

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Pedro Andrés Granados Muñoz

Aplicação da termoextrusão na produção de complexos de inclusão de naringenina com
ciclodextrina

Brasília

2021

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Aplicação da termoextrusão na produção de complexos de inclusão de naringenina com ciclodextrina

Orientando: Pedro Andrés Granados Muñoz

Orientador: Prof. Dr. Marcílio Sergio Soares da Cunha-Filho

Co-orientadora: MSc. Ludmila Alvim Gomes Pinho Giacone

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Universidade de Brasília como requisito parcial para obtenção de grau Farmacêutico.

Brasília

2021

AGRADECIMENTOS

A toda minha família pelo apoio incondicional e por sempre acreditarem em mim, apesar das circunstâncias e da distância. Especialmente aos meus pais e ao Rodrigo por me brindar a oportunidade de ingressar na UnB e pelo exemplo a seguir (Gracias Papá, Mamá, Hermanos, Sobrinos, Pippo y Greta por siempre haber estado ahí cuando los he necesitado, que han sido muchas veces. Ustedes siempre me han apoyado y este pequeño paso es para y por ustedes).

Ao professor Marcílio pela brilhante orientação e a oportunidade de aprender cada dia no LTMAC, obrigado por todos seus ensinamentos e a exigência que leva a desenvolver trabalhos de qualidade.

Aos colegas do LTMAC que sempre estão dispostos a oferecer sua ajuda, em especial à minha co-orientadora Ludmila, pela paciência e todos os ensinamentos repassados, você sempre me incentivou na conclusão desse projeto e é um exemplo na pesquisa.

RESUMO

A complexação com ciclodextrinas é uma das melhores alternativas para corrigir as desfavoráveis propriedades farmacocinéticas da naringenina (NAR). Este trabalho propõe obter complexos de inclusão de NAR com hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD) empregando a tecnologia de termoextrusão (em inglês - *hot melt extrusion* - HME), um processo contínuo que não utiliza solventes orgânicos. Para isso, a miscibilidade e estabilidade da NAR em diferentes matrizes poliméricas hidrofílicas foi testada através de protocolos de film-casting e compatibilidade fármaco-polímero utilizando análises térmicas, morfológicas e espectroscópicas; seguidas do preparo dos complexos de inclusão por HME usando diferentes plastificantes. Enquanto polímeros celulósicos mostraram capacidade limitada de solubilizar a NAR, o Plasdone® S-630 foi quimicamente incompatível com o fármaco. Por outro lado, o álcool polivinílico (PVA) e o Soluplus® demonstraram ser compatíveis e tiveram uma alta capacidade de interagir com a NAR. Os extrusados de PVA aceleraram a dissolução da NAR, especialmente nos sistemas contendo HP β CD, que resultaram em níveis elevados de formação de complexos de inclusão e uma dissolução quase instantânea (28 mg/mL em 15 min), sendo inclusive superior a outras tecnologias previamente descritas na literatura. Em contraste, as amostras extrusadas com Soluplus® retardaram a dissolução da NAR, resultando em uma liberação controlada pelo nível do complexo de inclusão formado, com base no uso de plastificantes. Dessa forma, a HME provou ser um método variável e versátil para produzir complexos de inclusão de NAR em ciclodextrinas, gerando sistemas de liberação imediata ou prolongada do fármaco, dependendo dos parâmetros da formulação. As numerosas vantagens industriais do processo, que incluem a pouca geração de resíduos e o fácil escalonamento, tornam a HME uma metodologia promissora para explorar o notável potencial terapêutico da NAR.

Palavras-chaves: Naringenina; complexos de inclusão com ciclodextrinas; análise térmica, estudos de compatibilidade; hot-melt extrusion.

ABSTRACT

Cyclodextrin complexation is one of the best alternatives for correcting unfavorable pharmacokinetic properties of the naringenin (NAR). This work proposes to obtain inclusion complexes of NAR with hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP β CD) using the termoextrusão (HME), a single-step solvent free process. In this way, the miscibility and stability of NAR in different hydrophilic polymeric matrices were tested by a film-casting protocol and drug-polymer compatibility tests using thermal, morphological, and spectroscopic assays. Then, inclusion complexes were prepared by HME using different plasticizers. While the cellulosic polymers showed limited ability to dissolve NAR, Plasdone® S-630 was chemically incompatible with this drug. Alternatively, polyvinyl alcohol and Soluplus® demonstrated compatibility and high capacity to interact with a NAR. The polyvinyl alcohol extrudates accelerated the dissolution of NAR, especially in systems containing HP β CD, which showed high levels of inclusion complex formation and almost instantaneous dissolution (28 mg/mL in 15 min), even superior to other technological approaches already described in the literature. In contrast, samples extruded with Soluplus® delayed NAR dissolution, with rates modulated by the degree of inclusion complex obtained based on the use of plasticizers. Thus, HME proved to be a valuable and versatile method to produce cyclodextrin inclusion complexes of NAR, leading to immediate or prolonged drug delivery system, depending on formulation parameters. The many industrial advantages, as being environment-friendly and easy to scale up, make HME a promising methodology for exploring NAR's remarkable medical potential.

Keywords: *naringenin; cyclodextrin inclusion complexes; thermal analysis; compatibility studies; hot-melt extrusion.*

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Microfotografias obtidas por microscopia óptica (30×) dos filmes produzidos por film-casting utilizando diferentes proporções de fármaco e polímero (25:75; 50:50 e 75:25). As amostras preparadas com HPMC, HPC, SOL ou PVPVA foram analisadas logo após seu preparo (fresh) e depois de ser submetidas a envelhecimento acelerado (aged). A cristalinidade do fármaco com base nos dados DSC estão indicados em porcentagem para cada filme..... **8**

Figura 2. Curvas DSC junto com microfotografias obtidas por microscopia óptica (30×) das misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de NAR e os polímeros SOL, PVPVA e PVA. A área pontuada indica a endotermia relacionada com a absorção de umidade e a região demarcada em linhas tracejadas indica o pico de fusão deslocado da NAR, junto com a porcentagem de fármaco cristalino..... **10**

Figura 3. Curvas termogravimétricas da primeira derivada da NAR e dos polímeros, suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) usando os polímeros (a) SOL, (b) PVPVA e (c) PVA. A temperatura de decomposição inicial das amostras (Td) está sombreada, e as etapas de perda de massa das amostras aparecem em porcentagem **11**

Figura 4. Espectro FTIR da NAR sem tratamento e suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) com os polímeros SOL, PVPVA e PVA. Os picos relacionados aos grupos funcionais da NAR aparecem sombreados no espectro e correlacionados com sua estrutura química. Os coeficientes de correlação (R) entre cada mistura antes e depois da extrusão são exibidos..... **13**

Figura 5. Microscopia óptica (30×) junto com curvas DSC e DTG da NAR e PVA sem tratamento, as misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de cada formulação. O pico de fusão da NAR aparece sombreado nas curvas DSC, o Tpeak é indicado. A temperatura de decomposição inicial (Td) é exibida nas curvas DTG junto com a perda de massa em porcentagem. O Td da NAR sem tratamento está sombreado..... **15**

Figura 6. Microscopia óptica (30×) junto com curvas DSC e DTG da NAR e SOL sem tratamento, as misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de cada formulação. O pico de fusão da NAR aparece sombreado nas curvas DSC, o Tpeak é indicado. A temperatura

de decomposição inicial (T_d) é exibida nas curvas DTG junto com a perda de massa em porcentagem. O T_d da NAR sem tratamento está sombreado..... 16

Figura 7. Espectro FTIR da NAR sem tratamento e suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) com HP β CD e os polímeros (a) PVA ou (b) SOL, usando GLY, PEG ou água (H₂O) como plastificantes. Os picos relacionados com os grupos funcionais da NAR aparecem sombreados no espectro e correlacionados com sua estrutura química. 18

Figura 8a. Perfil de dissolução da NAR sem tratamento e dos sistemas HME contendo HP β CD e o polímero SOL, usando PEG ou água (H₂O) como plastificantes. Os valores médios DE₃₀ e o desvio padrão (SD) são apresentados. Diferenças significativas DE₃₀ entre as amostras são identificadas de acordo com o Turkey post-test ($p \leq 0.05$) 20

Figura 8b. Perfil de dissolução da NAR sem tratamento e dos sistemas HME contendo HP β CD e o polímero PVA, usando GLY ou água (H₂O) como plastificantes. Os valores médios DE₃₀ e o desvio padrão (SD) são apresentados. Diferenças significativas DE₃₀ entre as amostras são identificadas de acordo com o Turkey post-test ($p \leq 0.05$) 21

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição das formulações HME e parâmetros de extrusão selecionados, junto com microfotografias dos filamentos obtidas por microscopia óptica **4**

Tabela 2. Medidas de fluxo da NAR sem tratamento e das formulações HME. SD: desvio padrão **19**

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

DSC	Calorimetria Diferencial de Varreduta
DTG	Primeira Derivada da Perda de Massa
ED30	Eficiência de Dissolução de 30 min
FTIR	Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier
GLY	Glicerina
HME	Hot-Melt Extrusion
HPC	Hidroxipropil Celulose
HPMC	Hidroxipropil Metil Celulose
HP β CD	Hidroxipropil- β -ciclodextrina
NAR	Naringenina
PEG	Poli(etileno)glicol 400
PM	Mistura física
PVA	Polivinil Álcool
PVPVA	Plasdone® S-630
<i>R</i>	Coefficiente de Correlação
SOL	Soluplus®
T _d	Temperatura Inicial de Degradação

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS	2
2.1. Materiais	2
2.2. Protocolo de film-casting	3
2.3. Compatibilidade fármaco/polímero	3
2.4. Preparo dos complexos de inclusão em ciclodextrinas por HME	3
2.5. Análise morfológica	5
2.6. Análise térmica	5
2.7. Espectroscopia por infravermelho (FTIR).....	5
2.8. Medidas de fluxo	5
2.9. Estudos de dissolução.....	6
2.10. Métodos analíticos.....	6
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
3.1. Film-Casting.....	7
3.2. Compatibilidade fármaco/polímero	9
3.3. Produção dos complexos de inclusão de NAR por HME.....	14
3.4. Estudos de dissolução.....	19
4. CONCLUSÕES	23
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	24

1. INTRODUÇÃO

A naringenina (NAR) é um composto fenólico não polar encontrado em frutos cítricos com amplo potencial terapêutico, tendo atividade analgésica, anti-inflamatória, anti-hiperglicêmica, antioxidante, anticâncer e antiviral (FRABASILE et al., 2017; MATO MOFO; ESSOP; OWIRA, 2020; PARK et al., 2017; XUE et al., 2019). Porém, seu uso terapêutico é dificultado por limitações farmacocinéticas relacionadas a baixa solubilidade aquosa e problemas de estabilidade (CHAURASIA et al., 2018; KARIM et al., 2018).

Diversos estudos encontrados na literatura são dedicados a explorar diferentes tecnologias que buscam corrigir as propriedades físico-químicas desfavoráveis da NAR, por exemplo, a engenharia de partículas que utiliza fluidos supercríticos, nanopartículas, nano suspensões e dispersões sólidas, com ênfase na complexação com ciclodextrinas (CHAURASIA et al., 2018; GERA et al., 2017; GRATIERI et al., 2020; GUAN et al., 2020; MIAO et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2020; SLÁMOVÁ et al., 2020). Ciclodextrinas são oligossacarídeos cíclicos formados por anéis de glucopiranosose ligados covalentemente. Elas incrementam a solubilidade, estabilidade e biodisponibilidade de fármacos hidrofóbicos, como a NAR, mediante o encapsulamento da molécula inteira ou de parte dela, em suas cavidades hidrofóbicas (GUAN et al., 2020; NOGAMI et al., 2021).

Um derivado quimicamente modificado, a hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), possui alta solubilidade em água e tem demonstrado ser capaz de encapsular a NAR com alta eficiência de complexação, levando a resultados promissórios *in vitro* e *in vivo* (GRATIERI et al., 2020; NOGAMI et al., 2021; OLIVEIRA et al., 2020; SHULMAN et al., 2011). Todavia os processos utilizados para produzir os complexos de inclusão em estado sólido envolvem o uso de solventes orgânicos, requerem de várias etapas de produção, têm baixo rendimento, tem alto custo e são de difícil escalonamento (GRATIERI et al., 2020; NOGAMI et al., 2021; SHULMAN et al., 2011; XU et al., 2014).

Entre as abordagens que permitem superar esses obstáculos, a termoextrusão aparece como uma tecnologia de processamento contínuo, livre de solventes e recentemente empregada na obtenção de complexos de inclusão com ciclodextrinas (LIMA et al., 2018; MALAQUIAS et al., 2018b; MARRETO et al., 2020; THIRY et al., 2016). Durante o processo, o fármaco é submetido a aquecimento e cisalhamento controlado, normalmente

usando um polímero. As intensas interações entre os componentes da formulação podem modificar as propriedades do princípio ativo, melhorando seu desempenho em múltiplos aspectos (NYAVANANDI et al., 2021; SARABU et al., 2019). Vantagens que se adicionam à alta viabilidade industrial do processo, pois gera poucos resíduos, as perdas de material são mínimas e a produção contínua resulta em fácil transposição de escala (REPKA et al., 2018).

Todavia, as condições necessárias para a complexação do fármaco na ciclodextrina durante o processo de extrusão são complexas, uma vez que a matriz polimérica deve dissolver o fármaco que precisa ser miscível com a fase fundida para permitir seu encapsulamento dentro da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina. Essa etapa é desafiante, especialmente para princípios ativos com alta temperatura de fusão. Por exemplo, a obtenção de complexos de inclusão finasterida/ciclodextrina por HME, é impossibilitada pela elevada temperatura de fusão do fármaco (259°C); em consequência, a complexação deve ser realizada antes da extrusão (LIMA et al., 2018). Portanto, para incrementar as possibilidades de complexação da NAR por HME, considerando sua elevada temperatura de fusão, deve ser utilizada uma matriz polimérica capaz de dissolver grandes proporções do fármaco, mantendo-o em estado sólido amorfo enquanto preserva sua estabilidade (PARIKH et al., 2015).

Em vista disso, este trabalho propõe produzir complexos de inclusão de NAR com HPβCD através da HME, em um processo de uma única etapa e livre de solventes. Para isso, foram investigadas as condições ótimas de processamento e a seleção dos polímeros e agentes plastificantes adequados. Foi realizado também um detalhado conjunto de estudos de pré-formulação, bem como a caracterização físico-química dos produtos obtidos.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

NAR (C₁₅H₁₂O₅,- 4', 5, 7- trihidroxiflavanona, pureza ≥ 98%, lot MKCD1056) e HPβCD (grau de substituição 0.9, lote BCBQ9423) foram obtidos da Sigma-Aldrich (São Louis, MO, USA). Parateck® MXP (PVA, polivinil álcool, lote F1952064) foi doado pela Merck (Darmstadt, Alemanha). Plasdone® S-630 (PVPVA, 1-etenil-2 pirrolidona, lote 002095174) e Klucel™ ELF (HPC, hidroxipropil celulose, lot 40915) foram fornecidos pela Ashland Specialty Ingredients (Covington, LA, EUA). Affinisol™ (HPMC, Hydroxypropylmethylcellulose, lot ID99015561) e Soluplus® (SOL, polivinil-

caprolactama-polivinil-acetato-poli(etil)enoglicol, lote 844143368EO) foram doados pela Colorcon (Stoughton, WI, EUA) e BASF (Ludwigshafen, Alemanha), respectivamente. Glicerina (GLY, lote 58591) e polietilenoglicol 400 (PEG, lote 105098) foram obtidos da Dinâmica (São Paulo, Brasil). Todas as outras substâncias e solventes foram de grau analítico.

2.2. Protocolo de film-casting

Um procedimento de film-casting previamente publicado, com adaptações, foi utilizado para avaliar a miscibilidade e a estabilidade física da NAR nos polímeros selecionados (PARIKH et al., 2015). Estudos preliminares de solubilidade envolvendo o fármaco e os polímeros com diferentes solventes orgânicos, permitiram selecionar a acetona como o solvente adequado para desenvolver o procedimento. Dessa forma, soluções de NAR em acetona e dos polímeros dissolvidos em acetona/água 90% (v/v), ambas em concentração de 50 mg mL⁻¹, foram misturadas em três diferentes proporções: 25:75; 50:50 e 75:25 (v/v, fármaco/polímero) em cápsulas de alumínio. As amostras foram então deixadas em temperatura ambiente até a completa evaporação do solvente e a formação do filme polimérico. Adicionalmente, algumas amostras de filmes foram envelhecidas em estufa a 40°C e 75% de umidade por 7 dias. Os filmes obtidos imediatamente depois do preparo e os filmes envelhecidos, denominados *fresh* e *aged*, respectivamente, foram analisados por microscopia ótica e calorimetria diferencial de varredura (DSC), como descrito nas seções 2.5 e 2.6.

2.3. Compatibilidade fármaco/polímero

Misturas binárias 50:50 (w/w) fármaco/polímero foram submetidas a agitação em vórtex por 15 min. Em seguida, foram introduzidas de forma manual na termoextrusora de dupla-rosca co-rotativa e cônica HAAKE MiniCTW ThermoScientific (Waltham, MA, USA), operada a 75 rpm e temperatura única de 150°C, sem recirculação da amostra. A compatibilidade entre o fármaco e os polímeros foi avaliada a partir das misturas físicas (PM) e os respectivos extrusados (HME) utilizando microscopia ótica, análise térmica e espectroscopia por infravermelho - FTIR (TALVANI et al., 2014).




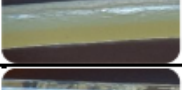




2.4. Preparo dos complexos de inclusão em ciclodextrinas por HME

As formulações HME foram preparadas com misturas de NAR e HPβCD em proporção equimolar, fixando as concentrações em 10% e 55% (w/w) para o fármaco e a HPβCD, respectivamente. Com base nos testes descritos anteriormente, a matriz

polimérica HME foi formada por PVA ou SOL, e um plastificante adequado foi selecionado para cada polímero, GLY para PVA e PEG para SOL (AYDIN; ILBERG, 2016; BARMPALEXIS; KARAGIANNI; KACHRIMANIS, 2018; DE JAEGHERE et al., 2015). Adicionalmente, para ambos os polímeros, a água foi testada como plastificante temporário (HANCOCK; ZOGRAFI, 1994). A composição das formulações produzidas por HME é apresentada na Tabela 1.

Todos os componentes da formulação foram misturados em gral e pistilo por 5 min. O fármaco e a HP β CD foram homogeneizados, depois, o plastificante foi adicionado gota a gota e finalmente o polímero. Para as formulações contendo água, esta foi gotejada até completa umectação da amostra (totalizando 11 mL); em seguida, as amostras foram seladas e armazenadas em temperatura ambiente por 12 h antes da adição dos polímeros. Posteriormente, as misturas físicas (PM) foram extrusadas em temperatura constante sem recirculação da amostra, sob condições adequadas para cada material, permitindo seu fluxo contínuo. A temperatura e rotação usada para cada formulação é descrita na Tabela 1. Finalmente, os filamentos foram moídos até atingir um tamanho de partícula entre 180-250 μ m. Os grânulos resultantes (HME) foram utilizados em testes posteriores.

Tabela 1. Composição das formulações HME e parâmetros de extrusão selecionados, junto com microfotografias dos filamentos obtidas por microscopia óptica.

Samples	NAR % (w/w)	HP β CD % (w/w)	Polymer % (w/w)	Plasticizer % (w/w)	Water (mL)	Temperature (°C)	Rotation (rpm)	Aspect
PVA/NAR	10.0	0.0	90.0	0.0	0.0	150	75	
PVA/HP β CD	10.0	55.0	35.0	0.0	0.0	150	75	
PVA/HP β CD/GLY	10.0	55.0	25.0	10.0	0.0	100	80	
PVA/HP β CD/H2O	10.0	55.0	35.0	0.0	11.0	150	75	
SOL/NAR	10.0	0.0	90.0	0.0	0.0	150	75	
SOL/HP β CD	10.0	55.0	35.0	0.0	0.0	150	75	
SOL/HP β CD/PEG	10.0	55.0	25.0	10.0	0.0	150	60	
SOL/HP β CD/H2O	10.0	55.0	35.0	0.0	11	150	75	

2.5. Análise morfológica

Microfotografias das amostras (pós, filmes e extrusados) foram obtidas em estereoscópio (Laborana/SZ, São Paulo, Brasil) acoplado com vídeo câmera.

2.6. Análise térmica

Calorimetria diferencial de varredura (DSC) foi realizada em DSC-60 (Shimadzu, Kyoto, Japão). Amostras de 2-4 mg foram inseridas em cápsulas seladas de alumínio e analisadas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio de 50 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹, desde 25 até 300°C. Análises termogravimétricas foram realizadas no DTG-60H (Shimadzu, Kyoto, Japão) em cápsulas de platina sob fluxo de nitrogênio de 50 mL min⁻¹ e taxa de aquecimento de 10°C min⁻¹, desde 25 até 500°C. Os testes foram realizados nos compostos individuais, misturas físicas, filmes e extrusados (DANIEL et al., 2021). A porcentagem de NAR na forma cristalina original dos sistemas obtidos por film-casting foi calculada com base na entalpia de fusão do fármaco, considerando sua proporção em cada mistura (MALAQUIAS et al., 2018a). Os resultados foram analisados no software TA (Shimadzu, Kyoto, Japão) e plotados usando o software OriginPro 2019 (Originlab Corp., Northampton, MA, USA).

2.7. Espectroscopia por infravermelho (FTIR)

Análises FTIR foram realizadas no espectrofotômetro Varian 640 FTIR usando acessório de imagem ATR (Varian Inc., Palo Alto, CA, EUA). O espectro foi registrado entre 4,000 e 650 cm⁻¹ em resolução óptica de 4 cm⁻¹. O coeficiente de correlação (R) entre as misturas físicas e os extrusados correspondentes foi calculado com base nos picos dos grupos funcionais do fármaco usando o software Essential FTIR (Operant LLC, Burke, VA, USA) (PIRES et al., 2017) e plotados usando o software OriginPro 2019 (Originlab Corp., Northampton, MA, EUA).

2.8. Medidas de fluxo

A compressibilidade (%) da NAR sem tratamento e dos extrusados pulverizados foi determinada em triplicata usando um analisador de características de pós PT-N (Hosokawa Micron Powder Systems, Summit, NJ, EUA), tomando como referência os valores de densidade aparente (δ_a) e compactada (δ_t). Para as análises de densidade aparente (δ_a), os pós foram peneirados por uma rampa vibratória até encher uma proveta. A vibração foi definida em 1mm/30 s. Para obter a densidade compactada (δ_t), a proveta

caiu 180 vezes da mesma altura. A compressibilidade foi determinada usando a seguinte equação (PINHO et al., 2018):

$$\text{Compressibilidade (\%)} = 100 \times (\delta t - \delta a) / \delta t$$

2.9. Estudos de dissolução

Os perfis de dissolução da NAR sem tratamento e dos extrusados pulverizados foram determinados em dissolutor Ethik modelo 299 (Nova Ética, São Paulo, Brasil) usando 900 mL de HCl 0.1 mol L⁻¹ como meio de dissolução, mantido a 37°C, em aparato n°2 (pás) operado a 100 rpm.

Amostras contendo o equivalente a 25 mg de fármaco foram adicionadas na cuba de dissolução e alíquotas de 5 mL foram retiradas e imediatamente substituídas por meio fresco de dissolução em diferentes intervalos de tempo até 180 min. Em seguida as amostras foram filtradas por membranas de 0.45µm e analisadas para conteúdo de NAR seguindo o método descrito na seção 2.10. Os experimentos foram realizados em triplicata para cada amostra e plotados usando software OriginPro 2019 (Originlab Corp., Northampton, MA, EUA). Os perfis de dissolução foram então avaliados através da correspondente eficiência de dissolução de 30 min (DE30)(GRATIERI et al., 2020); diferenças estatísticas foram determinadas por one-way ANOVA, seguido pelo Turkey post-test. O nível de significância (*p*) foi fixado em 0.05. A normalidade dos dados foi previamente demonstrada pelo teste Shapiro-Wilk.

2.10. Métodos analíticos

O teor de fármaco dos extrusados foi determinado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) através do LC-20AT (Shimadzu, Kyoto, Japão); utilizando uma coluna C₁₈ (300 × 3.9 mm, 10µm) de fase reversa e fase móvel formada por metanol/ácido fosfórico 0.01 mol L⁻¹ (65:35, v/v). O fluxo de solvente foi de 0.6 mL min⁻¹, o volume de injeção de 10 µL, temperatura mantida em 40°C e detecção UV a 290 nm. O método foi validado seguindo os parâmetros da International Conference on Harmonisation (“ICH, 2006,” [s.d.]), provando ser seletivo para interferentes (polímeros e HPβCD), e linear na faixa de 0.5 a 12.5 µg mL⁻¹ (coeficiente de correlação = 0.999).

Além disso, um método espectrofotométrico foi utilizado para a determinação da NAR nos estudos de dissolução; para isso, o espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu, Kyoto, Japão) foi programado em 288nm (GRATIERI et al., 2020). A linearidade obtida na faixa de 0.5 a 15 µg mL⁻¹ mostrou coeficiente de correlação de 0.999.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

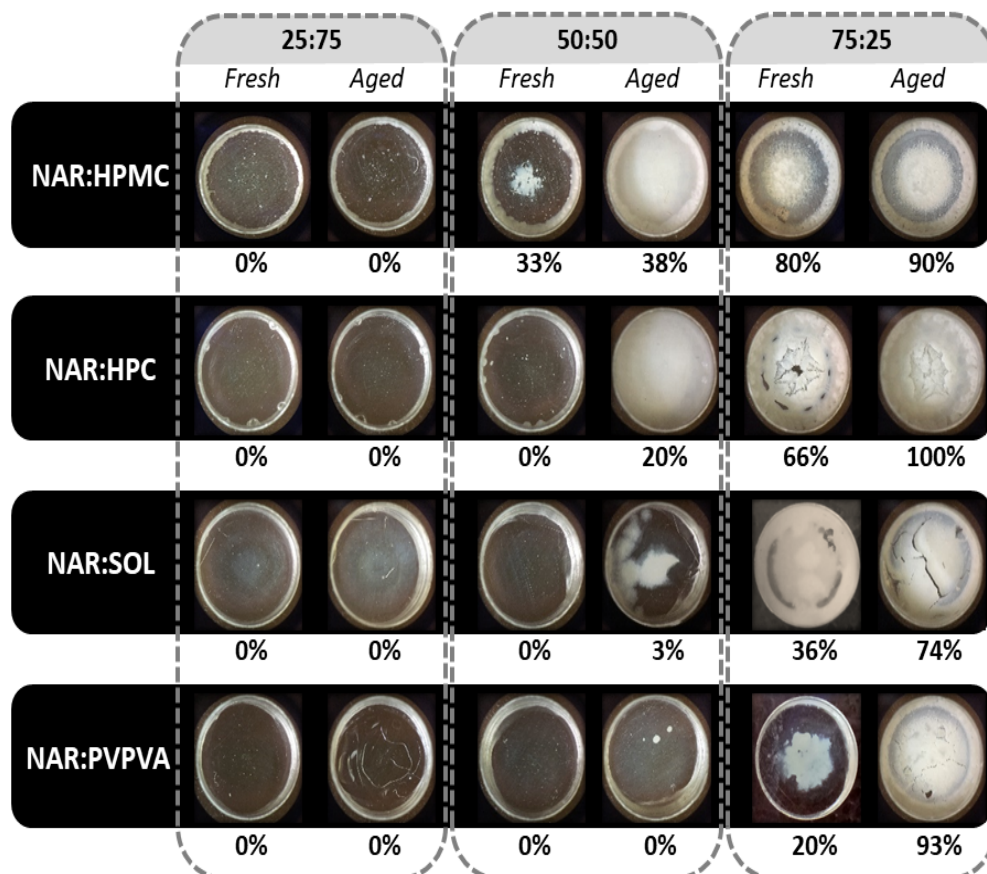
3.1. *Film-Casting*

Um protocolo de film-casting foi utilizado nesta primeira etapa do estudo para selecionar as matrizes poliméricas potencialmente capazes de estabilizar a NAR e formar soluções sólidas com o fármaco. Para esta triagem, foram utilizados polímeros hidrofílicos comumente usados em HME e conhecidos por sua capacidade de interagir com fármacos pouco solúveis, sendo estes: HPMC, HPC, SOL, PVPVA e PVA (CUNHA-FILHO; MARTÍNEZ-PACHECO; LANDÍN, 2008; DE JAEGHERE et al., 2015; LINN et al., 2012; PINHO et al., 2018).

O protocolo requer que o fármaco e o polímero sejam dissolvidos em um solvente comum. Depois de vários testes, a acetona foi eleita como solvente, considerando seu alto poder de solubilização da NAR (123.6 mg mL⁻¹) e sua capacidade de dissolver os polímeros selecionados, com exceção do PVA. Como o PVA é solúvel em água e praticamente insolúvel em solventes orgânicos (SAOKHAM et al., 2020), nenhum sistema de solventes testado conseguiu dissolvê-lo junto com a NAR, que é insolúvel em água (CHAURASIA et al., 2018). Não obstante, embora o protocolo de film-casting não tenha sido desenvolvido com o PVA, o polímero foi levado para a seguinte etapa do estudo devido a sua alta capacidade de solubilização de moléculas insolúveis, quando utilizado em matrizes processadas por HME (DE JAEGHERE et al., 2015; POORESMAEIL; NAMAZI, 2019; SAOKHAM et al., 2020).

A partir do film-casting, as amostras em que a NAR se mostrou completamente miscível com o polímero levaram à formação de um filme transparente, enquanto a cristalização do fármaco originou filmes heterogêneos com precipitado esbranquiçado (Fig. 1). Além disso, as condições de envelhecimento acelerado utilizadas para simular condições de armazenamento, desencadearam ou intensificaram a cristalização da NAR. Esta simulação fornece informações importantes, uma vez que os pequenos cristais de fármaco presentes nas amostras e indetectáveis por métodos térmicos, podem servir como catalizadores para a cristalização do fármaco, derivando em instabilidade física ao longo do tempo.

Figura 1. Microfotografias obtidas por microscopia óptica (30×) dos filmes produzidos por film-casting utilizando diferentes proporções de fármaco e polímero (25:75; 50:50 e 75:25). As amostras preparadas com HPMC, HPC, SOL OU PVPVA foram analisadas logo após seu preparo (*fresh*) e depois de ser submetidas a envelhecimento acelerado (*aged*). A cristalinidade do fármaco com base nos dados DSC estão indicados em porcentagem para cada filme.



Para as misturas com menor proporção de fármaco, NAR/Polímero (25:75 m/m), a miscibilidade observada entre os componentes foi completa, dado que a NAR permaneceu no estado amorfo inclusive durante as condições simuladas de armazenamento. Na proporção NAR/Polímero 50:50 (m/m) houve uma clara diferenciação da capacidade dos polímeros para solubilizar o fármaco. Enquanto os sistemas NAR/HPMC mostraram precipitados até nos filmes recém-formados, as amostras NAR/HPC e NAR/SOL apresentaram precipitados unicamente nos filmes envelhecidos (Fig. 1). Porém, os dados de cristalinidade por DSC mostraram maiores quantidades de fármaco cristalino no HPC (próximo de 20%) do que no SOL (3%) (Fig. 1). Todavia, as misturas produzidas com PVPVA nesta proporção (50:50 m/m) mantiveram o fármaco no estado amorfo, inclusive nas condições de envelhecimento acelerado.

As misturas com maior quantidade de NAR (75:25 m/m) revelaram precipitados do fármaco em todas as matrizes poliméricas, com diferentes intensidades. Enquanto os filmes HPMC e HPC tiveram níveis de cristalização superiores a 66%, inclusive nas amostras *fresh*, os filmes formados por SOL e PVPVA mostraram altos níveis de cristalização do fármaco unicamente nos filmes envelhecidos (*aged*), 74 e 93%, respectivamente. Em vista desses resultados, os polímeros celulósicos HPMC e HPC, que demonstraram menor capacidade de solubilização do fármaco tanto nas amostras recém preparadas como nas envelhecidas, foram descartados para continuar na próxima etapa de compatibilidade, que foi realizada utilizando SOL, PVPVA e PVA.

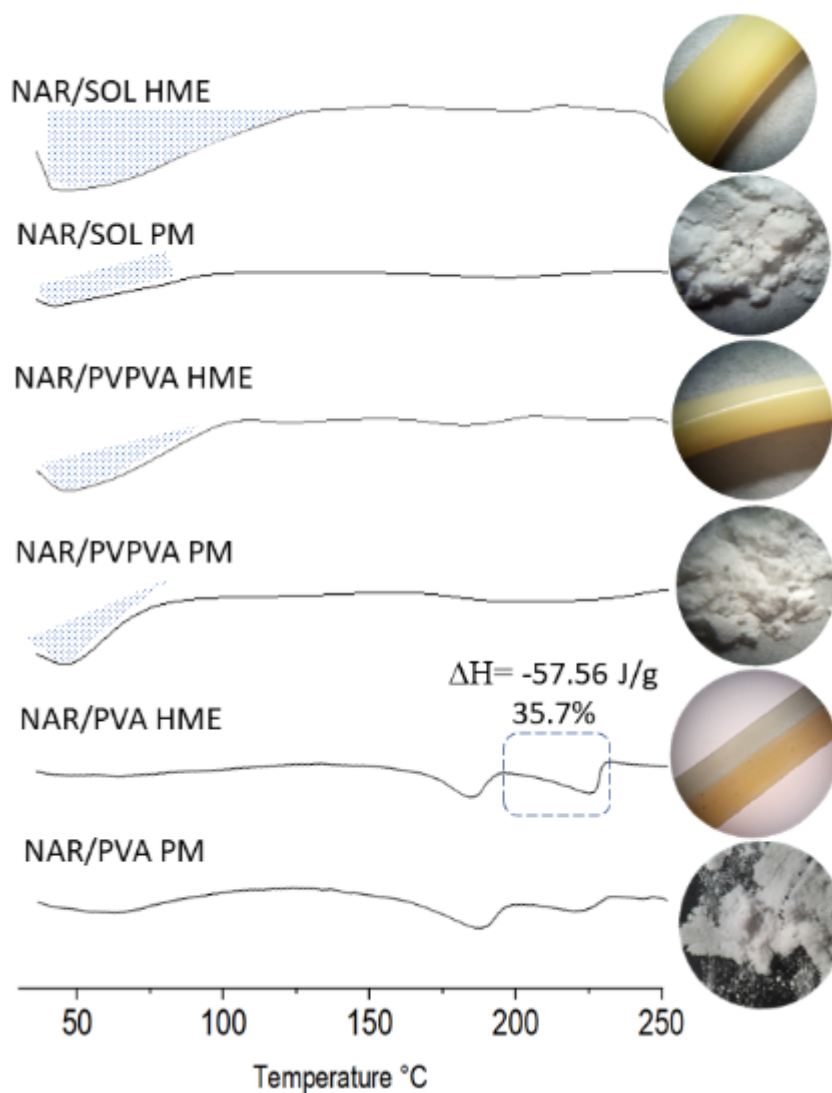
3.2. Compatibilidade fármaco/polímero

A compatibilidade entre a NAR e os três polímeros selecionados foi estudada através de misturas binárias 50:50 (w/w) antes e depois do processamento por HME. As misturas físicas fármaco/polímero formaram um pó branco e coesivo, enquanto sua extrusão gerou filamentos amarelados, densos e rígidos, sem sinais de decomposição (Fig. 2). A extrusão do material foi mantida em 150°C, temperatura superior em pelo menos 40°C da temperatura de transição vítrea dos polímeros, seguindo as recomendações gerais de processamento por HME (PINHO et al., 2018).

As curvas DSC das amostras contendo PVPVA ou SOL (Fig. 2), seja PM ou HME, não apresentaram o pico de fusão característico da NAR, próximo de 254°C, indicando um alto nível de interação térmica entre o fármaco e os polímeros. A interação com a NAR é favorecida pela alta mobilidade das cadeias poliméricas após tratamento térmico (SAOKHAM et al., 2020), considerando que a fusão da NAR acontece em temperaturas bastante superiores respeito a transição vítrea dos polímeros (45°C, 70°C e 110°C para PVA, SOL e PVPVA, respectivamente). Além disso, nas amostras NAR/SOL HME e NAR/PVPVA HME, é observado um amplo pico endotérmico na faixa de 30-110°C, sugerindo absorção de umidade por parte dessas amostras.

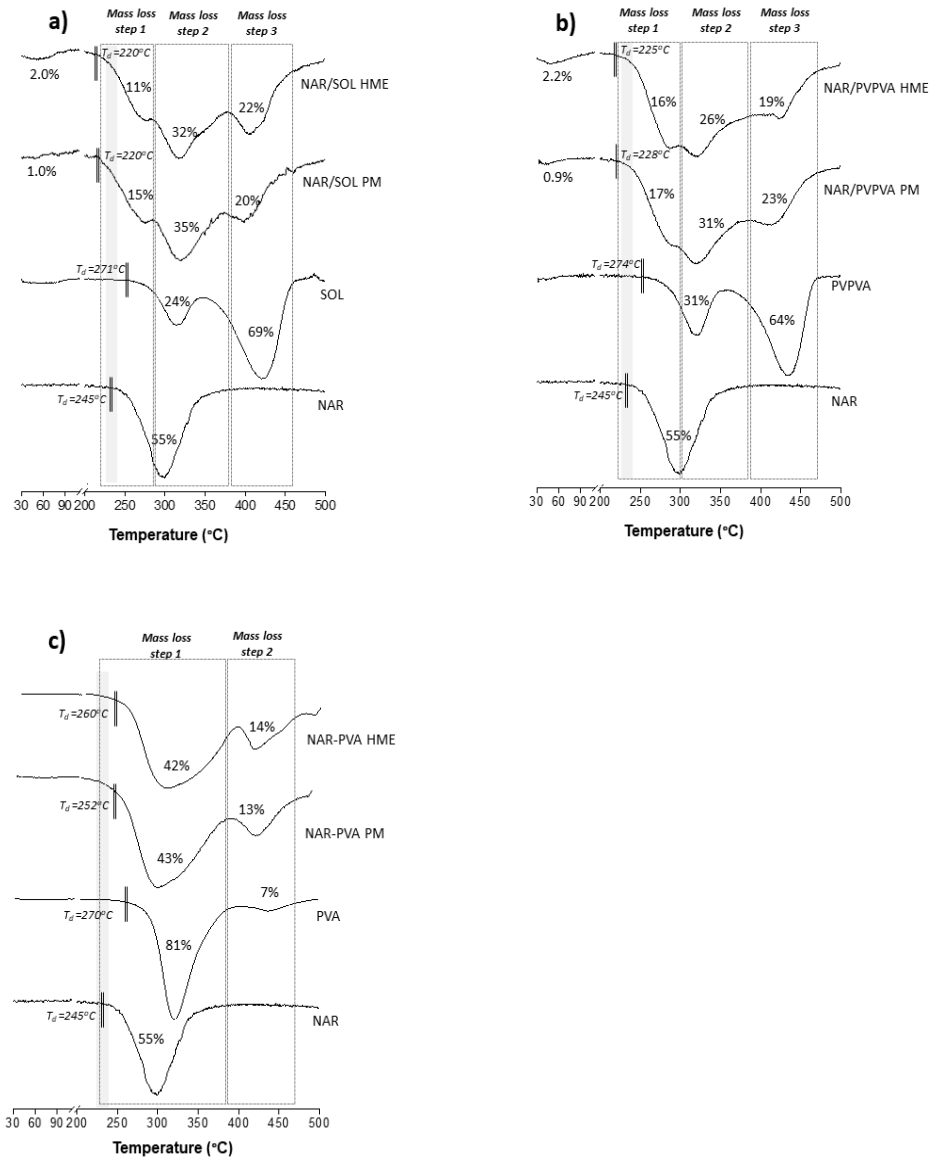
Por outro lado, as amostras NAR/PVA exibiram um sinal endotérmico próximo de 170°C correspondente à fusão do polímero (DE JAEGHERE et al., 2015), seguido pela fusão do fármaco, que foi deslocada para temperaturas inferiores. Adicionalmente, foi observada uma marcada redução na entalpia associada do fármaco, proporcional a um nível de cristalinidade de somente 35%. Esses resultados sugerem um alto nível de interação térmica entre a NAR e o PVA, embora inferior ao encontrado entre a NAR e PVPVA ou SOL.

Figura 2. Curvas DSC com microfotografias obtidas por microscopia óptica (30×) das misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de NAR e os polímeros SOL, PVPVA e PVA. A área pontilhada indica a endotermia relacionada com a absorção de umidade e a região demarcada em linhas tracejadas indica o pico de fusão deslocado da NAR, junto com a porcentagem de fármaco cristalino e a entalpia de fusão (ΔH).



Em concordância com as observações prévias, as curvas termogravimétricas apresentadas na Fig. 3 confirmam a absorção de umidade (próxima de 2%) logo após o processo de extrusão, corroborando relatos de estudos anteriores que relatam características higroscópicas do PVPVA e SOL (NOWAK et al., 2019; SHESKEY; COOK; CABLE, 2017). O risco de hidrólise indica que o processamento e armazenamento desses materiais em escala industrial pode requerer cuidados específicos.

Figura 3. Curvas termogravimétricas da primeira derivada da NAR e dos polímeros, suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) usando os polímeros (a) SOL, (b) PVPVA e (c) PVA. A temperatura de decomposição inicial das amostras (T_d) está sombreada, e as etapas de perda de massa das amostras aparecem em porcentagem.



Por outro lado, ocorreu uma antecipação na temperatura de decomposição das amostras extrusadas contendo PVPVA e SOL, que deveria iniciar em 254°C, quando o primeiro componente da mistura é decomposto, mas o evento foi deslocado até 225 e 220°C para NAR/PVPVA HME e NAR/SOL HME, respectivamente (Fig. 3). A decomposição em temperaturas inferiores à esperada ocorreu também nas misturas físicas formadas por esses polímeros, sugerindo que a perda de estabilidade das amostras não

está necessariamente relacionada com o processo HME, mas sim com uma possível incompatibilidade entre os componentes em altas temperaturas.

Apesar da antecipação na temperatura de decomposição nas misturas contendo SOL e PVPVA, todas as etapas de perda de massa relacionadas com o fármaco e os polímeros puderam ser distinguidas (Fig. 3). Mesmo assim, a somatória de eventos de perda de massa da amostra NAR/PVPVA HME ascendeu a 60%, que é aproximadamente 15% menos do esperado para todos os eventos (cerca de 75%). Este resultado pode indicar que essa amostra sofreu modificações prévias à análise termogravimétrica, sugerindo uma possível degradação devido ao processo de extrusão.

Por sua vez, amostras contendo PVA não exibiram temperatura de decomposição antecipada. A temperatura de decomposição inicial (T_d) da amostra extrusada foi de 260°C, ou seja, pelo menos 15°C acima da temperatura inicial de decomposição da NAR. Ademais, todas as etapas de perda de massa relacionadas ao fármaco e ao polímero foram observadas. A porcentagem de decomposição das amostras PM e HME foi a mesma (56%). Em suma, não houve sinais de perda de estabilidade na NAR inserida na matriz formada por PVA, inclusive depois do processamento HME.

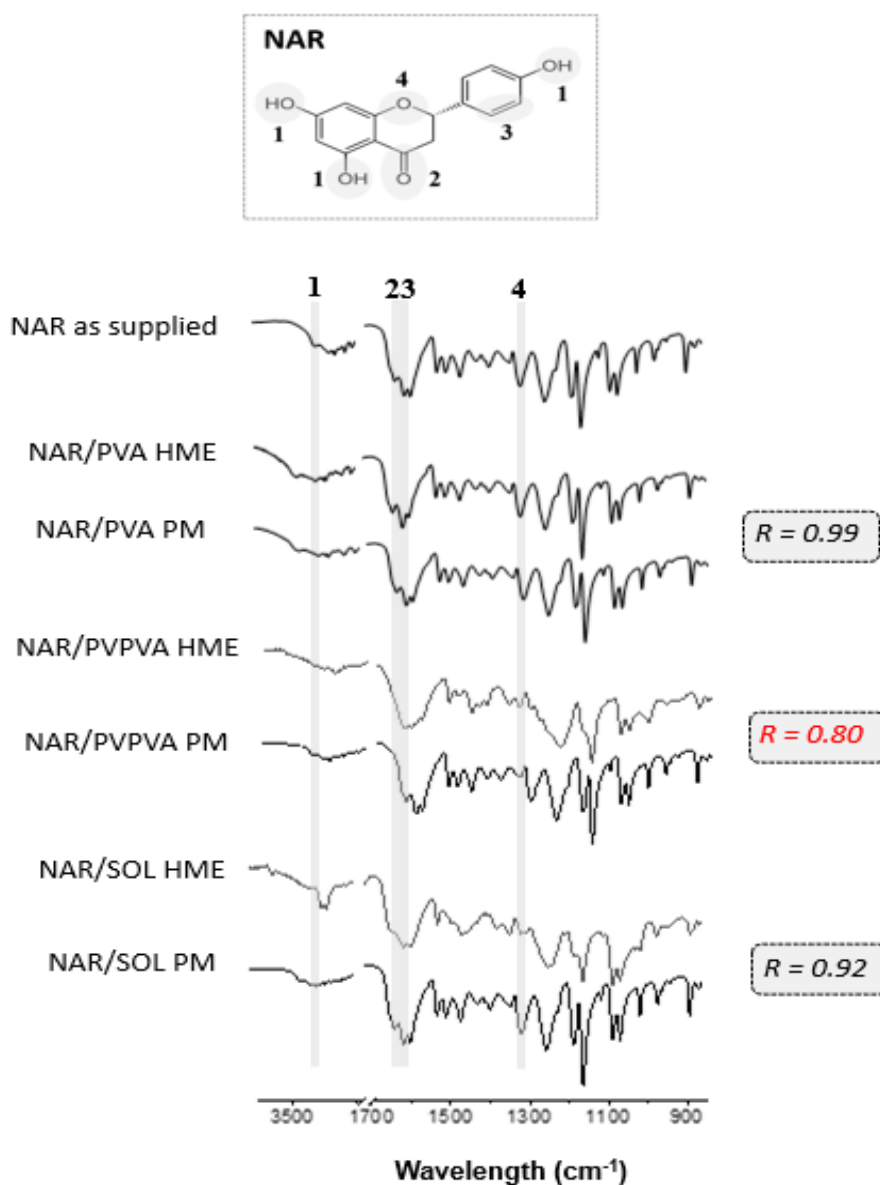
Os resultados FTIR apresentados na Fig. 4 permitem comparar as amostras extrusadas e suas misturas físicas pela observação dos grupos funcionais da NAR, assim como pelo coeficiente de correlação (R) entre os espectros.

O extrusado NAR/PVPVA exibiu um R de 0.80, sugerindo um avançado estado de decomposição do fármaco. De fato, as bandas correspondentes aos grupos funcionais da NAR, O-H, C=O, C_{ar} e C-O-C encontrados nas posições 3,261; 1,635; 1,600 e 1,307 cm^{-1} , respectivamente, praticamente desapareceram no espectro da amostra HME. Este resultado corrobora as observações das análises termogravimétricas e confirma a incompatibilidade do fármaco na matriz PVPVA sob condições regulares de processamento HME.

De forma contrária, a amostra NAR/SOL HME exibiu um R de 0.92, encaixando-se dentro dos valores recomendados para similaridade química entre amostras (PIRES et al., 2017). As flutuações de intensidade nas bandas observadas podem ser o resultado da solubilização do fármaco na matriz polimérica após o processo de extrusão. De fato, as bandas características da NAR podem ser identificadas no espectro (Fig. 4). Para este polímero em específico, o processamento por HME não compromete a estabilidade imediata da NAR; no entanto, a preservação da estabilidade a longo prazo precisa ser avaliada cuidadosamente, como sugerem os achados termogravimétricos. O uso de SOL

como matriz polimérica para a NAR deve ser criteriosamente analisado nas condições de processamento através de rigorosos estudos de estabilidade.

Figura 4. Espectro FTIR da NAR sem tratamento e suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) com os polímeros SOL, PVPVA e PVA. Os picos relacionados aos grupos funcionais da NAR aparecem sombreados no espectro e correlacionados com sua estrutura física. Os coeficientes de correlação (R) entre cada mistura antes e depois da extrusão são exibidos.



Finalmente, a amostra NAR/PVA HME não mostrou nenhum sinal de comprometimento químico, havendo alta similaridade entre os espectros ($R = 0.99$). A compatibilidade do PVA com o fármaco é demonstrada ao ser considerada a avaliação térmica em temperaturas elevadas. Nesse sentido, os estudos de compatibilidade determinaram que o PVA e o SOL são as matrizes poliméricas apropriadas para a extrusão da NAR.

3.3. Produção dos complexos de inclusão de NAR por HME

Todas as misturas demonstraram um apropriado processamento de extrusão, com fluxo contínuo, incluindo as formulações contendo água como plastificante, cujas PM exibiram aspecto de creme prévio à extrusão (SOL/HP β CD/H₂O e PVA/HP β CD/H₂O). Para a maioria das amostras, a temperatura de processamento foi estabelecida em 150°C, produzindo filamentos de cor amarelada. Surpreendentemente, enquanto a maioria de filamentos mostraram aparência homogênea, a mistura SOL/NAR teve aspecto translúcido, com vazios estruturais similares a bolhas (Tabela 1). Esse ar aprisionado tem sido relacionado com problemas na alimentação do material durante a extrusão que podem causar efeitos negativos na estabilidade das amostras (ALQAHTANI et al., 2020). No entanto, o teor de fármaco foi >98% em todas as formulações, sem sinais de decomposição, o que endossa as condições de extrusão utilizadas.

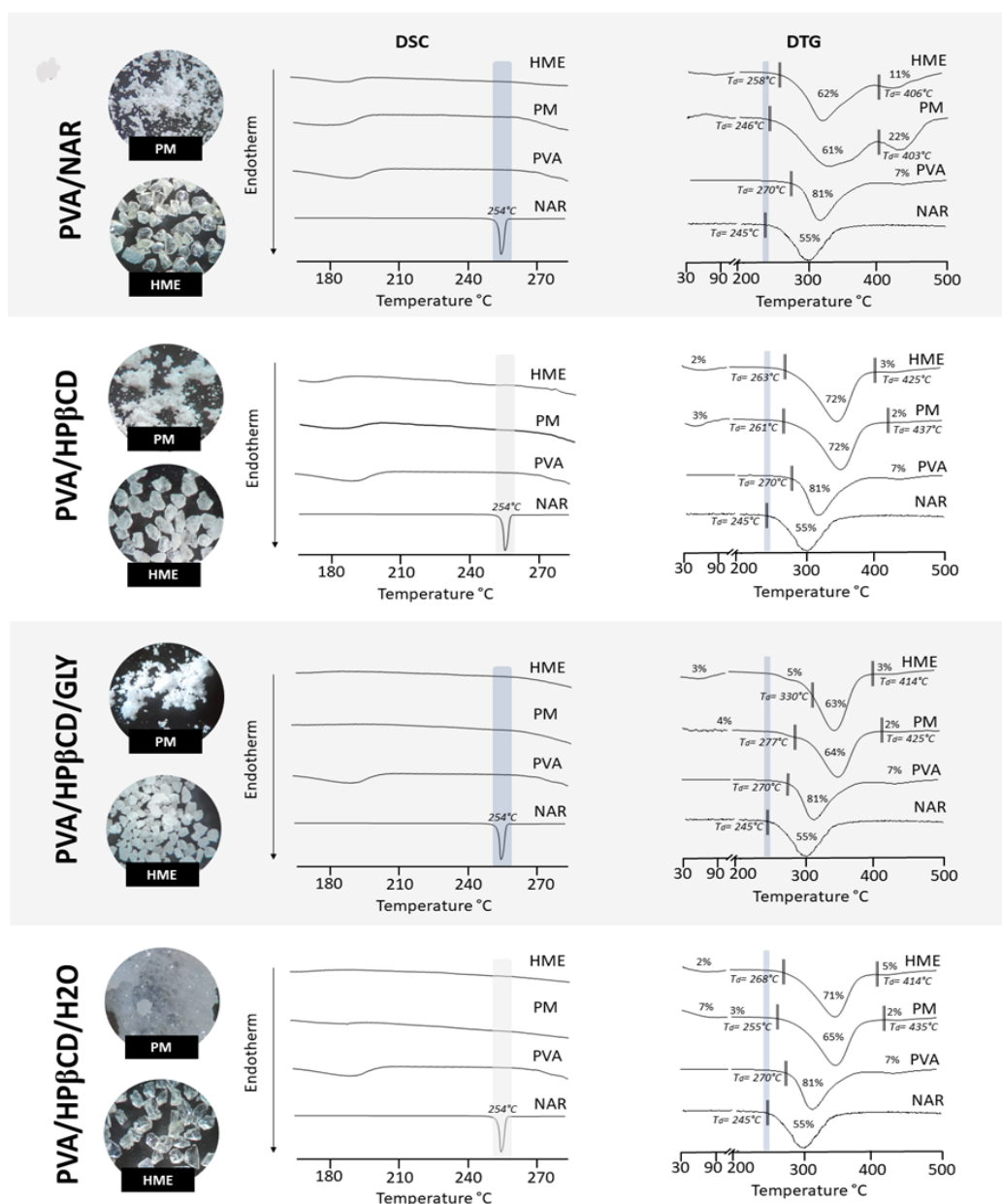
Os aspectos morfológicos das amostras revelam notáveis diferenças entre as PM e os extrusados (Fig. 5 e 6). Enquanto as PM foram observadas como um pó branco e coesivo, os extrusados pulverizados se mostraram homogêneos, com aspecto regular, arredondado e translúcido.

De acordo com os resultados do DSC, tanto nas amostras PM como nas HME não foi observado o pico de fusão da NAR (esperado próximo de 254°C), independentemente da composição da amostra (Fig. 5 e 6). Este resultado sugere a completa solubilidade do fármaco na matriz polimérica fundida, o que potencialmente cria o ambiente adequado para a encapsulação da NAR dentro da cavidade hidrofóbica da HP β CD (CUNHA-FILHO et al., 2021; MALAQUIAS et al., 2018b). No entanto, pode ser observado como na ausência de plastificantes, as amostras PM e HME formadas por PVA exibem um amplo evento endotérmico < 200°C, relacionado com a fusão do polímero, como foi descrito previamente nos estudos de compatibilidade (Fig. 5). O não aparecimento desse evento nas formulações contendo GLY ou água, sugere um efeito de plastificação desses compostos (AYDIN; ILBERG, 2016).

A análise termogravimétrica representada na Fig. 5 e 6 pela primeira derivada de perda de massa (DTG), mostra como a NAR sem tratamento sofre decomposição em uma única etapa, como foi observado previamente, e a temperatura de início de decomposição (Td) é de 245°C. Os outros componentes usados no estudo exibem degradação inicial em temperaturas superiores. Com base nos indicadores termogravimétricos obtidos por DTG,

são observadas diferenças notáveis entre as formulações relativas à sua composição, particularmente pela presença de HPβCD.

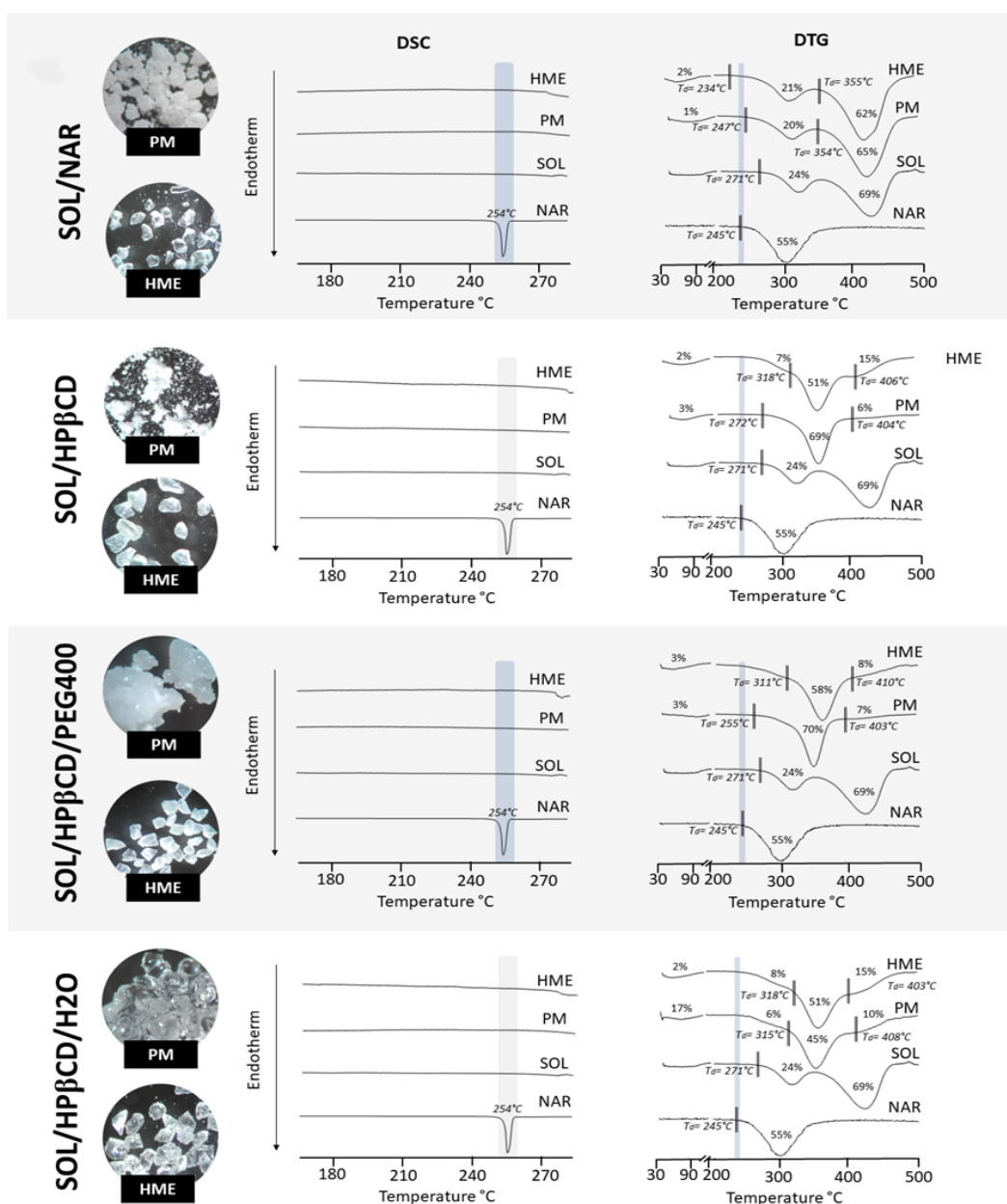
Figura 5. Microscopia óptica (30×) junto com curvas DSC e DTG da NAR e PVA sem tratamento, as misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de cada formulação. O pico de fusão da NAR aparece sombreado nas curvas DSC, o Tpeak é indicado. A temperatura de decomposição inicial (Td) é exibida nas curvas DTG junto com a perda de massa em porcentagem. O Td da NAR sem tratamento está sombreado.



Para as amostras contendo PVA como matriz polimérica (Fig. 5), o processo de extrusão da mistura NAR/PVA incrementou a estabilidade do fármaco, pois a decomposição da amostra começou 13°C acima do T_d observado para a NAR sem tratamento. A presença de HPβCD fornece um efeito protetor adicional que aumenta a

estabilidade da amostra, exibindo T_d superior em 18°C ao T_d do fármaco sem tratamento (PVA/HP β CD). A adição de plastificantes parece acentuar o nível de interação entre a ciclodextrina e o fármaco, especialmente com o uso de GLY, que retardou a degradação do fármaco em 32°C . O efeito protetor constitui evidência da formação de complexos de inclusão com ciclodextrina, ocorrendo inclusive nas PM, embora em menor grau devido à complexação *in situ* durante a análise térmica (CUNHA-FILHO et al., 2021).

Figura 6. Microscopia óptica ($30\times$) junto com as curvas DSC e DTG da NAR e SOL sem tratamento, as misturas físicas (PM) e extrusados (HME) de cada formulação. O pico de fusão da NAR aparece sombreado nas curvas DSC e o T_{peak} é indicado. A temperatura de decomposição inicial (T_d) é exibida nas curvas DTG junto com a perda de massa em porcentagem. O T_d da NAR sem tratamento está sombreadado.



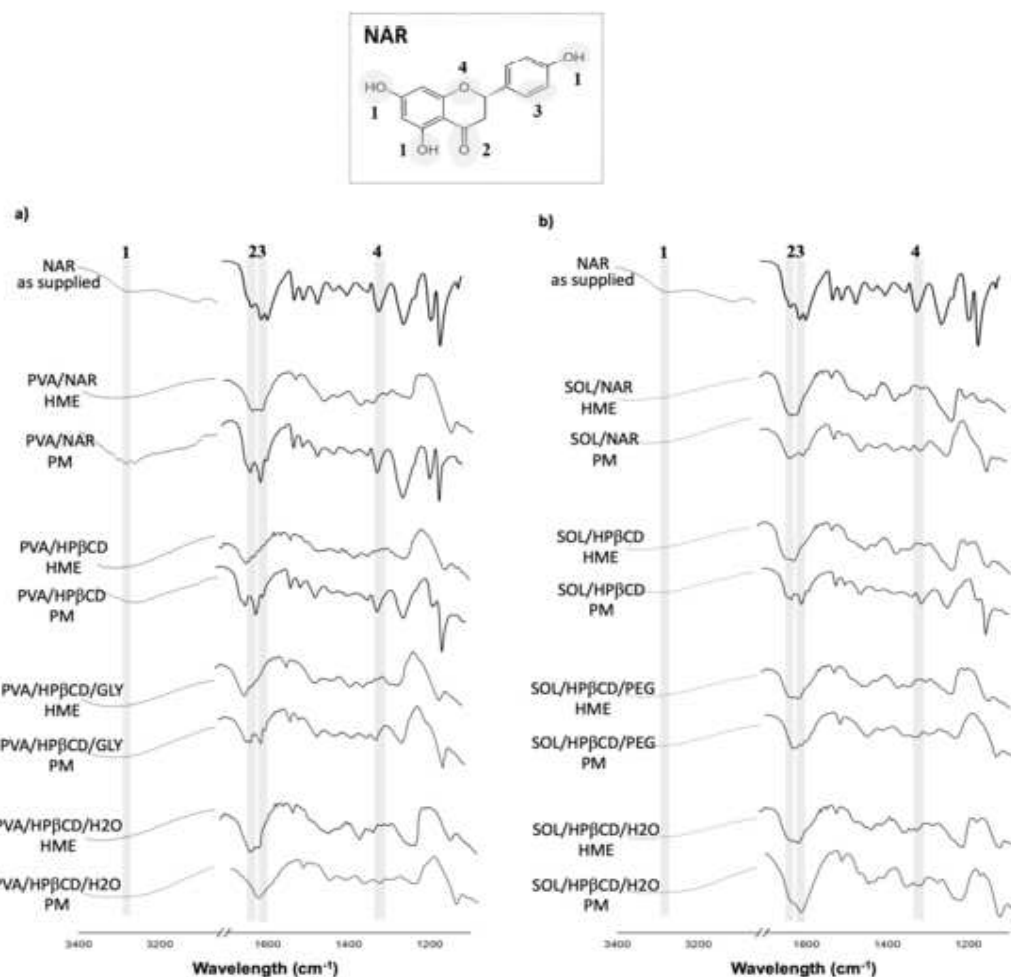
Entretanto, quando o SOL é utilizado como matriz polimérica (Fig. 6), o T_d da amostra SOL/NAR aparece 11°C antes do T_d do fármaco, corroborando os testes de compatibilidade previamente descritos e indicando a instabilidade da NAR no polímero em temperaturas elevadas. No entanto, a adição de HPβCD muda completamente esse panorama e incrementa a estabilidade dos extrusados de forma substancial, retardando a decomposição do fármaco em pelo menos 60°C, fornecendo forte evidência da interação fármaco/ciclodextrina (MALAQUIAS et al., 2018b). Além disso, ocorre uma importante redução na porcentagem de perda de massa entre as misturas PM e HME da formulação SOL/HPβCD/PEG400, sugerindo que o plastificante incrementa a interação entre a NAR e a ciclodextrina.

Os resultados da análise térmica exibem diferentes níveis de interação da NAR nas matrizes poliméricas, relacionadas com a presença de HPβCD e plastificantes, impactando diretamente na estabilidade das amostras. De fato, mudanças na temperatura de decomposição - para temperaturas mais altas, são descritas como indicativos inconfundíveis da formação de complexos de inclusão que evitam a hidrólise e oxidação dos grupos reativos do fármaco (GRATIERI et al., 2020; PIRES et al., 2019). Portanto, essas interações foram subsequentemente analisadas por FTIR (Fig. 7).

Todas as formulações evidenciaram as principais bandas características da NAR, atestando o não surgimento de interações significativamente destrutivas e confirmando a integridade química dos componentes (GRATIERI et al., 2020; MALAQUIAS et al., 2018a), o que permite corroborar o teor de fármaco dos extrusados e os estudos de compatibilidade. Porém, nas amostras HME, as bandas mostraram mudanças menores em posição e/ou intensidade, especialmente aquelas contendo PVA (Fig. 7a). Possivelmente, ligações de hidrogênio entre os grupos hidroxila do fármaco e do polímero são os responsáveis por essa situação (DE JAEGHERE et al., 2015; JHA; SHAH; AMIN, 2020).

Contudo, a formação de complexos de inclusão pode também produzir mudanças na absorção da NAR (GRATIERI et al., 2020; XU et al., 2014). De fato, reportes prévios *in silico* descrevem uma alta estabilidade dos complexos equimolares NAR/HPβCD, sugerindo a inserção profunda do fármaco dentro da cavidade hidrofóbica da ciclodextrina (GRATIERI et al., 2020). Nesse sentido, estudos ¹HNMR e 2D-ROESY revelam mudanças nos sinais dos anéis de prótons da NAR do grupo naftoquinona, propondo a formação do complexo de inclusão como resultado da profunda inserção da molécula de NAR dentro da cavidade da HPβCD (GUAN et al., 2020).

Figura 7. Espectro FTIR da Nar sem tratamento e suas misturas físicas (PM) e extrusados (HME) com HPBCD e os polímeros (a) PVA ou (b) SOL, usando GLY, PEG ou água (H₂O) como plastificantes. Os picos relacionados com os grupos funcionais da NAR aparecem sombreados no espectro e correlacionados com sua estrutura química.



Um aspecto decisivo que possibilita a produção farmacêutica em grande escala está relacionado com as propriedades de fluxo dos materiais sólidos. O fluxo livre é necessário em várias operações unitárias de processamento como: mistura, peneiramento, armazenamento, embalagem e compactação (MALAQUIAS et al., 2018b). As medições de compressibilidade utilizadas neste estudo para avaliar a fluidez das amostras são apresentadas na Tabela 2. De acordo com a literatura, pós com índices de compressibilidade menores a 10% são considerados materiais com fluidez excelente (SHAH; TAWAKKUL; KHAN, 2008). Como esperado, a NAR sem tratamento exibiu características coesivas com compressibilidade de 64%, sendo inadequada para produção industrial.

Em contraste, todos os extrusados mostraram compressibilidade inferior a 10%, independentemente da composição da formulação (uma melhoria de quase 6 vezes). Os métodos comuns de produção de complexos de inclusão com ciclodextrinas em estado sólido, como liofilização ou rota-evaporação, geram produtos coesivos e com baixa densidade com propriedades de fluxo desfavoráveis (MALAQUIAS et al., 2018b); entretanto, o processo de HME exibe uma outra vantagem tecnológica no preparo de complexos de inclusão sólidos com ciclodextrinas, uma vez que a densificação do material sólido através do processo de extrusão resulta em grânulos de fluxo livre (LIMA et al., 2020; MALAQUIAS et al., 2018b).

Tabela 2. Medidas de fluxo da NAR sem tratamento e das formulações HME. SD: desvio padrão.

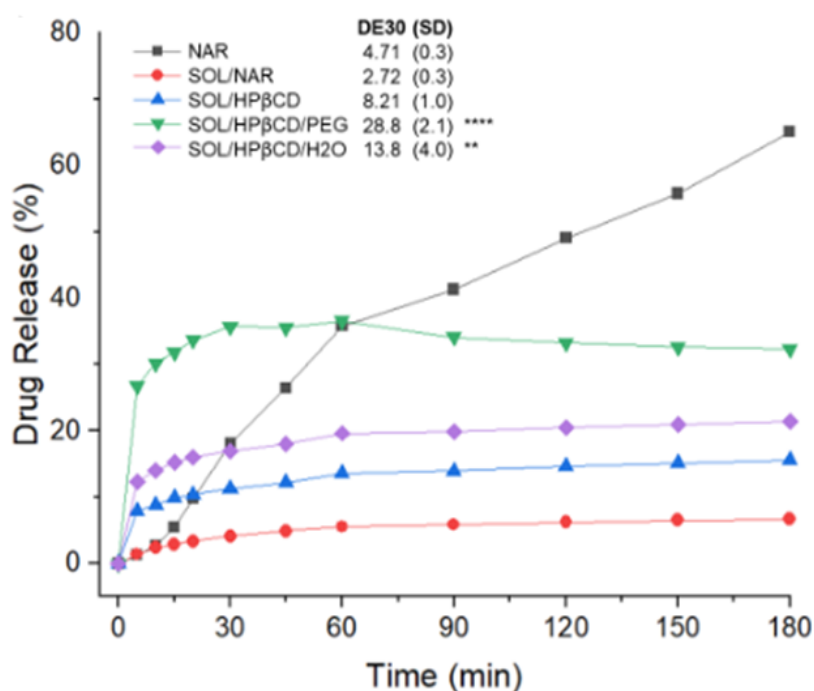
Sample	Compressibility (% \pm SD)
NAR	64.58 \pm 1.80
PVA/NAR	5.86 \pm 2.76
PVA/HPβCD	6.05 \pm 2.52
PVA/HPβCD/GLY	4.19 \pm 1.01
PVA/HPβCD/H₂O	6.16 \pm 2.67
SOL/NAR	9.89 \pm 1.63
SOL/HPβCD	6.07 \pm 3.50
SOL/HPβCD/PEG	8.13 \pm 1.92
SOL/HPβCD/H₂O	8.35 \pm 5.82

3.4. Estudos de dissolução

A determinação dos perfis de dissolução dos extrusados de NAR complexada com HP β CD é fundamental para avaliar sua utilidade como sistema de liberação de fármacos de administração oral. A Fig. 8 mostra os perfis de dissolução da NAR e das amostras HME obtidas com PVA e SOL. Como esperado, considerando sua hidrofobicidade (GRATIERI et al., 2020; TOZUKA; KISHI; TAKEUCHI, 2010), a NAR não tratada teve uma dissolução lenta e incompleta, sendo dissolvido unicamente 18% da dose em 30 min,

e cerca de 65% depois de 180 min. Contudo, são notáveis as diferenças encontradas na dissolução dos extrusados dependendo do polímero utilizado.

Figura 8a. Perfil de dissolução da NAR sem tratamento e dos sistemas HME contendo HPBCD e o polímero SOL, usando PEG ou água (H₂O) como plastificantes. Os valores médios DE30 e o desvio padrão (SD) são apresentados. Diferenças significativas DE30 entre as amostras são identificadas de acordo com o Tukey post-test ($p \leq 0.05$).



SOL/HPβCD/PEG > SOL/HPβCD/H₂O > NAR = SOL/NAR = SOL/HPβCD

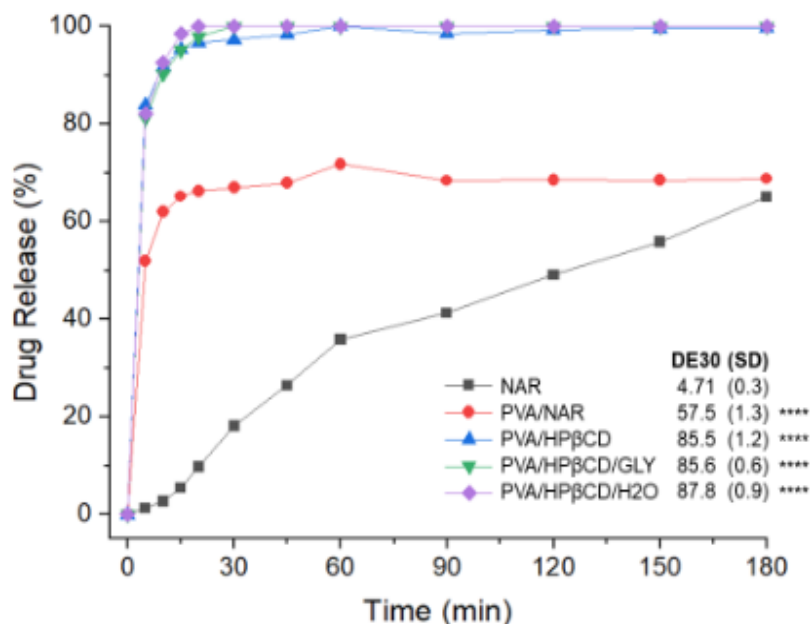
O SOL é um polímero anfifílico, primariamente hidrofílico, que sofre rápida desintegração em água e tende a incrementar a dissolução de fármacos pouco hidrossolúveis através da formação de micelas (EMAM et al., 2021; LAVRA; PEREIRA DE SANTANA; RÉ, 2017; MALAQUIAS et al., 2018a). Ainda assim, o extrusado SOL/NAR mostrou uma lenta dissolução do fármaco, com DE30= 2.7 (Fig. 8a); sendo inferior ao valor mostrado na dissolução do fármaco sem tratamento, DE30= 4.7. A forte interação do fármaco com este polímero sugerida pelos resultados da análise térmica e espectroscópica, junto com a gelificação das partículas de SOL, cria uma barreira para a livre difusão do fármaco em direção ao meio de dissolução, explicando assim o lento perfil de dissolução dessa amostra.

Os extrusados das formulações contendo SOL deram origem a uma acelerada dissolução da NAR nos primeiros 5-10 min do teste devido ao rápido umedecimento e desintegração da matriz em finas partículas. Não obstante, nos minutos subsequentes do

teste, a dissolução foi acentuadamente lenta (Fig. 8a). Um comportamento similar foi descrito recentemente para o taladafil processado por HME, em que a difusão do fármaco a partir da matriz polimérica ocorre lentamente devido à formação de uma espessa camada de gel ao redor das partículas desintegradas, com uma baixa porosidade, o que retarda sua dissolução (KRUPA et al., 2017; SLÁMOVÁ et al., 2020).

A complexação com ciclodextrinas modula a dissolução da NAR das matrizes SOL, acelerando-a em razão do nível de formação do complexo de inclusão alcançado durante o processo HME (Fig. 8a). Nas extrusões realizadas com incorporação de plastificantes, que incrementam o nível de complexação NAR/HPβCD, ocorre uma redução na ligação do fármaco com a matriz polimérica, causando em consequência, um incremento na taxa de dissolução. De fato, o extrusado SOL/HPβCD mostrou DE30= 8.2, enquanto o uso de PEG melhorou a dissolução em mais de três vezes (SOL/HPβCD/PEG DE30= 28.8). O uso de água como plastificante resultou em níveis intermediários de complexação com DE30= 13.8 para SOL/HPβCD/H2O.

Figura 8b. Perfil de dissolução da NAR sem tratamento e dos sistemas HME contendo HPβCD e o polímero PVA, usando GLY ou água (H2O) como plastificantes. Os valores médios DE30 e o desvio padrão (SD) são apresentados. Diferenças significativas no DE30 entre as amostras são identificadas de acordo com o Tukey post-test ($p \leq 0.05$).



PVA/HPβCD/H2O = PVA/HPβCD/GLY = PVA/HPβCD > PVA/NAR > NAR

Em contraste, a rápida solubilização do PVA em água acelera notavelmente a dissolução da NAR (Fig. 8b). A amostra PVA/NAR mostrou dissolução quase instantânea do fármaco, chegando próxima da saturação do meio (cerca de 65% da dose). Nas formulações extrusadas com ciclodextrina, a formação dos complexos de inclusão pode ser comprovada pelo aumento na fração dissolvida do fármaco, que alcançou 100% da dose em apenas 15 min. A dissolução imediata da dose completa é similar em todos os complexos de inclusão contendo PVA formados por HME, sem importar o plastificante.

Quando são comparados os perfis de dissolução da NAR a partir de complexos de inclusão produzidos por diferentes processos tecnológicos, considerando metodologias de dissolução similares (meio de dissolução aquoso e dose), os resultados mais promissores foram obtidos por nano suspensões produzidas pelo método de precipitação por ultrasonicação, onde foram dissolvidos 3.0 mg L^{-1} em 15 min (SINGH et al., 2018). Entretanto, dispersões sólidas produzidas por evaporação de solventes alcançaram 10 mg L^{-1} em 15 min (KHAN et al., 2015); complexos de inclusão em HP β CD produzidos por precipitação com mudança de solvente atingiram 18.1 mg L^{-1} depois de 15 min (GRATIERI et al., 2020). Inclusive matrizes poliméricas de poloxamer extrusadas com NAR alcançaram, no melhor dos sistemas produzidos, uma dissolução de 20 mg L^{-1} em 15 min (JHA; SHAH; AMIN, 2020). Ademais, nano suspensões produzidas por sono-precipitação de anti-solventes dissolveram 24 mg L^{-1} do fármaco passados 15 min (GERA et al., 2017), ou seja, 15% menos que o valor obtido neste trabalho. Em síntese, todos esses resultados foram inferiores à dissolução da NAR alcançada nos complexos de inclusão contendo PVA produzidos por HME, nos quais 28 mg L^{-1} do fármaco foram dissolvidos em 15 min. Extraordinariamente, esta performance de dissolução é atingida sem o uso de solventes orgânicos, em um processo de produção contínua de uma única etapa, diferentemente dos métodos de produção mencionados que utilizam solventes orgânicos e dispendiosas etapas de produção.

Estes resultados confirmam que o uso da HME como método de formação de complexos de inclusão de NAR pode alcançar altas taxas de complexação, gerando excelentes resultados em termos de modulação do perfil de dissolução, uma vez estabelecidas as condições ideais.

4. CONCLUSÕES

Os resultados mostram como a escolha cuidadosa da matriz polimérica possibilita a formação de complexos de inclusão por HME com elevadas taxas de encapsulação, contornando as aparentes características desfavoráveis do fármaco para sua complexação com ciclodextrinas, como a elevada temperatura de fusão. Nesse sentido, o uso de estratégias de pré-formulação, como film-casting e estudos de compatibilidade fármaco/polímero são decisivos no refinamento das matrizes poliméricas para a extrusão da NAR. A extrusão da NAR nas matrizes poliméricas PVA ou SOL levou a resultados de dissolução totalmente diferentes. Os extrusados PVA aceleraram a dissolução da NAR, especialmente nos sistemas contendo HP β CD, que exibiram níveis elevados de complexação e quase dissolução instantânea, inclusive superior a outras tecnologias de produção descritas na literatura. Porém, as amostras extrusadas com SOL retardaram a dissolução da NAR, com taxas moduladas pelo grau de complexação alcançado, dependendo do uso de plastificantes. Assim, a NAR complexada usando PVA ou SOL por HME poderia trabalhar de forma complementar em sistemas que combinem a dissolução imediata e prolongada do fármaco, otimizando sua biodisponibilidade de acordo com a demanda específica de tratamento. Consequentemente, os sistemas HME aqui obtidos fornecem uma forma de administração oral versátil de NAR com evidentes vantagens industriais, como o não uso de solventes e o fácil escalonamento do processo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALQAHTANI, F. et al. An investigation into the formations of the internal microstructures of solid dispersions prepared by hot melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 155, p. 147–161, 1 out. 2020.

AYDIN, A. A.; ILBERG, V. Effect of different polyol-based plasticizers on thermal properties of polyvinyl alcohol:starch blends. **Carbohydrate Polymers**, v. 136, p. 441–448, 20 jan. 2016.

BARMPALEXIS, P.; KARAGIANNI, A.; KACHRIMANIS, K. Molecular simulations for amorphous drug formulation: Polymeric matrix properties relevant to hot-melt extrusion. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 119, p. 259–267, 1 jul. 2018.

CHAURASIA, S. et al. Potential of Cationic-Polymeric Nanoparticles for Oral Delivery of Naringenin: In Vitro and In Vivo Investigations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 2, p. 706–716, 1 fev. 2018.

CUNHA-FILHO, M. et al. The utility of thermal analysis in the preformulation and development of an antifungal nail lacquer containing thymol. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 146, n. 1, p. 177–185, 1 out. 2021.

CUNHA-FILHO, M. S. S.; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; LANDÍN, M. Dissolution rate enhancement of the novel antitumoral β -lapachone by solvent change precipitation of microparticles. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 3, p. 871–877, ago. 2008.

DANIEL, S. P. J. et al. Erythromycin-excipients compatibility studies using the thermal analysis and dynamic thermal infrared spectroscopy coupled with chemometrics. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 143, p. 3127–3135, 2021.

DE JAEGHERE, W. et al. Termoextrusão de polivinil álcool para aplicações de liberação imediata oral. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 492, n. 1–2, p. 1–9, 13 jul. 2015.

EMAM, M. F. et al. Preparation, characterization and in-Vitro/in-Vivo evaluation of meloxicam extruded pellets with enhanced bioavailability and stability. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 47, n. 1, p. 163–175, 2021.

FRABASILE, S. et al. The citrus flavanone naringenin impairs dengue virus replication in human cells. **Scientific Reports**, v. 7, 3 fev. 2017.

GERA, S. et al. Formulation and Evaluation of Naringenin Nanosuspensions for Bioavailability Enhancement. **AAPS PharmSciTech**, v. 18, n. 8, p. 3151–3162, 1 nov. 2017.

GRATIERI, T. et al. Hydroxypropyl- β -cyclodextrin-complexed naringenin by solvent change precipitation for improving anti-inflammatory effect in vivo. **Carbohydrate Polymers**, v. 231, 1 mar. 2020.

GUAN, M. et al. Characterization, in vitro and in vivo evaluation of naringenin-hydroxypropyl- β -cyclodextrin inclusion for pulmonary delivery. **Molecules**, v. 25, n. 3, 28 jan. 2020.

HANCOCK, B. C.; ZOGRAFI, G. The Relationship Between the Glass Transition Temperature and the Water Content of Amorphous Pharmaceutical Solids. **Pharmaceutical research**, v. 11, n. 4, 22 set. 1994.

ICH, 2006. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.ich.org/products/guidelines/quality/quality-single/article/validation-of-analytical-procedurestext-and-methodology.html>>. Acesso em: 13 out. 2021.

JHA, D. K.; SHAH, D. S.; AMIN, P. D. Thermodynamic aspects of the preparation of amorphous solid dispersions of Naringenin with enhanced dissolution rate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 583, 15 jun. 2020.

KARIM, N. et al. **A recent review of citrus flavanone naringenin on metabolic diseases and its potential sources for high yield-production** **Trends in Food Science and Technology** Elsevier Ltd, , 1 set. 2018.

KHAN, A. W. et al. Enhanced dissolution and bioavailability of grapefruit flavonoid Naringenin by solid dispersion utilizing fourth generation carrier. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 41, n. 5, p. 772–779, 1 maio 2015.

KRUPA, A. et al. In vitro and in vivo behavior of ground tadalafil hot-melt extrudates: How the carrier material can effectively assure rapid or controlled drug release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 528, n. 1–2, p. 498–510, 7 ago. 2017.

LAVRA, Z. M. M.; PEREIRA DE SANTANA, D.; RÉ, M. I. Solubility and dissolution performances of spray-dried solid dispersion of Efavirenz in Soluplus. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 1, p. 42–54, 2 jan. 2017.

LIMA, A. L. et al. Termoextrusão as an advantageous technology to obtain effervescent drug products. **Pharmaceutics**, v. 12, n. 8, p. 1–20, 1 ago. 2020.

LIMA, S. G. B. et al. Preformulation studies of finasteride to design matrix systems for topical delivery. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 161, p. 273–279, 30 nov. 2018.

LINN, M. et al. Soluplus® as an effective absorption enhancer of poorly soluble drugs in vitro and in vivo. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 3, p. 336–343, 14 fev. 2012.

MALAQUIAS, L. F. B. et al. Hot Melt Extrudates Formulated Using Design Space: One Simple Process for Both Palatability and Dissolution Rate Improvement. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 1, p. 286–296, 1 jan. 2018a.

MALAQUIAS, L. F. B. et al. Taste masking and rheology improvement of drug complexed with beta-cyclodextrin and hydroxypropyl- β -cyclodextrin by hot-melt extrusion. **Carbohydrate Polymers**, v. 185, p. 19–26, 1 abr. 2018b.

- MARRETO, R. N. et al. Hot melt-extrusion improves the properties of cyclodextrin-based poly(pseudo)rotaxanes for transdermal formulation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 586, 30 ago. 2020.
- MATO MOFO, E. P.; ESSOP, M. F.; OWIRA, P. M. O. Citrus fruit-derived flavonoid naringenin and the expression of hepatic organic cation transporter 1 protein in diabetic rats treated with metformin. **Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology**, v. 127, n. 3, p. 211–220, 1 set. 2020.
- MIAO, H. et al. Preparation and characterization of naringenin microparticles via a supercritical anti-Solvent process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 131, p. 19–25, 1 jan. 2018.
- NOGAMI, S. et al. Stabilizing effect of the cyclodextrins additive to spray-dried particles of curcumin/polyvinylpyrrolidone on the supersaturated state of curcumin. **Advanced Powder Technology**, 2021.
- NOWAK, P. et al. Water vapour sorption in tadalafil-Soluplus co-milled amorphous solid dispersions. **Powder Technology**, v. 346, p. 373–384, 15 mar. 2019.
- NYAVANANDI, D. et al. Impact of hydrophilic binders on stability of lipid-based sustained release matrices of quetiapine fumarate by the continuous twin screw melt granulation technique. **Advanced Powder Technology**, v. 32, n. 7, p. 2591–2604, 1 jul. 2021.
- OLIVEIRA, M. A. et al. Naringenin complexed with hydroxypropyl- β -cyclodextrin improves the sciatic nerve regeneration through inhibition of p75NTR and JNK pathway. **Life Sciences**, v. 241, 15 jan. 2020.
- PARIKH, T. et al. Application of Film-Casting Technique to Investigate Drug-Polymer Miscibility in Solid Dispersion and Hot-Melt Extrudate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, n. 7, p. 2142–2152, 1 jul. 2015.
- PARK, H. J. et al. Naringenin causes ASK1-induced apoptosis via reactive oxygen species in human pancreatic cancer cells. **Food and Chemical Toxicology**, v. 99, p. 1–8, 1 jan. 2017.
- PINHO, L. A. G. et al. Improvements of theobromine pharmaceutical properties using solid dispersions prepared with newfound technologies. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 132, p. 1193–1201, 1 abr. 2018.
- PIRES, F. Q. et al. Use of mixture design in drug-excipient compatibility determinations: Thymol nanoparticles case study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 137, p. 196–203, 15 abr. 2017.
- PIRES, F. Q. et al. Thermal analysis used to guide the production of thymol and Lippia organoides essential oil inclusion complexes with cyclodextrin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 137, n. 2, p. 543–553, 30 jul. 2019.
- POORESMAEIL, M.; NAMAZI, H. Preparation and characterization of polyvinyl alcohol/ β -cyclodextrin/GO-Ag nanocomposite with improved antibacterial and strength properties. **Polymers for Advanced Technologies**, v. 30, n. 2, p. 447–456, 1 fev. 2019.

- REPKA, M. A. et al. Melt extrusion with poorly soluble drugs – An integrated review. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 535, n. 1–2, p. 68–85, 15 jan. 2018.
- SAOKHAM, P. et al. Characterization and evaluation of ternary complexes of ascorbic acid with γ -cyclodextrin and poly (Vinyl alcohol). **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 12, p. 1–14, 1 jun. 2020.
- SARABU, S. et al. **An update on the contribution of termoextrusão technology to novel drug delivery in the twenty-first century: part II Expert Opinion on Drug Delivery** Taylor and Francis Ltd, , 3 jun. 2019.
- SHAH, R. B.; TAWAKKUL, M. A.; KHAN, M. A. Comparative evaluation of flow for pharmaceutical powders and granules. **AAPS PharmSciTech**, v. 9, n. 1, p. 250–258, mar. 2008.
- SHEKESKEY, P. J.; COOK, W. G.; CABLE, C. G. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 8th. ed. [s.l.] Pharmaceutical Press, 2017.
- SHULMAN, M. et al. Enhancement of naringenin bioavailability by complexation with hydroxypropyl- β -cyclodextrin. **PLoS ONE**, v. 6, n. 4, 2011.
- SINGH, M. K. et al. Fabrication of surfactant-stabilized nanosuspension of naringenin to surpass its poor physiochemical properties and low oral bioavailability. **Phytomedicine**, v. 40, p. 48–54, 1 fev. 2018.
- SLÁMOVÁ, M. et al. Preparation of solid dispersions with respect to the dissolution rate of active substance. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 56, 1 abr. 2020.
- TALVANI, A. et al. Carvedilol: Decomposition kinetics and compatibility with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2501–2506, mar. 2014.
- THIRY, J. et al. Continuous production of itraconazole-based solid dispersions by hot melt extrusion: Preformulation, optimization and design space determination. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 515, n. 1–2, p. 114–124, 30 dez. 2016.
- TOZUKA, Y.; KISHI, J.; TAKEUCHI, H. Anomalous dissolution property enhancement of naringenin from spray-dried particles with α -glucosylhesperidin. **Advanced Powder Technology**, v. 21, n. 3, p. 305–309, maio 2010.
- XU, X. R. et al. Preparation of naringenin/ β -cyclodextrin complex and its more potent alleviative effect on choroidal neovascularization in rats. **BioMed Research International**, v. 2014, 2014.
- XUE, N. et al. Antinociceptive and anti-inflammatory effect of Naringenin in different nociceptive and inflammatory mice models. **Life Sciences**, v. 217, p. 148–154, 15 jan. 2019.

