

UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO FARMACÊUTICA

LUÍS ANTÔNIO DANTAS SILVA

Desenvolvimento e avaliação de sistemas  
automicroemulsionáveis contendo carvedilol pela técnica de  
termoextrusão

Goiânia

2017

---

**TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO 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 nº 9610/98, 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.

**1. Identificação do material bibliográfico:**     Dissertação     Tese

**2. Identificação da Tese ou Dissertação:**

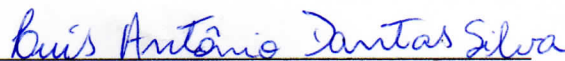
Nome completo do autor: Luís Antônio Dantas Silva

Título do trabalho: Desenvolvimento e avaliação de sistemas automicroemulsionáveis contendo carvedilol pela técnica de termoextrusão

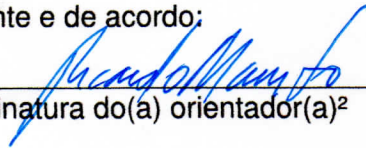
**3. Informações de acesso ao documento:**

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

Havendo concordância com a disponibilização eletrônica, torna-se imprescindível o envio do(s) arquivo(s) em formato digital PDF da tese ou dissertação.

  
Assinatura do(a) autor(a)<sup>2</sup>

Ciente e de acordo:

  
Assinatura do(a) orientador(a)<sup>2</sup>

Data: 10 / 07 / 2018

---

<sup>1</sup> Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. A extensão deste prazo suscita justificativa junto à coordenação do curso. Os dados do documento não serão disponibilizados 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.

<sup>2</sup> A assinatura deve ser escaneada.

LUÍS ANTÔNIO DANTAS SILVA

Desenvolvimento e avaliação de sistemas  
automicroemulsionáveis contendo carvedilol pela técnica de  
termoextrusão

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Inovação Farmacêutica.

Área de Concentração: Fármacos e Medicamentos.

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

Goiânia

2017

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

Silva, Luís Antônio Dantas  
Desenvolvimento e avaliação de sistemas automicroemulsionáveis contendo carvedilol pela técnica de termoextrusão [manuscrito] / Luís Antônio Dantas Silva. - 2017.  
151 f.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto.  
Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica, Goiânia, 2017.

Inclui lista de figuras, lista de tabelas.


1. Carvedilol. 2. SMEDDS sólidos. 3. termoextrusão. 4. compatibilidade fármaco-adjuvante. 5. planejamento fatorial. I. Neves Marreto, Ricardo , orient. II. Título.

CDU 615.1

## Folha de Aprovação

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica da Universidade Federal de Goiás, em 07 de abril de 2017, pelo doutorando Luís Antônio Dantas Silva.

Banca Examinadora:

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto (FF/UFG)  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luís Alexandre Pedro de Freitas (FCFRP/USP)

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Stephânia Fleury Taveira (FF/UFG)

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Marcílio Sérgio Soares da Cunha Filho (FS/UNB)

  
\_\_\_\_\_  
Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Lúcia Teixeira de Carvalho Zampieri (PUC/GO)

# DEDICATÓRIA

*Dedico este trabalho aos meus pais (Antônio Carlos e Nanci),  
que são meus exemplos de honestidade, perseverança e trabalho.*

*E à minha esposa (Minelly), minha grande companheira  
durante todo este tempo. Amo vocês!*

# AGRADECIMENTOS

Durante a vida somos constantemente desafiados a trilhar novos caminhos e buscar novos horizontes. E, cada nova jornada é cercada de uma mistura de sentimentos, é quando o medo e as incertezas andam lado a lado com o otimismo, a esperança e o desejo de chegar mais experiente ao final de cada uma destas etapas. É quando então percebemos que não chegamos ao fim, mas ao começo de uma nova caminhada. Felizmente, durante todo trajeto temos ou conhecemos aqueles que fazem esta jornada ter mais sentido, tornando-a cheia de alegrias, aprendizado e muita mais fácil de ser trilhada. Então temos a certeza que não caminhamos sozinhos durante este percurso e que a cada passo tivemos a ajuda e a valiosa companhia de grandes amigos. Por isso, quero deixar o meu agradecimento especial a cada um de vocês:

À Deus, que sempre me sustentou, guiou os meus passos e iluminou este caminho.

Aos meus pais, Nanci e Antônio Carlos, que nunca mediram esforços para nos apoiar, nos ensinaram a lutar pelos nossos sonhos, a ter força de vontade e perseverança sempre. São meus exemplos de caráter e honestidade!

Aos meus irmãos (Carla, Lúcio e Lucas), meus/minhas cunhados (as), sogra, minhas sobrinhas (Lívia, Beatriz, Aline e Lara) e ao sobrinho recém-chegado (Bruno), por todo apoio, força e amor.

À minha esposa, Minelly, por todo amor, cuidado, companheirismo, parceria e pelos muitos conselhos durante este tempo. Obrigado por compartilhar cada momento ao meu lado!

Aos meus familiares (avós – Vó Carminha, Vó Dida e Vô Quinca, tios (as) e primos (as)) e amigos, que mesmo de longe sempre deram muita força.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ricardo Marreto, pela confiança, oportunidade, pelos ensinamentos e muitos conselhos durante todos esses anos. Sou e serei sempre muito grato por tudo isto!

À Profa. Dra. Ana Lúcia, por confiar em mim e ser minha madrinha na pesquisa.

Aos amigos e colegas de jornada (Guilherme, Priscila, Géssyca, Najla, Ana Paula, Lígia, Neemias, Fernanda e Bruno), do laboratório NanoSys-FF-UFG, pela parceria diária, por compartilharem os momentos de desespero, muitas vezes angústias e incertezas, mas também por permitirem compartilharmos momentos de aprendizagem, e aqueles bons momentos de descontração e boas risadas do dia a dia. Vocês são pessoas extraordinárias e com grande potencial!

Aos amigos e colegas de jornada do Laboratório FarmaTec-FF-UFG (Mariana, Edilson, Jeane, Sarah, Lílian, Maiulle, Percília, Marilisa, Larissa, Artur, Wanessa, Leonardo, Lorena, Taís Leite, Thaís Rosa, Lara, Laís, Fabiana, Renato, Ana Paula, Rayane, César, Halanna), pela parceria diária e troca de conhecimento, pelos bons momentos compartilhados diariamente, e pelas boas conversas na copa.

À Marcília, que embora tenha chegado a pouco tempo, já demonstrou ser uma grande companheira e do coração enorme.

À Fernanda, nossa “maezona” Fefê, por todo carinho, preocupação, profissionalismo e eficiência de sempre.

À Profa. Dra. Eliana, Profa. Dra. Marize e Profa. Dra. Daniella, por disponibilizarem a estrutura que tornou possível a realização de grande parte deste trabalho.

À Edna e D. Maria “Tia”, pela amizade e boas risadas sempre.

Aos meus amigos da PIB de Caetité, pela amizade mesmo com a distância, pelas orações que me sustentaram em todo esse tempo.

Aos amigos da IBSU/JUBASU, pelas orações que me fortalecem a cada dia. Em nome do Pr. Clécio e Vó Dalva, quero deixar os meus mais sinceros agradecimentos à todos. Em especial à ir. Raimunda, pelas orações, cuidados e preocupação diária conosco. Ao Keilon e sua família, pela força e companheirismo de sempre.

Ao meu grande amigo Reginaldo “piloto”, e seus familiares, pelos conselhos, preocupação e pela amizade sincera e verdadeira, por quem tenho grande apreço, consideração e admiração. Sou grato pela sua amizade!

Aos meus colegas de faculdade, Rafael Moreno e Aline Andrade, que além de grandes amigos também nos tornamos compadres - afilhados.

À melhor equipe que convivi neste período. Vocês se tornaram grandes amigos “solidianos”: Ellen “Maria” (muito obrigado por ajudar em todas as etapas deste trabalho), “Menina” Thainá, Letícia “Lelê”, André “Dedê”, Raphael “Rapha” e Carol. Obrigado por compartilhar cada dia, aprendizado, dificuldade, as boas risadas diárias e os melhores momentos sempre. Vocês fizeram desta caminhada mais fácil de ser trilhada. #Somos a família “sólidos”, sempre!

E, minha eterna gratidão à Deus pelos irmãos goianos que ganhei durante o mestrado/doutorado. Embora sejamos filhos de pais diferentes, tenho plena convicção de que somos irmãos de alma. A Bíblia, em Provérbios 17:17, diz para em todo tempo amar o amigo que na dificuldade do dia a dia nascerá o irmão. Com vocês aprendi a ser uma pessoa melhor. Meu muito obrigado a vocês, meus “famílias”:

João “Boi”, o irmão mais novo da turma, grande companheiro e amigo em todo o tempo. Obrigado pelos “causos, vei Venâncio”, pela irmandade e por ser esse “cabra gente boa” sempre!

Danilo “Negão”, o “cara mais figura” e do coração gigantesco. Obrigado pela simplicidade e praticidade de ver a vida e por sempre nos incentivar, e pela parceria de sempre!

Raphael “Rapha/Java”, companheiro para todas as horas, e que, além de grande amigo, me deu a honra de nos tornamos compadres. Obrigado pela irmandade, preocupação de sempre, pelo cuidado de irmão mais velho, e pelos muitos conselhos de/para a vida!

Relton “Líder/Capitão”, o mais sonhador, um ser humano fantástico e de uma simplicidade tamanha. Obrigado por me apadrinhar, pelos muitos conselhos e pela amizade, desde o começo dessa jornada.

Emílio “Emio”, o cara que sabe fazer de tudo, o mais dinâmico e pró-ativo que já conheci, e que está sempre disposto ajudar a todos. Obrigado pela força, pelas boas ideias e pelo companheirismo de sempre!

# RESUMO

**Introdução:** Sistemas automicroemulsionáveis de liberação de fármacos (SMEDDS) têm sido empregados, com sucesso, como carreadores de fármacos pouco solúveis em água, pois conseguem solubilizá-los eficientemente, assim como podem estimular seu transporte linfático intestinal, reduzindo o metabolismo de primeira passagem e inibindo as proteínas de efluxo presentes nas células intestinais. Todos esses efeitos em conjunto contribuem para a melhora na biodisponibilidade oral dos fármacos incorporados. O preparo de sistemas automicroemulsionáveis sólidos está associado a vantagens adicionais, tais como o aumento da estabilidade, facilidade de transporte e armazenamento e maior conveniência de administração. A termoextrusão é uma técnica que tem atraído grande interesse na indústria farmacêutica nos últimos anos por possibilitar a produção contínua, com alta produtividade e baixo custo de formas sólidas, sendo ainda executada sem uso de solventes. Apesar disto, não existem relatos na literatura sobre o emprego dessa técnica na produção de sistemas automicroemulsionáveis sólidos. **Objetivos:** O presente trabalho teve como objetivo realizar estudo de pré-formulação e, em seguida, desenvolver termoextrusados automicroemulsionáveis contendo carvedilol, visando a melhora na dissolução deste fármaco. **Métodos:** Inicialmente, a solubilidade e compatibilidade do carvedilol em diferentes adjuvantes lipídicos foram determinadas, respectivamente, pelo método de solubilidade no equilíbrio e pelo emprego de técnicas termoanalíticas, espectroscópicas e de estresse isotérmico. A quantificação do carvedilol nestes estudos foi realizada por cromatografia a líquido de alta eficiência e, para tanto, o método analítico foi desenvolvido e validado. Em seguida, os adjuvantes selecionados foram utilizados na construção de um diagrama de fases ternário, no intuito de determinar a melhor proporção dos mesmos para o preparo de SMEDDS. Por fim, a formulação líquida selecionada foi misturada a um sistema polimérico constituído por polímero entérico (acetosuccinato de hidroxipropilmetilcelulose) e outros adjuvantes, sendo a mistura resultante processada por termoextrusão em extrusor de parafuso duplo. Planejamento fatorial do tipo Box-Behnken foi empregado para avaliar os efeitos de variáveis de formulação (concentração de carvedilol) e de processo (temperatura e tempo de recirculação) sobre a liberação do fármaco (em meio HCl 0,1 M e em tampão fosfato pH 6,8) e sobre a reconstituição da microemulsão a partir do sistema sólido. A morfologia dos termoextrusados foi avaliada por microscopia óptica e por microscopia eletrônica de varredura e o estado físico do fármaco na preparação foi investigado por calorimetria exploratória diferencial e difração de raios-X de pó. **Resultados:** Os estudos de pré-formulação mostraram que o carvedilol é incompatível com os adjuvantes ácido láurico, ácido oleico, Gelucire<sup>®</sup> 44/14, Capmul<sup>®</sup> MCM, óleo de canola, óleo de rícino, óleo de rícino polietoxilado, óleo de milho, óleo de soja, óleo de girassol e óleo de cártamo. Por outro lado, o carvedilol se mostrou estável nas misturas com o óleo de gergelim, Plurol<sup>®</sup> Isostearique, Transcutol HP<sup>®</sup>, ácido esteárico, ácido palmítico, Compritol<sup>®</sup> 888 ATO, Emulium<sup>®</sup> 22 e com a mistura de triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico (TAC). O TAC mostrou ainda ser o melhor solvente para o carvedilol ( $3,93 \pm 0,20$  mg/mL), dentre os materiais oleosos compatíveis. Dessa forma, a mistura de TAC, Plurol<sup>®</sup> e Transcutol HP<sup>®</sup> foi selecionada para o preparo de sistemas automicroemulsionáveis. O diagrama de fases mostrou que a proporção 50/37,5/12,5

(óleo/tensoativo/cotensoativo) resultou nos melhores parâmetros de autoemulsificação (tempo, limpidez e estabilidade), tamanho médio ( $140,04 \pm 7,22$  nm) e distribuição de tamanho ( $0,219 \pm 0,011$ ). Esses valores não foram significativamente alterados pela inclusão do carvedilol na mistura ( $139,06 \pm 7,28$  nm e  $0,221 \pm 0,015$ ). O concentrado automicroemulsionável, adicionado aos polímeros, contendo carvedilol foi então termoextrusado e o produto resultante apresentou matriz compacta. A concentração do fármaco, a temperatura de processamento e o tempo de recirculação influenciaram significativamente o perfil de liberação do fármaco nos diferentes meios, bem como a eficiência de reconstituição da microemulsão. A liberação do carvedilol em meio ácido esteve na faixa entre 12 e 25%, sendo significativamente afetada pela temperatura e tempo de recirculação. Em meio ácido, a matriz polimérica foi capaz de evitar a reconstituição da microemulsão. Por sua vez, em meio pH 6,8, a liberação do carvedilol foi maior e variou entre 43 e 85%, sendo afetada pela concentração do fármaco na formulação. Nesse meio, a eficiência de reconstituição foi significativamente afetada pelo tempo de recirculação e pela temperatura, apresentando eficiência de reconstituição na faixa entre 55 e 100%. O tamanho médio (145 a 164 nm) e Pdl (0,209 a 0,262) das microemulsões não tiveram seus valores afetados significativamente pelas variáveis estudadas. **Conclusão:** Termoextrusados automicroemulsionáveis foram preparados a partir do concentrado lipídico composto por adjuvantes selecionados nos estudos de pré-formulação. Os sistemas sólidos conferiram reconstituição sítio-específica da microemulsão, apresentando assim potencial para proporcionar absorção linfática do carvedilol. Os achados experimentais aqui apresentados são o primeiro relato da obtenção de sistemas automicroemulsionáveis sólidos contendo carvedilol pela técnica de termoextrusão.

**Palavras chave:** Carvedilol; SMEDDS sólidos; termoextrusão; compatibilidade fármaco-adjuvante; planejamento fatorial; liberação entérica.

# ABSTRACT

**Introduction:** Self-emulsifying drug delivery systems (SMEDDS) have been successfully used as carriers for poorly water-soluble drugs, because they can effectively solubilize them, as well as stimulate their intestinal lymphatic transport, reduce first-pass metabolism, and inhibit efflux proteins present in intestinal cells. All these effects together contribute to the improvement in the oral bioavailability of the incorporated drugs. The preparation of solid self-emulsifying systems is associated with additional advantages, such as increased stability, ease of transport, storage, and administration. Hot-melt extrusion is a technique that has attracted great interest in the pharmaceutical industry in recent years for enabling continuous production of solid dosage forms, with high productivity and low cost. In addition, it can be performed without the use of solvents. Despite this, there are no reports in the literature about the use of this technique in the production of solid self-emulsifying systems. **Objectives:** The objective of the present work was to perform preformulation studies and to develop solid self-microemulsifying systems containing carvedilol by hot-melt extrusion, aiming at improving the dissolution of this drug. **Methods:** Initially, carvedilol solubility and compatibility in different lipid excipients were determined, respectively, by the equilibrium solubility method and thermoanalytical, spectroscopic and isothermal stress techniques. An analytical method was developed and validated to carvedilol quantitation by high performance liquid chromatography. Next, the selected excipients were used in the construction of a ternary phase diagram, in order to determine the best ratio for SMEDDS production. Finally, the selected liquid formulation was mixed with a polymeric system consisting of an enteric polymer (hydroxypropylmethylcellulose acetate succinate) and other excipients. The resulting mixture was extruded in a twin screw hot-melt extruder. Box-Behnken factorial design was used to evaluate the effects of formulation (carvedilol concentration) and process variables (temperature and recirculation time) on the release of the drug (in 0.1 M HCl and phosphate buffer pH 6.8) and redispersion of the microemulsion from the solid system. The extrudates' morphology was evaluated by light microscopy and scanning electron microscopy and the physical state of the drug in the preparation was investigated by differential scanning calorimetry and X-ray powder diffraction. **Results:** Preformulation studies showed that carvedilol is incompatible with the lauric acid, oleic acid, Gelucire<sup>®</sup> 44/14, Capmul<sup>®</sup> MCM, canola oil, castor oil, polyethoxylated castor oil, corn oil, soybean oil, sunflower oil and safflower oil. On the other hand, carvedilol was stable in mixtures with sesame oil, Plurol<sup>®</sup> Isostearique, Transcutol HP<sup>®</sup>, stearic acid, palmitic acid, Compritol<sup>®</sup> 888 ATO, Emulium<sup>®</sup> 22 and with the mixture of capric/caprylic triglycerides (CCT). The CCT showed to be the best solvent for carvedilol ( $3.93 \pm 0.20 \text{ mg mL}^{-1}$ ), among the compatible lipid excipients. Thus, the mixture of CCT, Plurol<sup>®</sup> and Transcutol HP<sup>®</sup> was selected for preparation of the self-emulsifying systems containing carvedilol. The phase diagram showed that the ratio of 50/37.5/12.5 (oil/surfactant/cosurfactant) resulted in the best parameters of self-emulsification (time, clarity and stability) average size ( $140.04 \pm 7.22 \text{ nm}$ ) and size distribution ( $0.219 \pm 0.011$ ). These values were not significantly altered by the inclusion of carvedilol in the mixture ( $139.06 \pm 7.28 \text{ nm}$  and  $0.221 \pm 0.015$ ). This self-microemulsifying concentrate with polymeric carriers were then extruded and the resulting product was a compact matrix. Factorial design showed that the drug

concentration, temperature and recirculation time significantly influenced the drug release in different media, as well as the reconstitution efficiency of the microemulsion. Carvedilol release in acid medium was in the ranging of 12 to 25% and it was significantly affected by the temperature and recirculation time. The polymeric matrix was able to prevent redispersion of the system in acid. In turn, drug released was significantly affected by drug concentration in pH 6.8, ranging from 43 to 85%. Drug release in this medium was primarily affected by the concentration of the drug in the formulation. The reconstitution efficiency was significantly affected by the circulation time and process temperature, ranging from 55 to 100% in pH 6.8. Average size (145 to 164 nm) and Pdl (0.209 to 0.262) were not significantly affected by the studied variables **Conclusion:** Self-microemulsifying extrudates were prepared from the lipid concentrate selected from the preformulation studies. The solid systems allowed a site-specific microemulsion redispersion, thus presenting potential for lymphatic absorption of carvedilol. The experimental results presented here are the first report about the production of solid self-microemulsifying systems containing carvedilol by hot-melt extrusion.

**Keywords:** Carvedilol; solid SMEDDS; hot-melt extrusion; drug-excipients compatibility; factorial design; enteric release.

# LISTA DE FIGURAS

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1.</b> Esquema representativo do Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Sistema de Classificação Biofarmacêutica Baseada na Distribuição dos Fármacos .....   | 18 |
| <b>Figura 2.</b> Estrutura do acetosuccinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).....  | 28 |
| <b>Figura 3.</b> Diagrama esquemático do extrusor de parafuso único e diferentes moldes que podem ser usados na técnica de termoextrusão.....   | 29 |
| <b>Figura 4.</b> Estrutura química do carvedilol.....   | 33 |
| <b>Figura 5.</b> Configuração da mini-extrusora vertical EHM-5 (Labmaq do Brasil) .....   | 57 |
| <b>Artigo 1</b>   |    |
| <b>Fig. 1</b> DTA curves of the carvedilol (CARV), and its 1:1 (w/w) binary mixtures with stearic acid (CARV-SA); lauric acid (CARV-LA); oleic acid (CARV-OA); and palmitic acid (CARV-PA).....   | 67 |
| <b>Fig. 2.</b> DTG curves of the carvedilol (CARV), and its 1:1 (w/w) binary mixtures with stearic acid (CARV-SA); lauric acid (CARV-LA); oleic acid (CARV-OA); and palmitic acid (CARV-PA) .....   | 68 |
| <b>Fig. 3.</b> FTIR spectra of CARV and CARV-fatty acids binary mixtures. (a) Freshly prepared samples (b) samples exposed for 14 days at 50 °C.....  | 69 |
| <b>Fig. 4.</b> Optical micrographs and DTA curves of the CARV-LA binary mixture as a function of time.....  | 70 |
| <b>Fig. 5.</b> DTA curves of the carvedilol (CARV) and its binary mixtures (1:1, w/w) with Cap (CARV-Cap), GB (CARV-GB), tribeheninPEG (CARV-tribeheninPEG), Gelu (CARV-Gelu), Plurol (CARV-Plurol), and TransHP (CARV-TransHP).....  | 72 |
| <b>Fig. 6</b> DTG curves of carvedilol (CARV) and its binary mixtures with tribeheninPEG (CARV-tribeheninPEG), glyceryl behenate (CARV- GB), Transcutol (CARV- TransHP) ( <b>Fig. 6a</b> ) and Gelucire (CARV-Gelu), Plurol (CARV- Plurol), and Capmul (CARV-Cap) ( <b>Fig. 6b</b> )..... | 74 |
| <b>Fig. 7.</b> FTIR spectra of CARV and CARV-excipient binary mixtures. (a) Freshly prepared samples (b) samples exposed for 14 days at 50 °C.....  | 75 |

## Artigo 2

|  |    |
|--|----|
| <b>Fig 1</b> Solubility of CARV in different triglyceride oils. Data expressed as mean and standard deviation, n= 3.....   | 86 |
| <b>Fig 2</b> FTIR spectra of CARV and CARV-lipid solutions exposed at 50 °C for 15 days .....  | 88 |
| <b>Fig 3</b> DSC curves of CARV and its (1:1, m/m) binary mixtures with different lipid excipients.....  | 89 |
| <b>Fig 4</b> DTG curves of CARV and its (1:1, m/m) binary mixtures with different oil excipients in inert atmosphere.....  | 91 |
| <b>Fig 5</b> DTG curves of CARV and its (1:1, m/m) binary mixtures with different oil excipients in oxidative atmosphere.....  | 93 |
| <b>Fig 6</b> Representative chromatograms of <b>(a)</b> freshly prepared CARV solution (continuous line) and aged CARV at 300 °C(dotted line) and <b>(b)</b> neat CARV stored at 50 °C for 15 days, freshly prepared and aged CARV oil solutions in PCasO..... | 94 |
| <b>Fig 7</b> Arrhenius plot from the kinetic stability study of CARV-CasO and CARV-PCasO storage at 40, 50 and 60 °C for 15 days.....  | 97 |

### Artigo 3

|  |     |
|--|-----|
| <b>Figure 1.</b> <i>In vitro</i> CARV release profiles from the S-SMEDDS in 0.1M HCl pH 1.2 (0-120 min) and 0.4M PPB medium (120 -300 min).....  | 117 |
| <b>Figure 2.</b> Response surface plots showing the effects of X <sub>1</sub> and X <sub>2</sub> (3A) and X <sub>2</sub> and X <sub>3</sub> (3B) on the cumulative % CARV release in HCl pH 1.2.....   | 118 |
| <b>Figure 3.</b> Response surface plots showing the effects of X <sub>2</sub> and X <sub>3</sub> (3B) and X <sub>1</sub> and X <sub>3</sub> (3B) on the cumulative % CARV release in PPB medium.....   | 120 |
| <b>Figure 4.</b> Reconstitution efficiency (%) profile from S-SMEDDS in phosphate buffer medium.....   | 122 |
| <b>Figure 5.</b> Response surface plots showing the effects of X <sub>1</sub> and X <sub>2</sub> (A) and X <sub>2</sub> and X <sub>3</sub> (B) on the percentage of reconstitution efficiency.....   | 124 |
| <b>Figure 6.</b> Photomicrographs of S-SMEDDS extrudades freshly prepared (a, b and c) and S-SMEDDS after cutting (d, e and f) at x 0.63 magnification. Scanning electron micrographs of cross-section of the cut extrudades at x 35 (g, h and i) and at x 300 (j, k and l) magnification..... | 125 |
| <b>Figure 7.</b> Diffractograms patterns of pure CARV, physical mixtures (2%, 3.5% and 5% of CARV) and S-SMEDDS extruded (formulations F1 to F15).....   | 126 |

# LISTA DE TABELAS

|   |     |
|---|-----|
| <b>Tabela 1.</b> Sistema de classificação de sistemas a base de lipídeos.....   | 21  |
| <b>Tabela 2.</b> Produtos a base de lipídeos para administração oral, disponíveis comercialmente.....   | 25  |
| <b>Tabela 3.</b> Composição (%) de ácidos graxos dos óleos estudados.....   | 42  |
| <b>Tabela 4.</b> Composição dos sistemas automicroemulsionáveis líquidos (% p/p).....   | 52  |
| <b>Tabela 5.</b> Condições experimentais e variáveis dependentes e independentes do planejamento fatorial do tipo Box-Behnken com três fatores, a três níveis.....              | 55  |
| <b>Artigo 1</b>   |     |
| <b>Table 1.</b> Results of analysis of samples kept under IST conditions.....   | 71  |
| <b>Artigo 2</b>   |     |
| <b>Table 1.</b> Fatty acid and triglyceride composition (%) of the oily excipients studied .....  | 83  |
| <b>Table 2.</b> DSC and DTG data of neat CARV and its binary mixtures with liquid lipids in inert atmosphere.....   | 90  |
| <b>Table 3.</b> Data from the accelerated stability study of CARV dissolved in different oils ( $0.5 \text{ mg mL}^{-1}$ ) aged at $50 \text{ }^\circ\text{C}$ for 15 days..... | 95  |
| <b>Table 4.</b> Summary of preformulation results from CARV-oil samples.....  | 98  |
| <b>Artigo 3</b>   |     |
| <b>Table 1.</b> Composition of liquid self-microemulsifying drug delivery systems (L-SMEDDS) and evaluated parameters.....  | 107 |
| <b>Table 2.</b> Factors and their levels in the Box-Behnken experimental design.  | 109 |
| <b>Table 3.</b> Blank and drug loaded L-SMEDDS (L6).....  | 114 |
| <b>Table 4.</b> Regression coefficients and analysis of variance for the formulations of the Box-Behnken design.....  | 115 |
| <b>Table 5.</b> Box-Behnken experimental matrix and observed responses.....   | 116 |

# LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATR-FT-IR – espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier com acessório de reflectância total atenuada.

BBD – Box-Behnken design

BCS – Sistema De Classificação Biofarmacêutica

BDDCS – Sistema de Classificação Biofarmacêutica Baseado na Distribuição dos Fármacos.

CARV – carvedilol

CLAE – cromatografia a líquido de alta eficiência

%CV – desvio padrão relativo

DRXP – difração de raios-X de pó

DSC – calorimetria explanatória diferencial

DTA - análise térmica diferencial

DTG – termogravimetria derivada

Eq. - Equação

FT-IR – espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

HME – *hot-melt extrusion* (termoextrusão)

HPC – hidroxipropilcelulose

HPMCAS – hidroxipropilmetilcelulose acetosuccinato

IST – teste de estresse isotérmico

LD – limite de detecção

LQ – limite de quantificação

L-SMEDDS - sistemas automicroemulsionáveis líquidos de entrega de fármacos

NLS – nanopartículas lipídicas sólidas

PdI – índice de polidispersão

SEDDS – sistemas autoemulsionáveis de entrega de fármacos

SES – sistemas autoemulsionáveis

SMEDDS - sistemas automicroemulsionáveis de entrega de fármacos

SNEDDS - sistemas autonanoemulsionáveis de entrega de fármacos

S-SMEDDS - sistemas automicroemulsionáveis sólidos de entrega de fármacos

TAC – Triglicerídeo dos ácidos cáprico-caprílico

TCM – Triglicerídeo de cadeia média

TGA – análise termogravimétrica

TGI – trato gastrointestinal

# SUMÁRIO

|            |  |    |
|------------|--|----|
| 1          | INTRODUÇÃO .....   | 15 |
| 2          | REVISÃO DE LITERATURA .....  | 18 |
| 2.1        | Aspectos biofarmacêuticos das formulações lipídicas .....                                | 18 |
| 2.2        | Sistemas lipídicos de liberação de fármacos: definições, usos e métodos de preparo ..... | 24 |
| 2.2.1.     | A termoextrusão de sistemas lipídicos .....  | 28 |
| 2.3        | Sistemas de liberação contendo carvedilol .....  | 33 |
| 2.3.1      | Dispersões sólidas contendo carvedilol .....   | 35 |
| 2.3.2      | Sistemas lipídicos contendo carvedilol .....   | 36 |
| 2.4        | Estudos de pré-formulação: Seleção racional dos adjuvantes da formulação .....           | 38 |
| 2.4.1      | Adjuvantes lipídicos empregados nos estudos de pré-formulação com o carvedilol .....     | 40 |
| 3          | OBJETIVOS .....  | 43 |
| 3.1        | Objetivo Geral .....   | 43 |
| 3.2        | Objetivos Específicos .....  | 43 |
| 4          | MATERIAL E MÉTODOS .....   | 44 |
| 4.1        | Material .....   | 44 |
| 4.2        | Métodos .....  | 45 |
| 4.2.1      | Validação das metodologias analíticas para quantificação do carvedilol .....             | 45 |
| 4.2.1.1.   | Quantificação do carvedilol por cromatografia a líquido de alta eficiência .....         | 45 |
| 4.2.1.1.1. | Linearidade .....  | 45 |
| 4.2.1.1.2. | Precisão e Exatidão .....  | 46 |
| 4.2.1.1.3. | Limites de Quantificação (LQ) e Detecção (LD) .....                                      | 46 |
| 4.2.1.1.4. | Seletividade .....   | 46 |
| 4.2.1.2.   | Quantificação do carvedilol por espectrofotometria .....                                 | 47 |
| 4.2.2.     | Escolha dos adjuvantes .....   | 48 |

|  |     |
|--|-----|
| 4.2.2.1. Solubilidade do carvedilol nos óleos .....  | 48  |
| 4.2.2.2. Análise Térmica (DSC, DTA e TGA/DTG) .....  | 48  |
| 4.2.2.3. Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier   | 49  |
| 4.2.2.4. Teste de estresse isotérmico do carvedilol nas misturas com diferentes lipídeos .....                   | 49  |
| 4.2.2.5. Cinética de degradação do carvedilol nos diferentes óleos .....   | 50  |
| 4.2.2.6. Microscopia óptica .....  | 50  |
| 4.2.3. Preparo e caracterização dos SMEDDS líquidos (L-SMEDDS) .....   | 51  |
| 4.2.3.1. Preparo dos L-SMEDDS e construção do diagrama de fases ternário .....                                   | 51  |
| 4.2.3.2. Caracterização dos L-SMEDDS do sistema selecionado (L6) ....  | 53  |
| 4.2.4. Preparo e caracterização dos SMEDDS sólidos (S-SMEDDS) .....  | 53  |
| 4.2.4.1. Preparo dos S-SMEDDS pela técnica de termoextrusão e planejamento experimental .....                    | 53  |
| 4.2.4.2. Morfologia do S-SMEDDS termoextrusados cortados .....   | 57  |
| 4.2.4.3. Caracterização do estado físico do carvedilol nas misturas físicas e nos S-SMEDDS termoextrusados ..... | 58  |
| 4.2.4.3.1. DSC .....   | 58  |
| 4.2.4.3.2. Difração de Raios-X de pó (DRXP) .....  | 58  |
| 4.2.4.4. Estudo de liberação <i>in vitro</i> .....   | 58  |
| 4.2.4.5. Avaliação da eficiência de reconstituição da microemulsão a partir dos termoextrusados .....            | 59  |
| 5 ANEXOS .....   | 61  |
| Artigo 1 .....   | 62  |
| Artigo 2 .....   | 81  |
| Artigo 3 .....   | 103 |
| 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS .....   | 132 |
| 7 CONCLUSÃO .....  | 134 |
| 8 REFERÊNCIAS .....  | 135 |

# 1 INTRODUÇÃO

O carvedilol (CARV) é um fármaco anti-hipertensivo pertencente à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS). Quando administrado pela via oral o CARV apresenta reduzida biodisponibilidade, devido a sua baixa solubilidade em meio aquoso, ao elevado metabolismo intestinal e hepático e ao efluxo mediado por transportadores presentes nas membranas dos enterócitos (WU e BENET, 2005). Para melhorar a biodisponibilidade oral do CARV, diferentes estratégias tecnológicas têm sido exploradas (CHAKRABORTY et al., 2010; CHAKRABORTY et al., 2011; PLANINSEK; KOVACIC e VRECER, 2011; SHIM et al., 2012; VENISHETTY et al., 2012; SHAMMA e BASHA, 2013; SINGH et al., 2013). Dentre estas estratégias, especial atenção tem sido dada ao desenvolvimento de sistemas à base de lipídeos (WEI et al., 2005; WEI et al., 2007; MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009b; SANJULA et al., 2009; CHAKRABORTY et al., 2010; 2011; RAO; MUNJAPARA e KHOLE, 2011; SINGH et al., 2011; SINGH et al., 2013a; LIU et al., 2014; SALIMI et al., 2014; SHAH; MADAN e LIN, 2014b).

As formulações lipídicas, geralmente, apresentam elevada capacidade de incorporação de fármacos lipofílicos (PALIWAL et al., 2009b; SINGH et al., 2013a; SHAH; MADAN e LIN, 2014b) e são capazes de aumentar a solubilidade e a dissolução destes nos fluidos biológicos, através da formação de espécies micelares em meio aquoso (CHAKRABORTY et al., 2011; SALIMI et al., 2014). Além disso, os lipídeos podem evitar/reduzir o metabolismo de primeira passagem hepática, já que sua presença pode promover a absorção linfática do fármaco no intestino (SANJULA et al., 2009; SINGH et al., 2011; SHAH; MADAN e LIN, 2014b). É importante ressaltar ainda que os lipídeos podem inibir os mecanismos de efluxo mediados pelos transportadores de membrana, como a glicoproteína P (NORDSKOG et al., 2001; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008; MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011; SHAH; MADAN e LIN, 2014b).

Os sistemas autoemulsionáveis (SES, do inglês *self-emulsifying systems*) são formulações lipídicas compostas de óleo, tensoativo e cotensoativo, e têm sido investigados para o aumento da solubilidade e biodisponibilidade oral de fármacos com baixa solubilidade aquosa (NESLIHAN GURSOY e BENITA, 2004; TANG et al., 2008; KOHLI et al., 2010; SETTHACHEEWAKUL et al., 2010; NEGI; TARIQ e

TALEGAONKAR, 2013; SINGH et al., 2013a). Os SES são geralmente preparados como formulações líquidas, as quais apresentam alguns inconvenientes relacionados à reduzida estabilidade, elevado custo de produção, dificuldade de armazenamento, transporte e administração de doses imprecisas. Assim, para garantir maior estabilidade, melhorar a logística de armazenamento e transporte e facilitar a administração, é interessante que eles sejam incorporados em carreadores sólidos ou diretamente produzidos como formas sólidas. O desafio tecnológico consiste em desenvolver SES sólidos capazes de formar espontaneamente as emulsões quando em contato com o meio aquoso, sob reduzido grau de agitação. Além disso, os sistemas reconstituídos devem apresentar características adequadas de tamanho, estabilidade e dispersão no trato gastrointestinal (POUTON e PORTER, 2008; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013).

Diferentes técnicas podem ser empregadas para a obtenção de SES sólidos, como adsorção em carreadores, spray drying, freeze-drying, extrusão-esferonização, entre outras (TANG et al., 2008; TAN; RAO e PRESTIDGE, 2013). Estas técnicas, geralmente, são realizadas em mais de uma etapa, requerem uso de solvente e, dessa forma, exigem o emprego de uma operação de secagem. Além disso, a carga de fármaco no sistema pode ser limitada e a integridade / estabilidade do sistema lipídico pode ser negativamente afetada durante processamento (JANNIN; MUSAKHANIAN; MARCHAUD, 2008; TAN; RAO e PRESTIDGE, 2013). Até o presente momento não há relato da utilização da técnica de termoextrusão (*hot-melt extrusion*) para preparo de SES sólidos, apesar de seu amplo uso em diferentes segmentos industriais. A termoextrusão é um processo contínuo de mistura com auxílio de calor, que dispensa o uso de solventes e, conseqüentemente, elimina a necessidade da inclusão de uma operação de secagem durante a produção. Essa técnica também permite incorporar quantidades elevadas de fármaco com uniformidade de conteúdo adequada, o que é especialmente importante em preparações contendo fármacos de alta potência (JANNIN; MUSAKHANIAN; MARCHAUD, 2008). Dessa forma, a termoextrusão é uma técnica simples e interessante do ponto de vista econômico-industrial (CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007).

Além disso, a termoextrusão é uma técnica versátil que possibilita o preparo de formas sólidas capazes de promover liberação prolongada ou sítio-específica dos

fármacos incorporados (ANDREWS et al., 2008; SARODE et al., 2013, VITHANI et al., 2013; ZECEVIC et al., 2014). Isto pode ser interessante em aplicações específicas, como, por exemplo, no preparo de SES contendo CARV. O CARV é uma base orgânica fraca com solubilidade pH-dependente, sendo mais solúvel no estômago. Dessa forma, em meio ácido, o CARV se ioniza e pode se difundir mais facilmente para os fluidos biológicos. No entanto, do ponto de vista biofarmacêutico é importante que a liberação do CARV no estômago seja minimizada, caso contrário, as vantagens de sua associação com os lipídeos no intestino podem ser perdidas (WEI et al., 2017; MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009).

No desenvolvimento tecnológico de novos sistemas de liberação de fármacos, com intuito de conferir maior racionalidade ao processo, é importante realizar estudos de pré-formulação, visando escolher os adjuvantes que confirmam maior funcionalidade e estabilidade ao sistema (KASONGO et al., 2011; SINGH et al., 2013b; TALVANI et al., 2014). No caso do desenvolvimento de sistemas lipídicos é importante salientar que existem poucos estudos sistemáticos sobre a investigação da interação fármaco-adjuvante (KUMAR et al., 2014a; KUMAR et al., 2014b; NEGI; JAGGI e TALEGAONKAR, 2014). Em particular, no momento da concepção do presente trabalho, não existia nenhum estudo sistemático sobre a ocorrência de interações entre CARV e lipídeos. Dessa forma, no presente trabalho, foi realizada uma avaliação da interação do CARV com diferentes adjuvantes lipídicos, como etapa preliminar ao desenvolvimento dos termoextrusados entéricos automicroemulsionáveis.

Em suma, no presente trabalho, termoextrusados automicroemulsionáveis de liberação entérica contendo CARV foram produzidos pela técnica de termoextrusão e o efeito de variáveis de processo e de formulação sobre as características destes sistemas foi estudado pela aplicação de planejamento fatorial do tipo Box-Behnken design (BBD), associado à metodologia de superfície de resposta.

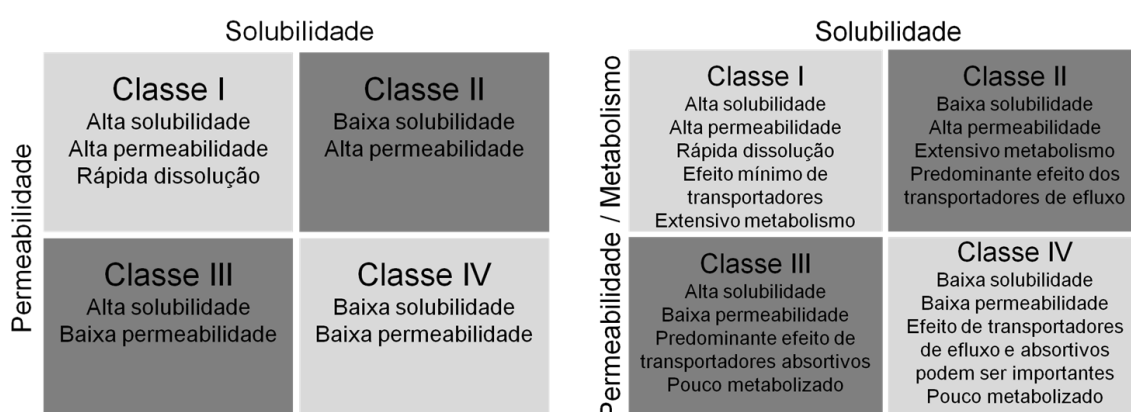
## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Aspectos biofarmacêuticos das formulações lipídicas

Nas últimas décadas tem-se observado aumento significativo no percentual de novos fármacos pouco solúveis em água e/ou que apresentam elevada massa molecular. Esse crescimento pode ser explicado pelo desenvolvimento de métodos rápidos de obtenção e identificação de novas moléculas (AMIDON et al., 1995; LIPINSKI, 2000; AVDEEF, 2001; LIPINSKI et al., 2001; WU e BENET, 2005; TANG et al., 2008).

Amidon e colaboradores, em 1995, propuseram um sistema de classificação biofarmacêutica (BCS, *Biopharmaceutics Classification System*), o qual classifica as moléculas em função de sua solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal. Esse sistema pioneiro categoriza os fármacos em quatro classes distintas (Figura 1), no intuito de prever o grau de correlação *in vitro* / *in vivo* e, eventualmente, eliminar a necessidade de realização de determinados testes *in vivo* para fins de registro dos medicamentos (AMIDON et al., 1995).

Figura 1. Esquema representativo do Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Sistema de Classificação Biofarmacêutica Baseada na Distribuição dos Fármacos.



**Fonte:** Adaptado de Amidon e colaboradores, 1995; Wu e Benet, 2005. Quadro da esquerda, critérios de classificação dos fármacos pelo BCS e quadro da direita, critérios de disposição dos fármacos segundo o BDDCS.

Em 2005, Wu e Benet propuseram uma adaptação do BCS onde, além dos parâmetros de solubilidade e permeabilidade, consideraram a ocorrência de

metabolismo de primeira passagem intestinal e hepático, assim como a ação dos transportadores de efluxo, rota de eliminação e potenciais interações fármaco-fármaco ou fármaco-alimento (Figura 1). Esse sistema de classificação é conhecido como BDDCS (*Biopharmaceutics Drug Disposition Classification System*) (WU e BENET, 2005; BENET; BROCCATELLI e OPREA, 2011; BENET, 2013).

Fármacos pertencentes à classe II têm, em geral, sua biodisponibilidade oral reduzida, pois além de apresentarem baixa solubilidade aquosa, ainda podem ser altamente metabolizados e sofrerem ação de transportadores de efluxo presentes nas células intestinais (WU e BENET, 2005). Formulações a base de lipídeos têm sido propostas como estratégia para contornar esses problemas (POUTON e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b). Esses sistemas se apresentam como bons carreadores para fármacos lipofílicos, com capacidade de aumentar a taxa de dissolução desses nos fluidos gastrointestinais, assim como de minimizar a ação das enzimas metabolizadoras (CYP 450) e dos transportadores de efluxo presentes nos enterócitos, e ainda podem estimular o transporte linfático, evitando, assim, o metabolismo de primeira passagem hepática (MÜLLER; RÜHL e RUNGE, 1996; WEI et al., 2005; DAHAN e HOFFMAN, 2008; PALIWAL et al., 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011; VENISHETTY et al., 2012; SINGH et al., 2013a). Essas ações, quando combinadas, podem levar a melhora expressiva da biodisponibilidade oral destes fármacos.

Visando explorar os efeitos benéficos da associação entre fármacos e lipídeos foi inicialmente proposta a administração concomitante de fármacos classe II com refeições ricas em lipídeos (GERSHKOVICH e HOFFMAN, 2007; CHAKRABORTY et al., 2009b).

O aumento da biodisponibilidade devido a coadministração de misturas fármaco-lipídeos envolve diferentes mecanismos. A presença de lipídeos no TGI prolonga o tempo de residência da forma farmacêutica no interior do trato. Além disso, os lipídeos estimulam a secreção de lipases pelas glândulas salivares e pela mucosa gástrica, as quais hidrolisam os triglicerídeos em diglicerídeos e ácidos graxos livres. Estes produtos da digestão são então transferidos ao intestino e estimulam a produção de sais biliares e enzimas pancreáticas, as quais, juntamente com as colipases, completam a digestão dos diglicerídeos em monoglicerídeos. Por fim, os monoglicerídeos e ácidos graxos livres, juntamente com as secreções biliares, formam estruturas coloidais, tais como micelas, micelas mistas e vesículas

lipídicas, que solubilizam e previnem a precipitação do fármaco no fluido intestinal (PORTER e CHARMAN, 2001; DAHAN e HOFFMAN, 2008; PORTER et al., 2008; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011).

Adicionalmente, os produtos da digestão dos lipídeos podem afetar a fluidez das membranas dos enterócitos, alterando sua permeabilidade. Facilitam o transporte paracelular por meio do afrouxamento das junções apertadas. Estes produtos também agem saturando as enzimas metabolizadoras e as proteínas transportadoras de efluxo, como a glicoproteína P, presente nas membranas das células intestinais (O'DRISCOLL, 2002; DAHAN e HOFFMAN, 2008; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011; RAO et al., 2014).

Por fim, uma vantagem particularmente interessante da coadministração de fármacos e lipídeos é a possibilidade de promover absorção linfática. Os produtos de digestão de alguns lipídeos, como ácidos graxos mono e poli-insaturados (compostos por cadeia com mais de 14 carbonos), triglicerídeos, fosfolipídeos e colesterol, uma vez absorvidos pelos enterócitos, entram na rota de síntese de lipoproteínas (quilomícrons), as quais são liberadas, principalmente, dentro dos ductos linfáticos intestinais, evitando a passagem direta pelo fígado. Essa via alternativa da absorção minimiza os efeitos de primeira passagem hepática. Portanto, o transporte linfático permite que as moléculas dos fármacos associadas aos quilomícrons atinjam diretamente a circulação sistêmica (VAN GREEVENBROEK et al., 1996; VAN GREEVENBROEK et al., 1998; NORDSKOG et al., 2001; O'DRISCOLL, 2002; DAHAN e HOFFMAN, 2008; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011; RAO et al., 2014).

Apesar das vantagens supracitadas, a coadministração de fármacos e lipídeos para modular a biodisponibilidade oral de fármacos tem sido relacionada à obtenção de níveis plasmáticos subterapêuticos ou, em alguns casos, ao aparecimento de respostas tóxicas (CHAKRABORTY et al., 2009b). Isso ocorre devido à dificuldade em padronizar o teor calórico das refeições ingeridas ao longo do dia, devido a quantidade e natureza variável dos lipídeos de cada refeição (GERSHKOVICH e HOFFMAN, 2007; CHAKRABORTY et al., 2009b).

Para contornar essa dificuldade o emprego de sistemas de liberação a base de lipídeos tem sido proposto (POUTON e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b). Para auxiliar no desenvolvimento racional desses sistemas foi proposto, no ano de 2000, e complementado em 2006, um sistema de classificação de formulações lipídicas (POUTON, 2000; POUTON, 2006). O objetivo desse sistema é permitir que estudos *in vivo*, realizados com formulações lipídicas, sejam interpretados mais rapidamente, facilitando a identificação da formulação mais apropriada para fármacos específicos (POUTON e PORTER, 2008). A Tabela 1 foi adaptada dos trabalhos de Pouton (2000; 2006) e Pouton e Porter (2008), e apresenta as diferenças fundamentais entre as formulações tipo I, II, III e IV.

Tabela 1. Sistema de classificação de formulações lipídicas.

| Tipo de Formulação | Materiais Usados  | Características  |
|--------------------|---|--|
| Tipo I             | Mono, di e triglicerídeos (óleos, 100%)   | Não dispersíveis, requerem digestão. Formam dispersões grosseiras.   |
| Tipo II            | Óleos (40-80%) e tensoativos insolúveis em água (HLB < 12) (20 a 60%).                                    | Dispersões com tamanho entre 100 e 250 nm. Digestão não é requerida, mas é provável. Capacidade solvente não é afetada após diluição.      |
| Tipo IIIA          | Óleos (40 a 80%), tensoativos solúveis em água (HLB > 12) (20 a 40%) e cosolventes (0 a 40%)              | Dispersões com tamanho entre 100 e 250 nm. Alguma perda da capacidade solvente após diluição. Digestão não é requerida e pode ser inibida. |
| Tipo IIIB          | Óleos (< 20%), tensoativos solúveis em água (20 a 50%) e cosolventes (20-50%)                             | Dispersões com tamanho entre 50 e 100 nm. Potencial perda da capacidade solvente após diluição. Digestão não é requerida.                  |
| Tipo IV            | Tensoativos insolúveis em água (0 a 20%), tensoativos solúveis em água (30 a 80%) e cosolventes (0 a 50%) | Dispersão com tamanho de gotículas < 50 nm. Potencial perda da capacidade solvente após diluição. Digestão não é requerida.                |

É importante salientar que o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos contendo lipídeos é relativamente novo e existe demanda crescente para tal, com ênfase especial para fármacos com baixa solubilidade aquosa e/ou reduzida permeabilidade (JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; POUTON e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b). Esses sistemas são constituídos pela mistura de diferentes adjuvantes lipídicos com estruturas químicas distintas (triglicerídeos de cadeia média ou longa, diglicerídeos, monoglicerídeos, ácidos graxos, fosfolipídeos, colesterol, etc), tensoativos e co-tensoativos (hidrofílicos e lipofílicos), polímeros e cosolventes hidrofílicos (DAHAN e HOFFMAN, 2008; JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; POUTON e PORTER, 2008; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013).

O desempenho adequado dos sistemas lipídicos depende da escolha apropriada de adjuvantes (JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; POUTON e PORTER, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013). As questões referentes aos adjuvantes tais como irritabilidade, toxicidade, pureza, compatibilidade, estabilidade química, poder solvente, miscibilidade, bem como a capacidade de formar emulsões espontaneamente quando em contato com meio aquoso, devem ser consideradas quando do desenvolvimento de sistemas lipídicos. Adicionalmente, quando se pretende preparar um sistema lipídico com capacidade de direcionar a absorção do fármaco para o sistema linfático, características dos adjuvantes lipídicos como digestibilidade e destino dos produtos de digestão também devem ser consideradas (POUTON e PORTER, 2008).

A capacidade solvente do lipídeo ou da mistura de lipídeos é um fator de grande importância, desde que os fármacos devem ser dissolvidos na matriz lipídica, assim como devem permanecer associados a esta, sendo liberados gradualmente em concentrações que estão dentro do coeficiente de solubilidade da molécula nos fluidos do TGI. Alternativamente, os fármacos podem manter-se associados às matrizes lipídicas para garantir a efetiva absorção pelo sistema linfático (O'DRISCOLL, 2002; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008). Outra característica que merece atenção especial é a capacidade de autoemulsão do lipídeo (POUTON, 2000; POUTON e PORTER, 2008). SES de tamanho reduzido proporcionam grande área de superfície para a ação das enzimas pancreáticas, que hidrolisam os lipídeos aumentando a dissolução dos fármacos, levando à formação

de sistemas micelares que podem aumentar substancialmente a sua solubilidade e absorção (POUTON, 2000; AVDEEF, 2001; JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; SINGH et al., 2009).

A digestibilidade dos lipídeos no trato gastrointestinal é também um fator de grande importância. O processo digestivo envolve várias etapas sequenciais, como descritas acima, que incluem diferentes e complexos eventos físico-químicos e enzimáticos (CHAKRABORTY et al., 2009). Segundo Dahan e Hoffman (2008), a taxa e extensão da digestão, a quantidade de produtos de digestão formados e o grau de dispersão destes produtos nos fluidos do TGI são fatores preponderantes na capacidade dos sistemas lipídicos em aumentar a absorção dos fármacos.

Em suma, a absorção do fármaco incorporado em sistemas lipídicos é dependente das propriedades físico-químicas da mistura de lipídeos, tais como sua capacidade solvente, de autoemulsão e sua digestibilidade (MÜLLER; RÜHL e RUNGE, 1996; O'DRISCOLL, 2002; DAHAN e HOFFMAN, 2008; PALIWAL et al., 2009a).

O estado físico das formulações também afeta o desempenho dos sistemas. Sabe-se que a taxa e a extensão da digestão lipídica são maiores nos sistemas contendo lipídeos líquidos (BONNAIRE et al., 2008; WITZLEB et al., 2012), pois a adsorção das lipases na superfície da gotícula é mais efetiva quando comparado ao que acontece em lipídeos sólidos. Além disso, sugere-se que as diferenças na organização espacial das moléculas dos lipídeos, nos diferentes estados físicos, podem alterar a habilidade das lipases em hidrolisar esses materiais (BONNAIRE et al., 2008; CHAKRABORTY et al., 2009; WITZLEB et al., 2012).

No que se refere à digestão é válido ressaltar que características moleculares dos lipídeos têm papel importante. O tamanho da cadeia carbônica e o grau de insaturação das moléculas influenciam a velocidade de degradação enzimática da matriz (MÜLLER; RÜHL e RUNGE, 1996), modificando a absorção pelas células intestinais, bem como promovendo ou não o transporte linfático (DAHAN e HOFFMAN, 2008; TREVASKIS; CHARMAN e PORTER, 2008; PALIWAL et al., 2009b). A digestão dos triglicerídeos de cadeia média mostrou acontecer de forma mais rápida quando comparada aos triglicerídeos de cadeia longa (MOHSIN, 2012).

De forma geral, existe grande potencial para o desenvolvimento de sistemas de liberação de fármacos a base de lipídeos e diferentes sistemas podem ser obtidos visando a melhora na biodisponibilidade oral de fármacos.

## 2.2 Sistemas lipídicos de liberação de fármacos: definições, usos e métodos de preparo.

Dependendo da escolha do adjuvante e da técnica de produção, é possível obter uma grande variedade de sistemas à base de lipídeos (KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013), incluindo suspensões/soluções oleosas, soluções sólidas, dispersões sólidas, SES (SEDDS, SMEDDS, SNEDDS), carreadores lipídicos (micro e nanopartículas lipídicas, nanoemulsões) (DAHAN e HOFFMAN, 2008; JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; PORTER et al., 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b; RAO et al., 2014) e termoextrusados lipídicos (VITHANI et al., 2013; TAN et al., 2014).

Uma preocupação válida é a proposição de métodos de obtenção que possam ser escalonáveis, visando a produção em larga escala de forma economicamente viável (CHAKRABORTY et al., 2009b; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013). Métodos têm sido propostos com sucesso e resultado em diferentes produtos, atualmente sob comercialização. A Tabela 2 apresenta alguns produtos lipídicos que estão disponíveis comercialmente.

Tabela 2. Produtos a base de lipídeos para administração oral, disponíveis comercialmente no mercado mundial.

| Nome comercial / Companhia                               | Nome Genérico         | Uso                   | Adjuvantes   |
|--|-----------------------|-----------------------|--|
| Agenerase <sup>®</sup> / Glaxo SmithKline                | Amprenavir            | Antiviral HIV         | d-alfa tocoferol, succinato de polietilenoglicol 1000.   |
| Rocaltrol <sup>®</sup> / Roche                           | Calcitriol            | Regulador do cálcio   | Triglicerídeos de cadeia média fracionados do óleo de coco e do óleo de semente de palma.                |
| Coreg <sup>®</sup> CR / Glaxo SmithKline                 | Fosfato de Carvedilol | Anti-hipertensivo     | Óleos de rícino hidrogenado e óleo vegetal hidrogenado.  |
| Cipro <sup>®</sup> / Bayer                               | Ciprofloxacino        | Antibiótico           | Triglicerídeos de cadeia média.  |
| Neoral <sup>®</sup> / Novartis                           | Ciclosporina A        | Imunossupressor       | d-alfa tocoferol, mono-di-triglicerídeos do óleo de milho, óleo de rícino hidrogenado (Cremophor RH 40). |
| Sandimmune <sup>®</sup> / Novartis                       | Ciclosporina A        | Imunossupressor       | Glicerídeos linoleicos polioxietilados (Labrafil M), óleo de oliva, glicerídeos oleicos polioxietilados. |
| Lexxel <sup>®</sup> / Astra Zeneca                       | Maleato de Enalapril  | Anti-hipertensivo     | Óleo de rícino hidrogenado polioxil 40.  |
| Lipofen <sup>®</sup> / Kowa Pharmaceuticals Americ, Inc. | Fenofibrato           | Regulação de lipídeos | Gelucire 44/14 (lauroyl macrogol glyceride tipo 1500)  |
| Accutane <sup>®</sup> / Roche                            | Isotretinoína         | Anti-comedogênico     | Cera de abelha, flocos de óleo de soja hidrogenada, óleos vegetais hidrogenados e óleo de soja.          |
| Fortovase <sup>®</sup> / Roche                           | Saquinavir            | Antiviral HIV         | Mono e diglicerídeos de cadeia média, d-alfa tocoferol.  |
| Depakene <sup>®</sup> / Abbott                           | Ácido Valpróico       | Antiepiléptico        | Óleo de milho  |

**Fonte:** Adaptado de (CHAKRABORTY et al., 2009b; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013).

Os SES são misturas isotrópicas do fármaco, óleos, tensoativos e co-tensoativos, com capacidade de formar espontaneamente dispersões límpidas, após sua diluição em fase aquosa (TANG et al., 2008; SINGH et al., 2009; KOHLI et al., 2010). O fármaco, idealmente, deve permanecer associado aos lipídeos após a ingestão, estando assim disperso nos fluidos do TGI, o que evita sua precipitação e favorece sua absorção (TANG et al., 2008; KOHLI et al., 2010). Os SES apresentam vantagens como uso de adjuvantes biocompatíveis, de baixo custo, fácil preparo e reprodutibilidade (TANG et al., 2008; SINGH et al., 2009; KOHLI et al., 2010).

Segundo Singh e colaboradores (2009) o termo sistemas autoemulsionáveis de liberação de fármacos (SEDDS, do inglês *self-emulsifying drug delivery systems*) é amplo, e envolve a produção de emulsões com gotículas que variam de poucos nanômetros à alguns micrômetros. Sistemas automicroemulsionáveis de liberação de fármacos (SMEDDS, do inglês *self-microemulsifying drug delivery systems*) e sistemas autonanoemulsionáveis (SNEDDS, do inglês *self-nanoemulsifying drug delivery systems*) se referem à formulações translúcidas com a fase dispersa na faixa entre 100 a 250 nm ou abaixo de 100 nm, respectivamente (SINGH et al., 2009; KOHLI et al., 2010).

A capacidade de autoemulsificação e o tamanho da gotícula da fase dispersa estão diretamente relacionados à proporção entre os lipídeos, os tensoativos e o uso de co-tensoativos e cosolventes (KOHLI et al., 2010). Dessa forma, a adequada seleção desses componentes é de extrema importância durante o desenvolvimento, e mantém relação direta com o desempenho desses sistemas (SINGH et al., 2009; KOHLI et al., 2010).

Usualmente, os SES são preparados como formulações líquidas, administradas em cápsulas de gelatina mole, as quais dificultam e encarecem a produção. Além disso, os fármacos nesse tipo de formulação podem apresentar menor estabilidade e sofrer precipitação. Outros problemas relacionados a essa apresentação são o vazamento da formulação líquida a partir do invólucro, a interação dos componentes dessa formulação com o invólucro das cápsulas, o envelhecimento da cápsula e a maior suscetibilidade a contaminação microbológica (SINGH et al., 2009). Para contornar essas dificuldades, têm-se proposto a incorporação destes sistemas líquidos em carreadores sólidos, os quais além de combinarem as vantagens dos SEDDS líquidos convencionais, ainda podem ser produzidos por técnicas viáveis e já consagradas, de baixo custo e fácil operação.

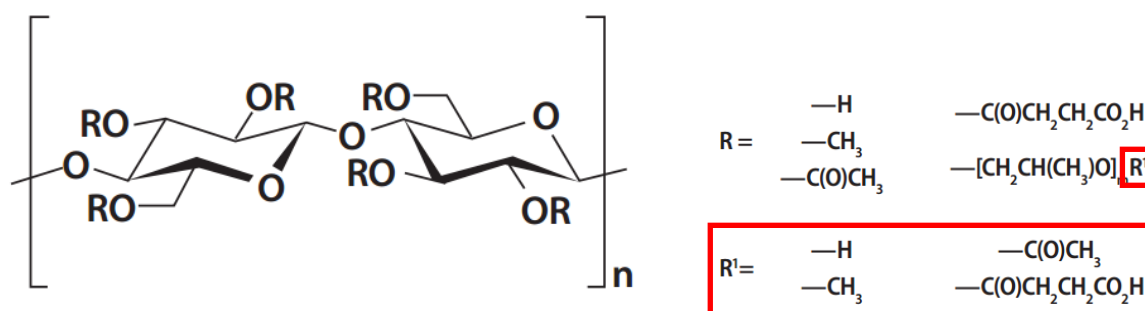
Os produtos sólidos resultantes são menos propensos a instabilidade físico-química, a contaminação microbiológica e são mais fáceis de armazenar e transportar (TANG et al., 2008; SINGH et al., 2009; TAN; RAO e PRESTIDGE, 2013). A obtenção dos SEDDS sólidos se dá por diferentes técnicas de solidificação, tais como o uso de carreadores sólidos com alta capacidade de adsorção, *spray drying*, *freeze-drying*, granulação por fusão, extrusão/esferonização, entre outras. A apresentação final desses produtos é na forma de cápsulas, comprimidos, *pellets*, grânulos, supositórios e implantes (TANG et al., 2008; TAN; RAO e PRESTIDGE, 2013).

Os SES sólidos podem ser associados com polímeros funcionais, no intuito de conferir liberação modificada do fármaco associado ao sistema de liberação. Nesse sentido, sistemas de liberação entérica podem ser desenvolvidos com o objetivo de proteger o fármaco da degradação pelo conteúdo gástrico ou até mesmo para reduzir a irritação gástrica causada pelas substâncias (LINDÉN, 2012). Fármacos com caráter básico, são mais solúveis no meio ácido e podem se difundir para fora do sistema lipídico e precipitar quando entram em contato com o conteúdo alcalino intestinal, prejudicando sua dissolução e absorção local (VENISHETTY et al., 2012; ZECEVIC et al., 2014). A escolha correta do polímero pode liberar o fármaco gradualmente no intestino, ao mesmo tempo em que ocorre a reconstituição da microemulsão, favorecendo assim a absorção (MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009; ZECEVIC et al., 2014). Diferentes tipos de polímeros têm sido usados como material de revestimento ou como agente formador de matriz para modificar a liberação de fármacos, tais como a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) (YI et al., 2008; ZHANG et al., 2012; ZECEVIC et al., 2014), a hidroxipropilcelulose (HPC) (SARODE et al., 2013; LORETI et al., 2014), a etilcelulose (VERHOEVEN et al., 2008), a polivinil pirrolidona (PVP) (SHARMA e JAIN, 2010; TAPAS; KAWTIKWAR e SAKARKAR, 2012) e alguns tipos de Eudragit<sup>®</sup> (FUKUDA; PEPPAS e MACGINITY, 2006; ANDREWS et al., 2008; SHIM et al., 2012).

Os polímeros entéricos são materiais praticamente insolúveis em soluções aquosas ácidas, mas prontamente solúveis em soluções com pH na faixa entre 5,5-7,0, dependendo da natureza e quantidade de seus grupos funcionais (ZECEVIC et al., 2014). O acetosuccinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS) é um polímero sintético derivado da celulose, disponível em três diferentes graus (L, M e G) obtidos conforme ocorrem alterações nas concentrações dos grupos substituintes da molécula. Os três graus são insolúveis em soluções aquosas ácidas e apresentam

ligeiras diferenças em suas características térmicas, com temperatura de transição vítrea de 119, 120 e 122 °C, respectivamente, e de solubilidade em meio alcalino, sendo que o de grau L começa a dissolver em pH acima de 5,5, o de grau M acima de 6 e o de grau G acima de 7 (ASHLAND, 2013). A Figura 2 apresenta a estrutura da molécula do HPMCSAS.

Figura 2. Estrutura do acetato succinato de hidroxipropilmetilcelulose (HPMCAS).



Fonte: Manual técnico da Ashland do Brasil.

O HPMCAS tem sido bastante utilizado como agente de liberação entérica em sistemas carreadores de fármacos (SARODE et al., 2013; ZECEVIC et al., 2014). Pode atuar como agente solubilizante na formação de dispersões sólidas e apresenta propriedades adequadas para o processamento por termoextrusão (ZECEVIC et al., 2014).

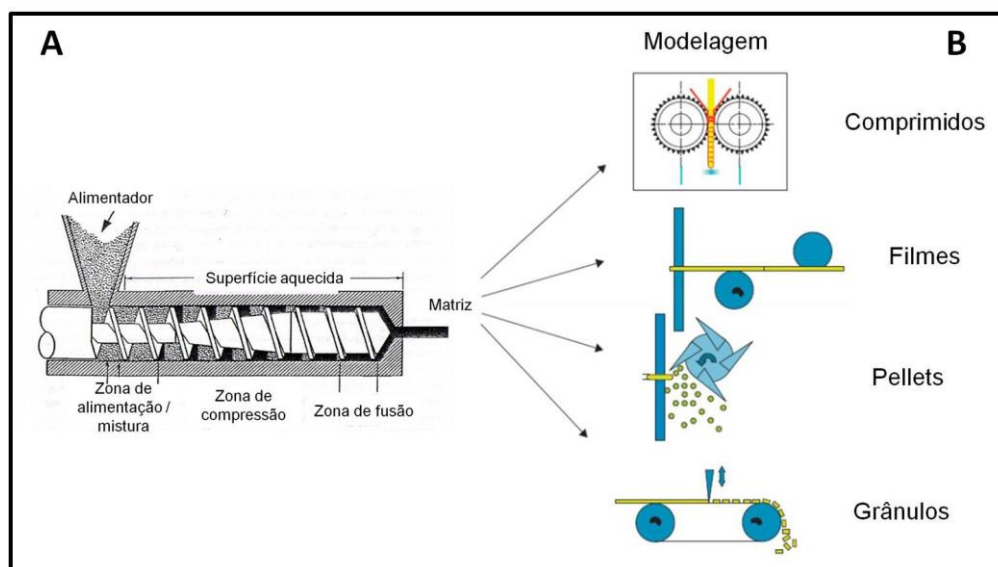
### 2.2.1. A termoextrusão de sistemas lipídicos

Como citado anteriormente, a termoextrusão é uma técnica amplamente utilizada em vários segmentos industriais, principalmente na indústria de plásticos (BREITENBACH, 2002; CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007), tendo recebido grande interesse nos últimos anos na indústria farmacêutica (BREITENBACH, 2002; CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007). Apesar do seu potencial, essa técnica ainda não foi apropriadamente explorada para o preparo de SES de liberação de fármacos. Na termoextrusão um material bruto com propriedades plásticas é convertido em produto de forma e densidade uniformes pela aplicação de calor (REPKA et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015).

Trata-se de um processo realizado em uma única etapa, sem adição de solventes, que é capaz de incorporar elevada quantidade de fármaco na matriz

carreadora (CROWLEY et al., 2007). Como mostrado na Figura 3, o processo de termoextrusão envolve as etapas de alimentação, mistura, fusão, dispersão da massa fundida e definição da forma, as quais ocorrem de forma sequencial (CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007). Em alguns casos, o processo pode ser conduzido na forma de batelada, com recirculação da massa dentro do barril, para garantir maior homogeneidade e adequada dispersão do fármaco no termoextrusado (LINDÉN, 2012).

Figura 3. Diagrama esquemático do extrusor de parafuso único e diferentes moldes que podem ser usados na técnica de termoextrusão.



**Fonte:** Adaptado de (CROWLEY et al., 2007; LINDÉN, 2012). Diferentes zonas e compartimentos do termoextrusor e aparatos que podem ser acoplados à matriz para o preparo de diferentes formas farmacêuticas.

Os termoextrusores são equipados com um cilindro de aço, o bloco extrusor, que envolve um ou dois parafusos helicoidais, os quais são os responsáveis pelo transporte do material fundido até a matriz (*die*) que, por sua vez, determinará a forma final do produto (Figura 3A) (BREITENBACH, 2002; CROWLEY et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015). Existe uma variedade de matrizes de formas e tamanhos disponíveis, as quais possibilitam a obtenção de termoextrusados com diferentes formas. Adicionalmente, uma esteira para resfriamento ou um equipamento modulador de forma podem ser acoplados à matriz, sendo que este último possibilita a obtenção de diferentes formas

farmacêuticas (Figura 3B) (CROWLEY et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015).

Os blocos extrusores disponíveis são divididos em seções, e cada seção geralmente apresenta uma zona de aquecimento diferente. O processamento é rigorosamente acompanhado por monitoramento e controle em linha dos parâmetros de processo como temperatura, pressão, velocidade dos parafusos, torque e velocidade de alimentação (STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015). Dependendo da configuração da termoextrusora, o material pode ser alimentado em diferentes locais e com o auxílio de diferentes acessórios, os quais podem controlar a taxa de alimentação ou permitir que esta aconteça livremente, pela ação da gravidade (CROWLEY et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015).

Os parafusos são projetados com diferentes seções, cujas funções variam entre as zonas de alimentação, mistura, compressão e saída (forçar a saída da massa extrusada) (CROWLEY et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015). O desenho do parafuso tem impacto significativo no processo e pode ser selecionado para satisfazer requerimentos específicos como menor ou maior cisalhamento (CROWLEY et al., 2007). Por vezes, os termoextrusores de parafusos duplos são preferidos, devido sua melhor capacidade de mistura. Neste caso, os parafusos podem girar na mesma direção, corrotacionais, ou em direções opostas, contra-rotacionais. Estes são usados quando maior força de cisalhamento é requerida, mas apresentam as desvantagens de aprisionamento do ar, geração de alta pressão e velocidade máxima dos parafusos serem baixas (CROWLEY et al., 2007; STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015).

Os materiais a serem processados por termoextrusão são geralmente polímeros ou mistura de polímeros e lipídeos, conhecidos como materiais transportadores, os quais devem se deformar/fundir facilmente dentro do extrusor. Adicionalmente, estes materiais devem se solidificar logo após sua saída do equipamento (STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015). As características térmicas e de viscosidade do material formador da matriz definem as condições operacionais a serem utilizadas e influem na qualidade, estabilidade e desempenho do sistema (FORSTER et al., 2001; BREITENBACH, 2002; CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007; LAKSHMAN et al., 2008; KALIVODA; FISCHBACH e KLEINEBUDDE, 2012; GUO et al., 2014). Dessa forma, um importante pré-requisito

dos materiais usados na termoextrusão é sua estabilidade térmica (STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015).

O comportamento reológico dos polímeros depende grandemente da temperatura, processamento e pressão (AHO et. al., 2015). O uso de carreadores poliméricos na termoextrusão geralmente requer a incorporação de outra substância, de menor peso molecular, capaz de favorecer o amolecimento e tornar os polímeros mais flexíveis, portanto extrusáveis. Estas substâncias são conhecidas como plastificantes e são adicionadas para melhorar as condições de processamento durante o preparo dos termoextrusados. Os plastificantes são capazes de diminuir a temperatura de transição vítrea dos polímeros, alterando as características de viscosidade da massa fundida por aumentar o volume livre das cadeias do polímero (CROWLEY et al., 2007).

A hidroxipropilcelulose (HPC) é um derivado da celulose, produzido a partir da substituição de alguns grupos hidroxilas usando o óxido de propileno. É um polímero não iônico solúvel em meio aquoso, e tem sido utilizado como carreador para liberação modificada, plastificante ou como agente formador de filme. A HPC é um polímero semicristalino que apresenta baixa temperatura de transição vítrea (SARODE et al., 2013; LORETI et al., 2014, STANKOVIC; FRIJLINK e HINRICHS, 2015). Por causa dessa característica, o HPC pode ser usado como eficiente agente plastificante nos processos de termoextrusão (ZECEVIC et al., 2014).

A técnica de termoextrusão pode ser aplicada para dispersar molecularmente o fármaco na matriz, levando à formação de soluções sólidas (BREITENBACH, 2002; PRODDUTURI et al., 2007). Dessa forma, esse método tem ganhado atenção especial no preparo de sistemas de liberação contendo fármaco de baixa solubilidade em água (HÜLSMANN et al., 2000; FORSTER et al., 2001; ZHU et al., 2006). A termoextrusão também tem sido explorada para o preparo de sistemas de liberação controlada (FOLLONIER; DOELKER e COLE, 1995; FUKUDA; PEPPAS e MCGINITY, 2006; SCHILLING et al., 2008), tais como sistemas para liberação entérica (ANDREWS et al., 2008; SCHILLING et al., 2010) e colônica (BRUCE et al., 2005). Para isso tem sido usado polímeros de solubilidade pH-dependente. O processamento a altas temperaturas e cisalhamento vigoroso leva a obtenção de termoextrusados com matriz homogênea, compacta, densa e com baixa porosidade (SHAH et al., 2013). A cinética de liberação do fármaco a partir dos termoextrusado depende significativamente da escolha do material transportador, e da adequada e

eficiente dispersão do fármaco na matriz (CROWLEY et al., 2007; KALIVODA; FISCHBACH e KLEINEBUDE, 2012).

Muitos materiais usados no preparo de termoextrusados também têm sido usados no preparo de outras formas farmacêuticas e a mistura de diferentes classes de adjuvantes, tais como plastificantes, antioxidantes, deslizantes, etc. tem sido usada para melhorar as condições de processo (SPROCKEL et al., 1997; LIU; ZHANG e MCGINITY, 2001; REPKA e MCGINITY, 2001; REPKA et al., 2005; FUKUDA; PEPPAS e MCGINITY, 2006; CROWLEY et al., 2007; REPKA et al., 2007). Tais características fazem deste um método versátil, que tem sido explorado no preparo de diferentes formas farmacêuticas (Figura 3B), como comprimidos (LIU; ZHANG e MCGINITY, 2001; CROWLEY et al., 2004; BRUCE et al., 2005; FUKUDA; PEPPAS e MCGINITY, 2006; SCHILLING et al., 2010), pellets (FOLLONIER; DOELKER e COLE, 1995; SCHILLING et al., 2010), grânulos (LIU; ZHANG e MCGINITY, 2001) e adesivos/filmes (REPKA e MCGINITY, 2001; REPKA et al., 2005).

Lipídeos também têm sido utilizados como material transportador no preparo de extrusados, por termoextrusão, a fim de aumentar a dissolução e a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, e como material de matriz para liberação controlada (LIU; ZHANG e MCGINITY, 2001; MEHUYS; VERVAET e REMON, 2004; REITZ e KLEINEBUDE, 2007; REITZ; STRACHAN e KLEINEBUDE, 2008; ROBLEGG et al., 2011; VITHANI et al., 2013; VITHANI et al., 2014). A extrusão de lipídeos sólidos é um método bastante novo, no qual os lipídeos sólidos são processados abaixo de sua faixa de fusão em um processo termomecânico. Durante esse processo, o fármaco é misturado na matriz lipídica amolecida e a mistura forma uma matriz compacta de baixa porosidade (REITZ; STRACHAN e KLEINEBUDE, 2008).

Diferentes estudos têm sido descritos, investigando o processo de termoextrusão de lipídeos sólidos, os quais se mostram sistemas muito promissores (MEHUYS; VERVAET e REMON, 2004; REITZ e KLEINEBUDE, 2007; MICHALK et al., 2008; REITZ; STRACHAN e KLEINEBUDE, 2008; ROBLEGG et al., 2011; VITHANI et al., 2013; TAN et al., 2014; VITHANI et al., 2014; JEDINGER et al., 2015). Contudo, o efeito da estrutura e da morfologia das matrizes lipídicas termoextrusadas nas propriedades de liberação ainda tem sido pouco estudado.

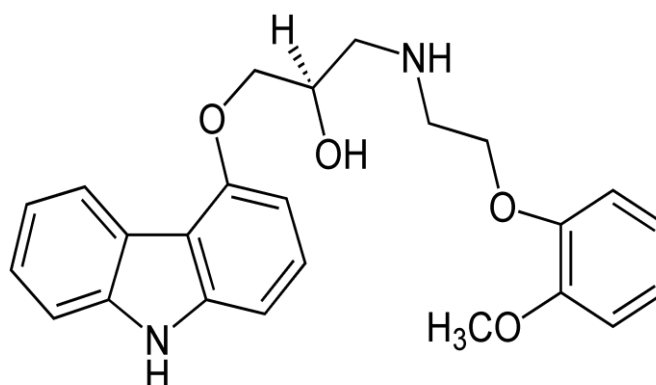
Até o presente momento, não há descrito na literatura o uso de óleos ou mistura de óleo e tensoativos/cotensoativos (sistemas autoemulsionáveis) no preparo de formas farmacêuticas pela técnica de termoextrusão.

### 2.3 Sistemas de liberação contendo carvedilol

O CARV é comercializado na forma de comprimidos de liberação imediata, com doses entre 3,125 a 25 mg por comprimido, para tratamento da hipertensão arterial, insuficiência cardíaca congestiva e infarto do miocárdio. Está disponível na forma de mistura racêmica, onde o enantiômero S (-) é responsável pelo bloqueio da atividade dos  $\beta$ -adrenoreceptores, enquanto o bloqueio da atividade dos receptores  $\alpha_1$ -adrenérgicos se dá pela ação dos enantiômeros S (-) e R (+). Dessa forma, o CARV atua como bloqueador adrenérgico não seletivo (QVIGSTAD et al., 2005; HENDERSON et al., 2006; UDELSON et al., 2009; DANTAS et al., 2013).

O CARV é um exemplo de fármaco pertencente à classe II do BDDCS (BENET; BROCCATELLI e OPREA, 2011), cuja estrutura química está apresentada na Figura 4.

Figura 4. Estrutura química do carvedilol.



**Fonte:** (YATHIRAJAN et al., 2007)

Esta molécula possui log P calculado de 4,19, sendo praticamente insolúvel em água, apresentando ainda solubilidade pH-dependente (CHAKRABORTY et al., 2009a; PLANINŠEK; KOVAČIČ e VREČER, 2011). O CARV apresenta boa

permeabilidade intestinal (WU e BENET, 2005; SINGH et al., 2013a), mas sofre intenso efeito de primeira passagem intestinal e hepático sendo ainda substrato para a glicoproteína P presente nas membranas dos enterócitos (WU e BENET, 2005; PLANINŠEK; KOVAČIČ e VREČER, 2011; BENET, 2013). Todos esses fatores em conjunto contribuem para a redução na biodisponibilidade oral do CARV que é de 20 a 35% (RIEKES et al., 2011; VENISHETTY et al., 2012). Outro fator que deve ser levado em consideração é a elevada variabilidade na concentração plasmática, a qual sofre influência direta do conteúdo intestinal (MCCONNELL; FADDA e BASIT, 2008; CHAKRABORTY et al., 2009b).

O CARV possui grupamento funcional ionizável, referente a amina secundária alfa-hidroxil, que apresenta pKa de 7,8, a qual confere à molécula caráter básico e, portanto, maior solubilidade em pH ácido (CHAKRABORTY et al., 2009a). Devido a essas características, os sistemas carreadores desenvolvidos para melhorar o desempenho *in vivo* do CARV, podem não ser efetivos, uma vez que o fármaco incorporado pode sofrer ionização e dissolução quando em contato com o fluido gástrico, com posterior precipitação no meio alcalino do intestino, prejudicando sua absorção intestinal (CHAKRABORTY et al., 2009b; CHAKRABORTY et al., 2011; VENISHETTY et al., 2012).

Na tentativa de aumentar a biodisponibilidade do CARV diferentes sistemas de liberação foram desenvolvidos, incluindo sistemas transdérmicos (VORA; LIN e MADAN, 2013), líquidos orais (BUONTEMPO et al., 2010), adesivos bucais mucoadesivos (THIMMASETTY; PANDEY e BABU, 2008; KHDAIR et al., 2013), cápsulas contendo micropartículas (TENERO et al., 2006), complexo de inclusão em ciclodextrinas (LOFTSSON et al., 2008; POKHARKAR et al., 2009), dispersões sólidas (SHARMA e JAIN, 2010; PLANINŠEK; KOVAČIČ e VREČER, 2011; RIEKES et al., 2011; SHIM et al., 2012; TAPAS; KAWTIKWAR e SAKARKAR, 2012; LEE et al., 2013; SHAMMA e BASHA, 2013), sistemas lipídicos (WEI et al., 2005; WEI et al., 2007; MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009a; CHAKRABORTY et al., 2010; 2011; VENISHETTY et al., 2012; SINGH et al., 2013a; SHAH; MADAN e LIN, 2014b) e sistemas termoextrusados de natureza polimérica (LYONS et al., 2007; NAGY et al., 2013).

### 2.3.1 Dispersões sólidas contendo carvedilol

Dispersões sólidas preparadas com polímeros hidrofílicos e fármacos classe II têm sido descritas na literatura, como sistemas desenvolvidos para melhorar a solubilidade, dissolução e, conseqüentemente, a biodisponibilidade dos fármacos (VASCONCELOS; SARMENTO e COSTA, 2007; SHARMA e JAIN, 2010; PLANINŠEK; KOVAČIČ e VREČER, 2011; RIEKES et al., 2011; KUKEC et al., 2012; SHIM et al., 2012; SHAMMA e BASHA, 2013).

Em alguns tipos de dispersões sólidas, o fármaco se encontra molecularmente disperso na matriz hidrofílica, o que confere aumento da sua solubilidade e da taxa de dissolução. Além disso, a presença do polímero aumenta a molhabilidade do sistema, o que também contribui para a melhora do perfil de dissolução do fármaco (POKHARKAR et al., 2006; VASCONCELOS; SARMENTO e COSTA, 2007; LAKSHMAN et al., 2008).

Dispersões sólidas preparadas com diferentes polímeros, tais como a polivinilpirrolidona (PVP K30) (SHARMA e JAIN, 2010; TAPAS; KAWTIKWAR e SAKARKAR, 2012; LEE et al., 2013), HPMC (hidroxipropilmetilcelulose), Eudragit® RS (SHIM et al., 2012), quitosana e cloridrato de quitosana (SHETE; YADAV e MURTHY, 2012), foram efetivas em melhorar a taxa de dissolução do CARV em fluído gástrico simulado. Os estudos demonstraram que o fármaco se encontrava no estado amorfo nos carreadores, a taxa de dissolução do CARV a partir das dispersões sólidas foi dependente da concentração dos polímeros carreadores (SHARMA e JAIN, 2010; SHIM et al., 2012; TAPAS; KAWTIKWAR e SAKARKAR, 2012; LEE et al., 2013).

Planinšek e colaboradores (2011) observaram aumento na taxa de dissolução do CARV, incorporado em dispersões sólidas de sílica porosa. Os autores atribuíram essa melhora ao tamanho reduzido da partícula carreadora e ao aumento da área superficial, bem como ao estado amorfo do fármaco no carreador (PLANINŠEK; KOVAČIČ e VREČER, 2011).

Contudo, a recristalização é a principal desvantagem das dispersões (soluções) sólidas, desde que o fármaco amorfo é termodinamicamente instável e tende a se converter em formas mais estáveis durante o armazenamento (VASCONCELOS; SARMENTO e COSTA, 2007; SHAMMA e BASHA, 2013).

O desenvolvimento de sistema terciário, formado pelo CARV, polímero (PVP) e adsorvente (Aerosil<sup>®</sup> 200), demonstrou que o fármaco cristalino pode ser transformado em sua forma amorfa, a qual se mostrou estável por um período de três meses a 40 °C/75% UR (POKHARKAR et al., 2006).

O uso do Soluplus<sup>®</sup>, como carreador polimérico, também resultou no aumento da solubilidade do CARV, bem como na melhora de seu desempenho biofarmacêutico (SHAMMA e BASHA, 2013). O Soluplus<sup>®</sup> é um copolímero tribloco com propriedades anfífilas e, em virtude desse caráter, pode ser usado como matriz polimérica em dispersões sólidas e como solubilizante, por meio da formação de micelas em água (SHAMMA e BASHA, 2013).

A simples melhora na dissolução no meio ácido não é garantia de melhora da biodisponibilidade, desde que a ação dos transportadores de efluxo e/ou o metabolismo de primeira passagem continuam a afetar significativamente a biodisponibilidade. Dessa forma, muita atenção tem sido dedicada ao desenvolvimento de SES e nanopartículas lipídicas contendo CARV.

### **2.3.2 Sistemas lipídicos contendo carvedilol**

O desenvolvimento de diferentes SES para aumentar a biodisponibilidade do CARV tem sido explorado no meio científico. SEDDS, SMEDDS (WEI et al., 2005; WEI et al., 2007; TANG et al., 2008; MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009a) e SNEDDS de liberação de fármacos tem sido descritos (MAHMOUD; BENDAS e MOHAMED, 2009a; SINGH et al., 2011; SINGH et al., 2013a).

Em um destes estudos, sistemas autonanoemulsionáveis contendo CARV foram preparados com Capmul<sup>®</sup> MCM (gliceril caprilato/caprato) e Nikkol<sup>®</sup> HCO 50 (óleo de rícino hidrogenado PEG-50), e após administração oral em ratos, foi observado aumento na  $C_{max}$  e AUC de 134,2% e 85,2%, respectivamente, quando comparado com a suspensão do fármaco (SINGH et al., 2013a).

Adicionalmente, diferentes estudos têm sido publicados relativos ao preparo de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) contendo CARV base ou na forma de sal de fosfato, no intuito de aumentar a solubilidade e melhorar a biodisponibilidade oral desse fármaco, via promoção de transporte linfático (SANJULA et al., 2009; CHAKRABORTY et al., 2010; 2011; VENISHETTY et al., 2012; SHAH; MADAN e LIN, 2014b).

No intuito de evitar a liberação precoce do CARV a partir de sistemas lipídicos no ambiente estomacal, Chakraborty e colaboradores (2011) propuseram a alcalinização do pH do estômago com Gelusil<sup>®</sup> MPS. Nesse contexto, os autores estudaram a eficácia de NLS compostas por ácido esteárico, no aumento da biodisponibilidade do fosfato de CARV, após administração oral em ratos. Os autores observaram liberação imediata em meio ácido e liberação prolongada quando o meio foi alcalinizado. Análises de amostras de plasma mostraram aumento da biodisponibilidade oral da ordem de 27%, quando comparado com a suspensão do fármaco (CHAKRABORTY et al., 2011).

De forma similar, Venishetty e colaboradores (2012) propuseram o revestimento das NLS com polímero de solubilidade pH-dependente. Os autores sintetizaram um derivado da quitosana, a N-carboximetilquitosana, que é solúvel apenas em pH acima de 5,0. As NLS foram preparadas com monoestearato de glicerila, lecitina de soja e poloxamer<sup>®</sup> 188 e foram revestidas com o derivado da quitosana. A administração oral dessas partículas aumentou cerca de duas vezes a biodisponibilidade oral do CARV quando comparado com a administração de NLS, de mesma composição, mas sem revestimento (VENISHETTY et al., 2012). Dessa forma, os autores concluíram que o revestimento das NLS pelo polímero de solubilidade pH-dependente, evitou que o fármaco fosse liberado no meio gástrico. Portanto, o sistema híbrido polímero-lipídeo mostrou-se efetivo para a administração oral de fármacos básicos (VENISHETTY et al., 2012).

NLS preparadas com Compritol<sup>®</sup> 888 ATO e poloxamer<sup>®</sup> 188 e contendo CARV, foram misturadas, após liofilização, com amido pré-gelatinizado, na proporção 1:1, para em seguida serem comprimidas; os comprimidos foram então revestidos com Eudragit<sup>®</sup> L100-55, um polímero de liberação pH-dependente (SHAH; MADAN e LIN, 2014b). Os resultados dos estudos de liberação *in vitro* mostraram que os comprimidos revestidos contendo as NLS evitaram a liberação do CARV em meio ácido. Nesse trabalho, os autores realizaram ainda estudos de absorção *in vitro* em modelo de monocamada de células Caco-2 e verificaram a maior absorção do CARV quando incorporado nas NLS frente ao fármaco em suspensão (SHAH; MADAN e LIN, 2014b).

## 2.4 Estudos de pré-formulação: Seleção racional dos adjuvantes da formulação

O sucesso da formulação de sistemas de liberação de fármacos depende da escolha cuidadosa dos adjuvantes (KASONGO et al., 2011; NEGI; JAGGI e TALEGAONKAR, 2014). Para tanto, as propriedades físico-químicas dos fármacos e adjuvantes devem ser conhecidas (BRUNS, 2005; CIDES et al., 2006; CHAKRABORTY et al., 2009a; SARI; BIÇER e KARAIPEKLI, 2009; OLIVEIRA et al., 2010; PATTARINO et al., 2014). As interações entre os fármacos e os adjuvantes e as propriedades funcionais dos adjuvantes, como, por exemplo, sua capacidade de solubilização dos ativos, devem ser avaliadas (DAHAN et al., 2008; BORHADE et al., 2012; SHETE e PATRAVALE, 2013). Adicionalmente, a estabilidade dos adjuvantes e do fármaco também precisa ser conhecida para possibilitar a proposição segura das condições de processamento, como, por exemplo, uso de temperatura, pressão, solventes, entre outros (JANNIN; MUSAKHANIAN e MARCHAUD, 2008; KUKEC et al., 2012; PAUDEL et al., 2013; SHAMMA e BASHA, 2013).

Estudos de compatibilidade entre fármacos e adjuvantes comumente usados no preparo de formas farmacêuticas semissólidas (LIRA et al., 2007; DE BARROS LIMA et al., 2014), sólidas (OLIVEIRA et al., 2010; MAXIMIANO et al., 2011; PERES-FILHO et al., 2011), e sistemas lipídicos (SCHUBERT; SCHICKE e MÜLLER-GOYMANN, 2005; KASONGO et al., 2011; KUMAR et al., 2014a; KUMAR et al., 2014b), têm sido relatados na literatura. A compatibilidade entre o CARV e adjuvantes farmacêuticos também tem sido avaliada (BORBA et al., 2014; TALVANI et al., 2014).

Nesses estudos, as técnicas de análise térmica, como a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), a Termogravimetria (TGA) e a Análise Térmica Diferencial (DTA) são ferramentas importantes e frequentemente utilizadas, uma vez que fornecem informações relativas ao fármaco, aos adjuvantes e suas misturas, tais como sua cinética de degradação térmica, pureza, ocorrência de polimorfismo, interações fármacos-adjuvantes, entre outras (RODRIGUES et al., 2005; CHADHA e BHANDARI, 2014). As interações entre os constituintes da formulação são sugeridas pela ocorrência de certas mudanças na forma dos picos nas curvas térmicas, alterações na temperatura de início dos eventos e nos seus valores de entalpia

(SCHUBERT; SCHICKE e MÜLLER-GOYMANN, 2005; PERES-FILHO et al., 2011; DE BARROS LIMA et al., 2014; KUMAR et al., 2014a; TALVANI et al., 2014).

Contudo, o uso isolado de qualquer técnica de análise térmica pode levar a conclusões errôneas. Dessa forma, técnicas complementares têm sido usadas para auxiliar na elucidação dos resultados encontrados e, dentre elas, as mais frequentemente usadas são a difração de raios-X, a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), o teste de estresse isotérmico e a microscopia (MAXIMIANO et al., 2011; PERES-FILHO et al., 2011; BORBA et al., 2014; DE BARROS LIMA et al., 2014; KUMAR et al., 2014a; KUMAR et al., 2014b; TALVANI et al., 2014).

Os estudos de compatibilidade envolvem o uso da mistura física do fármaco com um ou mais adjuvantes, as quais são analisadas por diferentes técnicas termoanalíticas e espectroscópicas, antes e após interação (CHADHA e BHANDARI, 2014). DSC e DTA mostram-se como métodos rápidos, que requerem apenas pequenas quantidades de amostras, cujas interações físicas podem ser facilmente detectadas, como mudança na forma polimórfica, e os resultados de incompatibilidade podem ser confirmados usando outros métodos não térmicos. Já a espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier, também requer pequenas quantidades de amostras para análise, os dados são adquiridos de forma relativamente rápida e possuem livrarias de espectros disponíveis, fácil detecção de incompatibilidade, devido a mudanças nas bandas do pico, e ainda possibilitam obter informações químicas espaciais com configurações de imagem (CHADHA e BHANDARI, 2014).

A difração de raios-X, por sua vez, pode ser usada em análises qualitativas e quantitativas, não há perda da amostra durante as análises e é útil para detectar incompatibilidades químicas pelo aparecimento de picos de difração ou incompatibilidades físicas, como mudanças polimórficas. Por outro lado, o teste de estresse isotérmico permite a detecção e quantificação de impurezas em casos de incompatibilidades, e é considerado um método cujos resultados são confiáveis e inconfundíveis (CHADHA e BHANDARI, 2014).

### 2.4.1 Adjuvantes lipídicos empregados nos estudos de pré-formulação com o carvedilol

Os ácidos esteárico, palmítico e láurico, todos sólidos à temperatura ambiente, e o ácido oleico, líquido à temperatura ambiente, são ácidos graxos livres formados por uma longa cadeia alquílica contendo em sua extremidade um grupo carboxílico (-COOH) (ROWE; SHESKEY e QUINN, 2009).

Os ácidos graxos são encontrados normalmente nos óleos vegetais e nas gorduras animais e podem possuir cadeias saturadas, monoinsaturadas ou poli-insaturadas. Os ácidos esteárico, palmítico e láurico são formados por cadeias carbônicas de saturadas de 18, 16 e 12 átomos de carbono, respectivamente, enquanto o ácido oleico é um ácido graxo monoinsaturado, formado por 18 átomos de carbono, com insaturação no carbono 9. O tamanho da cadeia carbônica e o grau de insaturação irão influenciar diretamente na solubilidade em água dessas moléculas (ROWE; SHESKEY e QUINN, 2009).

O compritol<sup>®</sup> 888 ATO, ou behenato de glicerila, é uma mistura de ésteres do glicerol, tribehenato de glicerila (28-32%), dibehenato de glicerila (52-54%) e monobehenato de glicerila (12-18%). Os ésteres do Compritol são formados principalmente pelo ácido behênico (> 85%), o qual possui cadeia carbônica formada por 22 átomos de carbono (ROWE; SHESKEY e QUINN, 2009). O compritol é um sólido branco à temperatura ambiente.

O emulium<sup>®</sup> 22 é um derivado dos ésteres do ácido behênico, em cuja estrutura foi adicionada uma molécula de PEG 20, sendo conhecido como tribehenina peguilhada. Essa mudança estrutural tornou o emulium<sup>®</sup> 22 um excelente agente emulsificante, para o preparo de emulsões e loções do tipo óleo em água. É comercializado na forma de pellets (CERNASOV, 2009).

O gelucire<sup>®</sup> 44/14 é um lipídeo semissólido a temperatura ambiente que atua como tensoativo não-iônico, e é formado por uma mistura de ésteres de PEG, uma pequena fração de glicerídeos e PEG livre. Esse adjuvante tem sido utilizado no preparo de SES, como agente solubilizante e molhante, e apresenta boas características termoplásticas associadas à rápida formação de fase cristalina estável (JANNIN; RODIER e MUSAKHANIAN, 2014).

O capmul<sup>®</sup> MCM é uma mistura de mono e diglicerídeos contendo ácidos graxos de cadeia média, principalmente os ácidos caprílico e cáprico. É um

excelente solvente para muitos compostos orgânicos, e também um tensoativo útil para sistemas do tipo água em óleo (LI; MADAN e LIN, 2014).

Por sua vez, o pluroI<sup>®</sup> isosteárico é um líquido viscoso à temperatura ambiente, constituído pelo isoestearato de poliglicerina. Esse material tem sido utilizado como cotensoativo no preparo de microemulsões (DJEKIC e PRIMORAC, 2008).

Por fim, o transcutoI<sup>®</sup> HP, dietilenoglicol monoetil éter é um cosolvente hidrofílico de alta pureza, usado no preparo de SES de uso oral, para obtenção de dispersões finas (SULLIVAN JR; GAD e JULIEN, 2014).

Diferentes óleos, tais como os triglicéridos de cadeias média e longa, têm sido utilizados no preparo de SES, pois são mais facilmente digeridos que os lipídeos sólidos e semissólidos (DAHAN e HOFFMAN, 2007; BONNAIRE et al., 2008), sendo, portanto, mais úteis no desenvolvimento de sistemas desenhados para a promoção do transporte linfático de fármacos. Os triglicéridos são formados pela condensação do glicerol com ácido graxos de cadeias média e longa, e são sintetizados pelos seres vivos (GUNSTONE, 2002). Os triglicéridos estão comumente presentes na alimentação dos seres vivos, são facilmente digeríveis e prontamente absorvidos, e, portanto, não apresentam qualquer problema de segurança (POUTON e PORTER, 2008). Os triglicéridos de cadeia média, por sua vez, apresentam maior capacidade solvente que os de cadeia longa, e são menos propensos à oxidação (POUTON e PORTER, 2008; KALEPU; MANTHINA e PADAVALA, 2013).

A composição percentual em ácidos graxos e triglicéridos de cada óleo estudado no presente trabalho está apresentada na Tabela 3.

Tabela 3. Composição (%) de ácidos graxos dos óleos estudados.

|                          | Canola | Rícino | TCM   | Milho   | ORP  | Cártamo | Gergelim | Soja  | Girassol |
|--------------------------|--------|--------|-------|---------|------|---------|----------|-------|----------|
| <b>Ácidos graxos (%)</b> |        |        |       |         |      |         |          |       |          |
| Ácido caprótico          | -      | -      | < 2,0 | -       | -    | -       | -        | -     | -        |
| Ácido caprílico          | -      | -      | 50-80 | -       | -    | -       | -        | -     | -        |
| Ácido cáprico            | -      | -      | 20-50 | -       | -    | -       | -        | -     | -        |
| Ácido láurico            | -      | -      | < 3,0 | -       | -    | -       | -        | -     | -        |
| Ácido mirístico          | -      | -      | < 1,0 | -       | -    | < 0,2   | -        | -     | -        |
| Ácido linoléico          | 16-30  | 3      | -     | 39-66   | 3    | 68-83   | 40       | 50-57 | 48-74    |
| Ácido linolênico         | 6-14   | 0,3    | -     | 0,5-1,5 | -    | < 0,5   | -        | 5-10  | -        |
| Ácido oleico             | 50-67  | 7      | -     | 20-42   | 7    | 8,21    | 45       | 17-26 | 14-40    |
| Ácido ricinoleico        | -      | 87     | -     | -       | 83   | -       | -        | -     | -        |
| Ácido palmítico          | 2,5-6  | 2      | -     | 8,5-17  | 2    | 4-10    | 9,8      | 9-13  | 4-9      |
| Ácido esteárico          | 3,0    | 1      | -     | < 3,0   | 1    | 1-5     | 6,0      | 3-6   | 1-7      |
| Outros                   | 7,0    | 1,0    | -     | < 2,3   | -    | 2,0     | 0,8      | -     | 4,8      |
| AGS*                     | 8,9    | 5,4    | 96,0  | 15,1    | 5,4  | 11,2    | 19,1     | 16,9  | 12,0     |
| AGM*                     | 63,1   | 83,3   | 3,3   | 29,7    | 83,3 | 11,6    | 39,4     | 23,6  | 29,4     |
| AGP*                     | 28,1   | 11,2   | 0,7   | 54,5    | 11,2 | 76,8    | 44,1     | 59,5  | 57,9     |

\*Ácidos graxos saturados (AGS), ácidos graxos monoinsaturados (AGM) e ácidos graxos poli-insaturados (AGP). TCM – triglicerídeos de cadeia media; ORP – óleo de rícino polietoxilado.

## 3 OBJETIVOS

### 3.1 Objetivo Geral

Realizar estudos de pré-formulação e formulação para obtenção de sistemas automicroemulsionáveis sólidos contendo carvedilol empregando a técnica de termoextrusão.

### 3.2 Objetivos Específicos

- ✓ Validar métodos espectrofotométrico e cromatográfico (CLAE) para quantificação do CARV nas formulações e nos diferentes ensaios *in vitro*;
- ✓ Realizar *screening* de diferentes adjuvantes (lipídeos, óleos, tensoativos e cotensoativos) por meio de estudos de solubilidade, pela aplicação de técnicas termoanalíticas (DSC/TGA/DTA) e espectroscópica (ATR-FT-IR) e pelo uso do protocolo de estresse isotérmico;
- ✓ Preparar diagrama de fases ternário, variando as proporções entre óleo, tensoativo e cotensoativos, previamente selecionados;
- ✓ Analisar o impacto da incorporação do fármaco nas características dos SES líquidos;
- ✓ Caracterizar os SES líquidos quanto ao tamanho médio, índice de polidispersão, potencial zeta e transmitância a 850 nm;
- ✓ Preparar SES sólidos pela técnica de termoextrusão;
- ✓ Aplicar planejamento fatorial, do tipo BBD, para estudar os parâmetros de temperatura e tempo de circulação na extrusora, assim como para determinar o efeito da concentração do fármaco sobre as características do produto obtido;
- ✓ Caracterizar os SES sólidos quanto ao estado físico do fármaco, utilizando difração de raios-X e DSC, microscopia, perfil de dissolução e eficiência de reconstituição *in vitro*;

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

Ácido esteárico (ácido octadecanóico, Sigma Aldrich, Brasil).

Ácido láurico (ácido dodecanóico, Sigma Aldrich, Brasil).

Ácido palmítico (ácido hexadecanóico, Labsynth LTDA, Brasil).

Ácido oleico (ácido 9Z-9-octadecanóico, Labsynth LTDA, Brasil).

AquaSolve AS<sup>®</sup> LG (HPMCAS - acetosuccinato hidroxipropilmetilcelulose grau L, Ashland, EUA).

Capmul<sup>®</sup> MCM (mono-dicaprato glicerila, Abitec, Brasil).

Carvedilol (pureza > 99%, Chengtai Shenyang Fine Chemicals Factory, China).

Celulose microcristalina PH101 (Mingtai, Taiwan).

Compritol<sup>®</sup> ATO 888 (behenato de glicerila, Gattefossé, França).

Aerosil<sup>®</sup> 200 Pharma (Dióxido de silício coloidal, Evonik Degussa GmbH, Germany).

Emulium<sup>®</sup> 22 (Tribehenina PEG-20 esters, Gattefossé, França).

Gelucire<sup>®</sup> 44/14 (lauroil polioxil glicerídeos, Gattefossé, França).

Klucel<sup>®</sup> ELF (HPC - hidroxipropilcelulose grau L, Ashland, EUA)

Óleo de canola (Cargill Agrícola S.A., Brasil).

Óleo de milho (Cargill Agrícola S.A., Brasil).

Óleo de girassol (Cargill Agrícola S.A., Brasil).

Óleo de cártamo (Pazze Indústria de Alimentos LTDA, Brasil).

Óleo de rícino (Mapric Produtos Farmacoscéticos, Brasil).

Óleo de rícino polietoxilado (Emulphor<sup>®</sup> EL 719, BASF, Alemanha).

Óleo de gergelim (Super Refinad<sup>®</sup> Sesame NF-LQ-(MH), Croda, Brasil).

Óleo de soja (Soja ultrapura<sup>®</sup>, Produtos naturais & Tecnologias LTDA, Brasil).

Plurol isostearique<sup>®</sup> (poliglicerila-6 isostearato, Gattefossé, França).

Talco (silicato de magnésio).

Transcutol<sup>®</sup> HP (dietilenoglicol monoetil etér, Gattefossé, França).

Triglicerídeo dos ácidos cáprico e caprílico (Velsan<sup>®</sup> CCT, Clariant Chemicals Ltd., India).

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Validação das metodologias analíticas para quantificação do carvedilol

#### 4.2.1.1. Quantificação do carvedilol por cromatografia a líquido de alta eficiência

O método cromatográfico com detecção de fluorescência foi adaptado de HOKAMA et al. (1999). CARV foi utilizado para o preparo de soluções metanólicas, as quais foram diluídas em fase móvel. Dez microlitros foram injetados em coluna ZORBAX® Eclipse (Agilent™) XDB-C18 (150 x 4,6 mm, 3,5 µm), com pré-coluna (C18, 12,5 x 4,6 mm, 3,5 µm - Agilent™), mantidas à temperatura ambiente. Empregou-se fluxo de fase móvel de 1,0 mL/min, a qual foi composta por mistura de metanol e fosfato de potássio monobásico anidro em água (50mM) (60:40, v/v). O pH final foi ajustado para 4,0 com ácido fosfórico. A detecção ocorreu em  $\lambda_{\text{excitação}} = 241 \text{ nm}$  e  $\lambda_{\text{emissão}} = 355 \text{ nm}$ .

A validação seguiu os parâmetros recomendados pelo ICH / 2005 (*Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*), que preconiza a realização de testes de linearidade, exatidão, precisão, limite de quantificação, limite de detecção e seletividade (ICH, 2005).

##### 4.2.1.1.1. Linearidade

Foram preparadas curvas analíticas com soluções do CARV, em concentrações na faixa de 20 a 320 ng/mL, usando como diluente uma mistura de metanol e  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 mM (60:40 v/v, pH 4,0). As soluções foram preparadas em triplicata para cada concentração. O desvio padrão relativo entre as áreas dos picos foi calculado e os coeficientes de correlação (r) das curvas foram determinados. As curvas foram construídas no software Microsoft Excel® 2007 para Windows.

#### 4.2.1.1.2. Precisão e Exatidão

Para o ensaio de precisão e exatidão foram preparadas soluções, em triplicata, referentes às concentrações baixa, média e alta da curva analítica, em três dias diferentes. Para avaliar a precisão do método, calculou-se o desvio padrão relativo (CV%) entre as concentrações obtidas. A exatidão, por sua vez, foi verificada por meio de análise da proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor teórico, sendo calculada utilizando a equação 1:

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

#### 4.2.1.1.3. Limites de Quantificação (LQ) e Detecção (LD)

Os LQ e LD foram avaliados pela determinação de concentrações decrescentes (20 a 1 ng/mL) do CARV dissolvido em metanol:KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 50mM (60:40 v/v, pH 4,0). Cada concentração foi avaliada em quintuplicata. O LQ foi estabelecido como sendo a menor concentração em que o desvio padrão relativo (CV%) e a exatidão foram menores que  $\pm 5\%$ . O LD foi estabelecido como sendo a concentração mais baixa detectada.

#### 4.2.1.1.4. Seletividade

Para a avaliação de possível interferência dos adjuvantes lipídicos supracitados (ver lista de material, seção 4.1) na determinação do CARV, 400mg de cada adjuvante foram, separadamente, misturados em 50 mL de metanol. O material foi então levado a banho de ultrassom por 20 minutos, seguido de repouso por 30 minutos. Em seguida, as misturas foram filtradas em filtros de PVDF de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millex<sup>®</sup>, Millipore, Alemanha), o sobrenadante foi diluído em fase móvel (20:80, v/v), e analisado sob as mesmas condições cromatográficas descritas para o CARV, na seção 4.2.1.1.

Adicionalmente, amostras dos mesmos adjuvantes (400 mg), foram acondicionadas em frascos de vidro transparente com tampa rosqueável e mantidas à 50 °C por até 15 dias. No tempo zero e após 14 dias de armazenamento, os

lipídeos foram submetidos aos mesmos processos de extração em metanol e em seguida foram avaliados por CLAE, como descrito acima. Para os óleos foi estudada a cinética de degradação, cujas amostras foram avaliadas nos tempos 0, 1, 3, 7, 10 e 15 dias. Adicionalmente, a presença de interferentes dos óleos de rícino e óleo de rícino polietoxilado submetidos às temperaturas de 40 e 60 °C também foi avaliada.

Cada óleo foi ainda submetido a elevada temperatura (acima de 300 °C) por tempo suficiente para garantir a degradação térmica dos mesmos. Os produtos de degradação foram avaliados sob as mesmas condições cromatográficas para verificar a possível presença de interferentes no tempo de retenção do CARV. O CARV também foi degradado em temperatura elevada e seus produtos de degradação foram avaliados.

O ensaio de interferentes foi realizado com cada amostra em triplicata.

#### **4.2.1.2. Quantificação do carvedilol por espectrofotometria**

As formulações e as amostras oriundas dos estudos de dissolução *in vitro* foram analisadas em espectrofotômetro UV-VIS (Cary 50 – Varian, EUA) a 241 nm para quantificação do CARV. Para isto, as amostras foram extraídas e/ou diluídas em metanol, ácido clorídrico 0,1N ou tampão fosfato de potássio 0,4M. O método espectrofotométrico foi validado segundo os parâmetros de linearidade, LQ e LD, e interferentes da formulação.

Para o ensaio de linearidade foram preparadas curvas analíticas nas concentrações de 0,2 a 6 µg/mL, nos três diluentes (metanol, HCl 0,1N e tampão 0,4M). Para os ensaios de LQ e LD foram preparadas soluções com concentrações decrescentes nos três solventes e a absorbância. Para a avaliação da seletividade, foram preparados termoextrusados brancos (sem CARV), e os mesmos passaram por processo de extração por 30 min, em metanol, em banho de ultrassom. Após a extração, o material ficou em repouso por 20 minutos e o sobrenadante foi filtrado, devidamente diluído e analisado em espectrofotômetro a 241 nm. O processo de extração foi previamente validado usando termoextrusados com concentração conhecida de fármaco, e apresentou recuperação de 96,10 % ± 0,80 %.

## 4.2.2. Escolha dos adjuvantes

### 4.2.2.1. Solubilidade do carvedilol nos óleos

A solubilidade do CARV foi avaliada apenas nos óleos triglicéridos e foi determinada utilizando o método de solubilidade em equilíbrio. Excesso do fármaco foi adicionado em tubos de vidro com tampa rosqueável contendo os diferentes óleos. Cada mistura foi homogeneizada em agitador do tipo vórtex (AP 56 Phoenix, SP, Brasil) e em seguida foram submetidas à agitação durante 72 h em agitador orbital (KS 4000, IKA<sup>®</sup>, Alemanha) mantido a  $37 \pm 1$  °C. Depois desse período, as amostras foram filtradas através de um filtro de membrana de PVDF de 0,45 µm (Millex<sup>®</sup>, Millipore, Alemanha). Misturou-se uma alíquota do filtrado com metanol, a qual foi submetida a ultrassom em banho de lavagem (USC-2899A, Unique, Brasil) por 30 minutos. As amostras foram então centrifugadas (Sigma 3-18k SciQuip, UK) a 5000 rpm durante 15 min, em seguida o sobrenadante foi apropriadamente diluído com fase móvel e quantificado por CLAE, como descrito na seção 4.2.1.1. O experimento foi realizado em triplicata. O procedimento de extração do fármaco a partir dos óleos foi previamente validado e a recuperação do CARV foi de  $94,97\% \pm 1,28\%$ . A avaliação da solubilidade não foi realizada nos lipídeos líquidos, sólidos e semissólidos.

### 4.2.2.2. Análise Térmica (DSC, DTA e TGA/DTG)

As análises de TGA/DTG e DTA foram realizadas usando-se termobalança Shimadzu DTG-60, sob atmosfera de nitrogênio, com fluxo de 50 mL/min. De cinco a sete miligramas de cada amostra foram adicionados em cadinhos de platina e aquecidos a uma taxa de 10 °C/min, partindo da temperatura de 25 até 500 °C. Os testes foram realizados com o fármaco puro, lipídeos líquidos, sólidos e semissólidos e com os óleos, individualmente. As análises também foram realizadas com as misturas binárias (1:1 p/p) dos lipídeos com o fármaco. As misturas foram preparadas por homogeneização em vórtex durante 2 minutos. As curvas TG/DTG e DTA foram exportadas a partir *software* TW60S da Shimadzu, e plotadas no *software* Origin<sup>®</sup> Pro8. Em particular, a mistura binária CARV-ácido láurico (1:1, p/p)

foi submetida à análise térmica, em intervalos de tempos pré-determinados (0, 2, 4, 8 e 24 horas), sob as mesmas condições descritas acima.

O CARV, os óleos e suas misturas binárias (1:1, p/p) foram adicionalmente submetidas à calorimetria exploratória diferencial (DSC), usando um analisador DSC-60 (Shimadzu<sup>®</sup>, Japão). Cerca de 5 mg das amostras foram colocadas em cadinhos de alumínio hermeticamente selados, os quais foram aquecidos na faixa entre 25 a 300 °C a uma taxa de aquecimento de 10 °C/min. As análises foram realizadas sob atmosfera de nitrogênio (50 mL/min) e sob ar sintético (50 mL/min).

#### **4.2.2.3. Espectroscopia no Infravermelho com transformada de Fourier**

O CARV, lipídeos e óleos isolados, assim como as misturas fármaco-lipídeo ou fármaco-óleos foram submetidos à análise espectroscópica em espectrofotômetro de infravermelho (Varian 640-IR, EUA), na faixa de comprimento de onda entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução óptica de 4  $\text{cm}^{-1}$  e usando acessório de imagem ATR (reflectância total atenuada). No caso das misturas entre o CARV e os lipídeos sólidos (1:1, p/p), as amostras foram analisadas antes (tempo zero) e após o teste de estresse térmico (50 °C por 14 dias, seção 4.2.2.4). Em particular, a mistura binária CARV-ácido láurico (1:1, p/p), foi avaliada em intervalos de tempos pré-determinados (0, 2, 4, 8 e 24 horas), sob as mesmas condições descritas acima.

No caso dos óleos, foram preparadas soluções de CARV nestes (0,5 mg/mL), as quais também foram analisadas logo após seu preparo ou ao final do teste de estresse isotérmico (conforme descrito acima). Os espectros de ATR-FT-IR foram exportados e plotados em *software* Origin<sup>®</sup> Pro8.

#### **4.2.2.4. Teste de estresse isotérmico do carvedilol nas misturas com diferentes lipídeos**

O CARV e cada lipídeo selecionado (óleos triglicerídeos, lipídeos líquidos, sólidos e semissólidos) foram precisamente pesados (25 mg) e transferidos para frascos de vidro de 5mL. As misturas foram homogeneizadas por 2 minutos em vórtex. Os frascos fechados, contendo a mistura binária fármaco-lipídeo, foram armazenados em estufa 420 CLD (Ethik technology<sup>®</sup>, Brasil) a  $40 \pm 1$  °C e  $50 \pm 1$  °C,

por período de 14 dias. O CARV puro também foi colocado sob as mesmas condições. Os experimentos foram realizados em triplicata.

Após 14 dias, o material foi retirado dos frascos com auxílio de metanol e quantitativamente transferido para balão volumétrico de 50 mL. O volume foi então completado com metanol. O material foi levado ao banho de ultrassom por 30 minutos e, em seguida, deixado em repouso por mais 30 minutos. Logo após esse período, 25 µL da solução resultante foram transferidos para balão de 25 mL, completou-se o volume com diluente (fase móvel). O material foi então analisado por CLAE como descrito na seção 4.2.1.1.

#### **4.2.2.5. Cinética de degradação do carvedilol nos diferentes óleos**

Para os estudos de estabilidade acelerada, o CARV, os óleos puros ou uma solução de 0,5 mg/mL do CARV nos diferentes óleos foram colocados em frascos de vidro com tampa rosqueável. Os frascos foram então armazenados em estufa (420 CLD Ethik technology®, Brasil) a  $50 \pm 1$  °C por 15 dias. Amostras foram coletadas em tempos pré-determinados (0, 1, 3, 7, 10 e 15 dias) e após extração foram quantificadas utilizando o método cromatográfico descrito na seção 4.2.1.1. O processo de extração do CARV a partir dos óleos seguiu o mesmo protocolo como descrito na seção 4.2.2.1. Os parâmetros cinéticos da degradação do CARV em diferentes soluções oleosas foram calculados a partir dos dados obtidos. Além disso, as soluções do CARV nos óleos de rícino e óleo de rícino polietoxilado também foram armazenadas a  $40 \pm 1$  °C e  $60 \pm 1$  °C por 15 dias. Um diagrama de Arrhenius foi então preparado por regressão linear e a energia de ativação foi determinada.

#### **4.2.2.6. Microscopia óptica**

As características morfológicas da mistura binária (1:1, p/p) CARV-ácido láurico, foram avaliadas, em tempos pré-determinados (0, 2, 4, 8 e 24 horas) em estereomicroscópio Leica MZ6 conectado à uma câmara digital Leica EC3 e a uma fonte de luz fria Leica L2 (Leica Microsystems, German). As fotomicrografias foram feitas com aumento de 0,63x e 1,00x.

### 4.2.3. Preparo e caracterização dos SMEDDS líquidos (L-SMEDDS)

#### 4.2.3.1. Preparo dos L-SMEDDS e construção do diagrama de fases ternário

Para o preparo dos L-SMEDDS foi utilizado o protocolo descrito por Inugala e colaboradores (2015), com algumas adaptações. Inicialmente foi preparada uma série de L-SMEDDS sem fármaco utilizando diferentes proporções (p/p) dos triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico, Pluroi<sup>®</sup> isosteárico e Transcutol<sup>®</sup> HP, usados como óleo, tensoativo e cotensoativo, respectivamente (Tabela 4). Os materiais foram pesados e acondicionados em frascos de vidro com tampa rosqueável, os quais foram agitados em agitador magnético com aquecimento (IKA<sup>®</sup>, Alemanha) a 37 °C, até a obtenção de uma mistura homogênea e límpida.

As misturas autoemulsionáveis foram preparadas em diferentes proporções (Tabela 4). Duzentos microlitros de cada formulação (L1 a L15) foram gotejados em 300 mL de água em um béquer de vidro, sob agitação magnética (100 rpm) a 37 °C. Após 5 min de agitação, as características do sistema foram avaliadas visualmente quanto a transparência, ausência de separação de fases e tempo de dispersão. As formulações que deram origem a dispersões límpidas, uniformes e que foram rapidamente formadas foram classificadas como grupo A. Em alguns casos, foi necessário inserir uma etapa adicional de agitação em vórtex, por 60s, devido a presença, após 5 minutos de agitação magnética, de pequenas partículas, sendo estes sistemas classificados como grupo B. Após a etapa de agitação cada sistema foi analisado quanto ao diâmetro médio e o Pdl pela técnica de espalhamento dinâmico de luz (Nano S, Malvern Instruments Ltd., Reino Unido). Todas as medidas foram realizadas em triplicata.

Tabela 4. Composição dos sistemas automicroemulsionáveis líquidos (% p/p).

| Composição | Proporção (p/p) dos L-SMEDDS |      |      |     |      |      |      |      |     |      |      |      |      |      |      |
|------------|------------------------------|------|------|-----|------|------|------|------|-----|------|------|------|------|------|------|
|            | L1                           | L2   | L3   | L4  | L5   | L6   | L7   | L8   | L9  | L10  | L11  | L12  | L13  | L14  | L15  |
| T/Ct       | 1:1                          | 1:1  | 1:1  | 1:1 | 1:1  | 3:1  | 3:1  | 3:1  | 3:1 | 3:1  | 5:1  | 5:1  | 5:1  | 5:1  | 5:1  |
| O/T-Ct     | 1:1                          | 1:2  | 1:3  | 1:4 | 1:5  | 1:1  | 1:2  | 1:3  | 1:4 | 1:5  | 1:1  | 1:2  | 1:3  | 1:4  | 1:5  |
| O (%)      | 50                           | 33,3 | 25   | 20  | 16,6 | 50   | 33,3 | 25   | 20  | 16,6 | 50   | 33,3 | 25   | 20   | 16,6 |
| T (%)      | 25                           | 33,3 | 37,5 | 40  | 41,7 | 37,5 | 50   | 56,3 | 60  | 62,6 | 41,7 | 55,6 | 62,5 | 66,6 | 69,5 |
| Ct (%)     | 25                           | 33,3 | 37,5 | 40  | 41,7 | 12,5 | 16,7 | 18,7 | 20  | 20,8 | 8,3  | 11,1 | 12,5 | 13,3 | 13,9 |

O = óleo, T = tensoativo e Ct = co-tensoativo.

#### **4.2.3.2. Caracterização dos L-SMEDDS do sistema selecionado (L6)**

A formulação que apresentou as melhores propriedades de autoemulsificação, tamanho e Pdl, (formulação L6, Tabela 4), foi utilizada para o preparo de L-SMEDDS contendo CARV. Inicialmente foi avaliada a solubilidade do CARV neste sistema, para tanto foram adicionadas quantidades crescentes do fármaco (de 5 em 5 mg), e a mistura foi então agitada à  $37 \pm 1$  °C e avaliada visualmente quanto ao seu aspecto (n=3). Em seguida, para avaliar o efeito da incorporação do fármaco nos parâmetros dos L-SMEDDS, foram adicionados 20 mg de CARV ao sistema L6, a  $37 \pm 1$  °C, e após diluição em água o mesmo foi caracterizado quanto ao aspecto visual, à ocorrência de precipitação do fármaco, ao tamanho de gotícula, Pdl, potencial zeta e transmitância. A ocorrência de precipitação do fármaco foi avaliada visualmente. As amostras foram diluídas (1:10) em tampão fosfato pH 6,8 para determinar suas propriedades de tamanho médio e Pdl, por espalhamento dinâmico de luz (Nano S, Malvern, Reino Unido) e para determinar o potencial zeta, em equipamento ZetaPlus (Brookhaven, EUA). Os sistemas foram previamente centrifugados (Sigma 3-18k, SciQuip, Reino Unido), a 3000 g durante 5 minutos, filtrados em filtro de membrana de PVDF de 0,45 µm (Millex<sup>®</sup>, Millipore Corporation, Alemanha) e avaliados espectrofotometricamente a 850 nm (Varian Cary<sup>®</sup> 50 UV-Vis, EUA), para determinação de sua transmitância e caracterização dos parâmetros físicos. O sistema selecionado (L6) sem o fármaco (L-SMEDDS branco) também foi avaliado quanto aos parâmetros de tamanho de gotícula, Pdl, potencial zeta e transmitância.

#### **4.2.4. Preparo e caracterização dos SMEDDS sólidos (S-SMEDDS)**

##### **4.2.4.1. Preparo dos S-SMEDDS pela técnica de termoextrusão e planejamento experimental**

O concentrado automicroemulsionável (20%, p/p) previamente selecionado e caracterizado, foi misturado, com auxílio de gral e pistilo, ao CARV (2 a 5%, p/p, Tabela 5), seguido dos adjuvantes dióxido de silício coloidal (2%, p/p), celulose microcristalina (30 a 33%, p/p), mistura HPMCAS/HPC (41%, p/p) e, por fim, ao talco

(2%, p/p). A mistura HPMCAS/HPC foi previamente preparada na proporção 8:2 (p/p) para todas as formulações. Para cada componente adicionado a mistura foi homogeneizada por 2 minutos, com um tempo de mistura total de 10 minutos.

Um planejamento do tipo BBD com três fatores e três níveis foi empregado para determinar o efeito das variáveis de formulação e de processo usando o software Statistica versão 7. O tempo de recirculação ( $X_1$ ), temperatura ( $X_2$ ) e concentração de CARV ( $X_3$ ) foram selecionados como variáveis independentes e as respostas do planejamento foram a liberação do CARV (em 120 min, HCl 0,1 M, e em 300 min, tampão fosfato pH 6,8), a eficiência de reconstituição da microemulsão e o tamanho das gotículas redispersas (Tabela 5). Estudos preliminares foram realizados para definir experimentalmente os níveis das variáveis independentes (dados não mostrados). Os níveis selecionados estão apresentados na Tabela 5.

As quinze formulações obtidas a partir das combinações dos três fatores, incluindo três pontos centrais, foram preparadas de acordo com o acima descrito e nas condições experimentais apresentadas na Tabela 5. Os resultados obtidos para cada resposta foram ajustados a um modelo polinomial quadrático apresentado pela Eq. 2:

$$y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_4 X_1 X_2 + \beta_5 X_2 X_3 + \beta_6 X_3 X_1 + \beta_7 X_1^2 + \beta_8 X_2^2 + \beta_9 X_3^2$$

Equação 2

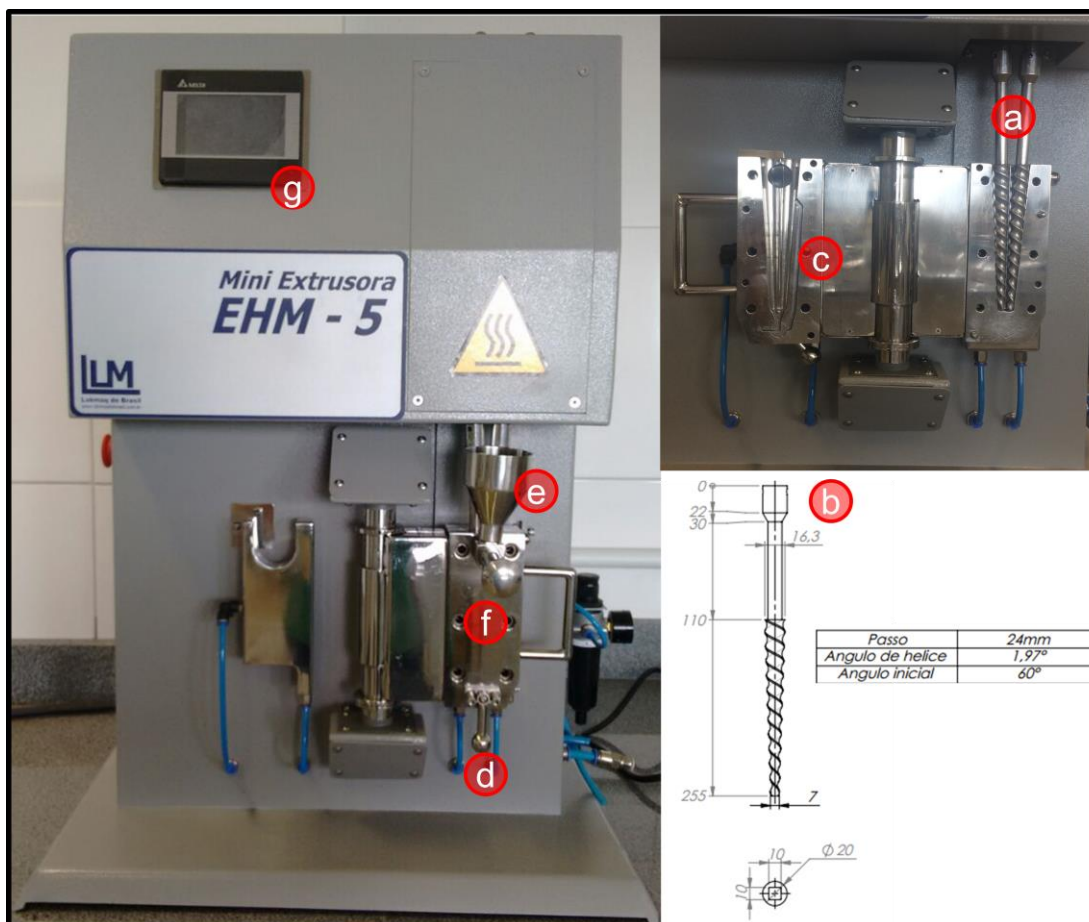
onde,  $y$  é a resposta associada a cada combinação de nível das variáveis independentes;  $\beta_0$  é a constante que representa a média aritmética de todos os resultados;  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  e  $\beta_3$  são coeficientes lineares calculados a partir das respostas das variáveis  $X_1$ ,  $X_2$  e  $X_3$ ;  $\beta_4$ ,  $\beta_5$ ,  $\beta_6$  são coeficientes de interação entre duas variáveis, e  $\beta_7$ ,  $\beta_8$ ,  $\beta_9$  são seus coeficientes quadráticos. Análise estatística (ANOVA) e os gráficos tridimensionais de superfície de resposta foram gerados. Os efeitos das variáveis foram considerados significativos quando os valores de  $p$  foram menores que 0,05.

Tabela 5. Condições experimentais e variáveis dependentes e independentes do planejamento fatorial do tipo Box-Behnken com três fatores, a três níveis.

| Variáveis independentes               | Símbolos | Níveis                           |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|---------------------------------------|----------|----------------------------------|-----------------|-----------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
|                                       |          | -1                               | 0               | +1              |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Tempo de recirculação (min)           | X1       | 2                                | 3,5             | 5               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Temperatura do processo (°C)          | X2       | 100/110/120/120                  | 110/120/130/130 | 120/130/140/140 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Concentração do CARV (%)              | X3       | 2                                | 3,5             | 5               |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Variáveis dependentes                 | Símbolos | Respostas esperadas              |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| % dissolvida em HCl                   | Y1       | Reduzida dissolução              |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| % dissolvida em TFP                   | Y2       | Rápida e completa dissolução     |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Eficiência de reconstituição (%)      | Y3       | Rápida e completa reconstituição |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Tamanho de partícula (nm)             | Y4       | Tamanho reduzido (aprox. 140 nm) |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Formulações (condições experimentais) |          |                                  |                 |                 |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Variáveis independentes               | F1       | F2                               | F3              | F4              | F5  | F6  | F7  | F8  | F9  | F10 | F11 | F12 | F13 | F14 | F15 |
| Tempo de recirculação (min)           | 5        | 3,5                              | 3,5             | 5               | 3,5 | 2   | 5   | 3,5 | 2   | 2   | 5   | 2   | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| Temperatura do processo (°C)          | 110      | 110                              | 120             | 120             | 120 | 100 | 110 | 100 | 110 | 120 | 100 | 110 | 110 | 100 | 110 |
| Concentração do CARV (%)              | 2        | 3,5                              | 2               | 3,5             | 5   | 3,5 | 5   | 5   | 2   | 3,5 | 3,5 | 5   | 3,5 | 2   | 3,5 |

As misturas foram processadas em uma termoextrusora de rosca dupla modelo EHM-5 (Labmaq de Brasil Ltd., Brasil). As diferentes partes da termoextrusora estão apresentadas na Figura 5. Trata-se de uma termoextrusora vertical com roscas operando em modo de co-rotação. O comprimento das roscas é de 255 mm e a relação comprimento/diâmetro (L/D) é de 16. O ângulo da hélice é de  $1,97^\circ$  e o passo é de 24 mm (Fig. 5a e 5b). No bloco extrusor há um sistema de circulação do material (Fig. 5c), tornando possível a recirculação da massa fundida. Dessa forma, esse modelo permite trabalhar em modo contínuo ou em batelada (Fig. 5d). A termoextrusão foi realizada pela adição, no bloco extrusor, de 7,5 g das misturas, utilizando para tanto um dispositivo de alimentação (Fig. 5e). O bloco extrusor (Fig. 5f) é dividido em quatro diferentes regiões, três das quais tem controle independente de temperatura, as quais são controladas e monitoradas por um painel central (Fig. 5g). A programação de aquecimento utilizada neste trabalho para o desenvolvimento dos S-SMEDDS termoextrusados foi de 100/110/120/120 °C, 110/120/130/130 °C ou 120/130/140/140 °C, como apresentado na Tabela 6. A velocidade de rotação das roscas foi ajustada para 150 rpm e o material foi processado em batelada, com circulação da massa por dois a cinco minutos (Tabela 5). Os S-SMEDDS termoextrusados foram resfriados à temperatura ambiente e cortados manualmente, com auxílio de bisturi, em pequenos grânulos. O tamanho dos S-SMEDDS termoextrusados foi determinado por tamisação (L3P sonic sifter separator sieve, U.S. Standard Series), utilizando um conjunto de tamises com abertura de malha na faixa entre 2000 a 200  $\mu\text{m}$ . Para os estudos posteriores de caracterização foram usados apenas as frações dos S-SMEDDS termoextrusados que ficaram retidos nos tamises de malha entre 1000 a 2000  $\mu\text{m}$ . Os termoextrusados selecionados foram armazenados a  $-20^\circ\text{C}$  até posterior uso.

Figura 5. Mini-extrusora vertical EHM-5 (Labmaq do Brasil).



Fonte: próprio autor. (a) roscas extrusoras (b) detalhe das roscas; (c) sistema de recirculação; (d) válvula controladora da abertura do sistema; (e) funil de alimentação; (f) bloco extrusor e (g) painel controlador.

#### 4.2.4.2. Morfologia do S-SMEDDS termoextrusados cortados

As características morfológicas dos S-SMEDDS termoextrusados, cortados ou não, foram analisadas utilizando um estereomicroscópio Leica MZ 6 equipado com uma câmara Leica EC 3 e luz fria Leica L2 (Alemanha), com ampliação de 0,63x. As superfícies externas e a seção transversal dos S-SMEDDS termoextrusados cortados também foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV). As fotomicrografias no MEV foram obtidas em um microscópio JEOL JSM 6610 (Thermo Scientific, Waltham, Massachusetts, EUA). Para tanto, os termoextrusados cortados foram revestidos previamente com ouro, utilizando um revestidor Sputter Desk V (Denton Vacuum, EUA) e em seguida examinados em diferentes aumentos.

### **4.2.4.3. Caracterização do estado físico do carvedilol nas misturas físicas e nos S-SMEDDS termoextrusados**

#### *4.2.4.3.1. DSC*

O estado físico do CARV nas misturas físicas e nos S-SMEDDS termoextrusados foi avaliado por calorimetria exploratória diferencial em um equipamento DSC-60 PLUS (Shimadzu, Japão). Cerca de 5 mg de CARV, da mistura física deste com os adjuvantes e dos termoextrusados pulverizados foram acondicionadas em cadinhos de alumínio herméticos e selados. Todas as amostras foram analisadas sob uma taxa de aquecimento de 10 °C/min, na faixa entre 25 a 300 °C, sob atmosfera de argônio (100 mL/min).

#### *4.2.4.3.2. Difração de Raios-X de pó (DRXP)*

Para a análise de difração de raios X de pó, os termoextrusados foram previamente triturados em gral e pistilo de porcelana. As misturas físicas e os termoextrusados triturados foram então adicionados em porta amostra de vidro. Em seguida, as amostras foram expostas ao feixe de raios X utilizando um difratômetro Shimadzu XRD-6000 (Japão). Uma corrente de 30 mA foi gerada sob tensão de 40 kV e a radiação foi proveniente de um ânodo de cobre ( $\text{CuK}\alpha$ ,  $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$ ). Os difratogramas foram obtidos à temperatura ambiente ( $25 \text{ °C} \pm 1$ ) sob varredura contínua (eixo de varredura  $\theta$ - $2\theta$ ) e com velocidade de varredura de  $1,000^\circ/\text{min}$ . Dados de intensidade foram medidos a cada  $0,020^\circ$  em intervalo de detecção compreendido entre  $5$  e  $40^\circ$  em  $2\theta$ .

### **4.2.4.4. Estudo de liberação in vitro**

Inicialmente o teor de CARV nos termoextrusados e nas misturas físicas foi determinado. Para isso, colocou-se 175 mg de cada amostra em balão volumétrico de 50 mL e o fármaco foi extraído, com metanol, da matriz usando banho de ultrassom USC-2899A (Unique, Brasil) durante 30 minutos. Em seguida o material foi mantido em repouso por mais 30 minutos. Logo após esse período, as amostras foram filtradas em filtros de PVDF de  $0,45 \mu\text{m}$  (Milex<sup>®</sup>, Millipore Corporation,

Alemanha) e uma alíquota do sobrenadante foi diluída apropriadamente com metanol. A quantidade de CARV em cada amostra foi avaliada em espectrofotômetro UV-Vis Cary 50 (Varian, EUA) a 241 nm. A determinação do teor foi realizada em triplicata. O procedimento de extração foi previamente validado e a recuperação do CARV foi de  $101,09\% \pm 1,30$ .

Os ensaios de liberação *in vitro* foram realizados seguindo o protocolo descrito por Zecevic e colaboradores (2014), com algumas adaptações. Os ensaios foram realizados usando o aparato II da Farmacopeia Norte-Americana, a 37 °C e com velocidade de rotação das pás de 100 rpm, durante tempo total de 5 h. Os testes foram conduzidos utilizando método de mudança de pH. No início do experimento (2h) foi adicionado às cubas 375 mL de uma solução de ácido clorídrico pH 1,2 (HCl 0,1 M). Após esse tempo, foram adicionados 215 mL de solução de hidróxido de potássio 0,2 M e 310 mL de tampão fosfato de potássio 0,4 M (TFP). O pH final foi de 6,8 e o volume final foi de 900 mL. Foram adicionados 175 mg de cada uma das quinze formulações de termoextrusados (F1 a F15, Tabela 6), correspondendo a 3,5, 6,125 ou 8,75 mg de CARV, em cada cuba. Os ensaios foram realizados em dissolutor VK 7000 (VARIAN, Palo Alto, Califórnia, EUA). Alíquotas do meio foram retiradas em intervalos de tempo predeterminados, filtradas em filtros de PVDF de 0,45 µm e analisadas em espectrofotômetro Cary 50 UV-VIS (Varian, EUA) a 241 nm, sob condição *sink* (n=3). Os resultados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão da porcentagem dissolvida em cada tempo de amostragem. Análise estatística foi realizada para os tempos de 120 min (0,1 N HCl) e 300 min (TFP 0,4 M) usando o software GraphPad Prism 5 (La Jolla, CA, EUA). As diferenças estatísticas foram determinadas usando ANOVA seguida pelo teste de Tukey com comparação múltipla, com  $p < 0,05$  como nível mínimo de significância.

#### **4.2.4.5. Avaliação da eficiência de reconstituição da microemulsão a partir dos termoextrusados**

A eficiência de reconstituição da microemulsão a partir dos termoextrusados foi avaliada pela adição das amostras sólidas (1 g das formulações F1 a F15, correspondentes a 0,2 g do L-SMEDDS), em béquer de vidro contendo tampão fosfato de potássio 0.4M, pH 6,8, mantidos sob agitação magnética (100 rpm) a 37 °C, por um período de 3h. Foram retirados cinco mililitros do meio em diferentes

intervalos de tempo (15, 30, 60, 120 e 180 min), os quais foram centrifugados (Sigma 3-18k SciQuip, Reino Unido) durante 5 min a 3000 g e, em seguida, foram filtrados em filtro de PVDF de 0,45 µm para a retirada de sólidos insolúveis. As amostras foram então transferidas para cubetas de quartzo e analisadas em espectrofotômetro Cary 50 UV-VIS (Varian, EUA) a 850 nm, para determinação da transmitância (T%) do meio. Após a medida, as amostras foram colocadas novamente no béquer de vidro contendo o meio de reconstituição. A eficiência de reconstituição (ER%) foi calculada pela Eq. 3.

$$ER\% = \frac{(\%T_{SS} - \%T_B) \times 100}{\%T_{SL} - \%T_B} \quad \text{Equação 3}$$

sendo que,  $T_{ss}$  é % de transmitância do meio reconstituído,  $T_B$  é % de transmitância do meio tampão, e  $T_{SL}$  é % de transmitância do L-SMEEDS.

O tamanho e o Pdl das gotículas da microemulsão reconstituída também foram avaliados pela técnica de espalhamento dinâmico da luz, após diluição (1:10 v/v) com tampão. Os experimentos foram realizados em triplicata e os resultados foram expressos como média ± DP. A análise estatística no planejamento fatorial foi realizada com os valores de transmitância em 300 min, usando o software GraphPad Prism 5 (La Jolla, CA, EUA). As diferenças estatísticas foram determinadas usando ANOVA seguida pelo teste de Tukey com comparação múltipla, com  $p < 0,05$  como nível mínimo de significância.

## 5 ANEXOS

O estudo de compatibilidade dos adjuvantes lipídicos com o CARV deu origem a um artigo científico publicado na revista *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, intitulado “*Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems*” (Anexo 1).

Primeira versão disponível online em 19/09/2015

DOI: 10.1007/s10973-015-5022-1

Os resultados do estudo de interação do CARV com os diferentes óleos foram agrupados em um manuscrito intitulado “*Selection of Excipients for the Development of Carvedilol Loaded Lipid-Based Drug Delivery Systems*” (Anexo 2), e o mesmo foi publicado no periódico *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*.

Primeira versão disponível online em 07/04/17

DOI: 10.1007/s10973-017-6380-7

Os resultados referentes ao desenvolvimento e caracterização dos sistemas automicroemulsionáveis sólidos preparados pela técnica de termoextrusão foram escritos na forma de artigo científico intitulado “*Preparation of a solid self-microemulsifying drug delivery system by hot-melt extrusion*” (Anexo 3), e publicado na revista *International Journal of Pharmaceutics*.

Primeira versão disponível online em 16/02/18

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.020>



## Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems

Luís Antônio Dantas Silva<sup>1</sup> · Fernanda Vieira Teixeira<sup>1</sup> · Raphael Caixeta Serpa<sup>1</sup> ·  
 Najla Locatelli Esteves<sup>1</sup> · Rayane Ramos dos Santos<sup>1</sup> · Eliana Martins Lima<sup>1</sup> ·  
 Marcílio Sérgio Soares da Cunha-Filho<sup>2</sup> · Adriano Antunes de Souza Araújo<sup>3</sup> ·  
 Stéphânia Fleury Taveira<sup>1</sup> · Ricardo Neves Marreto<sup>1,4</sup>

Received: 26 May 2015 / Accepted: 30 August 2015 / Published online: 19 September 2015  
 © Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2015

**Abstract** Carvedilol (CARV) is a widely used non-selective  $\beta$ -blocker, which has shown low bioavailability after oral administration (20 %) due to its low water solubility and intense first-pass metabolism. Lipid-based drug delivery systems have been proposed to improve CARV oral bioavailability. An evaluation of drug–excipient compatibility is needed to clarify potential physical and chemical interactions between them and therefore guarantee a correct selection of excipients. However, to date there are no reports on the systematic evaluation of CARV–lipid excipient compatibility. Thus, the aim of this study was to evaluate the compatibility of CARV with the lipid excipients commonly used for the development of lipid-based formulations. Thermal analysis techniques (DTA and TG/DTG), Fourier transform infrared spectroscopy and isothermal stress testing (IST) were used for this purpose. The results of this study showed that 4 of the 10 lipid excipients studied were incompatible with CARV. The strongest thermal and spectroscopic modifications were observed in CARV mixtures with oleic acid, lauric acid, lauroyl polyoxyglycerides (Gelucire<sup>®</sup> 44/14) and glyceryl caprylate/caprate (Capmul<sup>®</sup>

MCM). In addition, these mixtures resulted in significant decreases in drug content after aging. On the other hand, palmitic acid, stearic acid, glyceryl behenate (Compritol ATO<sup>®</sup> 188), tribeheninPEG (Emulium<sup>®</sup> 22), polyglyceryl-6-isostearate (Plurol Isostearique<sup>®</sup>) and diethylene glycol monoethyl ether (Transcutol HP<sup>®</sup>) were considered good candidates for developing self-emulsifying drug delivery systems and for preparing lipid microparticle or nanoparticle containing CARV. These findings denote the relevance of combining thermal and spectroscopic techniques with thermal stress testing for the accurate determination of drug–lipid excipient compatibility.

**Keywords** Carvedilol · Compatibility · Lipid excipients · Thermal analysis · Isothermal stress testing

### Introduction

Carvedilol (CARV), chemically known as 1-carbazol-4-yloxy-3-[2-(2-methoxyphenoxy)ethylamino]propan-2-ol is a non-selective  $\beta$ -blocker that has been extensively used for the treatment of congestive heart failure, hypertension and myocardial infarction [1–3]. CARV is a poorly water-soluble active pharmaceutical ingredient (API) and undergoes significant first-pass metabolism [4]. In addition, it is a substrate of the P-glycoprotein, which is present in the enterocyte membrane [4–6]. All these factors together contribute to CARV poor oral bioavailability (20 %) [3, 6].

Several process and formulation strategies have been proposed to improve the dissolution rate, solubility and bioavailability of poorly water-soluble APIs [3, 4, 6–10]. The administration of lipid-based drug delivery systems can dramatically improve the oral bioavailability of the API [3, 6, 7, 11–13], since lipids can increase pancreatic

✉ Ricardo Neves Marreto  
 ricardomarreto@ufg.br

<sup>1</sup> Laboratory of Pharmaceutical Technology, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

<sup>2</sup> Laboratory of Food, Drug and Cosmetics (LTMAC), School of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, DF 70910-900, Brazil

<sup>3</sup> Department of Pharmacy, Federal University of Sergipe, São Cristóvão, SE, Brazil

<sup>4</sup> Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás (UFG), Avenida Universitária, Setor Universitário, s/n, Goiânia, GO 74605-220, Brazil



## Selection of excipients for the development of carvedilol loaded lipid-based drug delivery systems

Luís Antônio Dantas Silva<sup>1</sup> · Emílio Ramos Cintra<sup>1</sup> · Ellen Cristine Pineze Alonso<sup>1</sup> ·  
Guilherme Liberato Alves<sup>1</sup> · Eliana Martins Lima<sup>1</sup> · Stephânia Fleury Taveira<sup>1</sup> ·  
Marcílio Sérgio Soares da Cunha-Filho<sup>2</sup> · Ricardo Neves Marreto<sup>1</sup>

Received: 11 December 2016 / Accepted: 30 March 2017  
© Akadémiai Kiadó, Budapest, Hungary 2017

**Abstract** Carvedilol (CARV) is a widely used drug, which has shown low oral bioavailability. Lipid-based drug delivery systems (LBDDS) appear as promising alternatives to overcome CARV pharmacokinetic issues. Despite the pharmaceutical potential of LBDDS, the lipids used in these systems present stability issues and their use demands caution. This study set out to evaluate different lipid vehicles for CARV in terms of their ability to dissolve the drug and preserve its stability in LBDDS. The CARV solubility was determined in nine commonly used lipid excipients. Thermal and spectroscopic analysis (DSC, TG, FTIR), and accelerated stability studies were used to characterize drug-excipient interaction. CARV has highest solubility in polyethoxylated castor oil (PcasO), castor oil (CasO) and caprylic/capric triglycerides (CCT), ranging from 70 to 4 mg mL<sup>-1</sup>. DSC and FTIR analyses showed evidence of drug-oil interaction. TG results gained in inert and oxidative atmosphere showed that these interactions lead to a drug stability loss at temperatures above 300 °C, especially in binary mixtures of CARV with CCT, sesame oil (SesO) and CasO. On the other hand, in accelerated stability studies performed at 50 °C, CARV solutions in CCT and SesO were the most stable systems. The results of this study showed that CARV had high solubility and

stability in PcasO. This means that PcasO is suitable for systems demanding high drug concentration and which are produced at high temperatures. On the other hand, SesO and CCT can give rise to less concentrated systems which can be stable when produced at low temperatures.

**Keywords** Carvedilol · Vegetable oils · Solubility determination · Compatibility assay · Accelerated stability study

### Introduction

Carvedilol (CARV), chemically known as ((2RS)-1-(9H-carbazol-4-yloxy)-3-[[2-(2-methoxyphenoxy) ethyl] amino] propan-2-ol) [1], is a non-selective  $\beta$ -blocker used in the treatment of certain cardiovascular diseases [2–4]. It is a poorly water-soluble drug [5], which undergoes extensive hepatic and intestinal metabolism. In addition, it is a substrate for membrane efflux proteins, such as P-glycoprotein [6, 7]. These factors together contribute to CARV low oral bioavailability (around 20%) [8].

Lipid-based drug delivery systems (LBDDS) have emerged as effective carriers for poorly water-soluble drugs in oral drug delivery [9–11], as they can promote micellar solubilization and inhibit efflux transporters and intestinal enzymes [11]. LBDDS can also increase drug permeability through the cellular membrane, and stimulate lymphatic transport. This latter effect can circumvent the hepatic first-pass effect, thereby increasing the oral bioavailability of certain drugs [11–13].

The LBDDS are composed of solid lipids, oils, surfactants and cosolvents [14]. Lipid digestion is a key process for LBDDS, and depends on the chemical and physical

✉ Ricardo Neves Marreto  
ricardomarreto@ufg.br

<sup>1</sup> Faculdade de Farmácia UFG, Rua 240, esquina com 5<sup>ª</sup> Avenida, s/n, Setor Leste Universitário, Goiânia, GO 74 605-170, Brazil

<sup>2</sup> Laboratory of Food, Drug and Cosmetics (LTMAC), School of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil



Contents lists available at ScienceDirect

## International Journal of Pharmaceutics

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ijpharm](http://www.elsevier.com/locate/ijpharm)

## Preparation of a solid self-microemulsifying drug delivery system by hot-melt extrusion



Luis Antonio D. Silva<sup>a</sup>, Susana L. Almeida<sup>a</sup>, Ellen C.P. Alonso<sup>a</sup>, Priscila B.R. Rocha<sup>a</sup>, Felipe T. Martins<sup>b</sup>, Luís A.P. Freitas<sup>c</sup>, Stephania F. Taveira<sup>a</sup>, Marcilio S.S. Cunha-Filho<sup>d</sup>, Ricardo N. Marreto<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Laboratory of Nanosystems and Drug Delivery Devices (NanoSYS), School of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

<sup>b</sup> Chemical Institute, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

<sup>c</sup> School of Pharmaceutical Sciences of Ribeirão Preto, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

<sup>d</sup> Laboratory of Food, Drug and Cosmetics (LTMAC), School of Health Sciences, University of Brasília, Brasília, DF, Brazil

## ARTICLE INFO

**Keywords:**  
Carvedilol  
Solid SMEDDS  
Hot-melt extrusion  
Enteric release

## ABSTRACT

Hot-melt extrusion (HME) has gained increasing attention in the pharmaceutical industry; however, its potential in the preparation of solid self-emulsifying drug delivery systems (S-SMEDDS) is still unexplored. This study sought to prepare enteric S-SMEDDS by HME and evaluate the effects of the process and formulation variables on S-SMEDDS properties via Box-Behnken design. Liquid SMEDDS were developed, and carvedilol was used as a class II model drug. Mean size, polydispersity index (PDI) and zeta potential of the resulting microemulsions were determined. The extrudates were then obtained by blending the lipid mixture and HPMCAS using a twin-screw hot-melt extruder. SEM, optical microscopy and PXRD were used to characterize the extrudates. *In vitro* microemulsion reconstitution and drug release were also studied. L-SMEDDS gave rise to microemulsions with low mean size, PDI and zeta potential ( $140.04 \pm 7.22$  nm,  $0.219 \pm 0.011$  and  $-9.77 \pm 0.86$  mV). S-SMEDDS were successfully prepared by HME, and an HPMCAS matrix was able to avoid microemulsion reconstitution and retain drug release in pH 1.2 (12.97%–25.54%). Conversely, microemulsion reconstitution and drug release were gradual in pH 6.8 and complete for some formulations. Extrudates prepared at the lowest drug concentration and highest temperature and recirculation time promoted a complete and rapid drug release in pH 6.8 giving rise to small and uniform microemulsion droplets.

## 1. Introduction

Lipid-based formulations encompass a wide range of drug delivery systems that present several advantages for oral administration, such as increase drug apparent solubility, enhanced permeability, and reduced pre-systemic metabolism (Feeney et al., 2016; Garg et al., 2016). Cumulatively, this enhances oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. In particular, self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDS), which are lipid-based formulations composed of an isotropic mixture of oils, surfactants, and co-surfactants, can produce submicron size o/w emulsions by mild stirring. Furthermore, SMEDDS have displayed clear therapeutic benefits (Pouton and Porter, 2008).

The liquid form of SMEDDS, however, demands the use of soft gelatin capsules (Tang et al., 2008; Singh et al., 2014), which are expensive. The oily material can also leach out of the capsules (Singh et al., 2014). In addition, liquid SMEDDS (L-SMEDDS) may show

chemical instability and cause drug precipitation (Singh et al., 2009). In this sense, the use of solid SMEDDS (S-SMEDDS) has been proposed as a more suitable approach (Tan et al., 2013; Tang et al., 2008), reducing production costs and providing stability improvements, better patient compliance, and improvements in dosing accuracy (Singh et al., 2014). Safety can also be improved because solid systems are less irritating to the gastrointestinal mucosa (Tang et al., 2008; Singh et al., 2014).

S-SMEDDS have been prepared by incorporating liquid SMEDDS (L-SMEDDS) into powders using different techniques, such as adsorption on solid carriers (Krupa et al., 2014), wet granulation by high-shear mixer (Franceschinis et al., 2005), spray drying (Yi et al., 2008), extrusion/spheronization (Iosio et al., 2011; Wang et al., 2010), and conventional wet (Deshmukh and Kulkarni, 2014) and melt granulation (Kishore et al., 2015).

Hot-melt extrusion (HME) is an emerging process in the pharmaceutical industry, which has been successfully applied to enhance the

\* Corresponding author at: Faculdade de Farmácia UFG, Rua 240, esquina com 5<sup>a</sup> Avenida, s/n, Setor Leste Universitário, 74 605-170 Goiânia, GO, Brazil.  
E-mail address: [ricardomarreto@ufg.br](mailto:ricardomarreto@ufg.br) (R.N. Marreto).

<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.02.020>

Received 1 September 2017; Received in revised form 16 January 2018; Accepted 15 February 2018

Available online 16 February 2018

0378-5173/© 2018 Elsevier B.V. All rights reserved.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- Os métodos analíticos, por CLAE e por espectrofotometria, foram validados mostrando serem lineares, seletivos, sensíveis, precisos e exatos.
- As curvas DSC e DTA apresentaram pico endotérmico característico da fusão do CARV, em 118 °C, assim como apresentaram eventos típicos dos lipídeos/óleos estudados.
- A combinação de técnicas de análise térmica (DSC ou DTA e TG/DTG) e espectroscopia no infravermelho se mostrou útil na previsão das interações entre o CARV e os adjuvantes lipídicos.
- Os estudos de estresse isotérmico e de cinética de degradação térmica, aplicados às misturas do CARV com lipídeos ou com os óleos, mostraram que o ácido esteárico, ácido palmítico, Compritol<sup>®</sup> ATO 888, Emulium<sup>®</sup> 22, Plurol<sup>®</sup> Isostearique, Transcutol<sup>®</sup> HP, triglicerídeos de cadeia média (TCM) e óleo de gergelim podem ser utilizados para o preparo de sistemas lipídicos contendo este fármaco.
- Diagrama de fases ternário foi construído com as diferentes proporções de TCM, Plurol e Transcutol HP. Uma formulação automicroemulsionável líquida foi selecionada a partir deste estudo por análise visual, e em função do tamanho médio das gotículas formadas. CARV foi adicionada a essa formulação e o produto resultante foi devidamente caracterizado quanto ao tamanho médio, índice de polidispersão, potencial zeta e transmitância.
- Planejamento experimental, do tipo Box-Behnken, foi empregado para avaliar o efeito das variáveis de processo e formulação no preparo de SMEDDS sólidos de liberação entérica do CARV por termoextrusão.
- As fotomicrografias ópticas e de varredura mostraram que os termoextrusados apresentaram matriz compacta, homogênea e de superfície brilhosa.
- A difração de raios-X mostrou que o fármaco estava amorfizado nos termoextrusados.
- O perfil de liberação em meio ácido e em meio pH 6,8, e a eficiência de reconstituição dos SMEDDS sólidos foi influenciada pelas diferentes condições de temperatura, tempo de recirculação e concentração de fármaco.

- Os SMEDDS sólidos foram capazes de se redispersar em meio pH 6,8, apresentando parâmetros similares, de transmitância, tamanho e Pdl das gotículas redispersas quando comparados aos SMEDDS líquidos originais.
- Os termoextrusados autoemulsionáveis proporcionaram liberação entérica ao CARV apresentando liberação gradual do fármaco em pH 6,8.

## 7 CONCLUSÃO

No presente trabalho, os estudos de pré-formulação possibilitaram realizar a seleção racional dos adjuvantes lipídicos para o desenvolvimento de SES contendo CARV, considerando a solubilidade e compatibilidade do fármaco na matriz lipídica. Dessa forma, SMEDDS líquidos contendo triglicerídeos dos ácidos cáprico e caprílico, plurol, transcutool HP e CARV foram obtidos com sucesso. O L-SMEDDS contendo 50%/37,5%/12,5% de óleo, tensoativo e cotensoativo, respectivamente, foi incorporado à matriz polimérica composta de HPMCAS-HPC e, em seguida, processado por termoextrusão. A influência da concentração do fármaco, do tempo de recirculação e da temperatura sobre os parâmetros de liberação e de reconstituição da microemulsão foram avaliadas por Box-Behnken design. Os termoextrusados automicroemulsionáveis conferiram redispersão sítio-específica da microemulsão original e liberação entérica do carvedilol, apresentando assim potencial para proporcionar absorção linfática desse fármaco. Os achados experimentais aqui apresentados são o primeiro relato da obtenção de S-SMEDDS por termoextrusão e a avaliação do efeito das variáveis de processo e de formulação sobre as propriedades dos termoextrusados foi realizada pela aplicação de planejamento fatorial, contribuindo assim para o entendimento dos fenômenos envolvidos nesse tipo de processamento.

## 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, p. 457-464, 12/18/2008.
- ABDALLA, A.; MÄDER, K. ESR studies on the influence of physiological dissolution and digestion media on the lipid phase characteristics of SEDDS and SEDDS pellets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 367, p. 29-36, 2/9/2009.
- AHO, J.; BOETKER, J.P.; BALDURSDOTTIR, S.; RANTANEN, J. Rheology as a tool for evaluation of melt processability of innovative dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**. v. 494, p. 623-42, 2015.
- ALSHETAILI AS; ALMUTAIRY BK; ALSHAHRANI SM; ASHOUR EA; TIWARI RV; ALSHEHRI SM; FENG X; ALSULAYS BB; MAJUMDAR S; LANGLEY N; KOLTER K; GRYCZKE A; MARTIN ST; REPKA MA. Optimization of hot melt extrusion parameters for sphericity and hardness of polymeric face-cut pellets. **Drug Dev Ind Pharm**. V. 42, p. 1833-41, 2016.
- AMIDON, G. L.; LENNERNAS, 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. **Pharm Res**, v. 12, p. 413-20, Mar1995.
- ANDREWS, G. P.; JONES, D. S.; DIAK, O. A.; MCCOY, C. P.; WATTS, A. B.; MCGINITY, J. W. The manufacture and characterisation of hot-melt extruded enteric tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 264-273, 5//2008.
- AVDEEF, A. Physicochemical profiling (solubility, permeability and charge state). **Curr Top Med Chem**, v. 1, p. 277-351, Sep2001.
- BARGONI, A.; CAVALLI, R.; CAPUTO, O.; FUNDARÒ, A.; GASCO, M.; ZARA, G. Solid Lipid Nanoparticles in Lymph and Plasma After Duodenal Administration to Rats. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 745-750, 1998/05/011998.
- BARTHELEMY, P.; LAFORÊT, J. P.; FARAH, N.; JOACHIM, J. Compritol® 888 ATO: an innovative hot-melt coating agent for prolonged-release drug formulations. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 47, p. 87-90, 1//1999.
- BAUMGARTNER, R.; EITZLMAYR, A.; MATSKO, N.; TETYCZKA, C.; KHINAST, J.; ROBLEGG, E. Nano-extrusion: A promising tool for continuous manufacturing of solid nano-formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 477, p. 1-11, 12/30/2014.
- BEG, S.; JENA, S. S.; PATRA, C. N.; RIZWAN, M.; SWAIN, S.; SRUTI, J.; RAO, M. E. B.; SINGH, B. Development of solid self-nanoemulsifying granules (SSNEGs) of ondansetron hydrochloride with enhanced bioavailability potential. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 414-423, 1/1/2013.
- BEG, S.; SWAIN, S.; SINGH, H.P.; PATRA, C.N.; RAO, M.E.B. Development, Optimization, and Characterization of Solid Self-Nanoemulsifying Drug Delivery

Systems of Valsartan Using Porous Carriers. **AAPS PharmSciTech**. v. 13, p. 1416 – 1427, 2012.

BENET, L.; BROCCATELLI, F.; OPREA, T. BDDCS Applied to Over 900 Drugs. **The AAPS Journal**, v. 13, p. 519-547, 2011/12/012011.

BENET, L. Z. The role of BCS (biopharmaceutics classification system) and BDDCS (biopharmaceutics drug disposition classification system) in drug development. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, p. 34-42, 2013.

BONNAIRE, L.; SANDRA, S.; HELGASON, T.; DECKER, E.A.; WEISS, J.; MCCLEMENTS, D.J. Influence of lipid physical state on the in vitro digestibility of emulsified lipids, **J. Agric. Food Chem.** v. 56, p. 3791–3797, 2008.

BORBA, P.; VECCHIA, D.; RIEKES, M.; PEREIRA, R.; TAGLIARI, M.; SILVA, M.; CUFFINI, S.; DE CAMPOS, C.; STULZER, H. Pharmaceutical approaches involving carvedilol characterization, compatibility with different excipients and kinetic studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2507-2515, 2014/03/012014.

BORHADE, V.; PATHAK, S.; SHARMA, S.; PATRAVALE, V. Clotrimazole nanoemulsion for malaria chemotherapy. Part I: Preformulation studies, formulation design and physicochemical evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 431, p. 138-148, 7/15/2012.

BOYD, M.; RISOVIC, V.; JULL, P.; CHOO, E.; WASAN, K. M. A stepwise surgical procedure to investigate the lymphatic transport of lipid-based oral drug formulations: Cannulation of the mesenteric and thoracic lymph ducts within the rat. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 49, p. 115-120, 3//2004.

BREITENBACH, J. Melt extrusion: from process to drug delivery technology. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 54, p. 107-117, 9//2002.

BRUCE, L. D.; SHAH, N. H.; WASEEM MALICK, A.; INFELD, M. H.; MCGINITY, J. W. Properties of hot-melt extruded tablet formulations for the colonic delivery of 5-aminosalicylic acid. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, p. 85-97, 1//2005.

BRUNS, R. E. Effects of experimental conditions on the estimation of kinetic parameters of the thermal decomposition of AZT using factorial design. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 79, p. 697-701, 2005/02/012005.

BUONTEMPO, F.; BERNABEU, E.; GLISONI, R. J.; QUIROGA, E.; BREGNI, C.; CHIAPPETTA, D. A. Carvedilol stability in paediatric oral liquid formulations. **Farmacia Hospitalaria**, v. 34, p. 293-297, 11//2010.

CAI, S.; YANG, Q.; BAGBY, T. R.; FORREST, M. L. Lymphatic drug delivery using engineered liposomes and solid lipid nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 63, p. 901-908, 2011.

CERNASOV D. The Design and Development of Anti-Aging Formulations. **Skin Aging Handbook**: cap. 12, p. 291–325, 2009.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **J. Pharm. Biomed. Anal.** v. 87, p. 82–97, 2014.

CHAKRABORTY, S.; SHUKLA, D.; JAIN, A.; MISHRA, B.; SINGH, S. Assessment of solubilization characteristics of different surfactants for carvedilol phosphate as a function of pH. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 335, p. 242-249, 2009a.

CHAKRABORTY, S.; SHUKLA, D.; MISHRA, B.; SINGH, S. Lipid – An emerging platform for oral delivery of drugs with poor bioavailability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, p. 1-15, 2009b.

CHAKRABORTY, S.; SHUKLA, D.; VUDDANDA, P. R.; MISHRA, B.; SINGH, S. Utilization of adsorption technique in the development of oral delivery system of lipid based nanoparticles. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 81, p. 563-569, 2010.

\_\_\_\_\_. Effective in-vivo utilization of lipid-based nanoparticles as drug carrier for carvedilol phosphate. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 63, p. 774-779, 2011.

CIDES, L. C. S.; ARAÚJO, A. A. S.; SANTOS-FILHO, M.; MATOS, J. R. Thermal behaviour, compatibility study and decomposition kinetics of glimepiride under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, p. 441-445, 2006/05/012006.

CROWLEY, M. M.; SCHROEDER, B.; FREDERSDORF, A.; OBARA, S.; TALARICO, M.; KUCERA, S.; MCGINITY, J. W. Physicochemical properties and mechanism of drug release from ethyl cellulose matrix tablets prepared by direct compression and hot-melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 269, p. 509-522, 1/28/2004.

CROWLEY, M. M.; ZHANG, F.; REPKA, M. A.; THUMMA, S.; UPADHYE, S. B.; BATTU, S. K.; MCGINITY, J. W.; MARTIN, C. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: part I. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 33, p. 909-26, Sep2007.

DAHAN, A.; DUVDEVANI, R.; SHAPIRO, I.; ELMANN, A.; FINKELSTEIN, E.; HOFFMAN, A. The oral absorption of phospholipid prodrugs: In vivo and in vitro mechanistic investigation of trafficking of a lecithin-valproic acid conjugate following oral administration. **Journal of Controlled Release**, v. 126, p. 1-9, 2008.

DAHAN, A.; HOFFMAN, A. Evaluation of a chylomicron flow blocking approach to investigate the intestinal lymphatic transport of lipophilic drugs. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 24, p. 381-388, 2005.

\_\_\_\_\_. 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, p. 1-10, 2008.

DJEKIC, L.; PRIMORAC, M. The influence of cosurfactants and oils on the formation of pharmaceutical microemulsions based on PEG-8 caprylic/capric glycerides. **International Journal of Pharmaceutics**: v 352, p. 231-239, 2008.

DJURIS, J.; MEDAREVIC, D.; KRSTIC, M.; DJURIC, Z.; IBRIC, S. Application of quality by design concepts in the development of fluidized bed granulation and tableting processes. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 102, p. s 1869–1882, 2013.

DANTAS, E. M.; PIMENTEL, E. B.; ANDREAIO, R. V.; CICHONI, B. S.; GONCALVES, C. P.; ZANIQUELI DDOS, A.; BALDO, M. P.; RODRIGUES, S. L.;

MILL, J. G. Carvedilol recovers normal blood pressure variability in rats with myocardial infarction. **Auton Neurosci**, v. 177, p. 231-6, Oct2013.

DE BARROS LIMA, Í.; LIMA, N. B.; BARROS, D. C.; OLIVEIRA, T.; MENDONÇA, C. S.; BARBOSA, E.; RAFFIN, F.; LIMA E MOURA, T. A. D.; GOMES, A.; FERRARI, M.; ARAGÃO, C. S. Compatibility study between hydroquinone and the excipients used in semi-solid pharmaceutical forms by thermal and non-thermal techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, p. 1-14, 2014/08/292014.

DELIE, F. Evaluation of nano- and microparticle uptake by the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 34, p. 221-233, 1998.

EDWARDS, G. A.; PORTER, C. J. H.; CALIPH, S. M.; KHOO, S.-M.; CHARMAN, W. N. Animal models for the study of intestinal lymphatic drug transport. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 45-60, 8/23/2001.

FOLLONIER, N.; DOELKER, E.; COLE, E. T. Various ways of modulating the release of diltiazem hydrochloride from hot-melt extruded sustained release pellets prepared using polymeric materials. **Journal of Controlled Release**, v. 36, p. 243-250, 10//1995.

FORSTER, A.; HEMPENSTALL, J.; TUCKER, I.; RADES, T. Selection of excipients for melt extrusion with two poorly water-soluble drugs by solubility parameter calculation and thermal analysis. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 226, p. 147-161, 9/11/2001.

FREITAS, C.; MÜLLER, R. H. Spray-drying of solid lipid nanoparticles (SLNTM). **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 46, p. 145-151, 9//1998.

FUKUDA, M.; PEPPAS, N. A.; MCGINITY, J. W. Properties of sustained release hot-melt extruded tablets containing chitosan and xanthan gum. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 310, p. 90-100, 3/9/2006.

FUNAKOSHI, Y.; IWAO, Y.; NOGUCHI, S.; ITAI, S. Lipid nanoparticles with no surfactant improve oral absorption rate of poorly water-soluble drug. **Int J Pharm**, v. 451, p. 92-4, Jul 152013.

GERSHKOVICH, P.; HOFFMAN, A. Uptake of lipophilic drugs by plasma derived isolated chylomicrons: Linear correlation with intestinal lymphatic bioavailability. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 26, p. 394-404, 12//2005.

\_\_\_\_\_. Effect of a high-fat meal on absorption and disposition of lipophilic compounds: The importance of degree of association with triglyceride-rich lipoproteins. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 32, p. 24-32, 9//2007.

GRASSI, M.; VOINOVICH, D.; FRANCESCHINIS, E.; PERISSUTTI, B.; FILIPOVIC-GRCIC, J. Theoretical and experimental study on theophylline release from stearic acid cylindrical delivery systems. **Journal of Controlled Release**, v. 92, p. 275-289, 10/30/2003.

GUO, Z.; LU, M.; LI, Y.; PANG, H.; LIN, L.; LIU, X.; WU, C. The utilization of drug-polymer interactions for improving the chemical stability of hot-melt extruded solid dispersions. **J Pharm Pharmacol**, v. 66, p. 285-96, Feb2014.

GUSTONE, F.D. **The chemistry of oils and fats: Sources, Composition, Properties and Uses**. Blackwell Publishing Ltd, 2004.

HENDERSON, L. S.; TENERO, D. M.; BAIDOO, C. A.; CAMPANILE, A. M.; HARTER, A. H.; BOYLE, D.; DANOFF, T. M. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Comparison of Controlled-Release Carvedilol and Immediate-Release Carvedilol at Steady State in Patients with Hypertension. **The American Journal of Cardiology**, v. 98, p. 17-26, 10/2/2006.

HOKAMA, N.; HOBARA, N.; KAMEYA, H.; OHSHIRO, S.; SAKANASHI, M. Rapid and simple micro-determination of carvedilol in rat plasma by high-performance liquid chromatography. **J Chromatogr B Biomed Sci Appl**, v. 732, p. 233-8, Sep 101999.

HÜLSMANN, S.; BACKENSFELD, T.; KEITEL, S.; BODMEIER, R. Melt extrusion – an alternative method for enhancing the dissolution rate of 17 $\beta$ -estradiol hemihydrate. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 49, p. 237-242, 5/2/2000.

ICH. **VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: TEXT AND METHODOLOGY Q2(R1)** HARMONISATION, I. C. O. European Union, Japan and USA. I: 17 p. 2005.

INUGALA, S.; EEDARA, B.B.; SUNKAVALLI, S.; DHURKE, R.; KANDADI, P.; JUKANTI, R.; BANDARI, S. Solid self-nanoemulsifying drug delivery system (S-SNEDDS) of darunavir for improved dissolution and oral bioavailability: In vitro and in vivo evaluation. **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 74, p. 1-10, 2015.

JANNIN, V.; MUSAKHANIAN, J.; MARCHAUD, D. Approaches for the development of solid and semi-solid lipid-based formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 734-746, 2008.

JANNIN, V.; RODIER, J.-D.; MUSAKHANIAN, J. Polyoxylglycerides and glycerides: Effects of manufacturing parameters on API stability, excipient functionality and processing. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 466, p. 109-121, 5/15/2014.

JEDINGER, N.; SCHRANK, S.; MOHR, S.; FEICHTINGER, A.; KHINAST, J.; ROBLEGG, E. Alcohol dose dumping: The influence of ethanol on hot-melt extruded pellets comprising solid lipids. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 92, p. 83-95, 5//2015.

KALEPU, S.; MANTHINA, M.; PADAVALA, V. Oral lipid-based drug delivery systems – an overview. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 3, p. 361-372, 12//2013.

KALIVODA, A.; FISCHBACH, M.; KLEINEBUDDE, P. Application of mixtures of polymeric carriers for dissolution enhancement of fenofibrate using hot-melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 429, p. 58-68, 2012.

KALLAKUNTA, V. R.; BANDARI, S.; JUKANTI, R.; VEERAREDDY, P. R. Oral self emulsifying powder of lercanidipine hydrochloride: Formulation and evaluation. **Powder Technology**, v. 221, p. 375-382, 5//2012.

KASONGO, K. W.; PARDEIKE, J.; MULLER, R. H.; WALKER, R. B. Selection and characterization of suitable lipid excipients for use in the manufacture of didanosine-loaded solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers. **J Pharm Sci**, v. 100, p. 5185-96, Dec2011.

KHDAIR, A.; HAMAD, I.; AL-HUSSAINI, M.; ALBAYATI, D.; ALKHATIB, H.; ALKHALIDI, B. In Vitro Artificial Membrane-Natural Mucosa Correlation of Carvedilol Buccal Delivery. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 23, p. 603-609, //2013.

- KIM, M.-S.; PARK, G.-D.; JUN, S.-W.; LEE, S.; PARK, J.-S.; HWANG, S.-J. Controlled release tamsulosin hydrochloride from alginate beads with waxy materials. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 57, p. 1521-1528, 2005.
- KOHLI, K.; CHOPRA, S.; DHAR, D.; ARORA, S.; KHAR, R. K. Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. **Drug Discovery Today**, v. 15, p. 958-965, 11//2010.
- KUKEC, S.; DREU, R.; VRBANEC, T.; SRČIČ, S.; VREČER, F. Characterization of agglomerated carvedilol by hot-melt processes in a fluid bed and high shear granulator. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 430, p. 74-85, 2012.
- KUMAR, N.; GOINDI, S.; SAINI, B.; BANSAL, G. Thermal characterization and compatibility studies of itraconazole and excipients for development of solid lipid nanoparticles. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2375-2383, 2014/03/012014a.
- KUMAR, N.; SHISHU; BANSAL, R.; BANSAL, G. Evaluation of compatibility of itraconazole with excipients used to develop vesicular colloidal carriers. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2415-2422, 2014/03/012014b.
- KUO, Y.-C.; CHUNG, C.-Y. Solid lipid nanoparticles comprising internal Compritol 888 ATO, tripalmitin and cacao butter for encapsulating and releasing stavudine, delavirdine and saquinavir. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 88, p. 682-690, 12/1/2011.
- LAKSHMAN, J. P.; CAO, Y.; KOWALSKI, J.; SERAJUDDIN, A. T. Application of melt extrusion in the development of a physically and chemically stable high-energy amorphous solid dispersion of a poorly water-soluble drug. **Mol Pharm**, v. 5, p. 994-1002, Nov-Dec2008.
- LEE, D.W.; MARASINI, N.; POUDEL, B.K.; KIM, J.H.; CHO, H.J.; MOON, B.K.; CHOI, H-G.; YONG, C.S.; KIM, J.O. Application of Box–Behnken design in the preparation and optimization of fenofibrate-loaded self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS). **Journal Microencapsulation**. v. 31, p. 31–40, 2014.
- LEE, S. N.; POUDEL, B. K.; TRAN, T. H.; MARASINI, N.; PRADHAN, R.; LEE, Y. I.; LEE, D. W.; WOO, J. S.; CHOI, H. G.; YONG, C. S.; KIM, J. O. A novel surface-attached carvedilol solid dispersion with enhanced solubility and dissolution. **Arch Pharm Res**, v. 36, p. 79-85, Jan2013.
- 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. **Int J Nanomedicine**, v. 6, p. 795-805, 2011.
- LEVY, E.; MEHRAN, M.; SEIDMAN, E. Caco-2 cells as a model for intestinal lipoprotein synthesis and secretion. **Faseb j**, v. 9, p. 626-35, May1995.
- LI, S; MADAN, PAND LIN, S. Application of Capmul MCM and caprylic acid for the development of danazol-loaded SEDDS. **Journal Pharmaceutical Development and Technology**: p. 886-896, 2014.
- LINDÉN, M. Hot-melt Extrusion of Modified Release Pellets: Influence of the formulation and extrusion process on extended- and enteric release profile. In: (Ed.). **CHALMERS UNIVERSITY OF TECHNOLOGY**. Gothenburg, Sweden, 2012.

LIPINSKI, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 44, p. 235-249, 7//2000.

LIPINSKI, C. A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B. W.; FEENEY, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 3-26, 3/1/2001.

LIRA, A. M.; ARAÚJO, A. A. S.; BASÍLIO, I. D. J.; SANTOS, B. L. L.; SANTANA, D. P.; MACEDO, R. O. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. **Thermochimica Acta**, v. 457, p. 1-6, 6/15/2007.

LIU, D.; YU, S.; ZHU, Z.; LYU, C.; BAI, C.; GE, H.; YANG, X.; PAN, W. Controlled delivery of carvedilol nanosuspension from osmotic pump capsule: In vitro and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 475, p. 496-503, 11/20/2014.

LIU, J.; ZHANG, F.; MCGINITY, J. W. Properties of lipophilic matrix tablets containing phenylpropanolamine hydrochloride prepared by hot-melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 52, p. 181-190, 9//2001.

LOFTSSON, T.; VOGENSEN, S. B.; DESBOS, C.; JANSOOK, P. Carvedilol: Solubilization and Cyclodextrin Complexation: A Technical Note. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, p. 425-430, 2008.

LORETI, G.; MARONI, A.; DEL CURTO, M.D.; MELOCCHI, A.; GAZZANIGA, A.; ZEMA, L. Evaluation of hot-melt extrusion technique in the preparation of HPC matrices for prolonged release. **Eur. J. Pharm. Sci.** v. 52, p. 77–85, 2014.

LUCHOOMUN, J.; HUSSAIN, M. M. Assembly and secretion of chylomicrons by differentiated Caco-2 cells. Nascent triglycerides and preformed phospholipids are preferentially used for lipoprotein assembly. **J Biol Chem**, v. 274, p. 19565-72, Jul 91999.

LUO, Y.; TENG, Z.; LI, Y.; WANG, Q. Solid lipid nanoparticles for oral drug delivery: Chitosan coating improves stability, controlled delivery, mucoadhesion and cellular uptake. **Carbohydrate Polymers**, v. 122, p. 221-229, 5/20/2015.

LYONS, J. G.; HALLINAN, M.; KENNEDY, J. E.; DEVINE, D. M.; GEEVER, L. M.; BLACKIE, P.; HIGGINBOTHAM, C. L. Preparation of monolithic matrices for oral drug delivery using a supercritical fluid assisted hot melt extrusion process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 329, p. 62-71, 2/1/2007.

MAHMOUD, E.; BENDAS, E.; MOHAMED, M. Effect of Formulation Parameters on the Preparation of Superporous Hydrogel Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS) of Carvedilol. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, p. 221-225, 2010/03/012010.

MAHMOUD, E. A.; BENDAS, E. R.; MOHAMED, M. I. Preparation and evaluation of self-nanoemulsifying tablets of carvedilol. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 183-92, 2009a.

MAHMOUD, E. A.; BENDAS, E. R.; MOHAMED, M. I. Preparation and Evaluation of Self-nanoemulsifying Tablets of Carvedilol. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, p. 183-192, 2009b.

MAIA, C. S.; MEHNERT, W.; SCHÄFER-KORTING, M. Solid lipid nanoparticles as drug carriers for topical glucocorticoids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 196, p. 165-167, 3/10/2000.

MANJUNATH, K.; VENKATESWARLU, V. Pharmacokinetics, tissue distribution and bioavailability of clozapine solid lipid nanoparticles after intravenous and intraduodenal administration. **Journal of Controlled Release**, v. 107, p. 215-228, 2005.

MAXIMIANO, F.; NOVACK, K.; BAHIA, M.; DE SÁ-BARRETO, L.; DA CUNHA-FILHO, M. Polymorphic screen and drug–excipient compatibility studies of the antichagasic benzimidazole. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, p. 819-824, 2011/12/012011.

MARASINI, N.; YAN, Y.D.; POUDEL, B.K.; CHOI, H.-G.; YONG, C.S.; KIM, J.O. Development and Optimization of Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System with Enhanced Bioavailability by Box–Behnken Design and Desirability Function. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 101, p. 4584 – 4596, 2012.

MCCONNELL, E. L.; FADDA, H. M.; BASIT, A. W. Gut instincts: Explorations in intestinal physiology and drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 364, p. 213-226, 12/8/2008.

MEHNERT, W.; MÄDER, K. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 47, p. 165-196, 4/25/2001.

\_\_\_\_\_. Solid lipid nanoparticles: Production, characterization and applications. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, Supplement, p. 83-101, 12//2012.

MEHUYS, E.; VERVAET, C.; REMON, J. P. Hot-melt extruded ethylcellulose cylinders containing a HPMC–Gelucire® core for sustained drug delivery. **Journal of Controlled Release**, v. 94, p. 273-280, 2/10/2004.

MICHALK, A.; KANIKANTI, V.-R.; HAMANN, H.-J.; KLEINEBUDDE, P. Controlled release of active as a consequence of the die diameter in solid lipid extrusion. **Journal of Controlled Release**, v. 132, p. 35-41, 11/24/2008.

MISIC, Z.; JUNG, D. Š.; SYDOW, G.; KUENTZ, M. Understanding the interactions of oleic acid with basic drugs in solid lipids on different biopharmaceutical levels. **Journal of Excipients and Food Chemicals**, v. 5, p. 113-134, 2014.

MÜLLER, R. H.; MAASSEN, S.; SCHWARZ, C.; MEHNERT, W. Solid lipid nanoparticles (SLN) as potential carrier for human use: interaction with human granulocytes. **Journal of Controlled Release**, v. 47, p. 261-269, 9/8/1997.

MÜLLER, R. H.; MÄDER, K.; GOHLA, S. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery – a review of the state of the art. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 161-177, 7/3/2000.

MÜLLER, R. H.; RADTKE, M.; WISSING, S. A. Nanostructured lipid matrices for improved microencapsulation of drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 242, p. 121-128, 8/21/2002a.

\_\_\_\_\_. Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 54, Supplement, p. S131-S155, 11/1/2002b.

- MÜLLER, R. H.; RÜHL, D.; RUNGE, S. A. Biodegradation of solid lipid nanoparticles as a function of lipase incubation time. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 144, p. 115-121, 1996.
- NAGY, Z. K.; BALOGH, A.; DRAVAVOLGYI, G.; FERGUSON, J.; PATAKI, H.; VAJNA, B.; MAROSI, G. Solvent-free melt electrospinning for preparation of fast dissolving drug delivery system and comparison with solvent-based electrospun and melt extruded systems. **J Pharm Sci**, v. 102, p. 508-17, Feb2013.
- NAZZAL, S.; KHAN, M. A. Controlled release of a self-emulsifying formulation from a tablet dosage form: Stability assessment and optimization of some processing parameters. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 315, p. 110-121, 6/6/2006.
- NEGI, L. M.; JAGGI, M.; TALEGAONKAR, S. Development of protocol for screening the formulation components and the assessment of common quality problems of nano-structured lipid carriers. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 461, p. 403-410, 1/30/2014.
- NEGI, L. M.; TARIQ, M.; TALEGAONKAR, S. Nano scale self-emulsifying oil based carrier system for improved oral bioavailability of camptothecin derivative by P-Glycoprotein modulation. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 111, p. 346-353, 11/1/2013.
- NESLIHAN GURSOY, R.; BENITA, S. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS) for improved oral delivery of lipophilic drugs. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 58, p. 173-182, 4/2004.
- 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, p. 987- 995, 2001.
- NIKOLAKAKIS, I.; MALAMATARIS, S. Self-Emulsifying Pellets: Relations Between Kinetic Parameters of Drug Release and Emulsion Reconstitution—Influence of Formulation Variables. **J. Pharm. Sci.** v. 103, p. 1453-65, 2014.
- NORDSKOG, B. K.; PHAN, C. T.; NUTTING, D. F.; TSO, P. An examination of the factors affecting intestinal lymphatic transport of dietary lipids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, p. 21-44, 2001.
- NORRIS, D. A.; SINKO, P. J. Effect of size, surface charge, and hydrophobicity on the translocation of polystyrene microspheres through gastrointestinal mucin. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p. 1481-1492, 1997.
- O'DRISCOLL, C. M. Lipid-based formulations for intestinal lymphatic delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 15, p. 405-415, 2002.
- OLIVEIRA, P. R.; STULZER, H. K.; BERNARDI, L. S.; BORGMANN, S. H. M.; CARDOSO, S. G.; SILVA, M. A. S. Sibutramine hydrochloride monohydrate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 100, p. 277-282, 2010/04/012010.
- PALIWAL, R.; PALIWAL, S. R.; MISHRA, N.; MEHTA, A.; VYAS, S. P. Engineered chylomicron mimicking carrier emulsome for lymph targeted oral delivery of methotrexate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 380, p. 181-188, 2009a.
- PALIWAL, R.; RAI, S.; VAIDYA, B.; KHATRI, K.; GOYAL, A. K.; MISHRA, N.; MEHTA, A.; VYAS, S. P. Effect of lipid core material on characteristics of solid lipid nanoparticles designed for oral lymphatic delivery. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 5, p. 184-191, 2009b.

PATIL, H.; FENG, X.; YE, X.; MAJUMDAR, S.; REPKA, M. Continuous Production of Fenofibrate Solid Lipid Nanoparticles by Hot-Melt Extrusion Technology: a Systematic Study Based on a Quality by Design Approach. **The AAPS Journal**, v. 17, p. 194-205, 2015/01/012015.

PATIL, H.; KULKARNI, V.; MAJUMDAR, S.; REPKA, M. A. Continuous manufacturing of solid lipid nanoparticles by hot melt extrusion. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 471, p. 153-156, 8/25/2014.

PATTARINO, F.; BETTINI, R.; FOGGIO BONDA, A.; DELLA BELLA, A.; GIOVANNELLI, L. Polymorphism and kinetic behavior of binary mixtures of triglycerides. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 473, p. 87-94, 10/1/2014.

PAUDEL, A.; WORKU, Z. A.; MEEUS, J.; GUNS, S.; VAN DEN MOOTER, G. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 253-284, 8/30/2013.

PERES-FILHO, M.; GAETI, M.; DE OLIVEIRA, S.; MARRETO, R.; LIMA, E. Thermoanalytical investigation of olanzapine compatibility with excipients used in solid oral dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, p. 255-260, 2011/04/012011.

PINTO, J. F.; MULLER, R. H. Pellets as carries of solid lipid nanoparticles (SLN) for oral administration of drugs. **Pharmazie**, v. 54, p. 506-509, 1999.

PLANINŠEK, O.; KOVAČIČ, B.; VREČER, F. Carvedilol dissolution improvement by preparation of solid dispersions with porous silica. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 406, p. 41-48, 2011.

POKHARKAR, V.; KHANNA, A.; VENKATPURWAR, V.; DHAR, S.; MANDPE, L. Ternary complexation of carvedilol, beta-cyclodextrin and citric acid for mouth-dissolving tablet formulation. **Acta Pharm**, v. 59, p. 121-32, Jun2009.

POKHARKAR, V. B.; MANDPE, L. P.; PADAMWAR, M. N.; AMBIKE, A. A.; MAHADIK, K. R.; PARADKAR, A. Development, characterization and stabilization of amorphous form of a low T<sub>g</sub> drug. **Powder Technology**, v. 167, p. 20-25, 2006.

PORTER, C. J. H.; CHARMAN, W. N. In vitro assessment of oral lipid based formulations. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 50, Supplement 1, p. S127-S147, 2001.

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, p. 673-691, 3/17/2008.

POUTON, C. W. Lipid formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 11, Supplement 2, p. S93-S98, 10//2000.

\_\_\_\_\_. Formulation of poorly water-soluble drugs for oral administration: Physicochemical and physiological issues and the lipid formulation classification system. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 29, p. 278-287, 11//2006.

POUTON, C. W.; PORTER, C. J. H. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 625-637, 3/17/2008.

- PRATAP, S. B.; BRAJESH, K.; S.K, J.; KAUSAR, S. Development and Characterization of A Nanoemulsion Gel formulation for Transdermal delivery of Carvedilol **International Journal of Drug Development & Research** v. 4, 2012.
- PRODDUTURI, S.; URMAN, K. L.; OTAIGBE, J. U.; REPKA, M. A. Stabilization of hot-melt extrusion formulations containing solid solutions using polymer blends. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, p. E152-E161, 2007.
- RAO, M. R. P.; MUNJAPARA, G. S.; KHOLE, I. A. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of carvedilol. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 30, p. 837-843, 2011.
- RAO, S.; TAN, A.; THOMAS, N.; PRESTIDGE, C. A. Perspective and potential of oral lipid-based delivery to optimize pharmacological therapies against cardiovascular diseases. **Journal of Controlled Release**, v. 193, p. 174-187, 11/10/2014.
- REITZ, C.; KLEINEBUDDE, P. Solid lipid extrusion of sustained release dosage forms. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 440-448, 9//2007.
- REITZ, C.; STRACHAN, C.; KLEINEBUDDE, P. Solid lipid extrudates as sustained-release matrices: The effect of surface structure on drug release properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 35, p. 335-343, 11/15/2008.
- REPKA, M. A.; BATTU, S. K.; UPADHYE, S. B.; THUMMA, S.; CROWLEY, M. M.; ZHANG, F.; MARTIN, C.; MCGINITY, J. W. Pharmaceutical applications of hot-melt extrusion: Part II. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 33, p. 1043-57, Oct2007.
- REPKA, M. A.; GUTTA, K.; PRODDUTURI, S.; MUNJAL, M.; STODGHILL, S. P. Characterization of cellulosic hot-melt extruded films containing lidocaine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 59, p. 189-196, 1//2005.
- REPKA, M. A.; MCGINITY, J. W. Bioadhesive properties of hydroxypropylcellulose topical films produced by hot-melt extrusion. **Journal of Controlled Release**, v. 70, p. 341-351, 2/23/2001.
- RIEKES, M. K.; BARBOZA, F. M.; VECCHIA, D. D.; BOHATCH JR, M.; FARAGO, P. V.; FERNANDES, D.; SILVA, M. A. S.; STULZER, H. K. Evaluation of oral carvedilol microparticles prepared by simple emulsion technique using poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) and polycaprolactone as polymers. **Materials Science and Engineering: C**, v. 31, p. 962-968, 2011.
- ROBLEGG, E.; JÄGER, E.; HODZIC, A.; KOSCHER, G.; MOHR, S.; ZIMMER, A.; KHINAST, J. Development of sustained-release lipophilic calcium stearate pellets via hot melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 79, p. 635-645, 11//2011.
- RODRIGUES, P. O.; CARDOSO, T. F. M.; SILVA, M. A. S.; MATOS, J. D. R. Aplicação de Técnicas Termoanalíticas na Caracterização, Determinação da Pureza e Cinética de Degradação da Zidovudina (AZT). **Acta Farm. Bonaerense**, v. 24, p. 383-7, 2005.
- ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. 6a Ed. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. London: Pharmaceutical press, 2006.
- SAINDANE, N.; PAGAR, K.; VAVIA, P. Nanosuspension Based In Situ Gelling Nasal Spray of Carvedilol: Development, In Vitro and In Vivo Characterization. **AAPS PharmSciTech**, v. 14, p. 189-199, 2013/03/012013.

SALIMI, A.; SHARIF MAKHMAL ZADEH, B.; HEMATI, A. A.; AKBARI BIRGANI, S. 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, p. e16125, 2014.

SANJULA, B.; SHAH, F. M.; JAVED, A.; ALKA, A. Effect of poloxamer 188 on lymphatic uptake of carvedilol-loaded solid lipid nanoparticles for bioavailability enhancement. **Journal of Drug Targeting**, v. 17, p. 249-256, Apr2009.

SARI, A. Eutectic mixtures of some fatty acids for latent heat storage: Thermal properties and thermal reliability with respect to thermal cycling. **Energy Conversion and Management**, v. 47, p. 1207-1221, 6//2006.

SARI, A.; BIÇER, A.; KARAIPEKLI, A. Synthesis, characterization, thermal properties of a series of stearic acid esters as novel solid-liquid phase change materials. **Materials Letters**, v. 63, p. 1213-1216, 5/31/2009.

SARODE, A.; WANG, P.; COTE, C.; WORTHEN, D.R. Low-Viscosity Hydroxypropylcellulose (HPC) Grades SL and SSL: Versatile Pharmaceutical Polymers for Dissolution Enhancement, Controlled Release, and Pharmaceutical Processing. **AAPS PharmSciTech**. v. 14, p. 156-59, 2013.

SCHILLING, S. U.; BRUCE, C. D.; SHAH, N. H.; MALICK, A. W.; MCGINITY, J. W. Citric acid monohydrate as a release-modifying agent in melt extruded matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 361, p. 158-168, 9/1/2008.

SCHILLING, S. U.; SHAH, N. H.; WASEEM MALICK, A.; MCGINITY, J. W. Properties of melt extruded enteric matrix pellets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 74, p. 352-361, 2//2010.

SCHUBERT, M. A.; SCHICKE, B. C.; MÜLLER-GOYMANN, C. C. Thermal analysis of the crystallization and melting behavior of lipid matrices and lipid nanoparticles containing high amounts of lecithin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 298, p. 242-254, 7/14/2005.

SCHWARZ, C.; MEHNERT, W.; LUCKS, J. S.; MÜLLER, R. H. Solid lipid nanoparticles (SLN) for controlled drug delivery. I. Production, characterization and sterilization. **Journal of Controlled Release**, v. 30, p. 83-96, 4//1994.

SEEBALLUCK, F.; ASHFORD, M. B.; O'DRISCOLL, C. M. The effects of pluronics block copolymers and Cremophor EL on intestinal lipoprotein processing and the potential link with P-glycoprotein in Caco-2 cells. **Pharm Res**, v. 20, p. 1085-92, Jul2003.

SETTHACHEEWAKUL, S.; MAHATTANADUL, S.; PHADOONGSOMBUT, N.; PICHAYAKORN, W.; WIWATTANAPATAPEE, R. Development and evaluation of self-microemulsifying liquid and pellet formulations of curcumin, and absorption studies in rats. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 76, p. 475-485, 11//2010.

SHAH, M. K.; MADAN, P.; LIN, S. Preparation, in vitro evaluation and statistical optimization of carvedilol-loaded solid lipid nanoparticles for lymphatic absorption via oral administration. **Pharm Dev Technol**, v. 19, p. 475-85, Jun2014a.

SHAH, M. K.; MADAN, P.; LIN, S. Preparation, in vitro evaluation and statistical optimization of carvedilol-loaded solid lipid nanoparticles for lymphatic absorption via

oral administration. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, p. 475-485, 2014b.

SHAKEEL, F.; HAQ, N.; ALANAZI, F. K.; ALSARRA, I. A. Polymeric solid self-nanoemulsifying drug delivery system of glibenclamide using coffee husk as a low cost biosorbent. **Powder Technology**, v. 256, p. 352-360, 4//2014.

SHAMMA, R. N.; BASHA, M. Soluplus®: A novel polymeric solubilizer for optimization of Carvedilol solid dispersions: Formulation design and effect of method of preparation. **Powder Technology**, v. 237, p. 406-414, 2013.

SHARMA, A.; JAIN, C. P. Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with PVP K30. **Res Pharm Sci**, v. 5, p. 49-56, Jan2010.

SHETE, A.; YADAV, A.; MURTHY, S. Chitosan and chitosan chlorhydrate based various approaches for enhancement of dissolution rate of carvedilol. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 20, p. 1-9, 2012/12/132012.

SHETE, H.; PATRAVALE, V. Long chain lipid based tamoxifen NLC. Part I: Preformulation studies, formulation development and physicochemical characterization. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 454, p. 573-583, 9/15/2013.

SHIM, J.; KIM, M.; KIM, S.; KANG, S.; LEE, J.; KIM, H.; LEE, D.; KHANG, G. Dissolution properties of control released solid dispersion of carvedilol with HPMC and Eudragit RS. **Journal of Pharmaceutical Investigation**, v. 42, p. 285-291, 2012/10/012012.

SILVA, L. A. D.; TAVEIRA, S. F.; LIMA, E. M.; MARRETO, R. N. In vitro skin penetration of clobetasol from lipid nanoparticles: drug extraction and quantitation in different skin layers. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 48, 2012.

SINGH, B.; BANDOPADHYAY, S.; KAPIL, R.; SINGH, R.; KATARE, O. Self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS): formulation development, characterization, and applications. **Crit Rev Ther Drug Carrier Syst**, v. 26, p. 427-521, 2009.

SINGH, B.; KHURANA, L.; BANDYOPADHYAY, S.; KAPIL, R.; KATARE, O. O. Development of optimized self-nano-emulsifying drug delivery systems (SNEDDS) of carvedilol with enhanced bioavailability potential. **Drug Deliv**, v. 18, p. 599-612, Nov2011.

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, 2013a.

SINGH, S.; JUNWAL, M.; MODHE, G.; TIWARI, H.; KURMI, M.; PARASHAR, N.; SIDDURI, P. Forced degradation studies to assess the stability of drugs and products. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 71-88, 9//2013b.

SOUZA, J. D.; FREITAS, Z. M. F.; STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, 2007.

SOUZA, L. G.; SILVA, E. J.; MARTINS, A. L. L.; MOTA, M. F.; BRAGA, R. C.; LIMA, E. M.; VALADARES, M. C.; TAVEIRA, S. F.; MARRETO, R. N. Development of topotecan loaded lipid nanoparticles for chemical stabilization and prolonged release.

**European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 79, p. 189-196, 9//2011.

SPROCKEL, O. L.; SEN, M.; SHIVANAND, P.; PRAPAITRAKUL, W. A melt-extrusion process for manufacturing matrix drug delivery systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 155, p. 191-199, 9/26/1997.

STANKOVIC, M.; FRIJLINK H.W.; HINRICHS, L.J. Polymeric formulations for drug release prepared by hot melt extrusion: application and characterization. **Drug Discovery Today**. p. 1-12, 2015.

STOTT, P. W.; WILLIAMS, A. C.; BARRY, B. W. Mechanistic study into the enhanced transdermal permeation of a model  $\beta$ -blocker, propranolol, by fatty acids: a melting point depression effect. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 219, p. 161-176, 5/21/2001.

SULLIVAN JR, DW; GAD, SC and JULIEN, M. A review of the nonclinical safety of Transcutol<sup>®</sup>, a highly purified form of diethylene glycol monoethyl ether (DEGEE) used as a pharmaceutical excipient. **Food Chemistry Toxicology**: v 72, p. 40-50, 2014.

SZABÓ, P.; SEBE, I.; STIEDL, B.; KÁLLAI-SZABÓ, B.; ZELKÓ, R. Tracking of crystalline-amorphous transition of carvedilol in rotary spun microfibers and their formulation to orodispersible tablets for in vitro dissolution enhancement. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v. 115, p. 359–367, 2015.

TALVANI, A.; BAHIA, M.; SÁ-BARRETO, L.; LIMA, E.; CUNHA-FILHO, M. Carvedilol: decomposition kinetics and compatibility with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, p. 2501-2506, 2014/03/012014.

TAN, D. C. T.; CHIN, W. W. L.; TAN, E. H.; HONG, S.; GU, W.; GOKHALE, R. Effect of binders on the release rates of direct molded verapamil tablets using twin-screw extruder in melt granulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 463, p. 89-97, 3/10/2014.

TAN, A.; RAO, S.; PRESTIDGE, C.A. Transforming Lipid-Based Oral Drug Delivery Systems into Solid Dosage Forms: An Overview of Solid Carriers, Physicochemical Properties, and Biopharmaceutical Performance. **Pharm. Res.** v. 30, p. 2993-3017, 2013.

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**, v. 13, p. 606-612, 2008.

TAPAS, A.; KAWTIKWAR, P.; SAKARKAR, D. An improvement in physicochemical properties of carvedilol through spherically agglomerated solid dispersions with PVP K30. **Acta Pol Pharm**, v. 69, p. 299-308, Mar-Apr2012.

TENERO, D. M.; HENDERSON, L. S.; BAIDOO, C. A.; HARTE, A. H.; CAMPANILE, A. M.; DANOFF, T. M.; BOYLE, D. Pharmacokinetic Properties of a New Controlled-Release Formulation of Carvedilol. **The American Journal of Cardiology**, v. 98, p. 5-16, 10/2/2006.

THIMMASETTY, J.; PANDEY, G.; BABU, P. Design and in vivo evaluation of carvedilol buccal mucoadhesive patches. **Pak J Pharm Sci**, v. 21, p. 241-8, Jul2008.

TIAN, Z.; YI, Y.; YUAN, H.; HAN, J.; ZHANG, X.; XIE, Y.; LU, Y.; QI, J.; WU, W. Solidification of nanostructured lipid carriers (NLCs) onto pellets by fluid-bed coating:

Preparation, in vitro characterization and bioavailability in dogs. **Powder Technology**, v. 247, p. 120-127, 2013.

TREVASKIS, N. L.; CHARMAN, W. N.; PORTER, C. J. H. Lipid-based delivery systems and intestinal lymphatic drug transport: A mechanistic update. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, p. 702-716, 2008.

TROTTER, P. J.; HO, S. Y.; STORCH, J. Fatty acid uptake by Caco-2 human intestinal cells. **J Lipid Res**, v. 37, p. 336-46, Feb1996.

UDELSON, J. E.; PRESSLER, S. J.; SACKNER-BERNSTEIN, J.; MASSARO, J.; ORDRONNEAU, P.; LUKAS, M. A.; HAUPTMAN, P. J. Adherence With Once Daily Versus Twice Daily Carvedilol in Patients With Heart Failure: The Compliance and Quality of Life Study Comparing Once-Daily Controlled-Release Carvedilol CR and Twice-Daily Immediate-Release Carvedilol IR in Patients With Heart Failure (CASPER) Trial. **Journal of Cardiac Failure**, v. 15, p. 385-393, 6//2009.

ÜNER, M.; YENER, G. Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspectives. **International Journal of Nanomedicine**, v. 2, p. 289-300, 09/2007.

VAN GREEVENBROEK, M. M.; ROBERTUS-TEUNISSEN, M. G.; ERKELENS, D. W.; DE BRUIN, T. W. Participation of the microsomal triglyceride transfer protein in lipoprotein assembly in Caco-2 cells: interaction with saturated and unsaturated dietary fatty acids. **J Lipid Res**, v. 39, p. 173-85, Jan1998.

VAN GREEVENBROEK, M. M.; VAN MEER, G.; ERKELENS, D. W.; DE BRUIN, T. W. Effects of saturated, mono-, and polyunsaturated fatty acids on the secretion of apo B containing lipoproteins by Caco-2 cells. **Atherosclerosis**, v. 121, p. 139-50, Mar1996.

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

VENISHETTY, V. K.; CHEDE, R.; KOMURAVELLI, R.; ADEPU, L.; SISTLA, R.; DIWAN, P. V. Design and evaluation of polymer coated carvedilol loaded solid lipid nanoparticles to improve the oral bioavailability: A novel strategy to avoid intraduodenal administration. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 95, p. 1-9, 2012.

VENKATESWARLU, V.; MANJUNATH, K. Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles. **Journal of Controlled Release**, v. 95, p. 627-638, 2004.

VERMA, S.; SINGH, S.K.; VERMA, P. R. P.; AHSAN, M. N. Formulation by design of felodipine loaded liquid and solid self nanoemulsifying drug delivery systems using Box-Behnken design. **Drug Dev Ind Pharm**. p. 1-13, 2013.

VERVAET, C.; BAERT, L.; REMON, J. P. Extrusion-spheronisation A literature review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 116, p. 131-146, 3/28/1995.

VILLAR, A.M.S.; NAVEROS, B.C.; CAMPMANY, A.C.C.; TRENCHS, M.A.; ROCABERT, C.B.; BELLOWA, L.H. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. **Int. J. Pharm.** v. 431, p. 161-175, 2012.

VITHANI, K.; CUPPOK, Y.; MOSTAFA, S.; SLIPPER, I. J.; SNOWDEN, M. J.; DOUROUMIS, D. Diclofenac sodium sustained release hot melt extruded lipid matrices. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 19, p. 531-538, Aug2014.

VITHANI, K.; MANIRUZZAMAN, M.; SLIPPER, I. J.; MOSTAFA, S.; MIOLANE, C.; CUPPOK, Y.; MARCHAUD, D.; DOUROUMIS, D. Sustained release solid lipid matrices processed by hot-melt extrusion (HME). **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 110, p. 403-410, 10/1/2013.

VORA, N.; LIN, S.; MADAN, P. L. Development and in-vitro evaluation of an optimized carvedilol transdermal therapeutic system using experimental design approach. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 8, p. 28-38, 2//2013.

WEI, L.; LI, J.; GUO, L.; NIE, S.; PAN, W.; SUN, P.; LIU, H. Investigations of a novel self-emulsifying osmotic pump tablet containing carvedilol. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 33, p. 990-8, Sep2007.

WEI, L.; SUN, P.; NIE, S.; PAN, W. Preparation and evaluation of SEDDS and SMEDDS containing carvedilol. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 31, p. 785-94, Sep2005.

WITZLEB, R.; MÜLLERTZ, A.; KANIKANTI, V.-R.; HAMANN, H.-J.; KLEINEBUDDE, P. Dissolution of solid lipid extrudates in biorelevant media. **Int. J. Pharm.** v. 422, p. 116-124, 2012.

WU, C. Y.; BENET, L. Z. Predicting drug disposition via application of BCS: transport/absorption/ elimination interplay and development of a biopharmaceutics drug disposition classification system. **Pharm Res**, v. 22, p. 11-23, Jan2005.

WU, H.; ZHOU, A.; LU, C.; WANG, L. Examination of lymphatic transport of puerarin in unconscious lymph duct-cannulated rats after administration in microemulsion drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 42, p. 348-353, 3/18/2011.

YATHIRAJAN, H. S.; BINDYA, S.; SREEVIDYA, T. V.; NARAYANA, B.; BOLTE, M. A second polymorph of carvedilol. **Acta Crystallographica Section E**, v. 63, p. o542-o544, 2007.

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. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v. 70, p. 439-44, 2008.

ZECEVIC, D.E.; MEIER, R.; DANIELS, R.; WAGNER, K-G. Site specific solubility improvement using solid dispersions of HPMC-AS/HPC SSL – Mixtures. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** v. 87, p. 264-70, 2014.

ZHAI, H.; JONES, D. S.; MCCOY, C. P.; MADI, A. M.; TIAN, Y.; ANDREWS, G. P. Gastroretentive Extended-Release Floating Granules Prepared Using a Novel Fluidized Hot Melt Granulation (FHMG) Technique. **Molecular Pharmaceutics**, v. 11, p. 3471-3483, 2014/10/062014.

ZHANG, J.-J.; ZHANG, J.-L.; HE, S.-M.; WU, K.-Z.; LIU, X.-D. Thermal studies on the solid-liquid phase transition in binary systems of fatty acids. **Thermochimica Acta**, v. 369, p. 157-160, 3/22/2001.

ZHANG, N.; PING, Q.; HUANG, G.; XU, W.; CHENG, Y.; HAN, X. Lectin-modified solid lipid nanoparticles as carriers for oral administration of insulin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 327, p. 153-159, 2006.

ZHANG, Z.; BU, H.; GAO, Z.; HUANG, Y.; GAO, F.; LI, Y. The characteristics and mechanism of simvastatin loaded lipid nanoparticles to increase oral bioavailability in rats. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 394, p. 147-153, 2010.

ZHANG, Z.; GAO, F.; BU, H.; XIAO, J.; LI, Y. Solid lipid nanoparticles loading candesartan cilexetil enhance oral bioavailability: in vitro characteristics and absorption mechanism in rats. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine**, v. 8, p. 740-747, 2012.

ZHU, Y.; SHAH, N. H.; MALICK, A. W.; INFELD, M. H.; MCGINITY, J. W. Controlled release of a poorly water-soluble drug from hot-melt extrudates containing acrylic polymers. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 32, p. 569-83, Jun2006.