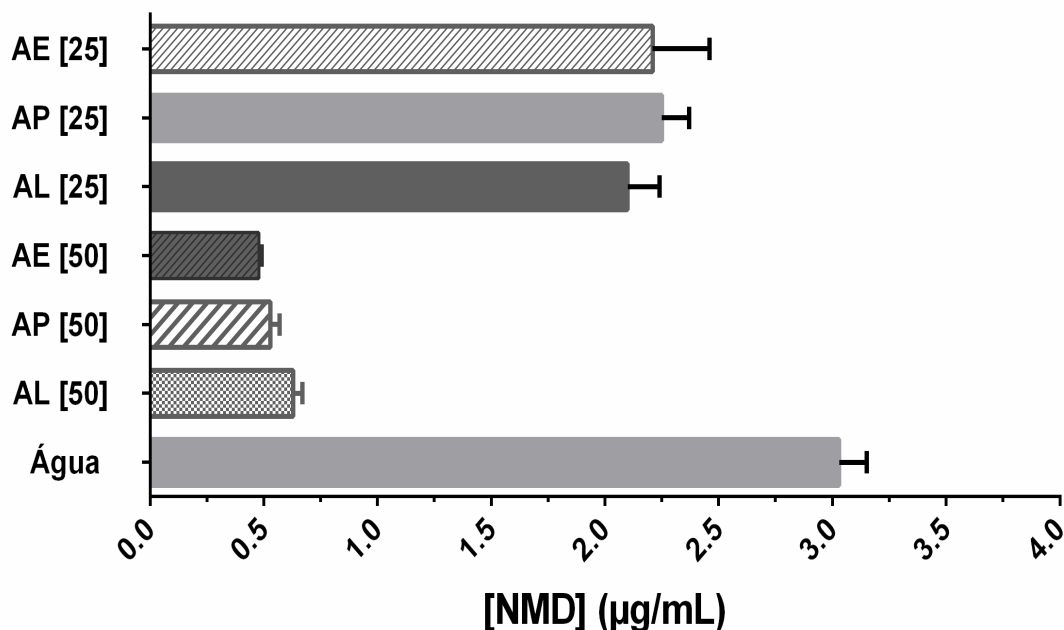
O resultado acima é referente as concentrações do composto após 24 horas de agitação até alcançar o equilíbrio, visto que não houve diferença significativa comparada aos valores de análise de 48 horas ($p > 0,05$).

A solubilidade NMD aquosa experimental ($3,03 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$) se difere da encontrada na literatura ($1,18 \mu\text{g/mL}$), e então foi utilizada como base para os procedimentos seguintes a fim de correlacionar de melhor maneira possível com as condições climáticas da presente região e com as características da amostra disponibilizada.

Para o posterior estudo de supersaturação, o método *Solvent-Shift* (SSM) foi utilizado, o qual consiste em adicionar o fármaco solubilizado em uma pequena quantidade de um solvente orgânico miscível em água no meio de análise (PINTO et al, 2018). Dessa forma, para esse ensaio foi necessário analisar o comportamento do NMD em duas concentrações de DMSO, a fim de verificar qual seria mais adequada. Ambas se mostraram bem próximas, concentrações de 0,25 e 0,50 % apresentaram valores de $2,62 \pm 0,43 \mu\text{g/mL}$ e $2,70 \pm 0,23 \mu\text{g/mL}$, respectivamente, para o NMD. A partir desses resultados, foi possível concluir que nenhuma das concentrações afetou a solubilidade aquosa do fármaco, com uma diferença não significativa para a análise feita em água (Teste t , $p > 0,05$), portanto, DMSO 0,50 % foi escolhido para os estudos de supersaturação.

Após a escolha do meio analítico, o próximo passo foi analisar a solubilidade do NMD em diferentes concentrações de excipientes, em 25 e 50 $\mu\text{g/mL}$. Para isso, primeiramente foi necessário dispersar os ácidos graxos nos meios discutidos anteriormente, o que representou uma grande dificuldade visto à alta lipofilicidade desses compostos. Desse modo, foram aquecidos até a fusão e então foi adicionado o tampão pH 6,5 sob agitação constante em temperatura ambiente, pois foi a solução que obteve o melhor desempenho para dispersar os excipientes. A figura 11 demonstra os valores experimentais de solubilidade para o NMD em meio contendo os ácidos graxos em duas concentrações em 24 horas até alcançar o equilíbrio, sem diferença significativa para a amostra coletada em 48 horas (Teste t , $p > 0,05$). Na solução de maior concentração, observou-se que havia uma maior turbidez no meio, e isso pode estar ligado à baixa de concentração de fármaco encontrada quando comparado ao meio à 25 $\mu\text{g/mL}$ ($p < 0,05$).

Figura 11. Solubilidade de equilíbrio do NMD em meios contendo os ácidos graxos em concentração de 50 e 25 µg/mL a 37 °C.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Entre os excipientes houve semelhança no efeito de solubilização do fármaco, em cada concentração utilizada, no tampão pH 6,5 ($p > 0,05$). Visto isso, o melhor desempenho foi em meio AP de menor concentração, com $2,25 \pm 0,12$ µg/mL. Todos foram distintos da água ($p < 0,05$), porém ainda se mostram a baixa solubilidade do NMD.

5.4 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS CARREADORES COMO INIBIDORES DE PRECIPITAÇÃO

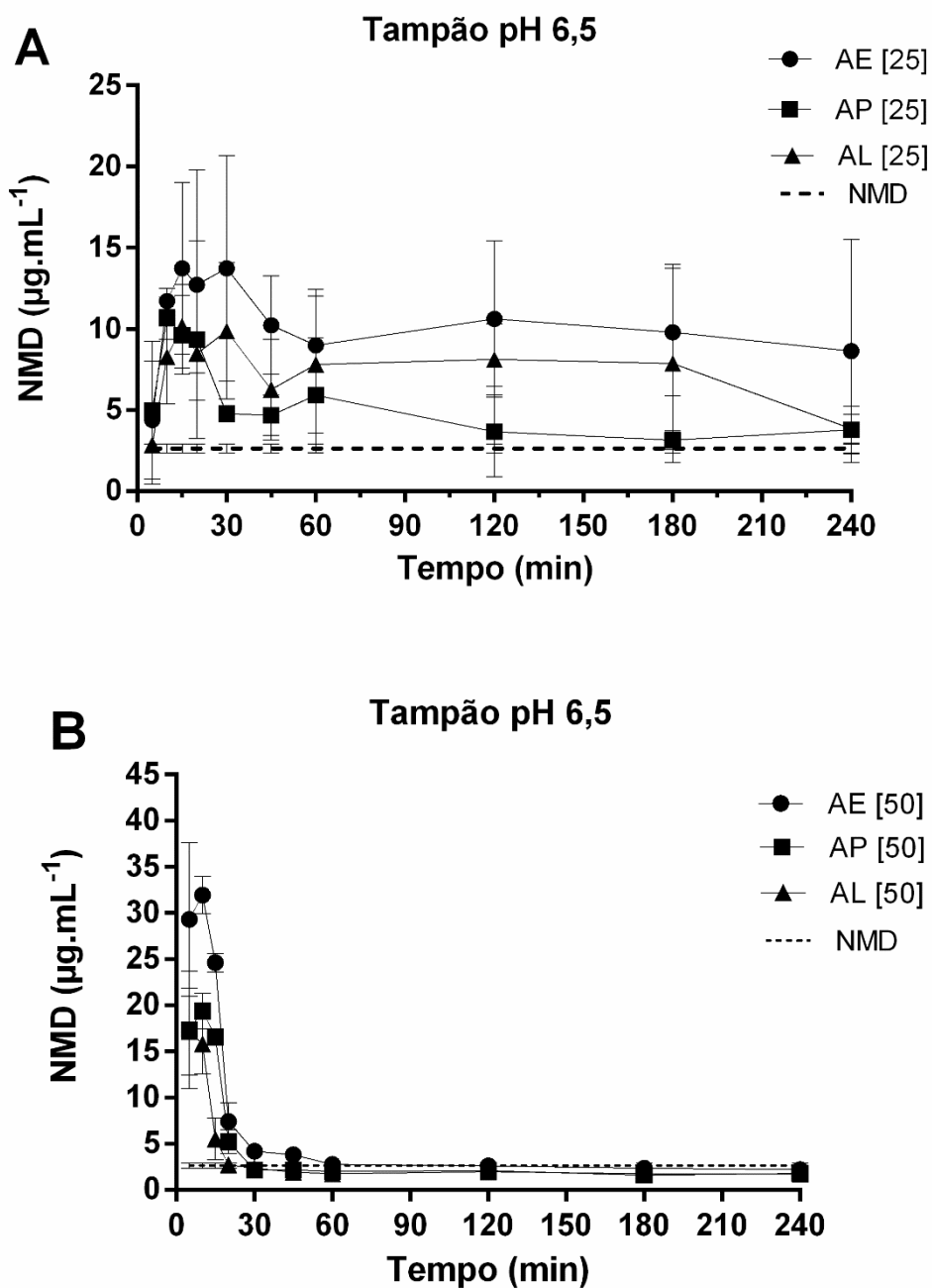
Os estudos de supersaturação foram conduzidos com os ácidos graxos dispersos em solução tampão pH 6,5 em ambas as concentrações abordadas anteriormente. Para executar o SSM, 125 µL de fármaco em DMSO, em uma concentração de 24 µg/mL, foram adicionados aos meios analíticos. Essa quantidade foi baseada na análise do desempenho do fármaco em solvente orgânico (DMSO 0,50 %) retratada no item 5.3 miscível em 25 mL de ambiente aquoso.

A avaliação de um sistema que pode causar supersaturação *in vivo* requer a adaptação do ensaio de dissolução *in vitro*. Geralmente, a condição

não *sink* é utilizada em função do volume de ensaio ser reduzido (FRANÇA, 2016; SUN, WEN, TAYLOR, 2016).

Os perfis de concentração em função do tempo do NMD nesses meios distintos estão demonstrados na figura 12.

Figura 12. Perfis de concentração versus tempo da avaliação da influência dos diferentes carreadores (AE, AP e AL) em (A) 25 e (B) 50 $\mu\text{g/mL}$ a 37°C.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Na figura 12A, em meio AE se sobressaiu quando comparado aos AP e AL, mas nenhum na concentração de 25 µg/mL atingiu a concentração máxima alcançada visualizada no procedimento de maior concentração (Figura 12B). Por outro lado, percebeu-se que todos conseguiram manter o NMD em uma concentração maior que sua solubilidade aquosa constantemente durante o tempo de análise. Em AE, o fármaco alcançou a sua concentração máxima de 13,72 µg/mL em 15 minutos e ao final dos 240 minutos, 8,63 µg/mL, com diferença significativa do NMD em tampão pH 6,5 ($p < 0,05$). Em meios AP e AL, o máximo atingido foi de 10,65 µg/mL em 10 minutos e 10,15 µg/mL em 15 minutos, respectivamente. Após 180 minutos, o NMD não se difere significativamente da sua solubilidade em tampão pH 6,5 nos meios com AP e AL ($p > 0,05$). Notou-se a presença de precipitado branco durante esse experimento, principalmente após 60 minutos.

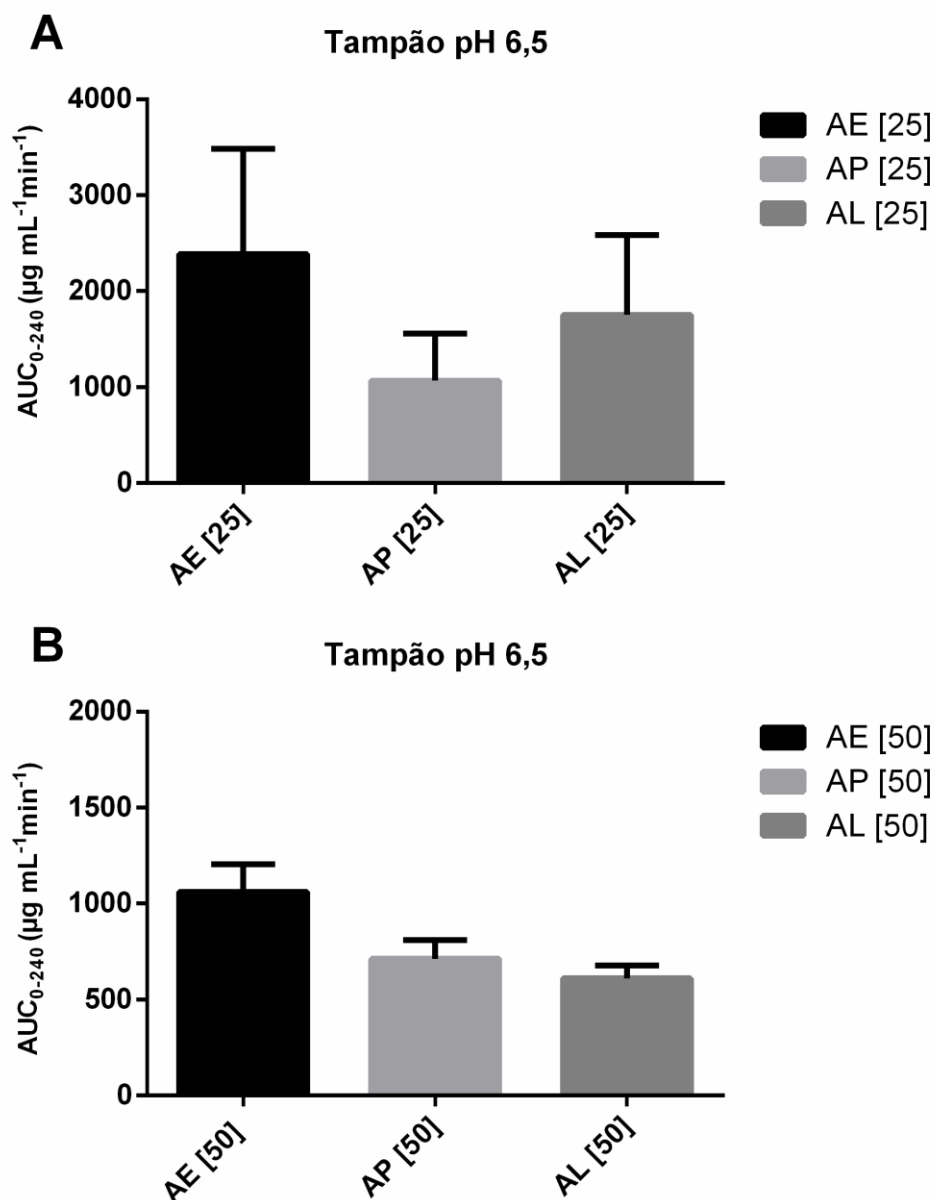
Na figura 12B, também é possível observar que o melhor desempenho foi do meio AE, atingindo 31,92 µg/mL em 10 minutos, quando comparado com os AP e AL, com 19,36 e 15,80 µg/mL, respectivamente, no mesmo tempo de análise. Após 30 minutos de agitação, as concentrações em AP e AL não eram significativamente diferentes da solubilidade aquosa do NMD ($p > 0,05$). Para o AE, foram necessários 60 minutos até atingir essa diferença. A partir disso, os excipientes tiveram comportamentos semelhantes e não conseguiram manter um ambiente de alta de concentração do fármaco. Durante o procedimento, percebeu-se que no início o meio estava com uma certa opacidade, devido aos ácidos graxos, e ao longo dos 240 minutos também haviam precipitados brancos, o que pode sinalizar que o NMD não estava mais em solução.

Na figura 13, estão apresentados os resultados de (AUC) referente aos gráficos acima (figura 12), a qual representa uma medida geral da extensão da supersaturação, levando em conta tanto o grau como a duração de supersaturação (FRANÇA, 2016).

A maior área visualizada entre todos foi do meio AE em 25 µg/mL, com uma AUC de 2389 µg.min.mL⁻¹, em contraste, a menor área exibida foi do AL em 50 µg/mL, com AUC de 610 µg.min.mL⁻¹. Na figura 13A, todos os resultados demonstram semelhança entre eles ($p > 0,05$), ou seja, tiveram comportamentos proporcionais durante o estudo de supersaturação. Por outro lado, na figura 13B houve diferença significativa entre o meio contendo AE,

com os de AP e AL ($p < 0,05$), pois apresentou uma AUC representativamente maior que ambos.

Figura 13. Dados de AUC do estudo de supersaturação do NMD em ácidos graxos nas concentrações de (A) 25 e (B) 50 $\mu\text{g/mL}$ a 37 °C.



Fonte: Elaborado pela autora, 2019.

Embora o fármaco não tenha se mantido em alta concentração considerável durante os estudos de supersaturação, acredita-se que o resultado não esteja muito distante do que está sendo feito por outros grupos de pesquisa com o NMD. Por exemplo, Sun e colaboradores (2016)

recentemente publicaram um estudo com o NMD associado com polímeros na forma de dispersões sólidas e a solubilidade apresentada foi de aproximadamente 35 µg/mL em meio aquoso na presença do surfactante lauril sulfato de sódio 0,05 % em pH 4,5 (SUN et al, 2016).

6. CONCLUSÃO

A caracterização do estado sólido foi realizada através das técnicas analíticas DSC e FT-IR, as quais permitiram diferenciar os dois polimorfos de NMD, confirmando então a identidade do Mod I, o qual foi obtido comercialmente no mercado brasileiro. Essa análise forneceu informações importantes sobre a qualidade de armazenamento da matéria-prima, visto que é um produto fotossensível, e por isso pode apresentar problemas de estabilidade ao longo do tempo.

O desenvolvimento da metodologia por CLAE e a adaptação feita com o princípio de ser mais vantajosa analiticamente e financeiramente foi alcançada com sucesso. O MeOH é um solvente muito mais viável para compra e ao longo do extenso número de análises feitas para essa e outras pesquisas futuras. O método se mostrou linear em uma ampla faixa de aceitação e também específico para o NMD em meios contendo os ácidos graxos utilizados.

A solubilidade experimental do NMD foi determinada em diferentes meios de solução, como soluções tampão, água e em solvente orgânico, o DMSO. Além disso, também foi avaliada em ambiente contendo os excipientes em duas concentrações. Dessa maneira, a baixa solubilidade do fármaco foi demonstrada e a necessidade de um sistema de liberação se faz necessária.

Quanto à avaliação dos ácidos graxos AE, AP e AL como inibidores de precipitação, foi observado uma diferença significativa entre o NMD isolado em tampão pH 6,5. No entanto, espera-se um aprofundamento na pesquisa sobre as possibilidades que as LBFs podem proporcionar, para a obtenção de um resultado ainda mais promissor, que possa alcançar ou superar o que já é relatado na literatura, como as dispersões sólidas.

REFERÊNCIAS

- ADINARAYANA, G., RAJEDRAN, A., RAO, N.K. Preparation and in vitro evaluation of solid dispersions of nimodipine using PEG 4000 and PVP K30. **Journal of Pharmaceutical Research and Health Care**, v. 2, p. 163-169, 2010.
- ALMEIDA E SOUSA, L. *et al.* Supersaturation Potential of Salt, Co-Crystal, and Amorphous Forms of a Model Weak Base. **Crystal Growth & Design**, v. 16, n. 2, p. 737–748, 2016.
- ALSKÄR, L. C. *et al.* Effect of lipids on absorption of carvedilol in dogs: Is coadministration of lipids as efficient as a lipid-based formulation?. **Journal Of Controlled Release**, [s.l.], v. 304, p.90-100, 2019.
- ALSKÄR, L.C. *et al.* Impact of Drug Physicochemical Properties on Lipolysis Triggered Drug Supersaturation and Precipitation from Lipid-Based Formulations. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, p. 4733-4744, 2018.
- AMIDON, G. L. *et al.* A Theoretical Basis for a Biopharmaceutic Drug Classification: The Correlation of in Vitro Drug Product Dissolution and in Vivo Bioavailability Pharmaceutical Research: **An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, 1995.
- ANSARI, M. A. *et al.* Effects of nimodipine, vinpocetine and their combination on isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [s.l.], v. 109, p.1372-1380, 2019.
- ANVISA. Plataforma de Consultas: Nimodipino. Disponível em: <https://consultas.anvisa.gov.br/>. Acesso em: 11 nov. 2019.
- BARMPALEXIS, P.; KACHRIMANIS, K.; GEORGARAKIS, E. Solid dispersions in the development of a nimodipine floating tablet formulation and optimization by artificial neural networks and genetic programming. **European Journal Of Pharmaceutics And Biopharmaceutics**, [s.l.], v. 77, n. 1, p.122-131, 2011.
- BEVERNAGE, J. *et al.* Supersaturation in human gastric fluids. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 1, p. 184–189, 2012.
- BRASIL, VI Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Revista Brasileira de Hipertensão*, v. 17, p. 9-69, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Hipertensão afeta um a cada quatro adultos no Brasil**. 2019. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/noticias/saude/2019/04/hipertensao-afeta-um-a-cada-quatro-adultos-no-brasil>. Acesso em: 22 jun. 2019.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. **Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: RENAME**

2018. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. 218 p. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/assistencia-farmaceutica/medicamentos-rename>. Acesso em: 22 jun. 2019.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Informação e Análise Epidemiológica. **Principais Causas de Morte**. 2016. Disponível em: <http://svs.aids.gov.br/dantps/centrais-de-conteudos/paineis-de-monitoramento/mortalidade/gbd-brasil/principais-causas/>. Acesso em: 23 jun. 2019.

BRITAIN, H.G. Polymorphism and solvatomorphism. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 98, p. 1617-1642, 2008.

BROUWERS, J., BREWSTER, M. E., AUGUSTIJNS, P. Supersaturating drug delivery systems: The answer to solubility-limited oral bioavailability? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2009.

CUFFINI, S.L. *et al.* Polymorphism and pseudopolymorphism in pharmaceutical drugs. In: SARX2002 (VII SEMINÁRIO LATINO-AMERICANO DE ANÁLISES POR TÉCNICAS DE RAIOS X), 2002, Nova Fraiburgo, Rio de Janeiro, Brasil, **Resumos. VII Seminário Latino-Americano de Análises por Técnicas de Raios X**, p. 75, 2001.

DAHAN, A. *et al.* The solubility–permeability interplay and oral drug formulation design: Two heads are better than one. **Advanced Drug Delivery Reviews**, [s. l.], v. 101, p. 99–107, 2016.

DAS, J.M.; ZITO, P.M. Nimodipine. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK534870/>. Acesso em 10 nov. 2019.

DITZINGER, F. *et al.* Lipophilicity and hydrophobicity considerations in bio-enabling oral formulations approaches – a PEARL review. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 71, 464–482, 2019.

ESPÍRITO SANTO. Secretaria de Estado da Saúde do Espírito Santo. Secretaria de Saúde. **Abordagem aos Pacientes com Acidente Vascular Cerebral: Protocolo Clínico**. Espírito Santo: 2018. 93 p. Disponível em: <https://saude.es.gov.br/Media/sesa/Consulta%20P%C3%BAblica/Protocolo%20de%20Acidente%20Vascular%20Cerebral%20ATUALIZADO%20Agosto%202018.pdf>. Acesso em: 22 jun. 2019.

FEENEY, O. M. *et al.* 50 years of oral lipid-based formulations : Provenance, progress and future perspectives. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, 167–194, 2016.

FRANÇA, M.T. **Planejamento e desenvolvimento de dispersões sólidas pela técnica de spray drying utilizando o fármaco modelo clortalidona**. 2016. 165 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

FRANÇA, M.T., MARCOS, T. M., STULZER, H.K. A aplicação de aminoácidos em sistemas amorfos como estratégia tecnológica para aumentar a dissolução do fármaco griseofulvina. Poster apresentado em: III Simpósio do Programa de Pós-graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina, 2018, Florianópolis, SC.

GILYAR, C.; FIKSTAD, S.; TYAVANAGIMATT, S. Challenges and opportunities in oral delivery of poorly water-soluble drugs, **Drug Deliv. Technol.** v. 6, p. 57–63, 2006.

GRUNENBERG, A.; KEIL, B.; HENCK, J.O. Polymorphism in binary mixtures, as exemplified by nimodipine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 118, p. 11-21, 1995.

GÚZMAN, H.R. *et al.* Combined use of crystalline salt forms and precipitation inhibitors to improve oral absorption of celecoxib from solid oral formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, p. 2686-2702, 2007.

HALEBIAN, J.K.; MCCRONE, W. Pharmaceutical applications of polymorphism, **J. Pharm. Sci.**, v. 58, p. 911-929, 1969.

HOLM, R. Bridging the gaps between academic research and industrial product developments of lipid-based formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**. Article in press, 2019.

KAWAKAMI, K. Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 480-495, 2012.

KERNS, E. H.; DI, L. Chapter 7. Solubility. In: Drug Like Properties: Concept, Structure, Design and Methods, from ADME to Toxicity Optimization. [s.l.: s.n.]. KUENTZ, M. Drug supersaturation during formulation digestion , including real-time analytical approaches. **Advanced Drug Delivery Reviews**. Article in press, 2018.

KUENTZ, M. Lipid-bases formulations for oral delivery of lipophilic drugs. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 9, p. 97-104, 2012.

LEE, H. *et al.* Controlled-release oral dosage forms containing nimodipine solid dispersion and hydrophilic carriers. **Journal Of Drug Delivery Science And Technology**, [s.l.], v. 37, p.28-37, 2017.

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

LIPINSKI, C.A. *et al.* Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings, **Adv. Drug Deliv. Rev.** 64 p. 4–17, 2012.

LIPINSKI, C. A. Lead- and drug-like compounds: the rule-of-five revolution. **Drug Discovery Today: Technologies**, [s.l.], v. 1, n. 4, p.337-341, 2004.

NETZ, P. A.; ORTEGA, G. G. **Fundamentos de Físico-Química: Uma Abordagem Conceitual para as Ciências Farmacêuticas**. [s.l.] Artmed Editora, 2002.

NGUYEN, H. Bioequivalence reviews: ANDA 76. Division of bioequivalence review, **U.S. Food and Drug Administration**, Silver Springs, 2004.

PINTO, J. M. O. *et al.* HPMCAS as an effective precipitation inhibitor in amorphous solid dispersions of the poorly soluble drug candesartan cilexetil. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 184, p.199-206, 2018.

POUTON, C. W. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, p. S93-S98, 2000.

PRATAP, R., GANGADHARAPPA, H. V, & MRUTHUNJAYA, K. Unique carriers for drug delivery systems. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 39, p. 166–179, 2017.

Pubchem database: Nimodipine. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4497>. Acesso em: 11 nov. 2019.

PUI, Y. *et al.* Maintaining Supersaturation of Nimodipine by PVP with or without the Presence of Sodium Lauryl Sulfate and Sodium Taurocholate. **Molecular Pharmaceutics**, v. 15, p. 2754–2763, 2018.

REITZ, C., KLEINEBUDDE, P. Solid lipid extrusion of sustained release dosage forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 440-448, 2007.

RIEKES, M. *et al.* HPMC as a potential enhancer of nimodipine biopharmaceutical properties via ball-milled solid dispersions. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 99, p.474-482, 2014.

RIEKES, M. K. **Nimodipino: do polimorfismo à obtenção de dispersões sólidas amorfas destinadas ao tratamento da hipertensão arterial**. 2013. 284 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós Graduação em Farmácia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

ROBERT, T.B. *et al.* Solid state NMR spectroscopy in pharmaceutical research and analysis. **Trends Anal. Chem.**, v. 25, p. 977-984, 2006.

SAVLA, R. et al. Review and analysis of FDA approved drugs using lipid-based formulations. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, p. 1743-1758, 2017.

STILLHART, C., & KUENTZ, M. Trends in the Assessment of Drug Supersaturation and Precipitation In Vitro Using Lipid-Based Delivery Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 2468-2476, 2016.

SUN, D. D.; WEN, H.; TAYLOR, L. S. Non-Sink Dissolution Conditions for Predicting Product Quality and In Vivo Performance of Supersaturating Drug Delivery Systems. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2016.

SUN, M. *et al.* Solvent-shift strategy to identify suitable polymers to inhibit humidity-induced solid-state crystallization of lacidipine amorphous solid dispersions. **International Journal Of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 503, n. 1-2, p.238-246, 2016.

SWEETMAN, S. C. **The complete drug reference**. Pharmaceutical Press, Londres, p. 1357-1358, 2009.

TAYLOR, L. S.; ZHANG, G. G. Z. Physical chemistry of supersaturated solutions and implications for oral absorption. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 101, p. 122–142, 1 jun. 2016.

TISHMACK, P.A. Solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy pharmaceutical applications, **J. Pharm. Sci**, v. 92, p. 441-474, 2003.

USP. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **Solubility Measurements**. 34 ed. United States Pharmacopeial Convention: Rockville, 2011.

VERVAECK, A. *et al.* Fatty acids for controlled release applications : A comparison between prilling and solid lipid extrusion as manufacturing techniques. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 97, p. 173–184, 2015.

WARREN, D. B. *et al.* Using polymeric precipitation inhibitors to improve the absorption of poorly water-soluble drugs: A mechanistic basis for utility. **Journal of Drug Targeting**, v. 18, p. 704-731, 2010.

WEBSTER, G. K.; JACKSON, J. D.; BELL, R. G. **Poorly Soluble Drugs: Solution and Drug Release**. [s.l.] : Pan Stanford Publishing, 2017.

WILLIAMS, H.D. *et al.* Lipid based formulations and drug supersaturation: harnessing the unique benefits of the lipid digestion/absorption pathway. **Pharmaceutical Research**, v. 30, p. 2976-2992, 2013.

WILLIAMS, R. O.; WATTS, A. B.; MILLER, D. A. Formulating Poorly Water Soluble Drugs. 2. ed. [s.l.]: **AAPS Press**, 2016.

WILSON, V. *et al.* Relationship between amorphous solid dispersion In Vivo absorption and In Vitro dissolution: phase behavior during dissolution, speciation, and membrane mass transport. **Journal of Controlled Release**, v. 292, p. 172–182, 2018.

YEAP, Y.Y. *et al.* Intestinal mucus capable of stabilizing supersaturation of poorly water-soluble drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 296, p. 107-113, 2019.

ZHANG, Q. *et al.* Effect of HPMCAS on recrystallization inhibition of nimodipine solid dispersions prepared by hot-melt extrusion and dissolution enhancement of nimodipine tablets. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 172, p.118-126, 2018.

ZHOU, Z. *et al.* Resveratrol cocrystals with enhanced solubility and tableability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 509, p. 391-399, 2016.