



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**GUSTAVO PARREIRA ARAÚJO**

---

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS AUTOEMULSIONÁVEIS SÓLIDOS  
CONTENDO CARVEDIOL POR GRANULAÇÃO DE ALTO  
CISALHAMENTO**

---

**Goiânia  
2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese

#### 2. Nome completo do autor

Gustavo Parreira Araújo

#### 3. Título do trabalho

Desenvolvimento de sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo carvedilol por granulação de alto cisalhamento

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

- a) consulta ao(a) autor(a) e ao(a) orientador(a);
  - b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.
- O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **GUSTAVO PARREIRA ARAÚJO, Discente**, em 04/05/2020, às 10:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Neves Marreto, Diretor Substituto**, em 04/05/2020, às 10:52, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do



[Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.](#)



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site  
[https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1308483** e o código CRC **B52FCA4A**.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação     Tese     Outro\*: \_\_\_\_\_

\*No caso de mestrado/doutorado profissional, indique o formato do Trabalho de Conclusão de Curso, permitido no documento de área, correspondente ao programa de pós-graduação, orientado pela legislação vigente da CAPES.

Exemplos: Estudo de caso ou Revisão sistemática ou outros formatos.

#### 2. Nome completo do autor

Gustavo Parreira Araújo

#### 3. Título do trabalho

Desenvolvimento de sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo carvedilol por granulação de alto cisalhamento

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM     NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

**a)** consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

**b)** novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação. O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **GUSTAVO PARREIRA ARAÚJO, Discente**, em 20/10/2022, às 09:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Neves Marreto, Professor do Magistério Superior**, em 20/10/2022, às 09:16, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no § 3º do art. 4º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **3277788** e o código CRC **FEEFCE2D**.

---

**GUSTAVO PARREIRA ARAÚJO**

---

**DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS AUTOEMULSIONÁVEIS SÓLIDOS  
CONTENDO CARVEDILOL POR GRANULAÇÃO DE ALTO  
CISALHAMENTO**

---

**Dissertação de Mestrado apresentada ao  
Programa de Pós-Graduação em Ciências  
Farmacêuticas da Universidade Federal de  
Goiás para obtenção do Título de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas.**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto**

**Goiânia  
2020**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Araújo, Gustavo Parreira

Desenvolvimento de sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo carvedilol por granulação de alto cisalhamento [manuscrito] / Gustavo Parreira Araújo. - 2020.

xxii, 106 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Goiânia, 2020.

Bibliografia. Anexos.

Inclui siglas, abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Sistemas autoemulsionáveis de liberação de fármaco. 2. Carvedilol. 3. Granulador de alto cisalhamento. 4. Óleo de ricino. I. Marreto, Ricardo Neves, orient. II. Título.

CDU 615.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

Ata nº 19 da sessão de Defesa de Dissertação de **Gustavo Parreira Araújo**, que confere o título de Mestre em Ciências Farmacêuticas, na área de concentração em Fármacos e Medicamentos.

Aos trinta e um dias do mês de março de dois mil e vinte, a partir das 09:00 horas, na sala de webconferência da Faculdade de Farmácia, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Desenvolvimento de sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo carvedilol por granulação de alto cisalhamento”. Os trabalhos foram instalados pelo Orientador, Professor Doutor **Ricardo Neves Marreto (FF/UFG)** - cuja participação ocorreu através de videoconferência, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora **Stephânia Fleury Taveira (FF/UFG)** - cuja participação ocorreu através de videoconferência, membro titular interno; Professora Doutora **Ana Carolina Kogawa (FF/UFG)**, membro titular externo. Durante a arguição os membros da banca não fizeram sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido o candidato aprovado pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo Professor Doutor **Ricardo Neves Marreto (FF/UFG)**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos trinta e um dias do mês de março de dois mil e vinte.



Documento assinado eletronicamente por **Stephania Fleury Taveira, Professor do Magistério Superior**, em 31/03/2020, às 11:37, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ana Carolina Kogawa, Professora do Magistério Superior**, em 31/03/2020, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Neves Marreto, Diretor Substituto**, em 31/03/2020, às 11:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1256196** e o código CRC **C3362708**.

Referência: Processo nº 23070.014607/2020-09

SEI nº 1256196



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Coordenador do Programa de Pós-Graduação**

Prof. Dr. Eric de Souza Gil

**Vice-Coordenador do Programa de Pós-Graduação**

Prof. Dr. Matheus Lavorenti Rocha

**Goiânia-GO  
2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**BANCA EXAMINADORA**

**Aluno: Gustavo Parreira Araújo**

**Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto**

**Ricardo Neves Marreto / Presidente**

Professor Associado da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,  
FF/UFG.

**Stephânia Fleury Taveira / Membro Titular**

Professora Adjunta da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,  
FF/UFG.

**Ana Carolina Kogawa / Membro Titular**

Professora Adjunta da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás,  
FF/UFG.

**Lígia Marques Andrade / Membro Suplente**

Doutora em Ciências da Saúde - Universidade Federal de Goiás.

**Data: 31/03/2020**

*À minha amada mãe Edileide, que me deu uma vida, uma história e grandes vitórias. Sem você nada faria sentido. Obrigado por tornar esses dias mais leves e cheios de amor.*

*À minha querida avó Leontina, pelo amor, carinho e cuidado.*

*À Deus, meu tudo.*

## AGRADECIMENTOS

---

À Deus, Senhor da minha vida, por me conduzir passo a passo. À Ele toda a honra e glória.

À minha querida mãe Edileide, pelo amor incondicional, compreensão, paciência e apoio.

Você tem sido minha professora mais importante, a razão por quem eu sou hoje. Agradeço todas as abdições que fez em meu favor ao longo da vida.

Ao Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto, pela confiança, apoio, dedicação e paciência.

À Prof. Dra. Stephânia Fleury Taveira, por todas as contribuições neste trabalho.

À Ashland do Brasil, em especial a Daniela e Karina pela parceria, dedicação e trabalho em equipe, que foram essenciais para a conclusão de tudo.

À minha grande amiga Maysa, pelas palavras de afirmação e motivação. Você foi fundamental como ombro amigo nos momentos mais difíceis. Obrigado por sempre acreditar e torcer por mim.

À minhas grandes amigas Simone e Jéssica Galvão o poio de vocês é a prova de que o tempo e a distância não apagam verdadeiras amizades. Vocês são presentes de Deus na minha vida.

A todos os meus familiares, pela torcida e orações.

A todos os meus companheiros do NanoSYS pela discussão e solução dos mais variados desafios, e principalmente pelo companheirismo, palavras de conforto e socorro de todas as horas.

À Fernanda Bellato, por estar sempre pronta e disposta a ajudar em tudo o que foi necessário. Você é uma pessoa maravilhosa.

Obrigado a todos.

“Sim, tenho o que os homens consideram responsabilidades.  
Mas somente aquelas que me foram dadas por Deus são verdadeiramente minhas.  
E não são propriamente responsabilidades; são oportunidades.  
Oportunidades para servir e para agradar aquele que é, sozinho, tudo o que preciso.  
E, por sua graça, cada vez mais,  
Tudo que eu desejo”.

(Ron Marr)

---

<b>FIGURAS</b> .....	<b>XV</b>
<b>TABELAS</b> .....	<b>XVI</b>
<b>QUADROS</b> .....	<b>XVII</b>
<b>SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS</b> .....	<b>XVIII</b>
<b>RESUMO</b> .....	<b>XIX</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XXI</b>
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>23</b>
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>25</b>
2.1. Solubilidade dos fármacos .....	25
2.2. Carvedilol (CARV).....	26
2.3. Sistemas lipídicos .....	27
2.4. Sistemas autoemulsionáveis (SEDDS) .....	28
2.4.1. <i>Sistemas autoemulsionáveis líquidos contendo CARV</i> .....	31
2.5. Solidificação de sistemas autoemulsionáveis (S-SEDDS).....	32
2.5.1. <i>Sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo CARV</i> .....	36
2.6. Granulação de alto cisalhamento .....	37
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>42</b>
3.1. Objetivo geral.....	42
3.2. Objetivos específicos .....	42
<b>4 MATERIAIS</b> .....	<b>43</b>
4.1. Substâncias e reagentes.....	43
4.2. Equipamentos e utensílios diversos .....	43
<b>5 MÉTODOS</b> .....	<b>45</b>
5.1. Desenvolvimento do método analítico para quantificação do CARV por espectrofotometria UV/Vis.....	45
5.1.1. <i>Linearidade</i> .....	45
5.1.2. <i>Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)</i> .....	45
5.1.3. <i>Precisão e Exatidão</i> .....	45
5.1.4. <i>Seletividade</i> .....	46

---

5.2. Obtenção e caracterização dos L-SEDDS .....	46
5.2.1. Obtenção dos L- SEDDS .....	46
5.2.2. Avaliação da propriedade autoemulsionante dos L-SEDDS.....	47
5.2.3. Estudo de solubilidade do carvedilol nos L-SEDDS .....	47
5.2.4. Estudo de estabilidade do L-SEDDS contendo CARV.....	47
5.3. Obtenção de S-SEDDS em granulador de alto cisalhamento .....	48
5.4. Caracterização dos S-SEDDS .....	50
5.4.1. Determinação do Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner .	50
5.4.2. Determinação da granulometria dos pós .....	51
5.4.3. Determinação das propriedades autoemulsionantes e tamanho da gotícula da emulsão .....	52
5.4.4. Determinação do teor de CARV nos S-SEDDS.....	52
5.4.5. Teste de dissolução <i>in vitro</i> .....	52
5.4.6. Difração de raios-X .....	53
5.4.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	54
5.5. Análise estatística .....	54
<b>6 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>55</b>
6.1. Quantificação do CARV por espectrofotometria UV/Vis .....	55
6.1.1. Linearidade .....	55
6.1.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD).....	55
6.1.3. Precisão e Exatidão .....	56
6.1.4. Seletividade .....	57
6.2. Obtenção e caracterização dos L-SEDDS .....	57
6.2.1. Obtenção dos L-SEDDS .....	57
6.2.2. Avaliação da propriedade autoemulsionante dos L-SEDDS.....	58
6.2.3. Estudo de solubilidade do carvedilol nos L-SEDDS .....	61
6.2.4. Estudo de estabilidade do L-SEDDS contendo CARV.....	64
6.3. Obtenção e caracterização dos S-SEDDS por granulação de alto cisalhamento ...	65
6.3.1. Determinação do Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner .	66
6.3.2. Determinação da granulometria dos pós .....	70
6.3.3. Determinação das propriedades autoemulsionantes e tamanho da gotícula da emulsão .....	72
6.3.4. Determinação do teor de CARV nos S-SEDDS.....	73
6.3.5. Teste de dissolução <i>in vitro</i> .....	74
6.3.6. Difração de raios-X (DRX).....	81
6.3.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	82
<b>7 CONCLUSÕES.....</b>	<b>84</b>

<b>8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>85</b>
<b>9 ANEXO I .....</b>	<b>93</b>
Aspecto visual dos L-SEDDS diluídos em soluções de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8).....	93
<b>10 ANEXO II .....</b>	<b>95</b>
Distribuição granulométrica dos S-SEDDS obtidos a partir da matriz de planejamento de mistura combinado. ....	95
<b>11 ANEXO III .....</b>	<b>96</b>
Dissolução <i>in vitro</i> (pH 1,2) das formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas. ....	96
Dissolução <i>in vitro</i> (pH 6,8) das formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas. ....	98
<b>12 ANEXO IV .....</b>	<b>100</b>
Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV) do CARV e dos excipientes isolados, bem como das 25 formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado obtidas a partir da granulação de alto cisalhamento.....	100

---

<b>Figura 1.</b> Estrutura molecular plana do carvedilol (CARV). .....	26
<b>Figura 2.</b> Digestão lipídica e solubilização de fármacos (D) no estômago e intestino delgado. ....	28
<b>Figura 3.</b> Esquema das diferentes etapas do mecanismo de granulação durante o processo de granulação úmida. ....	38
<b>Figura 4.</b> Imagem esquemática do granulador de alto cisalhamento e suas partes constituintes. ....	39
<b>Figura 5.</b> Granulador de alto cisalhamento empregado na obtenção dos S-SEDDS. ....	48
<b>Figura 6.</b> Curva analítica obtida pela análise espectrofotométrica de soluções de CARV no intervalo de 0,5 a 8 µg/mL. Diluente: metanol. Comprimento de onda: 242 nm. ....	55
<b>Figura 7.</b> Aspecto visual dos L-SEDDS após 24 h de repouso. ....	57
<b>Figura 8.</b> Aspecto visual dos L-SEDDS diluídos em soluções de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8). ....	59
<b>Figura 9.</b> Solubilidade do CARV nas diferentes formulações. ....	63
<b>Figura 10.</b> Aspecto visual do S-SEDDS após granulação em alto cisalhamento (Formulação 9). ....	66
<b>Figura 11.</b> Distribuição granulométrica de S-SEDDS selecionados obtidos a partir da Matriz de planejamento de mistura combinado (Tabela 3). ....	70
<b>Figura 12.</b> Porcentagem de partículas menores que 63 µm nos S-SEDDS. ....	71
<b>Figura 13.</b> Distribuição, por intensidade, no tamanho das gotículas após redispersão de S-SEDDS em solução de HCl (1:250) .....	72
<b>Figura 14.</b> Dissolução in vitro de formulações S-SEDDS selecionadas. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas. ....	75
<b>Figura 15.</b> Difractogramas de raios X das formulações F16 e F17, das misturas físicas com e sem componente líquido e do CARV puro. ....	81
<b>Figura 16.</b> Fotomicrografias eletrônicas de varredura de formulações selecionadas. ....	83

<b>Tabela 1.</b> Composição das formulações autoemulsionáveis líquidas. ....	46
<b>Tabela 2.</b> Variáveis estudadas e seus níveis no planejamento de mistura combinado. ....	49
<b>Tabela 3.</b> Matriz de planejamento de mistura combinado. ....	50
<b>Tabela 4.</b> Formulações preparadas por mistura física para análise de difração de raios-X. ....	54
<b>Tabela 5.</b> Limite de Quantificação e Limite de Detecção do CARV para o método analítico. ....	55
<b>Tabela 6.</b> Precisão do método analítico para a quantificação do CARV. ....	56
<b>Tabela 7.</b> Exatidão do método analítico para a quantificação do CARV. ....	56
<b>Tabela 8.</b> Diâmetro médio e índice de polidispersividade (Pdl) nos diferentes L-SEDDS dispersos em solução de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8). ....	60
<b>Tabela 9.</b> Resultados das análises de estabilidade do L-SEDDS ST (1:3) em três condições de armazenamento (4°C, 25°C e 40°C). ....	65
<b>Tabela 10.</b> Ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner para os S-SEDDS descritos na Tabela 3. ....	68
<b>Tabela 11.</b> Resultado das análises de teor nos S-SEDDS. ....	74
<b>Tabela 12.</b> Dissolução de CARV (%) após 2,5 min (pH 1,2 e 6,8), 60 min (pH 1,2) e 120 min (pH 6,8) de análise a partir dos S-SEDDS. Dados de liberação a partir da formulação líquida (ST 1:3) e do CARV puro também estão apresentados. ....	77

<b>Quadro 1.</b> Composição do óleo de rícino.....	29
<b>Quadro 2.</b> Comparação de parâmetros de processo e propriedades de grânulos entre as técnicas de granulação de alto cisalhamento e outros métodos de granulação.....	38
<b>Quadro 3.</b> Parâmetros farmacopeicos para caracterização de fluxo e compressibilidade de pós. ....	67

## SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

---

Símbolo, sigla ou abreviatura	Significado
CARV	Carvedilol
DLS	Espalhamento dinâmico de luz ( <i>Dynamic light scattering</i> )
DSC	Calorimetria exploratória diferencial ( <i>Differential scanning calorimetry</i> )
DRX	Difração de Raios-X
EHL	Equilíbrio hidrófilo-lipófilo
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SEDDS	Sistemas autoemulsionáveis de liberação de fármaco ( <i>self-emulsifying drug delivery systems</i> )
SMEDDS	Sistemas automicroemulsionáveis de liberação de fármaco ( <i>self-microemulsifying drug delivery systems</i> )
SNEDDS	Sistemas autonanoemulsionáveis de liberação de fármaco ( <i>self-nanoemulsifying drug delivery systems</i> )
L-SEDDS	Sistema autoemulsionável líquido de liberação de fármaco
S-SEDDS	Sistema autoemulsionável sólido de liberação de fármaco
PdI	Índice de polidispersividade

---

---

## DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS AUTOEMULSIONÁVEIS SÓLIDOS CONTENDO CARVEDILOL POR GRANULAÇÃO DE ALTO CISALHAMENTO

ARAÚJO, G. P.<sup>1</sup>; MARRETO, R. N.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Nanosistemas e e Dispositivos de Liberação Controlada de Fármacos (NanoSYS), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás.

### RESUMO

**Introdução:** A melhora das propriedades biofarmacêuticas de fármacos pouco solúveis administrados por via oral é importante do ponto de vista terapêutico e econômico. Nesse contexto, o preparo de sistemas líquidos autoemulsionáveis de liberação de fármacos (L-SEDDS) tem recebido destaque. No entanto, os L-SEDDS podem apresentar certa instabilidade química e física e a solidificação desses sistemas líquidos pode contribuir para sua futura aplicação comercial. Dentre as possíveis técnicas empregadas na solidificação de L-SEDDS, a granulação de alto cisalhamento se destaca por possuir reduzido tempo de processamento e elevada reprodutibilidade. Até o momento, nenhum estudo avaliou o emprego desta técnica na solidificação de L-SEDDS contendo carvedilol, fármaco pouco solúvel e de baixa biodisponibilidade oral. **Objetivo:** O objetivo do presente estudo foi obter sistemas sólidos autoemulsionáveis de liberação de fármacos (S-SEDDS) contendo alta carga de carvedilol (CARV) pela técnica de granulação de alto cisalhamento. **Metodologia:** A seleção da melhor combinação de tensoativo, co-solvente e óleo foi realizada a partir da avaliação da solubilidade do CARV em doze diferentes misturas, assim como pela análise das propriedades autoemulsionantes e estabilidade dos sistemas. A formulação selecionada, contendo Solutol<sup>®</sup> HS15, Transcutol<sup>®</sup> HP e óleo de rícino, foi empregada como líquido aglutinante em granulador de alto cisalhamento contendo diferentes misturas de excipientes sólidos. Um planejamento de mistura combinado foi empregado para estudar os efeitos de fatores de formulação (diferentes concentrações de crospovidona, L-SEDDS, celulose microcristalina, lactose e aerosil) e de processo (velocidades do *chopper* e do *impeller*) sobre as propriedades dos sólidos obtidos. A partir do planejamento, foram obtidas 25 formulações de SEDDS solidificadas (S-SEDDS), as quais foram caracterizadas quanto à granulometria, fluxo (ângulo de repouso, índice de Carr, fator de Hausner), teor de CARV, dissolução *in vitro*, difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura (MEV). **Resultados e Discussão:** O L-SEDDS selecionado foi composto por mistura de Solutol<sup>®</sup> HS15, Transcutol<sup>®</sup> HP e óleo de rícino (1:3:1, m/m/m). Após diluição de 250x em meio ácido (pH 1,2) o preparado foi rapidamente emulsionado dando origem a gotículas de tamanho médio  $253,2 \pm 9,50$  nm e de Pdl de  $0,352 \pm 0,013$ . A mistura lipídica foi capaz de solubilizar 124,31 mg de CARV por mililitro de formulação. A incorporação da formulação líquida nas diferentes misturas de excipientes sólidos usando a técnica de granulação de alto cisalhamento foi rápida (tempo total de processamento inferior a 23 min) e resultou em rendimento elevado (> 99%). As análises de fluxo mostraram que a maioria dos sólidos apresentou fluxo aceitável, o qual foi principalmente afetado pela concentração de L-SEDDS e de lactose na formulação. Adicionalmente, a concentração de L-SEDDS foi o fator que exerceu maior influência no tamanho dos grânulos, sendo que seu aumento levou à redução no percentual de finos (< 63  $\mu$ m). Os ensaios de liberação *in vitro* permitiram determinar que, independente do meio (ácido ou neutro), a liberação de CARV a partir dos S-SEDDS nos primeiros 10 minutos de ensaio foi, pelo menos, 2 vezes maior que aquela observada para o carvedilol puro. Em meio com pH neutro (pH 6,8) foi possível observar que houve redução na liberação do CARV a partir do S-SEDDS quando comparado ao L-

SEDDS. **Conclusão:** O preparo de S-SEDDS contendo CARV por granulação de alto cisalhamento foi realizado de forma rápida e a liberação do CARV foi superior à observada para o fármaco puro. Fatores de formulação, em especial, o tipo de diluente e a quantidade de óleo exerceram influência sobre as propriedades dos grânulos obtidos.

**Palavras-Chave:** Sistemas autoemulsionáveis de liberação de fármaco; Carvedilol; Granulador de alto cisalhamento; Óleo de rícino.

**Agradecimentos:** Ashland, CAPES e CNPq.

---

**DEVELOPMENT OF CARVEDILOL LOADED SOLID SELF-EMULSIFYING DELIVERY SYSTEMS BY HIGH SHEAR GRANULATION****ARAÚJO, G. P.** <sup>1</sup>; **MARRETO, R. N.** <sup>1</sup><sup>1</sup>Laboratory of Nanosystems and Drug Delivery Devices (NanoSYS), Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás.**ABSTRACT**

**Introduction:** The improvement of the biopharmaceutical properties of poorly water-soluble drugs administered orally is of great therapeutic and economic importance. In this sense, the preparation of liquid self-emulsifying drug delivery systems (L-SEDDS) has been highlighted. However, L-SEDDS show some chemical and physical instability and the solidification of these systems can contribute to their future commercial application. Among the potential techniques used in the solidification of L-SEDDS, the high shear granulation should be underscored because of its low processing time and good reproducibility. To date, no study has evaluated the use of this technique to process L-SEDDS containing carvedilol (CARV), a poorly water-soluble drug that shows low oral bioavailability. **Objective:** The objective of the present study was to obtain solid self-emulsifying delivery system (S-SEDDS) a high carvedilol (CARV) load using the high shear granulation technique. **Methodology:** The selection of the best combination of surfactant, co-solvent and oil was carried out based on the evaluation of the CARV solubility in twelve different mixtures, as well as by the analysis of the self-emulsifying properties and stability of the systems. The selected formulation, containing Solutol<sup>®</sup> HS15, Transcutol<sup>®</sup> HP and castor oil, was used as a binder liquid in a high shear granulator containing different mixtures of solid excipients. A combined mixture design was employed to study the effects of formulation factors (different concentrations of crospovidone, L-SEDDS, microcrystalline cellulose, lactose and aerosil) and process (chopper and impeller speeds) on the properties of the obtained solids. Twenty five S-SEDDS were obtained, which were characterized in terms of granulometry, flow (angle of repose, Carr index, Hausner factor), CARV content, in vitro dissolution, X-ray powder diffraction and scanning electron microscopy. **Results and Discussion:** The selected L-SEDDS was composed of a mixture of Solutol<sup>®</sup> HS15, Transcutol<sup>®</sup> HP and castor oil (1:3:1, m/m/m). After dilution (250x) in HCl solution (pH 1.2), the preparation was quickly emulsified giving rise to droplets of average size  $253.2 \pm 9.50$  nm and Pdl of  $0.352 \pm 0.013$ . This lipid mixture was able to solubilize 124.31 mg of CARV per milliliter of formulation. The incorporation of the liquid formulation in the different powder mixtures using the high shear granulation technique was fast (total processing time less than 23 min) and resulted in high yield (> 99%). Flow analysis showed that most solids showed acceptable flow, which was mainly affected by the concentration of L-SEDDS and lactose in the formulation. In addition, the L-SEDDS concentration was the factor that exerted the greatest influence on the size of the granules, and its increase led to a reduction in the percentage of fines (<63 $\mu$ m). The in vitro release tests allowed to determine that, regardless of the medium (acid or neutral), the release of CARV from S-SEDDS in the first 10 minutes of the test was at least 2 times greater than that observed for the pure drug. In pH 6.8, it was observed a reduction in the release of CARV from the S-SEDDS when compared to the L-SEDDS. **Conclusion:** The preparation of S-SEDDS containing CARV by high shear granulation was fast and the drug release was superior to that observed for the pure drug. Formulation factors, in particular, the type of diluent and the amount of oil influenced the properties of the obtained granules.

**Key words:** Self-emulsifying drug delivery systems; Carvedilol, High shear granulation, Castor oil.

**Acknowledgements:** NanoSYS, Ashland, CAPES and CNPq.

A administração oral de fármacos, apesar de ser a escolha preferencial nas terapias farmacológicas, apresenta diversos desafios biofarmacotécnicos, os quais estão relacionados às características biofarmacêuticas indesejáveis de grande parte dos fármacos disponíveis, com destaque para sua reduzida solubilidade aquosa (HAUSS, 2007; GURSOY e BENITA, 2004).

Diversas tecnologias têm sido estudadas visando melhorar a solubilidade aquosa de fármacos, sua dissolução e biodisponibilidade oral, dentre elas, os sistemas lipídicos autoemulsionáveis (SEDDS) merecem destaque (MANDIĆ *et al.*, 2019; ČERPNJAK *et al.*, 2013; THOMAS, RADES, MÜLLERTZ, 2013). Os SEDDS são constituídos por uma mistura de tensoativos, co-tensoativos (ou solventes) e óleos, capazes de formar, espontaneamente, emulsões quando diluídos em meio aquoso. Na medida em que o fármaco já se encontra dissolvido na formulação, evita-se a etapa crítica de dissolução (THOMAS, RADES, MÜLLERTZ, 2013).

O carvedilol (CARV) é um fármaco beta-bloqueador não seletivo usado no tratamento da hipertensão arterial. Esse fármaco apresenta baixa biodisponibilidade oral (~25%) devido a sua reduzida solubilidade aquosa, intenso metabolismo hepático de primeira passagem e ação da glicoproteína-P (SILVA *et al.*, 2018; FERNANDES, 2018; ALONSO, 2016; BHANDARI; AVACHAT, 2015; SILVA, 2006). Por esses motivos, o CARV é um bom candidato para o desenvolvimento de sistemas líquidos autoemulsionáveis (L-SEDDS). Diversos estudos foram realizados a fim de melhorar as características biofarmacêuticas do CARV a partir do desenvolvimento de L-SEDDS (IBRAHIM *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2011; WEI *et al.*, 2005). Nesses estudos, os autores comprovaram os benefícios dos sistemas lipídicos no aumento da dissolução, bem como, na permeabilidade intestinal e, conseqüentemente, na biodisponibilidade oral do CARV (IBRAHIM *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2011; WEI *et al.*, 2005).

Apesar das comprovadas vantagens dos L-SEDDS, seu emprego está relacionado à diversas limitações, tais como instabilidade química e física, irritação gástrica devido às altas concentrações de tensoativos, precipitação do fármaco *in vivo* e reduzida concentração de fármaco na formulação. Além disso, esses sistemas precisam ser incorporados em cápsulas gelatinosas moles, cuja produção demanda o emprego de tecnologia específica, a qual está relacionada à custos elevados de produção (MANDIĆ *et al.*, 2019; JOYCE *et al.*, 2019; ČERPNJAK *et al.*, 2013).

Uma estratégia para superar as limitações supracitadas é a solidificação dos L-SEDDS. Algumas técnicas de solidificação têm sido estudadas, como a extrusão/peletização (ZHANG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2010; IOSIO *et al.*, 2008; ABDALLA; KLEIN; MÄDER, 2008; ABDALLA; MÄDER, 2007; SERRATONI *et al.*, 2007; NEWTON *et al.*, 2001), granulação úmida em misturador de alto cisalhamento (FRANCESCHINIS *et al.*, 2011; FRANCESCHINIS *et al.*, 2005), termoextrusão (SILVA *et al.*, 2018), *spray drying* (NASR; GARDOUH; GHORAB, 2016; YI *et al.*, 2008), adsorção em carreadores sólidos (WEERAPOL *et al.*, 2015) e revestimento em leite fluidizado (MANDIĆ *et al.*, 2017; KRUPA *et al.*, 2014; LEI *et al.*, 2011). A técnica selecionada deve levar em consideração a concentração de excipientes lipídicos na formulação, as propriedades do fármaco, bem como as características dos excipientes (SILVA *et al.*, 2018; MANDIĆ *et al.*, 2017).

Dentre as técnicas de solidificação de L-SEDDS, a granulação úmida de alto cisalhamento merece destaque uma vez que, a partir dela, é possível obter, com reduzido tempo de processo, produtos secos de fluxo livre e boa uniformidade de conteúdo e que, ainda, contém grande quantidade de L-SEDDS (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019; MANDIĆ *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2008). A granulação de alto cisalhamento permite determinar com certa facilidade o ponto final da granulação, gerando produtos com elevada reprodutibilidade. Além disso, diversos parques fabris já estão equipados com essa tecnologia, o que torna esta técnica ainda mais atraente para aplicação industrial (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019). Outra importante vantagem nessa técnica é que o granulador de alto cisalhamento pode ser incluído em um esquema de processamento contínuo, adicionando forte apelo econômico e de melhoria de processo (KUMAR *et al.*, 2013).

S-SEDDS contendo CARV foram obtidos a partir de extrusão-esferonização (BHANDARI; AVACHAT, 2015), termoextrusão (SILVA *et al.*, 2018) e revestimento de pellets em leite fluidizado (MANDIĆ *et al.*, 2019). Contudo, até o momento, nenhuma formulação L-SEDDS contendo CARV foi solidificada por meio da granulação de alto cisalhamento. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi obter S-SEDDS contendo alta carga de CARV, empregando-se um planejamento de mistura combinado, para estudar os efeitos de variáveis de processo e de formulação sobre o desempenho dos produtos granulares obtidos.

### 2.1. Solubilidade dos fármacos

O emprego da via oral é a forma mais simples, prática e segura para administrar fármacos. As formas farmacêuticas orais mais comuns são os comprimidos, cápsulas, suspensões, soluções e emulsões (AULTON; TAYLOR, 2016; BHARAWAJ *et al.*, 2010; MION JR *et al.*, 1995). Os custos de fabricação das formas farmacêuticas de uso oral são, em geral, mais reduzidos comparados aos sistemas administrados por outras vias, o que torna sua produção mais atrativa para a indústria farmacêutica. Como resultado, 80% das formas farmacêuticas comercializadas são administradas pela via oral (RANI *et al.*, 2019; THOMAS; RADES; MÜLLERTZ, 2013).

Apesar das vantagens da administração oral de fármacos, Hauss (2007) estimou que entre 40 e 70% das novas moléculas farmacologicamente ativas possuem reduzida solubilidade aquosa, prejudicando sua absorção no trato gastrointestinal (TGI). O aumento no número de fármacos pouco solúveis pode ser atribuído a melhorias na tecnologia de síntese, que permitiu o desenvolvimento de compostos mais complexos. Além disso, o emprego da estratégia de desenvolvimento de novas moléculas baseado no mecanismo de ação, deixou em segundo plano as propriedades físico-químicas dos novos compostos, contribuindo adicionalmente para a obtenção de novos fármacos hidrofóbicos (ČERPŇAK *et al.*, 2013; KAWAKAMI, 2012).

A reduzida solubilidade aquosa dos fármacos pode estar relacionada a diversos fatores, tais como a complexidade de sua estrutura química, alto peso molecular, tipo de forma polimórfica, dentre outras (RANI *et al.*, 2019; GUPTA; KESARLA, OMRI, 2013; LIPINSKI, 2000). Tem sido reportado que, se a dissolução for rápida ou se o fármaco for administrado em solução, sua absorção dependerá basicamente da sua capacidade de atravessar a membrana biológica. Contudo, se a velocidade de dissolução for lenta, seja pelas características físico-químicas do fármaco ou da forma farmacêutica, a dissolução passa a ser a etapa limitante, podendo causar absorção irregular ou incompleta e afetando negativamente a biodisponibilidade do fármaco (RANI *et al.*, 2019; ALLEN *et al.*, 2013).

Silva (2006) definiu o termo biodisponibilidade como sendo a porção do fármaco que atinge a circulação sistêmica, de forma inalterada, após sua administração. Dessa forma, ela é o primeiro dos fatores que determinam a relação entre a dose e a intensidade do efeito. Uma reduzida biodisponibilidade pode ter sérias repercussões clínicas, incluindo

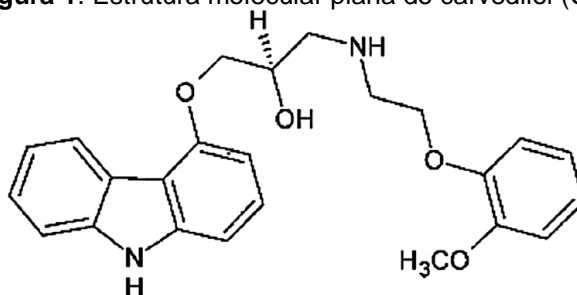
insuficiência terapêutica. Por fim, a biodisponibilidade não se relaciona apenas com o fármaco, mas também, com a forma farmacêutica.

No ano de 1995, Amidon e colaboradores propuseram uma forma de classificar os fármacos com relação a suas características de solubilidade e permeabilidade, o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), categorizando-os em quatro classes. A classe II corresponde aos fármacos que apresentam baixa solubilidade aquosa e alta permeabilidade, dessa forma, o fator limitante para a sua absorção é a dissolução *in vivo* (AMIDON *et al.*, 1995). O fármaco selecionado no presente trabalho foi o carvedilol (CARV), categorizado como classe II no SCB.

## 2.2. Carvedilol (CARV)

O composto ((2RS)-1-(9H-carbazol-4-iloxi)-3-[[2-(2-metoxifenoxi) etil]amino]propan-2-ol), conhecido como carvedilol (CARV) é um fármaco beta-bloqueador não seletivo usado no tratamento de hipertensão arterial, insuficiência cardíaca congestiva leve a moderada e isquemia cardíaca. Possui também ação vasodilatadora, especialmente devido a sua atividade bloqueadora  $\alpha$ -1 (LOFTSSON *et al.*, 2008; SILVA, 2006; BEHN *et al.*, 2001). A estrutura molecular do CARV está apresentada na Figura 1.

Figura 1. Estrutura molecular plana do carvedilol (CARV).



Fonte: Adaptado de Taveira *et al.* (2018).

O CARV é um composto básico, com pKa 7,8, lipofílico (LogP = 3,84), massa molecular de 406,5 Da, possui solubilidade pH dependente que diminui à medida que o pH aumenta, dessa forma, sob valores de pH maiores que 9,0 a solubilidade aquosa do CARV é menor que 1  $\mu$ g/mL, alcançando valores próximos de 23  $\mu$ g/mL em pH 7,0 e 100  $\mu$ g/mL em pH 5 (IBRAHIM *et al.*, 2018; LOFTSSON *et al.*, 2008; BROOK *et al.*, 2007).

Comercialmente, o CARV está disponível nas dosagens de 3,125 mg, 6,25 mg, 12,5 mg e 25 mg, alcançando concentrações plasmáticas máximas entre 1 e 2 horas após administração oral. Sua meia-vida de eliminação é de 6 a 10 horas. Por sofrer intenso

metabolismo hepático de primeira passagem e ser substrato para a glicoproteína-P no intestino, o CARV possui reduzida biodisponibilidade oral (~25%) (SILVA *et al.*, 2018; FERNANDES *et al.*, 2018; ALONSO, 2016; SILVA *et al.*, 2016; BHANDARI; AVACHAT, 2015; ČERPŇJAK *et al.*, 2013; LOFTSSON *et al.*, 2008; BROOK *et al.*, 2007).

### 2.3. Sistemas lipídicos

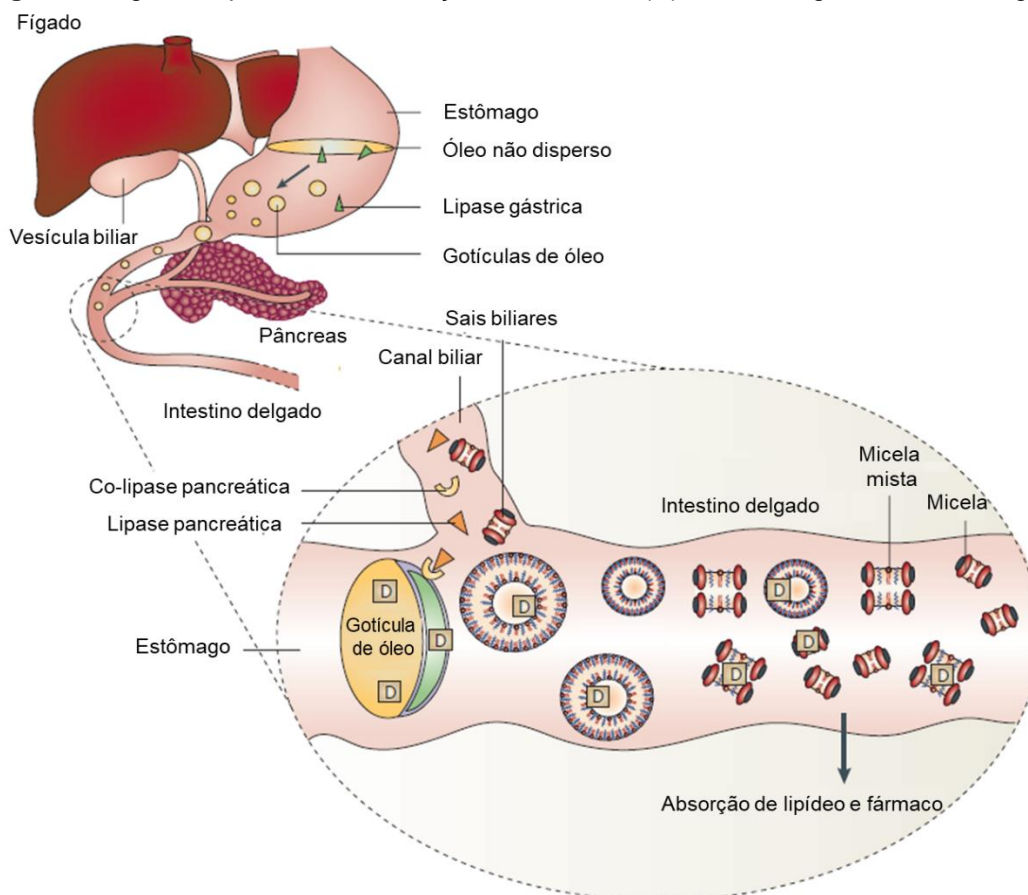
Há uma demanda crescente para o desenvolvimento de formulações que, além de preservar a atividade farmacológica, sejam capazes de melhorar as características biofarmacêuticas dos fármacos, especialmente, a solubilidade aquosa (AULTON; TAYLOR, 2016). Diversas estratégias têm sido estudadas para melhorar as características biofarmacêuticas dos fármacos lipossolúveis, entre elas, destacam-se o emprego de soluções (AULTON; TAYLOR, 2016), o desenvolvimento de dispersões sólidas (SIEPMANN *et al.*, 2019), a complexação com ciclodextrinas (ALONSO, 2016; LOFTSSON *et al.*, 2008), o preparo de nanossuspensões (KAWAKAMI, 2012) e de sistemas lipídicos autoemulsionáveis (SIEPMANN *et al.*, 2019; KAWAKAMI, 2012).

A veiculação de fármacos em sistemas lipídicos autoemulsionáveis despertou interesse após o reconhecimento de que a biodisponibilidade oral de fármacos lipofílicos pode ser aumentada quando estes são co-administrados com refeições ricas em lipídeos (ČERPŇJAK *et al.*, 2013; THOMAS; RADES; MÜLLERTZ, 2013). A partir disto, os sistemas lipídicos têm sido empregados para aumentar a biodisponibilidade desses fármacos de forma controlada.

Diversos estudos comprovaram que os lipídeos favorecem a absorção de fármacos lipossolúveis no TGI por vários mecanismos, tais como: dissolução prévia do fármaco na formulação, inibição do efluxo mediado pela glicoproteína P, aumento da permeabilidade do enterócito, promoção do transporte linfático (evitando o metabolismo hepático de primeira passagem) e alteração da fisiologia do TGI, tornando o ambiente intestinal mais favorável à solubilização de moléculas lipofílicas (VISHWAKARMA *et al.*, 2019; RANI *et al.*, 2019; MANDIĆ *et al.*, 2019; PATEL *et al.*, 2018; STILLHART; DÜRR; KUENTZ, 2014; ČERPŇJAK *et al.*, 2013; THOMAS; RADES; MÜLLERTZ, 2013; DAHAN; HOFFMAN, 2008). Outro fator que contribui para o aumento na biodisponibilidade oral a partir de sistemas lipídicos autoemulsionáveis é o reduzido tamanho das gotículas emulsionadas, que fornece uma grande área interfacial para absorção do fármaco (HALDER *et al.*, 2018; WEI *et al.*, 2005; FRANCESCHINIS *et al.* 2005; KANG *et al.*, 2004).

Existem diferentes tipos de formulações lipídicas. O tipo mais simples é a solução oleosa rica em triglicerídeos e após a ingestão oral dessas soluções, as lipases são ativadas no TGI e, como resultado, os lipídeos são emulsionados. As emulsões resultantes contêm o fármaco dissolvido em sua fase interna. A presença das formas digeridas dos lipídeos estimula a secreção de sais biliares, levando à formação de estruturas micelares/vesiculares a partir das quais a absorção dos fármacos ocorre com maior eficiência (PATEL *et al.*, 2018; PORTER *et al.*, 2008; PORTER; TREVASKIS; CHARMAN, 2007; GURSOY; BENITA, 2004). A Figura 2 é uma representação gráfica da digestão lipídica e da solubilização de fármacos no estômago e intestino delgado.

**Figura 2.** Digestão lipídica e solubilização de fármacos (D) no estômago e intestino delgado.



Fonte: Adaptada de Porter; Trevaskis; Charman (2007).

## 2.4. Sistemas autoemulsionáveis (SEDDS)

Determinados excipientes lipídicos quando incorporados em formulações farmacêuticas conferem ao sistema a capacidade de promover emulsificação em meio aquoso, podendo dar origem a emulsões (*self-emulsifying drug delivery system* – SEDDS), microemulsões (*self-microemulsifying drug delivery system* – SMEDDS) ou nanoemulsões (*self-nanoemulsifying drug delivery system* – SNEDDS) (RANI *et al.*, 2019; MANDIĆ *et al.*,

2019; ČERPŇJAK *et al.*, 2013). Thomas, Rades e Müllertz (2013) definiram sistemas autoemulsionáveis como uma mistura de tensoativos, co-tensoativos ou solventes e óleo, que, quando misturados em uma razão mássica específica formam, espontaneamente, emulsões em meio aquoso. Nesses sistemas, o fármaco é apresentado na formulação em um estado dissolvido, evitando a etapa crítica de dissolução nos fluidos do TGI. Os autores ressaltaram que fármacos pertencentes à classe II do SCB são bons candidatos para o desenvolvimento desse tipo de formulação.

O componente oleoso das formulações autoemulsionáveis possui grande importância, pois sua natureza define a capacidade de solubilização do fármaco lipossolúvel e a autoemulsificação do sistema. Além disso, a natureza química dos óleos determina o destino *in vivo* do sistema, incluindo a ocorrência de transporte linfático (GURSOY; BENITA, 2004). Os benefícios podem ser observados mesmo após a ingestão de baixas quantidades de lipídeos de cadeia longa, os quais estimulam a contração da vesícula biliar, elevando os níveis intestinais de sais biliares e fosfolipídeos e aumentando a absorção de fármacos lipossolúveis (KOSSENA, 2007).

O óleo de rícino é um importante excipiente lipídico, comumente empregado na indústria farmacêutica em formulações para aplicação tópica, parenteral e oral (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). O óleo de rícino (*Castor oil*) é um triacilglicerol composto por diferentes ácidos graxos esterificados com glicerol, sendo o ácido ricinoléico a substância majoritária (Quadro 1) (MUTLU; MEIER, 2010). O óleo de rícino apresenta EHL (equilíbrio hidrófilo-lipófilo) requerido de 14 (O'LENICK JR; PARKINSON, 1996) e é considerado um bom solvente para fármacos lipossolúveis devido a presença do grupo hidroxila ligado à cadeia alquila, tornando-o capaz de interagir via ligação de hidrogênio (SILVA *et al.*, 2017).

**Quadro 1.** Composição do óleo de rícino.

Ácido graxo	Fórmula molecular	Porcentagem (%)
Palmítico	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	0,8 – 1,1
Esteárico	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>	0,7 – 1,0
Oléico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>	2,2 – 3,3
Linoléico	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>	4,1 – 4,7
Linolênico	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>	0,5 – 0,7
Ricinoléico	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>	87,7 – 90,4

Fonte: Adaptado de MUTLU, MEIER, 2010.

Ácidos graxos de cadeia curta (< 12 átomos de carbono) são transportados via circulação sistêmica, em contrapartida, ácidos graxos de cadeia longa, como aqueles presentes no óleo de rícino, são incorporados nos quilomícrons e secretados por exocitose nos vasos linfáticos (GURSOY; BENITA, 2004), por esse motivo, espera-se que o óleo de rícino possa favorecer tal mecanismo de absorção do fármaco lipofílico.

Outro componente essencial na obtenção de L-SEDDS são os tensoativos, especialmente os tensoativos não iônicos, por serem menos tóxicos e usados na faixa de concentração entre 30 e 60% (m/m) (RANI *et al.*, 2019; GURSOY; BENITA, 2004). Nesse tipo de formulação, os valores de equilíbrio hidrófilo-lipófilo (EHL) dos tensoativos devem ser altos, em outras palavras, o tensoativo deve ser hidrofílico, sendo, portanto, indicado para a obtenção de microemulsão do tipo óleo em água (RANI *et al.*, 2019). Além disso, é desejável que a emulsão seja formada rápida e espontaneamente e que o fármaco dissolvido se mantenha associado a fase interna. Outro importante benefício relacionado ao uso de tensoativos nos L-SEDDS é que eles afetam a camada aquosa não agitada do TGI (barreira limitadora na taxa de absorção/difusão de moléculas lipossolúveis), além de perturbar a organização estrutural da bicamada lipídica, aumentando, a partir desses dois mecanismos, a absorção do fármaco (GURSOY; BENITA, 2004). Vários tensoativos e solventes podem ser empregados na obtenção de L-SEDDS e alguns, devidos a suas características, merecem destaque, tais como o Solutol<sup>®</sup> HS15, o Kolliphor<sup>®</sup> RH40, o Transcutol<sup>®</sup> HP e o PEG 400.

O macrogol-15-hidroxiestearato (Solutol<sup>®</sup> HS15) é um tensoativo não iônico e agente solubilizante muito usado em formulações de L-SEDDS e apresenta valor de EHL entre 14 e 16, sendo considerado um tensoativo muito solúvel em água, não tóxico e não irritante (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). Outro tensoativo não iônico, o óleo de rícino polioxil-40 hidrogenado (Kolliphor<sup>®</sup> RH40) também possui EHL 14-16, sendo usado como agente emulsificante e agente solubilizante em uma variedade de formulações orais, tópicas e parenterais (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

O Transcutol<sup>®</sup> HP (éter-mono-etil-dietilenoglicol) é um solvente que apresenta valor de EHL de 4,2. É muito empregado em formulações para uso oral, dérmico e parenteral (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017; KIM *et al.*, 2014). Há relatos na literatura da sua capacidade de solubilizar fármacos lipossolúveis, além de possibilitar a formação espontânea de emulsões (FRANCESCHINIS *et al.*, 2015; MAHMOUD; AL-SUWAYEH; ELKADI, 2013).

O polietilenoglicol (PEG 400) é um composto hidrofílico usado como co-solvente para aumentar a solubilidade de fármacos em formulações diversas. Dessa forma, pode ser

um bom candidato para obtenção de L-SEDDS (MEDEIROS; KANIS, 2010; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). Ramli e colaboradores (2019) destacaram que o PEG400 possui baixo peso molecular e é comumente usado para a preparação de microemulsões com alta capacidade de solubilizar fármacos.

Apesar das vantagens farmacocinéticas dos L-SEDDS, tais formulações podem apresentar problemas de estabilidade, uma vez que os lipídeos possuem alta capacidade de oxidação devido à formação de radicais livres (SILVA *et al.* 2017).

#### 2.4.1. Sistemas autoemulsionáveis líquidos contendo CARV

O CARV é um bom candidato para o desenvolvimento de formulações L-SEDDS pelos diversos fatores supracitados, especialmente, por sua reduzida solubilidade aquosa e sua baixa biodisponibilidade oral. Ibrahim e colaboradores (2018) constataram vantagens desse tipo de formulação na solubilização do CARV. Esses autores obtiveram L-SEDDS com emulsificação espontânea, boa estabilidade termodinâmica e rápida liberação *in vitro* do fármaco.

Em outro estudo, L-SEDDS com CARV foram obtidos com diferentes misturas de Labrafil® M 1944CS, Tween® 80, Transcutol® P e ácido benzóico. Após testes de caracterização das formulações obtidas, foi possível comprovar que os sistemas apresentaram rápida autoemulsificação e aumentaram significativamente a dissolução do CARV comparados aos comprimidos comercialmente disponíveis. Os autores também realizaram testes de biodisponibilidade oral em cães da raça Beagle e mostraram que a biodisponibilidade relativa da formulação testada foi 413% maior aquela apresentada pelo comprimido comercial (WEI *et al.*, 2005).

O desenvolvimento de SNEDDS contendo CARV foi realizado por Singh e colaboradores (2011) a partir da combinação de Capmul PG8, Cremophor EL e Transcutol® HP. Após avaliação de perfusão intestinal *in situ* em ratos, a formulação otimizada exibiu melhora de 3 a 4 vezes na fração de CARV absorvida e permeada comparado com o medicamento disponível comercialmente. Esse achado corrobora com evidências de que sistemas lipídicos autoemulsionáveis podem promover aumento da biodisponibilidade oral de fármacos lipossolúveis através do aumento no transporte linfático. Resultados semelhantes de SEDDS carregados com CARV foram obtidos por Salimi e colaboradores (2014) que relataram aumento de 2,76 vezes na permeabilidade do fármaco comparado com o controle, em ensaios de permeabilidade do CARV em intestinos de rato.

Apesar das comprovadas melhorias nas características biofarmacêuticas de fármacos lipossolúveis, poucas são as formulações comerciais contendo L-SEDDS e a maioria delas é veiculada em cápsulas gelatinosas duras ou moles (MANDIĆ *et al.*, 2019; JOYCE *et al.*, 2019; FRANCESCHINIS *et al.*, 2011), demandando maquinário específico para sua produção, o que leva a baixa taxa de produção e altos custos quando comparados a outras formas farmacêuticas sólidas (MANDIĆ *et al.*, 2019; JOYCE *et al.*, 2019; ČERPŇJAK *et al.*, 2013; THOMAS; RADES; MÜLLERTZ, 2013; FRANCESCHINIS *et al.*, 2011). Além disso, o emprego dos SEDDS líquidos está relacionado à certas dificuldades, tais como instabilidade física e química, irritação gástrica devido as altas concentrações de tensoativos, precipitação de fármaco *in vivo* e reduzida concentração do fármaco na formulação. Dessa forma, a solidificação da formulação líquida tem sido alvo constante de investigações.

## **2.5. Solidificação de sistemas autoemulsionáveis (S-SEDDS)**

Diversos estudos têm sido realizados no intuito de investigar a solidificação de L-SEDDS. Em geral, o objetivo final é associar as melhorias proporcionadas pelos L-SEDDS (solubilização do fármaco, transporte linfático, modificações na fisiologia do TGI) com aquelas inerentes aos sistemas sólidos (possibilidade de liberação controlada do fármaco, aumento da estabilidade, da facilidade de manuseio e do armazenamento, aumento na produtividade e redução no custo de produção) (MANDIĆ *et al.*, 2019; JOYCE *et al.*, 2019).

Apesar das vantagens e dos diversos estudos já publicados, nenhuma formulação de S-SEDDS encontra-se disponível comercialmente. Tal insucesso deve-se aos desafios que precisam ser superados, tais como a obtenção de sistemas sólidos com alta carga de fármaco, preservação das propriedades autoemulsionantes e solubilizantes após o processo de solidificação (SIEPMANN *et al.*, 2019; MANDIĆ *et al.*, 2019).

Algumas técnicas de solidificação de L-SEDDS têm sido estudadas, como a extrusão/esferonização (ZHANG *et al.*, 2012; WANG *et al.*, 2010; IOSIO *et al.*, 2008; ABDALLA; KLEIN; MÄDER, 2008; ABDALLA; MÄDER, 2007; SERRATONI *et al.*, 2007; NEWTON *et al.*, 2001), granulação úmida em misturador de alto cisalhamento (FRANCESCHINIS *et al.*, 2011; FRANCESCHINIS *et al.*, 2005), termoextrusão (SILVA *et al.*, 2018), *spray drying* (NASR; GARDOUH; GHORAB, 2016; YI *et al.*, 2008), adsorção em carreadores sólidos (WEERAPOL *et al.*, 2015) e revestimento em leito fluidizado (MANDIĆ *et al.*, 2017; KRUPA *et al.*, 2014; LEI *et al.*, 2011). A técnica a ser selecionada deve levar em consideração a concentração de excipientes lipídicos na formulação, as propriedades

do fármaco, bem como as características dos excipientes (SILVA *et al.*, 2018; MANDIĆ *et al.*, 2017).

A técnica mais estudada na fabricação de pellets autoemulsionáveis é a extrusão-esferonização, na qual converte-se uma matéria-prima com propriedades plásticas em aglomerado cilíndrico com densidade uniforme (extrusado). Em seguida, o extrusado é quebrado e esferonizado. Tal técnica é eficaz para produzir pellets com estreita distribuição granulométrica, preservando as propriedades autoemulsionantes dos L-SEDDS. As principais desvantagens dessa técnica são a criticidade da etapa de mistura prévia dos componentes e seu caráter laborioso, dessa forma, a extrusão-esferonização deve ser considerada apenas quando outros métodos de granulação não forem satisfatórios para processar uma formulação específica (RANI *et al.*, 2019; MANDIĆ *et al.*, 2017; AULTON; TAYLOR, 2016).

A termoextrusão também pode ser empregada na obtenção de S-SEDDS e, comparada à granulação úmida tradicional, possui como vantagem o fato de que não empregar solventes, aumentando a estabilidade de certas moléculas ativas e excipientes. Paradoxalmente, o calor aplicado durante a operação de termoextrusão pode afetar determinados compostos, sendo, portanto, uma técnica aplicável apenas para fármacos e excipientes termoestáveis (MANDIĆ *et al.*, 2019; JOYCE *et al.*, 2019).

A técnica de secagem por *spray drying* é um método simples e rápido, realizado em uma única etapa. Neste método, a formulação líquida é misturada com componentes sólidos dispersos em um solvente. Em seguida, a solução/suspensão é atomizada em uma câmara de secagem e o solvente é evaporado. Contudo, o *spray drying* apresenta alto custo de instalação e elevado consumo energético (RANI *et al.*, 2019; GONÇALVES *et al.*, 2018; MANDIĆ *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2008). Outros fatores também são considerados críticos no processo de *spray drying* como o eventual baixo rendimento e termodegradação (MANDIĆ *et al.*, 2017; PATEL; PATEL; SUTHAR, 2009).

A técnica de adsorção em carreadores sólidos baseia-se na capacidade que alguns pós (que apresentam grande área de superfície) tem de adsorver, eficientemente, quantidades consideráveis de L-SEDDS. A capacidade de adsorção chega a 70%, após a mistura simples dos componentes (RANI *et al.*, 2019). O pó resultante pode ser usado no preenchimento de cápsulas ou misturado com excipientes apropriados, seguido de compressão. Algumas vantagens desse método são a obtenção de produtos com elevada uniformidade de conteúdo (GONÇALVES *et al.*, 2018). Por outro lado, deve-se considerar as propriedades do adsorvente selecionado pois, dependendo do tamanho e da forma de seus poros, pode-se observar efeitos negativos sobre a dissolução do fármaco (MANDIĆ

*et al.*, 2017). Dessa forma, a seleção do carreador é desafiadora, considerando ainda que não deve haver interações entre este material e o fármaco e/ou tensoativo que prejudiquem o desempenho do sistema (MANDIĆ *et al.*, 2017).

Dixit e Nagarsenker (2008) desenvolveram grânulos autonanoemulsionáveis utilizando a técnica de adsorção. O objetivo destes autores foi aumentar a biodisponibilidade da ezetimiba, pela sua inclusão em misturas contendo diversos tipos de óleo, tensoativos e co-tensoativos (Capryol 90, Lauroglycol, Lauroglycol FCC, Laurato de etila, Cremophor® EL e Transcutol® P). O dióxido de silício coloidal (Aerosil 200) foi selecionado como agente adsorvente. Os autores observaram perda da cristalinidade do fármaco nos grânulos e aumento significativo de sua liberação quando comparado com o fármaco puro.

A técnica de leito fluidizado também pode ser empregada na obtenção de grânulos autoemulsionáveis, com a vantagem de realizar todas as operações de granulação e secagem em um único equipamento, reduzindo custos de mão de obra, perdas com transferências e tempo. Além disso, é possível automatizar o método (AULTON; TAYLOR, 2016). Por outro lado, os elevados custos para aquisição do equipamento e a necessidade de mão de obra especializada são fatores que merecem destaque e devem ser considerados na escolha desta técnica (AULTON; TAYLOR, 2016).

Čerpnjak e colaboradores (2015) compararam as técnicas de adsorção em carreadores porosos, secagem por *spray drying*, granulação de alto cisalhamento e granulação em leito fluidizado para a solidificação de SMEDDS. Os L-SMEDDS foram compostos por Miglyol® 812, Peceol™, Gelucire® 44/14, Solutol® e naproxeno (6 e 18% m/m). Aerosil® 200 e Neusilin® US2 foram empregados como carreadores porosos na técnica de solidificação por adsorção. Celulose microcristalina (Avicel PH101 e Avicel PH 200) foi usada na solidificação por granulação em leito fluidizado. Para a solidificação em granulação de alto cisalhamento, foram usadas diferentes combinações de Aerosil® 200, Neusilin® US2, maltodextrina e Avicel PH 101 como agentes adsorventes. Por fim, na técnica de *spray drying*, foram empregados os açúcares maltodextrina e hidroxipropilmetilcelulose (HPMC). Os autores avaliaram comparativamente as propriedades de fluxo, retenção de líquido e propriedades de compactação dos pós obtidos a partir das quatro técnicas de solidificação. Os pós contendo carreadores porosos (Aerosil® 200 e Neusilin® US2) tiveram melhor capacidade de reter líquido. Os melhores rendimentos de processo foram obtidos nas técnicas de adsorção e granulação. A avaliação de diâmetro das gotículas após reconstituição mostrou que as melhores propriedades autoemulsionantes foram obtidas quando o carreador era a maltodextrina na técnica de

*spray drying*. Após análise das fotomicrografias eletrônicas de varredura, foi possível observar a presença de grandes aglomerados de forma irregular nas técnicas de secagem por adsorção e granulação, em contrapartida, a secagem por *spray drying* resultou em partículas com formato mais esférico. Com base nos resultados obtidos, os autores elegeram a secagem por *spray drying*, usando a maltodextrina como agente adsorvente, como a melhor combinação de formulação e processo para a solidificação da formulação estudada.

A solidificação de SNEDDS em leite fluidizado foi estudada por Lei e colaboradores (2011). A formulação de SNEDDS, contendo ciclosporina A, Labrafil® M 1944 CS, Transcutol P® e Cremophor® EL (9:14:7), foi dispersa em solução aquosa de polivinilpirrolidona K30 e, em seguida, aspergida sobre a superfície de pellets inertes. Análises de difração de raios-x confirmaram a inexistência de cristais de ciclosporina A na formulação e o diâmetro das gotículas do SNEDDS líquido ( $21,2 \pm 2,6$  nm) não foi significativamente diferente daquele apresentado pela nanoemulsão reconstituída ( $23,7 \pm 2,9$  nm). Após análise de redispersão, verificou-se que todos os S-SNEDDS apresentaram taxa de redispersão mais lenta em comparação com o L-SNEDDS e, quanto maior foi a concentração de L-SNEDDS na solução de revestimento (30% e 40%), mais rápida foi a taxa de redispersão, atingindo aproximadamente 85% de redispersão em 10 minutos.

A partir da granulação úmida, é possível obter granulados com adequado controle de uniformidade de conteúdo, boa fluidez, além de ser uma técnica popular e bastante empregada na produção industrial de formas farmacêuticas sólidas (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019). O granulador de alto cisalhamento (*high shear granulator*) é um dos equipamentos mais utilizados para realizar a granulação úmida, devido as suas diversas vantagens, tais como: menor tempo de processamento, maior densificação de grânulos, menor exigência de fluido de granulação, melhor previsibilidade do ponto final da granulação e melhor reprodutibilidade. Esse tipo de granulador é um dos equipamentos mais empregados na indústria farmacêutica (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019). A técnica de granulação de alto cisalhamento pode ser empregada na solidificação de L-SEDDS e, a partir dela, é possível obter alta carga de fármaco e possibilidade de incorporar grande quantidade de L-SEDDS na formulação, chegando a 50% (m/m) de líquido autoemulsionante. O pó resultante pode, então, ser usado como preenchimento de cápsulas ou na manufatura de comprimidos (MANDIĆ *et al.*, 2017; TANG *et al.*, 2008).

### 2.5.1. Sistemas autoemulsionáveis sólidos contendo CARV

Bhandari e Avachat (2015) produziram pellets contendo CARV utilizando a técnica de extrusão-esferonização. Inicialmente, foram obtidas formulações de L-SEDDS contendo diferentes proporções de Capmul MCM EP, Cremophor EL, Tween 20 e propilenoglicol. Para a obtenção do S-SEDDS, 20 mL da formulação líquida contendo 5% de CARV foram misturados com celulose microcristalina, crospovidona e povidona K-30 durante 10 min em uma misturadora planetária. Quantidade suficiente de água foi adicionada até que fosse obtida uma massa úmida, em seguida, a formulação foi extrusada, esferonizada, os pellets foram secos à 60°C por 40 min e usados no preenchimento de cápsulas gelatinosas. Por fim, o S-SEDDS que apresentou as melhores respostas quanto ao tamanho de gotículas, tempo de reconstituição e dissolução, continha L-SEDDS composto por capmul MCM EP, cremophor EL e propilenoglicol (4:4:2, v/v/v). Análises de caracterização mostraram que o diâmetro médio das gotículas após redispersão foi de 160,47 nm, valor semelhante ao encontrado para o L-SEDDS (142,89 nm). As análises de calorimetria exploratória diferencial e difração de raios-X confirmaram a ausência de CARV na forma cristalina. O teste de dissolução mostrou que o S-SEDDS apresentou 100% de liberação após 60 min de dissolução, enquanto o fármaco puro mostrou apenas 46% e o comprimido comercial de liberação imediata apenas 68% (BHANDARI; AVACHAT, 2015).

A técnica de termoextrusão foi usada na solidificação de L-SMEDDS contendo CARV por Silva e colaboradores (2018). A formulação líquida foi otimizada, sendo composta por triglicerídeos cáprico/caprílico (CCT), tensoativo Plurol® e Transcutol® HP (50%, 37,5% e 12,5%, respectivamente). O L-SMEDDS foi caracterizado como uma microemulsão translúcida e com reduzido tamanho médio, Pdl e potencial zeta ( $140,04 \pm 7,22$  nm,  $0,219 \pm 0,011$  e  $-9,77 \pm 0,86$  mV). Volume adequado de L-SEDDS foi misturado em dióxido de silício coloidal, celulose microcristalina 101, acetofalato de hidroxipropilmetilcelulose, hidroxipropilcelulose e talco, e a mistura resultante foi então extrusada em uma termoextrusora de parafuso duplo. Diferentes misturas de excipientes e condições operacionais da extrusora foram testadas. Os autores relataram que menores concentrações de CARV somado à temperatura e tempo de recirculação mais elevados deram origem à extrusados com rápida e completa liberação do CARV em pH 6,8.

Singh e colaboradores (2013) propuseram uma nova abordagem na obtenção de S-SNEDDS contendo CARV apenas por meio da seleção, combinação e mistura de lipídeos e emulsificantes com alto ponto de fusão. A formulação otimizada apresentou melhora significativa no perfil de liberação do CARV em relação ao medicamento comercial, bem como aumento de sua biodisponibilidade. A partir de ensaios de perfusão intestinal *in situ*

em ratos os autores atribuíram o aumento significativo na absorção à ocorrência de transporte linfático e à redução do efluxo mediado pela glicoproteína-P.

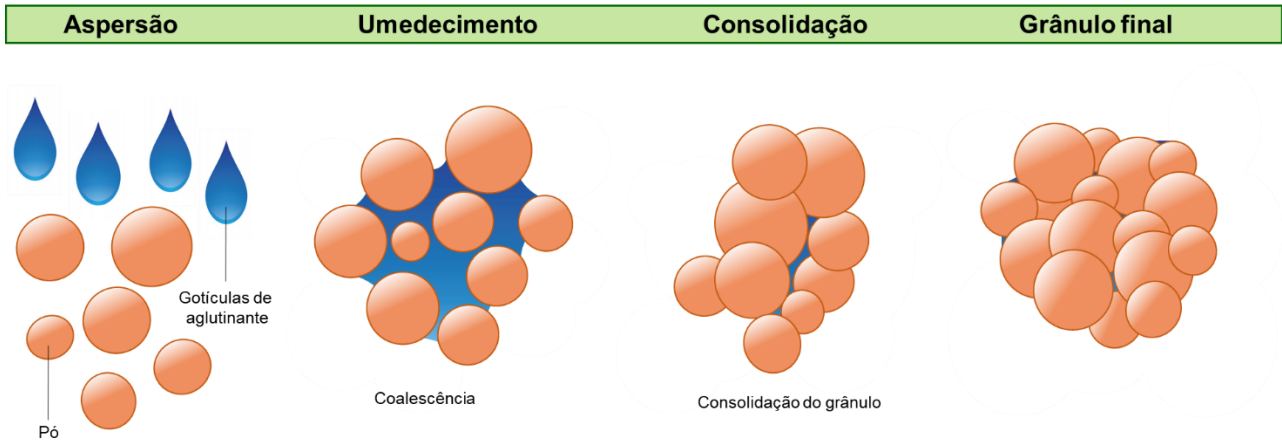
Em um estudo recente, Mandić e colaboradores (2019) avaliaram a solidificação L-SMEDDS contendo CARV por revestimento de pellets inertes em leite fluidizado. A formulação líquida selecionada por esses autores continha Kolliphor® RH40 como tensoativo não iônico e PEG 400 como solvente, os quais perfaziam 80% da massa da formulação (Kolliphor®: PEG 400, 1:1). Além disso, os autores adicionaram 20% de veículo oleoso (Capmul®: Óleo de rícino, 1:1), com capacidade de solubilizar 123 mg de CARV por grama de L-SMEDDS. Diversas dispersões poliméricas de revestimento foram testadas no revestimento de pellets inertes em leite fluidizado. Por fim, os autores obtiveram um ganho de massa de 2024% (ganho de massa 21,5 vezes). Foi observado que a solidificação do SMEDDS não interferiu em parâmetros como tamanho das gotículas após redispersão, propriedade autoemulsificante e taxa de dissolução, esta última tendo se mostrado maior quando comparada com o fármaco puro ou com pellets revestidos com carvedilol amorfo.

Por fim, Mandić e colaboradores (2017) destacaram que a solidificação de L-SEDSS é um processo que ainda apresenta limitações, sendo necessárias pesquisas e desenvolvimento. A literatura disponível sobre a solidificação de SEDSS contendo CARV é ainda esparsa e inclui a avaliação de métodos que apresentam reduzida aplicação industrial (extrusão/esferonização e termoextrusão) ou que requerem elevado tempo de processamento (leite fluidizado). No presente momento, a técnica de granulação de alto cisalhamento poderia ser mais facilmente e prontamente empregada no setor industrial, devido a sua disponibilidade, simplicidade, elevada reprodutibilidade e reduzido tempo de processamento.

## **2.6. Granulação de alto cisalhamento**

O processo de granulação em alto cisalhamento, esquematizado na Figura 3, consiste em uma série de etapas que são iniciadas pela aspersão ou gotejamento da formulação líquida aglutinante sobre uma mistura de pós, seguido de nucleação, crescimento e consolidação de grânulos, bem como a quebra de grandes aglomerados (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019).

**Figura 3.** Esquema das diferentes etapas do mecanismo de granulação durante o processo de granulação úmida.



Fonte: Próprio autor.

Thapa, Tripathi e Jeong (2019) descrevem que a granulação úmida de alto cisalhamento é uma das técnicas mais empregadas na indústria farmacêutica e reúne diversas vantagens, tais como o reduzido tempo de processamento, maior densificação e dureza dos grânulos, estreita faixa de operação do equipamento e boa reprodutibilidade. As principais diferenças entre a granulação de alto cisalhamento e outras técnicas de granulação estão resumidas no Quadro 2.

**Quadro 2.** Comparação de parâmetros de processo e propriedades de grânulos entre as técnicas de granulação de alto cisalhamento e outros métodos de granulação.

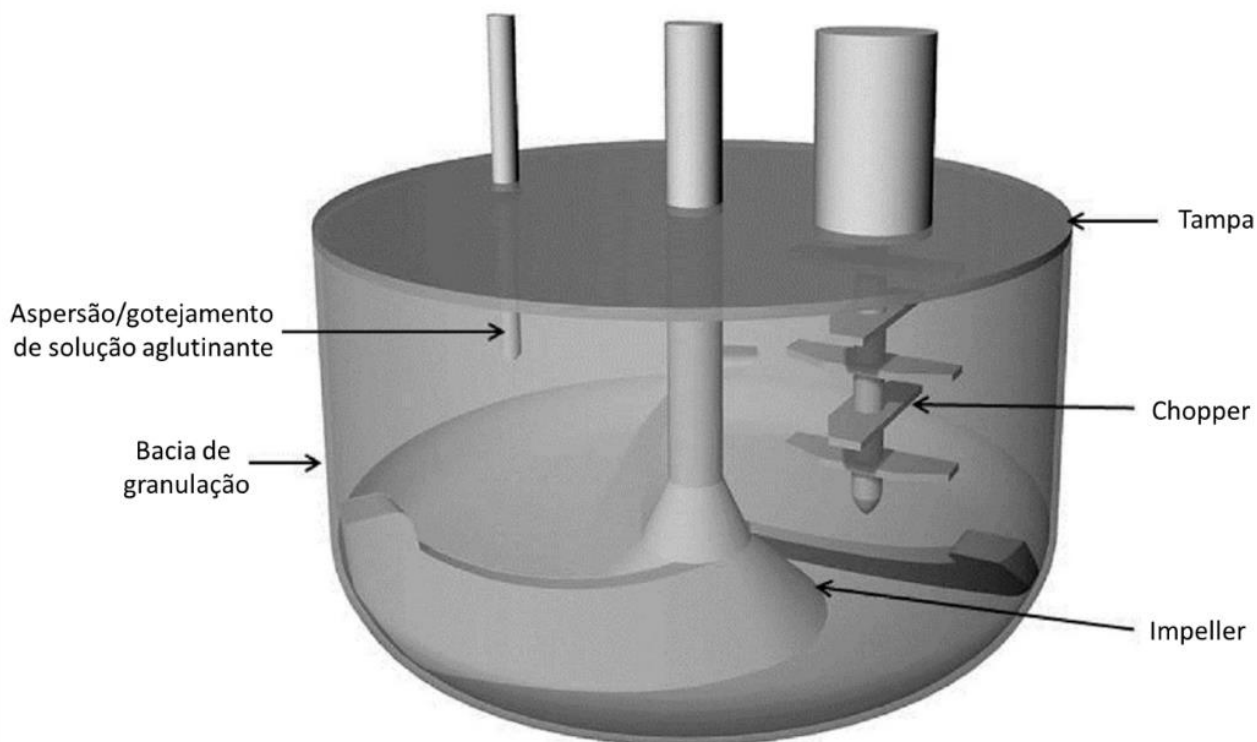
Parâmetros de processo/propriedade dos grânulos	Granulação de alto cisalhamento	Outros métodos de granulação
Tempo de granulação	Curto	Longo
Uso de líquido aglutinante	Menor	Maior
Parâmetros de operação do equipamento	Estreita	Ampla
Redução na poeira do processo	Maior	Menor
Reprodutibilidade do processo com relação à distribuição uniforme do tamanho dos grânulos	Maior	Menor
Compressibilidade dos granulos	Maior	Menor
Friabilidade dos grânulos	Menor	Maior
Determinação do ponto final de granulação	Previsível	Baixa previsibilidade
Densificação do grânulo	Maior	Menor

Fonte: Adapado de KUMAR *et al.*, 2013.

O granulador de alto cisalhamento (Figura 4) é um equipamento composto basicamente por um recipiente de granulação, um impulsor (*impeller*) que realiza a mistura por meio de sua rotação, ajudando a distribuir o líquido aglutinante no leito de pó. A

movimentação do *impeller* confere atrito elevado entre as partículas, contribuindo para a consolidação e quebra dos aglomerados. O equipamento também é composto por uma unidade responsável por quebrar grandes aglomerados, denominada de triturador (*chopper*) (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019).

**Figura 4.** Imagem esquemática do granulador de alto cisalhamento e suas partes constituintes.



Fonte: Adapado de THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019.

Diversos excipientes sólidos podem ser empregados no processo de granulação de alto cisalhamento, dessa forma, uma seleção correta é essencial para a obtenção de grânulos com maior qualidade (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019). Assim sendo, alguns excipientes, por já serem empregados na rotina da indústria farmacêutica, merecem destaque.

O dióxido de silício coloidal é um excipiente bastante empregado em formulações por suas propriedades adsorvente, deslizante e desintegrante de cápsulas/comprimidos (AULTON; TAYLOR, 2016). É praticamente insolúvel em água, possui tamanho de partícula reduzido (15 nm) e elevada área de superfície (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). Mandić e colaboradores (2017) relataram que o dióxido de silício coloidal (Aerosil) tem sido intensamente usado para obter formulações lipídicas sólidas, emulsões secas e S-SEDDS.

As celuloses são excipientes farmacêuticos biocompatíveis, quimicamente inertes e que apresentam boas propriedades de formação de comprimidos (AULTON; TAYLOR,

2016). O tipo mais comum de celulose é a celulose microcristalina, que apresenta características de não-aderência, boa compressibilidade, sendo amplamente empregada na indústria farmacêutica como agente diluente e adsorvente (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017; AULTON; TAYLOR, 2016).

A lactose monoidratada é um excipiente farmacêutico muito usado na indústria para compressão direta, como diluente para cápsulas/comprimidos e em processos de granulação úmida (THAPA; TRIPATHI; JEONG, 2019; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017; AULTON; TAYLOR, 2016). Tem um sabor agradável, não é higroscópica, apresenta boa compactabilidade e, por ser solúvel em água, a lactose requer menos líquido de granulação do que outros excipientes (AULTON; TAYLOR, 2016).

Thapa, Tripathi e Jeong (2019) descreveram que as combinações de lactose e celulose podem dar origem a grânulos de melhor qualidade, uma vez que a lactose é um material quebradiço e a celulose microcristalina é um material de deformação plástica. A associação destes comportamentos distintos facilita a obtenção de comprimidos com boas propriedades.

Outro excipiente empregado na indústria farmacêutica é a crospovidona. Usada na concentração de 2 a 5%, apresenta alta atividade capilar e capacidade de hidratação acentuada, por esse motivo, é amplamente utilizada como agente desintegrante (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

Franceschinis e colaboradores (2011) otimizaram a preparação de S-SEDDS por granulação úmida em um misturador de alto cisalhamento com o objetivo de aumentar a taxa de dissolução do piroxicam, fármaco pertencente à classe II do SCB. No plano experimental, foram utilizados lotes de 200 g compostos por 70% de celulose microcristalina, 27% de lactose monoidratada e 3% de polivinilpirrolidona K 90, misturados a seco durante 10 min à 120 rpm. Em seguida, 140 g do L-SEDDS contendo piroxicam foram gotejados a uma taxa de 10 mL/min. Após a etapa de umedecimento, a velocidade do impeller foi aumentada para 600 rpm por 2 min. Os SEDDS foram compostos por Cremophor<sup>®</sup> EL (tensoativo), Lauroglycol<sup>™</sup> 90 (componente oleoso) e Transcutol<sup>®</sup> HP (co-tensoativo). Os autores relataram que os diâmetros médios das gotículas da emulsão encontravam-se entre 3 e 71 µm e a solidificação não alterou significativamente os diâmetros após a reconstituição. Os resultados dos testes de dissolução forneceram evidências de que a liberação do piroxicam foi mais rápida nos S-SEDDS quando comparados com o fármaco puro. Os autores observaram que a formulação com maior concentração de Cremophor<sup>®</sup> EL obteve diâmetro médio de gotículas menor após a reconstituição, o que pode ter influenciado positivamente em uma liberação maior do fármaco no ensaio de dissolução.

Apesar das vantagens na técnica granulação de alto cisalhamento, poucos estudos avaliaram o impacto dessa técnica na obtenção de S-SEDDS e, nenhum deles, objetivou desenvolver um sistema sólido contendo CARV.

### 3.1. Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma formulação sólida autoemulsionável contendo CARV por granulação de alto cisalhamento.

### 3.2. Objetivos específicos

- ✓ Selecionar tensoativos e solventes para desenvolvimento dos L-SEDDES;
- ✓ Obter e caracterizar os L-SEDDES;
- ✓ Avaliar a capacidade de solubilização do carvedilol (CARV) nos L-SEDDES;
- ✓ Preparar S-SEDDES por granulação de alto cisalhamento e estudar o impacto de variáveis de formulação e de processo sobre as propriedades do produto final usando um planejamento de mistura;
- ✓ Caracterizar os S-SEDDES quanto a suas propriedades de fluxo e compressibilidade (ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner), granulometria, propriedade auto-emulsionante, teor e dissolução do CARV, difração de raios-X e microscopia eletrônica de varredura.

### 4.1. Substâncias e reagentes

- Ácido clorídrico 37%, NEON Comercial Ltda, Brasil.
- Carvedilol, Aastrid International PVT, Índia.
- Celulose Microcristalina 101, Roquete.
- Crospovidona (Polyplasdone™ XL-10®), Ashland.
- Dióxido de silício coloidal (Aerosil 200), Evonik.
- Éter-monoetil-dietilenoglicol (Transcutol® HP), Gattefossé, França.
- Fosfato de potássio monobásico anidro, Synth, Brasil.
- Fosfato de potássio dibásico anidro, Synth, Brasil.
- Hidróxido de sódio, ISOFAR, Brasil.
- Macrogol-15-hidroxiestearato (Solutol® HS15), BASF, Alemanha.
- Óleo de rícino polioxil-40 hidrogenado (Kolliphor® RH40), Sigma-Aldrich, Alemanha.
- Lactose Monoidratada, Davigo Foods International, Estados Unidos.
- Metanol HPLC, Merck, Alemanha.
- Óleo de rícino refinado (Castor oil – especificações segundo Farmacopeia Alemã - DAB), Sigma-Aldrich, Índia.
- Polietilenoglicol 400 (PEG 400), LABSYNTH, Brasil.

### 4.2. Equipamentos e utensílios diversos

- Agitador de peneiras para análises granulométricas, Bertel, Brasil.
- Agitador de tubos tipo vórtex, Phoenix Luferco, Brasil.
- Banho de Ultrassom Q3.0/40A, Ultronique, Brasil.
- Balança semi-micro analítica AUW220D, Shimadzu Corporation, Japão.
- Balança, Mettler Toledo, Brasil.
- Banho maria com circulação SL-154, Solab, Brasil.
- Bomba peristáltica, Watson Marlow, Brasil.
- Centrífuga SL-720, Solab, Brasil.
- Chapa aquecedora com agitação magnética RT10power– IKA, Alemanha.
- Difractômetro Shimadzu XRD-6000, Brasil.

- Dissolutor, Erweka® GmbH, Alemanha.
- Genesys 50 – Espectrofotômetro UV-Visível, Thermo Fisher, Estados Unidos.
- Incubadora Shaker SL-233, Solab, Brasil.
- Medidor de fluidez de pós, Erweka® GmbH, Alemanha.
- Mixer-Granulator Diosna P 1/6, Dierks & Soehne GmbH, Alemanha.
- pHmetro PG1800 – Gehaka, Brasil.
- Tapped Density Tester, Erweka® SVM, 12 Alemanha.
- U5 Underdriven Comil®, Quadro, Canadá.
- ZetaSizerNano-S – Nano-ZS90 – Malvern Instruments, Reino Unido.

### 5.1. Desenvolvimento do método analítico para quantificação do CARV por espectrofotometria UV/Vis

O método analítico para a quantificação do CARV por espectrofotometria foi adaptado a partir do método descrito por Taveira e colaboradores (2018), adotando critérios recomendados pelo ICH (2005), que preconiza a avaliação dos parâmetros analíticos de linearidade, exatidão, precisão, limite de quantificação, limite de detecção e seletividade. As análises foram realizadas no espectrofotômetro UV-Vis Genesys 50, Thermo Fisher®, em comprimento de onda 242 nm, empregando metanol como diluente.

#### 5.1.1. Linearidade

A linearidade foi determinada pela construção de curva analítica utilizando-se soluções com concentração de CARV no intervalo linear de 0,5 a 8,0 µg/mL, em triplicata. O desvio padrão relativo entre as áreas dos picos, o coeficiente de variação (CV %) da curva de calibração, o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) e coeficiente de correlação ( $r$ ) foram determinados.

#### 5.1.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

O LQ é representado pela menor concentração de CARV que pode ser determinada com precisão e exatidão. Dessa forma, foram preparadas soluções com concentrações decrescentes de CARV (0,5; 0,2 e 0,1 µg/mL) e analisadas, em triplicata, extraído-se o desvio padrão e coeficiente de variação para cada concentração analisada. O LD foi determinado pela análise de amostras com concentrações conhecidas e por determinação do nível mínimo no qual a substância analisada pode ser detectada com confiabilidade.

#### 5.1.3. Precisão e Exatidão

A precisão foi determinada no ponto médio da curva (4,0 µg/mL), em sextuplicata, a partir da proximidade dos resultados obtidos no mesmo dia e em dias diferentes (intra e interdia) e seus respectivos CV(%).

A exatidão foi determinada analisando concentrações de três pontos da curva (1,0; 4,0 e 8,0 µg/mL), em triplicata, avaliando a relação entre as concentrações encontradas e seus respectivos valores teóricos.

#### 5.1.4. Seletividade

Para determinar a seletividade do método, avaliou-se todas as combinações de tensoativo:co-solvente:óleo empregados na obtenção dos L-SEDDS, na razão (2:2:1): (1) Solutol® HS15: Transcutol® HP: Óleo de rícino; (2) Solutol® HS15: PEG400: Óleo de rícino; (3) Kolliphor® RH40: Transcutol® HP: Óleo de rícino; (4) Kolliphor® RH40: PEG400: Óleo de rícino. Adicionalmente, as soluções utilizadas nos estudos de dissolução in vitro (solução de HCl e solução tamponante fosfato de potássio) também foram analisadas. As amostras foram diluídas em metanol e analisadas por espectrofotometria.

## 5.2. Obtenção e caracterização dos L-SEDDS

### 5.2.1. Obtenção dos L- SEDDS

Os sistemas autoemulsionáveis foram obtidos a partir da simples mistura dos componentes descritos na Tabela 1. As misturas foram preparadas sob agitação magnética à 350 rpm e 37°C, durante 15 minutos em chapa magnética RT10 power– IKA.

**Tabela 1.** Composição das formulações autoemulsionáveis líquidas.

Formulação	Tensoativo	Co-solvente	Veículo oleoso	Razão mássica (m/m/m)
ST (3:1)				3:1:1
ST (1:1)	Solutol® HS15	Transcutol® HP	Óleo de rícino	2:2:1
ST (1:3)				1:3:1
SP (3:1)				3:1:1
SP (1:1)	Solutol® HS15	PEG400	Óleo de rícino	2:2:1
SP (1:3)				1:3:1
KT (3:1)				3:1:1
KT (1:1)	Kolliphor® RH40	Transcutol® HP	Óleo de rícino	2:2:1
KT (1:3)				1:3:1
KP (3:1)				3:1:1
KP (1:1)	Kolliphor® RH40	PEG400	Óleo de rícino	2:2:1
KP (1:3)				1:3:1

Para a obtenção dos L-SEDDS contendo CARV, o fármaco (10%, m/m) foi acrescentado às misturas, as quais foram, em seguida, agitadas. As formulações foram armazenadas em frascos de vidro transparente com tampa rosqueável, os quais foram

acondicionados em ambiente seco, protegido da luz e sob temperatura ambiente, até o momento do uso.

### *5.2.2. Avaliação da propriedade autoemulsionante dos L-SEDDS*

As formulações líquidas foram avaliadas quanto a suas propriedades autoemulsionantes a partir da diluição de 1 mL dos concentrados autoemulsionáveis em 250 mL de solução de HCl 0,1 M (pH 1,2) ou no mesmo volume de solução tamponante fosfato de potássio 0,2 M (pH 6,8). Após a diluição, a mistura foi mantida sob agitação magnética à 350 rpm por 15 minutos à temperatura ambiente. O aspecto visual das dispersões foi avaliado após 1, 5 e 15 minutos de agitação e após 24 horas de repouso. Análise do diâmetro das gotículas e índice de polidispersão (Pdl) foram realizadas por espalhamento dinâmico de luz, em um equipamento Nano-ZS90 (Malvern Instruments®). Sistemas estáveis foram identificados como aqueles que, na inspeção visual, não apresentaram separação de fases, floculação ou precipitação após 24 h de repouso. Todas as análises foram realizadas em triplicata de formulação e os resultados foram plotados como sendo a média dos valores obtidos.

### *5.2.3. Estudo de solubilidade do carvedilol nos L-SEDDS*

Quantidade em excesso de CARV foi adicionado a 2,5 g das diferentes formulações de L-SEDDS. Em seguida, as misturas foram agitadas a 250 rpm e 37°C durante 60 horas para garantir a saturação do sistema. Após agitação, cada formulação foi filtrada, apropriadamente diluída em metanol e quantificada por espectrofotometria UV-Vis, conforme descrito na seção 5.1. A análise de solubilidade foi realizada em triplicata para cada formulação.

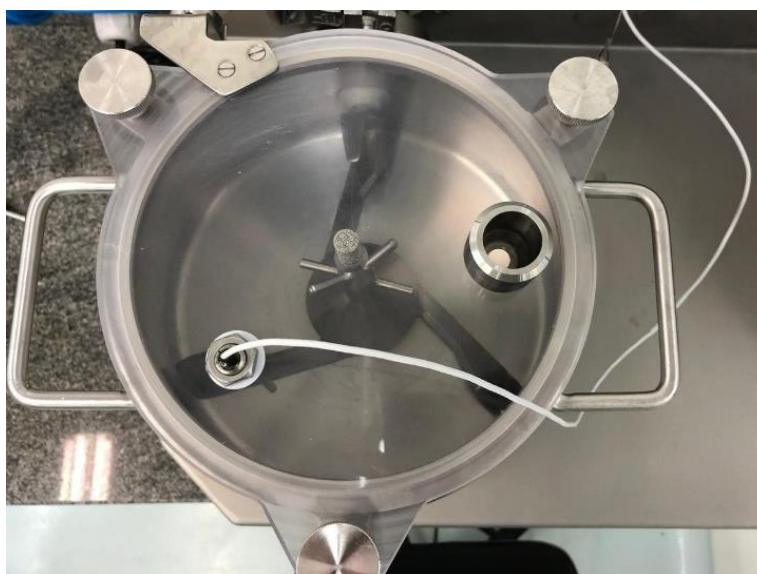
### *5.2.4. Estudo de estabilidade do L-SEDDS contendo CARV*

O sistema autoemulsionável ST (1:3) carregado com 10% de CARV foi mantido ao abrigo da luz e sob temperatura controlada em três condições (4°C, 25°C e 40°C), a fim de se verificar a estabilidade da formulação imediatamente após o preparo (T = 0 min), 3, 7, 15 e 30 dias de armazenamento. Nos tempos determinados, alíquotas de cada amostra foram retiradas e analisadas quanto ao aspecto visual, diâmetro e Pdl (após diluição de 250x em solução HCl 0,1 M, pH 1,2). Todas as análises foram realizadas em triplicata de formulação e os resultados foram plotados como sendo a média dos valores obtidos.

### 5.3. Obtenção de S-SEDDS em granulador de alto cisalhamento

A formulação líquida que apresentou as melhores características relacionadas aos critérios avaliados (propriedade autoemulsionante e, especialmente, solubilidade de CARV), foi selecionada para execução dos testes de solidificação em granulador de alto cisalhamento (Mixer-Granulator Diosna, Dierks & Soehne GmbH®). Os testes foram conduzidos nas dependências da empresa Ashland Inc. (São Paulo). A capacidade volumétrica da unidade de mistura empregada foi de 1 litro (Figura 5).

**Figura 5.** Granulador de alto cisalhamento empregado na obtenção dos S-SEDDS.



Fonte: Próprio autor.

Inicialmente, os excipientes sólidos selecionados (celulose microcristalina, lactose, aerosil e crospovidona, descritos na Tabela 2) foram misturados por 5 minutos, empregando a velocidade do *impeller* de 100 ou 300 rpm (condição especificada pelo desenho experimental para cada formulação – Tabela 3). Em seguida, o L-SEDDS selecionado foi gotejado a uma taxa de 2,7 mL/min sobre o leito de pós. Por fim, após o término do gotejamento, a operação de mistura foi mantida por mais 2 minutos. Cada formulação solidificada possuía um peso total de 100 g. Para uniformização dos grânulos e quebra de possíveis aglomerados, os grânulos foram submetidos a uma calibração em tamis com abertura de malha de 1,5 mm (U5 Underdriven Comil®, Quadro, Canadá). Após o término da solidificação, cada formulação foi acondicionada em sacos plásticos vedados e protegidos da luz.

Um planejamento de mistura combinado foi utilizado para avaliar o efeito de variáveis de processo e de formulação sobre os grânulos obtidos. A concentração de crospovidona, L-SEDDS, celulose, lactose, aerosil, assim como as velocidades do *chopper* e do *impeller* foram estudados como variáveis de entrada (Tabela 2). Um total de vinte e cinco formulações foram preparadas (Tabela 3). Foi produzido um lote de cada formulação. As variáveis de saída do desenho experimental foram as seguintes: (1) dissolução *in vitro* em solução de HCl nos tempos 2,5 min e 60 min; (2) dissolução em solução tamponante fosfato de potássio nos tempos 2,5 min e 120 min; (3) ângulo de repouso; (4) índice de Carr e fator de Hausner.

**Tabela 2.** Variáveis estudadas e seus níveis no planejamento de mistura combinado.

<b>Código</b>	<b>Variável</b>	<b>Unidade</b>	<b>Nível mínimo</b>	<b>Nível máximo</b>
<b>A</b>	Crospovidona	%	0	5
<b>B</b>	L-SEDDS	%	20	40
<b>C</b>	Celulose	%	20	40
<b>D</b>	Lactose	%	20	40
<b>E</b>	Aerosil	%	20	40
<b>F</b>	Chopper	rpm	500	1000
<b>G</b>	Impeller	rpm	100	300

**Tabela 3.** Matriz de planejamento de mistura combinado.

Formulação	Variáveis de formulação (g)					Variáveis de processo (rpm)	
	ST (1:3)	Celulose	Lactose	Aerosil	Crospovidona	Chopper	Impeller
1	20,0	20,0	20,0	37,5	2,5	500	100
2	20,0	20,0	40,0	20,0	0,0	500	100
3	21,7	20,0	38,3	20,0	0,0	500	300
4	20,0	24,5	26,3	24,2	5,0	1000	100
5	20,0	20,0	40,0	20,0	0,0	1000	100
6	20,0	40,0	20,0	20,0	0,0	1000	100
7	20,0	20,0	40,0	20,0	0,0	1000	300
8	40,0	20,0	20,0	20,0	0,0	500	300
9	20,0	24,5	26,3	24,2	5,0	1000	100
10	25,3	20,0	24,7	25,0	5,0	1000	300
11	25,3	20,0	24,7	25,0	5,0	1000	300
12	29,6	20,8	29,6	20,0	0,0	500	100
13	40,0	20,0	20,0	20,0	0,0	500	100
14	20,0	38,9	20,0	21,1	0,0	500	300
15	20,0	20,0	22,1	37,9	0,0	500	300
16	20,0	20,0	20,0	40,0	0,0	1000	300
17	40,0	20,0	20,0	20,0	0,0	1000	300
18	25,3	20,0	24,7	25,0	5,0	1000	300
19	20,0	20,0	20,0	40,0	0,0	1000	100
20	20,0	37,7	20,0	20,0	2,3	500	100
21	25,7	25,6	23,6	20,0	5,0	500	300
22	25,7	25,6	23,6	20,0	5,0	500	300
23	37,4	20,0	20,0	20,0	2,6	1000	100
24	25,7	25,6	23,6	20,0	5,0	500	300
25	21,7	38,0	20,0	20,0	0,3	1000	300

## 5.4. Caracterização dos S-SEDDS

### 5.4.1. Determinação do Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner

Uma alíquota de 50 g de cada formulação foi pesada, transferida para um funil de 250 mL com abertura de 25 mm e altura de 7 cm, posicionado sobre base fixa (Medidor de fluidez de pós, Erweka® GmbH). O resultado do ângulo de repouso foi fornecido pelo próprio equipamento, a partir do cálculo da tangente obtida pela altura e raio formados pelo cone da amostra, conforme Equação I. A partir dos resultados obtidos, os grânulos foram

classificados quanto a sua propriedade de escoamento. As análises foram realizadas em triplicata.

$$\text{Tan } \alpha = \frac{\text{altura}}{0,5 * \text{base}} \quad (\text{Equação I})$$

Para avaliação do índice de Carr e Fator de Hausner, alíquota de 10 g de cada formulação foi pesada e vertida suavemente em uma proveta graduada de 100 mL. Em seguida, o volume aparente foi aferido e a densidade aparente foi calculada como sendo a razão entre a massa de pó e seu volume (g/mL). Posteriormente, a proveta foi batida 100 vezes até atingir volume constante (volume compactado) e a densidade compactada foi calculada. Por fim, foram calculados os Índices de Carr e Fator de Hausner, de acordo com as Equações II e III, respectivamente.

$$\text{Índice de Carr} = \frac{(\text{Va} - \text{Vc}) * 100}{\text{Va}} \quad (\text{Equação II})$$

$$\text{Fator de Hausner} = \frac{\text{Va}}{\text{Vc}} \quad (\text{Equação III})$$

Onde: Va é o volume aparente e Vc é o volume compactado.

#### 5.4.2. Determinação da granulometria dos pós

A granulometria foi determinada seguindo as diretrizes da Farmacopeia Brasileira 6ª Ed. (BRASIL, 2019), com o auxílio de tamises operados por dispositivo mecânico. Cinco tamises foram selecionados e montados em ordem decrescente de abertura da malha (850 µm, 425 µm, 250 µm, 106 µm e 63 µm). Uma amostra de 25 g de cada formulação foi pesada e transferida para o tamis superior. O conjunto foi tampado e agitado em um agitador de peneiras Bertel por 15 min. Após o término deste período, a amostra retida na em cada tamis foi removida e pesada. Da mesma forma, o pó retido no coletor também foi pesado (fração de finos, <63 µm). O percentual retido em cada tamis foi calculado utilizando a Equação IV.

$$\% \text{ Retida pelo tamis} = \frac{\text{P1}}{\text{P2}} * 100 \quad (\text{Equação IV})$$

Onde: P1 = peso da amostra retida no tamis (em gramas);  
P2 = soma dos pesos retidos nos tamises e no coletor (em gramas).

#### 5.4.3. *Determinação das propriedades autoemulsionantes e tamanho da gotícula da emulsão*

Com o objetivo de avaliar as propriedades autoemulsionantes dos S-SEDDS, uma alíquota de cada formulação sólida, bem como do L-SEDDS (contendo ou não CARV) foi dispersa (1:250, m/v) em HCl 0,1M (pH 1,2). A mistura foi mantida sob agitação magnética (300 rpm) à 37°C durante 30 minutos a fim de garantir completa dispersão. Em seguida, as amostras foram filtradas em filtro PVDF 0,45 µm. As emulsões foram então avaliadas quanto ao tamanho e dispersividade das gotículas pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (DLS) em um equipamento Zeta Sizer Nano (Nano-ZS90 – Malvern Instruments®). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como a média das replicatas.

#### 5.4.4. *Determinação do teor de CARV nos S-SEDDS*

A determinação do teor de CARV nos S-SEDDS foi realizada a partir da pesagem de alíquota das formulações (quantidade equivalente a 25 mg de CARV), a qual foi adicionada em metanol e agitada em vórtex (Phoenix Luferco®) por 60 segundos. Posteriormente, a mistura foi sonicada (Banho de Ultrassom Q3.0/40A, Ultronique®) por 5 minutos e centrifugada (Centrífuga SL-720, Solab®) à 10.000 rpm por 5 minutos. Uma alíquota do sobrenadante foi pipetada, diluída em metanol e agitada em vórtex por 60 segundos. Por fim, as amostras foram quantificadas por espectrofotometria UV-Vis (Genesys 50, Thermo Fisher®). Todas as análises foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como a média ± desvio padrão das replicatas.

#### 5.4.5. *Teste de dissolução in vitro*

O teste de dissolução *in vitro* foi realizado utilizando o aparato 2 da Farmacopeia Norte-Americana, montado em um dissolutor Erweka (Erweka GmbH®, Alemanha). Cada formulação de S-SEDDS foi pesada a fim de se obter uma quantidade equivalente a 25 mg de CARV por cuba. Em seguida, a massa pesada foi adicionada em cuba contendo 900 mL de meio de dissolução (solução de HCl 0,1 M pH 1,2 ou solução tamponante fosfato de potássio 0,2 M pH 6,8) mantido à 37°C. A velocidade da pá foi ajustada para 50 rpm.

Para fins de comparação, o estudo de dissolução foi realizado pela adição de 25 mg de CARV puro ou de quantidade de L-SEDDS equivalente a 25 mg de CARV por cuba. As amostras foram adicionadas diretamente ao meio de dissolução. A quantidade de fármaco usada no estudo de dissolução foi calculada considerando-se a solubilidade do CARV nos

meios de dissolução, de forma a manter as *sink conditions*, conforme descrito por Hamed e colaboradores (2016). Alíquotas de 5 mL do meio de dissolução foram retiradas após 2,5; 5; 10; 20; 30; 45 e 60 minutos, na dissolução em meio ácido e, para a dissolução em solução tamponante fosfato, acrescentou-se uma coleta após 120 min de ensaio.

Após cada coleta, igual volume de meio de dissolução foi adicionado às cubas. As amostras foram filtradas em filtro PVDF 0,45 µm, apropriadamente diluídas em metanol e quantificadas por espectrofotometria (Genesys 50 – Espectrofotômetro UV-Visível, Thermo Fisher®) conforme descrito na seção 5.1. O estudo de dissolução foi realizado em triplicata.

#### 5.4.6. Difração de raios-X

A análise de difração de raios X foi realizada nas formulações 16 e 17 (Tabela 4), que possuem, respectivamente, 4% e 2% de CARV. Adicionalmente, foram preparadas quatro misturas físicas conforme descrito na Tabela 4. Amostras de CARV puro também foram analisadas. As amostras foram distribuídas em um suporte para amostras montado no goniômetro de um difratômetro Shimadzu® XRD-6000. Um feixe de raios X monocromático de grafite foi gerado a partir de um ânodo de cobre (radiação  $\text{CuK}\alpha$ ,  $\lambda = 0,15418$  nm) em um tubo selado (40 kV e 30 mA). Todos os perfis de DRX foram obtidos à temperatura ambiente em um modo de varredura contínua (eixo de varredura  $\theta - 2\theta$ ) com uma velocidade de varredura de  $1,000^\circ/\text{min}$ . Os dados de intensidade foram registrados a cada  $0,020^\circ$  em uma faixa  $2\theta$  entre  $5^\circ$  e  $40^\circ$ . Fendas de divergência e dispersão foram utilizadas a  $1,000^\circ$ , uma fenda receptora (0,300 mm) e contra monocromador foram utilizados. A configuração experimental e as medidas dos resultados foram realizadas usando o programa Search Match do Shimadzu® XRD-6000. Os padrões de raio X foram tratados como adquiridos, exceto o tratamento de dados brutos para normalização de todas as intensidades contra o mais intenso de cada padrão de difração. Para cada amostra, foi gerado um arquivo contendo os dados de intensidade normalizados em função das posições brutas de  $2\theta$  aumentadas em  $0,020^\circ$ .

**Tabela 4.** Formulações preparadas por mistura física para análise de difração de raios-X.

Mistura física	Composição				
	Aerosil (%)	Lactose (%)	Celulose (%)	L-SEDDS sem CARV (%)	CARV (%)
MF.1	40,0	20,0	20,0	18,0	2,0
MF.2	20,0	20,0	20,0	36,0	4,0
MF.3	32,6	32,6	32,6	0,0	2,0
MF.4	32,0	32,0	32,0	0,0	4,0

#### 5.4.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para o preparo das amostras de MEV, cada amostra pulverulenta foi espalhada em uma fita dupla face de cobre posicionada sobre um suporte metálico (*stub*). Em seguida, as amostras foram recobertas com material condutor (ouro) (Denton Vacuum, Desk V), por dois minutos, sob uma corrente elétrica de 15 mA. Após estarem condutoras, as amostras foram colocadas no Microscópio Eletrônico de Varredura (Jeol, JSM – 6610, equipado com EDS, Thermo Scientific NSS Spectral Imaging) e vácuo foi aplicado. Para a obtenção das fotomicrografias, foram empregadas tensão de 3 ou 5 kV, e magnificação de 500, 2000 e 5000x.

### 5.5. Análise estatística

Os dados dos estudos de solubilidade do CARV nos L-SEDDS e da avaliação da propriedade autoemulsionante do L-SEDDS contendo CARV foram tratados estatisticamente, sendo realizado teste t de Student ou ANOVA, adotando nível de significância  $p < 0,05$ . As análises foram realizadas com o auxílio do software GraphPad Prism 5.

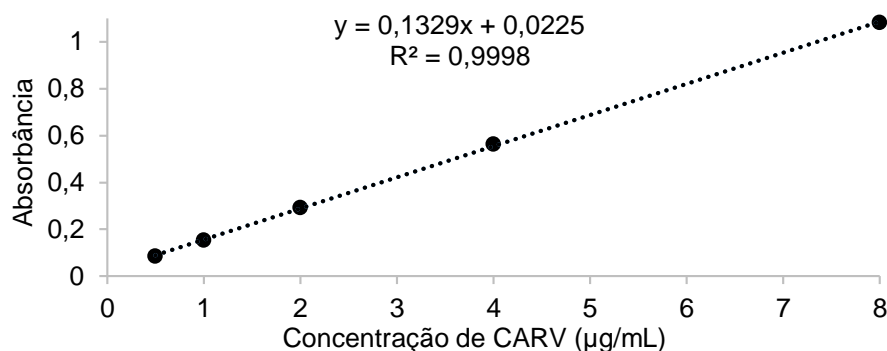
O desenho experimental para a obtenção dos S-SEDDS e as análises dos dados de caracterização dos S-SEDDS foram obtidos com o auxílio do software Design Expert v.12 (Stat-Ease Inc., Minneapolis, MN). Análise de variância (ANOVA) foi realizada para permitir a identificação de correlações significativas com nível de significância  $p < 0,05$ .

## 6.1. Quantificação do CARV por espectrofotometria UV/Vis

### 6.1.1. Linearidade

A linearização da curva de concentração do CARV em função da absorbância obtida (Figura 6) resultou na equação da reta  $y = 0,1329x + 0,0225$ ,  $R^2 = 0,9998$ ,  $r = 0,9999$ . Todos os pontos da curva apresentaram CV (%) menor que 5%. Assim, o método mostrou-se linear no intervalo de concentração de 0,5 a 8,0  $\mu\text{g/mL}$ .

**Figura 6.** Curva analítica obtida pela análise espectrofotométrica de soluções de CARV no intervalo de 0,5 a 8  $\mu\text{g/mL}$ . Diluente: metanol. Comprimento de onda: 242 nm.



### 6.1.2. Limite de Quantificação (LQ) e Limite de Detecção (LD)

Foi possível determinar o LQ na concentração de 0,5  $\mu\text{g/mL}$ , em virtude do baixo coeficiente de variação (CV%) (Tabela 5). A concentração de 0,1  $\mu\text{g/mL}$  apresentou CV% maior e foi a menor concentração capaz de ser detectada pelo método de quantificação, dessa forma, o LD foi estabelecido como 0,1  $\mu\text{g/mL}$  (Tabela 5).

**Tabela 5.** Limite de Quantificação e Limite de Detecção do CARV para o método analítico.

Concentração teórica ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbância (Média $\pm$ DP <sup>a</sup> )	Concentração real ( $\mu\text{g/mL}$ ) (Média $\pm$ DP <sup>a</sup> )	CV (%) <sup>b</sup>
0,5 <sup>#</sup>	0,084 $\pm$ 0,001	0,46 $\pm$ 0,01	1,19
0,2	0,047 $\pm$ 0,010	0,18 $\pm$ 0,08	22,21
0,1 <sup>##</sup>	0,052 $\pm$ 0,018	0,22 $\pm$ 0,14	35,25

<sup>a</sup>Desvio Padrão; <sup>b</sup>Coefficiente de variação; <sup>#</sup>Concentração correspondente ao limite de quantificação; <sup>##</sup>Concentração mais baixa detectada.

Após a determinação do LQ, foram avaliadas a exatidão e precisão do método na concentração de 0,5 µg/mL. Dessa forma, a precisão do LQ foi determinada em sextuplicata, em dois dias distintos, sendo obtidos os coeficientes de variação inter e intradia (precisão intermediária). O método mostrou-se exato para essa concentração e todos os coeficientes de variação da precisão foram menores que 5%. A recuperação de CARV também foi avaliada nas replicatas analisadas e obteve-se recuperações próximas a 100%.

### 6.1.3. Precisão e Exatidão

Nas Tabelas 6 e 7 são mostrados os valores encontrados para precisão (inter e intradia) e exatidão, respectivamente. Para a determinação da precisão e exatidão de um método analítico, é recomendado que os valores de coeficiente de variação sejam menores que 5%. Assim, o método mostrou-se preciso e exato.

**Tabela 6.** Precisão do método analítico para a quantificação do CARV.

Concentração teórica (µg/mL)	Precisão	Absorbância (Média ± DP <sup>a</sup> )	Concentração real (µg/mL) (Média ± DP <sup>a</sup> )	CV (%) <sup>b</sup>
4,0	Interdia 1	0,550 ± 0,018	3,97 ± 0,14	3,47
	Interdia 2	0,552 ± 0,024	3,98 ± 0,18	4,48
	Intradia	0,551 ± 0,020	3,98 ± 0,15	3,83

<sup>a</sup>Desvio Padrão; <sup>b</sup>Coefficiente de variação.

**Tabela 7.** Exatidão do método analítico para a quantificação do CARV.

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração real (µg/mL)	Média da Concentração real (µg/mL) (Média ± DP <sup>a</sup> )	Recuperação (%)	Média da Recuperação (%)	CV (%) <sup>b</sup>
1,0	1,00		99,70		1,16
	0,99	0,99 ± 0,01	98,95	98,70	
	0,97		97,44		
4,0	4,14		103,56		2,82
	3,95	4,01 ± 0,11	98,66	100,29	
	3,95		98,66		
8,0	8,05		100,59		3,09
	7,83	7,81 ± 0,24	97,86	97,68	
	7,57		94,57		

<sup>a</sup>Desvio Padrão; <sup>b</sup>Coefficiente de variação.

#### 6.1.4. Seletividade

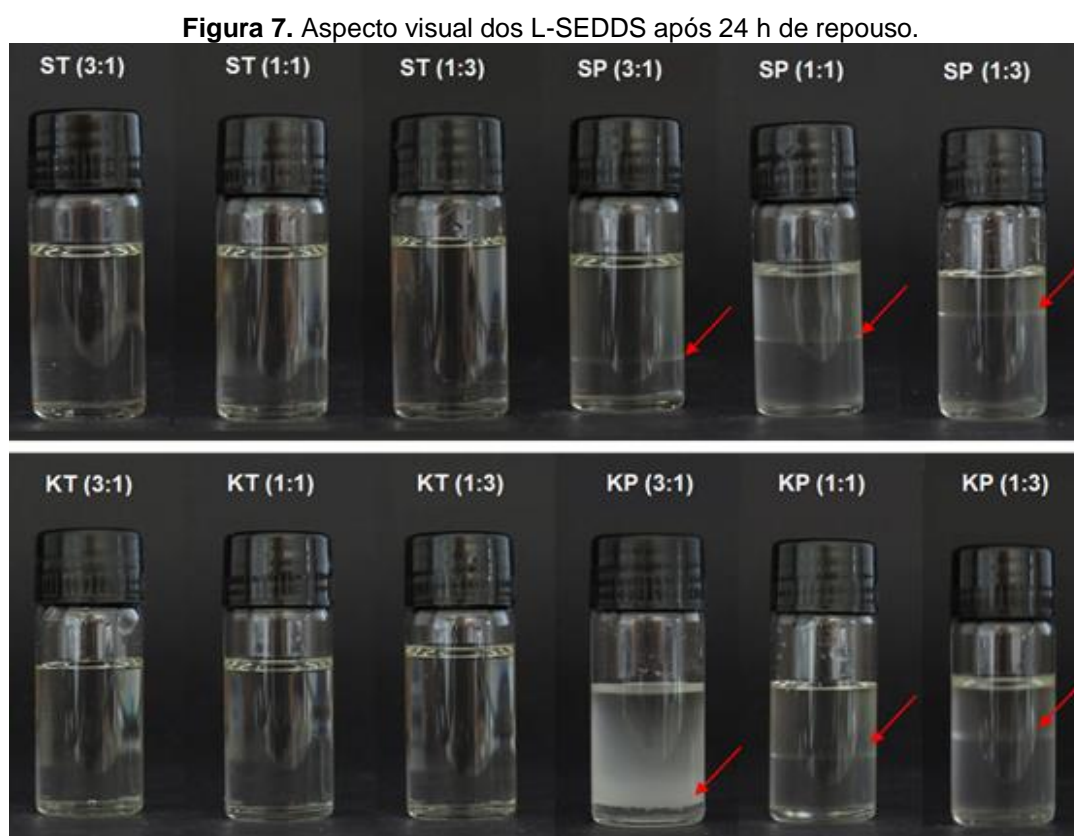
A seletividade é avaliada para garantir a habilidade do método em identificar e quantificar inequivocadamente o fármaco na presença de outros compostos que estejam presentes nas amostras. A seletividade foi realizada nas diferentes combinações de tensoativo/co-solvente/óleo, bem como nos meios utilizados na dissolução *in vitro* (solução de HCl e solução tamponante fosfato de potássio), em nenhuma análise, foi observada absorvância no comprimento de onda de 242 nm, demonstrando a seletividade do método.

### 6.2. Obtenção e caracterização dos L-SEDDS

#### 6.2.1. Obtenção dos L-SEDDS

Com o objetivo de se obter sistemas autoemulsionáveis com características desejáveis, como alta carga de CARV e formação de uma emulsão estável após dispersão em meio aquoso, diferentes combinações entre tensoativos, solventes e óleo de rícino foram testadas.

A Figura 7 apresenta o aspecto visual das diferentes formulações de L-SEDDS, descritas na Tabela 1, após 24 h de repouso.



S- Soluto<sup>®</sup> HS15; K- Kolliphor<sup>®</sup> RH40; P- PEG400; T- Transcutol<sup>®</sup> HP. Setas indicam a separação de fases.

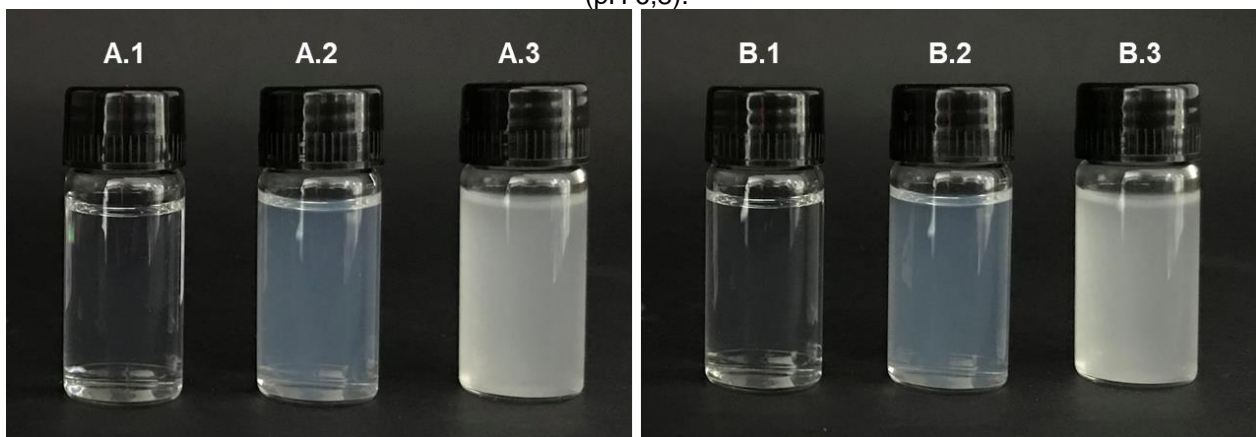
Após 1 hora de repouso (dados não mostrados), foi possível observar que todos os L-SEDDS contendo PEG400 sofreram separação de fases, com exceção da formulação KP (1:3), para a qual foram necessárias pelo menos 20 horas de repouso para que a separação de fases pudesse ser observada (Figura 7). Nenhuma separação foi observada quando a mistura continha transcutool, ao invés de PEG400. O motivo da separação de fases nas formulações contendo PEG400 deve ser a reduzida miscibilidade deste composto em gorduras, óleos fixos e óleo mineral (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017).

#### *6.2.2. Avaliação da propriedade autoemulsionante dos L-SEDDS*

Todas as formulações de L-SEDDS descritas na Tabela 1 sofreram emulsificação imediata após sua adição em meio aquoso com pH 1,2 e em pH 6,8. A Figura 8 apresenta o aspecto visual das formulações preparadas com Solutol® e Transcutol®. É válido ressaltar que o aspecto visual dessas emulsões foi mantido inalterado após 24 horas de repouso, sob temperatura ambiente. Gursoy e Benita (2004) destacaram que a melhor forma para determinar a autoemulsificação é a partir do aspecto visual dos concentrados após diluição em meio aquoso.

A Figura 8 mostra que a turbidez das emulsões contendo Solutol® e Transcutol® aumentou quando a concentração de co-solvente foi maior. Esse comportamento foi observado para todas as formulações L-SEDDS estudadas no presente trabalho (ANEXO I). As diferenças no aspecto visual das emulsões pode ser um indicativo de que diferentes tipos de sistemas dispersos foram obtidos. De fato, misturas de óleo, tensoativo e água podem formar diferentes sistemas, dependendo de sua combinação e do método de preparo (MCCLEMENTS, 2012). Por exemplo, nanoemulsões são caracterizadas por serem termodinamicamente instáveis, com aspecto branco leitoso e com gotículas de até 500 nm de diâmetro. Por sua vez, microemulsões são caracterizadas como sistemas monofásicos transparentes e termodinamicamente estáveis, com tamanhos que variam entre 5 e 140 nm (AULTON; TAYLOR, 2016).

**Figura 8.** Aspecto visual dos L-SEDDS diluídos em soluções de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8).



A.1 - ST (3:1), A.2 - ST (1:1) e A.3 ST (1:3) dispersos em solução de HCl pH 1,2 (1:250).

B.1 - ST (3:1), B.2 - ST (1:1) e B.3 ST (1:3) dispersos em solução tamponante fosfato pH 6,8 (1:250).

O diâmetro das gotículas das emulsões é um fator essencial tanto para classificação dos sistemas quanto para seu desempenho. O tamanho pode estar relacionado com a velocidade da liberação do fármaco e pode, conseqüentemente, influenciar sua absorção (GURSOY; BENITA, 2004). A análise por espalhamento dinâmico de luz (*Dynamic Light Scattering* – DLS) mostrou que o meio de dispersão (pH 1,2 ou pH 6,8) não alterou de forma significativa o diâmetro das gotículas ( $p > 0,05$ ), independentemente da formulação (Tabela 8). Adicionalmente, foi possível observar que o diâmetro médio das gotículas diminuiu à medida que a razão tensoativo:co-solvente foi modificada de 1:3 para 3:1. Relatos na literatura correlacionam a diminuição no tamanho das gotículas com o aumento da concentração de tensoativo na formulação, esse fenômeno pode ser explicado pela formação de um filme mais estável na interface O/A, com redução na tensão interfacial do sistema quando a concentração de tensoativo é aumentada (IBRAHIM *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2011). De forma semelhante, o aumento da concentração de co-solvente nas formulações preparadas com transcutool causou o aumento da heterogeneidade na distribuição de tamanho das gotículas, expressa como aumento nos valores de Pdl ( $p < 0,05$  na comparação entre os pares ST (3:1) com ST (1:3) e KT (3:1) com KT (1:3), em ambos os meios). A mesma tendência foi observada na combinação entre os pares KP (3:1) e KP (1:3), contudo, não houve diferença estatística ( $p > 0,05$ ) quando a mistura continha PEG400 e Solutol®. A incorporação de CARV nos L-SEDDS ST (1:3) e KT (1:3) não afetou de forma significativa os valores de Pdl ( $p > 0,05$ ) em comparação com as mesmas formulações sem a incorporação de CARV.

A Tabela 8 traz os valores de diâmetro médio e índice de polidispersividade dos L-SEDDS dispersos nos meios com diferentes valores de pH.

**Tabela 8.** Diâmetro médio e índice de polidispersividade (Pdl) nos diferentes L-SEDDS dispersos em solução de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8).

Amostra	Meio	Diâmetro médio (nm) ± DP <sup>a</sup>	Pdl ± DP <sup>a</sup>
ST (3:1)	pH 1,2	25,98 ± 0,55	0,049 ± 0,011
	pH 6,8	26,60 ± 0,27	0,067 ± 0,009
ST (1:1)	pH 1,2	78,14 ± 4,43	0,241 ± 0,004
	pH 6,8	72,27 ± 4,54	0,222 ± 0,031
ST (1:3)	pH 1,2	253,20 ± 9,50	0,352 ± 0,013
	pH 6,8	249,20 ± 11,38	0,357 ± 0,055
SP (3:1)	pH 1,2	38,48 ± 3,96	0,304 ± 0,079
	pH 6,8	33,34 ± 3,72	0,201 ± 0,053
SP (1:1)	pH 1,2	75,62 ± 2,92	0,240 ± 0,015
	pH 6,8	80,30 ± 5,82	0,261 ± 0,011
SP (1:3)	pH 1,2	179,40 ± 8,75	0,181 ± 0,031
	pH 6,8	175,10 ± 3,52	0,153 ± 0,024
KT (3:1)	pH 1,2	26,98 ± 1,02	0,072 ± 0,020
	pH 6,8	28,73 ± 1,48	0,121 ± 0,050
KT (1:1)	pH 1,2	36,99 ± 1,60	0,162 ± 0,045
	pH 6,8	35,55 ± 1,94	0,122 ± 0,016
KT (1:3)	pH 1,2	142,80 ± 1,76	0,219 ± 0,007
	pH 6,8	139,83 ± 5,64	0,222 ± 0,019
KP (3:1)	pH 1,2	29,73 ± 0,52	0,092 ± 0,032
	pH 6,8	29,43 ± 1,33	0,080 ± 0,018
KP (1:1)	pH 1,2	59,22 ± 6,92	0,226 ± 0,033
	pH 6,8	46,38 ± 2,07	0,132 ± 0,019
KP (1:3)	pH 1,2	167,77 ± 4,99	0,259 ± 0,064
	pH 6,8	169,43 ± 3,18	0,253 ± 0,013
ST (1:3) COM CARV	pH 1,2	215,13 ± 7,20	0,352 ± 0,036
	pH 6,8	237,60 ± 14,68	0,404 ± 0,062
KT (1:3) COM CARV	pH 1,2	141,97 ± 4,93	0,178 ± 0,047
	pH 6,8	119,30 ± 2,12	0,189 ± 0,013

Todas as formulações analisadas atenderam aos critérios de correlação e as médias correspondem os valores de *z-average* de cada formulação analisada, em triplicata. <sup>a</sup>Desvio Padrão.

A diferença principal entre as nano e microemulsões é a estabilidade termodinâmica, contudo, alguns autores relatam que a distinção desses sistemas não é de relevância biofarmacêutica, uma vez que a autoemulsificação ocorrerá no TGI e a absorção do

fármaco ocorre em uma curta janela de tempo, dessa forma, tanto as nanoemulsões (cineticamente estáveis) quanto as microemulsões (termodinamicamente estáveis) serão igualmente eficazes *in vivo* (MANDIĆ *et al.*, 2017; KUENTZ, 2012). Assim sendo, todas as formulações desenvolvidas, no aspecto relacionado à propriedade autoemulsionável, apresentam-se promissoras à solidificação.

### 6.2.3. Estudo de solubilidade do carvedilol nos L-SEDDS

Os resultados do estudo de solubilidade estão apresentados na Figura 9. A comparação entre formulações de mesma composição qualitativa mostrou que, em geral, o aumento da concentração de co-solvente, resultou em aumento da solubilidade do CARV na mistura. Nas formulações contendo Kolliphor® RH40 e PEG 400 (formulações KP), a tendência de aumento não encontrou respaldo estatístico ( $p > 0,05$ ), por outro lado, nas formulações contendo mistura de Kolliphor RH 40 e Transcutol® HP (KT), o aumento observado foi estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ). Resultado semelhante foi observado por Mahmoud, Bendas e Mohamed (2009), os quais desenvolveram L-SEDDS compostos por CARV, óleo de rícino polietoxilado, Transcutol® HP e triglicerídeos de cadeia média. Esses autores mostraram que as formulações selecionadas foram capazes de solubilizar até 125 mg de CARV por grama de formulação, quando a concentração de transcutol foi aumentada. A Figura 9 mostra, adicionalmente, os valores de solubilidade do CARV nas formulações contendo Solutol® HS15. O aumento na solubilidade em função do aumento na quantidade de co-solvente apenas se mostrou estatisticamente significativo nas misturas contendo PEG400 (SP) ( $p < 0,05$ ). A literatura mostra que a solubilidade do CARV em PEG 400 é de 176 mg/g, em Kolliphor® RH40 é de 80mg/g e em óleo de rícino é de 10 mg/g (MANDIĆ *et al.*, 2019). Não há relato prévio a respeito da solubilidade do CARV em Solutol® HS15, assim como não foi relatada a solubilidade do referido fármaco em Transcutol® HP puro. Os dados de solubilidade em PEG 400 corroboram os achados apresentados na Figura 9, sugerindo a importância da adição de co-solventes às formulações lipídicas contendo CARV.

Silva e colaboradores (2018) desenvolveram L-SMEDDS com base em mistura de triglicerídeos cáprico/caprílico, Plurol® e Transcutol® HP (50: 37,5: 12,5) e avaliaram a solubilidade do CARV nessa formulação que foi de apenas 20 mg/mL. Esse concentrado autoemulsionável deu origem a microemulsões com reduzido tamanho médio e Pdl ( $139,06 \pm 7,28$  nm,  $0,221 \pm 0,015$ ), sem precipitação de fármaco após diluição em meio aquoso (pH 6,8). Na formulação líquida obtida por Silva e colaboradores (2018), a concentração de co-

solvente foi baixa (12,5%), o que pode explicar a reduzida capacidade de solubilização do CARV.

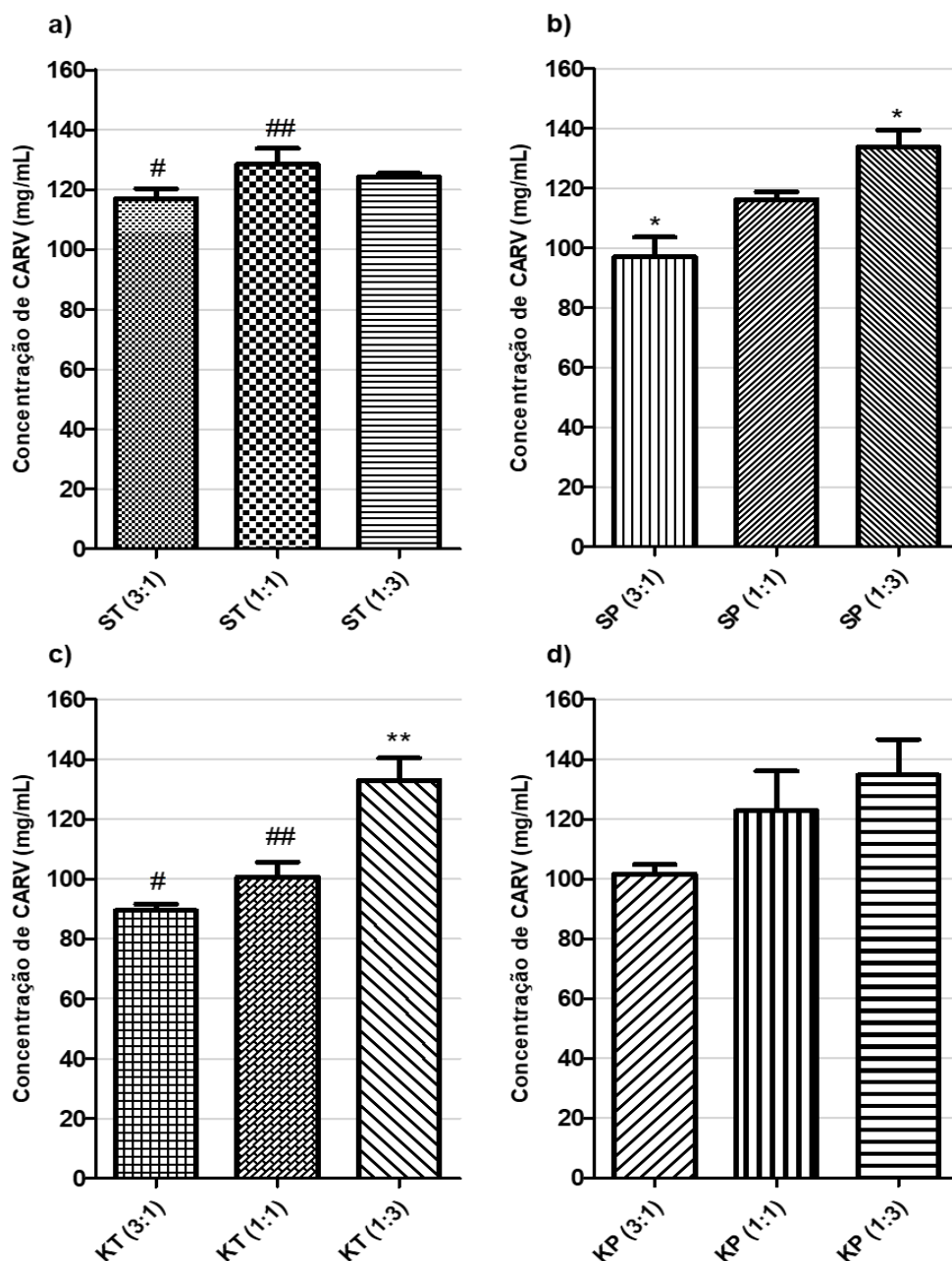
Mandić e colaboradores (2019) obtiveram L-SMEDDS composto por 80% da mistura Kolliphor® RH40 e PEG 400 (1:1) e 20% da mistura Capmul® MCM EP e óleo de rícino (1:1). Após avaliação da solubilidade, esses autores reportaram a solubilidade do CARV na mistura como sendo 123 mg/g, valor inferior aos obtidos no presente trabalho para as formulações KT (1:3) ( $132,98 \pm 12,83$  mg/g) e ST (1:3) ( $124,31 \pm 1,90$  mg/g).

É importante considerar que o sucesso do desenvolvimento de S-SEDSS depende da capacidade da formulação líquida em solubilizar o fármaco, pois durante a solidificação o fármaco é diluído na preparação. Dessa forma, as formulações de L-SEDSS desenvolvidas neste trabalho mostraram-se bastante promissoras para a etapa de solidificação.

A análise estatística aplicada às formulações de mesma composição quantitativa e diferentes composições qualitativas (Figura 9 (a) e (c)), mostrou diferença ( $p < 0,05$ ) entre os tensoativos Solutol® HS15 e Kolliphor® RH40 na comparação entre os pares ST (3:1) e KT (3:1) e ST (1:1) e KT (1:1). Esses dados mostraram que o Solutol® HS15 apresentou melhor capacidade de solubilizar o CARV.

O conjunto dos achados oriundos dos testes de solubilidade permitiu concluir que o aumento na concentração de co-solvente aumentou a solubilização do CARV. Dessa forma, as formulações com a razão 1:3 (tensoativo:co-solvente) parecem ser as mais indicadas para a obtenção dos L-SEDSS. Além disso, pode-se concluir que apesar da solubilidade do CARV nas formulações contendo PEG400 ter sido alta, as mesmas não devem ser utilizadas, pois apresentaram estabilidade física insatisfatória (separação de fases).

Figura 9. Solubilidade do CARV nas diferentes formulações.



\* Na figura 9 (b) indica diferença estatística entre SP (1:3) e SP (3:1),  $p < 0,05$ .

\*\* Na figura 9 (c) indica diferença estatística entre KT (1:3) e as formulações KT (3:1) e KT (1:1),  $p < 0,05$ .

# Na figura 9 (a) e (c), houve diferença estatística entre ST (3:1) e KT (3:1),  $p < 0,05$ .

## Na figura 9 (a) e (c), houve diferença estatística entre ST (1:1) e KT (1:1),  $p < 0,05$ .

Diversos autores ressaltam preocupações com relação à segurança e toxicidade em formulações com altos teores de tensoativos (JOYCE *et al.*, 2019; CHATTERJEE *et al.*, 2016; CERPNJAK *et al.*, 2013; GUPTA; KESARLA, OMRI, 2013). A escolha de tensoativos é limitada, pois poucos são aceitáveis para administração oral e, no que tange à segurança, os tensoativos não iônicos, como o Solutol® HS15 e o Kolliphor® RH40, são os mais recomendados (CERPNJAK *et al.*, 2013). Além da menor toxicidade, os tensoativos não-iônicos permitem uma boa estabilização das emulsões em uma faixa mais ampla de força

iônica e pH. Por outro lado, o mecanismo pelo qual os tensoativos aumentam a permeação intestinal (particionando-se na membrana celular e interrompendo, de forma reversível, a organização estrutural da bicamada lipídica) torna-se uma possível desvantagem, contudo, esse impacto é geralmente menos problemático do que no caso de tensoativos iônicos (CERPNIJAK *et al.*, 2013; GUPTA; KESARLA, OMRI, 2013; SWENSON; MILISEN; CURATOLO, 1994). Por fim, a menor concentração possível de tensoativo deve ser usada para evitar irritação gástrica (CERPNIJAK *et al.*, 2013; GUPTA; KESARLA, OMRI, 2013).

O óleo de rícino polietoxilado (Kolliphor® RH40) tem sido empregado em uma variedade de formulações farmacêuticas orais, tópicas e parenterais, no entanto, alguns relatos de toxicidade são atribuídos a esse composto (SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). Contudo, após o processo de solidificação e posterior autoemulsificação da formulação no conteúdo estomacal, a concentração total de tensoativo por dose administrada, seria muito baixa, amenizando as preocupações referentes à toxicidade. A partir dos dados de solubilidade do CARV, as formulações ST (1:3) e KT (1:3) mostraram-se como as melhores candidatas para a solidificação. Considerando a complexidade do planejamento de mistura combinado proposto neste trabalho, apenas um L-SEDDS foi selecionado para a etapa de solidificação, a formulação ST (1:3).

#### 6.2.4. *Estudo de estabilidade do L-SEDDS contendo CARV*

Após análise visual da formulação ST (1:3), não foi observada nenhuma alteração nos 30 dias de análise, independente da condição de temperatura ou do tempo de armazenamento. A Tabela 9 traz os resultados das análises de diâmetro médio e Pdl da formulação ST (1:3), nos diferentes tempos e condições de armazenamento. A análise estatística por teste t de Student entre os tempos zero (imediatamente após o preparo) e 30 dias mostrou que nenhum dos valores de diâmetro médio e Pdl apresentou diferença estatística ( $p < 0,05$ ), exceto para a análise de Pdl na condição de armazenamento à 25°C.

**Tabela 9.** Resultados das análises de estabilidade do L-SEDDS ST (1:3) em três condições de armazenamento (4°C, 25°C e 40°C).

	Temp.	Tempo zero	3 dias	7 dias	15 dias	30 dias
Diâmetro médio (nm) ± DP <sup>a</sup>	4°C	227,40 ± 2,62	201,50 ± 4,79	204,13 ± 10,61	201,20 ± 7,53	211,3 ± 12,38
	25°C	213,70 ± 3,40	205,90 ± 6,20	225,87 ± 18,25	205,20 ± 4,47	205,70 ± 10,40
	40°C	219,67 ± 6,44	217,10 ± 23,62	234,67 ± 25,82	209,73 ± 12,80	214,33 ± 13,26
Pdl ± DP <sup>a</sup>	4°C	0,370 ± 0,028	0,345 ± 0,034	0,360 ± 0,006	0,282 ± 0,035	0,356 ± 0,036
	25°C	0,335 ± 0,012*	0,326 ± 0,009	0,376 ± 0,018	0,302 ± 0,023	0,385 ± 0,015*
	40°C	0,372 ± 0,033	0,251 ± 0,127	0,351 ± 0,064	0,339 ± 0,034	0,347 ± 0,033

\* Indica diferença estatística significativa ( $p < 0,05$ ). <sup>a</sup>Desvio Padrão.

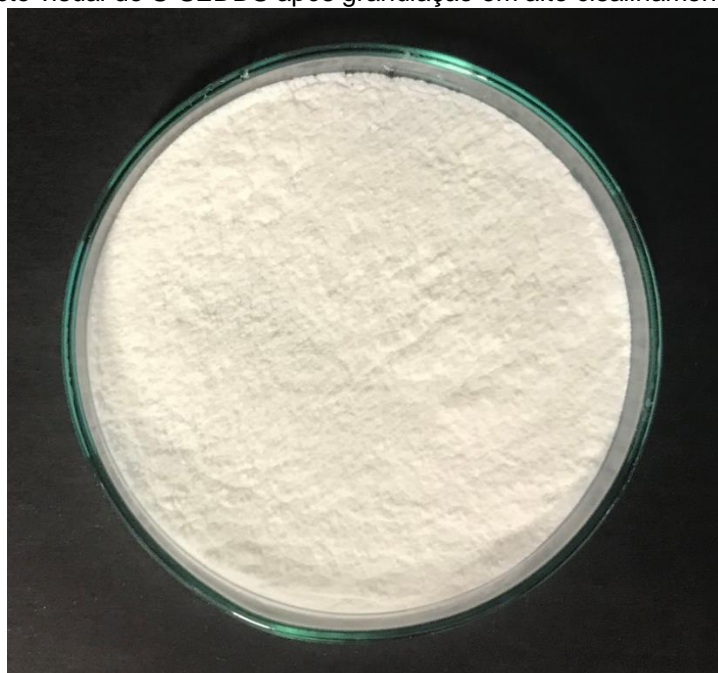
A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), por meio da RDC nº 17, preconiza, no art. 302, que devem ser conduzidos estudos de estabilidade, quando necessários, nos produtos intermediários (ANVISA, 2010). Ali e colaboradores (2011) ressaltaram que tal avaliação de estabilidade, na indústria farmacêutica, recebe o nome de *hold time*. Os autores acrescentam que o *hold time* estabelece os limites de tempo para reter os produtos intermediários em diferentes estágios de produção, garantindo que a qualidade do produto não se seja afetada durante o tempo de espera. Por esse motivo, a análise das propriedades autoemulsionantes do L-SEDDS com o passar do tempo, em diferentes condições de armazenamento, é uma ferramenta importante para avaliação não só da estabilidade da formulação líquida, mas para viabilidade de futuros escalonamentos industriais.

### 6.3. Obtenção e caracterização dos S-SEDDS por granulação de alto cisalhamento

Dentre as 12 formulações líquidas testadas, uma foi selecionada para os estudos de solidificação. Inicialmente, o primeiro critério de exclusão dos L-SEDDS foi sua estabilidade física, ou seja, foram excluídas todas as 6 formulações que continham PEG400, pois elas apresentaram separação de fases em repouso. O segundo critério, foi a capacidade da formulação em solubilizar o CARV, dessa forma, verificou-se que as formulações que continham mais co-solvente, eram capazes de solubilizar mais fármaco e, dessa forma, selecionou-se a formulação ST (1:3) para a solidificação. No caso dos excipientes sólidos, optou-se por eleger aqueles que são empregados usualmente na indústria farmacêutica, como a celulose microcristalina, a lactose monoidratada e o dióxido de silício coloidal.

As formulações, após o processo de solidificação por granulação de alto cisalhamento, apresentaram ótimo rendimento (> 99 %), denotando a reduzida perda de material no equipamento. O aspecto visual de todos os grânulos obtidos a partir da matriz de planejamento de mistura combinado (Tabela 3) foi muito semelhante: pó fino, branco, sem presença de grandes aglomerados – *clusters* (Figura 10).

**Figura 10.** Aspecto visual do S-SEDDS após granulação em alto cisalhamento (Formulação 9).



Formulação 9, composta por: 20,0% de ST (1:3), 24,5% de celulose, 26,3% de lactose, 24,2% de aerosil e 5,0% de crospovidona.

Aproximadamente 80% da produção industrial farmacêutica tem como objetivo final a obtenção de comprimidos, por esta razão, o conhecimento e o controle do comportamento físico dos pós é de importância fundamental para a indústria. Baixa fluidez pode levar ao preenchimento irregular das matrizes durante o processo de compressão. Para avaliar as propriedades de fluxo de pós, ensaios que permitam a determinação do ângulo de repouso, do índice de Carr e do fator de Hausner são amplamente empregados (SARRAGUÇA *et al.*, 2010).

### 6.3.1. Determinação do Ângulo de Repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner

A determinação do ângulo de repouso tem a finalidade de avaliar a capacidade do pó/grânulo em fluir livremente através de um orifício para uma superfície livre, determinando, dessa forma, o nível de atrito interparticular. Pós com ângulo de repouso muito baixos fluem com facilidade (USP 41, 2018; AULTON; TAYLOR, 2016; SARRAGUÇA *et al.*, 2010).

Por sua vez, o índice de Carr (ou índice de compressibilidade) expressa, em forma percentual, o grau de compactabilidade ou compressibilidade do pó ou grânulo. Trata-se de um método simples para avaliar indiretamente as propriedades de fluxo de pós, via comparação da densidade aparente e da densidade compactada. Valores entre 10 e 15% estão relacionados a fluxo excelente ou bom (ALVES *et al.*, 2008; USP 41, 2018). Um índice semelhante, de observação mais simples, foi apresentado por Hausner em 1967, em que valores inferiores a 1,18 indicam que o pó/grânulo possui de bom a excelente fluxo. Os parâmetros para classificação dos pós quanto ao índice de Carr e Fator de Hausner estão expressos no Quadro 3.

Os índices de Carr e Fator de Hausner estão correlacionados entre si, uma vez que ambos indicam a propensão de um pó em consolidar e estão relacionados à interação entre as partículas. Em pós de fluxo livre, as interações são menos significativas, ao contrário de pós com fluxo pobre, que apresentam interações interparticulares maiores (QIU *et al.*, 2009).

**Quadro 3.** Parâmetros farmacopeicos para caracterização de fluxo e compressibilidade de pós.

Propriedade de fluxo	Ângulo de repouso (°)	Índice de Carr (%)	Fator de Hauner
Excelente	25 - 30	≤10	1,00 - 1,11
Bom	31 - 35	11 - 15	1,12 - 1,18
Razoável	36 - 40	16 - 20	1,19 - 1,25
Aceitável	41 - 45	21 - 25	1,26 - 1,34
Pobre	46 - 55	26 - 31	1,35 - 1,45
Muito pobre	56 - 65	32 - 37	1,46 - 1,59
Muito, muito pobre	>66	>38	>1,60

Fonte: USP 41, 2018.

O ângulo de repouso, o índice de Carr e o Fator de Hausner foram calculados para todas as 25 formulações de S-SEDDS obtidas no presente trabalho (Tabela 10).

É importante ressaltar que não houve concordância entre os parâmetros de ângulo de repouso e índice de Carr/ fator de Hausner. A literatura mostra que a análise de ângulo de repouso é mais sujeita às variações experimentais que a determinação da densidade compactada de pós (QIU *et al.*, 2009) e isso pode gerar a falta de concordância observada no presente trabalho.

Por sua vez, há excelente concordância entre os valores de Carr e Hausner (Tabela 10), os quais se mostraram mais discriminativos quando comparados aos valores de ângulo de repouso. No entanto, a análise estatística mostrou que o modelo não foi significativo para ambas as respostas ( $p= 0,0781$  e  $p= 0,1018$ , respectivamente), o que está relacionado à maior variação observada entre as replicatas do planejamento para essas respostas.

**Tabela 10.** Ângulo de repouso, Índice de Carr e Fator de Hausner para os S-SEDDS descritos na Tabela 3.

Form.	Ângulo de repouso	Classificação de fluxo	Índice de Carr	Propriedade de fluxo	Fator de Hausner	Propriedade de fluxo
1	40,67	Razoável	14,94	Bom	1,18	Bom
2	43,17	Aceitável	24,07	Aceitável	1,32	Aceitável
3	41,77	Aceitável	25,58	Aceitável	1,34	Aceitável
4	42,07	Aceitável	14,52	Bom	1,17	Bom
5	43,10	Aceitável	11,76	Bom	1,13	Bom
6	43,03	Aceitável	13,46	Bom	1,16	Bom
7	40,23	Razoável	28,89	Pobre	1,41	Pobre
8	44,43	Aceitável	31,25	Pobre	1,45	Pobre
9	43,00	Aceitável	12,70	Bom	1,15	Bom
10	42,47	Aceitável	17,31	Razoável	1,21	Razoável
11	39,70	Razoável	23,64	Aceitável	1,31	Aceitável
12	43,87	Aceitável	27,91	Pobre	1,39	Pobre
13	45,03	Aceitável	17,14	Razoável	1,21	Razoável
14	42,50	Aceitável	15,38	Bom	1,18	Bom
15	41,33	Aceitável	18,69	Razoável	1,23	Razoável
16	46,67	Pobre	20,91	Razoável	1,26	Aceitável
17	44,53	Aceitável	13,79	Bom	1,16	Bom
18	40,97	Razoável	15,38	Bom	1,18	Bom
19	42,97	Aceitável	16,96	Razoável	1,20	Razoável
20	42,10	Aceitável	19,23	Razoável	1,24	Razoável
21	42,27	Aceitável	16,00	Razoável	1,19	Razoável
22	44,00	Aceitável	7,14	Excelente	1,08	Excelente
23	45,07	Aceitável	6,25	Excelente	1,07	Excelente
24	40,77	Razoável	18,60	Razoável	1,23	Razoável
25	42,80	Aceitável	25,58	Aceitável	1,34	Aceitável

A análise estatística aplicada aos dados de ângulo de repouso mostrou que os componentes de mistura estudados afetaram significativamente essa resposta ( $p = 0,0195$ ), de forma linear. A análise estatística mostrou que a falta de ajuste não foi significativa ( $p = 0,9562$ ). A equação V apresenta os efeitos dos componentes de mistura sobre a resposta em questão.

$$Y_{AR} = 41,45(2,14)A + 44,85(0,5483)B + 42,37(0,6124)C + 41,95(0,5294)D + 42,56(0,5870)E \quad (\text{Equação V})$$

Onde  $Y_{AR}$  representa o valor do ângulo de repouso, A = crospovidona, B = L-SEDDS, C = celulose, D = lactose, E = aerosil. Os valores entre parêntesis representam o erro padrão para cada coeficiente.

Para determinar o impacto relativo de cada componente de mistura sobre a resposta estudada, calculou-se a razão coeficiente/erro padrão (L-SEDDS 81,80, lactose 79,24, aerosil 72,50, celulose 69,19, e crospovidona 19,37). O valor mais elevado se refere à concentração de L-SEDDS na formulação, indicando ser essa a variável que impacta a resposta de forma mais intensa. Na medida que os coeficientes na Equação V são positivos pode-se concluir que o aumento na concentração de cada um dos componentes de mistura aumenta o valor de ângulo de repouso e, conseqüentemente, reduz o fluxo.

Não foi possível observar o efeito primário das variáveis fatoriais do planejamento combinado (velocidade do *impeller* e do *chopper*) sobre o ângulo de repouso. Por outro lado, a interação entre a concentração de aerosil e a velocidade do *chopper* se mostrou significativa ( $p = 0,0036$ , coeficiente = 2,25 (0,5956)). Similarmente, também foi observado efeito significativo na interação entre a concentração de aerosil e velocidade do *impeller* ( $p$ -valor 0,0326, coeficiente = 1,51(0,6090)). A redução no coeficiente das interações supracitadas sugere que o aumento na velocidade do *impeller* e do *chopper* reduziu os efeitos negativos do aumento da concentração de aerosil sobre a resposta em questão.

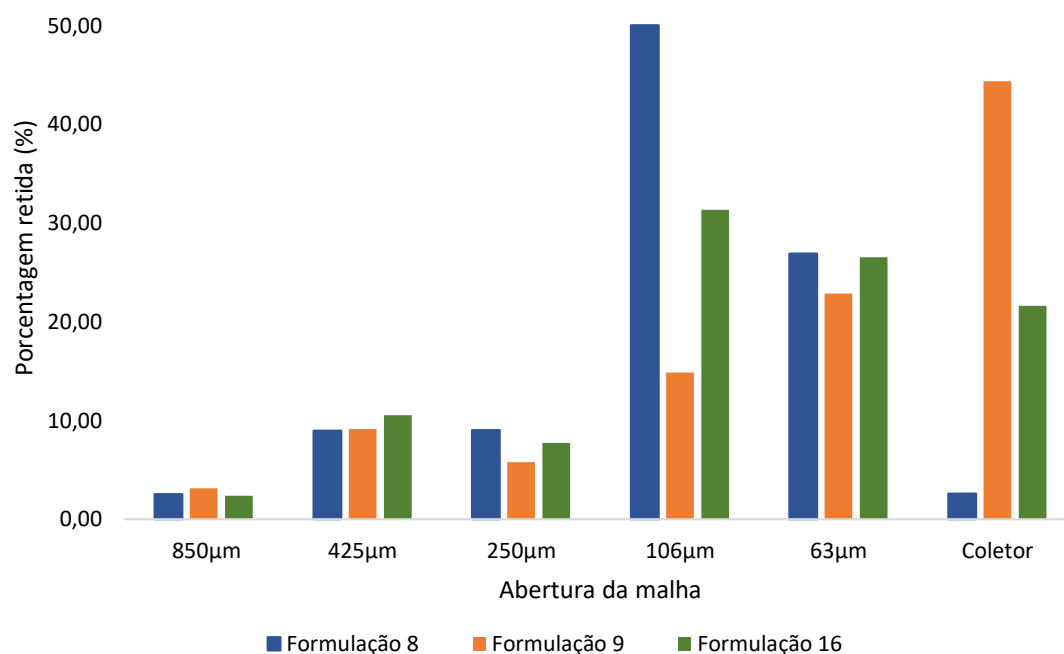
Ao analisar os valores de ângulo de repouso das formulações 8, 13, 17 e 23 (Tabela 10), todas preparadas com elevada concentração de L-SEDDS (> 37%, m/m), é possível observar valores superiores a 44°, o que ilustra o efeito negativo (piora do fluxo) dessa variável de mistura, provavelmente resultado do aumento na coesão entre os grânulos. Em estudo de solidificação de L-SEDDS utilizando diferentes adsorventes, Agarwal e colaboradores (2009) destacaram que, quando razões SEDDS/adsorvente elevadas foram empregadas, os valores de ângulo de repouso foram maiores que 40°. Apesar dos efeitos do óleo sobre a fluidez dos grânulos, os dados da Tabela 10 mostraram que, em geral, as formulações obtidas apresentaram propriedades de fluxo aceitáveis.

### 6.3.2. Determinação da granulometria dos pós

A Figura 11 apresenta a distribuição granulométrica de três S-SEDDS selecionados. Existem certas diferenças entre as distribuições apresentadas, por exemplo, a formulação 8 (preparada com 40% de L-SEDDS, Tabela 3) apresentou menor teor de finos (< 63 µm) que as formulações 9 e 16 (preparada com menor concentração de óleo). No entanto, não foi possível estabelecer correlação entre os fatores de formulação e processo com a granulometria, para as 25 formulações estudadas (ANEXO II). O tamanho médio foi muito semelhante para todas as formulações obtidas (valores entre 160 e 210 µm). Os valores de tamanho médio podem ser considerados reduzidos e sugerem que a adição de óleo (L-SEDDS) não produziu aglomeração significativa das partículas primárias de pó.

Além disso, a comparação dos dados de tamanho com os valores de ângulo de repouso, Hausner e Carr não permitiu estabelecer uma relação entre tamanho e fluxo. Isso pode ser devido ao fato de que o tamanho dos grânulos em todas as amostras é bastante reduzido, dessa forma, o fluxo deve estar sendo determinado pela composição das formulações (coesividade) ao invés de sua distribuição granulométrica.

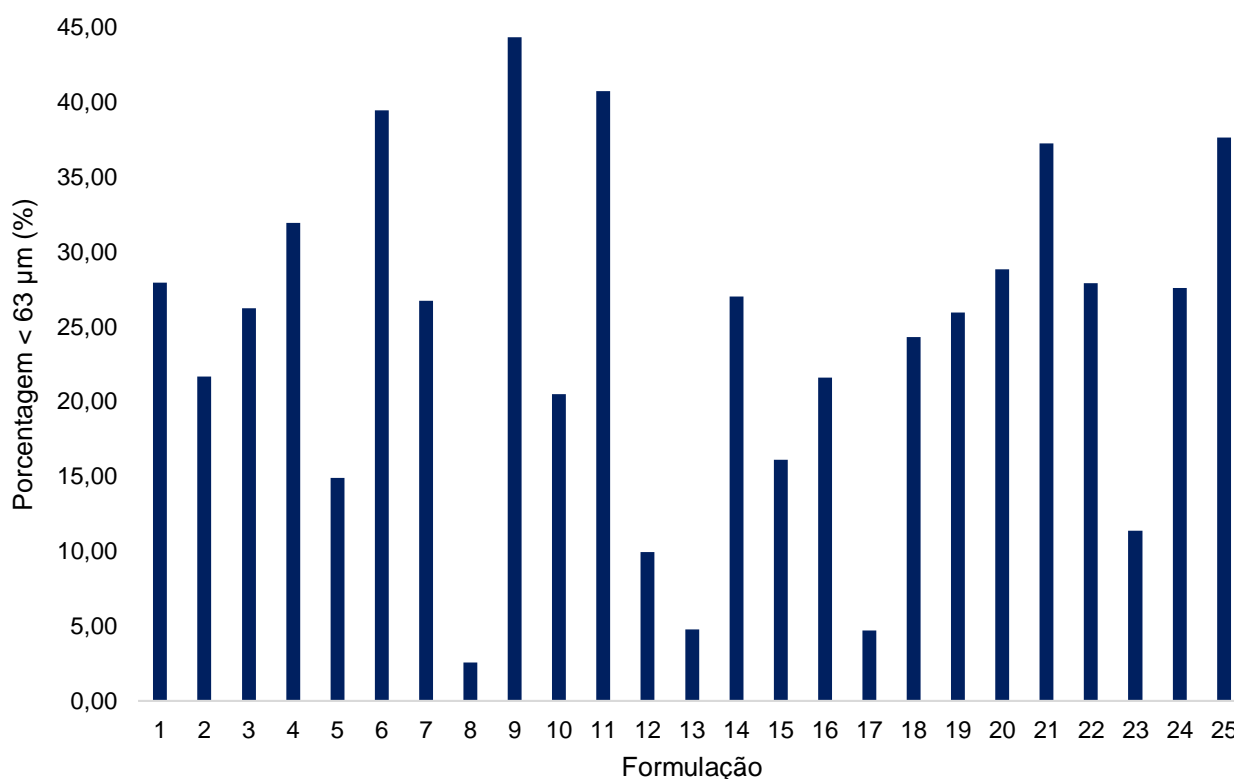
**Figura 11.** Distribuição granulométrica de S-SEDDS selecionados obtidos a partir da Matriz de planejamento de mistura combinado (Tabela 3).



A reduzida aglomeração resultou em um percentual elevado de partículas no frasco coletor do conjunto de tamises, dificultando assim a discriminação das diferentes

formulações. Na tentativa de discriminar as formulações, os valores de percentual de finos (grânulos < 63 µm) foram plotados e estão apresentados na Figura 12.

**Figura 12.** Porcentagem de partículas menores que 63 µm nos S-SEDDS.



É possível observar na Figura 12 que as formulações preparadas com maior concentração de L-SEDDS apresentaram as menores porcentagens de finos (formulações 8, 12, 13, 17 e 23, Tabela 3). Thapa, Tripathi e Jeong (2019) discutiram que a quantidade de líquido adicionada durante o processo de granulação governa o crescimento dos grânulos e quantidades insuficientes resultam em grânulos fracos e porosos, com alta proporção de partículas finas. No presente estudo, quantidades reduzidas de líquido (até 40%, m/m) foram adicionadas sobre um substrato constituído por partículas de grande poder adsorvente, o que pode explicar o baixo crescimento dos grânulos.

A análise dos dados da Figura 12 sugere adicionalmente, a inexistência de efeito das variáveis de processo (velocidade do *impeller* e do chopper) sobre o percentual de finos das amostras. Rahmanian, Naji e Ghadiri (2011) avaliaram a influência de parâmetros do processo, como velocidade do *impeller*, tempo de granulação e viscosidade do aglutinante sobre as propriedades dos grânulos de carbonato de cálcio e polietilenoglicol. Em concordância com os dados do presente trabalho, esses autores mostraram que a distribuição do tamanho dos grânulos parece não ser afetada significativamente por um aumento na velocidade do *impeller*, mostrando que, apesar de serem variáveis

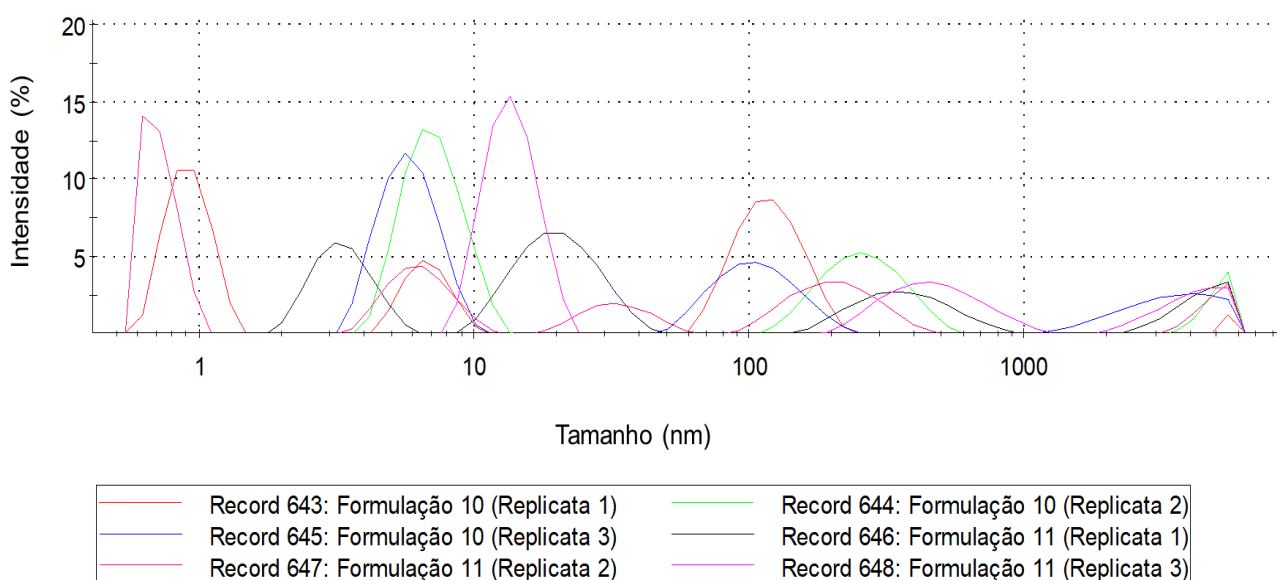
reconhecidamente importantes na determinação da cinética de crescimento de grânulos, os fatores de formulação exerceram papel central na granulometria dos materiais.

### 6.3.3. Determinação das propriedades autoemulsionantes e tamanho da gotícula da emulsão

A manutenção do tamanho médio e da distribuição de tamanho das gotículas redispersas é importante, pois a taxa e a extensão de liberação do fármaco dependem, em parte, desses parâmetros (MANDIĆ *et al.*, 2019). No presente estudo, observou-se grande heterogeneidade na distribuição de tamanho das gotículas formadas após a redispersão das formulações sólidas (Figura 13). Em nenhum caso, houve correlação satisfatória na análise por espalhamento dinâmico de luz, impossibilitando o uso do *z-average* para descrever o tamanho médio da população. Esse fato contrasta com o comportamento observado para as formulações líquidas.

Figura 13 permite observar a heterogeneidade na distribuição de tamanho das gotículas nas formulações 10 e 11 de S-SEDDS (Tabela 3). Por serem replicatas dentro do planejamento experimental, esperava-se concordância nos tamanhos e intensidade dos picos.

**Figura 13.** Distribuição, por intensidade, no tamanho das gotículas após redispersão de S-SEDDS em solução de HCl (1:250)



Gumaste, Dalrymple e Serajuddin (2013) em seu estudo sobre solidificação de SEDDS, utilizaram Neusilin® US2, um silicato poroso, como agente adsorvente da

formulação líquida. Esses autores destacaram a interferência das partículas de silicato na análise do diâmetro das gotículas redispersas. O Neusilin® US2 apresenta a maioria de suas partículas com tamanho superior a 60 µm, no entanto, algumas partículas finas podem estar presentes, causando interferência na análise de DLS. Similarmente, Ma e colaboradores (2013) descreveram que o Aerosil® 200 é uma sílica insolúvel com tamanho médio de 12 nm e sua dispersão em meio aquoso dá origem a distribuições de tamanho bi- e trimodais (com partículas de tamanho entre 20 nm e 50 µm).

De acordo com o exposto acima, pode-se supor que a grande heterogeneidade de tamanho observada nas amostras redispersas do presente estudo esteja relacionada aos diferentes estados de agregação do aerosil. As concentrações empregadas desse excipiente são elevadas (entre 20 e 40%). Como resultado, os valores de tamanho não puderam ser empregados na caracterização dos sistemas sólidos.

#### *6.3.4. Determinação do teor de CARV nos S-SEDDS*

A avaliação do teor de CARV nos S-SEDDS mostrou valores superiores a 90% em todas as 25 formulações. Os resultados das análises de teor estão demonstrados na Tabela 11 e denotam não apenas a ausência de degradação do fármaco durante o processamento, mas também sugerem certa uniformidade de conteúdo, tendo em vista que a análise foi realizada empregando alíquotas de S-SEDDS equivalente a dose unitária de CARV de 25 mg.

**Tabela 11.** Resultado das análises de teor nos S-SEDDS.

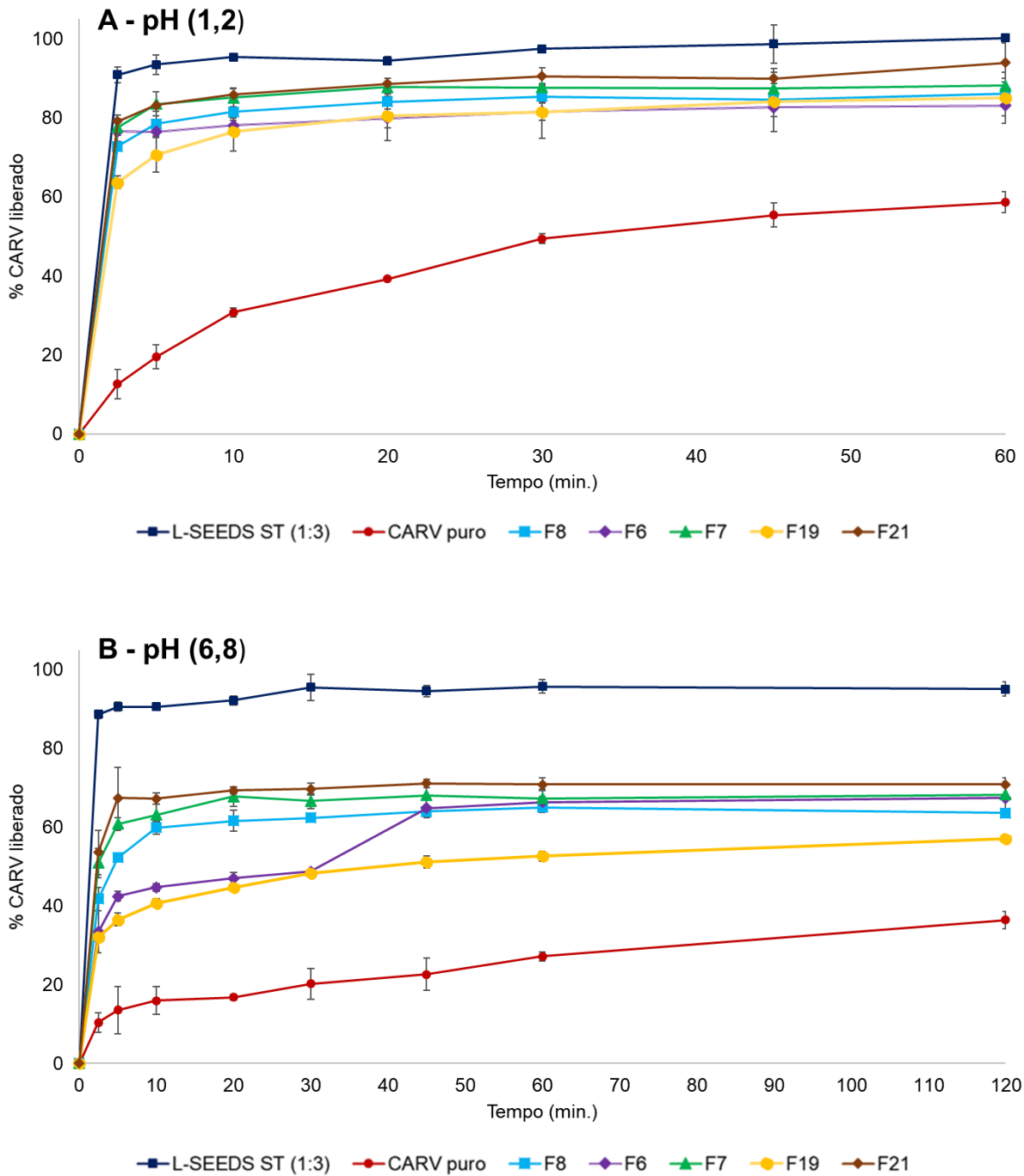
Formulação	Concentração teórica de CARV (mg/g)	Teor $\pm$ DP <sup>a</sup> (mg/g)	% recuperada de CARV $\pm$ DP <sup>a</sup>
1	20,00	19,35 $\pm$ 1,10	96,73 $\pm$ 5,68
2	20,00	19,58 $\pm$ 0,17	97,92 $\pm$ 0,88
3	21,66	20,56 $\pm$ 0,18	94,91 $\pm$ 0,89
4	20,00	19,95 $\pm$ 0,55	99,74 $\pm$ 2,76
5	20,00	18,83 $\pm$ 0,26	94,16 $\pm$ 1,38
6	20,00	19,32 $\pm$ 0,44	96,58 $\pm$ 2,27
7	20,00	19,24 $\pm$ 0,34	96,20 $\pm$ 1,74
8	40,00	37,97 $\pm$ 0,70	94,91 $\pm$ 1,85
9	20,00	19,52 $\pm$ 0,27	97,58 $\pm$ 1,38
10	25,26	25,58 $\pm$ 0,91	101,28 $\pm$ 3,56
11	25,26	23,90 $\pm$ 0,82	94,60 $\pm$ 3,42
12	29,59	28,73 $\pm$ 0,40	97,08 $\pm$ 1,40
13	40,00	38,59 $\pm$ 0,19	96,48 $\pm$ 0,49
14	20,00	20,13 $\pm$ 0,69	100,65 $\pm$ 3,42
15	20,00	18,48 $\pm$ 0,75	92,41 $\pm$ 4,06
16	20,00	19,54 $\pm$ 0,84	97,68 $\pm$ 4,32
17	40,00	37,54 $\pm$ 0,32	93,85 $\pm$ 0,85
18	25,26	24,01 $\pm$ 1,07	95,04 $\pm$ 4,46
19	20,00	20,04 $\pm$ 0,60	100,18 $\pm$ 3,02
20	20,00	19,03 $\pm$ 0,38	95,17 $\pm$ 2,00
21	25,74	23,58 $\pm$ 0,31	91,59 $\pm$ 1,30
22	25,74	23,63 $\pm$ 0,40	91,78 $\pm$ 1,69
23	37,39	34,48 $\pm$ 0,46	92,22 $\pm$ 1,34
24	25,74	23,34 $\pm$ 0,32	90,65 $\pm$ 1,38
25	21,71	19,67 $\pm$ 0,33	90,59 $\pm$ 1,67

<sup>a</sup>Desvio Padrão.

### 6.3.5. Teste de dissolução *in vitro*

A dissolução dos S-SEDDS foi avaliada em dois meios distintos, solução de ácido clorídrico pH 1,2 e solução tamponante fosfato pH 6,8. A Figura 14 traz os perfis de dissolução de formulações selecionadas. As formulações 8, 6, 7 e 19 (Tabela 3) foram selecionadas por apresentar o maior conteúdo (40%, m/m) de L-SEDDS, celulose microcristalina, lactose monoidratada e Aerosil 200, respectivamente. A formulação 21 também foi incluída por apresentar maior concentração de croscopidona. No ANEXO III, estão apresentadas as dissoluções de todas as 25 formulações do planejamento de mistura combinado, em ambos os meios de dissolução.

**Figura 14.** Dissolução *in vitro* de formulações S-SEDDS selecionadas. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas.



O CARV, como fármaco de caráter básico, possui maior solubilidade em ambiente ácido, no qual se encontra predominantemente na forma ionizada, que favorece sua dissolução. No entanto, em pH mais alto, o CARV pode sofrer precipitação, reduzindo a vantagem obtida na dissolução do fármaco no estômago (MANDIĆ *et al.*, 2019;

MAHMOUND, BENDAS e MOHAMED, 2009). Devido ao comportamento de solubilidade pH-dependente do CARV, optou-se por avaliar sua dissolução em dois meios distintos.

É muito importante notar que não foi possível discriminar, em meio ácido, a formulação L-SEDDS de todas as formulações sólidas obtidas, pois elas liberaram percentuais similares de CARV nos diferentes tempos estudados. Por outro lado, em meio pH 6,8, foi possível observar uma redução na quantidade de CARV dissolvido a partir das formulações sólidas, o que pode estar relacionado a redução da associação do fármaco no sistema lipídico durante a solidificação e/ou a distúrbios na capacidade autoemulsionante do sistema. De qualquer forma, é importante ressaltar que houve ganho apreciável no percentual dissolvido a partir dos S-SEDDS quando comparado ao fármaco puro. Por fim, independente do meio de dissolução, todas as formulações S-SEDDS apresentaram dissolução de CARV, pelo menos, 2 vezes superior ao fármaco puro, após 10 minutos de de ensaio. A Tabela 12 mostra os dados de pontos selecionados das curvas apresentadas na Figura 14.

Os resultados confirmaram que a incorporação do CARV no L-SEDDS aumentou a quantidade de fármaco dissolvido quando comparado a dissolução do fármaco puro. Em solução de ácido clorídrico, a dissolução do fármaco puro foi de 58,62% em 60 minutos, ao passo que o L-SEDDS liberou 100% do fármaco incorporado no mesmo período. Em solução tamponante fosfato, após 120 min de ensaio, observou-se 36,43% de dissolução do fármaco puro, enquanto o L-SEDDS liberou 95,14% (Tabela 12).

**Tabela 12.** Dissolução de CARV (%) após 2,5 min (pH 1,2 e 6,8), 60 min (pH 1,2) e 120 min (pH 6,8) de análise a partir dos S-SEDDS. Dados de liberação a partir da formulação líquida (ST 1:3) e do CARV puro também estão apresentados.

Formulação	2,5 min		60 min	120 min
	pH 1,2	pH 6,8	pH 1,2	pH 6,8
CARV puro	12,66 ± 3,70	10,37 ± 2,48	58,62 ± 2,70	36,43 ± 2,21
ST (1:3)	90,88 ± 2,02	88,69 ± 1,07	100,17 ± 1,00	95,134 ± 1,77
1	71,28 ± 4,43	44,46 ± 3,99	83,77 ± 3,67	64,21 ± 4,65
2	67,74 ± 2,82	41,80 ± 2,86	79,92 ± 4,35	59,45 ± 1,76
3	91,46 ± 1,10	47,13 ± 3,00	101,68 ± 3,40	67,01 ± 3,57
4	67,91 ± 2,53	47,50 ± 5,19	82,28 ± 1,11	64,34 ± 0,47
5	72,20 ± 0,07	33,88 ± 1,74	85,20 ± 2,00	67,05 ± 1,45
6	76,59 ± 4,10	33,40 ± 5,40	83,09 ± 2,57	67,40 ± 2,76
7	77,63 ± 2,05	50,89 ± 3,64	88,13 ± 1,81	68,33 ± 4,16
8	72,79 ± 1,27	41,80 ± 2,98	86,15 ± 1,87	63,66 ± 0,24
9	70,55 ± 2,73	45,40 ± 2,70	78,94 ± 1,98	66,05 ± 0,87
10	67,14 ± 2,82	46,38 ± 2,73	76,91 ± 3,08	61,89 ± 2,57
11	66,31 ± 2,43	47,95 ± 5,23	80,62 ± 7,26	66,11 ± 1,47
12	74,14 ± 1,40	46,02 ± 2,78	79,26 ± 3,58	61,45 ± 0,45
13	69,90 ± 2,77	37,00 ± 3,24	85,70 ± 2,44	62,33 ± 0,56
14	61,06 ± 1,23	39,92 ± 1,98	68,88 ± 2,42	58,14 ± 2,02
15	58,41 ± 2,74	38,44 ± 1,05	64,62 ± 2,97	59,29 ± 1,45
16	59,91 ± 2,64	27,71 ± 11,92	70,17 ± 2,70	53,39 ± 3,62
17	67,09 ± 2,41	40,21 ± 10,28	83,80 ± 1,95	69,03 ± 13,34
18	74,56 ± 1,65	51,53 ± 3,39	85,98 ± 3,72	77,823 ± 8,48
19	63,67 ± 1,56	32,06 ± 1,08	84,99 ± 6,44	57,02 ± 0,86
20	72,98 ± 2,01	51,03 ± 2,89	78,63 ± 1,36	64,07 ± 0,36
21	79,09 ± 0,38	53,58 ± 5,62	93,89 ± 4,94	70,85 ± 0,65
22	77,95 ± 3,52	51,24 ± 2,99	89,66 ± 6,35	72,22 ± 1,85
23	73,95 ± 2,35	46,22 ± 2,39	88,26 ± 1,36	68,48 ± 1,46
24	80,42 ± 2,76	48,64 ± 8,26	84,79 ± 1,69	69,06 ± 2,37
25	76,52 ± 2,31	47,38 ± 4,65	85,75 ± 2,59	65,13 ± 1,80

A dissolução incompleta do CARV a partir de algumas formulações sólidas pode ser explicada pela presença de grupos silanol do dióxido de silício que podem interagir com moléculas contendo grupamentos -OH, NH<sub>2</sub>, -SH ou SO<sub>2</sub>, retardando a liberação do fármaco (CHAVAN *et al.*, 2015). Outra possível explicação foi reportada por Mandić e colaboradores (2017). Esses autores discutiram que a formulação lipídica pode interagir

com os adsorventes sólidos, formar gel, ou entupir os poros da partícula, resultando em liberação retardada ou incompleta do fármaco.

O desempenho *in vitro* e *in vivo* de formulações L-SEDDS contendo danazol após solidificação por adsorção em veículo inerte (Neusilin US2 - aluminometasilicato de magnésio) foi investigado por Van Speybroeck e colaboradores (2012). Os autores mostraram diferenças significativas no desempenho *in vitro* e *in vivo* do L-SEDDS e dos S-SEDDS. A dissolução do fármaco a partir do S-SEDDS foi 35% menor comparado com o L-SEDDS. Esse comportamento foi refletido nos estudos *in vivo*. Os autores explicaram esse comportamento pela dessorção incompleta da formulação líquida e pela redução na capacidade autoemulsionante do S-SEDDS, possivelmente em razão de uma diminuição na concentração efetiva de tensoativo na fase aquosa devido à sua adsorção irreversível ao transportador (VAN SPEYBROECK *et al.*, 2012).

Os dados de dissolução em HCl (2,5 min) foram usados como resposta do planejamento de mistura combinado. A análise por ANOVA mostrou que o modelo quadrático foi significativo ( $p = 0,0073$ ) para descrição dos efeitos das variáveis sobre essa resposta. Além disso, a análise de falta de ajuste não se mostrou significativa para os componentes de mistura. O modelo linear também se mostrou significativo ( $p = 0,0295$ ), no entanto, a análise de falta de ajuste foi significativa nesse caso ( $p = 0,0437$ ) e, dessa forma, o modelo linear não foi estudado.

Os fatores do planejamento fatorial, correspondentes às variáveis do processo, não se mostraram significativos para essa resposta, com valores de  $p$  na faixa de 0,0598 a 0,6105. A equação VII traz os coeficientes dos componentes de mistura no modelo quadrático para a resposta em questão.

$$Y_{HCl\ 2,5} = 948,75(412,85)A + 69,93(2,0)B + 76,59(3,47)C + 72,52(2,0)D \\ + 61,79(2,45)E \quad (\text{Equação VII})$$

Onde  $Y_{HCl\ 2,5}$  representa a dissolução de CARV em solução de HCl após 2,5 min de dissolução. A = crospovidona, B = L-SEDDS, C = celulose, D = lactose, E = aerosil. Os valores entre parêntesis representam o erro padrão para cada coeficiente.

Como pode ser observado, as variáveis concentração de L-SEDDS e lactose apresentaram-se como sendo as mais significativas (razão coeficiente/erro de 34,98 e 36,26, respectivamente) e seus coeficientes indicam que o aumento na concentração da formulação lipídica ou do diluente hidrossolúvel resultou no maior aumento do percentual dissolvido. Por outro lado, a presença de crospovidona não exerceu efeito significativo (razão coeficiente/erro de apenas 2,29). A ausência desse efeito pode ser atribuída a

condição empregada no ensaio de liberação (adição direta dos pós à cuba). Eventualmente, a crospovidona poderia exercer efeito mais significativo, caso os S-SEDDS fossem comprimidos ou mesmo encapsulados em invólucros de gelatina dura. As variáveis concentração de aerosil e de celulose mostraram efeitos intermediários.

A análise estatística dos dados de liberação em HCl (60 minutos) mostrou que apenas os componentes de mistura foram significativos, com valor de  $p = 0,0433$ , em modelo quadrático. A análise dos valores da razão coeficiente/erro para cada componente mostrou a mesma tendência discutida acima para os dados de liberação em 2,5 min, ou seja, a concentração de L-SEDDS e de lactose exerceram o maior impacto sobre o percentual de CARV dissolvido. O impacto positivo de maiores concentrações de lactose e L-SEDDS na liberação de CARV após 60 min de dissolução em pH1,2 pode ser observado pela análise da dissolução a partir das formulações 3, 5 e 7 (Tabela 12), preparadas com maior concentração de lactose, assim como das formulações 8, 13 e 23, preparadas com maior concentração de L-SEDDS. É possível observar que todas essas formulações apresentaram dissolução superior a 85%. A concentração de crospovidona não afetou a resposta. A equação VIII traz os coeficientes dos componentes de mistura estudados nesse modelo para a resposta em questão.

$$Y_{HCl\ 60} = 747,12(578,70)A + 85,22(2,81)B + 83,09(4,86)C + 84,42(2,81)D + 77,58(3,44)E \quad (\text{Equação VIII})$$

Onde  $Y_{HCl60}$  representa a dissolução de CARV em solução de HCl após 60 min de dissolução. A = crospovidona, B = L-SEDDS, C = celulose, D = lactose, E = aerosil. Os valores entre parêntesis representam o erro padrão para cada coeficiente.

A análise estatística dos dados de liberação em solução tamponante fosfato (pH 6,8) em 2,5 min. mostrou que o modelo linear para os componentes de mistura e para as variáveis de processo foram significativos, com valores de p de 0,0081 e 0,0328, respectivamente. A equação IX traz os coeficientes dos componentes de mistura estudados nesse modelo para a resposta em questão.

$$Y_{Tampão\ 2,5} = -204,19(129,85)A + 39,81(1,27)B + 79,63(17,19)C + 43,54(1,22)D + 74,71(18,59)E \quad (\text{Equação IX})$$

Onde  $Y_{Tampão\ 2,5}$  representa a dissolução de CARV em solução pH 6,8 após 2,5 min de ensaio. A = crospovidona, B = L-SEDDS, C = celulose, D = lactose, E = aerosil. Os valores entre parêntesis representam o erro padrão para cada coeficiente.

A relação coeficiente/erro mostrou que os componentes L-SEDDS e lactose tiveram maior influência na liberação do CARV (31,35 e 35,69, respectivamente). Outra importante observação é que, uma vez mais, a presença de crospovidona não afetou a liberação de CARV. Nesse caso, observou-se que a interação entre a concentração de lactose e a velocidade *do* impeller foi significativa ( $p = 0,0055$ ).

A análise estatística dos dados de liberação em 120min., mostrou que apenas o componente mistura foi significativo ( $p = 0,0046$ ). A equação X traz os coeficientes dos componentes de mistura estudados nesse modelo para a resposta em questão.

$$Y_{Tampão\ 120} = 86,11(6,51)A + 64,14(2,03)B + 62,89(2,17)C + 64,79(1,98)D + 56,92(2,14)E \quad (\text{Equação X})$$

Onde  $Y_{Tampão\ 120}$  representa a dissolução de CARV em solução de HCl após 120 min de dissolução. A = crospovidona, B = L-SEDDS, C = celulose, D = lactose, E = aerosil. Os valores entre parêntesis representam o erro padrão para cada coeficiente.

A razão coeficiente/erro mostrou que as concentrações de L-SEDDS e lactose foram as variáveis mais significativas para a liberação do CARV em solução tamponante fosfato 120 min (31,60 e 32,72, respectivamente). O impacto positivo do aumento da concentração de lactose e L-SEDDS na liberação de CARV pode ser observado pelo percentual liberado (Tabela 12) a partir das formulações preparadas com maior concentração de lactose (formulações 3, 5 e 7), bem como naquelas preparadas com maior concentração de L-SEDDS (formulações 17 e 23). É possível observar que todas apresentaram dissolução superior a 65%.

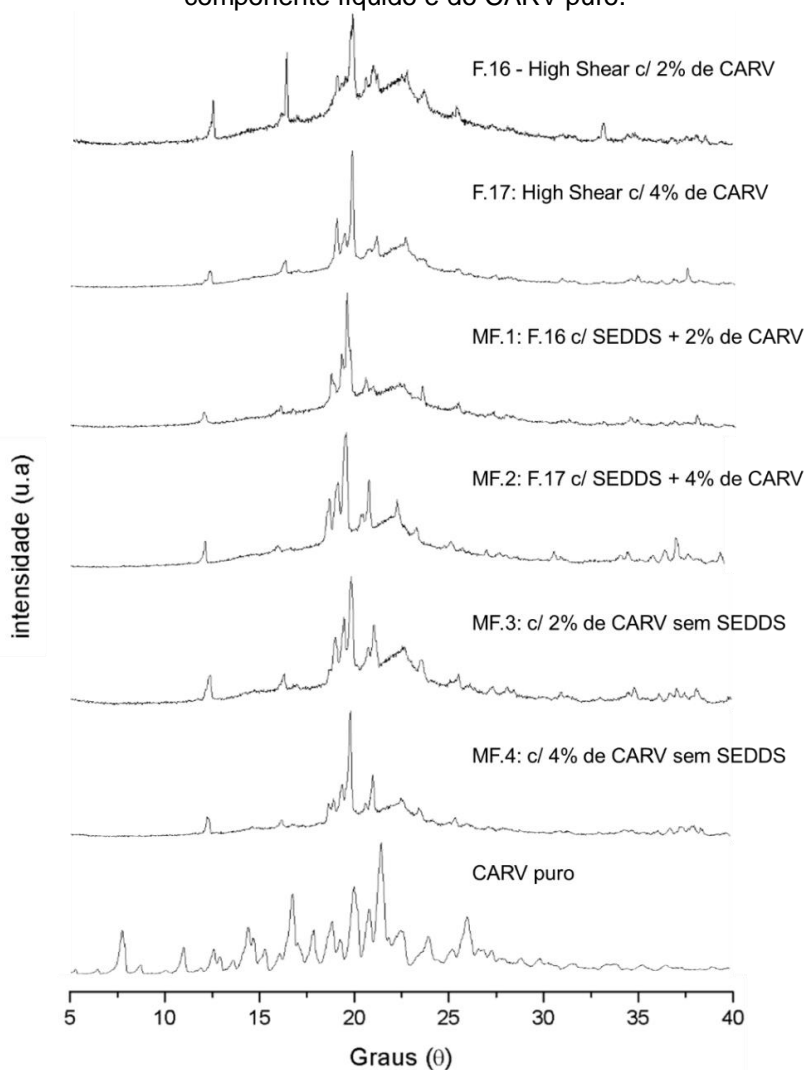
Em todas as análises estatísticas referentes ao ensaio de dissolução, independente do meio de dissolução ou do tempo avaliado, os efeitos mais significativos foram apresentados pelos componentes L-SEDDS e lactose.

Uma das maiores vantagens atribuídas aos S-SEDDS é que, para a liberação do fármaco, não é necessário passar por etapas atribuídas normalmente às formulações sólidas (dissolução, erosão ou inchaço do transportador), portanto, não é esperado atraso na dissolução (MANDIĆ *et al.*, 2019). Os resultados de dissolução, em ambos os meios mostraram o S-SEDDS aumentou de forma significativa a liberação de CARV comparado com o fármaco na forma cristalina.

### 6.3.6. Difração de raios-X (DRX)

O estado físico do CARV nos S-SEDDS obtidos por granulação de alto cisalhamento, assim como nas misturas físicas selecionadas, foi investigado usando DRX. Os difratogramas estão apresentados na Figura 15. O CARV cristalino puro apresentou os padrões característicos do hemidrato de carvedilol. Nas amostras de misturas físicas e S-SEDDS é possível observar os picos correspondentes à lactose monohidratada (SALVI, 2015). Não foi possível observar nenhum pico de difração característico do CARV em nenhuma das amostras analisadas. Silva e colaboradores (2018) desenvolveram S-SEDDS contendo CARV por termoextrusão e verificaram que os picos de difração do fármaco somente puderam ser detectados em misturas complexas que continham quantidades superiores a 5% de CARV (m/m). Esse limite de detecção parece ser válido para as formulações com a composição empregada no presente trabalho. Dessa forma, não foi possível determinar o estado físico do CARV nas amostras.

**Figura 15.** Difratogramas de raios X das formulações F16 e F17, das misturas físicas com e sem componente líquido e do CARV puro.



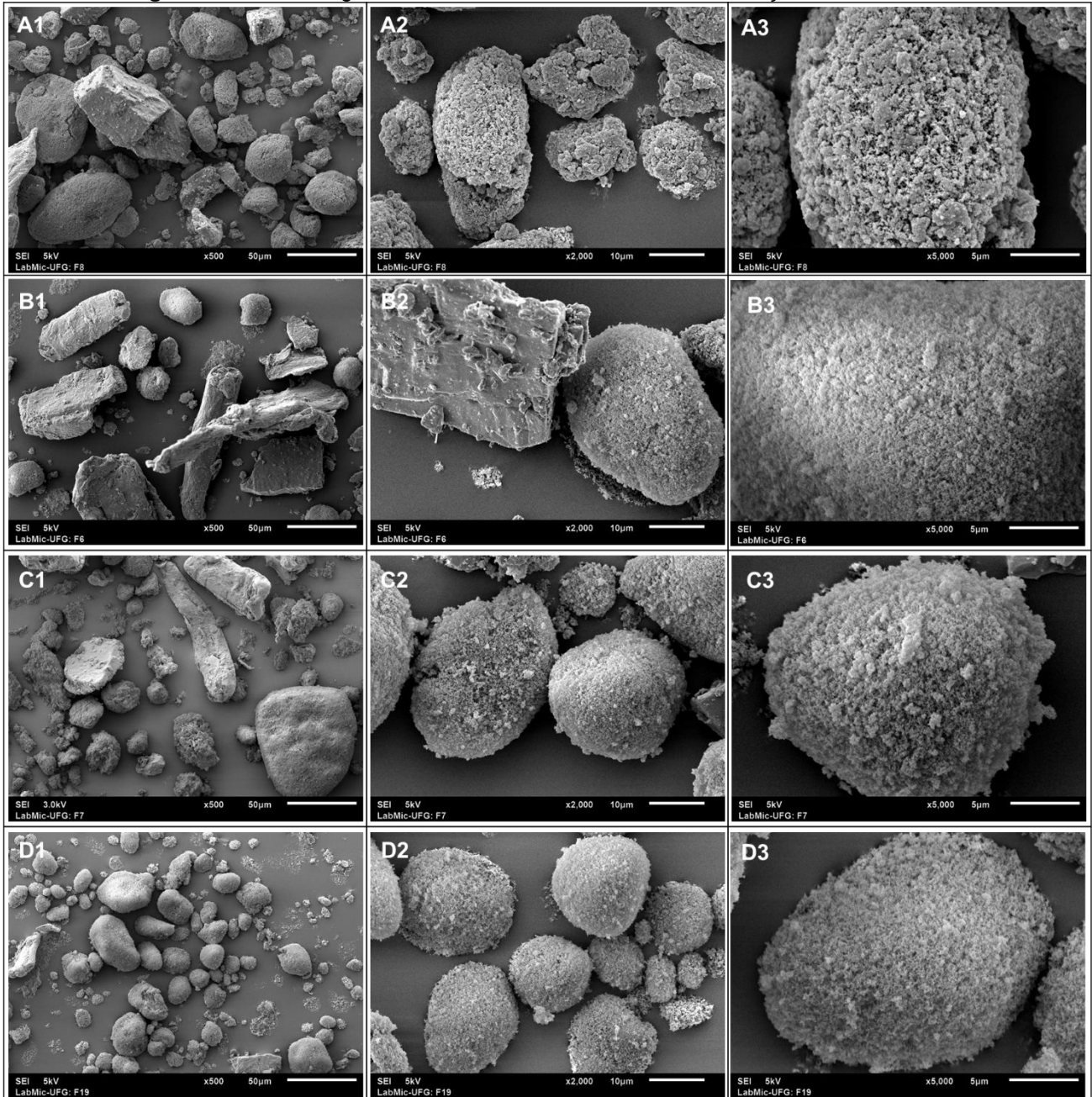
### 6.3.7. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Na Figura 16, estão apresentadas as fotomicrografias eletrônicas de varredura de quatro formulações de S-SEDDS selecionadas. As formulações 6, 7, 8, 19 foram selecionadas por apresentar o maior conteúdo (40%, m/m) de celulose microcristalina, lactose monoidratada, L-SEDDS, e Aerosil 200, respectivamente. As demais fotomicrografias dos S-SEDDS, bem como das matérias primas isoladas estão apresentadas no ANEXO IV.

De modo geral, foi possível observar que a presença de maior concentração de L-SEDDS levou à formação de grânulos com maior diâmetro. Thapa, Tripathi e Jeong (2019) discutiram que a adição de maiores quantidades de líquido promove o crescimento do grânulo. Outro aspecto observado (imagem A3) foi que a adição de maior quantidade de líquido resultou em grânulos com aspecto mais rugoso e poroso. Nas formulações com maior concentração de Aerosil 200, foi possível observar a formação de grânulos com diâmetros menores e com mais partículas finas em sua superfície (D2).

Por fim, formulações com maiores concentrações de lactose e celulose, apresentam, além dos grânulos de S-SEDDS, maior quantidade de partículas com aspecto característicos dos excipientes lactose e celulose (ANEXO IV).

**Figura 16.** Fotomicrografias eletrônicas de varredura de formulações selecionadas.



Fonte: Próprio autor. A1: F8 aumento de 500x. A2: F8 aumento de 2.000x. A3: F8 aumento de 5.000x. B1: F6 aumento de 500x. B2: F6 aumento de 2.000x. B3: F6 aumento de 5.000x. C1: F7 aumento de 500x. C2: F7 aumento de 2.000x. C3: F7 aumento de 5.000x. D1: F19 aumento de 500x. D2: F19 aumento de 2.000x. D3: F19 aumento de 5.000x.

## 7 CONCLUSÕES

---

Os resultados do presente estudo mostraram que a técnica de granulação de alto cisalhamento pode ser empregada, com sucesso, na obtenção de S-SEDDS contendo CARV. As formulações sólidas apresentaram propriedades de fluxo aceitáveis e aumentaram significativamente a velocidade de liberação do fármaco. A composição de diluentes e a concentração de óleo na formulação foram os fatores que mais afetaram o tamanho, o fluxo e a liberação do fármaco a partir dos S-SEDDS. Variáveis de processo exerceram pouca ou nenhuma influência sobre as propriedades dos sólidos, o que pode ser atribuído a adição de quantidades moderadas de concentrado autoemulsionável em um substrato absorvente. O tamanho reduzido dos grânulos obtidos sugere que a otimização do processo de solidificação deverá envolver a adição de maior quantidade de L-SEDDS à formulação.

## 8 REFERÊNCIAS

---

ABDALLA, A.; KLEIN, S.; MÄDER, K. A new self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) for poorly soluble drugs: characterization, dissolution, in vitro digestion and incorporation into solid pellets. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 35, n. 5, p. 457-464, 2008.

ABDALLA, A.; MÄDER, K. Preparation and characterization of a self-emulsifying pellet formulation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 66, n. 2, p. 220-226, 2007.

AGARWAL, V.; SIDDIQUI, A.; ALI, H.; NAZZAL, S. Dissolution and powder flow characterization of solid self-emulsified drug delivery system (SEDDS). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, n. 1-2, p. 44-52, 2009.

ALI, H.; KHATRI, A. M.; JAIN, A.; MODI, R.; PATEL, A. Standard Practice of sampling, storage and Holding Time for Pharmaceutical Tablet and Injection during manufacturing process. **Drug Invention Today**, v. 3, n. 7, 2011.

ALLEN JR, L.V.; POPOVIVH, N.G.; ANSEL, H.C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 9. ed., Porto Alegre: Artmed, 2013.

ALONSO, E.C.P. **Desenvolvimento de complexos de inclusão sólidos contendo carvedilol e ciclodextrina pelas técnicas de leito fluidizado e spray drying**. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Goiânia, 2016.

ALVES, G. M. C.; ROLIM, L. A.; ROLIM NETO, P. J.; LEITE, A.; BRONDANI, D. J.; MEDEIROS, F. P. M.; BIEBER, L. W.; MENDONÇA JUNIOR, F. J. B. Purificação e caracterização da  $\beta$ -Lapachona e estudo de estabilidade dos cristais em diferentes condições de armazenamento. **Química Nova**, 31(2), p. 413-416, 2008.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-420, 1995.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução RDC nº 17, de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as boas práticas de fabricação de medicamentos. Diário Oficial da União, 2010.

AULTON, M.E.; TAYLOR, K.M.G. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 4º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

BEHN, F.; MICHELS, S.; LAER, S.; BLASCHKE, G. Separation of carvedilol enantiomers in very small volumes of human plasma by capillary lectrophoresis with laser-induced fluorescence. **Journal of Chromatography B**, v. 755, p. 111-117, 2001.

BHANDARI, V.; AVACHAT, A. Formulation and characterization of self emulsifying pellets of carvedilol. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 3, p. 663-671, 2015.

- BHARAWAJ, S.; JAIN, V.; SHARMA, S.; JAT, R. C.; JAIN, S. Orally Disintegrating Tablets: A Review. **Drug Invention Today**, v. 2, n. 1, 2010.
- BRASIL, M. S. Farmacopeia Brasileira. 6<sup>a</sup> ed. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**, 2019.
- BROOK, C.S.; CHEN, W.; SPOORS, P.G. Carvedilol phosphate salts and/or solvates thereof, corresponding compositions and/or methods of treatment. **US Patent 7,268,156 B2**, 2007.
- ČERPŇJAK, K.; POBIRK, A. Z.; VREČER, F.; GAŠPERLIN, M. Tablets and minitables prepared from spray-dried SMEDDS containing naproxen. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 1, p. 336-346, 2015.
- ČERPŇJAK, K.; ZVONAR, A.; GASPERLIN, M.; VREČER, F. Lipid-based systems as a promising approach for enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Acta Pharmaceutica**, v. 63, n. 4, p. 427-445, 2013.
- CHATTERJEE, B.; ALMURISI, S. H.; DUKHAN, A. A. M.; MANDAL, U. K.; SENGUPTA, P. Controversies with self-emulsifying drug delivery system from pharmacokinetic point of view. **Drug Delivery**, v. 23, n. 9, p. 3639-3652, 2016.
- CHAVAN, R. B.; MODI, S. R.; BANSAL, A. K. Role of solid carriers in pharmaceutical performance of solid supersaturable SEDDS of celecoxib. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 495, n. 1, p. 374-384, 2015.
- DAHAN, A.; HOFFMAN, A. Rationalizing the selection of oral lipid based drug delivery systems by an in vitro dynamic lipolysis model for improved oral bioavailability of poorly water soluble drugs. **Journal of Controlled Release**, v. 129, n. 1, p. 1-10, 2008.
- DIXIT, R. P.; NAGARSENKER, M. S. Self-nanoemulsifying granules of ezetimibe: design, optimization and evaluation. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 35, n. 3, p. 183-192, 2008.
- FERNANDES, G. J.; KUMAR, L.; SHARMA, K.; TUNGE, R.; RATHNANAND, M. A review on solubility enhancement of carvedilol—a BCS class II drug. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 13, n. 3, p. 197-212, 2018.
- FRANCESCHINIS, E.; BORTOLETTO, C.; PERISSUTTI, B.; DAL ZOTTO, M.; VOINOVICH, D.; REALDON, N. Self-emulsifying pellets in a lab-scale high shear mixer: Formulation and production design. **Powder Technology**, v. 207, n. 1-3, p. 113-118, 2011.
- FRANCESCHINIS, E.; SANTOMASO, A. C.; BENDA, L.; PERISSUTTI, B.; VOINOVICH, D.; REALDON, N. Influence of process variables on the properties of simvastatin self-emulsifying granules obtained through high shear wet granulation. **Powder Technology**, v. 274, p. 173-179, 2015.
- FRANCESCHINIS, E.; VOINOVICH, D.; GRASSI, M.; PERISSUTTI, B.; FILIPOVIC-GRCIC, J.; MARTINAC, A.; MERIANI-MERLO, F. Self-emulsifying pellets prepared by wet granulation in high-shear mixer: influence of formulation variables and preliminary study on the in vitro absorption. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 291, n. 1-2, p. 87-97, 2005.

GONÇALVES, A.; NIKMARAM, N.; ROOHINEJAD, S.; ESTEVINHO, B. N.; ROCHA, F.; GREINER, R.; MCCLEMENTS, D. J. Production, properties, and applications of solid self-emulsifying delivery systems (S-SEDS) in the food and pharmaceutical industries. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 538, p. 108-126, 2018.

GUMASTE, S. G.; DALRYMPLE, D. M.; SERAJUDDIN, A. T. Development of solid SEDDS, V: compaction and drug release properties of tablets prepared by adsorbing lipid-based formulations onto Neusilin® US2. **Pharmaceutical Research**, v. 30, n. 12, p. 3186-3199, 2013.

GUPTA, S; KESARLA, R; OMRI, A. Formulation strategies to improve the bioavailability of poorly absorbed drugs with special emphasis on self-emulsifying systems. **ISRN pharmaceuticals**, v. 2013, 2013.

GURSOY, R. N.; BENITA, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, n. 3, p. 173-182, 2004.

HALDER, S.; OGINO, M.; SETO, Y.; SATO, H.; ONOUE, S. Improved biopharmaceutical properties of carvedilol employing  $\alpha$ -tocopheryl polyethylene glycol 1000 succinate-based self-emulsifying drug delivery system. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 11, p. 1838-1844, 2018.

HAMED, R.; AWADALLAH, A.; SUNOQROT, S.; TARAWNEH, O.; NAZZAL, S.; ALBARAGHTHI, T.; SAYYAD, J. A.; ABBAS, A. pH-dependent solubility and dissolution behavior of carvedilol—case example of a weakly basic BCS class II drug. **AAPS PharmSciTech**, v. 17, n. 2, p. 418-426, 2016.

HAUSS, D.J. Oral lipid-based formulations: enhancing the bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Drugs and Pharmaceutical Sciences**, v. 170, Informa Healthcare, 2007.

IBRAHIM, T. M.; ABDALLAH, M. H.; EL-MEGRAB, N. A.; EL-NAHAS, H. M. Upgrading of dissolution and anti-hypertensive effect of Carvedilol via two combined approaches: self-emulsification and liquisolid techniques. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 44, n. 6, p. 873-885, 2018.

ICH, I. Q2 (R1): Validation of analytical procedures: text and methodology. **In: International Conference on Harmonization**, Geneva. 2005.

IOSIO, T.; VOINOVICH, D.; GRASSI, M.; PINTO, J. F.; PERISSUTTI, B.; ZACCHIGNA, M.; QUINTAVALLE, U.; SERDOZ, F. Bi-layered self-emulsifying pellets prepared by co-extrusion and spheronization: Influence of formulation variables and preliminary study on the in vivo absorption. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 686-697, 2008.

JOYCE, P.; DENING, T. J.; MEOLA, T. R.; SCHULTZ, H. B.; HOLM, R.; THOMAS, N.; PRESTIDGE, C. A. Solidification to improve the biopharmaceutical performance of SEDDS: Opportunities and challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 142, p. 102-117, 2019.

KANG, B. K.; LEE, J. S.; CHON, S. K.; JEONG, S. Y.; YUK, S. H.; KHANG, G.; LEE, H. B.; CHO, S. H. Development of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS) for oral bioavailability enhancement of simvastatin in beagle dogs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 274, n. 1-2, p. 65-73, 2004.

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, n. 6, p. 480-495, 2012.

KIM, D. W.; KWON, M. S.; YOUSAF, A. M.; BALAKRISHNAN, P.; PARK, J. H.; KIM, D. S.; LEE, B.; PARK, Y. J.; YONG, C. S.; KIM, J. O.; CHOI, H. G. Comparison of a solid SMEDDS and solid dispersion for enhanced stability and bioavailability of clopidogrel napadisilate. **Carbohydrate Polymers**, 114, p. 365-374, 2014.

KOSSENA, G.A.; CHARMAN, W.N.; WILSON, C.G.; O'MAHONY, B.; LINDSAY, B.; HEMPENSTALL, J.M.; DAVISON, C.L.; CROWLEY, P.J.; PORTER, C.J.H. Low dose lipid formulations: effects on gastric emptying and biliary secretion. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 11, p. 2084-2096, 2007.

KRUPA, A.; JACHOWICZ, R.; KUREK, M.; FIGIEL, W.; KWIECIEŃ, M. Preparation of solid self-emulsifying drug delivery systems using magnesium aluminometasilicates and fluid-bed coating process. **Powder Technology**, v. 266, p. 329-339, 2014.

KUENTZ, M. Lipid-based formulations for oral delivery of lipophilic drugs. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 9, n. 2, p. e97-e104, 2012.

KUMAR, A.; GERNAEY, K. V.; DE BEER, T.; NOPENS, I. Model-based analysis of high shear wet granulation from batch to continuous processes in pharmaceutical production—a critical review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, n. 3, p. 814-832, 2013.

LEI, Y.; LU, Y.; QI, J.; NIE, S.; HU, F.; PAN, W.; WU, W. Solid self-nanoemulsifying cyclosporin A pellets prepared by fluid-bed coating: preparation, characterization and in vitro redispersibility. **International Journal of Nanomedicine**, v. 6, p. 795, 2011.

LIPINSKI, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 44, n. 1, p. 235-249, 2000.

LOFTSSON, T.; VOGENSEN, S. B.; DESBOS, C.; JANSOOK, P. Carvedilol: Solubilization and Cyclodextrin Complexation: A Technical Note. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 9, p. 425-420, 2008.

MA, Q.; SUN, H.; CHE, E.; ZHENG, X.; JIANG, T.; SUN, C.; WANG, S. Uniform nano-sized valsartan for dissolution and bioavailability enhancement: influence of particle size and crystalline state. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 441, n. 1-2, p. 75-81, 2013.

MAHMOUD, H.; AL-SUWAYEH, S.; ELKADI, S. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems of simvastatin aiming dissolution enhancement. **African Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 7, n. 22, p. 1482-1500, 2013.

- MAHMOUD, E. A.; BENDAS, E. R.; MOHAMED, M. I. Preparation and evaluation of self-nanoemulsifying tablets of carvedilol. **AAPS pharmscitech**, 10(1), p. 183-192, 2009.
- MANDIĆ, J.; LUŠTRIK, M.; VREČER, F.; GAŠPERLIN, M.; POBIRK, A. Z. Solidification of carvedilol loaded SMEDDS by swirling fluidized bed pellet coating. **International Journal of Pharmaceutics**, 566, p. 89-100, 2019.
- MANDIĆ, J.; POBIRK, A. Z.; VREČER, F.; GAŠPERLIN, M. Overview of solidification techniques for self-emulsifying drug delivery systems from industrial perspective. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 533, n. 2, p. 335-345, 2017.
- MCCLEMENTS, D. J. Nanoemulsions versus microemulsions: terminology, differences, and similarities. **Soft Matter**, v. 8, n. 6, p. 1719-1729, 2012.
- MEDEIROS, J.; KANIS, L. A. Avaliação do efeito de polietilenoglicóis no perfil de extratos de *Mikania glomerata* Spreng., Asteraceae, e *Passiflora edulis* Sims, Passifloraceae. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 20(5), p. 796-802, 2010.
- MION JR, D., PIERIN, A.; IGNEZ, E.; BALLAS, D.; MARCONDES, M. Conhecimento, preferências e perfil dos hipertensos quanto ao tratamento farmacológico e não farmacológico. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. 17(4), p. 229-236, 1995.
- MUTLU, H.; MEIER, M. A. R. Castor oil as a renewable resource for the chemical industry. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 112, n. 1, p. 10-30, 2010.
- NASR, A.; GARDOUH, A.; GHORAB, M. Novel solid self-nanoemulsifying drug delivery system (S-SNEDDS) for oral delivery of olmesartan medoxomil: design, formulation, pharmacokinetic and bioavailability evaluation. **Pharmaceutics**, v. 8, n. 3, p. 20, 2016.
- NEWTON, M.; PETERSSON, J.; PODCZECK, F.; CLARKE, A.; BOOTH, S. The influence of formulation variables on the properties of pellets containing a self-emulsifying mixture. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 90, n. 8, p. 987-995, 2001.
- O'LENICK JR, A. J.; PARKINSON, J. K. Three-dimensional HLB. **Cosmetics and toiletries**, v. 111, n. 10, p. 37-46, 1996.
- PATEL, R. P.; PATEL, M. P.; SUTHAR, A. M. Spray drying technology: an overview. **Indian Journal of Science and Technology**, v. 2, n. 10, p. 44-47, 2009.
- PATEL, V.; LALANI, R.; BARDOLIWALA, D.; GHOSH, S.; MISRA, A. Lipid-based oral formulation strategies for lipophilic drugs. **AAPS PharmSciTech**, v. 19, n. 8, p. 3609-3630, 2018.
- PORTER, C. J. H.; POUTON, C. W.; CUINE, J. F.; CHARMAN, W. N. Enhancing intestinal drug solubilisation using lipid-based delivery systems. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 6, p. 673-691, 2008.
- PORTER, C. J. H.; TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, W. N. Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. **Nature Reviews Drug Discovery**, 6(3), p. 231-248. 2007.

QIU, Y.; CHEN, Y.; ZHANG, G. G.; YU, L.; MANTRI, R. V. **Developing Solid Oral Dosage Forms: pharmaceutical theory and practice**. Academic press, 2009.

RAHMANIAN, N.; NAJI, A.; GHADIRI, M. Effects of process parameters on granules properties produced in a high shear granulator. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 89, n. 5, p. 512-518, 2011.

RANI, S.; RANA, R.; SARAOGI, G. K.; KUMAR, V.; GUPTA, U. Self-emulsifying oral lipid drug delivery systems: advances and challenges. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 3, p. 129, 2019.

RAMLI, S.; CHYI, K. T.; ZAINUDDIN, N.; MOKHTAR, W. N. A. W.; ABDUL RAHMAN, I. The Influence of Surfactant/Co-Surfactant Hydrophilic-Lipophilic Balance on the Formation of Limonene-Based Microemulsion as Vitamin C Carrier. **Sains Malaysiana**, v. 48, n. 5, p. 1035-1042, 2019.

SALIMI, A.; ZADEH, B. S. M.; HEMATI, A. A.; BIRGANI, S. A. Design and evaluation of self-emulsifying drug delivery system (SEDDS) of carvedilol to improve the oral absorption. **Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 9, n. 3, 2014.

SALVI, S. T. B. **Método para controle da qualidade de medicamentos sólidos por difração de raios X**. 2015. 165 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química, 2015.

SARRAGUÇA, M. C.; CRUZ, A. V.; SOARES, S. O.; AMARAL, H. R.; COSTA, P. C.; LOPES, J. A. Determination of flow properties of pharmaceutical powders by near infrared spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 52, n. 4, p. 484-492, 2010.

SERRATONI, M.; NEWTON, M.; BOOTH, S.; CLARKE, A. Controlled drug release from pellets containing water-insoluble drugs dissolved in a self-emulsifying system. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 1, p. 94-98, 2007.

SHEKESKEY, P.; COOK, W. G.; CABLE, C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 8<sup>th</sup> ed., Pharmaceutical Press, 2017.

SIEPMANN, J.; FAHAM, A.; CLAS, S. D.; BOYD, B. J.; JANNIN, V.; BERNKOP-SCHNÜRCH, A.; ZHAO, H.; LECOMMANDOUX, S.; EVANS, J.C.; ALLEN, C.; MERKEL, O. M.; COSTABILE, G.; ALEXANDER, M. R.; WILDMAN, R.D.; ROBERTS, C. J.; LEROUX, J. C. Lipids and polymers in pharmaceutical technology: Lifelong companions. **International Journal of Pharmaceutics**, 558, p. 128-142, 2019.

SILVA, L. A. D.; ALMEIDA, S. L.; ALONSO, E. C.; ROCHA, P. B.; MARTINS, F. T.; FREITAS, L. A.; TAVEIRA, S. F.; MARRETO, R. N. Preparation of a solid self-microemulsifying drug delivery system by hot-melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**, 541(1-2), p. 1-10, 2018.

SILVA, L. A. D.; CINTRA, E. R.; ALONSO, E. C. P.; ALVES, G. L.; LIMA, E. M.; TAVEIRA, S. F.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; MARRETO, R. N. Selection of excipients for the development of carvedilol loaded lipid-based drug delivery systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 130(3), p. 1593-1604, 2017.

SILVA, L. A. D.; TEIXEIRA, F. V.; SERPA, R. C.; ESTEVES, N. L.; DOS SANTOS, R. R.; LIMA, E. M.; CUNHA-FILHO, M. S. S.; ARAÚJO, A. A. S. TAVEIRA, S. F.; MARRETO, R. N. Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2337-2344, 2016.

SILVA, P. **Farmacologia**. 7. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

SINGH, B.; SINGH, R.; BANDYOPADHYAY, S.; KAPIL, R.; GARG, B. Optimized nanoemulsifying systems with enhanced bioavailability of carvedilol. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 465-474, 2013.

SINGH, B.; KHURANA, L.; BANDYOPADHYAY, S.; KAPIL, R.; KATARE, O. O. P. Development of optimized self-nano-emulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of carvedilol with enhanced bioavailability potential. **Drug Delivery**, v. 18, n. 8, p. 599-612, 2011.

STILLHART, C.; DÜRR, D.; KUENTZ, M. Toward an improved understanding of the precipitation behavior of weakly basic drugs from oral lipid-based formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 4, p. 1194-1203, 2014.

SWENSON, E. S.; MILISEN, W. B.; CURATOLO, W. Intestinal permeability enhancement: efficacy, acute local toxicity, and reversibility. **Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 8, p. 1132-1142, 1994.

TANG, B.; CHENG, G.; GU, J. C.; XU, C. H. Development of solid self-emulsifying drug delivery systems: preparation techniques and dosage forms. **Drug Discovery Today**, 13(13-14), p. 606-612, 2008.

TAVEIRA, S. F.; VARELA-GARCIA, A.; DOS SANTOS SOUZA, B.; MARRETO, R. N.; MARTIN-PASTOR, M.; CONCHEIRO, A.; ALVAREZ-LORENZO, C. Cyclodextrin-based poly (pseudo) rotaxanes for transdermal delivery of carvedilol. **Carbohydrate Polymers**, 200, p. 278-288, 2018.

THAPA, P.; TRIPATHI, J.; JEONG, S. H. Recent trends and future perspective of pharmaceutical wet granulation for better process understanding and product development. **Powder Technology**, v. 344, p. 864-882, 2019.

THOMAS, N.; RADES, T.; MÜLLERTZ, A. Recent developments in oral lipid-based drug delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 23, n. 4, p. 375-382, 2013.

USP 41. **UNITED STATES PHARMACOPEIA**, Vol 5. 2018.

VAN SPEYBROECK, M.; WILLIAMS, H. D.; NGUYEN, T. H.; ANBY, M. U.; PORTER, C. J. H.; AUGUSTIJNS, P. Incomplete desorption of liquid excipients reduces the in vitro and in vivo performance of self-emulsifying drug delivery systems solidified by adsorption onto an inorganic mesoporous carrier. **Molecular Pharmaceutics**, v. 9, n. 9, p. 2750-2760, 2012.

VISHWAKARMA, N.; JAIN, A.; SHARMA, R.; MODY, N.; VYAS, S.; VYAS, S. P. Lipid-based nanocarriers for lymphatic transportation. **AAPS PharmSciTech**, v. 20, n. 2, p. 83, 2019.

WANG, Z.; SUN, J.; WANG, Y.; LIU, X.; LIU, Y.; FU, Q.; MENG, P.; HE, Z. Solid self-emulsifying nitrendipine pellets: preparation and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, n. 1-2, p. 1-6, 2010.

WEERAPOL, Y.; LIMMATVAPIRAT, S.; JANSAKUL, C.; TAKEUCHI, H.; SRIAMORNSAK, P. Enhanced dissolution and oral bioavailability of nifedipine by spontaneous emulsifying powders: effect of solid carriers and dietary state. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 91, p. 25-34, 2015.

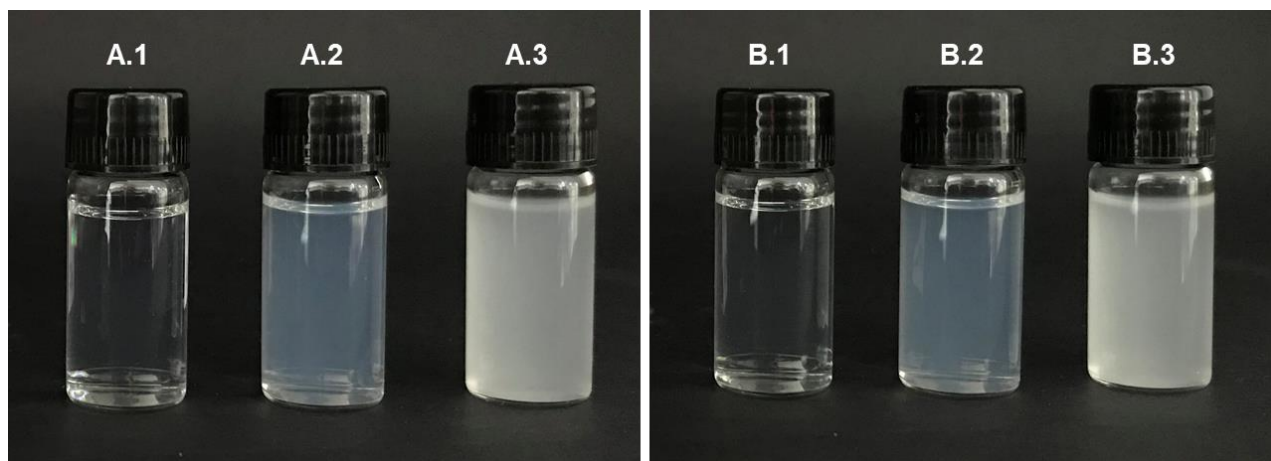
WEI, L.; SUN, P.; NIE, S.; PAN, W. Preparation and evaluation of SEDDS and SMEDDS containing carvedilol. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 31, n. 8, p. 785-794, 2005.

Yi, T.; Wan, J.; Xu, H.; Yang, X. A new solid self-microemulsifying formulation prepared by spray-drying to improve the oral bioavailability of poorly water soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 2, p. 439-444, 2008.

ZHANG, Y.; WANG, R.; WU, J.; SHEN, Q. Characterization and evaluation of self-microemulsifying sustained-release pellet formulation of puerarin for oral delivery. **International Journal of pharmaceutics**, v. 427, n. 2, p. 337-344, 2012.

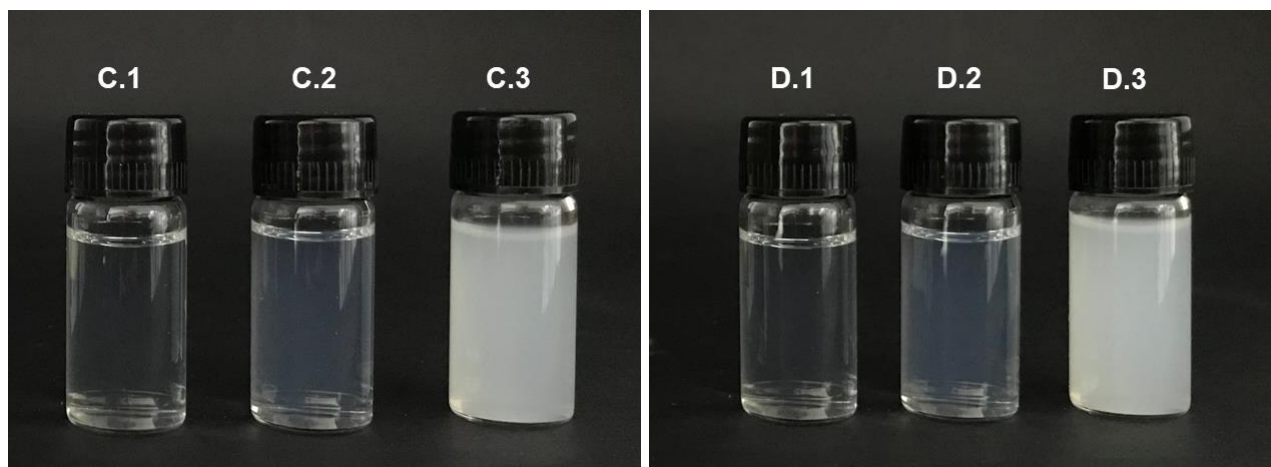
---

**Aspecto visual dos L-SEDDS diluídos em soluções de HCl (pH 1,2) e solução tamponante fosfato (pH 6,8).**



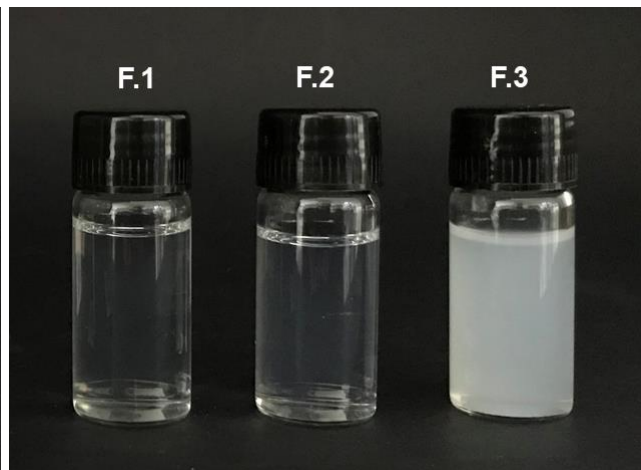
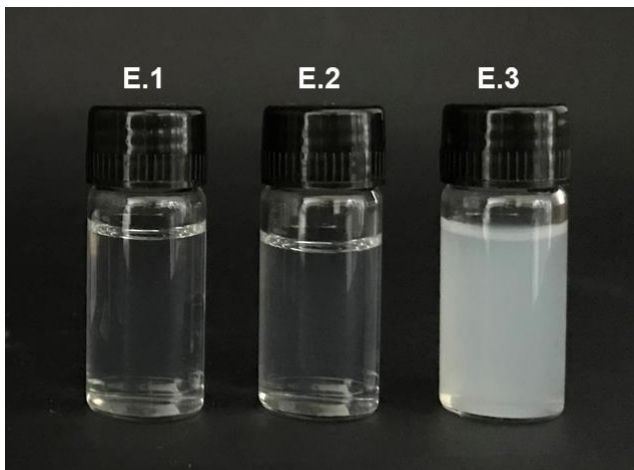
A.1 - ST (3:1), A.2 - ST (1:1) e A.3 - ST (1:3), dispersos em solução de HCl pH 1,2 (1:250).

B.1 - ST (3:1), B.2 - ST (1:1) e B.3 - ST (1:3), dispersos em solução tamponante fosfato pH 6,8 (1:250).



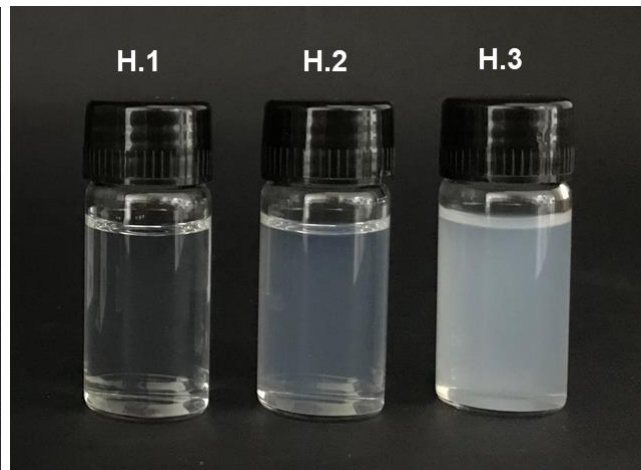
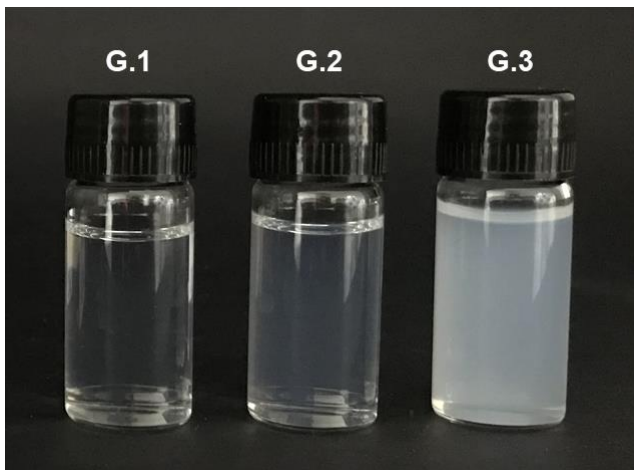
C.1 - SP (3:1), C.2 - SP (1:1) e C.3 - SP (1:3), dispersos em solução de HCl pH 1,2 (1:250).

D.1 - SP (3:1), D.2 - SP (1:1) e D.3 - SP (1:3), dispersos em solução tamponante fosfato pH 6,8 (1:250).



E.1 - KT (3:1), E.2 - KT (1:1) e E.3 - KT (1:3), dispersos em solução de HCl pH 1,2 (1:250).

F.1 - KT (3:1), F.2 - KT (1:1) e F.3 - KT (1:3), dispersos em solução tamponante fosfato pH 6,8 (1:250).



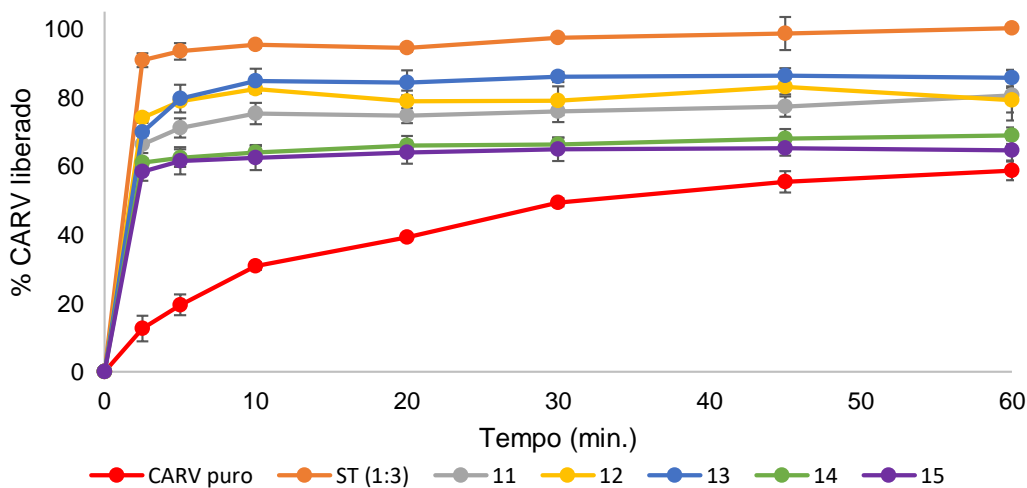
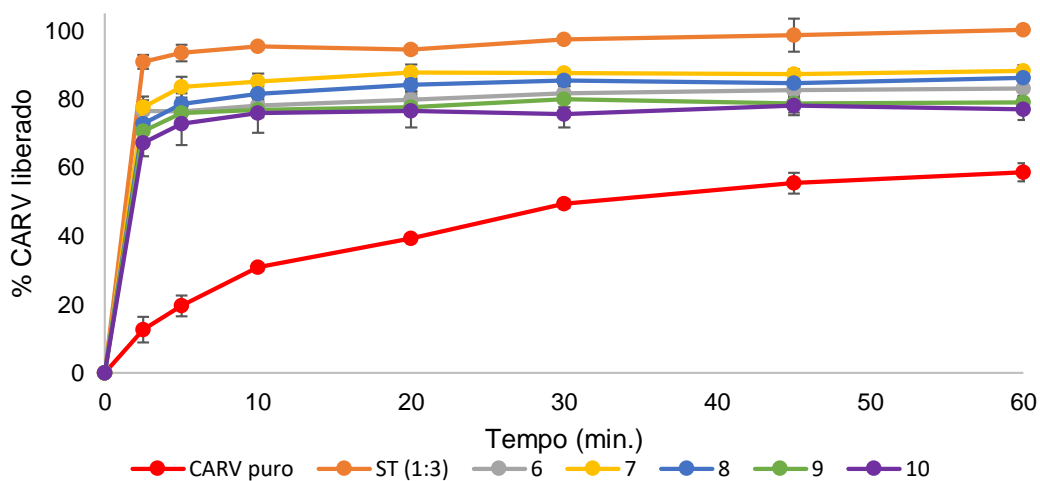
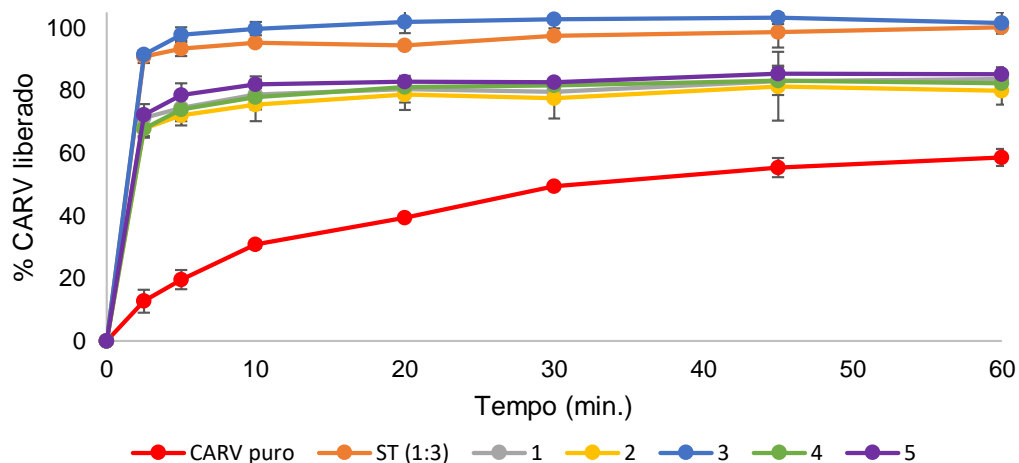
G.1 - KP (3:1), G.2 - KP (1:1) e G.3 - KP (1:3), dispersos em solução de HCl pH 1,2 (1:250).

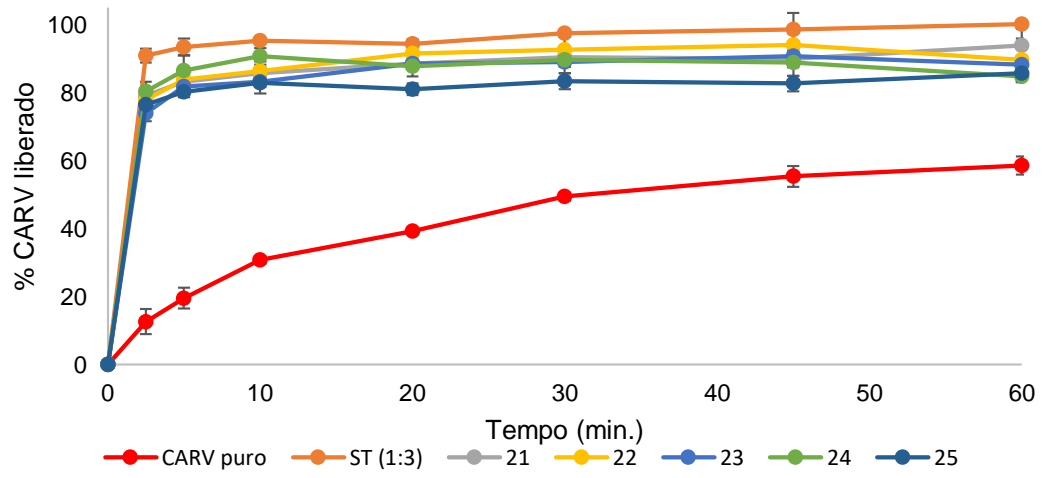
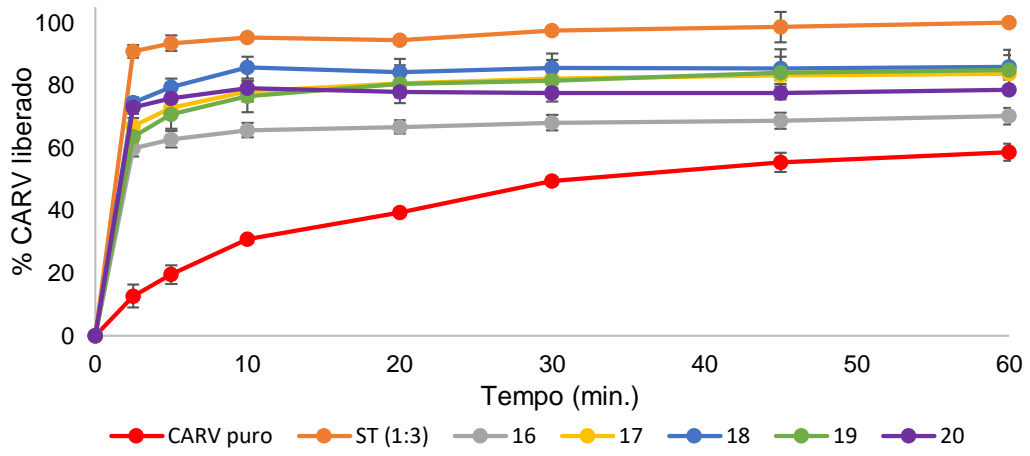
H.1 - KP (3:1), H.2 - KP (1:1) e H.3 - KP (1:3), dispersos em solução tamponante fosfato pH 6,8 (1:250).

**Distribuição granulométrica dos S-SEDDS obtidos a partir da matriz de planejamento de mistura combinado.**

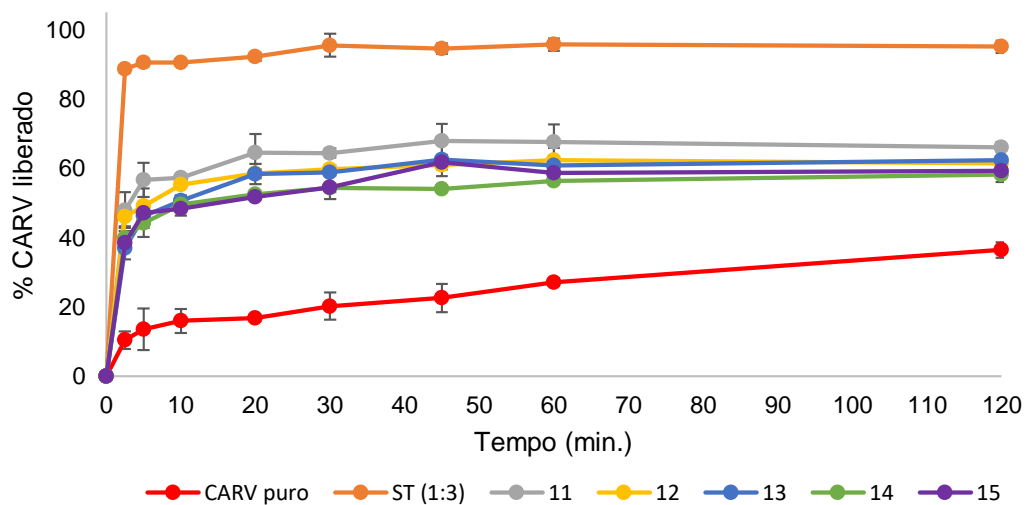
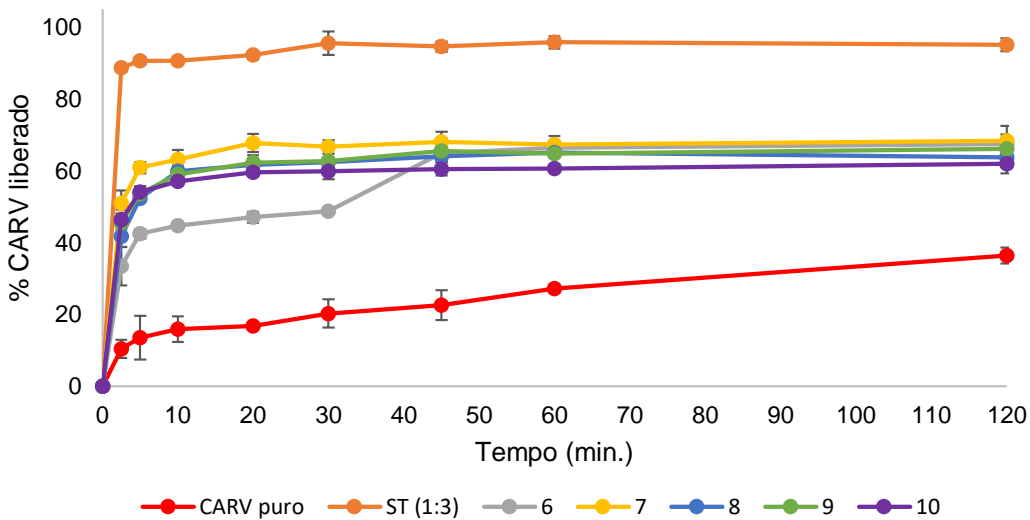
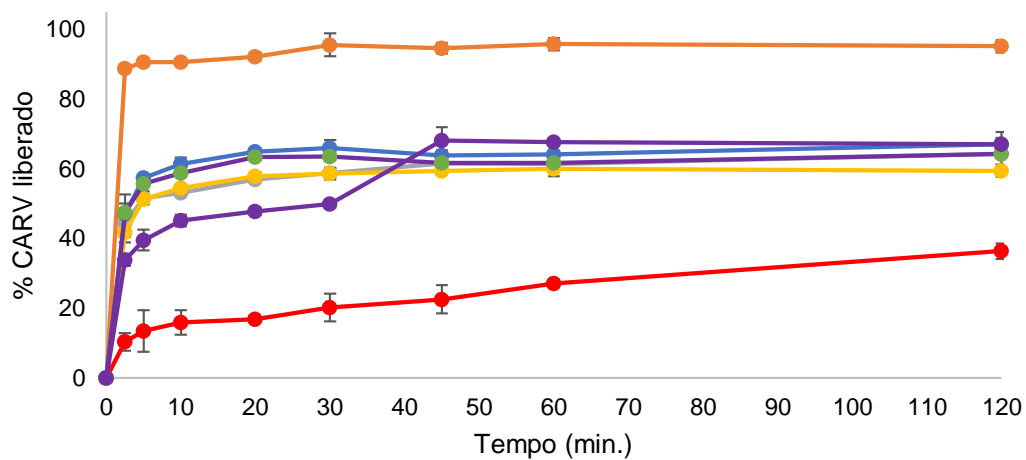
Formulação	% retida					
	Tamis 850 $\mu$ m	Tamis 425 $\mu$ m	Tamis 250 $\mu$ m	Tamis 106 $\mu$ m	Tamis 63 $\mu$ m	Coletor
1	3,62	11,90	6,33	17,59	32,63	27,93
2	2,35	10,32	6,35	34,47	24,84	21,68
3	2,44	10,22	7,81	25,44	27,84	26,25
4	2,93	10,71	6,39	15,80	32,25	31,92
5	2,72	9,93	6,04	45,97	20,43	14,92
6	1,18	7,87	5,47	16,81	29,21	39,45
7	1,05	5,17	6,66	20,52	39,86	26,74
8	2,54	8,96	9,00	50,02	26,91	2,58
9	3,11	9,12	5,77	14,84	22,83	44,33
10	2,96	8,80	7,20	17,57	42,98	20,49
11	5,04	12,37	7,66	15,80	18,38	40,75
12	2,47	11,08	7,26	40,53	28,72	9,94
13	4,21	12,63	9,36	42,71	26,32	4,78
14	3,50	9,88	5,45	23,83	30,34	27,00
15	2,89	11,02	6,91	49,88	13,21	16,10
16	2,38	10,49	7,71	31,32	26,51	21,59
17	3,87	11,02	9,42	48,50	22,50	4,69
18	3,61	9,85	7,72	39,49	15,02	24,30
19	4,31	12,52	7,31	37,32	12,60	25,94
20	2,28	8,62	5,89	31,71	22,68	28,82
21	3,21	10,73	7,93	17,44	23,46	37,24
22	3,71	12,10	8,55	18,07	29,65	27,91
23	5,59	14,66	9,15	36,72	22,51	11,38
24	4,44	9,09	7,59	24,02	27,26	27,59
25	4,20	10,02	4,73	15,76	27,64	37,66

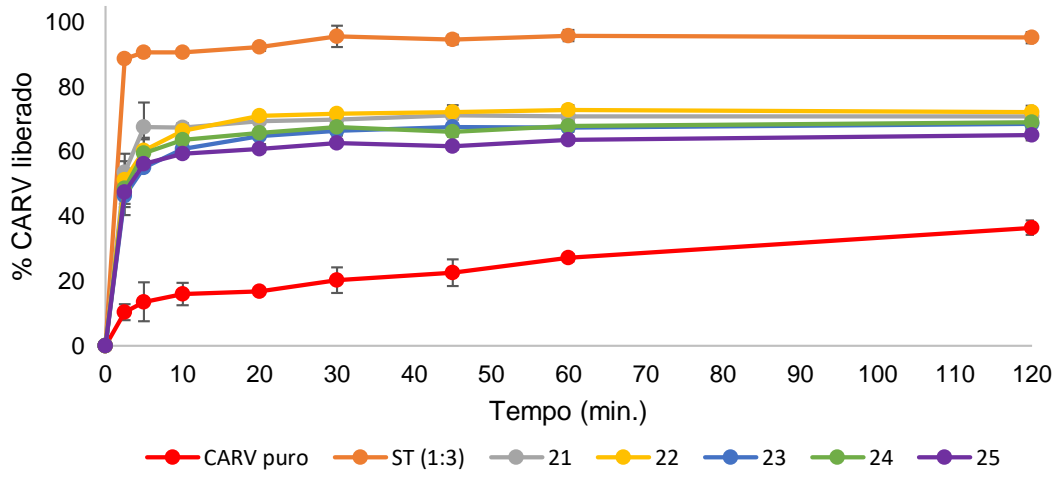
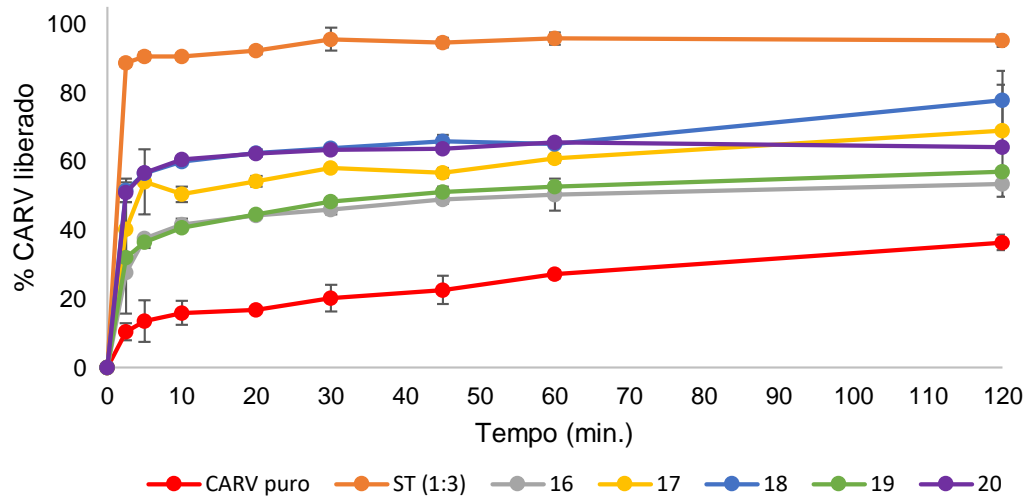
Dissolução *in vitro* (pH 1,2) das formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas.



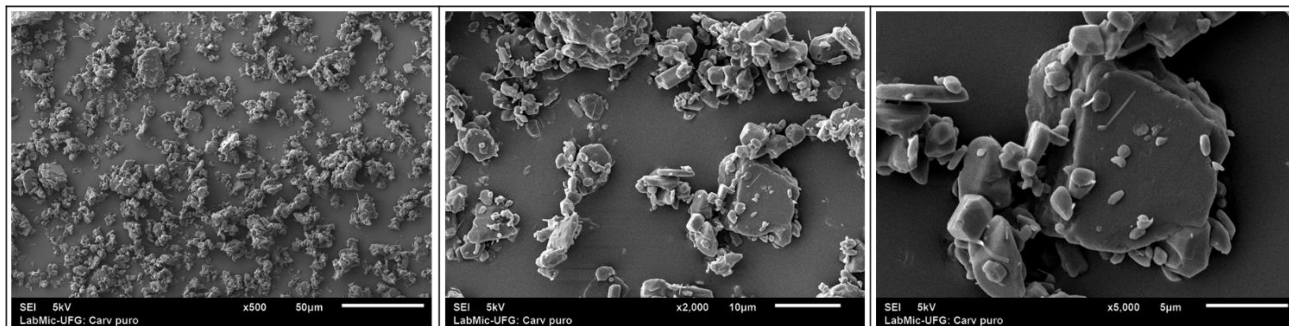


**Dissolução *in vitro* (pH 6,8) das formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado. A liberação a partir da formulação líquida ST (1:3) e do CARV puro também estão apresentadas.**

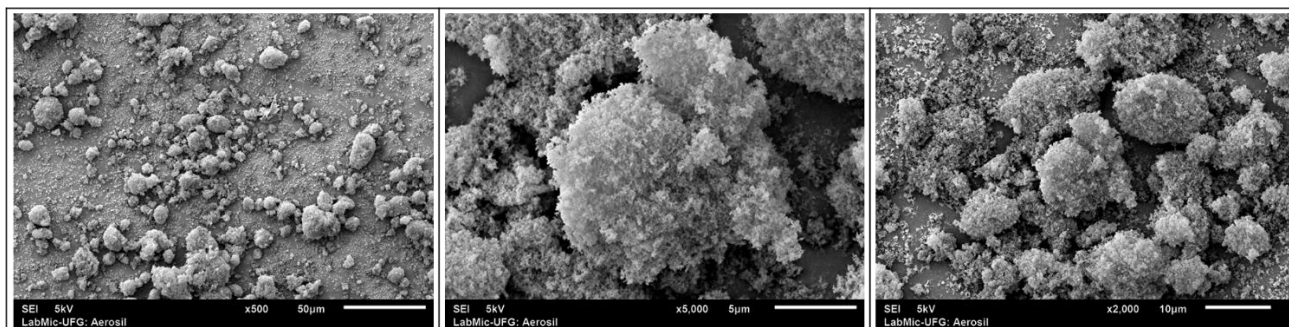




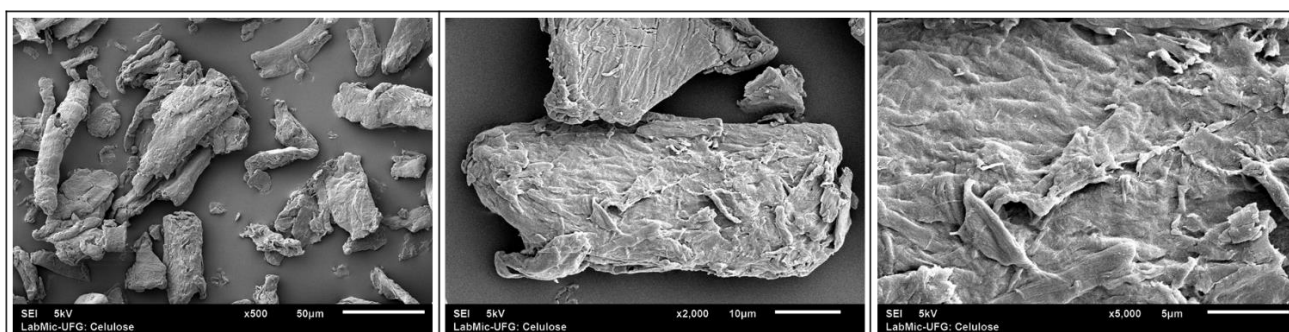
**Microscopias Eletrônicas de Varredura (MEV) do CARV e dos excipientes isolados, bem como das 25 formulações S-SEDDS do planejamento de mistura combinado obtidas a partir da granulação de alto cisalhamento.**



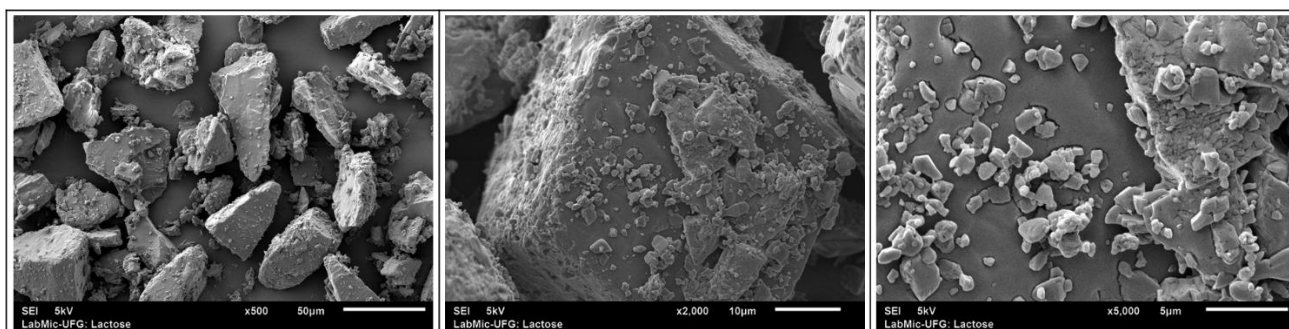
Carvedilol - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



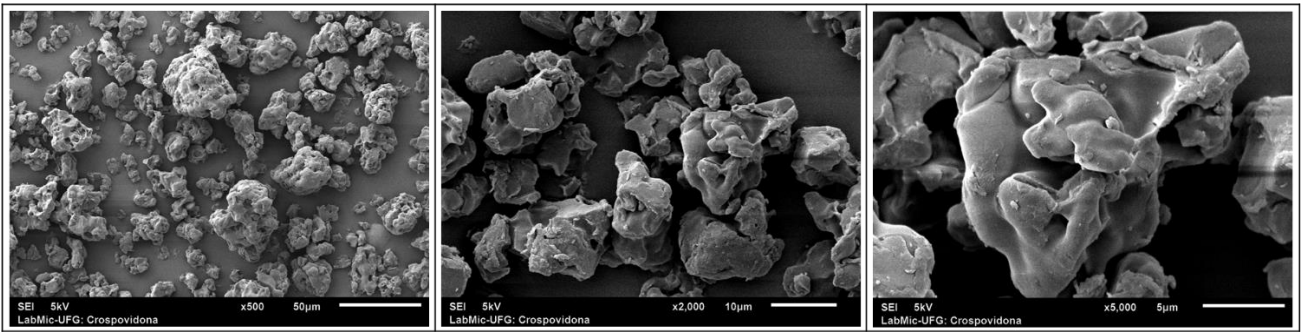
Aerosil 200 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



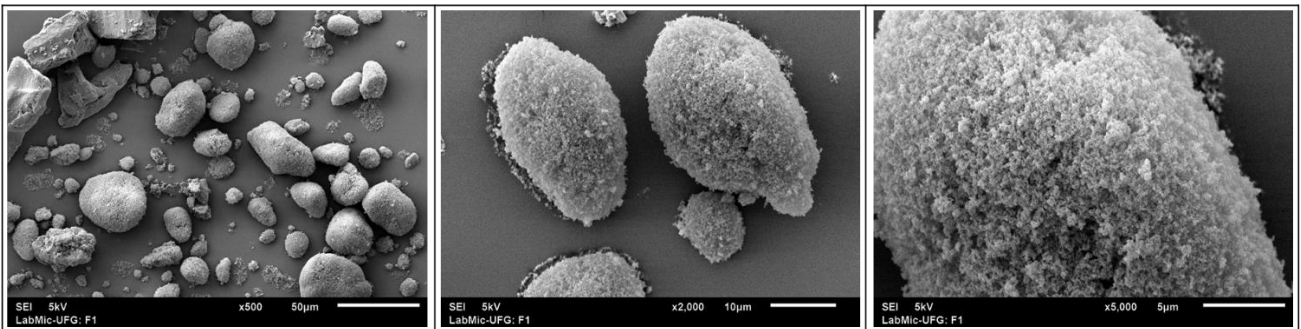
Celulose microcristalina - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



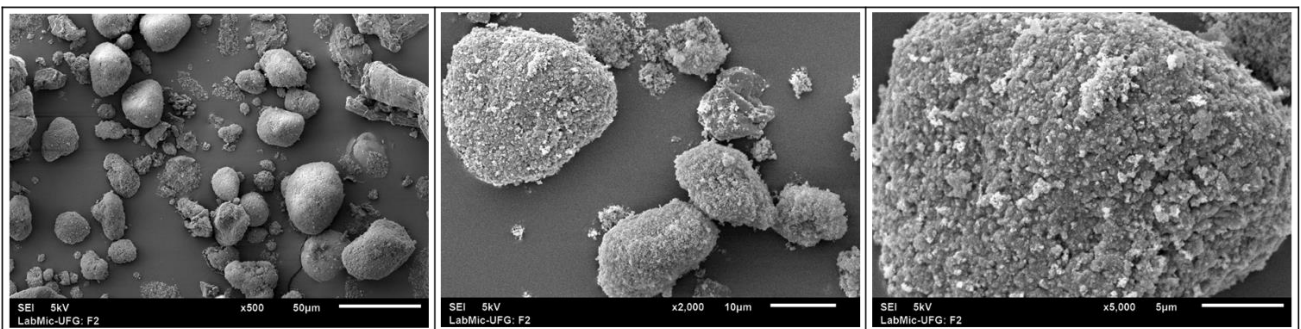
Lactose monoidratada - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



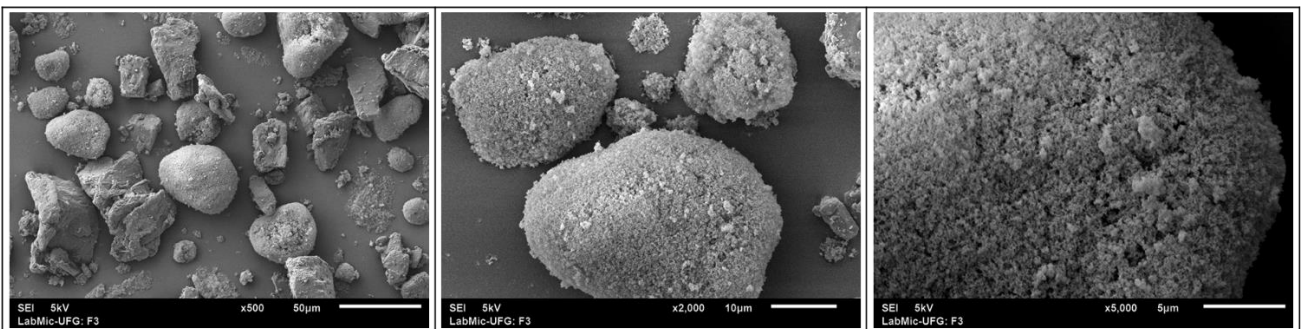
Crospovidona - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



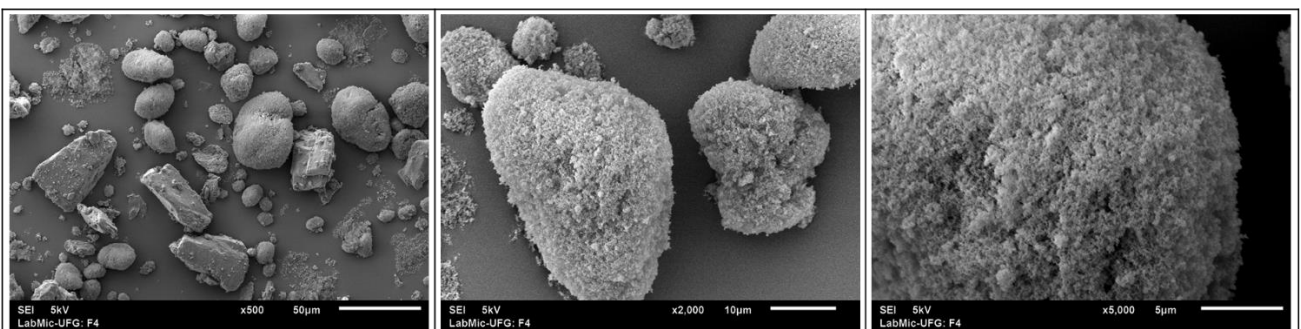
F1 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



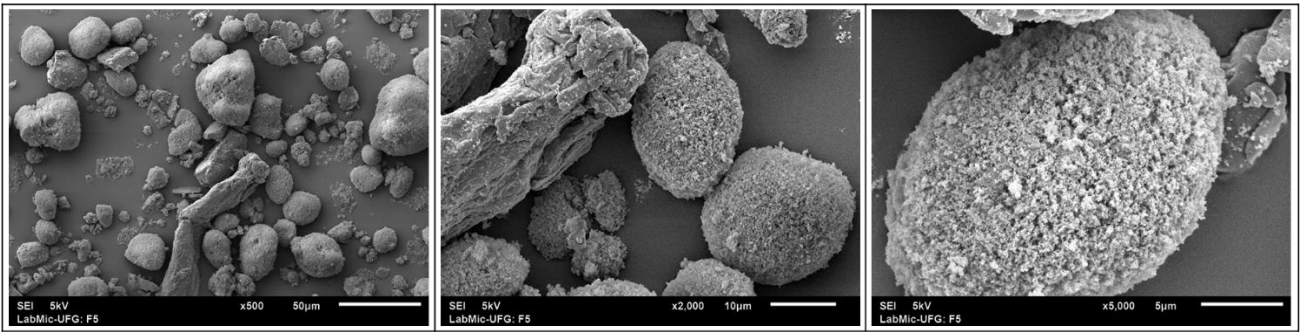
F2 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



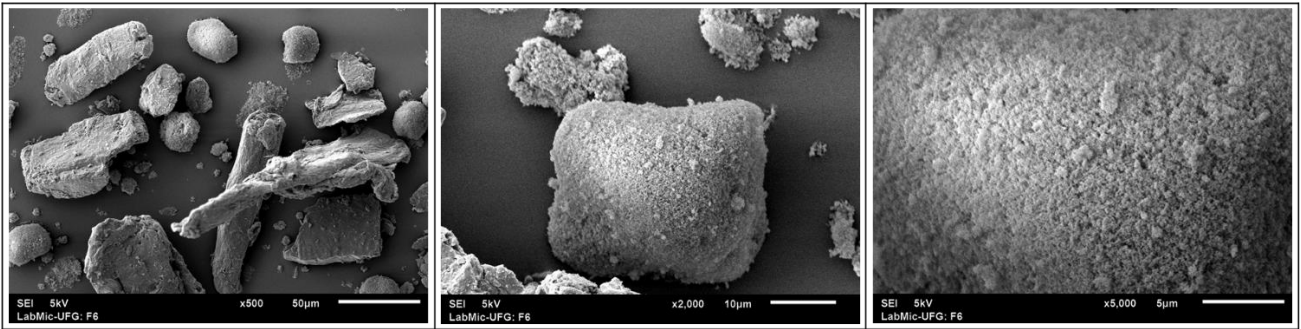
F3 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



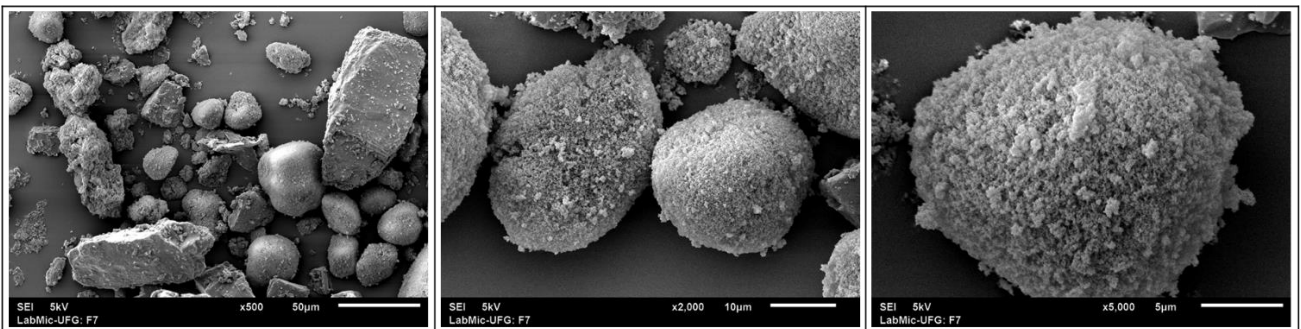
F4 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



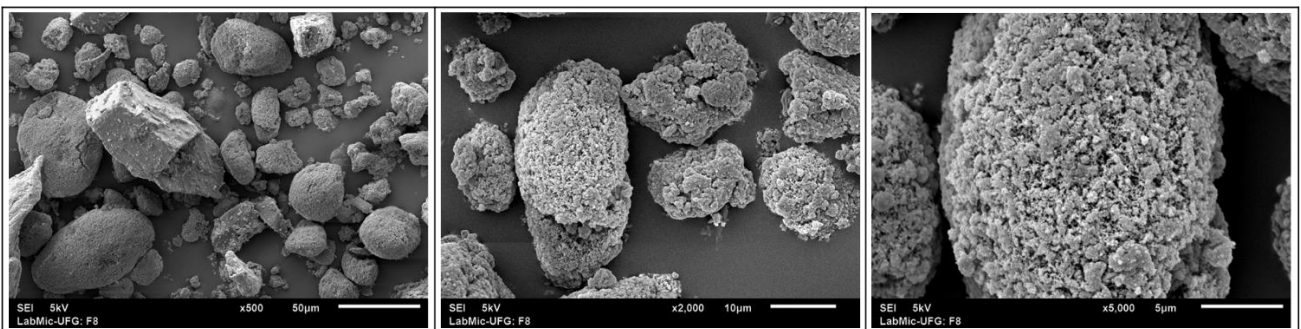
F5 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



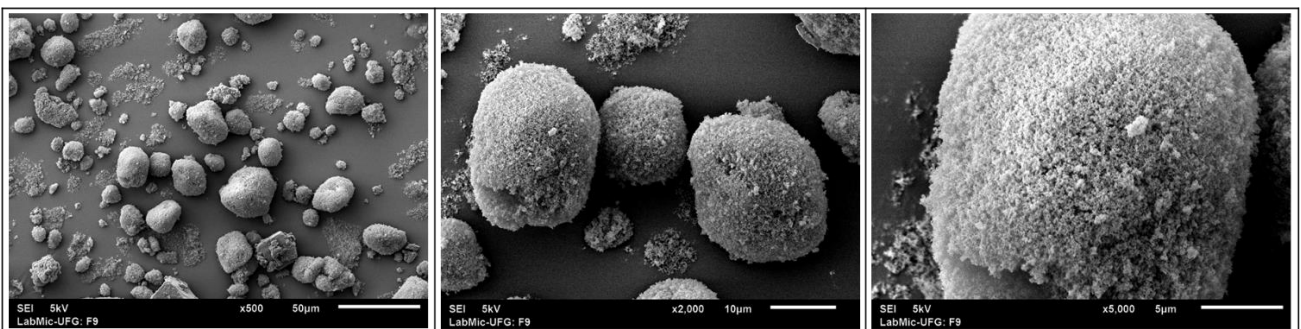
F6 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



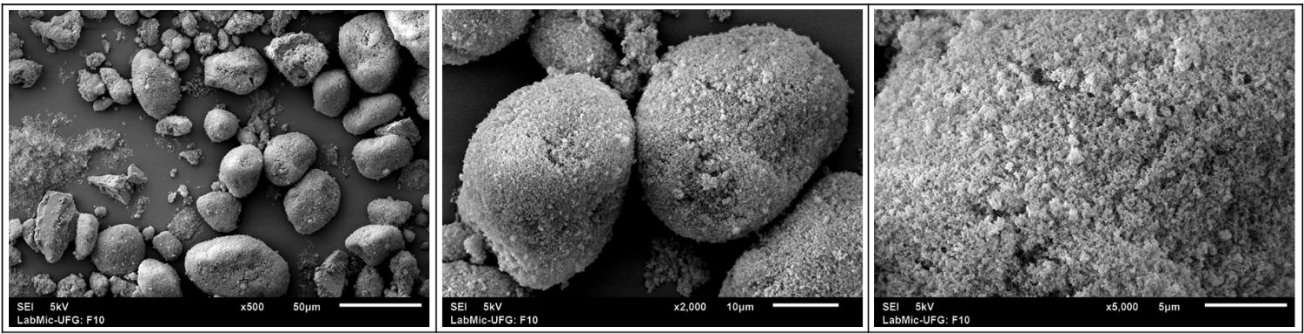
F7 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



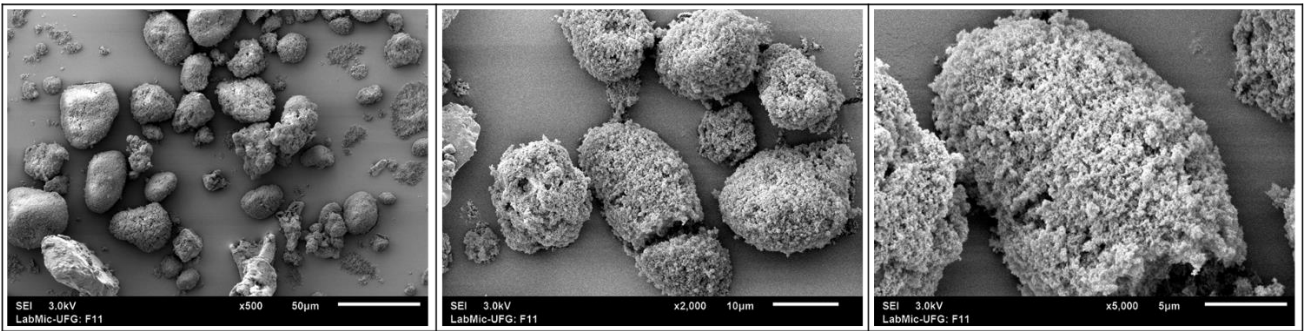
F8 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



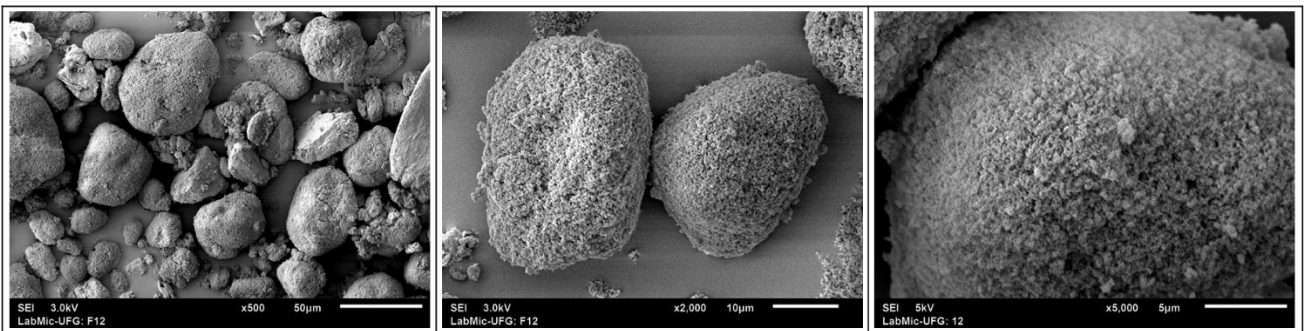
F9 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



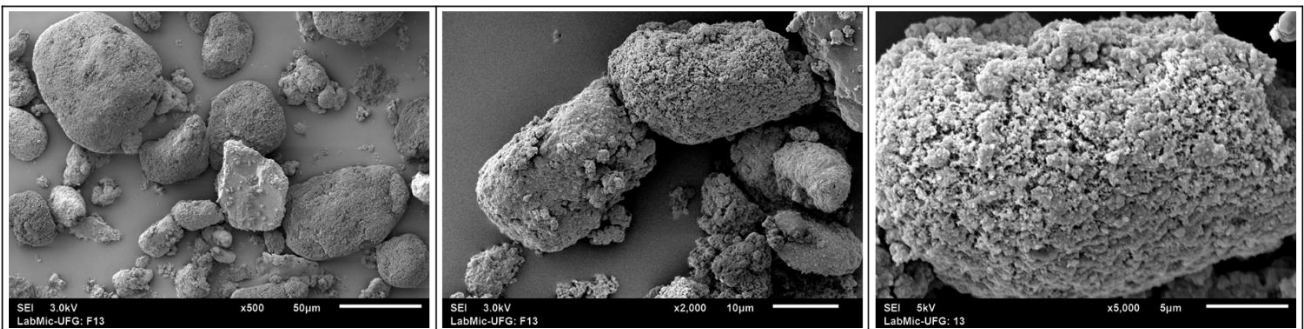
F10 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



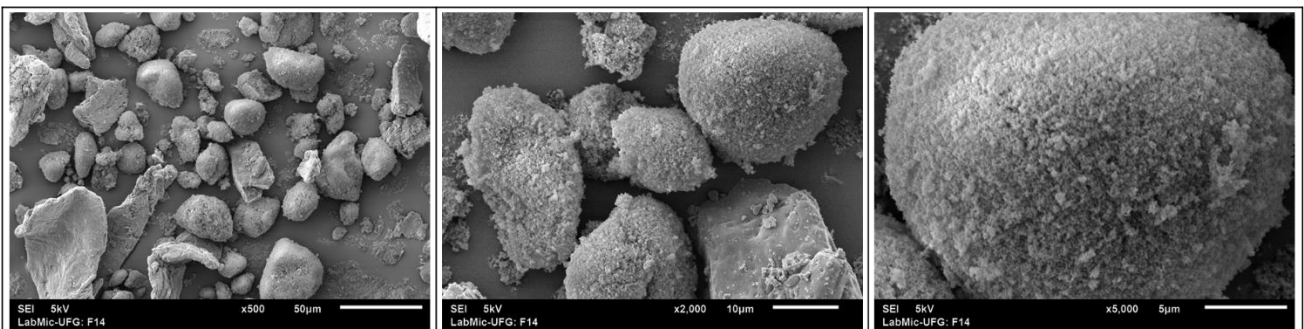
F11 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



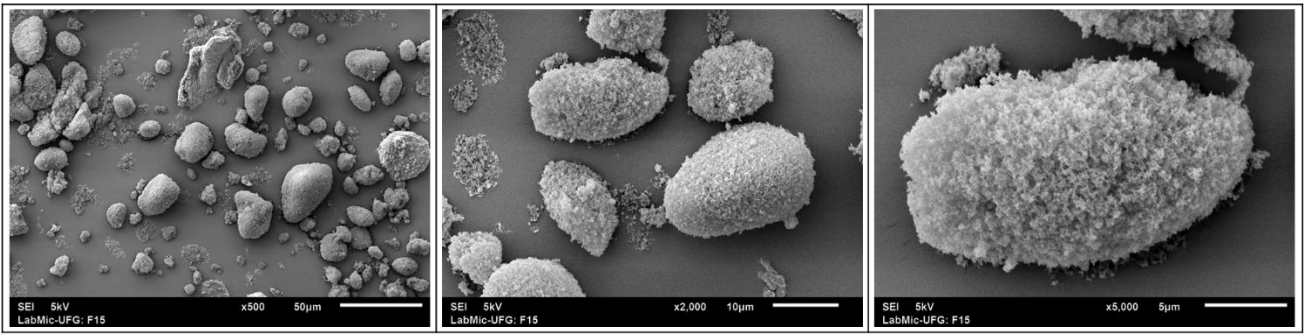
F12 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



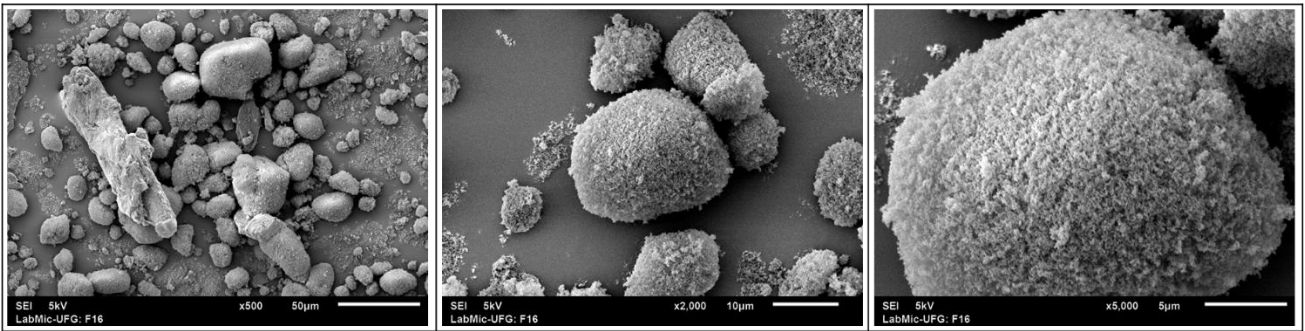
F13 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



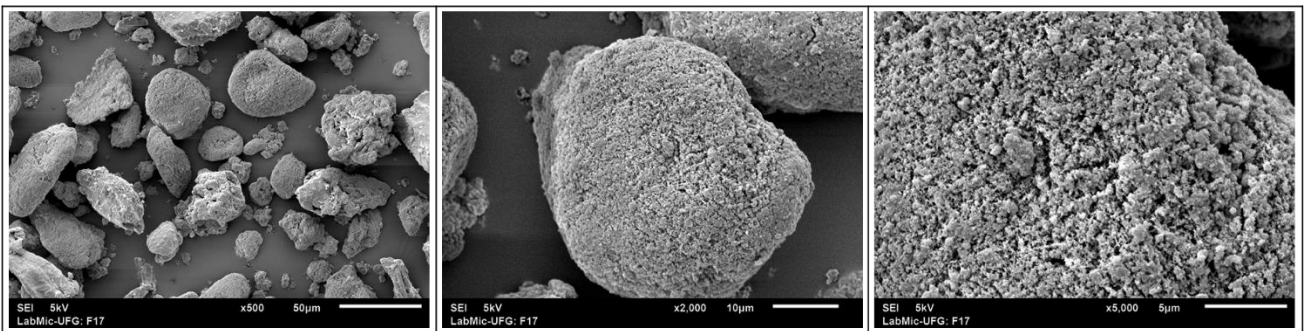
F14 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



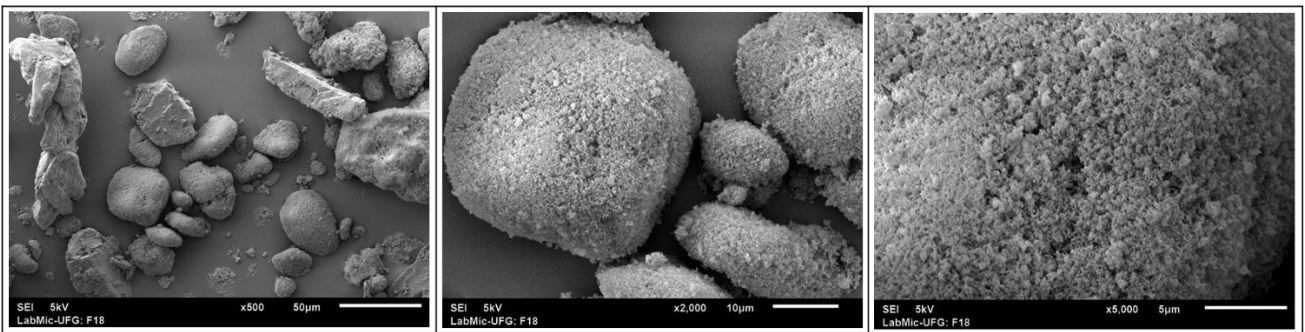
F15 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



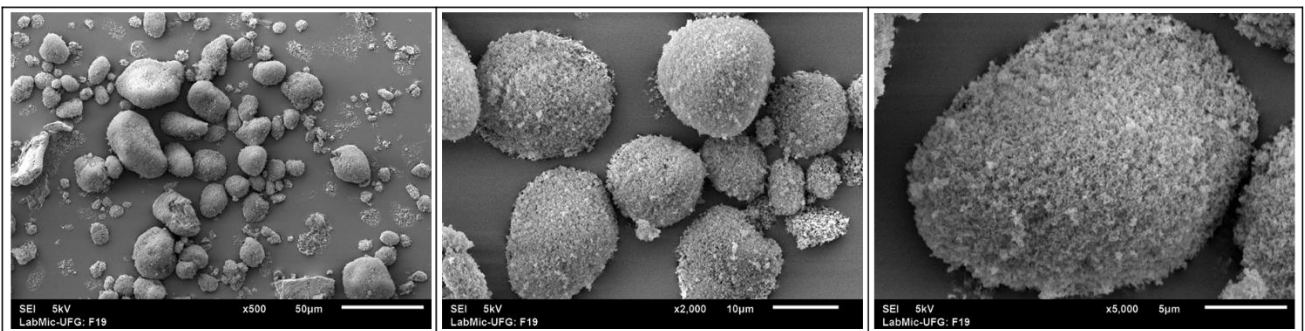
F16 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



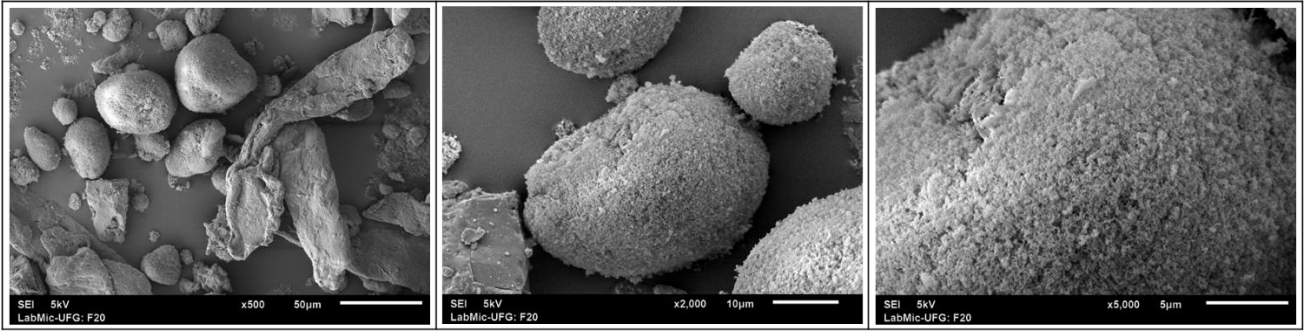
F17 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



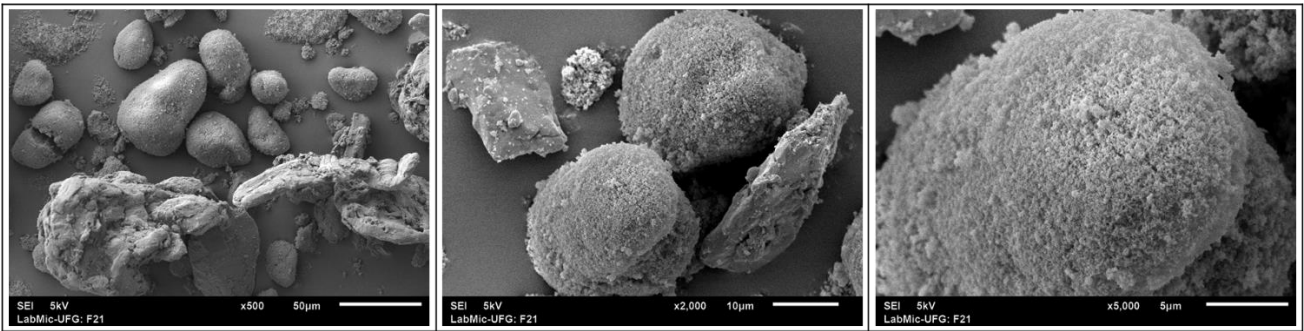
F18 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



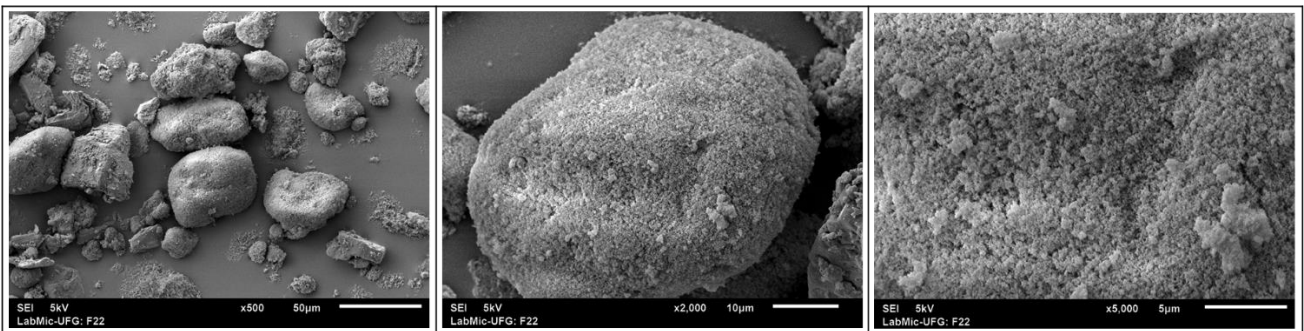
F19 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



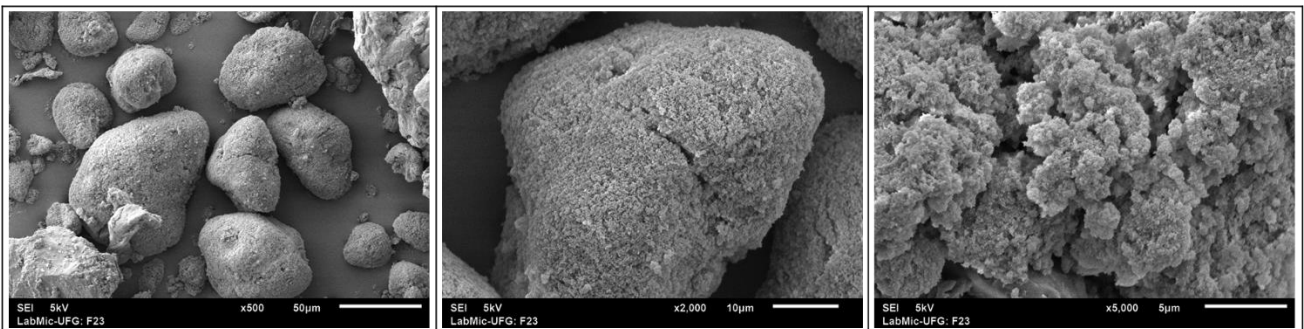
F20 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



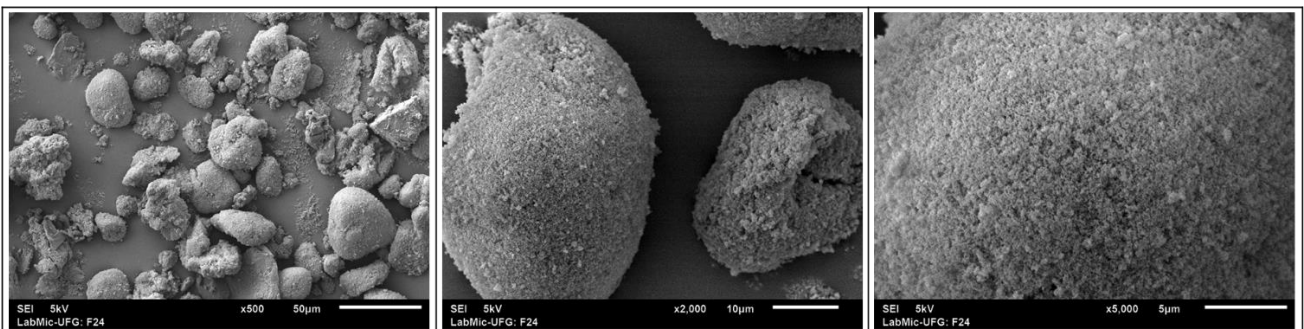
F21 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



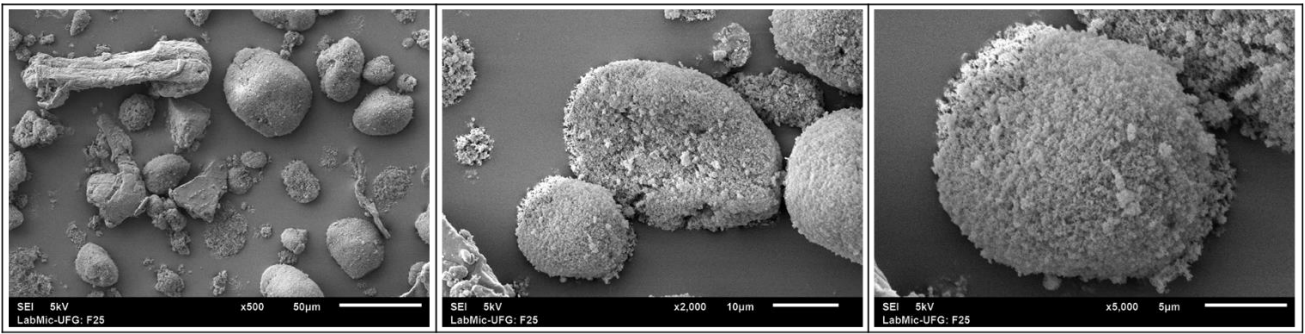
F22 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



F23 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



F24 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.



F25 - da esquerda para a direita, aumentos de 500x, 2.000x e 5.000x.