



UFBA

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM
ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

MESTRADO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL

LEILA LYRA PIRES DA SILVA

MICRONIZAÇÃO DE PARTÍCULAS DE LEVOTIROXINA SÓDICA E
CHALCONAS USANDO CO₂ COMO ANTISSOLVENTE SUPERCRÍTICO



SALVADOR
2016



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
INDUSTRIAL

LEILA LYRA PIRES DA SILVA

Micronização de partículas de levotiroxina sódica e
chalconas usando CO_2 como antissolvente supercrítico

SALVADOR
2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
INDUSTRIAL

LEILA LYRA PIRES DA SILVA

Micronização de partículas de levotiroxina sódica e chalconas usando CO₂ como antissolvente supercrítico

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Industrial como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Mestre em Engenharia Industrial, sob orientação do Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo e da Prof.^a. Dra. Elaine Christine de Magalhães Cabral Albuquerque.

SALVADOR
2016

DA SILVA, LEILA LYRA PIRES

**Micronização de partículas de levotiroxina sódica e
chalconas usando CO₂ como antissolvente supercrítico / Leila**

Lyra Pires da Silva.

100 f.

Orientador: Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo ,
Dissertação (Mestrado – Engenharia Industrial – PEI) – Universidade
Federal da Bahia, Escola politécnica, 2017.

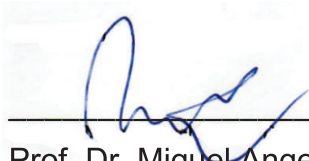
1. Micronização 2. Precipitação SAS 3. Dióxido de carbono
supercrítico, 4. Levotiroxina sódica 5. Chalconas.

I. de Melo, Silvio Alexandre Beisl Vieira II. Títulos

LEILA LYRA PIRES DA SILVA

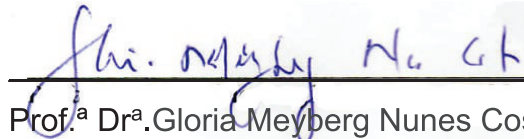
Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós Graduação em Engenharia Industrial da Escola Politécnica da Universidade Federal da Bahia – UFBA, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre.

Examinada por:



Prof. Dr. Miguel Angel Iglesias Duro (Presidente, PEI-UFBA) D.Sc – Examinador
Doutorado em Simulación y Control de Procesos Químicos pela Universidade de
Vigo (1999).

Universidade Federal da Bahia.



Prof.ª Dr.ª Gloria Meyberg Nunes Costa (PEI-UFBA) D.Sc – Examinadora
Doutorado em Engenharia Industrial pela Universidade Federal da Bahia (2009)
Universidade Federal da Bahia



Prof.ª Dr.ª Islane Espírito Santo, D.Sc – Examinadora
Doutorado em Engenharia Industrial pela Universidade Federal da Bahia (2015)

Salvador, BA - BRASIL
Novembro /2016

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação de Mestrado em Engenharia Industrial

Orientadores:

Prof. Dr. Silvio Alexandre Beisl Vieira de Melo

Prof.^a Dr.^a. Elaine Christine Magalhães Cabral Albuquerque

Dedicatória

A meus filhos, Pedro Arthur e Luma Lyra,
que me dão força, que me ensinam a ser
uma pessoa melhor a cada dia.

A meus pais, que são a minha base e
meus exemplos, sempre me incentivando
a seguir em frente e superar as
adversidades.

Agradecimentos

Ao Programa de Engenharia Industrial PEI, pela oportunidade de realização de trabalhos em minha área de pesquisa.

Ao meu orientador, Prof. Silvio A. B. Vieira de Melo pela confiança, oportunidade, paciência e orientações e pelos conhecimentos por ele passado.

A minha orientadora, Prof.^a Elaine C. de Magalhães Cabral Albuquerque, pelo acompanhamento, orientações repletas de ensinamentos e exemplo.

À Prof.^a Cássia Detoni acompanhamento inicial, orientações e treinamentos dos equipamentos e discussões.

À Prof.^a Ariana Melo pelas orientações iniciais prestadas.

À equipe da secretária do PEI pelo apoio e orientação, em especial à Thaty.

Às colegas do PEI, Tairine Medrado e Luciana Toralles pelo apoio e companheirismo ao longo da nossa trajetória de estudos.

Aos professores do PEI pelos ensinamentos nas disciplinas cursadas.

Ao Técnico de laboratório Valdinei e aos amigos de iniciação científica Tatiana Dantas, Ivan Passos, Vanessa Lyra, Júlia Cerqueira e Marcio por ter me ajudado nos experimentos e tornando tudo mais possível.

E a todas as pessoas que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização desta dissertação.

À CAPES pela provisão da bolsa de mestrado.

Ao CNPq, pelo financiamento dos projetos de pesquisa que deram suporte ao desenvolvimento dessa dissertação.

“Tudo posso naquele que me fortalece”.

(Filipenses 4:13)

DA SILVA, Leila Lyra P. **Micronização de partículas de levotiroxina sódica e chalconas usando CO₂ como antissolvente supercrítico**, 2016. Dissertação (Mestrado) - Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

RESUMO

O desenvolvimento de novas técnicas de preparação de formulações terapêuticas é de grande interesse da indústria farmacêutica, entre as quais se destaca a micronização com fluido supercrítico, que permite a obtenção de micro e nanopartículas, isentas de solventes residuais, além da possibilidade de alteração da sua morfologia, e o processamento a temperaturas amenas evitando problemas de degradação térmica. Essas vantagens tornam a micronização supercrítica atrativa em comparação às técnicas tradicionais de micronização de partículas. Entre as diversas técnicas de micronização de partículas usando fluidos supercríticos, uma das mais promissoras é a técnica de precipitação usando antissolvente supercrítico (SAS). Na presente dissertação, estudou-se o processo de micronização SAS da levotiroxina sódica, hormônio sintético aplicado no tratamento de pacientes com hipotireoidismo, e de 3 chalconas (transchalcona, chalcona CH₃ e NAT 22), empregadas no tratamento da leishmaniose, usando-se dióxido de carbono como antissolvente supercrítico. As quatro drogas apresentam problemas de baixa biodisponibilidade, que pode ser melhorada alterando-se a sua morfologia e a distribuição de tamanho das partículas, resultando no aumento da eficácia terapêutica das suas formulações. As corridas experimentais de micronização supercrítica dessas drogas, em escala de bancada, foram precedidas de estudos de equilíbrio de fases a alta pressão, para delimitar no diagrama de fases dos respectivos sistemas ternários droga+solvente orgânico+CO₂ supercrítico a região em que se forma uma única fase, acima do ponto crítico da mistura, e identificar a faixa de temperatura e pressão mais apropriada à operação da micronização SAS. A caracterização do material micronizado foi feita por microscopia eletrônica de varredura (MEV), para identificar a morfologia e a ordem de grandeza dos tamanhos das partículas, e a técnica de difração laser (*dynamic light scattering* - DLS) foi empregada para determinar a distribuição de tamanhos das partículas. Os resultados para a levotiroxina sódica revelaram a alteração da morfologia do material original e uma distribuição de tamanhos de partículas tanto na faixa micrométrica

quanto na faixa nanométrica. Para as três chalconas, os resultados da micronização indicaram uma limitação da técnica SAS, incapaz de evitar o problema da ressolubilização da droga durante a despressurização do sistema, o que pode ser explicado também pela afinidade química solvente-antissolvente supercrítico-droga.

Palavras-Chave: Micronização, precipitação SAS, dióxido de carbono supercrítico, levotiroxina sódica, chalconas.

DA SILVA, Leila Lyra P. **Micronization of sodium levothyroxine particles and chalcones using CO₂ as supercritical antisolvent**, 2016. Dissertação (Mestrado) – Escola Politécnica, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2016.

ABSTRACT

The development of new preparation techniques of therapeutic formulations is of great interest to the pharmaceutical industry, among which stands out the supercritical fluid micronization. This technique allows obtaining micro- and nanoparticles free from residual solvents, besides the possibility to change its morphology and processing at mild temperatures to avoid thermal degradation. These advantages make the supercritical fluid micronization more attractive than traditional techniques for particle micronization. . Among the various techniques for particle micronization using supercritical fluids, one of the most promising technique is the supercritical antisolvent precipitation (SAS). In this dissertation, we studied the SAS micronization of sodium levothyroxine, the synthetic hormone used in the treatment of patients with hypothyroidism, and 3 chalcones (transchalcone, chalcone CH8 and NAT 22), used in the treatment of leishmaniasis, employing supercritical carbon dioxide as antisolvent. These four drugs exhibit low bioavailability that can be improved by changing its morphology and particle size distribution, resulting in increased therapeutic efficacy of their formulations. The experimental runs of the supercritical fluid micronization of these drugs, in a bench scale, were preceded by high pressure phase equilibrium studies to determine the region in the phase diagram of the ternary system drug + organic solvent + supercritical CO₂ where only a single phase exists, above the mixture critical point, and identify the more appropriate pressure and temperature range for SAS operation. The characterization of the micronized material was made by scanning electron microscopy (SEM) to identify the morphology and magnitude of the particle size, and by dynamic light scattering (DLS) to determine the particle size distribution. The results for levothyroxine sodium revealed the change in morphology of the original material and a particle size distribution both in the micro and nanometer range. For the three chalcones, the

micronization results indicated a limitation of the SAS technique, unable to avoid the problem of redissolution of the drug during depressurization of the system, which can also be explained by the chemical affinity between the solvent, the supercritical antisolvent and the drug.

Keywords: Micronization, SAS technology, supercritical carbon dioxide, sodium levothyroxine, chalcones.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Diagrama de fases de pressão-temperatura para o dióxido de carbono. Ponto triplo (TP) e Ponto crítico (CP)(CARDOSO, 2013).....	24
Figura 2.2. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica RESS (SOUZA, HERMÍNIO C., BRAGA, MARA E M, 2015).....	27
Figura 2.3. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica PGSS (SOUZA, HERMÍNIO C., BRAGA, MARA E M, 2015).....	29
Figura 2.4. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica GAS. (JUNG; PERRUT, 2001).....	30
Figura 2.5. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica SAS. (JUNG; PERRUT, 2001).....	33
Figura 2.6. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica SEDS. (TABERNERO; MARTÍN DEL VALLE; GALÁN, 2012).....	34
Figura 2.7. Representação esquemática do ARISE.....	36
Figura 2.8. Representação esquemática da técnica DELOS.....	37
Figura 2.9. Representação esquemática da técnica SAA.....	38
Figura 2.10. Injeção assistida supercrítica num anti-solvente líquido (SAILA).....	40
Figura 2.11. Estruturas moleculares da Levotiroxina (CHEMBURKAR et al., 2010).....	42
Figura 2.12. Estrutura molecular da transchalcona (SAMPAIO DE SOUSA <i>et al.</i> , 2009).....	44
Figura 2.13. Estrutura molecular da CH ₈ (ZANCHETTA, 2009).....	44
Figura 2.14. Estrutura molecular da NAT 22 (BOECK <i>et al.</i> , 2006).....	44
Figura 3.1. Planta SAS.....	48
Figura 3.2. Esquema do Equipamento de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão (EQUIFASE).....	52
Figura 3.3. Equipamento de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão (EQUIFASE).....	53
Figura 3.4. Analisador de tamanhos Mastersizer 3000 (Malvern ®)usando difração por espalhamento dinâmico de luz.....	55
Figura 4.1. Diagrama de equilíbrio líquido-vapor para um sistema do tipo CO ₂ -solvente orgânico (adaptado de Reverchon e De Marco, 2011).....	60
Figura 4.2. Diagrama de fases do sistema binário etanol-CO ₂ (Dados experimentais obtidos de Knezet al., 2008).....	61

Figura 4.3. Diagrama de fases do sistema binário acetato de etila-CO ₂ (Dados experimentais obtidos de Da Silva et al., 2000).....	62
Figura 4.4: Micrografia das amostras analisadas: (A) levotiroxina comercial e levotiroxina sódica micronizada com etanol, para diferentes densidades do CO ₂ : (B) (0,385 g/ cm ³), (C) 0,433 g/ cm ³ , (D)0,512 g/ cm ³ , (E) 0,489 g/ cm ³ , (F) 0,599 g/ cm ³	67
Figura 4.5. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica comercial.....	70
Figura 4.6. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,385 g/cm ³).....	70
Figura 4.7: Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,512 g/cm ³).....	70
Figura 4.8: Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,433 g/cm ³).....	71
Figura 4.9: Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,489 g/cm ³).....	71
Figura 4.10: Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,599 g/cm ³).....	71
Figura 4.11. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,385 g/cm ³).....	72
Figura 4.12. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,433 g/cm ³).....	72
Figura 4.13. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,512 g/cm ³).....	72
Figura 4.14. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO ₂ (d=0,599 g/cm ³).....	73
Figura 4.15. Redução do tamanho de partículas com respectivas densidades (g/cm ³) de CO ₂ - SC	73

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1- Grau de Pureza dos materiais.....	46
Tabela 3.2- Condições experimentais da micronização da levotiroxina sódica em etanol (Co = 2 mg/mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico.....	50
Tabela 4.1 -Solubilidades das Chalconas CH ₈ , transchalcona e NAT 22 em solventes orgânicos.....	59
Tabela 4.2 -Resultados da Formação e/ou Precipitação das Chalconas.....	63
Tabela A1.1-Experimento EQUIFASE para Transchalcona (Temperatura fixa 40 ⁰ C e Co = 6 mg/mL)	88
Tabela A1.2. – Experimento EQUIFASE para NAT 22(Temperatura fixa 40 ⁰ C e Co = 6 mg/mL).....	90
Tabela A1.3 – Experimento EQUIFASE para CH ₈ (Temperatura fixa 40 ⁰ C e Co = 5 mg/mL).....	92
Tabela A2.1 – Condições Experimentais (em duplicata) da Micronização SAS da Levotiroxina Sódica em Etanol e CO ₂ supercrítico.....	93
Tabela A3.1- Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila (Co = 6 mg/ mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.....	94
Tabela A3.2- Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila (Co = 10 mg/ mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.....	95
Tabela A3.3- Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila (Co = 30 mg/ mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.....	96
Tabela A3.4 – Condições experimentais da micronização da NAT 22 dissolvida em acetona (Co=6mg/mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: Tempo de purga do solvente: 1h 20min.....	97
Tabela A3.5- Condições experimentais da micronização da chalcona CH ₈ dissolvida em acetona (Co = 5 mg/ mL) usando CO ₂ como antissolvente supercrítico:Tempo de purga do solvente:1h 20 min.....	97
Tabela A4.1 – Base de cálculo de solvente de 1 min. – Acetato de etila + CO ₂	98
Tabela A4.2- Base de cálculo de solvente de 1 min.- Acetona + CO ₂	100

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1.INTRODUÇÃO.....	18
CAPÍTULO 2.FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .	23
2.1 Micronização com fluido supercrítico.....	24
2.1.1. Rápida expansão rápida de uma solução supercrítica (RESS).....	26
2.1.2. Precipitação a partir de soluções saturadas em gás (PGSS).....	27
2.1.3. Gás Antissolvente Supercrítico (GAS).....	29
2.1.4. Precipitação com antissolvente supercrítico (SAS).....	30
2.1.5. Dispersão de Solução Intensificada por Fluido Supercrítico (SEDS).....	34
2.1.6. Atomização via Injeção Rápida para Extração de Solvente (ARISE).....	35
2.1.7. Despressurização de Solução Orgânica Líquida Expandida (DELOS).....	36
2.1.8. Atomização Assistida por Fluido Supercrítico (SAA).....	38
2.1.9. Injeção supercrítica assistida num anti-solvente líquido (SAILA)	39
2.2 Levotiroxina Sódica	40
2.3 Chalconas.....	42
CAPÍTULO 3. PARTE EXPERIMENTAL: MATERIAIS E MÉTODOS.....	45
3.1. Materiais.....	46
3.2. Unidade de micronização SAS.....	47
3.3. Unidade de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão (EQUIFASE).....	50
3.4. Difração laser.....	54
3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....	55
CAPÍTULO 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	56
4.1. Solubilidade das drogas em solventes orgânicos.....	57
4.1.1. Solubilidade da Levotiroxina Sódica.....	58
4.1.2. Solubilidade das Chalconas	59
4.2. Resultados do Estudo de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão.....	62
4.3 Resultados da Micronização SAS.....	64
4.3.1. Micronização da Levotiroxina Sódica.....	64
4.3.2. Micronização das chalconas.....	64

4.4	Caracterização da Levotiroxina Sódica Micronizada.....	66
	4.4.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Levotiroxina Sódica.....	66
	4.4.2. Análise da distribuição de tamanhos das partículas micronizadas.....	69
CAPÍTULO 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES		74
5.1.	Conclusões	75
5.2.	Sugestões	76
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....		77
ANEXO1.....		86
	APÊNDICE 1.....	87
	APÊNDICE 2.....	92
	APÊNDICE 3.....	93
	APÊNDICE 4.....	97

ABREVIATURAS

P	Densidade
scCO ₂	CO ₂ supercrítico
Hr	Hora
P	Precipitado
Q	Vazão
Sol	Solvente

CAPÍTULO 1. INTRODUÇÃO

A produção de micro e nanopartículas com distribuição de tamanho controlada é um dos desafios mais relevantes da indústria farmacêutica, sobretudo para a formulação de drogas de liberação controlada. Fármacos constituídos de nanopartículas são capazes de levar as substâncias até as regiões mais remotas do corpo humano. Existem vários processos de micronização, baseados em diferentes fundamentos. A técnica mais comum é a tradicional trituração de partículas maiores, através de forças físicas de fricção e atrito, impacto, corte, ou da pressão. As técnicas desenvolvidas mais recentemente no domínio da micronização envolvem o uso de líquidos convencionais, gases densos, líquidos em condições próximas do ponto crítico, ou fluidos supercríticos, que funcionam como solvente ou anti-solvente, ou meios criogênicos que permitem o congelamento ultra rápido (ESFANDIARI, 2015; MCHUGH e KRUKONIS, 1994; SHARIATI e PETERS, 2003). Estas técnicas envolvem a separação de fases entre o solvente e a droga, por evaporação, expansão rápida, mudança na composição do solvente, ou solidificação (PASQUALI, BETTINI e GIORDANO, 2008).

Nesse contexto, a tecnologia do fluido supercrítico é uma grande promessa, pois apresenta algumas vantagens e soluções para problemas encontrados com a utilização de técnicas convencionais, tais como a facilidade de controlar a morfologia, o tamanho e a distribuição dos tamanhos das partículas, a relativa facilidade de aumento da escala de produção, e o atendimento aos requisitos de tecnologia limpa e sustentável, cada vez mais desejada nos processos industriais, em especial na indústria farmacêutica. Entre as técnicas mais relevantes de formação de nanopartículas usando fluidos supercríticos destacam-se RESS, PGSS, GAS, SAS, DELOS, ARISE, SEDS e SAA, que são discutidas em detalhes no capítulo 2 dessa dissertação.

Entre os processos estudados para a produção de nanopartículas usando fluidos supercríticos, destaca-se a micronização com antissolvente supercrítico (SAS), sobretudo por ser um processo operado em modo semi-contínuo, enquanto os demais são operados em batelada (REVERCHON *et al.*, 2000).

Além disso, a micronização SAS é útil para processar drogas pouco solúveis em dióxido de carbono supercrítico.

Na técnica de micronização SAS, a precipitação ocorre de acordo com a seleção adequada das substâncias e das condições operacionais, de forma que o solvente e o antissolvente sejam parcial ou totalmente miscíveis e o soluto tenha baixa solubilidade no anti-solvente (FOSTER *et al.*, 2003).

Entretanto, a micronização SAS é um processo complexo que envolve a interação de vários mecanismos de transferência de massa, hidrodinâmica, equilíbrio de fases, nucleação e/ou crescimento dos cristais. Dependendo das condições operacionais, tira-se vantagem da capacidade do dióxido de carbono supercrítico para dissolver e expandir solventes orgânicos. Quando a expansão é suficientemente acentuada, o poder de solvatação do solvente torna-se tão pequeno que provoca a sobresaturação da solução, permitindo a precipitação do soluto em pequenas partículas (REVERCHON *et al.*, 2003).

As condições operacionais do processo de micronização SAS devem ser selecionadas com base na análise do diagrama de fases a alta pressão do sistema de interesse. Na carência de diagramas ternários para o sistema soluto, solvente e antissolvente, o comportamento do sistema pode ser predito, embora não sem algumas reservas, a partir do diagrama binário da mistura solvente/antissolvente. Este diagrama permite saber qual o ponto crítico da mistura binária, bem como as frações molares dos dois componentes em cada uma das fases em equilíbrio (ANTUNES e PALAVRA, 2007).

Nessa dissertação, estudou-se o processo de micronização SAS usando dióxido de carbono como antissolvente supercrítico, em escala de bancada, na tentativa de produzir micro e nanopartículas de drogas para melhorar sua biodisponibilidade. Foram escolhidos 2 casos para estudo: a micronização da levotiroxina sódica, dando continuidade a estudos iniciados anteriormente no Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica (LNS), Escola Politécnica, UFBA, e a micronização de chalconas, no âmbito de um projeto de cooperação do LNS

com o Laboratório de Imunofarmacologia, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, da UFRJ.

A levotiroxina sódica tem sido utilizada com sucesso no tratamento do hipotireoidismo (redução da atividade da glândula tireóide), via administração oral (em comprimido), impondo restrições de uso que alteram hábitos diários dos pacientes em tratamento (BOELAERT *et al.*, 2005; CHEMBURKAR *et al.*, 2010; PATEL *et al.*, 2003). Para contornar essas restrições, é necessário aumentar sua biodisponibilidade, seu tempo de absorção e seu potencial de ação de organismo, o que pode ser conseguido através da redução do tamanho e alteração da morfologia das partículas usando CO₂ supercrítico.

As chalconas, por sua vez, são drogas que vêm sendo testadas para o tratamento da leishmaniose, doença negligenciada que por décadas se apresenta e se fortalece em muitos países, principalmente naqueles onde persiste grande desigualdade social e/ou pobreza. Os diversos tipos de leishmaniose são causados por protozoários da ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae* e gênero *Leishmania*, que parasitam células do sistema fagocitário mononuclear de humanos e outros mamíferos, principalmente macrófagos (PERUHYPE-MAGALHÃES *et al.*, 2005). Afetam milhões de seres humanos e muitas vezes levam à morte. A constante baixa eficácia no tratamento justifica a necessidade de novas terapias, que dependem de novas formulações das drogas.

As chalconas representam uma classe privilegiada de compostos biologicamente ativos importantes, mas que possuem pouca solubilidade em água e baixa biodisponibilidade após a administração em muitas formulações (NUNES *et al.*, 2009). Nesse sentido, a possibilidade de redução do tamanho e alteração da morfologia das partículas de chalconas usando CO₂ supercrítico representa uma alternativa aos processos convencionais, visando o aumento da biodisponibilidade dessas drogas.

Este trabalho tem como objetivo avaliar a viabilidade técnica do processo de micronização SAS de partículas de levotiroxina sódica e chalconas, usando CO₂ como antissolvente supercrítico, em escala de bancada, visando a obtenção de micro e nanopartículas com morfologia modificada.

Essa dissertação está organizada em 5 capítulos, incluindo este. No capítulo 2 é apresentada a fundamentação teórica e a revisão da literatura. No capítulo 3 faz-se a descrição dos materiais e métodos experimentais utilizados no desenvolvimento do trabalho. Os resultados e a sua discussão são apresentados no capítulo 4. Por fim, apresentam-se as conclusões e sugestões para trabalhos futuros no capítulo 5.

CAPÍTULO 2

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Micronização com fluido supercrítico

Um fluido supercrítico é um estado que qualquer substância pode assumir acima da sua temperatura crítica e pressão crítica, conforme ilustra a Figura 2.1. Nesse estado, o fluido possui propriedades intermediárias às dos gases e líquidos, tais como densidade, difusividade e viscosidade, entre outras, que facilitam o processamento de materiais (BRENNECKE e ECKERT, 1989). Além disso, o uso de fluidos supercríticos como solventes, dado o seu elevado poder de solubilização, é uma alternativa ao uso de solventes orgânicos cancerígenos, que deixam resíduos nos produtos e demandam tratamento posterior dos mesmos para a sua eliminação adequada. Dessa forma, uma das vantagens do uso de fluidos supercríticos é a obtenção de produtos livres de resíduos de solventes orgânicos e a fácil recuperação do solvente supercrítico pela simples variação de pressão e/ou temperatura (POLING e PRAUSNITZ, 2001).

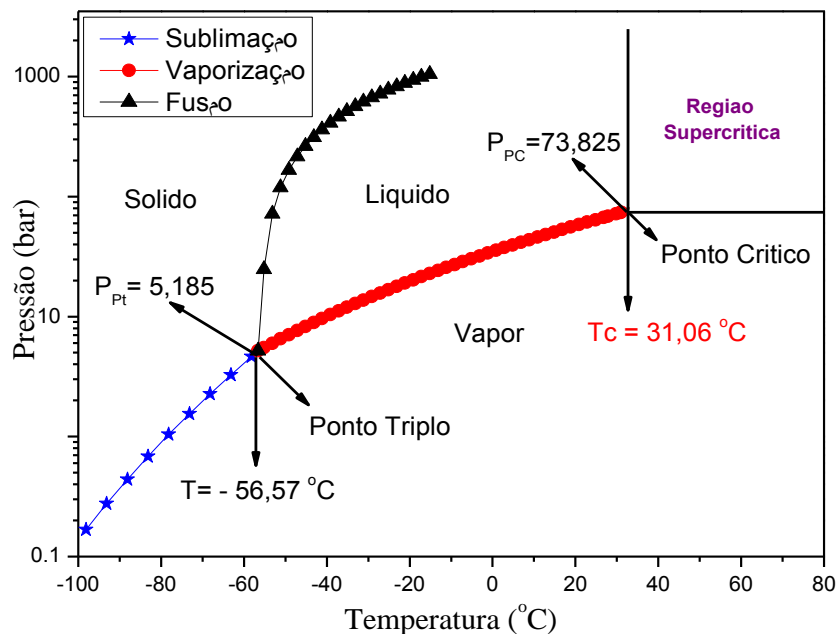


Figura 2.1. Diagrama de fases pressão-temperatura para o dióxido de carbono. Ponto triplo (TP) e Ponto crítico (CP). Fonte: (TORALLES, 2016)

O dióxido de carbono (CO₂) é o solvente mais utilizado como fluido supercrítico, por ser barato, não explosivo nem inflamável, ser atóxico e estável, além de possuir valores de temperatura crítica (31,1°C) e pressão crítica (73,8 bar) bastante convenientes. É também amplamente aceito pela indústria farmacêutica e de alimentos, além de não haver qualquer legislação ambiental contrária ao seu uso, já que não causa nenhum impacto danoso ao meio-ambiente.

Diversos trabalhos relatam as tentativas de produção de micro e nanopartículas de fármacos e outros materiais usando CO₂ supercrítico como solvente, antissolvente ou mesmo soluto (ESFANDIARI, 2015; FOSTER *et al.*, 2003; TABERNERO, MARTÍN DEL VALLE e GALÁN, 2012; THOTE e GUPTA, 2005). O uso do CO₂ supercrítico para a produção de micro e nanopartículas apresenta algumas vantagens e soluções para problemas encontrados com a utilização de técnicas convencionais, tais como a facilidade de controlar a morfologia, o tamanho e a distribuição dos tamanhos das partículas, a relativa facilidade de aumento da escala de produção, e o atendimento aos requisitos de tecnologia limpa, cada vez mais desejada nos processos industriais, em especial na indústria farmacêutica. Além disso, a formação de partículas em escala nanométrica é a base para o desenvolvimento dos processos de formulação de sistemas de liberação controlada de drogas, que podem usar nanopartículas sólidas, suspensões de nanopartículas, nanoesferas ou nanocápsulas como carreadores, ou excipientes impregnados com drogas (COCERO *et al.*, 2009; PEIXOTO, 2014; SANTO, 2015).

Diversas técnicas que exploram propriedades dos fluidos supercríticos vêm sendo propostas para a formação de nanopartículas, entre as quais se destacam: RESS – Rápida Expansão de uma Solução Supercrítica, PGSS - Precipitação a partir de Soluções Saturadas em Gás, GAS – Gás Anti-solvente Supercrítico, SAS - Precipitação por Anti-solvente Supercrítico, DELOS – Despressurização de Solução Orgânica Líquida Expandida, ARISE – Atomização Rápida via Injeção para Extração de Solvente, SEDS – Dispersão de Solução Intensificada por Fluido Supercrítico, SAA – Atomização Assistida

por Fluido Supercrítico, SAILA - Injeção supercrítica assistida num anti-solvente líquido (FOSTER *et al.*, 2003; KAYRAK *et al.*, 2003; SIH, 2008; VENTOSA *et al.*, 2003; CAMPARDELLI e REVERCHON, 2016).

A seguir é feita uma breve descrição dessas técnicas, que podem ser classificadas em 3 grupos conforme o papel que o fluido supercrítico desempenha: como solvente supercrítico (RESS), como soluto supercrítico (PGSS) e como antissolvente supercrítico (GAS, SAS, DELOS, ARISE, SEDS, SAA e SAILA). Em todas é dado foco às propriedades especiais do dióxido de carbono na condição de fluido supercrítico.

2.1.1 Rápida expansão rápida de uma solução supercrítica (RESS)

O processo de micronização RESS baseia-se na precipitação de partículas através da rápida expansão da solução em cujo solvente supercrítico se encontram dissolvidas. Nesta técnica, o soluto é dissolvido diretamente no fluido supercrítico, geralmente dióxido de carbono, sendo a solução depois atomizada através de um restritor para uma câmara de coleta, que está em condições atmosféricas (vide Figura 2.2). Esta expansão faz com que o dióxido de carbono evapore rapidamente e provoque uma redução brusca na densidade. Logo, cai abruptamente o seu poder de solubilização, já que existe uma relação diretamente proporcional entre a densidade do fluido supercrítico e sua solubilidade, incitando um elevado grau de sobresaturação na solução e promovendo a rápida nucleação das partículas de soluto, o que produz o pó micronizado. Esta técnica tem sido aplicada na produção de pós de produtos cerâmicos, polímeros e diversas drogas (JUNG e PERRUT, 2001). Dependendo das características da droga a ser micronizada, várias modificações podem ser feitas no processo RESS, tais como a expansão da solução em um vaso contendo uma solução aquosa (processo RESOLV) para prevenir aglomeração das partículas, a adição de um não-solvente para aumentar a solubilidade da droga, o uso de restritores pulsantes para prevenir entupimento, a despressurização parcial controlada para reduzir os custos com reciclo e recompressão do gás denso, entre outras. Partículas menores tendem

a ser formadas usando RESOLV, uma vez que a expansão em meio líquido tende a inibir fenômenos de coalescência e, conseqüentemente, a produção de partículas com menores diâmetros (BRAGA e SOUSA, 2015; SANE, 2009).

A característica mais marcante da formação de partículas usando RESS é a possibilidade de obtenção de sólidos com morfologia única e estreita distribuição de tamanhos para serem utilizados numa vasta gama de materiais. O entendimento dos fenômenos envolvidos na formação de partículas usando RESS bem como a sua viabilidade técnica e econômica ainda estão em fase de desenvolvimento (KAYRAK, AKMAN e HORTAÇSU, 2003).

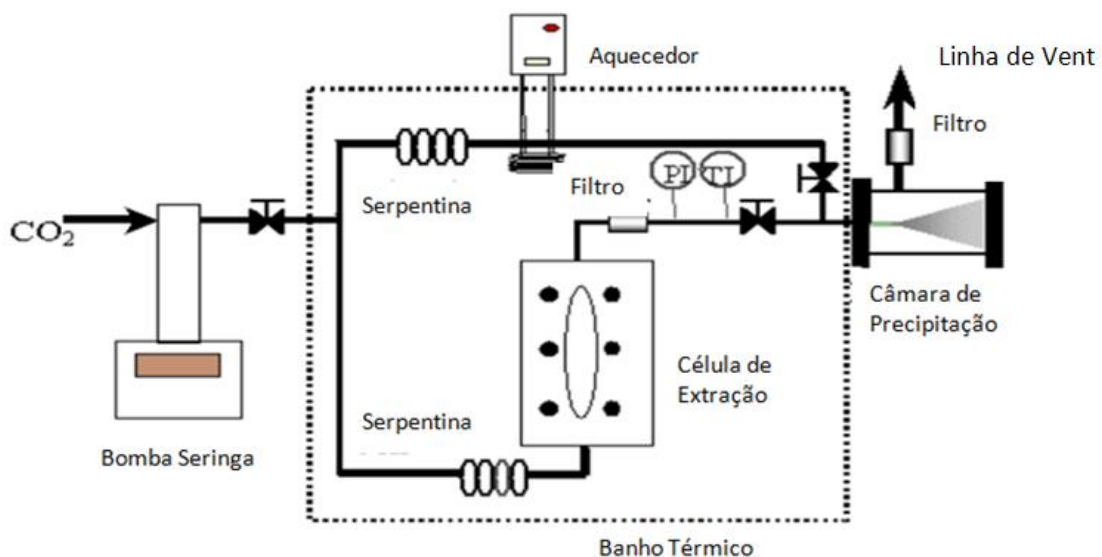


Figura 2.2. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica RESS (FOSTER *et al.*, 2003)

2.1.2 Precipitação a partir de soluções saturadas em gás (PGSS)

O processo PGSS foi descrito pela primeira vez por WEIDNER (2009), como uma técnica de formação de partículas com base nas interações entre o dióxido de carbono supercrítico com polímeros de baixo ponto de fusão. Muitos destes componentes podem dissolver grandes quantidades de dióxido de carbono, mesmo sob pressão moderada. Em geral, a dissolução de dióxido de carbono nestes compostos provoca uma redução da sua fusão e das

temperaturas de transição vítrea, e pode também causar uma forte redução das suas viscosidades. O processo PGSS pode ser usado em uma vasta gama de alimentos e de produtos farmacêuticos e tem sido particularmente bem sucedido na formação de microcompósitos ou microcápsulas destes compostos com polímeros (TOMASCO, *et al.*, 2003; VARONA *et al.*, 2010; WEIDNER, 2009).

A técnica e os fundamentos do processo PGSS são muito similares aos usados na RESS. Embora sejam poucos os compostos orgânicos solúveis em dióxido de carbono, existe um número considerável de polímeros ou lipídeos que podem ser embebidos em dióxido de carbono supercrítico e, portanto, processados por PGSS. O processo consiste na dissolução de dióxido de carbono em substâncias fundidas ou suspensas em líquidos, conduzindo à formação de uma solução ou suspensão saturada em gás (SÃO PEDRO *et al.*, 2016; VARONA *et al.*, 2010). O dióxido de carbono supercrítico é disperso para dentro de um composto fundido, para criar uma suspensão gás-líquido, cujo ponto de fusão e a viscosidade diminuem com a concentração do fluido. Esta suspensão é atomizada, através de um restritor, para dentro de uma câmara de coleta, que se encontra em condições atmosféricas, conforme mostra a Figura 2.3. Ao expandir, o dióxido de carbono se resfria e promove também o resfriamento e a solidificação do material fundido, formando-se micropartículas porosas, através de um mecanismo de sobresaturação semelhante ao já descrito para a RESS. A PGSS requer, geralmente, pressões menores e menos consumo de gás do que a RESS. As características das partículas podem ser controladas manipulando-se as condições de operação, tais como concentração inicial do soluto, temperatura e pressão da pré-expansão, temperatura e pressão da expansão, e geometria do restritor (LACK *et al.*, 2000; SAMPAIO DE SOUSA *et al.*, 2009).

Aplicações recentes dessa técnica relatam a preparação partículas lipídicas sólidas carregadas de curcumina (SÃO PEDRO *et al.*, 2016) e a produção de micro e nanopartículas de fármacos (ESFANDIARI, 2015).

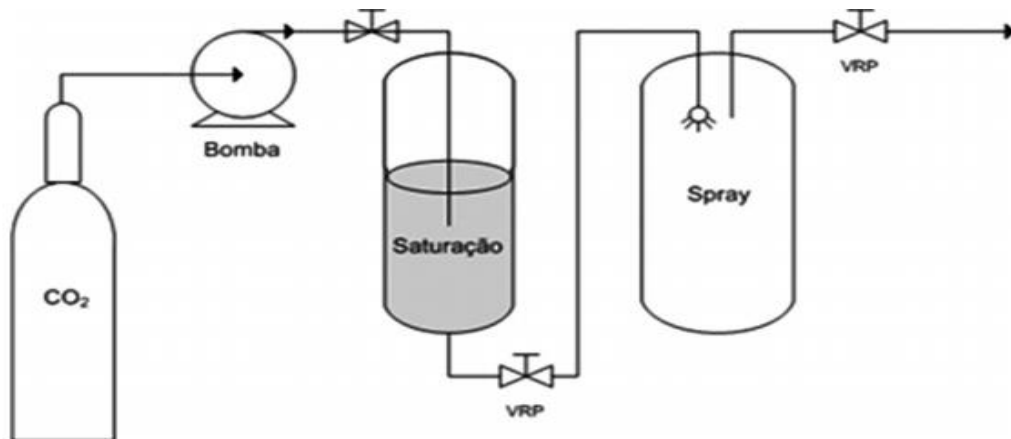


Figura 2.3. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica PGSS (SOUZA e BRAGA, 2015)

2.1.3 Gás Antissolvente Supercrítico (GAS)

O processo GAS é uma técnica de precipitação em batelada que faz uso do fluido supercrítico como antissolvente. Os processos de micronização de partículas baseados em antissolventes dependem de três requisitos: (a) a capacidade do solvente orgânico para dissolver grandes quantidades do soluto; (b) a pouca afinidade entre o soluto e o fluido supercrítico; (c) e a miscibilidade mútua entre o solvente orgânico e o fluido supercrítico (ESFANDIARI, 2015; JESSOP *et al.*, 2002). Muitas vezes o processo GAS faz uso de fluido nas proximidades, mas abaixo, do ponto crítico, sendo denominado nesses casos de gás denso. A Figura 2.4 ilustra um esquema típico do processo GAS. Inicialmente, prepara-se uma solução do soluto em solvente orgânico, que é previamente colocada numa câmara de precipitação. O gás é comprimido até a pressão desejada na câmara de precipitação e, durante a sua dissolução na solução orgânica, ocorre a expansão volumétrica da mesma, reduzindo o poder de dissolução do solvente. Como conseqüência, a mistura fica supersaturada e o soluto precipita em micro ou nanopartículas. Após a completa precipitação do soluto, o solvente orgânico é purgado do sistema e o gás denso é usado para remover o resíduo de solvente das partículas precipitadas.

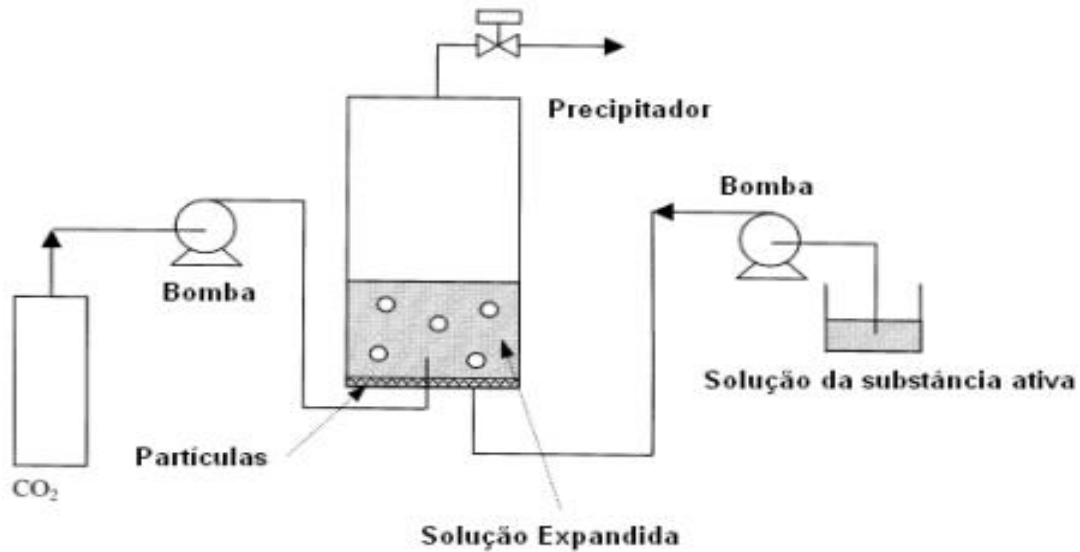


Figura 2.4. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica GAS (JUNG e PERRUT, 2001)

A técnica GAS difere significativamente do processo RESS por haver a necessidade de um sistema ternário solvente orgânico + soluto sólido + antissolvente supercrítico, enquanto a RESS requer apenas um sistema binário soluto sólido + solvente supercrítico (PRIAMO, 2009).

Os fundamentos termodinâmicos da técnica GAS são bem conhecidos e discutidos na literatura (DE LA FUENTE, SHARIATI e PETERS, 2004), por ter sido a primeira técnica de micronização com antissolvente supercrítico desenvolvida. Por essa razão, a técnica GAS é sempre uma referência para comparação com as demais técnicas de micronização com antissolvente supercrítico que vêm sendo desenvolvidas. Por exemplo, VIEIRA DE MELO *et al.* (2014) utilizaram esta técnica para micronização da levotiroxina sódica usando etanol e CO₂ supercrítico, comparando-a com a técnica ARISE.

2.1.4 Precipitação com antissolvente supercrítico (SAS)

Os antissolventes são amplamente conhecidos e aplicados na indústria. São baseados no uso de dois solventes, completamente miscíveis entre si, sendo o soluto a precipitar solúvel em apenas um deles. A adição de um

antissolvente conduz à supersaturação do soluto e, conseqüentemente, à sua precipitação. O uso de fluidos supercríticos ou gases densos como antissolvente aparece como alternativa a processos de antissolvente líquidos, devido a sua vantagem potencial de remover completamente o antissolvente pela redução de pressão da fase gasosa, já que o uso de solventes líquidos tem a grande desvantagem do complexo pós-processamento, necessário para a completa eliminação dos resíduos de solvente. Devido às características de transporte dos fluidos supercríticos e à possibilidade da sua recuperação (e do solvente orgânico) sem processamento posterior, este tipo de fluido tem sido proposto, nas últimas décadas, como alternativa aos antissolventes líquidos. A micronização baseada neste conceito foi apresentada, pela primeira vez, numa proposta de patente, em 1988 (JUNG e PERRUT, 2001; REVERCHON, 1999).

SAS é um processo semi-contínuo que se baseia na capacidade do fluido supercrítico ou gás denso para remover solventes orgânicos e promover a precipitação de micro e nanopartículas. Essa técnica é também conhecida como ASES – Sistema Aerosol para Extração de Solvente ou PCA – Precipitação usando Antissolvente Comprimido. Do ponto de vista termodinâmico, o processo de micronização SAS tem de obedecer às seguintes especificações:

- a) O soluto deve ser solúvel no solvente orgânico à temperatura de trabalho;
- b) O soluto deve ser muito pouco solúvel (ou insolúvel) no fluido supercrítico (antissolvente);
- c) O solvente e o fluido supercrítico devem ser miscíveis.

Na técnica de micronização SAS, a precipitação ocorre de acordo com a seleção adequada das substâncias e das condições operacionais, de forma que o solvente e o antissolvente sejam parcial ou totalmente miscíveis e o soluto tenha baixa solubilidade no antissolvente. A micronização SAS é um processo complexo que envolve a interação de vários mecanismos de transferência de massa, hidrodinâmica, equilíbrio de fases, nucleação e/ou crescimento dos cristais. Quando as condições operacionais se encontram

abaixo do ponto crítico da mistura, tira-se vantagem da capacidade do dióxido de carbono supercrítico para dissolver e expandir solventes orgânicos. Quando a expansão é suficientemente acentuada, o poder de solvatação do solvente torna-se tão pequeno que provoca a sobresaturação da solução, permitindo a precipitação do soluto em pequenas partículas (WANG *et al.*, 2012).

No processo de mistura, o solvente orgânico difunde-se rapidamente no dióxido de carbono supercrítico e este no solvente, formando uma única fase. Nesse caso, ambas as taxas de solubilidade são maiores quando comparadas com antissolventes líquidos convencionais. Assim, as elevadas taxas de transferência de massa resultam numa nucleação muito mais rápida e uniforme, permitindo atingir tamanhos de partícula muito menores e distribuições de tamanho mais estreitas.

As condições operacionais do processo de micronização SAS devem ser selecionadas com base na análise do diagrama de fases do sistema ternário constituído pelo soluto, solvente e antissolvente supercrítico. Na carência de diagramas ternários, uma alternativa é utilizar o diagrama de fases do sistema binário solvente-antissolvente supercrítico para poder diminuir o risco de uma precipitação fora do estado desejado. Entretanto, não se é garantido que isso ocorra, pois, tal comportamento, pode mudar muito dependendo da natureza química do soluto. Com, muita cautela, pode-se usar a vantagem da identificação do ponto crítico binário, para que se possa conduzir o processo SAS acima desse ponto (quando há uma única fase) evitando-se a operação abaixo desse ponto (quando podem surgir 2 fases).

A Figura 2.5 ilustra o esquema típico do processo SAS. O fluido é bombeado, a vazão constante, para o vaso de precipitação até que a pressão desejada seja atingida. Quando as condições de estado estacionário são atingidas (pressão, temperatura e vazão do antissolvente supercrítico constantes), uma solução orgânica contendo o fármaco dissolvido é injetada no vaso de precipitação usando-se um restritor. Ocorre a expansão volumétrica do solvente orgânico pela ação do antissolvente supercrítico, induzindo a

precipitação do soluto na forma de nanopartículas. A mistura formada pelo antissolvente supercrítico e solvente orgânico ao sair do vaso de precipitação é despressurizada, ocorrendo a separação de ambos. Em geral, obtêm-se nanopartículas mais uniformes e com estreita distribuição de tamanhos, comparando-se com o processo GAS, porque SAS permite a operação a razões mais elevadas entre o antissolvente e o solvente orgânico, e é um processo mais rápido do que GAS, inibindo o crescimento das partículas. Atenção especial deve ser dada à condição de pressão utilizada, que deve estar acima do ponto crítico da mistura solvente-antissolvente supercrítico, garantindo que ambos formem uma única fase. Além disso, o processo SAS requer a concepção não-trivial do restritor, o que no processo GAS não é necessário.

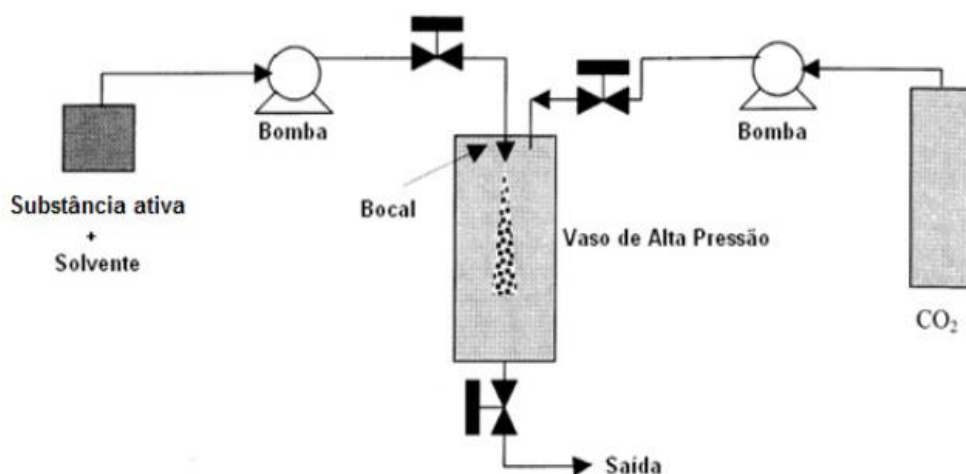


Figura 2.5. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica SAS (JUNG e PERRUT, 2001)

A técnica SAS em geral consegue produzir partículas micrométricas e nanométricas com um melhor controle do tamanho de partícula quando comparada com os métodos convencionais (REVERCHON e ADAMI, 2006; REVERCHON, 1999). Na literatura há inúmeros estudos sobre vários materiais micronizados pela técnica SAS, usando diferentes equipamentos e condições do processo, como, por exemplo, os produtos farmacêuticos, supercondutores, precursores de catalisadores, pigmentos e polímeros (REVERCHON, 1999; SHARIATI e PETERS, 2003).

2.1.5 Dispersão de Solução Intensificada por Fluido Supercrítico (SEDS)

O processo SEDS foi concebido para aumentar a taxa de formação de partículas usando vazões de solvente orgânico e antissolvente supercrítico, altamente turbulentas, de modo a intensificar o processo de mistura e dispersão, evitando que o processo de difusão molecular limite o andamento do processo de formação das partículas. Para intensificar o processo de mistura é usado um restritor coaxial, que permite melhor contato entre solvente e antissolvente supercrítico do que no processo SAS, e pequenas gotas são formadas em função da velocidade do fluido. A taxa de transferência de massa elevada conduz a uma taxa de nucleação rápida e à formação de nanopartículas muito pequenas e com pouca agregação (JUNG e PERRUT, 2001; PAZ, 2014). A Figura 2.6 ilustra o processo SEDS. Modificações foram propostas posteriormente, incluindo o uso de restritores triaxiais. Esse processo vem sendo utilizado com sucesso para a micronização de fármacos em escala de bancada, mas o aumento de escala dos restritores é um desafio para poder se chegar à escala piloto.

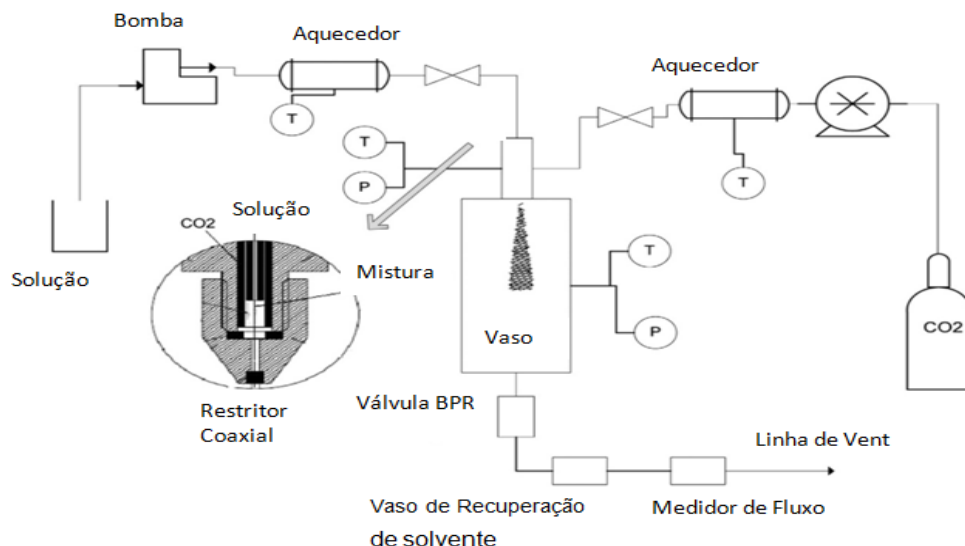


Figura 2.6. Representação esquemática do sistema de formação de partículas pela técnica SEDS. (TABERNERO, MARTÍN DEL VALLE e GALÁN, 2012)

A utilização de restritores diferentes na entrada do vaso de precipitação produz formas diferenciadas de aspensão produzindo alta turbulência, que podem modificar a morfologia da partícula por proporcionar tamanhos variados de gotículas. Além disso, a geometria dos restritores afeta o tempo da difusão das gotículas formadas em função do desenvolvimento da aspensão dentro da célula de precipitação.

2.1.6 Atomização via Injeção Rápida para Extração de Solvente (ARISE)

O processo ARISE aproveita tanto a capacidade do antissolvente supercrítico como a injeção rápida de soluções orgânicas para promover a precipitação de partículas de fármacos. Em linhas gerais, o processo consiste em pressurizar a solução orgânica usando nitrogênio, numa câmara de alta pressão, seguida de rápida despressurização por injeção dessa solução no vaso de precipitação contendo o antissolvente supercrítico, a uma pressão inferior à do N₂, usando um pequeno tubo de 1/8" de diâmetro interno, mantida constante a temperatura. Após a precipitação do fármaco, usa-se o CO₂ supercrítico para remover o solvente orgânico do vaso e do fármaco precipitado. A Figura 2.7 ilustra o processo ARISE, que é particularmente útil para a produção de partículas para sistemas de administração pulmonar. Entre as vantagens dessa técnica destacam-se: a capacidade de processamento de quantidades relativamente maiores, comparadas às que fornecem as outras técnicas de antissolvente supercrítico; a relativa facilidade para o aumento de escala, pois não faz uso de restritor; a flexibilidade para controlar o tamanho de partículas, geralmente numa faixa estreita; e o baixo nível de solvente residual no produto final (KURNIAWANSYAH *et al.*, 2015; SIH, 2008).

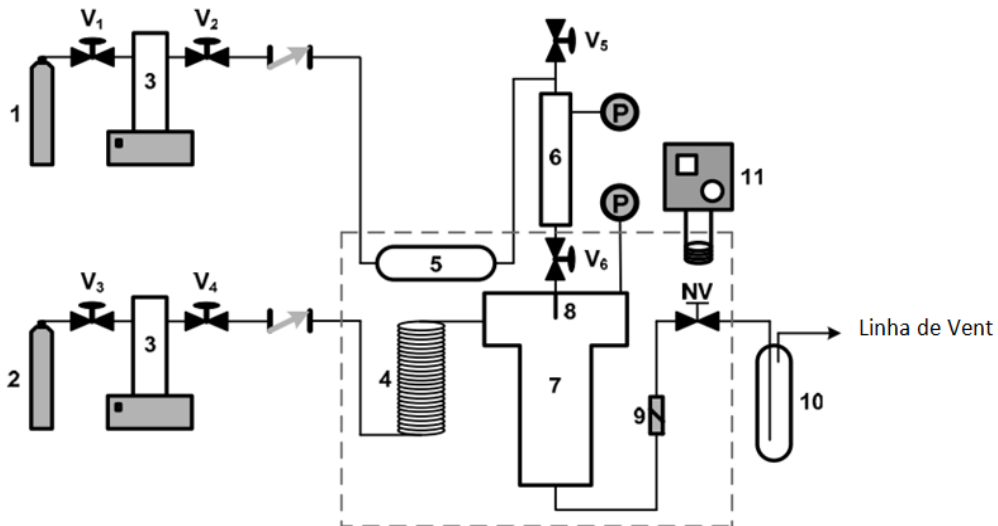


Figura 2.7. Representação esquemática do processo ARISE (SIH, 2008).
 V_{1,2,3,4,5,6}, válvulas; NV, válvula agulha; 1, cilindro de N₂; 2, cilindro de CO₂; 3, Bombas; 4, serpentina; 5, câmara de pressão; 6, solução; 7, Vaso de precipitação; 8, restritor; 9, filtro; 10, vaso de recuperação de solvente; 11, termostato.

No processo ARISE, utiliza-se o CO₂ como antissolvente em pressões mais elevadas que o processo GAS, superando a necessidade de dispositivos de pulverização e os seus inconvenientes (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2014). Esta característica elimina as limitações de aumento de escala relacionadas à utilização de restritores de atomização. A transferência de massa rápida que ocorre durante o processo pode induzir a precipitação instantânea num ambiente substancialmente homogêneo favorecendo assim a formação de partículas com morfologia controlada. ARISE tem sido aplicado com sucesso para a micronização de vários compostos farmacêuticos ativos e excipientes (KURNIAWANSYAH *et al.*, 2015).

2.1.7 Despressurização de Solução Orgânica Líquida Expandida (DELOS)

No processo DELOS, o fluido supercrítico (ou gás denso) tem o papel de cossolvente e é completamente miscível com a solução orgânica que contém o

fármaco dissolvido. O papel do fluido supercrítico é produzir um subresfriamento da solução através da sua vaporização, quando a solução é expandida, o que provoca a precipitação das partículas sólidas. A Figura 2.8 ilustra o processo, que se inicia com a dissolução do fármaco no solvente orgânico, formando a solução que é alimentada no vaso de alta pressão (VENTOSA *et al.*, 2003). Em seguida, o cossolvente é bombeado para esse vaso até a pressão e temperatura desejadas, resultando na expansão volumétrica da solução. Até esse ponto, é fundamental que a concentração de soluto esteja abaixo do limite da saturação, do contrário o processo GAS terá início. Em seguida, o sistema é despressurizado em uma câmara à pressão atmosférica através de uma válvula de não-retorno. Durante a despressurização, a pressão da solução no vaso de alta pressão é mantida constante pela contínua adição de nitrogênio pelo topo do vaso. A despressurização repentina da solução expandida provoca uma redução rápida e significativa da temperatura da solução, levando ao aumento do grau de supersaturação da solução. Como consequência, a nucleação rápida é induzida levando à formação de partículas cristalinas e com estreita faixa de distribuição dos tamanhos (BEH, 2013; GIMENO *et al.*, 2006).

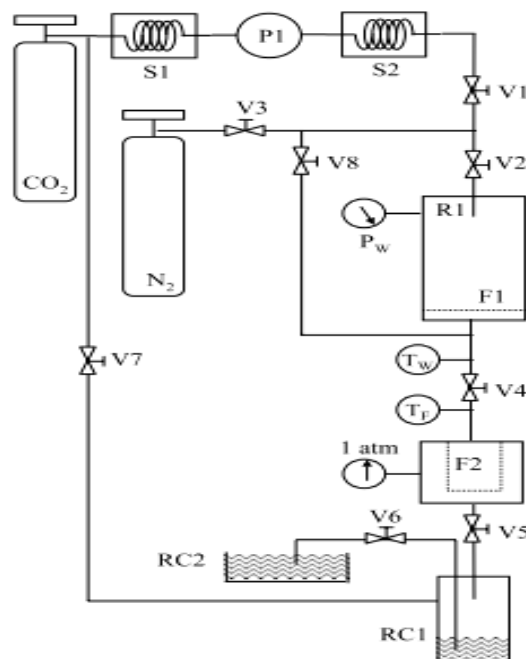


Figura 2.8. Representação esquemática da técnica DELOS (VENTOSA *et al.*, 2003). S₁,S₂, serpentinas; V_{1,2,3,4,5,6,7,8}, válvulas; F₁, F₂ vasos de alta pressão; RC₁, câmara de alta pressão; RC₂, câmara de pressão atmosférica; P_w, manômetro; T_w,T_F, termostatos.

2.1.8 Atomização Assistida por Fluido Supercrítico (SAA)

O processo SAA consiste em misturar uma corrente aquosa contendo o fármaco e o fluido supercrítico (ou gás denso) para auxiliar na atomização da solução. O fluido supercrítico é inicialmente dissolvido na solução líquida antes de chegar ao estágio da aerosolização (WANG *et al.*, 2012). A Figura 2.9 ilustra o procedimento experimental do processo SAA. Uma torre recheada é normalmente usada para aumentar a superfície de contato e permitir um tempo de residência suficiente para que o fluido supercrítico sature a solução líquida. Em seguida, a solução líquida contendo o fluido supercrítico passa por um sistema de dispersão do tipo *spray* bastante fino e é injetada numa câmara de precipitação, por onde passa nitrogênio aquecido, que ajuda a evaporar o solvente líquido. A morfologia e o tamanho das partículas obtidas dependem fortemente da temperatura de precipitação, do solvente utilizado e da razão entre as quantidades de CO₂ e solução líquida (TAVARES CARDOSO *et al.*, 2008).



Figura 2.9. Representação esquemática da técnica SAA (DELLA PORTA, DE VITTORI e REVERCHON, 2005).

No processo de atomização da mistura, que é realizada através de um restritor, promove-se um determinado tempo de residência longo o suficiente para possibilitar um contato eficiente de forma a obter a saturação completa da solução líquida. Em um segundo momento da atomização (a descompressão), através de uma abrupta despressurização que ocorre do saturador para o precipitador, as gotículas são fragmentadas e precipitadas, além de submetidas a aquecimento para secagem, o que permite a precipitação de partículas com tamanho limitado, determinado pelo diâmetro de gotícula, que está diretamente relacionado com o processo de atomização. Esse segundo processo só é bem sucedido quando não ocorre a coalescência das partículas formadas (FALLIS, 2013).

2.1.9. Injeção supercrítica assistida num anti-solvente líquido (SAILA)

O processo SAILA consiste na injeção contínua de CO₂ em um sistema para produção de micropartículas utilizado para uma liberação controlada de drogas. São duas linhas de alimentação, usadas para entregar CO₂ comprimido e solvente líquido para um saturador.

Este processo requer maior quantidade de soluto e geralmente é um processo manuseado para microencapsulação. Segue-se o princípio básico do soluto ser solúvel no solvente, mas não solúvel no anti-solvente e ao mesmo tempo, o solvente e o anti-solvente devem ser miscíveis. Nesta técnica, o SC-CO₂ atua como um co-soluto e esta é baseada na injeção contínua de uma solução líquida que é preparada dissolvendo uma quantidade conhecida de Solute (polímero + fármaco) em solvente com quantidades controladas de SC-CO₂ (pré-aquecido) e injetada, já com uma baixa tensão superficial e viscosidade, numa câmara de alta pressão contendo uma solução antisolvente (geralmente água). A mistura, entre os dois fluidos, produz uma rápida supersaturação e conseqüente precipitação (CAMPARDELLI e REVERCHON, 2016). Obtém-se, assim, partículas precipitadas compostas de vários diâmetros. O saturador garante um longo período de residência que é necessário ao equilíbrio entre o soluto, solvente e

CO₂. Este processo possui também a vantagem da não degradação térmica e a possibilidade de utilizar solventes não tóxicos. É uma tecnologia alternativa que fornece um bom controle sobre a distribuição de tamanho de partícula com produção de micropartículas e nanopartículas de acordo com as condições do processo.

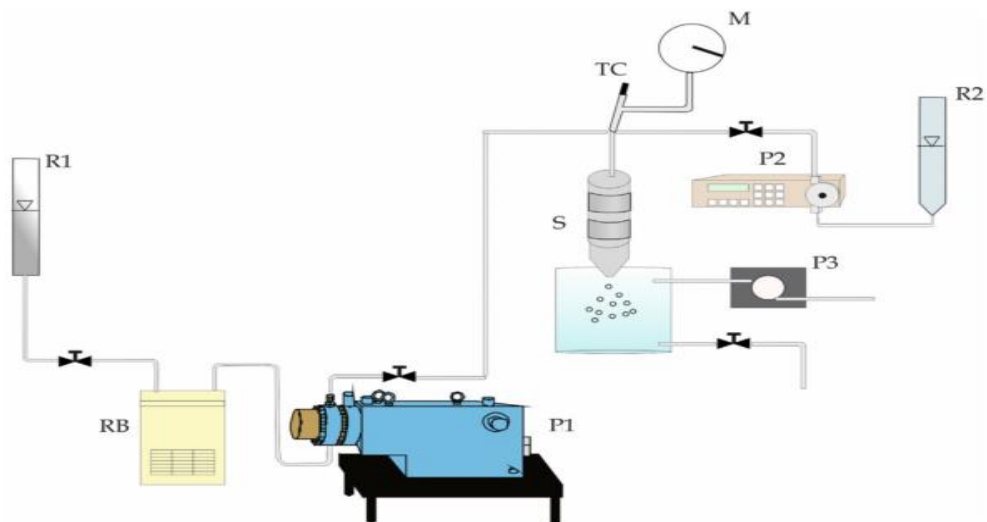


Figura 2.10. Esquema do processo SAILA (CAMPARDELLI e REVERCHON, 2016). R₁, cilindro de CO₂; R₂, bureta (solvente+soluto); RB, banho termostático; M, manômetro; P₁, P₂, bombas; S, saturador.

2.2 Levotiroxina Sódica

O hiper ou hipotireoidismo é quando ocorre o excesso ou a deficiência de hormônio na glândula tireóide. Logo, quando diagnosticado, apresenta disfunção da própria glândula tireóide (primária), ou distúrbios do eixo hipotálamo-hipófise-tireóide (secundária) (DAVIES, 2001).

O aumento do nível dos hormônios tireoidianos, denominado hipertireoidismo, ocorre mesmo quando a função da glândula tireóide está normal. Provocando a liberação excessiva dos hormônios devido a um processo inflamatório da glândula tireóide, ingestão excessiva do hormônio exógeno e produção deste por um foco ectópico (GILKISON, 1997). Já as

peessoas portadoras de hipotireoidismo não produzem hormônio suficiente, causando vários sintomas e tornando mais lento seu metabolismo, necessitando de reposição hormonal.

A administração da levotiroxina sódica, que é a forma sintética do hormônio da tireóide, tenta substituir o hormônio natural, levando o metabolismo aos níveis normais. A dose do hormônio deve ser controlada e é altamente influenciada pela sua taxa de absorção, que quando adequada deve causar um conforto físico ao paciente.

A levotiroxina sódica é o tratamento de escolha na rotina clínica de pacientes com hipotireoidismo. A terapia com hormônios tireoidianos tem sido indicada também para problemas não-tireoidianos, incluindo obesidade, infertilidade, irregularidade menstrual, baixa estatura e fadiga crônica. Alguns psiquiatras reportam o benefício de adicionar estas medicações à terapia antidepressiva (CAVALCANTI 2005 apud SINGER *et al.*, 1995).

Algumas reações desagradáveis se apresentam na sua administração oral não somente devido a interações medicamentosas e alimentares, mas também pela sua forma de absorção e seu tamanho, que interferem diretamente em sua posologia (JAIN, 2008).

A levotiroxina em sua forma sódica é um pó cristalino, pouco solúvel em água e de difícil absorção no trato gastrointestinal, variando de 40 a 75%, especialmente quando ingerida com alimentos ou por pacientes que apresentem síndrome de má absorção. O fármaco é inodoro, insípido, amarelo claro, higroscópico e amorfo, além de solúvel em soluções alcalinas (CAVALCANTI, 2005; DOLLERY, 1999). Sua estrutura molecular é ilustrada pela Figura 2.10 ($C_{15}H_{10}I_4NNaO_4H_2O$), um sal de sódio cristalino sintético da L-3,3',5,5'- tetraiodotironina, cuja solubilidade em água é de 150µg/mL a 25°C (BOULTON, FAWCETT e WOODS, 1996).

A levotiroxina sódica, nas formas comerciais Levoid® (Aché Laboratórios Farmacêuticos S.A.), Puran® (Sanofi-Synthelabo Ltda.), e Synthroid® (Abbott Laboratórios do Brasil Ltda.) apresenta baixa biodisponibilidade. Além disso, sabe-se que o seu mecanismo de ação e a forma que o fármaco segue nas etapas de administração, absorção, biotransformação, biodisponibilidade e excreção do organismo depende de vários fatores, entre os quais o tamanho e a morfologia das partículas, dependentes do processo de obtenção.

A micronização da levotiroxina sódica permite a formação de partículas pequenas, com distribuição de tamanhos controlada, promovendo o aumento da área superficial, favorecendo o processo de desintegração, e o conseqüente aumento da dissolução e da taxa de absorção do fármaco pelo organismo. Tudo isso facilita o melhor aproveitamento e aplicação do fármaco.

Além da redução do tamanho das partículas, o processo de micronização supercrítica geralmente leva à obtenção de distribuições de tamanho mais estreitas, além de alterar a sua morfologia, que também afeta a biodisponibilidade da droga (velocidade e quantidade que um princípio ativo é absorvido).

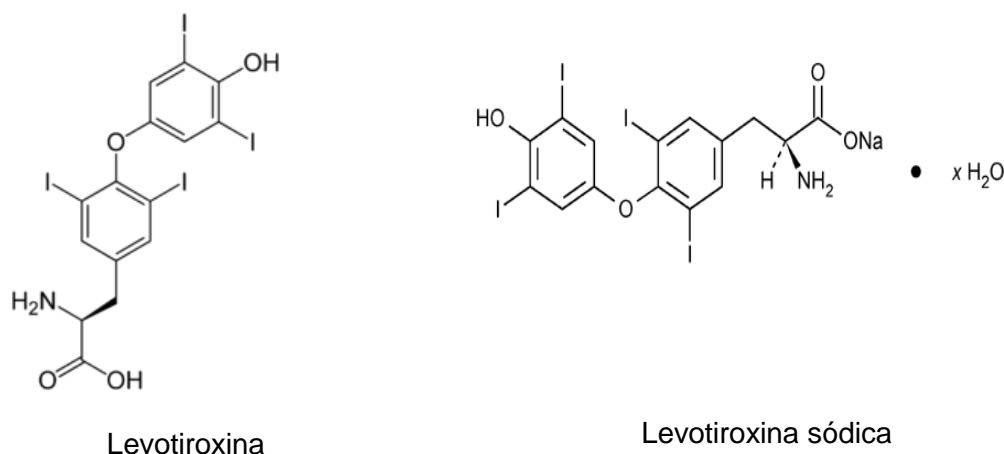


Figura 2.11. Estruturas moleculares da Levotiroxina (Chemburkar, et al., 2010).

2.3. Chalconas

Drogas derivadas das chalconas têm sido pesquisadas para o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas para o tratamento da leishmaniose, mas em geral são pouco solúveis em água e de baixa biodisponibilidade, limitando a eficácia terapêutica do tratamento (CHEN *et al.*, 1994; ROSSI-BERGMANN *et al.*, 1999; SAMPAIO DE SOUSA *et al.*, 2009). Além disso, apresentam reações adversas agudas que precisam ser atenuadas. Para viabilizar a administração dessas drogas para o tratamento de pacientes com leishmaniose, uma alternativa é utilizar a micronização supercrítica para a formação de nanopartículas, de modo a melhorar a morfologia, o tamanho e o controle da distribuição dos tamanhos das partículas.

Nesse sentido, escolheram-se 3 tipos de chalconas (transchalcona, chalcona CH8 e NAT-22) para estudos de micronização SAS, visando a determinação das condições ótimas de formação de nanopartículas em função dos seguintes parâmetros de processo em escala de bancada: pressão, temperatura, vazão de solvente e tempo de residência.

As chalconas consistem de uma cadeia aberta em que os dois anéis aromáticos são ligados por um e três átomos de carbono, formando uma carbonila insaturada. Para um grupo de compostos estruturalmente simples, chalconas têm exibido uma impressionante variedade de atividades farmacológicas, incluindo antimalárica e leishmanicida, bem como antimicrobiana, efeitos anti-inflamatórios e anti-virais (NUNES *et al.*, 2009). As Figuras 2.12, 2.13 e 2.14 ilustram as estruturas moleculares da transchalcona, chalcona CH8 e NAT 22, respectivamente.

A transchalcona é uma cetona aromática presente em muitos compostos biológicos importantes (vide Fig. 2.12).

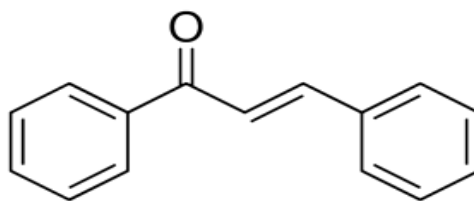


Figura 2.12. Estrutura molecular da transchalcona (C₁₅H₁₂O) (SAMPAIO DE SOUSA *et al.*, 2009).

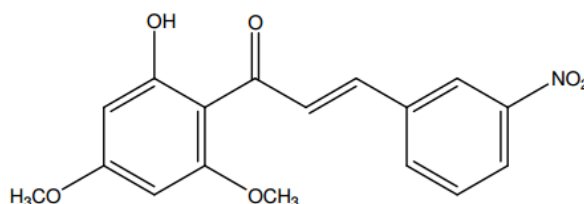


Figura 2.13. Estrutura molecular da chalcona CH₈ (3-nitro-2'-hidroxi-4',6'-dimetoxichalcona) (ZANCHETTA, 2009)

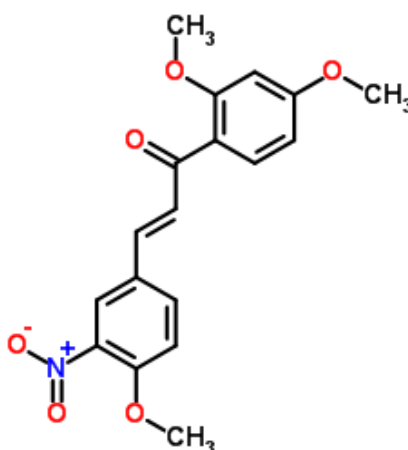


Figura 2.14. Estrutura molecular da NAT 22 (C₁₈H₁₇NO₆), adaptado de BOECK *et al.*, 2006.

Estas moléculas possuem uma potente atividade seletiva e sínteses simples que indicam ser potenciais candidatas para o desenvolvimento de novas drogas leishmanicidas. Entretanto, a atividade leishmanicida se modifica com as substituições de elementos químicos em seu anel e suas posições, assim os mesmos apontam para uma variação significativa em sua ação biológica (BOECK *et al.*, 2006).

CAPÍTULO 3. ESTUDO EXPERIMENTAL: MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Materiais

As drogas utilizadas nas corridas experimentais de micronização SAS foram a levotiroxina sódica, de grau farmacêutico (PM= 798,86 g/mol), a transchalcona (PM= 208,26 g/mol), a chalcona CH8 (PM= 208, 26 g/mol) e a NAT 22 (PM= 343,33 g/mol). A levotiroxina sódica foi adquirida na Sigma-Aldrich, Brasil. As três chalconas foram gentilmente cedidas pelo Laboratório de Imunofarmacologia, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ. Os solventes utilizados foram o etanol, acetato de etila, acetona, metanol, dimetilsulfóxido, acetonitrila, álcool isopropílico, diclorometano, todos em grau analítico, adquiridos junto à Sigma-Aldrich, Brasil. O dióxido de carbono foi comprado da White Martins. A Tabela 3.1 apresenta o grau de pureza de todos os compostos químicos citados. Todos os produtos químicos foram usados tal como recebidos.

Tabela 3.1- Grau de pureza dos compostos químicos utilizados neste trabalho.

Os solventes orgânicos estão listados do apolar para mais polar.

Composto Químico	Pureza (%)
Dióxido de carbono	≥ 99,99
Levotiroxina de sódica	≥ 98
Transchalcona	≥ 97
Chalcona CH8	≥ 97
NAT 22	≥ 97
Diclorometano	≥ 99,8
Acetona	≥ 99,5
Acetonitrila	≥ 99,8
Dimetilsulfóxido	≥ 99,9
Álcool isopropílico	≥ 99,8
Etanol	≥ 99,5
Metanol	≥ 99,5
Acetato de etila	≥ 99,8

3.2. Unidade de micronização SAS

A Figura 3.1 apresenta o esquema da unidade de micronização SAS em escala de bancada, montada no Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica da UFBA. As partes principais da unidade SAS são: um vaso de precipitação (volume interno de 300 mL), conforme Fig. 3.2, uma bomba seringa ISCO (Fig. 3.3) para CO₂, uma bomba tipo HPLC Gilson modelo 308 (Figura 3.4), para alimentação da solução orgânica no vaso de precipitação, uma banho criostático para o CO₂ e um banho termostático para aquecimento do vaso de precipitação, uma válvula micrométrica (HOKE, modelo 1315G4Y) para despressurizar o sistema e um cilindro de recuperação de solvente. Um filtro sinterizado foi colocado na parte inferior do vaso de precipitação para reter o material sólido. Na parte superior do vaso de precipitação foi instalado um restritor, com diâmetro de 125 µm, através do qual a solução orgânica da droga a ser micronizada é atomizada.

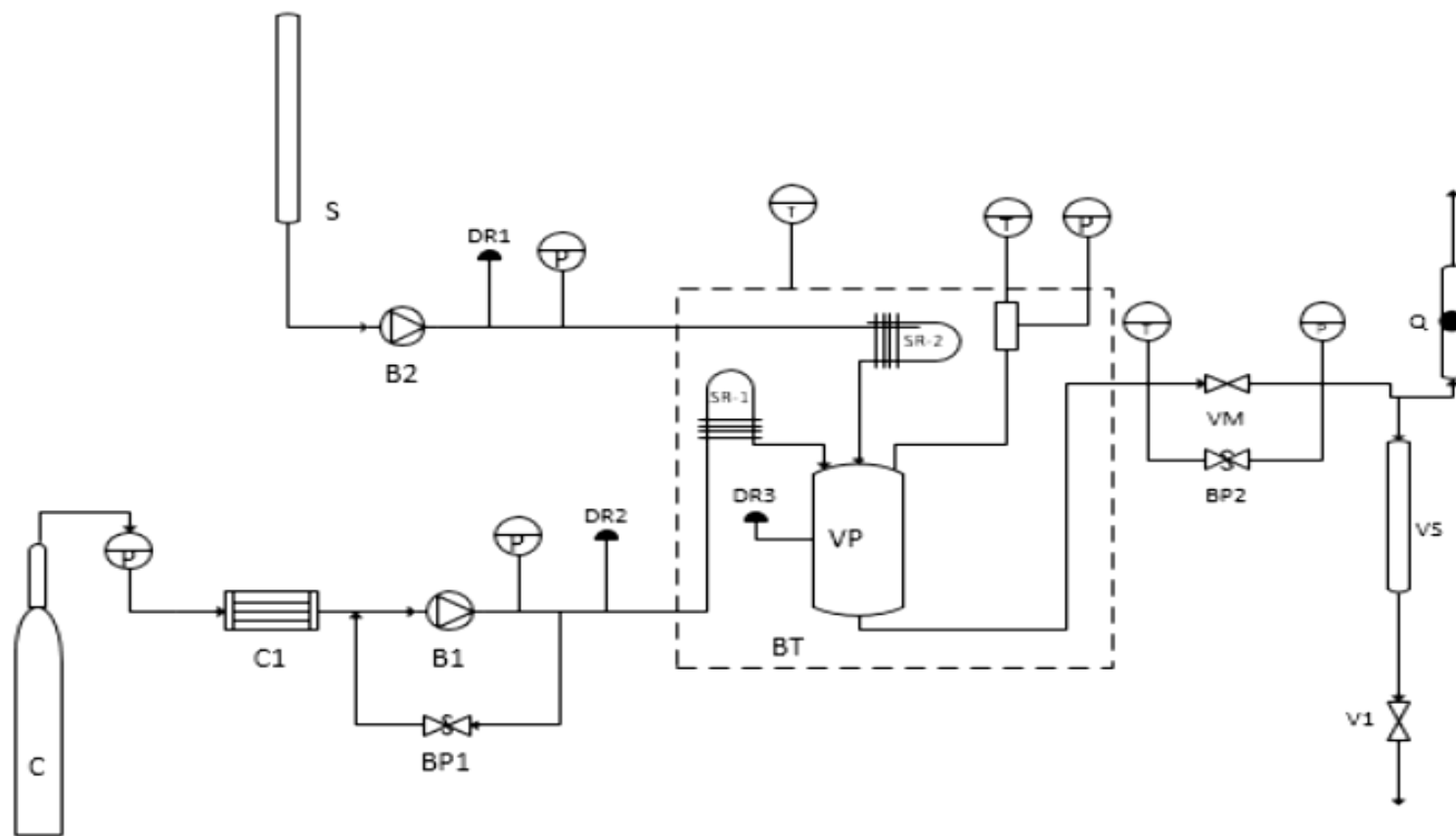


Figura 3.1. Esquema ilustrativo da unidade de bancada SAS. C, cilindro de CO₂; C1, Banho criogênico; B1 e B2, bombas de alta pressão; S, bureta de solução; BP1 e BP2, reguladores de pressão; BT, banho termostático; VP, vaso de precipitação; P, indicadores de pressão; T, indicadores de temperatura; SR-1 e SR-2, trocadores de calor; S, bureta de solução; VS, vaso de recuperação de solvente; VM, válvula micrométrica (agulha); Q, medidor de fluxo.

Uma corrida experimental típica começa resfriando o CO₂ até 5°C, para garantir que o mesmo esteja suficientemente subresfriado de modo a não sofrer vaporização durante o bombeamento, o que ocasionaria cavitação da bomba. O CO₂, na condição de líquido subresfriado, é bombeado pela bomba seringa ISCO, passa por uma serpentina de aquecimento para atingir a temperatura desejada (acima da temperatura crítica), e pressuriza o vaso de precipitação até a pressão desejada. Simultaneamente, a bomba tipo HPLC Gilson introduz a quantidade estipulada de solvente orgânico no vaso de precipitação, a fim de formar uma mistura saturada com CO₂ (o solvente líquido é expandido pelo CO₂). A vazão volumétrica do efluente do vaso de precipitação é contínua e controlada por um regulador do tipo *back-pressure* (válvula BPR) para evitar flutuações, e é conduzida através de uma válvula agulha de ajuste fino, responsável pela despressurização lenta. Depois que o sistema atinge o estado estacionário (pressão, temperatura e vazão constantes), o solvente orgânico é substituído pela solução orgânica contendo a droga a ser micronizada. Na parte superior do vaso de precipitação existe um restritor (125 µm de diâmetro interno) através do qual a solução orgânica é atomizada bruscamente. O efeito simultâneo da expansão do solvente orgânico pelo dióxido de carbono supercrítico e da drástica redução da solubilidade da droga nesse solvente leva à precipitação da mesma, na forma de pó, que é retido por um filtro de porosidade adequada, instalado na parte interna do fundo do vaso de precipitação. O tempo de residência é calculado a partir da vazão das dimensões do vaso de precipitação, das condições de pressão e temperatura e das propriedades dos fluidos nessas condições, conforme recomendação da literatura (CARDOSO, 2008; REVERCHON e DE MARCO, 2011). A memória de cálculo do tempo de residência é apresentada no apêndice 4.

Após a precipitação das partículas, no tempo de residência adequado, o CO₂ é utilizado para purgar o solvente orgânico do vaso de precipitação, visando à obtenção de um pó seco (partículas micronizada) como produto final. O tempo de purga (entre 1 e 2 horas) é estimado conforme o volume do vaso de precipitação. Após a purga, o vaso de precipitação é lentamente

despressurizado e, ao atingir a temperatura ambiente, é aberto para permitir a recuperação do precipitado sólido.

Todos os solventes orgânicos, as condições experimentais testadas e os respectivos resultados encontrados são apresentados em tabelas do anexo 3 para as chalconas. Na tabela 3.2 são apresentados os resultados das corridas experimentais para a levotiroxina sódica.

Tabela 3.2. Condições experimentais da micronização da levotiroxina sódica usando metanol como solvente orgânico ($C_0 = 2 \text{ mg/mL}$) e CO_2 como antissolvente supercrítico.

Q_{sol} (mL/ min.)	Q_{CO_2} (ml.min. ⁻¹)	T (°C)	P (bar)	ρ_{CO_2} (g/cm ³)	Partícula
2	15	45	90	0,385	P
2	15	48	100	0,433	P
2	15	48	110	0,489	P
2	15	42	95	0,512	P
2	15	45	120	0,599	P

*P- Precipitado

3.3. Unidade de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão (EQUIFASE)

A técnica de micronização SAS, para ser bem sucedida, necessita que as seguintes condições iniciais sejam atendidas:

- (i) A droga deve ser muito pouco solúvel ou insolúvel no antissolvente supercrítico;
- (ii) O solvente orgânico e o antissolvente supercrítico devem ser miscíveis ou parcialmente miscíveis.
- (iii) A droga deve ser solúvel no solvente orgânico;

Por essa razão, é fundamental conhecer o comportamento de fases da mistura ternária droga-solvente orgânico-antissolvente supercrítico antes de realizar experimentos de micronização SAS. O estudo do equilíbrio de fases a

alta pressão para esse tipo de sistema ternário permite identificar a região do diagrama de fases (condições de temperatura e pressão) onde é possível ocorrer a precipitação.

Na literatura há alguns métodos disponíveis para estudos de equilíbrio de fases a alta pressão. Nesse trabalho, foi escolhido o método estático sintético, devido à sua rapidez e versatilidade, para estudar a transição de fases dos sistemas ternários previamente à micronização SAS, conforme descrito na próxima seção (GUPTA e SHIM, 2007; VIEIRA DE MELO, 1997).

A unidade de equilíbrio de fases a alta pressão EQUIFASE (SITEC Sieber Engineering AG) é constituída de uma célula de alta pressão com pistão (volume interno variável entre 35 e 50 cm³), equipada com janelas de safira e endoscópio com câmera, para a observação do comportamento de fases em função da pressão e temperatura, podendo ser operada até 500 bar e 150 °C. A Figura 3.5 apresenta o esquema simplificado dessa unidade, instalada no Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica 2 (LAB-08, localizado no CIENAM-UFBA), ilustrada na Figura 3.6. A imagem dentro da célula é capturada por uma câmera e ampliada no monitor localizado no painel frontal da EQUIFASE, facilitando a visualização da transição entre as fases. O agitador magnético e a bomba de recirculação são usados para intensificar o processo de mistura das fases, permitindo que se atinja o equilíbrio termodinâmico em cerca de 1 hora. O pistão de ajuste fino, acionado por nitrogênio, permite que o valor desejado da pressão na célula de equilíbrio seja atingido de forma bastante precisa, além de poder ser usado para restabelecer a pressão na célula de modo automático quando se faz a retirada de amostras.

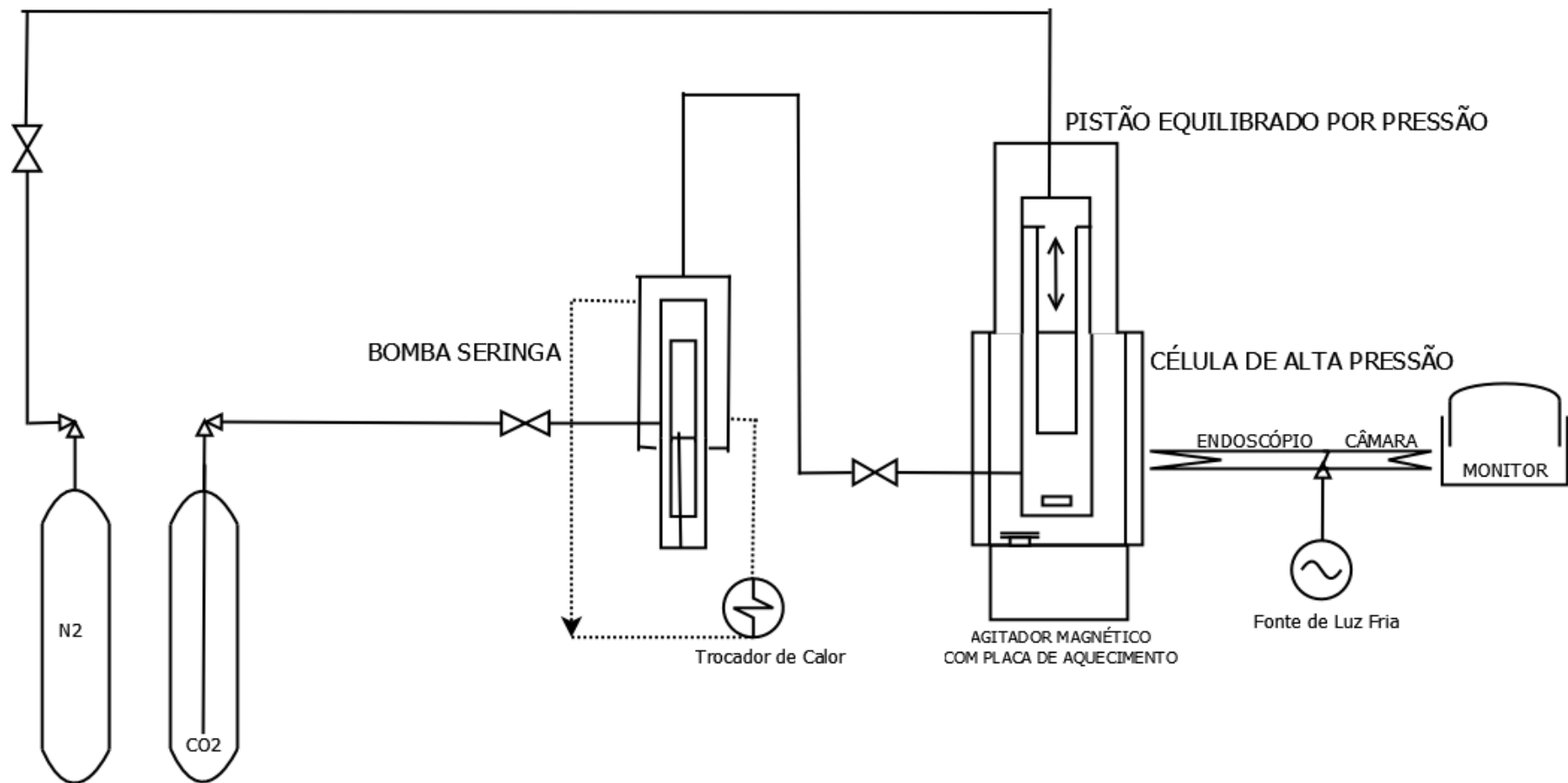


Figura 3.2. Esquema da unidade de equilíbrio de fases a alta pressão (EQUIFASE).



Figura 3.3. Unidade de equilíbrio de fases a alta pressão (EQUIFASE).

Um experimento típico na EQUIFASE inicia-se com a introdução de um volume conhecido da solução orgânica (droga + solvente orgânico) na célula de equilíbrio. A preparação dessa solução envolve o estudo prévio da solubilidade da droga no solvente orgânico para identificar a faixa desejada (entre 1 a 10 mg.mL⁻¹), evitando-se inclusive o consumo excessivo da droga (geralmente uma substância de alta pureza e custo elevado) nos experimentos de micronização SAS. A concentração dessa solução é também um fator que afeta a morfologia e o tamanho das partículas micronizadas, como relatado em trabalhos da literatura (REVERCHON, 1999; FOSTER *et al.*, 2003). Para a introdução da solução na célula de equilíbrio, remove-se o atuador do pistão e vete-se a mistura líquida na célula, evitando-se o derramamento fora da mesma. O atuador do pistão é remontado e a célula é completamente fechada. O dióxido de carbono líquido, obtido de um cilindro com tubo pescador a cerca de 55 bar e temperatura ambiente, é subresfriado até 5 °C e bombeado para a célula de equilíbrio até a pressão desejada (na faixa de 80 a 120 bar) usando-se uma bomba seringa. A mistura ternária droga-solvente orgânico-CO₂ é aquecida até a temperatura do experimento (na faixa de 40 a 70 °C), sob agitação, para promover o contato entre as fases e encurtar o tempo para se atingir o equilíbrio térmico. Em seguida, o sistema é deixado em repouso por cerca de 1 hora até atingir o equilíbrio termodinâmico. O ajuste fino de pressão

é feito acionando-se um pistão movido a N₂ pressurizado, até que uma única fase (sistema homogêneo) seja observada visualmente. A transição entre as fases é realizada a temperatura constante, variando-se a pressão através do movimento do pistão. Observa-se cuidadosamente a transição da fase única (acima do ponto crítico da mistura) para 2 fases (líquido-vapor) e se há a formação da terceira fase (sólida), evidenciada pelo aparecimento de partículas no sistema. Repete-se o procedimento de variação da pressão, nos dois sentidos, por pelo menos três vezes para cada temperatura, e anotam-se as condições de pressão e temperatura em que se observa cada transição.

Os resultados do estudo do equilíbrio de fases a alta pressão permite escolher as condições de pressão e temperatura mais adequadas às corridas experimentais da micronização SAS.

3.4. Difração a laser

A técnica de difração a laser (Laboratório de Nanotecnologia Supercrítica 2 (LAB-08, localizado no CIENAM-UFBA), foi usada para determinar a distribuição de tamanhos das partículas, antes e depois da micronização, em um Mastersizer 3000 (Malvern ®), com laser de He-Ne (4 mW, 632.8 nm), conforme ilustra a Figura 3.7. É feita a medição da variação angular na intensidade da luz dispersa e os tamanhos das partículas são calculados pelo padrão de dispersão (baseado na teoria de Mie), considerando o diâmetro de uma esfera de volume equivalente [D_{4,3}].

Embora as técnicas de determinação do raio hidrodinâmico, como espalhamento dinâmico da luz e difração a laser, tenham como limitação o fato de considerar apenas uma dimensão da partícula (o seu diâmetro), ou seja, apenas partículas aproximadamente esféricas, essa técnica quantitativa é largamente utilizada pela comunidade científica.

Para cada análise de tamanhos realizada no equipamento DLS (Malvern Mastersizer 3000), foram utilizadas 30 mg de amostra, empregando-se água

deionizada como meio de dispersão, já que a levotiroxina sódica não é facilmente solúvel em água ($105\text{-}150\ \mu\text{g.mL}^{-1}$)

A distribuição de tamanhos das amostras foi medida após 30 segundos de agitação em água (2000 rpm). Além de 30s, analisou-se a distribuição de tamanhos em 40,50,60 e 80 segundos, numa concentração de $27,3\ \mu\text{g. mL}^{-1}$. O fármaco comercial foi também analisado para fins de comparação.



Figura 3.4. Analisador de tamanho de partícula por difração a laser Mastersizer 3000 (Malvern ®)

3.5. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura foi empregada para avaliar a morfologia e ordem de grandeza dos tamanhos das partículas, antes e após a micronização. Utilizou-se um microscópio eletrônico de varredura, da marca TESCAN, modelo VEGA 3 LMU de alto vácuo na voltagem de 15keV. As análises foram realizadas no IFBA campus Salvador- Ba e as amostras foram previamente metalizadas com ouro, por pulverização a vácuo, e observadas no microscópio usando aumentos de até 15.000 vezes.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Solubilidade das drogas em solventes orgânicos

Conforme já dito no capítulo anterior, para que a técnica de micronização SAS, usando CO₂ como antissolvente supercrítico, seja bem sucedida, é preciso que as seguintes condições iniciais sejam atendidas:

- (i) A droga deve ser muito pouco solúvel ou insolúvel no CO₂ supercrítico;
- (ii) O solvente orgânico e o CO₂ supercrítico devem ser miscíveis ou parcialmente miscíveis.
- (iii) A droga deve ser solúvel no solvente orgânico;

A condição (i) é a primeira a ser observada, pois se a droga for muito solúvel no CO₂ supercrítico a técnica de micronização SAS não é indicada. Nesse caso, a melhor opção seria a técnica RESS.

Não foi encontrado na literatura nenhum dado de solubilidade da levotiroxina sódica, da chalcona CH₈ ou da NAT 22 em CO₂ supercrítico. Entretanto, para a transchalcona há dados de solubilidade em CO₂ supercrítico, com a fração molar da droga na faixa de 10⁻³ (NUNES *et al.*, 2009). Há também um relato de cálculos preditivos da solubilidade da levotiroxina em CO₂ supercrítico usando métodos de contribuição de grupo, em que a solubilidade calculada (fração molar) é da ordem de 10⁻⁹ a 10⁻¹¹ (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2010). A observação da estrutura molecular e polaridade dessas substâncias (para a levotiroxina, a presença de grupos NH₂ e OH, enquanto para as chalconas a presença de um grupo nitrogenado ligado ao anel aromático) são um indicativo da baixa solubilidade no CO₂ supercrítico.

Uma vez detectada a baixa solubilidade da droga no CO₂ supercrítico, parte-se para a escolha dos possíveis solventes orgânicos, que devem ser miscíveis ou parcialmente miscíveis com o CO₂ supercrítico, além de passíveis de expansão volumétrica considerável quando em contato com o mesmo para atender à condição (ii) (KORDIKOWSKI *et al.*, 1995; CARDOSO *et al.*, 2015; LAZZARONI *et al.*, 2005).

Feita uma seleção prévia dos possíveis solventes orgânicos que atendem à condição (ii), passa-se ao teste da condição (iii), ou seja, à verificação ou determinação da solubilidade da droga no solvente orgânico. A primeira opção de solvente orgânico é sempre o etanol, pelo fato de ser amplamente aceito e utilizado na indústria farmacêutica, devido ao seu valor de Limite Máximo Residual (LMR) permitido por lei. Para a levotiroxina sódica, a literatura relata que o etanol é um bom solvente (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2014). Portanto, decidiu-se usar o etanol como o solvente orgânico para todos os testes de micronização SAS dessa droga. Para a chalcona CH₈, a transchalcona e a NAT 22, foi necessário realizar testes de solubilidade em vários solventes orgânicos, selecionados conforme a condição (ii).

Sucintamente, os testes de solubilidade consistem em pesar certa quantidade de cada droga em um béquer, seguida da adição do solvente orgânico com a ajuda de uma pipeta, até que se observe a dissolução completa da droga, se for solúvel no solvente orgânico, formando uma mistura homogênea (solução orgânica).

Algumas soluções foram preparadas com o auxílio de um banho de ultrassom (+/- um minuto), para facilitar a dissolução, em particular para a NAT 22, que se apresenta na forma de pequenos cristais.

Geralmente, a faixa de solubilidade da droga no solvente orgânico desejada é de 1,0 a 10 mg/mL. Abaixo dessa faixa, implicaria num grande consumo de solvente orgânico e de CO₂ (antissolvente supercrítico) para uma pequena quantidade de droga. Por outro lado, se a solubilidade do soluto for muito alta, este competiria com o CO₂ supercrítico em termos de afinidade pelo solvente orgânico. Além disso, em se tratando de drogas muitas vezes de custo de aquisição elevado, solubilidades muito altas aumentam o consumo das mesmas, onerando os custos das corridas experimentais.

4.1.1. Solubilidade da Levotiroxina Sódica

Resultados da literatura mostram que a solubilidade da levotiroxina sódica em etanol está em torno de 7 mg/mL (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2014). Portanto, está dentro da faixa desejada.

4.1.2. Solubilidade das Chalconas

Os resultados dos testes de solubilidade das três diferentes formas moleculares das chalconas em diversos solvente orgânicos são apresentados na tabela 4.1.

Tabela 4.1. Solubilidades das Chalconas CH₈, transchalcona e NAT 22 em solventes orgânicos (ordem crescente de polaridade).

Solventes	CH ₈ (mg.mL ⁻¹)	Transchalcona (mg.mL ⁻¹)	NAT 22 (mg.mL ⁻¹)
Acetona	2,8	77,0	5,3
Acetonitrila	0,6	49,0	4,5
DMSO	NR	60,0	3,75
Álcool Isopropílico	0,4	75,0	<0,5
Álcool Etílico	Insolúvel	50,0	< 0,5
Metanol	0,3	23,0	1,0
Acetato de Etila	NR	84,0	5,0

*NR- Não Realizado

Os resultados da tabela 4.1 mostram que a chalcona CH₈ apresenta solubilidade desejada apenas em acetona, enquanto a NAT 22 possui solubilidade desejada em acetona, acetonitrila, DMSO e acetato de etila. Já a transchalcona apresentou elevadas solubilidades (acima de 10 mg/mL) em todos os solventes orgânicos testados.

A partir desses resultados, partiu-se para o estudo do equilíbrio de fases a alta pressão dos sistemas ternários droga+solvente orgânico+CO₂ supercrítico, visando identificar as melhores condições de pressão e temperatura para a realização da micronização SAS. Conforme relata a literatura, a micronização SAS ocorre de modo mais eficiente se o sistema solvente orgânico + CO₂

supercrítico (antissolvente) encontra-se na região A do diagrama da Figura 4.1, ou seja, acima do ponto crítico da mistura (REVERCHON e DE MARCO, 2011). Se a operação da micronização SAS cair nas regiões B (fase gasosa subcrítica), C (região de 2 fases, líquido e vapor) e D (fase líquida expandida), resultados completamente diferentes são obtidos, dependendo do estado físico da mistura formada no vaso de precipitação. Portanto, o estudo do equilíbrio de fases antes da micronização SAS é fundamental.

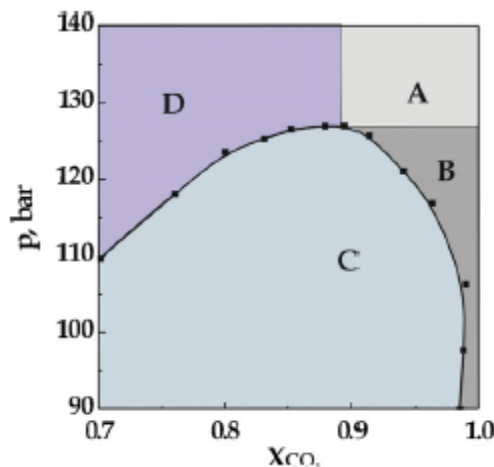


Figura 4.1. Diagrama de equilíbrio líquido-vapor para um sistema do tipo CO₂-solvente orgânico (adaptado de REVERCHON e DE MARCO, 2011).

Como já havia dados na literatura disponíveis para construção do diagrama pressão X composição, análogo à Fig. 4.1, para os sistemas binários solvente orgânico-CO₂, os mesmos foram utilizados como ponto de partida para os estudos de equilíbrio de fases dos sistemas ternários droga+solvente orgânico+CO₂ supercrítico.

Para o sistema levotiroxina sódica+etanol+CO₂ supercrítico, não houve necessidade do estudo preliminar do equilíbrio de fases, pois relato prévio da literatura sobre a micronização da levotiroxina usando as técnicas GAS e ARISE, com etanol e CO₂ supercrítico, indicou a faixa de temperatura e pressão a ser utilizada (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2014). Além disso, dados de equilíbrio de fases do sistema etanol-CO₂ supercrítico encontrados na literatura revelam que o ponto crítico dessa mistura a 80 bar e 40 °C está próximo da

fração molar do CO₂ igual a 0,8, conforme mostra a figura 4.2 (BRAEUER *et al.*, 2007). Portanto, a 40 °C, é recomendável que a micronização SAS da levotiroxina usando etanol e CO₂ supercrítico seja conduzida a partir de 80 bar.

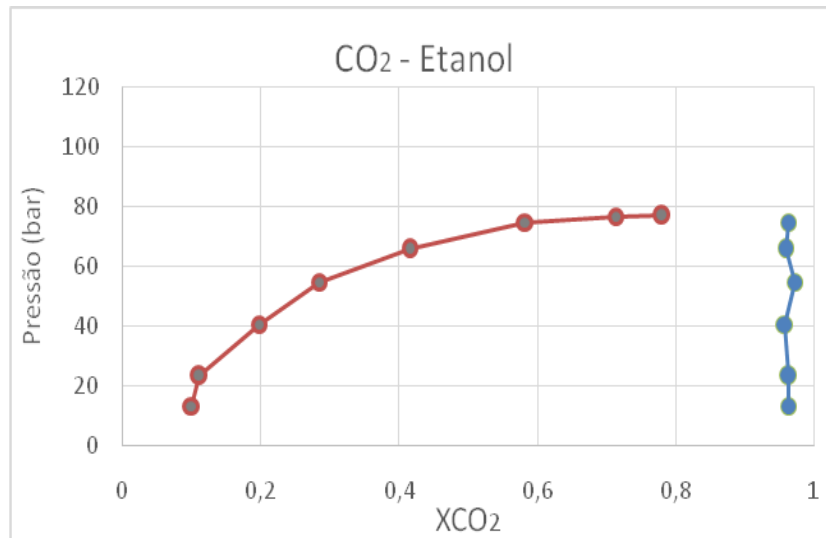


Figura 4.2. Diagrama de fases do sistema binário etanol-CO₂, adaptado de BRAEUER *et al.*, 2007.

Diante do exposto, foi necessário realizar o estudo de equilíbrio de fases a alta pressão apenas para a chalcona CH₈, a transchalcona e a NAT 22, com alguns solventes orgânicos, em presença de CO₂.

A literatura dispõe ainda de dados de equilíbrio líquido-vapor a alta pressão para os sistemas binários CO₂-solvente orgânico, em particular para os solventes orgânicos que deram bons resultados nos testes de solubilidade das chalconas (vide tabela 4.1), entre os quais o acetato de etila, conforme mostra a figura 4.3 (BYUN *et al.*, 2006; FALCO e KIRAN, 2012; MARTÍN *et al.*, 2007). Esse diagrama de fases revela que, a 40°C, é recomendável que a micronização SAS da transchalcona e da NAT 22, usando acetato de etila e CO₂ supercrítico, seja conduzida acima de 90 bar, para fração molar de CO₂ em torno de 0,98.

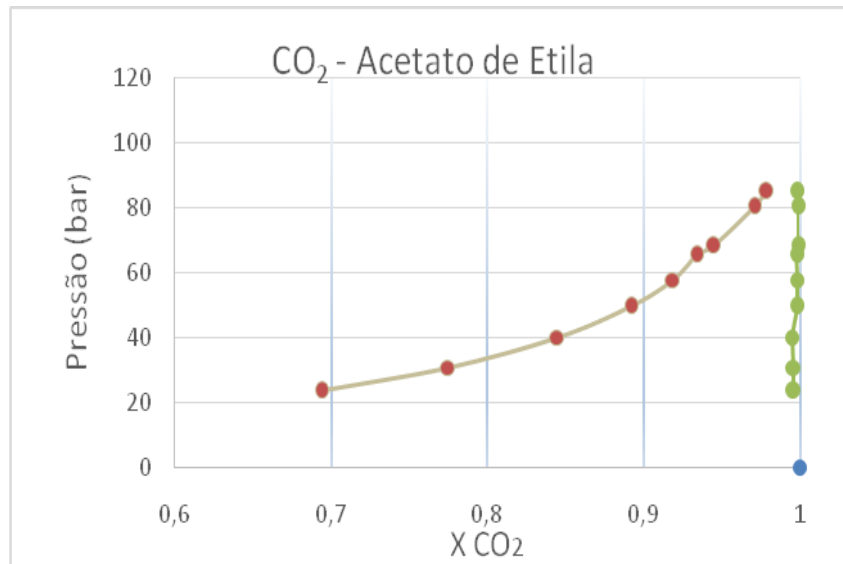


Figura 4.3. Diagrama de fases do sistema binário acetato de etila-CO₂
(Dados experimentais obtidos de DA SILVA *et al.*, 2000)

4.2. Resultados do Estudo de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão

Os experimentos realizados na unidade de equilíbrio de fases a alta pressão (EQUIFASE) para os sistemas ternários droga+solvente orgânico+CO₂ supercrítico objetivaram identificar as condições de temperatura e pressão em que a droga inicia a precipitação, tomando como base a região acima do ponto crítico da mistura binária solvente orgânico+CO₂ supercrítico (região A da figura 4.1).

A tabela 4.2 sintetiza os resultados dos estudos de equilíbrio de fases realizados visando detectar o aparecimento de partículas das chalconas, que levaram em consideração os resultados dos testes de solubilidade apresentados na tabela 4.1. O relato de todas as corridas experimentais de equilíbrio de fases realizadas encontra-se no apêndice 1. Todos os ensaios experimentais ocorreram a 40 °C, na faixa de pressão de 70 a 150 bar e concentração droga/solvente orgânico entre 5 e 6 mg/mL.

Tabela 4.2. Resultados da Formação e/ou Precipitação das Chalconas

Solvente	Transchalco na	CH8	NAT 22
Diclorometano	CF	-	SF
Acetona	CF	CF	CF
Acetonitrila	SF	-	SF
DMSO	SF	-	SF
Álcool			
Isopropílico	SF	-	-
Etanol	SF	-	-
Metanol	SF	-	-
Acetato de Etila	CF	-	SF

SF: Sem Formação de Partículas; CF: Com formação de partículas.

Os resultados da tabela 4.2 revelaram que a formação de partículas de transchalcona ocorreu apenas em acetona, acetato de etila e diclorometano, quando expandidos pelo CO₂ supercrítico. Para a chalcona CH₈ foi feito o estudo com acetona, pois sua solubilidade nos demais solventes orgânicos é muito baixa, e os resultados indicaram a ocorrência de formação de partículas. Para a chalcona NAT 22 somente foi observada a formação de partículas em acetona, mas eram tão raras que foram desconsideradas nos ensaios conduzidos.

Vale ressaltar que a formação de partículas não implica na sua precipitação, pois, dependendo das condições operacionais, as mesmas podem ficar em suspensão. Esse fato provavelmente decorre da célula de equilíbrio não ter sido projetada para fins de precipitação, mas para a observação da transição entre fases. O equipamento concebido especificamente para estudar a precipitação de partículas é o vaso de precipitação da unidade SAS.

O estudo prévio do equilíbrio de fases a alta pressão é necessário também para uma boa estimativa das vazões de solvente orgânico e dióxido de carbono a serem utilizadas no vaso de precipitação, de modo a garantir as proporções adequadas para a supersaturação do solvente em condições de estado estacionário, durante a micronização SAS. O cálculo dessas vazões segue o procedimento de ANTUNES (2007) e é apresentado detalhadamente no apêndice 4.

4.3. Resultados da Micronização SAS

4.3.1. Micronização da Levotiroxina Sódica

A levotiroxina sódica foi micronizada usando álcool etílico como solvente orgânico e CO₂ supercrítico como antissolvente. As corridas experimentais foram conduzidas em diferentes condições de temperatura e pressão, explorando-se o efeito da variação da densidade do dióxido de carbono na morfologia e distribuição de tamanhos das partículas. O melhor resultado seria o que alcançasse o menor tamanho de partícula e a distribuição de tamanhos mais estreita. Os testes foram realizados em duplicata e todas as soluções possuíam o volume de 50 mL, uma vazão fixa do dióxido de carbono supercrítico de 15 mL/min., uma concentração fixa de 2 mg/mL e o cálculo do tempo de secagem (purga) de 1h20min, usando dióxido de carbono supercrítico, como descrito por ANTUNES (2007).

4.3.2. Micronização das chalconas

As corridas experimentais de micronização da chalcona CH₈, da transchalcona e da NAT 22 foram conduzidas em diferentes solventes orgânicos, com base nos resultados obtidos do estudo de equilíbrio de fases a alta pressão, fixando-se a concentração da solução orgânica. Variaram-se os parâmetros principais do processo, tais como temperatura, pressão, vazão da solução orgânica e vazão de CO₂, de modo a observar seus efeitos na formação de partículas. Os resultados são apresentados no apêndice 3 deste trabalho. Como pode ser observado, em nenhum dos casos obteve-se a

formação de precipitado (partículas) ao final da micronização SAS. Para a transchalcona, os ensaios experimentais foram conduzidos para concentrações da solução orgânica de 6 e 10 mg/mL, com uma vazão do CO₂ de 15 mL/min., e para concentração de 30 mg/mL com uma vazão de 20 mL/min. O volume da solução variou de 17, 20 a 50 mL, o que a princípio poderia afetar somente a quantidade do pó micronizado a ser obtida e o tempo total do experimento. Respeitaram-se as condições operacionais de temperatura e pressão indicadas pelo estudo prévio de equilíbrio de fases a alta pressão (EQUIFASE), nas quais haviam sido visualizadas partículas em suspensão, embora sem precipitação. Além disso, investigou-se a possibilidade de ocorrência de precipitação variando-se a concentração e a vazão da solução orgânica, bem como a vazão do CO₂. As variações nas condições de vazão também foram modificadas com o intuito de propiciar mudanças no tempo de residência no vaso de precipitação, visando aumentar o contato entre as duas fases (CO₂ e solução orgânica) bombeadas continuamente. Apesar de todas as tentativas, os resultados desejados da micronização SAS da transchalcona não foram alcançados, ou seja, não se obteve o pó precipitado (droga micronizada) ao final do processo. Entre as possíveis razões para esses resultados, apontam-se:

i) A mistura ternária CO₂-solvente orgânico-soluto pode apresentar uma boa afinidade química entre as moléculas das 3 substâncias (NUNES et al. 2009), de forma que o efeito antissolvente não se manifestasse da forma adequada;

ii) O processo de mistura na parte superior do vaso de precipitação, por onde entram tanto o CO₂ quanto a solução orgânica, pode ter ocorrido de forma pouco eficiente, ou seja, se as fases CO₂ e solução orgânica não tiverem um contato adequado desde o início, a solução pode ter passado pelo vaso sem expandir como deveria. Nesse caso, uma opção seria adquirir um novo restritor com bocal coaxial, adaptando o SAS para a técnica SEDS.

Para a chalcona NAT 22, foram realizados 4 corridas experimentais de micronização SAS usando acetona, variando-se as condições de pressão, temperatura, vazão da solução orgânica e vazão de CO₂, além do tempo de purga, conforme mostra a tabela A 3.4 do apêndice 3. No entanto, não se alcançou a precipitação de material sólido (partículas da droga) ao final do processo.

Para a micronização SAS da chalcona CH₈, utilizou-se como solvente orgânico apenas a acetona, de acordo com os resultados do estudo preliminar de equilíbrio de fases a alta pressão. Conforme mostra a tabela A.3.5 (apêndice 3), apenas 2 corridas experimentais foram conduzidas e em ambas não se conseguiu a formação de partículas no vaso de precipitação. Devido a pouca quantidade da droga (a chalcona CH₈ não está disponível comercialmente e foi gentilmente cedida pelo Laboratório de Imunofarmacologia, do Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ), não foi possível realizar experimentos adicionais. Entretanto, observou-se a dificuldade em solubilizar a chalcona CH₈ em muitos solventes, quando comparada à transchalcona, que é muito menos polar, o que altera as forças intermoleculares. Ressalta-se que essa dificuldade de solubilização da chalcona CH₈ se deve à sua estrutura molecular, já que a presença de dois grupos metoxi e uma hidroxila modificam bastante a polaridade da molécula. A nuvem eletrônica deslocada torna a molécula mais estável, diferentemente da transchalcona.

Em síntese, a micronização SAS não alcançou êxito para nenhuma das 3 chalconas testadas.

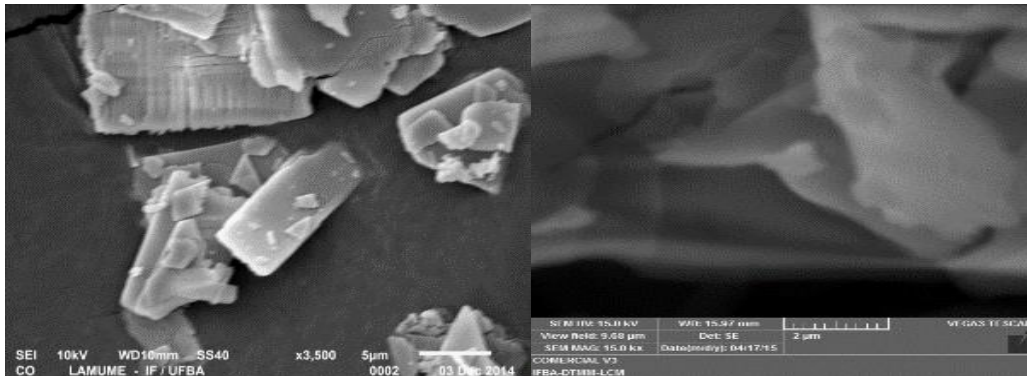
4.4. Caracterização da Levotiroxina Sódica Micronizada

4.4.1. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Levotiroxina Sódica

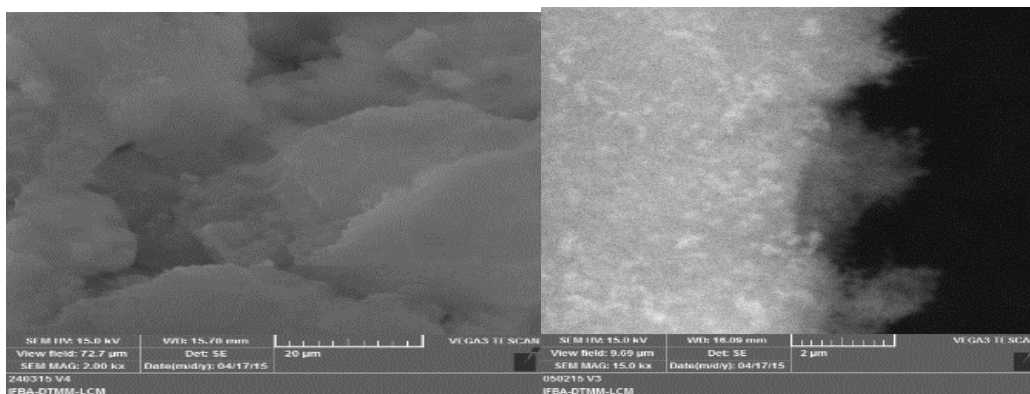
A morfologia das amostras de levotiroxina sódica obtida nas corridas experimentais foi analisada por microscopia eletrônica de varredura e comparada com a da levotiroxina comercial da Sigma. As micrografias são

mostradas na Figura 4.4, com ampliação na faixa de 2.000 a 15.000 vezes. Observou-se uma significativa mudança de morfologia das amostras micronizadas (aspecto amorfo) quando comparadas à amostra comercial (aspecto cristalino em forma de placas).

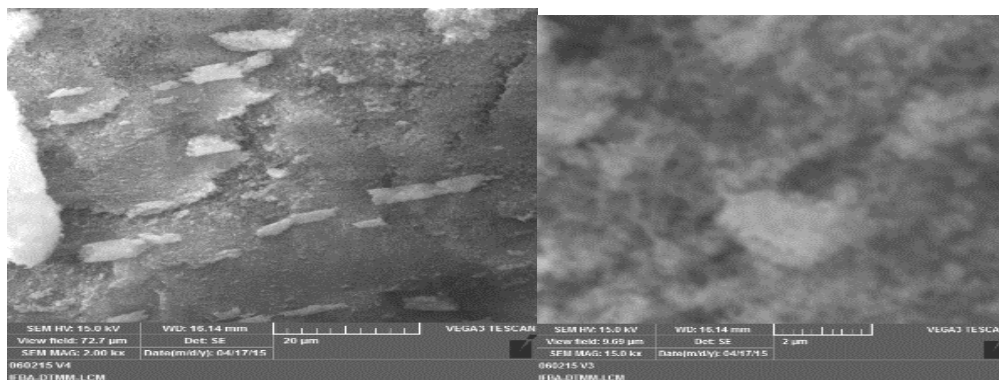
(A) levotiroxina comercial



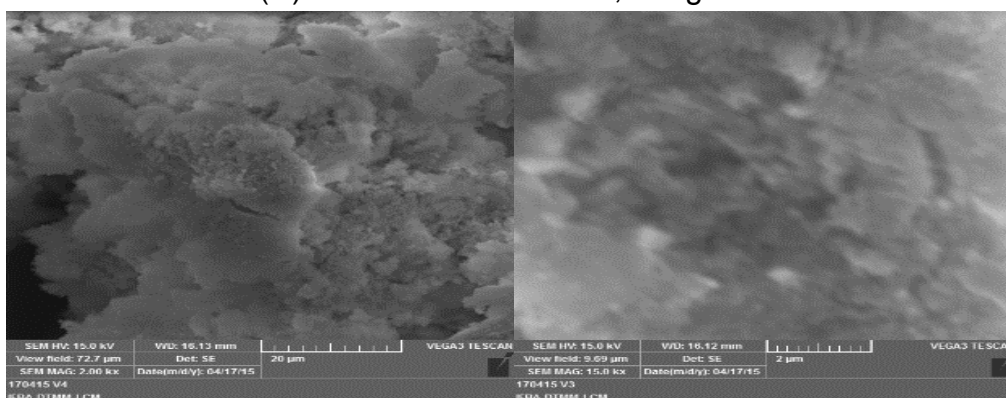
(B) Densidade do CO₂: 0,385 g/ cm³



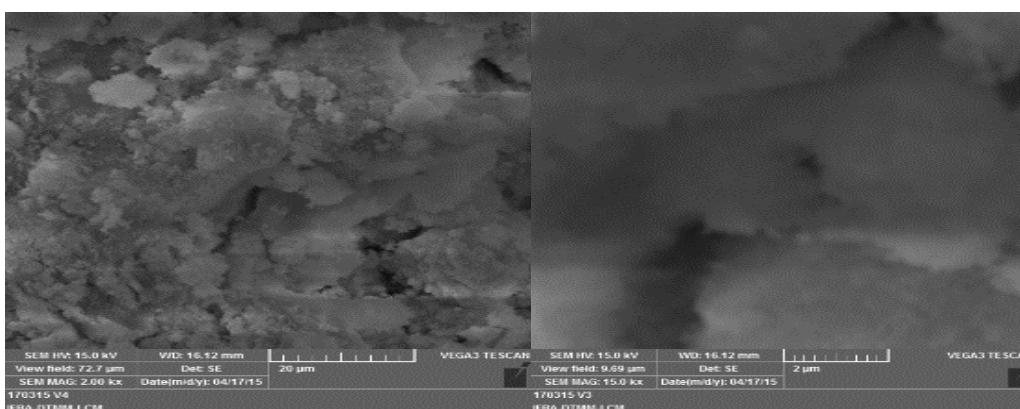
(C) Densidade do CO₂: 0,433g/ cm³



(D) Densidade do CO₂: 0,512 g/ cm³



(E) Densidade do CO₂: 0,489 g/ cm³



(F) Densidade do CO₂: 0,599 g/ cm³

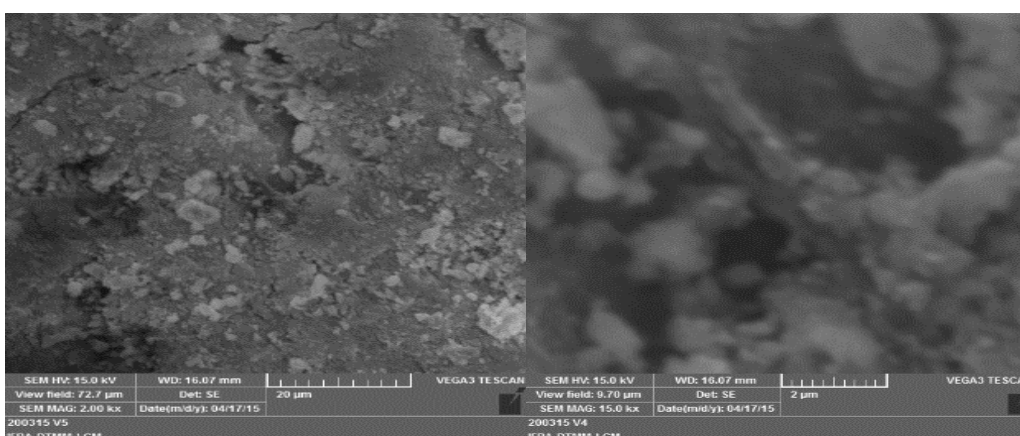


Figura 4.4: Micrografia das amostras analisadas: (A) levotiroxina comercial e levotiroxina sódica micronizada com etanol, para diferentes densidades do CO₂ (B, C, D, E e F).

4.4.2. Análise da distribuição de tamanhos das partículas micronizadas

Utilizou-se a técnica de difração a laser (*Dynamic Light Scattering* - DLS) para determinar a distribuição de tamanhos das partículas da levotiroxina sódica micronizada.

As duplicatas (fig.4.11, $d= 0,385 \text{ g/cm}^3$; fig. 4.12, $d=0,433 \text{ g/cm}^3$; fig.4.13, $d=0,512 \text{ g/cm}^3$; fig.4.14, $d=0,599 \text{ g/cm}^3$), são apresentadas graficamente numa sobreposição (linhas laranja, preta e cinza) em relação ao comportamento da forma comercial (linha azul) para comparação.

Os gráficos das distribuições de tamanhos das amostras foram construídos considerando todos os tamanhos médios (D10, D50 e D90). Os resultados revelaram estreitas distribuições de tamanhos, com perfil uni e bimodal, com faixas de tamanhos diferentes, dependendo da densidade do CO_2 supercrítico empregada. Esta variável é responsável pelas principais características das partículas, como tamanho e morfologia (THORAT e DALVI, 2012).

A Fig. 4.5 mostra a distribuição de tamanhos de levotiroxina sódica comercial para fins de comparação com as amostras micronizadas. A distribuição de tamanhos das partículas para as amostras micronizadas com etanol e CO_2 supercrítico são apresentadas nas figuras 4.6 a 4.10. Para densidades de CO_2 de $0,433 \text{ g/cm}^3$ (Fig. 4.8) e $0,489 \text{ g/cm}^3$ (Fig. 4.9), observou-se um perfil bimodal com uma subpopulação que varia de 0,5 a $100 \mu\text{m}$. Já os ensaios realizados com densidades de CO_2 iguais a $0,385 \text{ g/cm}^3$ (Fig. 4.6), $0,512 \text{ g/cm}^3$ (Fig. 4.7) e $0,599 \text{ g/cm}^3$ (Fig. 4.10), produziram partículas com perfil de distribuição unimodal.

A Fig. 4.10 mostrou que as partículas apresentaram um perfil monomodal, mas com ampla distribuição de tamanhos (comportamento polidisperso).. Tal comportamento pode ser atribuído a presença de solvente residual que causou aglomeração apreciável dos pós, contribuindo com o perfil polidisperso das

partículas micronizadas. No entanto, vale a pena ressaltar que todos os diâmetros médios obtidos na micronização foram reduzidos quando comparados com a levotiroxina comercial. Estes resultados são compatíveis com os resultados da micronização usando as técnicas GAS e ARISE, relatados por VIEIRA DE MELO *et al.*, (2014).

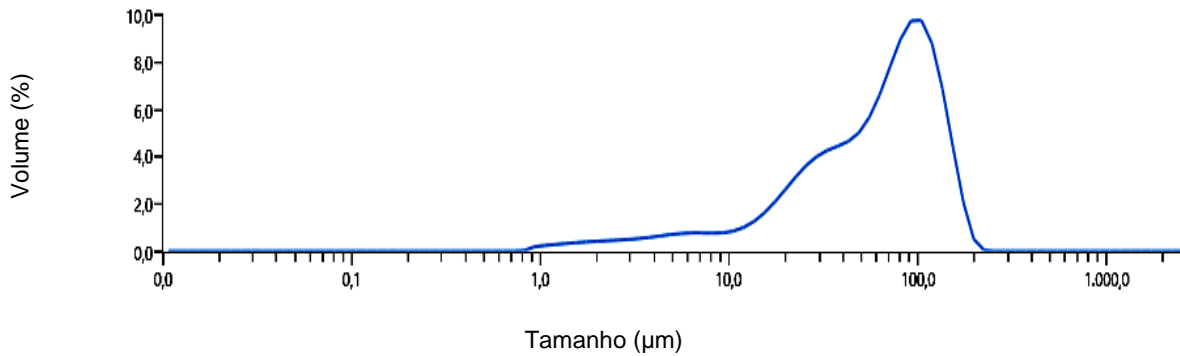


Figura 4.5: Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica comercial [D_{4,3}] ~100 µm .

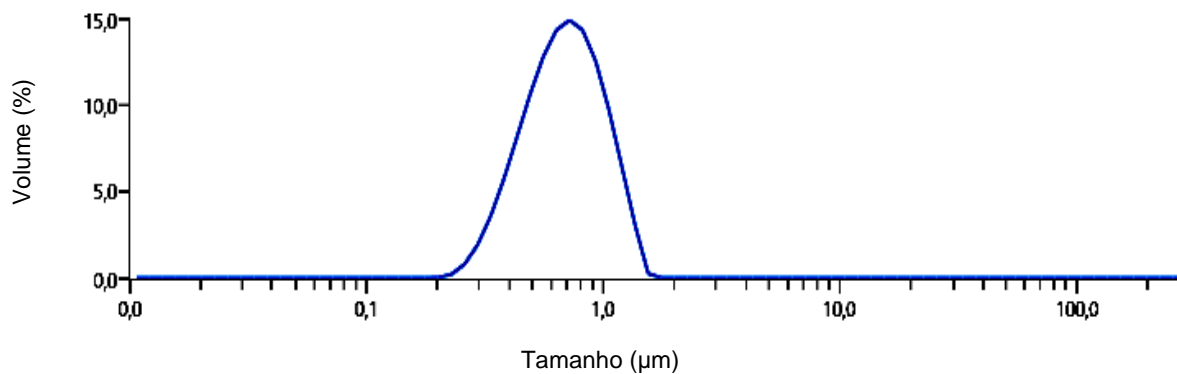


Figure 4.6: Distribuição monomodal de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂(d=0,385 g/cm³), [D_{4,3}] ~0,7 µm.

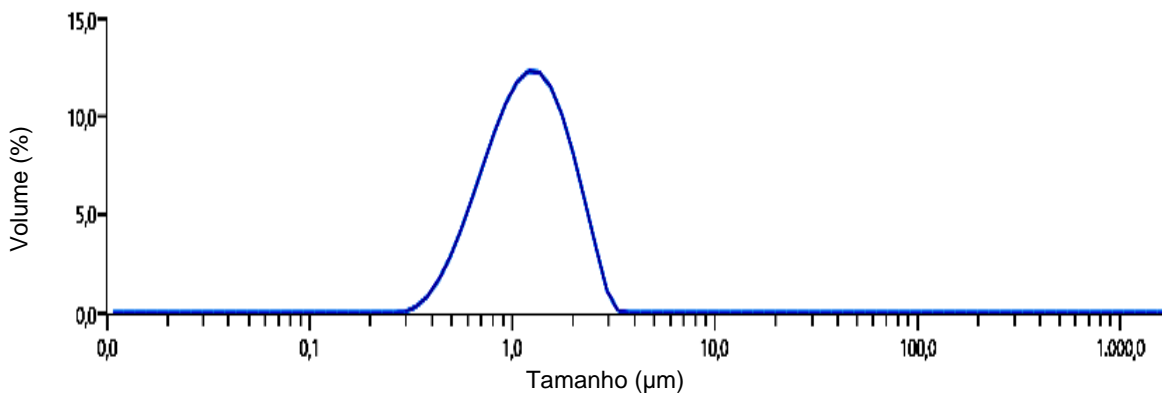


Figure 4.7: Distribuição monomodal de tamanhos das partículas de

levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,512 g/cm³).

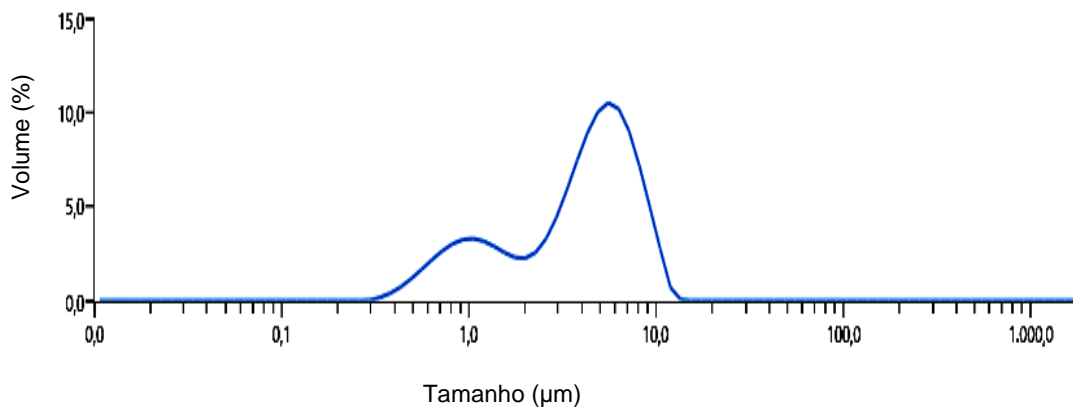


Figure 4.8: Distribuição bimodal de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,433 g/cm³).

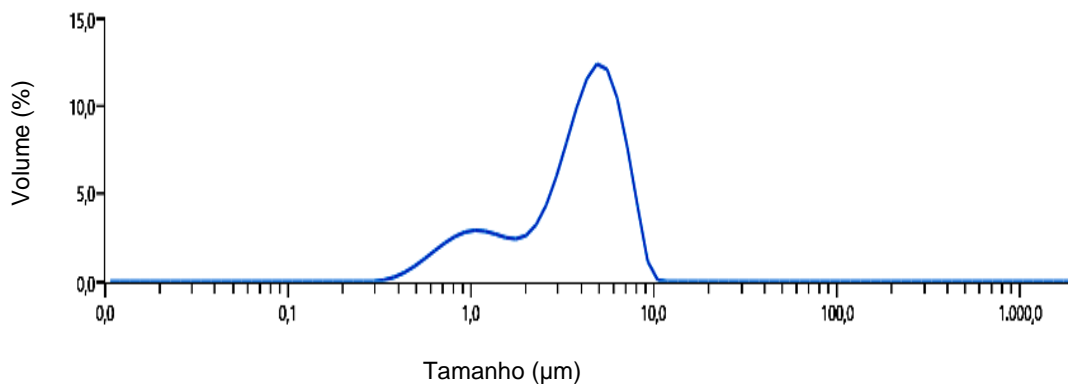


Figura 4.9: Distribuição bimodal de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,489 g/cm³).

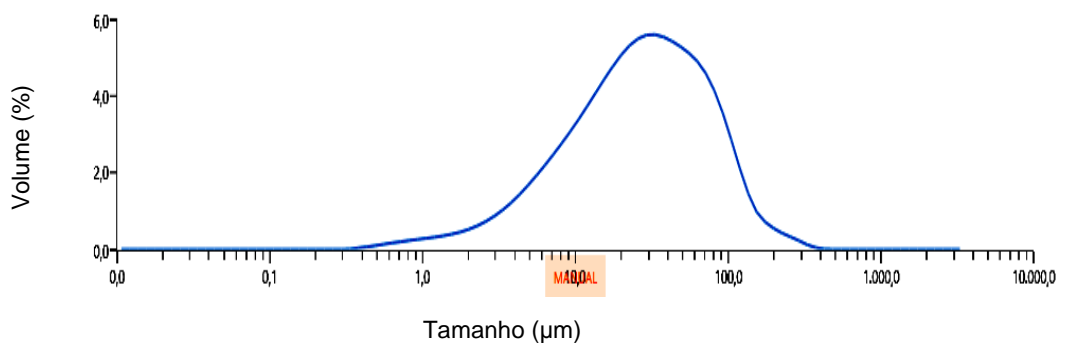


Figura 4.10: Distribuição monomodal de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,599 g/cm³).

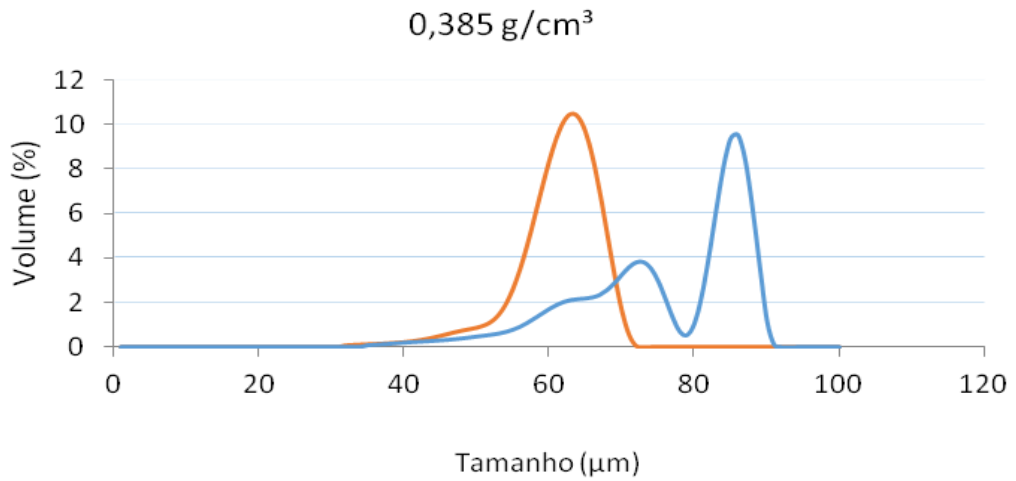


Figura 4.11. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,385 g/cm³).

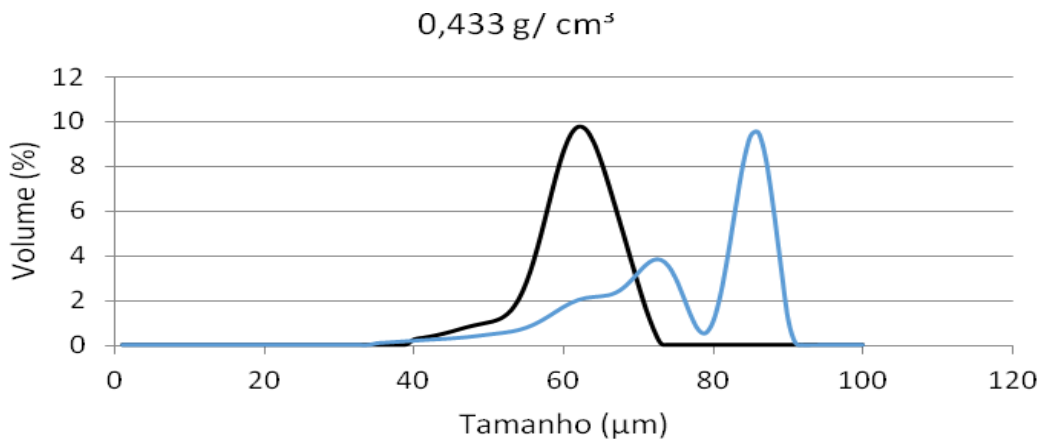


Figura 4.12. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,433 g/cm³).

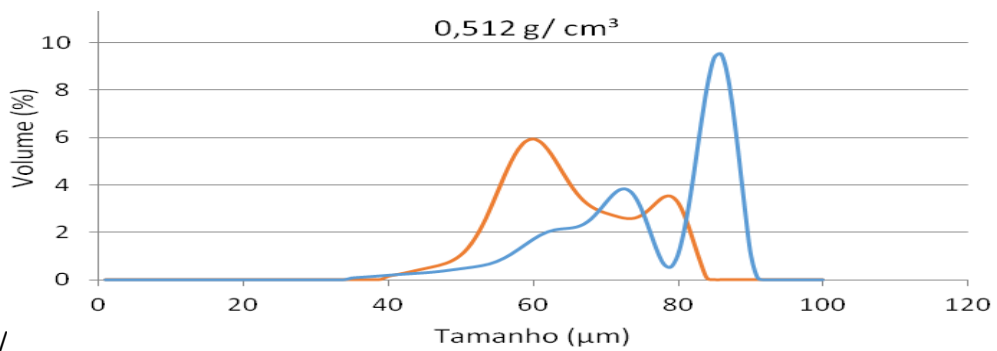


Figura 4.13. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ (d=0,512 g/cm³).

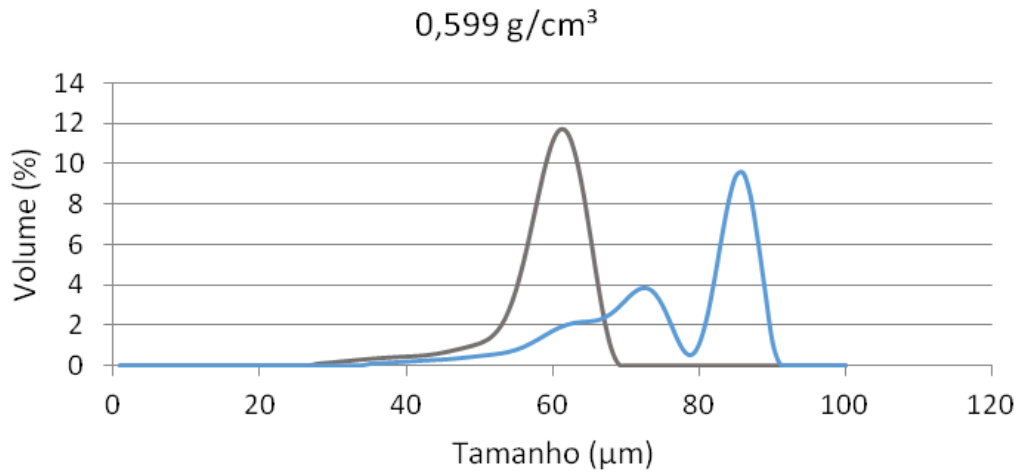


Figura 4.14. Distribuição de tamanhos das partículas de levotiroxina sódica micronizada com CO₂ ($d=0,599 \text{ g/cm}^3$).

Os tamanhos médios das partículas (D50) dos diferentes experimentos realizados estão apresentados na Fig.4.15, mostrando que os tamanhos médios obtidos (D50) com a micronização são bem menores que o da fórmula comercial da levotiroxina sódica para todos os experimentos. Entretanto, há alguns pontos com altos desvios em relação à média, os aglomerados, que não foram contabilizados. Vale notar que o aumento da densidade do CO₂ leva a uma redução significativa nos tamanhos, como já foi relatado em vários estudos anteriores.

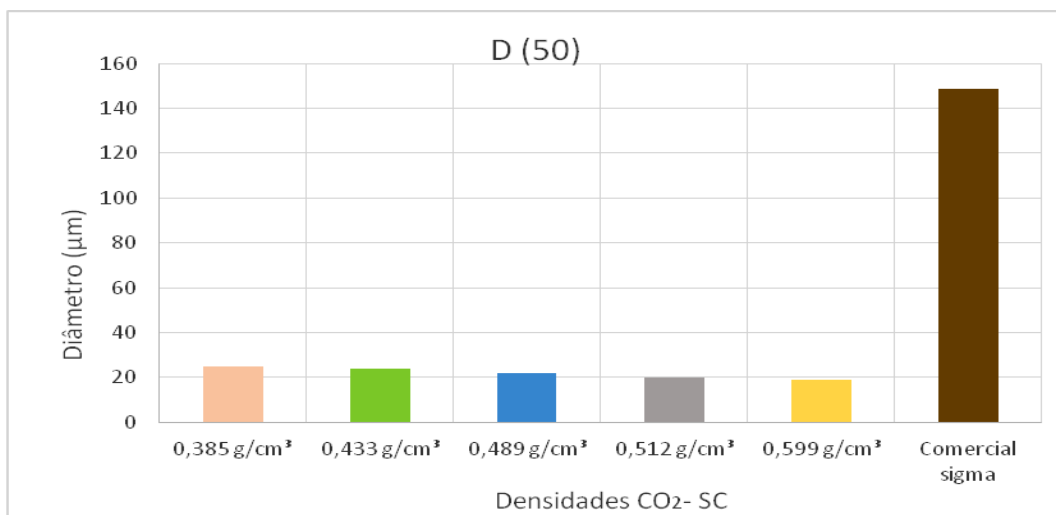


Figura 4.15. Diâmetro médio das partículas micronizadas com diferentes densidades (g/cm³) de CO₂ - SC e da levotiroxina comercial.

CAPÍTULO 5.

CONCLUSÕES E SUGESTÕES

5.1 Conclusões

A micronização da levotiroxina sódica usando a técnica SAS foi realizada com sucesso, apresentando uma redução significativa do tamanho da partícula e uma distribuição mais estreita. As micropartículas precipitadas estão em uma faixa entre 1 e 10 μm e a sua morfologia indica um estado amorfo, diferente do aspecto cristalino da droga antes da micronização. No entanto, não foi possível identificar com precisão sua morfologia devido a limitações de ampliação do microscópio eletrônico de varredura. A comparação desses resultados com os da literatura usando a técnica GAS (VIEIRA DE MELO *et al.*, 2014) revelou distribuição de tamanhos de partículas distintos e morfologia diversa. Vale ressaltar, contudo, que a análise MEV do pó de levotiroxina sódica micronizado por GAS utilizou ampliações mais significativas, possibilitando melhor identificação da morfologia gerada. Os resultados da micronização SAS de levotiroxina sódica mostraram que o tamanho da partícula está diretamente relacionado ao valor de densidade do CO_2 supercrítico. Alguns parâmetros podem ser otimizados, como o tempo de purga e a vazão do CO_2 , para que se obtenham produtos menos aglomerados e totalmente livres de resíduo de solvente orgânico, embora esses parâmetros não influenciem diretamente no tamanho e morfologia, como relatado em MONTES, PEREYRA e DE LA OSSA (2015).

O insucesso das inúmeras tentativas de micronização das 3 chalconas pode ter várias causas, mas a principal parece ser a ocorrência de ressolubilização da droga no solvente orgânico durante a etapa de depressurização do vaso de precipitação, quando o efeito antissolvente do CO_2 diminui drasticamente. Outra explicação pode ser a solubilidade da transchalcona em CO_2 supercrítico que, segundo dados de NUNES *et al.* (2009), não é desprezível, o que seria um indicativo da possibilidade de utilização da técnica RESS ao invés de SAS. Além disso, é possível que efeitos termodinâmicos, de transferência de massa e de fluidodinâmica tenham ocorrido de forma combinada e, dada a sua complexidade, é difícil analisá-los isoladamente. Entre os quais, pode-se pensar que o processo de mistura da

solução orgânica (que passa pelo atomizador/restritor) com o antissolvente supercrítico não ocorreu de forma adequada, o que poderia ser melhorado usando-se um restritor coaxial como na técnica SEDS.

5.2. Sugestões

Apesar das dificuldades encontradas em respostas experimentais, o estudo contribuiu para reforçar a necessidade de aperfeiçoamento na otimização de operação nas técnicas supercríticas aos referidos fármacos. E a fim de garantir os resultados esperados para as futuras formulações no tratamento da leishmaniose sugere-se entre as possibilidades de estudos futuros das chalconas:

- Realizar a micronização usando a técnica SEDS, o que exigiria a aquisição de um restritor coaxial para ser adaptado na atual unidade SAS;
- Realizar um estudo mais aprofundado das variações moleculares do fármaco disponíveis para testes.
- Sugere-se a otimização das condições operacionais de processo escolhidas;
- Investigar resultados de micronizações realizadas com diferentes diâmetros de restritores

Referências Bibliográficas

ANTUNES, S. I. M. *Micronização supercrítica do beta-caroteno*. Dissertação (mestre)- **Engenharia Biológica, Lisboa: Universidade Técnica De Lisboa**, p. 72, 2007.

BEH, C. C. *Formation of nano-carrier systems by dense gas processing*. These (Doctor of Philosophy)-**Chemical Engineering.The University of New South Wales** ,2013.

BOECK, P.; FALCÃO, C. A.; LEAL, P. C.; YUNES, R.; AUGUSTO; FILHO, V. C.; TORRES-SANTOS, E. C.; ROSSI-BERGMANN, B. Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity. **Bioorganic and Medicinal Chemistry**, v. 14, n. 5, p. 1538–1545, 2006.

BOELAERT, K.; FRANKLYN, J. A. Thyroid hormone in health and disease. **Journal of Endocrinology**, v. 187, n. 1, p. 1-15, 2005.

BOULTON, D. W.; FAWCETT, J. P.; WOODS, D. J. Stability of an extemporaneously compounded levothyroxine sodium oral liquid. **American Journal of Health-System Pharmacy**, v. 53, n. 10, p. 1157–1161, 15 maio 1996.

BRAEUER, A.; DOWY, S.; LEIPERTZ, A.; SCHATZ, R.; SCHLUECKER, E. Injection of ethanol into supercritical CO(2): Determination of mole fraction and phase state using linear Raman scattering. **Optics express**, v. 15, n. 13, p. 8377–8382, 2007.

BRAGA, M. E. M.; DIAS, A. M. A.; SOUSA, H. C. DE. **Extração de fitoquímicos com fluidos pressurizados/supercríticos e impregnação destes em biomateriais**,2015. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10316.2/36860>.

BRENNECKE, J. F.; ECKERT, C. A. Phase equilibria for supercritical fluid process design. **AIChE JOURNAL**, v. 35, p. 1409–1427, 1989.

BYUN, H.-S.; SHOI, M. Y.; LIN, J. S. High-pressure phase behavior and

modeling of binary mixtures for alkyl acetate in supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, n. 3, p. 323–332, 2006.

CAMPARDELLI, R.; REVERCHON, E. Instantaneous coprecipitation of polymer/drug microparticles using the supercritical assisted injection in a liquid antisolvent. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 120, p. 151-160, 2016.

CARDOSO, M.A.T. **Supercritical Micronization of Biological Therapeutics**. 2008.Thesis (Doutor em Biotecnologia). Instituto Superior Técnico- Universidade Técnica de Lisboa, 1689-1699, 2008.

CARDOSO, S. G.; SILVA, M. L. P. M.; COSTA, G. M. N.; VIEIRA DE MELO, S.A.B. Análise da Influência da Densidade da Mistura na Modelagem da Expansão Volumétrica de Solventes Orgânicos Usando CO₂ a Alta Pressão. **Chemical Engineering Proceedings**, v. 1, n. 2, p. 16327–16334, 2015.

CAVALCANTI, P.P. **Estudo de biodisponibilidade comparativa entre duas formulações contendo levotiroxina sódica em voluntários sadios**. 2005.180 f. Tese de Doutorado- Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Ceará, Ceará. 2005.

CHEMBURKAR, S. R.; DEMING, K. C.; REDDY, R. E. Chemistry of thyroxine: an historical perspective and recent progress on its synthesis. **Tetrahedron**, v. 66, n. 11, p. 1955–1962, 2010.

CHEN, M.; CHRISTENSEN, S. B.; THEANDER, T. G.; KHARAZMI, A. Antileishmanial activity of licochalcone A in mice infected with *Leishmania major* and in hamsters infected with *Leishmania donovani*. **Antimicrob Agents Chemother**, v. 38, n. 6, p. 1339–1344, 1994.

COCERO, M. J.; MARTÍN, Á.; MATTEA, F.; VARONA, S. Encapsulation and co-precipitation processes with supercritical fluids: Fundamentals and applications. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 546–555, 2009.

DA SILVA, M.V.; BARBOSA, D.; FERREIRA, P.O.; MENDONÇA, J. High pressure phase equilibrium data for the systems carbon dioxide/ethyl acetate

and carbon dioxide/isoamyl acetate at 295.2, 303.2 and 313.2 K. **Fluid Phase Equilibria**, v. 175, n. 1–2, p. 19–33, 2000.

DAVIES, B. Human physiology, **International Edition**. Recherche, 2001.

DE LA FUENTE, J. C.; SHARIATI, A.; PETERS, C. J. On the selection of optimum thermodynamic conditions for the GAS process. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 32, n. 1–3, p. 55–61, 2004.

DELLA PORTA, G.; DE VITTORI, C.; REVERCHON, E. Supercritical assisted atomization: a novel technology for microparticles preparation of an asthma-controlling drug. **AAPS PharmSciTech**, v. 6, n. February, p. E421–E428, 2005.

DOLLERY, C.T. **Therapeutic drugs**. Churchill Livingstone, 1991. Vol 2.

ESFANDIARI, N. Production of micro and nano particles of pharmaceutical by supercritical carbon dioxide. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 100, p. ABNT129-141, 2015.

FALCO, N.; KIRAN, E. Volumetric properties of ethyl acetate + carbon dioxide binary fluid mixtures at high pressures. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 61, p. 9–24, 2012.

FALLIS, A. Microparticle production for drug controlled release by supercritical assisted atomization. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 53, n. 9, p. 1689–1699, 2013.

FOSTER, N. R.; DEHGHANI, F.; CHAROENCHAITRAKOO, K. M.; WARWICK, B. Application of dense gas techniques for the production of fine particles. **AAPS pharmSci**, v. 5, n. 2, p. E11, 2003.

GILKISON, C. R. Thyrotoxicosis. Recognition and management. **Lippincott's primary care practice**, v. 1, n. 5, p. 485-498, 1996.

GIMENO, M.; VENTOSA, N.; SALA, S.; VECIANA, J. Use of 1,1,1,2-tetrafluoroethane (R-134a)-expanded liquids as solvent media for ecoefficient particle design with the DELOS crystallization process. **Crystal Growth and Design**, v. 6, n. 1, p. 23–25, 2006.

GUPTA, R. B.; SHIM, J.-J. **Solubility in supercritical carbon dioxide**. 1ed., CRC press, New York, 2006.

JAIN, K. K. **Drug delivery systems**. 2 ed., Humana Press: Basel, Switzerland, 2008.

JESSOP, P. G.; OLMSTEAD, M. M.; ABLAN, C. D.; GRABENAUER, M.; SHEPPARD, D.; ECKERT, C. A.; LIOTTA, C. L. Carbon dioxide as a solubility “switch” for the reversible dissolution of highly fluorinated complexes and reagents in organic solvents: Application to crystallization. **Inorganic Chemistry**, v. 41, n. 13, p. 3463–3468, 2002.

JUNG, J.; PERRUT, M. Particle design using supercritical fluids: Literature and patent survey. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 20, n. 3, p. 179–219, 2001.

KAYRAK, D.; AKMAN, U.; HORTAÇSU, Ö. Micronization of Ibuprofen by RESS. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 26, n. 1, p. 17–31, 2003.

KORDIKOWSKI, A.P.; SCHENK, R.M.; VAN NIELEN, C. J. P. Volume expansions and vapor-liquid equilibria of binary mixtures of a variety of polar solvents and certain near-critical solvents. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 8, n. 3, p. 205–216, 1995.

KURNIAWANSYAH, F.; DUONG, H.T.T.; LUU, T. D.; MAMMUCARI, R.; VITTORIO, O.; BOYER, C.; FOSTER, NEIL. Inhalable curcumin formulations: Micronization and bioassay. **Chemical Engineering Journal**, v. 279, p. 799–808, 2015.

LACK, E.; WEIDNER, E.; KNEZ, Z.; GRUNER, S. Particle generation with supercritical CO₂. Proceedings of the 1st, 2000.

LAZZARONI, M.J.; BUSH, D.; BROWN, J.S.; ECKERT, C.A. High-pressure vapor-liquid equilibria of some carbon dioxide + organic binary systems. **Journal of Chemical and Engineering**, v. 50, n. 1, p. 60–65, jan. 2005.

MARTÍN, Á.; SILVA, V.; PÉREZ, L.; GARCÍA-SERNA, J.; COCERO, M. J. Direct Synthesis of Linalyl Acetate from Linalool in Supercritical Carbon Dioxide: A Thermodynamic Study. **Chemical Engineering & Technology**, v. 30, n. 6, p. 726–731, 2007.

MARTINS, C. R.; ARAÚJO, W.; BITTENCOURT, J. Solubilidade das Substancias Orgânicas. **Qumica Nova**, v. 36, n. 8, p. 1248–1255, 2013.

MCHUGH, M. A.; KRUKONIS, V. J. Experimental Techniques in High-pressure Studies. **Supercritical Fluid Extraction - Principles and Practice**, n. 1980, p. 85–98, 1994.

MONTES, A.; PEREYRA, C.; DE LA OSSA, E. J. M. Screening design of experiment applied to the supercritical antisolvent precipitation of quercetin. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 104, p. 10–18, 2015.

NUNES, A.; SAMPAIO DE SOUZA, M.; Nunes da Ponte, M.; Duarte, C.M.M., Phase behaviour study of chalcone in dense CO₂. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, p. 9- 15, 2009.

SAMPAIO DE SOUSA, A.R.; NUNES DA PONTE, M.; DUARTE, C.M.M. Phase behaviour study of chalcone in dense CO₂. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 49, n. 1, p. 9–15, 2009.

SÃO PEDRO, A.; VILLA, S.D.; CALICETI, P.; VIEIRA DE MELO, S.A.B.; ALBUQUERQUE, E.C.; BERTUCCO, A.; SALMASO, S. Curcumin-loaded solid lipid particles by PGSS technology. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 107, p. 534–541, 2016.

PASQUALI, I.; BETTINI, R.; GIORDANO, F. Supercritical fluid technologies: An innovative approach for manipulating the solid-state of pharmaceuticals. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 60, n. 3, p. 399–410, 2008.

PATEL, H.; STALCUP, A.; DANSEREAU, R.; SAKR, A. The effect of excipients on the stability of levothyroxine sodium pentahydrate tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 264, n. 1, p. 35–43, 2003.

PAZ, A. T. DE. Estudio termodinámico de un proceso SEDS para la precipitación de fármacos. 2014.

PEIXOTO, A. C. B. **Funcionalização de nanopartículas poliméricas para liberação de medicamentos sítio-dirigida**. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2013.

PERUHYPE-MAGALHÃES, V.; MARTINS-FILHO, O. A.; PRATA, A.; SILVA, L DE A.; RABELLO, A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; FIGUEIREDO, R.M.; GUIMARÃES-CARVALHO, S.F.; FERRARI, T. C. A.; CORREA-OLIVEIRA, R. Immune response in human visceral leishmaniasis: analysis of the correlation between innate immunity cytokine profile and disease outcome. **Scandinavian journal of immunology**, v. 62, n. 5, p. 487–495, 2005.

POLING, B. E.; PRAUSNITZ, J. M. The properties of gases and liquids. 5. ed., 2001.

PRIAMO, W. L. Alimentos Precipitação E Encapsulamento De B- Caroteno Em Phbv Empregando. **Drug Delivery**, 2009.

REVERCHON, E. Supercritical antisolvent precipitation of micro- and nanoparticles. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 15, n. 1, p. 1–21, maio 1999.

REVERCHON, E.; ADAMI, R. Nanomaterials and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 37, n. 1, p. 1–22, fev. 2006.

REVERCHON, E.; CAPUTO, G.; DE MARCO, I. Role of Phase Behavior and Atomization in the Supercritical Antisolvent Precipitation. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 25, p. 6406–6414, 2003.

REVERCHON, E.; DE MARCO, I. Mechanisms controlling supercritical antisolvent precipitate morphology. **Chemical Engineering Journal**, v. 169, n. 1–3, p. 358–370, 2011.

REVERCHON, E.; DELLA PORTA, G.; FALIVENE, M. G. Process parameters and morphology in amoxicillin micro and submicro particles generation by supercritical antisolvent precipitation. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 17, n.

3, p. 239–248, 10 jun. 2000.

ROSSI-BERGMANN, B.; RODRIGUES, M.; MOREIRA, D. .; TORRES-SANTOS, E.C.; KAPLAN, M. A. C.Improvement of In Vitro and In Vivo Antileishmanial Activities of 2J , 6J-Dihydroxy-4J-Methoxychalcone by Entrapment in Poly (D,L- Lactide) Nanoparticles. **American Society for Microbiology**, v. 43, n. 7, p. 1776–1778, 1999.

SANE, A.; LIMTRAKUL, J. Formation of retinyl palmitate-loaded poly(l-lactide) nanoparticles using rapid expansion of supercritical solutions into liquid solvents (RESOLV). **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 51, n. 2, p. 230–237, dez. 2009.

SANTO, I. E. **Entrapment of insulin into nanometric liposomes produced by supercritical CO₂ for oral administration**. Tese (Doutorado- Engenharia Industrial)- Universidade Federal da Bahia: Salvador, 2015.

SHARIATI, A.; PETERS, C. J. Recent developments in particle design using supercritical fluids. **Current Opinion in Solid State and Materials Science**, v. 7, n. 4–5, p. 371–383, ago. 2003.

SILVA, R.; TAY, F. H.; SIMPLÍCIO, A.L.; KAZARIAN, S.G.; DUARTE,C.M.M. Solubility enhancement of trans-chalcone using lipid carriers and supercritical CO₂ processing.**The Journal of Supercritical Fluids**, v. 48, n. 2, p. 120–125, 2009.

SIH, R. P. T. **New process development of dense gas technology for the processing of pharmaceuticals**. Tese de Doutorado. The University of New South Wales Sydney, Australia, 2008.

SINGER, P A.; COOPER, D.S.; LEVY, E.G.; LADENSON, P.W.; BRAVERMAN, L .E.; DANIELS, G.; GREENSPAN, F. S.; MCDUGALL, I. R.; NIKOLAI, T. F. Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. **Journal of the American Medical Association**, v. 273, n. 10, p. 808–812, 1995.

SOUZA, H.C., BRAGA, M.E.M. **Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados**. Imprensa da Universidade de Coimbra/Coimbra University Press, 2015.

TABERNERO, A.; MARTÍN DEL VALLE, E. M.; GALÁN, M. A. Precipitation of tretinoin and acetaminophen with solution enhanced dispersion by supercritical fluids (SEDS). Role of phase equilibria to optimize particle diameter. **Powder Technology**, v. 217, p. 177–188, 2012.

TAVARES CARDOSO, M. A. et al.Characterization of minocycline powder micronized by a supercritical antisolvent (SAS) process. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 46, n. 1, p. 71–76, 2008.

THORAT, A. A.; DALVI, S. V. Liquid antisolvent precipitation and stabilization of nanoparticles of poorly water soluble drugs in aqueous suspensions: Recent developments and future perspective. **Chemical Engineering Journal**, v. 181–182, p. 1–34, 2012.

THOTE, A. J.; GUPTA, R. B. Formation of nanoparticles of a hydrophilic drug using supercritical carbon dioxide and microencapsulation for sustained release. **Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 85–90, 2005.

TOMASKO, D. L.; LI, H.; LIU, D.; HAN, X.; WINGERT, M. J.; LEE, L. J.; KOELLING, K. W. A review of CO₂ applications in the processing of polymers. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 42, n. 25, p. 6431-6456, 2003.

TORALLES, L. P. **Hidrólise de óleos e gorduras residuais em água subcrítica para produção de biodiesel**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Industrial)- Universidade Federal da Bahia: Salvador, 2016.

VARONA, S.; KARETH, S.; MARTÍN, Á.; COCERO, M. J. Formulation of lavandin essential oil with biopolymers by PGSS for application as biocide in ecological agriculture. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 54, n. 3, p. 369–377, set. 2010.

VENTOSA, N.; SALA, S.; VECIANA, J. DELOS process: A crystallization technique using compressed fluids - 1. Comparison to the GAS crystallization method. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 26, n. 1, p. 33–45, 2003.

VIEIRA DE MELO, S.A.B.; DANH, L.T.; MAMMUCARI, R.; FOSTER, N.R. Dense CO₂ antisolvent precipitation of levothyroxine sodium: A comparative study of GAS and ARISE techniques based on morphology and particle size distributions. **Journal of Supercritical Fluids**, v. 93, p. 112–120, 2014.

VIEIRA DE MELO, S.A.B; CABRAL-ALBUQUERQUE, E.C.M.; VIEIRA DE MELO, R.L.F.; TAVARES-CARDOSO, M.A.; NASCIMENTO, I.S.B., Estudo comparativo de características físico-químicas de levotiroxina obtida por diferentes processos. **XVIII Congresso Brasileiro de Engenharia Química**, v. 1, 2010.

VIEIRA DE MELO, S.A.B., ULLER, A.M.C., PESSOA, F.L.P., Modelagem e simulação da desterpenação do óleo da casca de laranja com CO₂ supercrítico em modo semi-contínuo. **Food Science and Technology** (Campinas), v. 17, n. 4, p. 475–480, 1997.

VIEIRA DE MELO, S. A. B. **Desterpenação do óleo essencial de laranja usando CO₂ supercrítico**. Tese de doutorado, PEQ/COPPE/UFRJ - Rio de Janeiro, 1997.

WANG, QI.; GUAN, Y.X.; YAO, S.J.; ZHU, Z.Q. The liquid volume expansion effect as a simple thermodynamic criterion in cholesterol micronization by supercritical assisted atomization. **Chemical Engineering Science**. [S.l.]: Elsevier, 2012. v. 75. p. 38–48.

WEIDNER, E. High pressure micronization for food applications. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 47, n. 3, p. 556–565, jan. 2009.

ZANCHETTA, B. **Sistema Nanoestruturado Lipossomal Contendo Chalcona CH₈ para o Tratamento da Leishmaniose Cutânea**. UNICAMP, 2009. Disponível em <http://unicamp.sibi.usp.br/handle/SBURI/18097>.

ANEXO 1

APÊNDICE 1

Experimentos de Equilíbrio de Fases a Alta Pressão envolvendo as Chalconas

Tabela A1.1 – Condições experimentais para a Transchalcona a 40°C.

PRESSÃO (bar)	SOLVENTES/ SOLUBILIDADES							
	Etanol (50 mg/mL)	Acetona (77 mg/mL)	Metanol (23 mg/mL)	DMSO (60 mg/mL)	Acetonitrila (49 mg/mL)	Álcool isopropílico (75 mg/mL)	Acetato de etila (84 mg/mL)	Diclorometano (22 mg/mL)
70	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
80	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (C. F.)
90	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
100	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
110	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
120	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
130	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)

140	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não Precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
150	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
160	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não Precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)
170	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não Precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Formação de muitas partículas	Não precipitado (C. F.)

Legenda

S.F. - Sem Formação de Partículas

C.F. - Com Formação de Partículas, porém sem precipitação

Tabela A1.2. – Condições experimentais para a NAT 22 a 40°C.

PRESSÃO bar	Etanol (< 0,5 mg/mL)	Acetona (5,3 mg/mL)	Metanol (1,0 mg/mL)	DMSO (3,7 mg/mL)	Acetonitrila (4,5 mg/mL)	Álcool Isopropílico (< 0,5 mg/mL)	Acetato De Etila (5,0 mg/mL)	Diclorometano (8,0 mg/mL)
70	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
80	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
90	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
100	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
110	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
120	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
130	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
140	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)
150	Não precipitado	Não precipitado	Não precipitado	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado	Não precipitado	Não precipitado

160	(S. F.) Não precipitado	(C. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado	F.) Não precipitado (S.	Não precipitado(S.	(S. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado
170	(S. F.) Não precipitado	(C. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado	F.) Não precipitado (S.	Não precipitado(S.	(S. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado	(S. F.) Não precipitado

Legenda

S.F. -Sem Formação de Partículas

C.F. - Com Formação de Partículas, porém sem precipitação

Tabela A1.3 – Condições experimentais para a CH₈ a 40°C.

PRESSÃO (bar)	Etanol (INSOLÚVEL)	Acetona (2,8mg/mL)	Metanol (0,3 mg/mL)	Acetonitrila (0,6 mg/mL)	Álcool Isopropílico (< 0,5 mg/mL)
70	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
80	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
90	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
100	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
110	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado (S. F.)
120	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
130	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
140	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
150	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado (S. F.)
160	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)
170	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado (C. F.)	Não precipitado (S. F.)	Não precipitado(S. F.)	Não precipitado(S. F.)

Legenda

S.F. -Sem Formação de Partículas

C.F. - Com Formação de Partículas, porém sem precipitação

APÊNDICE 2**Corridas Experimentais de Micronização SAS da Levotiroxina Sódica**Tabela A2.1 – Condições Experimentais (em duplicata) da Micronização SAS da Levotiroxina Sódica em Etanol e CO₂ supercrítico

Q _{sol} (ml. min ⁻¹)	Q _{CO2} (ml. min ⁻¹)	T (°C)	P (bar)	ρ _{CO2} (g/cm ³)	Purga (hr)	Partícula
2	15	45	90	0,385	1:20	Precipitado
2	15	48	100	0,433	1:20	Precipitado
2	15	48	110	0,489	1:20	Precipitado
2	15	42	95	0,512	1:20	Precipitado
2	15	45	120	0,599	1:20	Precipitado
2	15	45	90	0,385	1:20	Precipitado
2	15	48	100	0,433	1:20	Precipitado
2	15	48	110	0,489	1:20	Precipitado
2	15	42	95	0,512	1:20	Precipitado
2	15	45	120	0,599	1:20	Precipitado

APÊNDICE3

Corridas Experimentais de Micronização SAS envolvendo as Chalconas

Tabela A3.1- Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila ($C_o = 6 \text{ mg/ mL}$) usando CO_2 como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.

Q_{sol} (mL/ min)	Q_{CO_2} (ml.min ⁻¹)	T (°C)	P (bar)	ρ_{CO_2} (g/cm ³)	Partícula
2	15	40	90	0,485	N P
2	15	40	100	0,628	N P
2	15	40	110	0,659	N P
2	15	40	120	0,689	N P
2	15	40	130	0,719	N P
1	15	40	90	0,485	N P
1	15	40	100	0,628	N P
1	15	40	110	0,659	N P
1	15	40	120	0,689	N P
1	15	40	130	0,719	N P
2	15	45	90	0,385	N P
2	15	45	100	0,506	N P
2	15	45	110	0,553	N P
2	15	45	120	0,599	N P
2	15	45	130	0,646	N P
1	15	45	90	0,385	N P
1	15	45	100	0,506	N P
1	15	45	110	0,553	N P
1	15	45	120	0,599	N P
1	15	45	130	0,646	N P

* C_o - Concentração *NP- Não Precipitado

Tabela A3.2- Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila ($C_o = 10 \text{ mg/ mL}$) usando CO_2 como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.

Q_{sol} (mL/ min)	Q_{CO_2} (ml.min ⁻¹)	T (°C)	P (bar)	ρ_{CO_2} (g/cm ³)	Partícula
2	15	40	90	0,485	N P
2	15	40	100	0,628	N P
2	15	40	110	0,659	N P
2	15	40	120	0,689	N P
2	15	40	130	0,719	N P
1	15	40	90	0,485	N P
1	15	40	100	0,628	N P
1	15	40	110	0,659	N P
1	15	40	120	0,689	N P
1	15	40	130	0,719	N P
2	15	45	90	0,385	N P
2	15	45	100	0,506	N P
2	15	45	110	0,553	N P
2	15	45	120	0,599	N P
2	15	45	130	0,646	N P
1	15	45	90	0,385	N P
1	15	45	100	0,506	N P
1	15	45	110	0,553	N P
1	15	45	120	0,599	N P
1	15	45	130	0,646	N P

* C_o - Concentração *N P- Não Precipitado

Tabela A3.3 - Condições experimentais da micronização da transchalcona dissolvida em acetato de etila ($C_0 = 30 \text{ mg/ mL}$) usando CO_2 como antissolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.

Q_{sol} (mL/ min)	Q_{CO_2} (ml.min ⁻¹)	T (°C)	P (bar)	ρ_{CO_2} (g/cm ³)	Partícula
2	20	40	90	0,485	N P
2	20	40	100	0,628	N P
2	20	40	110	0,659	N P
2	20	40	120	0,689	N P
2	20	40	130	0,719	N P
1	20	40	90	0,485	N P
1	20	40	100	0,628	N P
1	20	40	110	0,659	N P
1	20	40	120	0,689	N P
1	20	40	130	0,719	N P
2	20	45	90	0,385	N P
2	20	45	100	0,506	N P
2	20	45	110	0,553	N P
2	20	45	120	0,599	N P
2	20	45	130	0,646	N P
1	20	45	90	0,385	N P
1	20	45	100	0,506	NP
1	20	45	110	0,553	N P
1	20	45	120	0,599	N P
1	20	45	130	0,646	N P

* C - Concentração *N P- Não Precipitado

Tabela A3.4 - Condições experimentais da micronização da NAT 22 dissolvida em acetona ($C_o = 6 \text{ mg/ mL}$) usando CO_2 como antissolvente supercrítico.

Q_{sol}	Q_{CO_2}	T	P	ρ_{CO_2}	Purga	Partícula
(mL/ min)	(ml.min ⁻¹)	(°C)	(bar)	(g/cm ³)	(hr)	
1	15	40	90	0,485	1:20	NP
1	15	45	100	0,506	1:30	N P
2	18	40	100	0,628	1:20	N P
2	18	45	120	0,599	1:30	N P

* C - Concentração *N P- Não Precipitado

Tabela A3.5 - Condições experimentais da micronização da chalcona CH_8 dissolvida em acetona ($C_o = 5 \text{ mg/ mL}$) usando CO_2 como antisolvente supercrítico. Tempo de purga do solvente: 1h 20min.

Q_{sol}	Q_{CO_2}	T	P	ρ_{CO_2}	Partícula
(mL/ min)	(ml.min ⁻¹)	(°C)	(BAR)	(g/c m ³)	
1	15	40	100	0,628	N P
2	18	40	120	0,689	N P

* C - Concentração *N P- Não Precipitado

APÊNDICE 4

Cálculo da quantidade de solvente a alimentar no estado estacionário

A4.1. BASE DE CÁLCULO DE 1 min para o sistema ACETATO DE ETILA + CO₂

ENSAIO NAS SEGUINTESS CONDIÇÕES:

Pressão (Bar)	Temperatura (°C)	Vazão da solução (mL/ min)	Concentração da solução (mg/ mL)	Vazão do CO ₂ (Entrada) (mL/ min)
100	40	1	7	15

DADOS

ρ_{CO_2} (100 bar,40 ° C) g/ mL	ρ_{CO_2} (1 bar, 25 °C) g/ mL	ρ Acetato de Etila (100 bar,40 ° C)	$V_{célula}$ (mL)
0,68655	0,001784	0,902	266,415

BALANÇO MÁSSICO DO CO₂

$$(CO_2)_{entra} = (CO_2)_{sai}$$

$$15 \text{ mL} \times 0,68655 \text{ g/ mL} = 10,29825 \text{ g/ min.}$$

CÁLCULO DA MASSA DE CO₂ NA CÉLULA

$$0,68655 \text{ g/mL} \times 266,415 \text{ mL} = 182,9072 \text{ g}$$

BALANÇO MÁSSICO DO ACETATO DE ETILA

$$1 \text{ ml/ min.} \times 0,902 \text{ g/mL} = 0,902 \text{ g/ min.}$$

CÁLCULO DA COMPOSIÇÃO DENTRO DA CÉLULA

$$0,902 \text{ acetato/} 10,29825 \text{ g/min.} = 0,087588 \text{ g ac / g CO}_2$$

CÁLCULO DA MASSA E DO VOLUME DE ACETATO DE ETILA NA CÉLULA

$$0,087588 \text{ g ac / g CO}_2 \times 182,9072 \text{ g} = 16,02042 \text{ g acetato}$$

VOLUME INJETADO

$$16,02042 \text{ g} / 0,902 \text{ g/mL} = 17,761 \text{ mL}$$

A 4.2. BASE DE CÁLCULO DE 1 MIN. – ACETONA + CO₂

ENSAIO NAS SEGUINTE CONDICOES:

Pressão (Bar)	Temperatura (°C)	Vazão da solução (mL/ min)	Concentração da solução (mg/ mL)	Vazão do CO ₂ (Entrada) (mL/ min)
100	40	1	6	15

DADOS

ρ_{CO_2} (100 bar,40 ° C) g/ mL	ρ_{CO_2} (1 bar, 25 ° C) g/ mL	ρ Acetona (100 bar,40 ° C)	V célula (mL)
0,68655	0,792	0,7922	266, 415

BALANÇO MÁSSICO DO CO₂

$$(CO_2)_{entra} = (CO_2)_{sai}$$

$$15 \text{ mL} \times 0,68655 \text{ g/ mL} = 10, 29825 \text{ g/ min.}$$

CÁLCULO DA MASSA DE CO₂ NA CÉLULA

$$0,68655 \text{ g/ mL} \times 266,415 \text{ mL} = 182,9072 \text{ g}$$

BALANÇO MÁSSICO DA ACETONA

$$1 \text{ ml/ min.} \times 0,7922 \text{ g/mL} = 0,7922 \text{ g/ min.}$$

CÁLCULO DA COMPOSIÇÃO DENTRO DA CÉLULA

$$0,7922 \text{ acetona/} 10,29825 \text{ g/min.} = 0,0769256 \text{ g}_{ac} / \text{g}_{CO_2}$$

CÁLCULO DA MASSA E DO VOLUME DE ACETONA NA CÉLULA

$$0,0769256 \text{ g}_{ac} / \text{g}_{CO_2} \times 182,9072 \text{ g} = 14,07024610 \text{ g}_{acetona}$$

VOLUME INJETADO

$$14,07024610\text{g} / 0,7922 \text{ g/mL} = 17,7609 \text{ ml}$$

UFBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA POLITÉCNICA

PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA INDUSTRIAL - PEI

Rua Aristides Novis, 02, 6º andar, Federação, Salvador BA
CEP: 40.210-630
Telefone: (71) 3283-9800
E-mail: pei@ufba.br
Home page: <http://www.pei.ufba.br>

