



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências da Saúde

Departamento de Ciências Farmacêuticas

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



Taynara Batista Lins

**ESTUDO DE CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS TÉRMICOS E DIFRAÇÃO DE
RAIOS X DE DIFERENTES CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DE
ATORVASTATINA**

Recife

2015

Taynara Batista Lins

**ESTUDO DE CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS TÉRMICOS E DIFRAÇÃO DE
RAIOS X DE DIFERENTES CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DE
ATORVASTATINA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêutica na Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Santos de Souza

2º Orientador: Dr. Severino Antonio Lima Neto

Recife

2015

Ficha catalográfica elaborada pela
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

L759e Lins, Taynara Batista.
Estudo de correlação dos parâmetros térmicos e difração de raios x de diferentes cristais e dispersões sólidas de atorvastatina / Taynara Batista Lins. – Recife: O autor, 2015.
75 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Fábio Santos de Souza.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2015.
Inclui referências.

1. Difração de raios X. 2. Varredura diferencial de calorimetria. 3. Termogravimetria. I. Souza, Fábio Santos de (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.)

UFPE (CCS2015-133)

Taynara Batista Lins

**ESTUDO DE CORRELAÇÃO DOS PARÂMETROS TÉRMICOS E DIFRAÇÃO DE
RAIOS X DE DIFERENTES CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DE
ATORVASTATINA**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêutica na Área de Concentração: Produção e Controle de Qualidade de Medicamentos.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Santos de Souza – UFPB
Orientador

Prof. Dr. Beate Saegesser Santos – UFPE
Membro Interno

Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior– UFAL
Membro Externo

Recife, 25 de fevereiro de 2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Sílvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Francisco de Sousa Ramos

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof^a. Vânia Pinheiro Ramos

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Antônio Rodolfo de Faria

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADORA DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof^a. Ana Cristina Lima Leite

À Deus por seu infinito amor.
À Maria Santíssima, pela sua intercessão grandiosa.
Aos meus pais Marcio e Marcia,
Aos meus irmãos Paulo, Mayara e Irmã Aparecida
Ao meu noivo, Webner.
Aos meus amigos.
Ao meu orientador, Prof Fabio.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, quero agradecer ao meu Deus, por ter me dado saúde, perseverança, força e sabedoria durante esses dois anos. E também a Nossa Senhora por está sempre ao meu lado intercedendo e me guiando.

Quero agradecer a todas as pessoas que colaboraram de forma direta ou indiretamente na elaboração desse trabalho, especialmente:

» Aos meus pais, José Márcio da Rocha Lins e Marcia Batista Lins, pelos seus exemplos de vida, pelos ensinamentos e pela educação que me trouxeram até aqui.

» Aos meus irmãos, Paulo, Mayara e Irmã Aparecida, pelo companheirismo e amizade todos esses anos.

» Ao meu noivo, Webner, pelo amor, carinho e incentivo.

» À todos os meus familiares por todo amor e incentivo todos esses anos.

» Às minhas companheiras de mestrado, Waleska e Rayanne, que tornaram essa jornada científica muita mais tranquila e alegre, por que dividimos muito mais que as atividades científicas e, assim, construímos uma amizade verdadeira que nos levou a superar todos os desafios dessa caminhada.

» À meu orientador, Prof. Dr. Fábio, pela oportunidade, ensinamentos e pela amizade. Ao Prof. Rui Macêdo, pelo apoio e incentivo durante a pesquisa.

» À toda a equipe que integra os Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos (LUDEM): Islaine, Ana Paula, Fabrício, Elisana, José Valdilânio, Lidiane, Renata, Valmir e Severino que sempre me acompanharam nos mais diversos momentos de aprendizado, apoio e descontração.

» Aos meus amigos da graduação (Anne, Geisa, Madson, Rafaela, Renato, Rossana) aos meus amigos (Aleyka, Paula) e a minha Família RedVinos pessoas de imensurável valor em minha vida, com as quais tenho vivido momentos de alegrias, descontração e aprendizado pessoal e que sempre se dispuseram a me prestar um apoio incondicional.

» À UFPB pela estrutura física que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho.

» À UFPE, pela oportunidade de fazer parte desse programa. A todos que fazem o Departamento de Ciências Farmacêuticas da UFPE. A Coordenação do mestrado da UFPE. Então, só posso dizer obrigada e amo muito vocês!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.
(Madre Teresa de Calcuta)

RESUMO

LINS, T.B. **Estudo de correlação dos parâmetros térmicos e difração de raios x de diferentes cristais e dispersões sólidas de atorvastatina.** 2015. 77f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

Este estudo teve como finalidade desenvolver metodologias analíticas para os estudos de caracterização do estado sólido do fármaco atorvastatina cálcica e, também, das suas dispersões sólidas pelas correlação das técnicas difratometria de Raios X (DRX), espectroscopia de infravermelho (FTIR) e análise térmica (DSC e TG). A atorvastatina cálcica (ATC) é um agente redutor de lipídios sintético, que já tem muitos polimorfos relatados na literatura. No estudo de caracterização no estado sólido do fármaco, foram obtidos cristais da ATC com solventes de graus de polaridade diferentes e foi observado que os solventes clorofórmio, etanol e metanol levaram a formação de uma estrutura cristalina mais amorfa, e essa alteração estrutural foi perceptível no FTIR com alteração na banda do estiramento da hidroxila e pelos dados de DSC como diminuição da entalpia e desaparecimento do pico de fusão. Enquanto que, solventes éter e acetato de etila não levaram a mudança no habito cristalino quando comparado com o fármaco antes do processo de recristalização. As dispersões sólidas foram feitas com 5 surfactantes diferentes (carbopol®, hidroxipropil metil celulose (HPMC), lauril sulfato sódio, polietileno glicol (PEG) 6000 e carbopol-ultrez® 20) e pela correlação do dados DRX, FTIR e DSC foi visto que a dispersão com carbopol-ultrez foi a que apresentou grande interação com mudanças nas banda de absorção e desaparecimento do pico de fusão. Ao avaliarmos a estabilidade das dispersões por termogravimetria, observou-se que todas elas tinham menor estabilidade que a ATC. Esses resultados apontam para a utilidade de técnicas de análise térmica como uma ferramenta de triagem relevante para a caracterização do estado sólido durante o desenvolvimento de formulação. Através da análise multivariada foi possível estabelecer a correlação entre a técnicas estudadas mostrando a relevância da utilização destas na avaliação dos parâmetros de controle qualidade de processos e produtos farmacêuticos.

Palavras-chave: Difração de raios X. Varredura Diferencial de Calorimetria. Termogravimetria.

ABSTRACT

LINS, T. B. **Correlation study of thermal parameters and X-ray diffraction of different crystals and solid dispersions of atorvastatin.** 2015. 77F. Dissertation (Master). Federal University of Pernambuco, Recife, 2015.

This study aimed to develop analytical methods for the characterization studies of solid state drug atorvastatin calcium and also their solid dispersions by the correlation of techniques: X-ray diffraction (XRD), infrared spectroscopy (FTIR) and thermal analysis (DSC and TG). The atorvastatin calcium (ATC) is a reducing agent synthetic lipids, which already has many polymorphs reported in the literature. In the characterization studies in the solid state of the drug, ATC crystals were obtained with different degrees of polarity solvent and it was observed that the solvents chloroform, ethanol and methanol led to formation of a more amorphous crystal structure, and this structural change was noticeable in FTIR with changes in the band of the hydroxyl stretch and by the DSC data as decreased enthalpy and disappearance of the melting peak. While, ether and ethyl acetate solvents did not lead to change in the crystal habit when compared with the drug before the recrystallization process. Solid dispersions were made with 5 different surfactants (Carbopol®, hydroxypropyl methyl cellulose (HPMC), sodium lauryl sulfate, polyethylene glycol (PEG) 6000 and carbopol-ultrez® 20) and by the correlation data of XRD, FTIR and DSC was seen that the dispersion with carbopol-ultrez showed the great interaction with changes in absorption band and disappearance of the melting peak. In evaluating the stability of the dispersions by thermogravimetric analysis, it was observed that all of them had lower stability than ATC. These results point to the utility of thermal analysis techniques as an important screening tool for the characterization of the solid state during the development of formulation. Through multivariate analysis was possible to establish the correlation between the techniques studied shows the importance of using these in the evaluation of the quality control parameters of process and pharmaceuticals.

Key words: X-ray diffraction. Calorimetry differential scanning. Thermogravimetry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da atorvastatina cálcica.....	29
Figura 2 - Uma representação esquemática do aumento de biodisponibilidade um fármaco pouco solúvel em água, por comparação com a dispersão sólida e formulações convencionais.....	32
Figura 3 - Padrões de difração da atorvastatina (região 8-25°/2θ) obtido experimentalmente.....	40
Figura 4 - Espectro de absorção na região do infravermelho do fármaco atorvastatina obtido experimentalmente.....	41
Figura 5 - (A) Curvas calorimétricas da ATC razões de aquecimento de 2, 5 e 10 °C.min⁻¹ em atmosfera de azoto; (B) Figura da temperatura de pico de fusão versus entalpia de fusão.....	42
Figura 6 - Imagens do DSC-fotovisual da ATC na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ em atmosfera de azoto de 50 mL.min¹.....	43
Figura 7 - Curvas termogravimétricas da ATC nas razões de aquecimento 10 (A), 20 (B) e 40 (C) °C.min⁻¹ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e 20 mL.min⁻¹).....	44
Figura 8 - Padrões de difração da atorvastatina e suas recristalizações (região 8-25°/2θ).....	46
Figura 9 - (A) Espectros de infravermelho da atorvastatina e suas recristalizações com comprimento de onda entre 4000 – 600 cm⁻¹, as linhas pontilhas destacando as bandas que apresentaram variação no comprimento de onda; (B) Detalhe ampliado na banda de absorção em 1300 cm⁻¹.....	48
Figura 10 - Curvas calorimétricas da atorvastatina e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.....	50
Figura 11 - Curvas termogravimétricas da atorvastatina e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹.....	51
Figura 12 - Perfil de difração das dispersões sólido de atorvastatina (região 5-25°/2θ) onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ.....	54
Figura 13- Gráfico de componente principal para DRX.....	56
Figura 14 - Espectros de infravermelho da atorvastatina e suas dispersões sólidas onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ.	58

Figura 15 - Gráfico de componente principal correlacionando as técnicas de DRX e FT-IR	59
Figura 16 - Curvas calorimétricas da atorvastatina e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹, onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UT.....	61
Figura 17 - Curvas termogravimétricas da ATC e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e 20 mL.min⁻¹), onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ.	63
Figura 18- Gráfico de componente principal correlacionando as técnicas de DRX, FT-IR, DSC e TG.....	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Classificação das principais técnicas termoanalíticas.....	24
Tabela 2 – Concentração molecular do fármaco atorvastatina em cada solvente estudado.....	35
Tabela 3 - Quantidade de fármaco, surfactante e água utilizado para obtenção das dispersões sólidas.....	36
Tabela 4 - Relação dos dados de difração de raios-X da ATC em relação ao relatado na literatura.....	41
Tabela 5 - Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do padrão de DRX da ATC, ATC-AcEt e ATC-Et.....	47
Tabela 6 - Dados dos espectros de infravermelho da atorvastatina e suas recristalizações e dados da literatura.....	49
Tabela 7 - Pico e entalpia de fusão do fármaco e dos cristais.....	50
Tabela 8 - Temperatura inicial do estagio principal do fármaco e dos cristais na razão de 10 °C/mim.....	51
Tabela 9 - Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa dos padrões de DRX da ATC, ATC-LR, ATC-PEG e ATC-HPMC.....	54
Tabela 10 - Dados dos espectros de infravermelho da ATC e suas dispersões sólidas....	56
Tabela 11 - Dados das curvas de DSC da atorvastatina e suas dispersões sólidas.....	59
Tabela 12 - Temperatura inicial do estagio principal do ATC e dos cristais na razão de 10 °C/mim.....	61

ABREVIATURAS E SIGLAS

°C = Graus Celsius

ATC = Atorvastatina cálcica

ATC-AcEt= Cristais de atorvastatina cálcica obtido com acetato de etila

ATC-CBP = dispersão sólida de atorvastatina cálcica obtido com Carbopol®

ATC-CLF= Cristais de atorvastatina cálcica obtido com clorofórmio

ATC-Et = Cristais de atorvastatina cálcica obtido com éter

ATC-EtOH = Cristais de atorvastatina cálcica obtido com etanol

ATC-HPMC= dispersão sólida de atorvastatina cálcica obtido com hidroxipropilmetilcelulose

ATC-LR = dispersão sólida de atorvastatina cálcica obtido com lauril sulfato de sódio

ATC-MeOH= Cristais de atorvastatina cálcica obtido com metanol

ATC-PEG = dispersão sólida de atorvastatina cálcica obtido com polietileno glicol 6000

ATC-UTZ= dispersão sólida de atorvastatina cálcica obtido com Carbopol Ultrez®

d_{hkl} = Distância interplanar dos cristais (índice de Miller)

PDRX = Difração de Raios-X de pó

DS= Dispersão sólida

DSC = Calorimetria de Varredura Diferencial

F = fração da amostra que fundiu em T_s

FTIR = Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

FWHM = Largura total do pico à meia altura

IR = Intensidade Relativa

K = Constante que depende da forma das partículas

min = minuto

n = número inteiro (ordem de difração): 1, 2, 3...

PA = Posição Angular

PCA = Análise de Componente Principal

R = constante dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)

SQR = Substância química de referência

T = Temperatura

T_0 = ponto de fusão teórico do composto puro (K)

T_f = Temperatura final

TG = Termogravimetria

T_i = Temperatura inicial

T_s = temperatura da amostra

X_1 = fração molar da impureza

α = constante de vaporização

β = Largura na metade da altura do pico de difração (FWHM)

ΔH = entalpia

ΔH_f = calor de fusão do composto principal puro (J mol^{-1})

θ = Ângulo de difração

λ = Comprimento de onda da radiação eletromagnética

τ = Tamanho do cristalito

$[d]$ = distância interplanar

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	21
2.2 Objetivos Específicos	21
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Estudo de Caracterização no estado sólido	23
3.2 Análise térmica	23
3.2.1 <i>Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)</i>	25
3.2.2 <i>DSC acoplado a um sistema fotovisual</i>	26
3.2.3 <i>Termogravimetria (TG)</i>	27
3.3 Difração de Raios X	27
3.4 Espectroscopia de absorção vibracional na região do Infravermelho (FTIR)	28
3.5 Atorvastatina.....	29
3.5.1 <i>Propriedades Físico-químicas</i>	29
3.5.2 <i>Propriedades Farmacológicas</i>	30
3.6 Polimorfismo	31
3.7 Dispersão sólida (DP).....	31
4.1 MATERIAIS	35
4.2 Preparação de cristais	35
4.3 Preparação das dispersões sólidas (DS).....	35
4.4 Difração de Raios X	36
4.5 Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho	37
4.6 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e DSC-fotovisual.....	37
4.7 Termogravimetria (TG)	38
4.8 Principal component analysis (PCA).....	38
5. RESULTADOS E DISCURSSÃO.....	40
5.1 Caracterização do fármaco	40
5.1.1 <i>Difração de Raios X</i>	40
5.1.2 <i>Análise de espectroscopia no infravermelho</i>	41

5.1.3 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e DSC-fotovisual</i>	42
5.1.4 <i>Termogravimetria (TG)</i>	43
5.2. Caracterização dos cristais.....	45
5.2.1. <i>Difração de Raios X</i>	45
5.2.2 <i>Análise de espectroscopia no infravermelho</i>	48
5.2.3 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	49
5.2.4 <i>Termogravimetria (TG)</i>	51
5.3 Caracterização das dispersões sólidas	52
5.3.1 <i>Difração de raios X</i>	52
5.3.2 <i>Análise de espectroscopia no infravermelho</i>	56
5.3.3 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i>	59
5.3.4 <i>Termogravimetria</i>	62
CONCLUSÃO	66
REFERÊNCIAS	70

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Diante da diversidade cristalina em que se apresentam os mais variados insumos farmacêuticos ativos (IFA) no estado sólido, estes podem influenciar a eficácia e segurança dos produtos farmacêuticos (BETTINETTI et al., 2006). Tendo em vista que um IFA nunca é administrado isoladamente, então antes de formular a substância ativa em uma forma farmacêutica, é essencial que a substância seja caracterizada química e fisicamente. (ANSEL, POPOVICH, & ALLEN, 2007).

Os estudos envolvendo sólidos cristalinos desempenham importante papel dentro da indústria farmacêutica e tem recebido atenção por parte das agências reguladoras de produtos farmacêuticos (BRASIL, 2003).

Desse modo, como diferentes fases sólidas podem ocorrer durante os processos que envolvem a formulação de produtos farmacêuticos, a caracterização físico-química é recomendável para os insumos farmacêuticos (BETTINETTI et al., 2006). Por isso, o controle das propriedades físicas de um IFA é um passo crítico no desenvolvimento de medicamentos, porque as mudanças na forma sólida de uma IFA podem impactar na solubilidade, processo de fabricação e estabilidade (PATEL et al., 2012)

Entre as estatinas, atorvastatina cálcica (ATC) é um agente redutor de lípidos sintético que pertence classe II segundo sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) (SHETE et al., 2010). No entanto, já foram relatadas 42 formas cristalinas e a forma I foi inicialmente comercializada pela Pfizer sob o nome Lipitor (SONJE et al., 2010).

A literatura relata a utilização de várias técnicas analíticas para caracterização IFA no estado sólido, dentre elas, as técnicas termoanalíticas, difração de raios X e espectroscopia na região do infravermelho (BRITAIN, 2011). Num entanto, nenhuma técnica de caracterização única pode reunir todas as informações necessárias de uma substância sólida ou seus produtos, e devido à complexidade da análise do estado sólido a maioria dessas técnicas é usada em conjunto do modo complementar (GUO; SHALAEV; SMITH, 2013).

E, ainda é relevante citar a técnica de dispersão sólida, a qual auxilia no desenvolvimento de produtos farmacêuticos uma vez que pode ser usada para melhorar a velocidade de dissolução, solubilidade e absorção por via oral de drogas pouco hidrossolúveis, parâmetros que como dito podem ser influenciados pelas propriedades físico-químicas do IFA. Os fármacos de classe II (segundo a classificação Biofarmacêutica - BCS) são fármacos de rápida absorção, e dessa forma aumentam a sua biodisponibilidade do

fármaco, visto que o fator limitante para sua absorção é a dissolução do mesmo (TRAN et al., 2011; SHAYANFAR; JOUYBAN, 2013).

Vislumbrando os grandes benefícios que os medicamentos podem trazer para a humanidade, caso sejam utilizados produtos com qualidade, eficácia e segurança comprovados, optamos por enveredar pela trilha científica dos estudos tecnológicos envolvendo o fármaco atorvastatina. Decisão esta, tomada levando-se em consideração que o estudo de caracterização do estado sólido é de suma importância para elaboração de produtos farmacêuticos de qualidade.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Desenvolver metodologias analíticas para os estudos de caracterização no estado sólido e estabilidade térmica do fármaco atorvastatina, como também, avaliar interações físico-químicas das dispersões sólidas do fármaco obtidas por liofilização.

2.2 Objetivos Específicos

- Caracterizar o estado sólido da atorvastatina e suas diferentes recristalização por Difração de Raios-X, Infravermelho e calorimetria exploratória diferencial (DSC);
- Determinar os parâmetros de estabilidade térmica através dos dados termogravimétricos dinâmicos da atorvastatina e suas diferentes formas cristalinas;
- Obter as dispersões sólidas através de processos de secagem por liofilização, visando aperfeiçoar a condição tecnológica mais adequada;
- Caracterizar suas dispersões sólidas do fármaco atorvastatina por difração de raios-X;
- Avaliar a interação físico-químicas das dispersões sólidas por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimétrica (TG);
- Avaliar a interação química das dispersões sólidas por Infravermelho (FTIR);
- Determinar os parâmetros de estabilidade térmica através dos dados termogravimétricos dinâmicos das dispersões sólidas de atorvastatina;

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Estudo de Caracterização no estado sólido

Maioria dos fármacos podem se apresentar em diferentes formas no estado sólido, como polimorfos, solvatos, e estado amorfo, e assim, podem diferir em suas propriedades físico-químicas, mecânica e biofarmacêutica. Visto que, o componente essencial de uma forma farmacêutica sólida é o IFA e, uma vez que, a maioria das substâncias medicamentosas são administradas por meio de algum tipo de forma sólida, a caracterização desses insumos no estado sólido mantém-se de extrema importância durante a fase inicial de desenvolvimento de medicamentos ((BETTINETTI et al., 2006; SHETE et al., 2010).

Além da forma no estado sólido, as propriedades em nível de partículas do IFA também podem influenciar no desempenho do medicamento. Uma compreensão abrangente dessas propriedades é fundamental para entender o comportamento do IFA e do medicamento. Isto assume maior importância no caso de medicamentos que têm grau de solubilidade/dissolução limitada biodisponibilidade oral, como o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SHETE et al., 2010; PATEL et al., 2012).

Atualmente, reconhece-se que para evitar problemas durante o desenvolvimento de medicamentos, a caracterização física de fármacos a granel, excipientes, e misturas destes deve tornar-se parte do processo normal. As técnicas de caracterização física de sólidos farmacêuticos são classificadas de acordo com o nível molecular (os que estão associados com moléculas individuais), o nível de partículas (partículas sólidas individuais), ou o nível de massa (aqueles associados com um conjunto de espécies de partículas) (MAXIMIANO et al., 2010; BRITAIN, 2011).

3.2 Análise térmica

A análise térmica consiste em um grupo de técnicas nas quais uma propriedade da amostra é medida em função da temperatura, enquanto a mesma é submetida a um programa controlado de temperatura e sob uma atmosfera específica (GIRON, 1998; SKOOG et al., 2002; SILVA et al., 2007; LIMA *et al.*, 2013). As técnicas de análise térmicas (AT) no campo da indústria farmacêutica têm sido utilizadas desde anos de 1960-1970 (GIRON, 1995) e seu uso tem aumentado aos longos dos anos (OLIVEIRA et al., 2011).

Silva e colaboradores (2007), classificam as técnicas termoanalíticas, segundo a propriedade física estudada, conforme o esquema da Tabela 1.

Tabela 1 - Classificação das principais técnicas termoanalíticas

Propriedade física	Técnica principal	Abreviatura
Massa	Termogravimetria	TG
	Deteccção de gás desprendido	EGD
	Análise de gás desprendido	EGA
	Análise térmica por emanacção	ETA
Temperatura	Determinacção da curva de aquecimento (*)	DTA
	Análise térmica diferencial	
Entalpia	Calorimetria exploratória diferencial (**)	DSC
Dimensões	Termodilatometria	TD
Características mecânicas	Análise termomecânica	TMA
	Análise termomecânica dinâmica	DMA
Características acústicas	Termossonimetria	TS
	Termoacustimetria	
Características ópticas	Termoptometria	TO
Emissão de luz	Termoluminescência	TL
Características eléctricas	Termoeletrometria	TE
Características magnéticas	Termomagnetometria	TM

Fonte: SILVA et al., 2007.

(*) Quando o programa de temperatura estiver no modo resfriamento, a terminologia é determinacção da curva de resfriamento.

(**) Ocorre confusão sobre esse termo, sendo conveniente a sua separacção em duas modalidades: DSC com compensacção de potência e DSC com fluxo de calor.

Sabendo que os compostos farmacêuticos apresentam diferentes formas morfológicas ou estruturais, que podem afetar diretamente na sua estabilidade, açção e liberaçção dos medicamentos (PYRAMIDES et al., 1995). A análise térmica dos insumos farmacêuticos ativos (IFA) tem sido rotineiramente utilizada como um método de screening para caracterizacção desses insumos, sendo estas utilizadas para estudar o comportamento térmico, polimorfismo, reacções de estado sólido, formulações de drogas, pureza, os produtos gasosos

de decomposição e outras propriedades de compostos sólidos utilizados na indústria farmacêutica (MAMEDE et al., 2006; GÁLICO et al., 2013; LIMA et al., 2013).

As vantagens da AT em relação a outros métodos de análise são as seguintes: (a) a amostra pode ser estudada através de uma ampla faixa de temperatura usando programas diferentes de temperatura; (b) praticamente qualquer forma física da amostra (sólido, líquido ou gel) pode ser usada; (c) uma pequena quantidade de amostra (0,1-10 mg) é necessário; (d) a atmosfera na vizinhança da amostra pode ser padronizada; e (e) o tempo necessário para realizar o experimento pode ser de vários minutos a várias horas (HATAKEYAMA & QUINN, 1997).

A análise térmica é usada na indústria farmacêutica como uma técnica rápida e confiável para o controle de qualidade e para o desenvolvimento de novos medicamentos. Sendo empregada na caracterização térmica de fármacos, na determinação de pureza, em estudos de compatibilidade de formulações farmacêuticas, na identificação de polimorfos, na avaliação de estabilidade e em estudos de decomposição térmica de fármacos e medicamentos (SILVA et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2010).

O uso de técnicas termoanalíticas tem aumentado no campo de desenvolvimento de formas farmacêuticas, incluindo a caracterização de excipientes e o desenvolvimento de formulações a partir de resultados obtidos através da análise térmica. Como afirma Oliveira et al. (2011):

Recentemente, muitos trabalhos em análise térmica têm sido publicados na área aplicada à indústria farmacêutica. Desta forma, as indústrias brasileiras estão, cada vez mais, demonstrando o interesse neste âmbito. Os artigos publicados demonstram que os dados obtidos por análise térmica estão diretamente relacionados com a qualidade final de um produto farmacêutico, seja quanto à eficácia terapêutica do medicamento ou à estabilidade do mesmo ao longo do prazo de validade. Além disso, muitos órgãos regulamentadores de insumos e produtos farmacêuticos já descrevem a importância da análise térmica e dos parâmetros de qualidade dela provenientes.

Desde utilização das AT, as técnicas mais comumente usadas na área farmacêutica são a Termogravimetria (TG), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (ALVES et al., 2010; FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

3.2.1 Calorimetria de Varredura Diferencial (DSC)

A DSC é uma técnica pela qual se mede o fluxo de calor diferencial entre a amostra e um material de referência termicamente inerte em função da temperatura, enquanto a

substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura e/ou tempo. A amostra e o material de referência são mantidos a aproximadamente a mesma temperatura durante o experimento. Essa técnica possibilitam acompanhar e obter dados quantitativos quanto às alterações físicas ou químicas da amostra, tais como: mudança de estado físico, transições de fase ou reações de desidratação e de decomposição (MENDHAN et al., 2002; MATOS et al., 2009; ALVES et al., 2010, FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 2010).

Durante um processo de aquecimento ou resfriamento, uma amostra pode sofrer alterações de temperatura devido a eventos endotérmicos ou exotérmicos. Nesse caso, registra-se o fluxo de calor diferencial necessário para manter a amostra e o material de referência à mesma temperatura. Essa diferença de temperatura entre a amostra e o material de referência é devida a fenômenos químicos (decomposição, combustão) ou físicos [mudança de estado (fusão, sublimação) e transições cristalinas] e corresponde às transições de primeira ordem, caracterizada pela formação de picos nas curvas DSC, como também nas curvas térmicas diferenciais (DTA). As transições de segunda ordem são caracterizadas pela variação da capacidade calorífica, sem variações de entalpia, portanto, não geram picos. Esse é o caso da transição vítrea, temperatura na qual se inicia o movimento de segmentos de uma cadeia polimérica, que é evidenciada nas curvas DSC por uma variação na linha base no sentido endotérmico. No caso de transições de primeira ordem, área contida sob o pico é representativa da variação de entalpia, ΔH , sofrida pela amostra (SILVA et al., 2007).

A técnica de DSC já relatada por muitos autores para avaliar polimorfos e estudos de compatibilidade entre fármaco e excipientes.

3.2.2 DSC acoplado a um sistema fotovisual

A técnica DSC pode ser acoplada a um sistema fotovisual que consiste de um microscópio acoplado na parte superior do equipamento de DSC e conectado a uma câmera fotográfica. Isso permite a captura de imagens das alterações na superfície da amostra submetida ao aquecimento ou resfriamento, em temperatura e tempo similares ao DSC convencional. Essa técnica apresenta-se como uma ferramenta analítica mais sensível em reconhecer as alterações no comportamento térmico e mudanças morfológicas durante as transições de fase e os processos de decomposição térmica (MEDEIROS et al., 2007).

Vários estudos que já foram publicados abordando o comportamento térmico de fármacos, excipientes, pré-formulados e medicamentos quando submetidos a técnica de DSC-fotovisual.

Macêdo e Nascimento (2002), realizando estudo termoanalítico do tiabendazol, demonstraram, por meio de imagens do sistema fotovisual, que este IFA sofre decomposição térmica antes da fusão.

Da Silva e colaboradores (2009), efetuaram a análise de três distintos fabricantes de indinavir, designados de A, B e C, demonstrando haver diferenças no comportamento térmico das amostras. Em especial, os autores destacaram os resultados obtidos para a diferença no ponto de fusão da amostra C, o que poderia ocasionar diferenças na solubilidade do fármaco.

Procópio e colaboradores (2011), utilizando-se dos resultados de DSC e DSC-fotovisual, confirmou haver diferenças no comportamento térmico das três amostras de sinvastatina investigadas no que diz respeito aos processos de fusão e volatilização.

3.2.3 Termogravimetria (TG)

A Farmacopéia Brasileira (2010) define a TG como uma técnica termoanalítica na qual a variação de massa da amostra é determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura.

Um gráfico da massa ou do percentual desta em função do tempo é obtido durante a análise termogravimétrica e é chamada curva termogravimétrica (GIRON, 1998; FIESE e HAGEN, 2001; SKOOG et al., 2002; SILVA et al., 2007).

As principais aplicações da termogravimetria são as seguintes: estudo da decomposição e da estabilidade térmica e estudo cinético de reações no estado sólido sendo uma ferramenta importante para a previsão de tempo de vida do produto farmacêutico a partir das taxa de degradação. Assim, é uma técnica rápida para fazer esses estudos durante o desenvolvimento tecnológico e para obter informações sobre a qualidade das formulações (MEDEIROS, 2007).

3.3 Difração de Raios X

Os raios x são uma forma de radiação eletromagnética com altas energias e pequenos comprimentos de onda, equivalentes ao espaçamento atômico de materiais sólidos (CALLISTER, 2001). A difração de raios-X (DRX) representa o fenômeno de interação entre

o feixe de raios-X incidente e os elétrons dos átomos componentes de um material. Assim, quando um feixe de raios x incide sobre um átomo isolado, ou íon, elétrons deste átomo serão excitados e vibrarão com a mesma frequência do feixe incidente, emitindo raios x em todas as direções ocorrendo o espalhamento (ou difração) de raios x. (PADILHA, 2000).

Desse modo, a aplicação desse princípio fez com que a difração de raios X seja o método de maior importância na elucidação de estruturas de produtos com estrutura complexa, pois fornece um meio conveniente e prático para identificação qualitativa e quantitativa de substâncias cristalinas, sendo capaz de fornecer informações sobre os compostos presentes em uma amostra sólida, diferenciando seus possíveis polimorfos (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2002). Destaca-se a grande confiabilidade dos resultados obtidos através dessa técnica já que o perfil de difração obtido é característico para cada fase cristalina (ALBERS et al., 2002).

Os dois métodos de difração de raios x mais utilizados são para os estudos de monocristais (Método de Laue) e os utilizados para estudos de policristais (Método do pó), que se diferenciam basicamente quanto à radiação incidente e a fixação do ângulo de incidência. O método do pó é utilizado para análise de material policristalino, onde são usados raios-x monocromáticos, em que o feixe está em fase e apresenta um único comprimento de onda, e o ângulo de incidência varia durante a análise. Um dos principais usos da difratometria de raios-X é para a determinação da estrutura cristalina. O tamanho e a geometria da célula unitária podem ser resolvidos a partir das posições angulares dos picos de difração, enquanto que arranjo de átomos dentro da célula unitária está associado com as intensidades relativas destes picos (CALISTER, 2001).

3.4 Espectroscopia de absorção vibracional na região do Infravermelho (FTIR)

A FTIR utiliza a radiação entre $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$ que é capaz de excitar as moléculas levando a atingir um estado de maior energia quando equivalem ao às frequências vibracionais naturais da molécula, e assim aumentando os movimentos vibracionais das ligações da molécula. Isto permite a obtenção de espectro de absorção da radiação, onde cada banda é uma excelente evidencia para a identificação da substância (SILVERTEIN et al, 2007; PAIVA et al, 2010).

Os métodos espectrofotométricos são frequentemente empregados em análises farmacêuticas devido a sua fácil execução, baixo custo, além de propiciar sua utilização no controle de qualidade de rotina de inúmeros produtos farmacêuticos, e, a comparação do perfil

espectral permite auxiliar na identificação da substância em análise (ZARBIELLI et al., 2006).

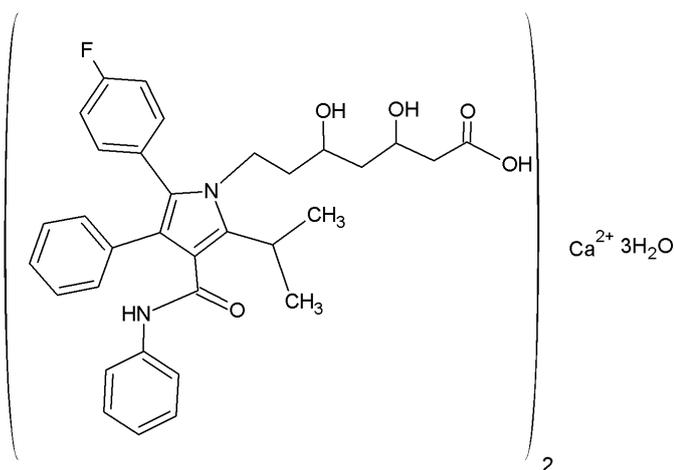
A espectroscopia na região do infravermelho médio era pouco usada em análises quantitativas, devido a algumas limitações da técnica. Porém, com o advento da transformada de Fourier na espectroscopia por infravermelho (FT-IR), associada ao surgimento dos microprocessadores digitais e de técnicas computacionais avançadas, permitiu-se a análise de misturas complexas, como fármacos, sem a necessidade de qualquer separação prévia de seus componentes (DE SOUZA & FERRÃO, 2006).

3.5 Atorvastatina

3.5.1 Propriedades Físico-químicas

A atorvastatina cálcica (ATC), quimicamente designado como [R- (R *, R *)] - 2- (4-fluorofenil) - β , δ -di-hidroxi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino) carbonil]-1H-pirrole-1-heptanóico, sal de cálcio (2:1), é um sal tri-hidratado tendo fórmula química $[C_{33}H_{34}FN_2O_5]_2Ca \cdot 3H_2O$ e peso molecular de 1209,42 (Figura 1) (ZHANG et al., 2009; SHETE et al., 2010).

Figura 1 - Estrutura química da atorvastatina cálcica



Fonte: Arquivo pessoal

A ATC, é um sal de hemi-cálcio, apresentando-se como um pó branco a praticamente branco, insolúvel em solução aquosa de pH 4 e abaixo, e muito pouco solúvel em água e pH 7,4 tampão de fosfato (KIM et al., 2008; ZHANG et al., 2009). A solubilidade aquosa da ATC

é de 0,1 mg/ml, no entanto possui permeabilidade intestinal elevada ao pH intestinal, o que faz a ATC pertencer à classe II SCB (LAU et al., 2006; SHETE et al., 2010).

3.5.2 Propriedades Farmacológicas

A ATC é um agente de redutor de lípidos sintéticos de grande importância medicinal e comercial e foi comercializado pela primeira vez pela Pfizer (ZHANG et al., 2009). Que atua inibindo da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima redutase (HMG-CoA) por inibição competitiva, que catalisa a conversão de HMG-Co A em mevalonato, um passo limitante da velocidade no início na biossíntese do colesterol. (KIM et al., 2008)

A ATC é indicada para tratamento da hipercolesterolemia (aumento da quantidade de colesterol no sangue) isolada ou associada à hipertrigliceridemia (aumento dos níveis sanguíneos de triglicérides), sendo, também, utilizada na redução dos níveis sanguíneos de HDL inclusive aquelas de transmissão genética/familiar (hipercolesterolemia familiar homozigótica, disbetalipoproteinemia, etc) e quando a resposta à dieta e outras medidas não-farmacológicas forem inadequadas (SONJE et al., 2010; PFZER, 2014).

A ATC é rapidamente absorvida após a administração oral, sendo que a fração absorvida e a biodisponibilidade absoluta são apenas cerca de 30% e 12%, respectivamente devido a uma depuração pré-sistêmica na mucosa gastrointestinal e/ou metabolismo de primeira passagem hepática (ZHANG et al., 2009; SHETE et al., 201).

Esse fármaco está disponível nas formas de comprimidos revestidos com concentrações de 10, 20, 40 e 80 mg tendo concentrações máximas de plasma entre 1 a 2 hora. A ATC é extensivamente metabolizada em orto e para-hidroxilados derivados e vários produtos de beta-oxidação, que também apresentam atividade inibidora da para a HMG-CoA redutase, sendo a atribuído a eles, aproximadamente, 70% dessa atividade (DRUGBANK, 2013).

O tempo de meia vida da ATC é 14 horas, mas a meia-vida da atividade de inibição da HMG-CoA reductase é 20-30 horas devido a metabolitos ativos de maior duração. Tem sua biotransformação hepática e sua excreção biliar, majoritariamente, mas é excretada também pela via urinaria de 2% (DRUGBANK, 2013).

3.6 Polimorfismo

Polimorfismo, que é definida como a capacidade de um composto existir em mais de uma forma cristalina, ou seja, um material com a mesma composição química com estruturas de redes cristalinas e conformações moleculares diferentes (VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001; RODRÍGUEZ-SPONG et al., 2004; SUITCHMEZIAN; JES; NÄTHER, 2006). Esse fenômeno generalizado e é de interesse especial na química farmacêutica, um vez que a maior parte dos compostos orgânicos e inorgânicos de relevância farmacêutica pode existir em uma ou mais formas cristalinas (VIPPAGUNTA; BRITAIN; GRANT, 2001).

Segundo Shekunov & York (2000), é raro um IFA exibir só uma estrutura cristalina única. As formas polimórficas podem diferir muito em suas propriedades físico-química, mecânica e biofarmacêutica resultando em estabilidade e biodisponibilidade diferentes no produto final (SHEKUNOV; YORK, 2000; SKORDA; KONTOYANNIS, 2008; SHETE et al., 2010). Além disso, quando o medicamento é administrado por via oral como um sólido cristalino, taxa de dissolução depende da forma cristalina exata do IFA, levando a um menor ou maior atividade biológica desejada (SKORDA; KONTOYANNIS, 2008).

Portanto, é necessário uma caracterização da forma sólida durante a fase de desenvolvimento do medicamento sendo um aspecto fundamental para o monitoramento do estado sólido na fabricação do mesmo (SHETE et al., 2010).

Já foi relatado um grande número de formas de cristal da ATC e a forma I foi inicialmente comercializada pela Pfizer sob o nome Lipitor (SONJE et al., 2010). Diante disso, as formulações desses IFAs pode ser um desafio visto que as diferenças na fase de estado sólido pode alterar os efeitos finais do medicamento, com influência marcante sobre a sua biodisponibilidade (BARALDI et al., 2014).

3.7 Dispersão sólida (DP)

O termo dispersão sólida tem sido utilizado para descrever uma família de formas de dosagem em que um ou mais insumos farmacêuticos ativos são disperso numa veículo inerte, geralmente com o objetivo de melhorar a biodisponibilidade oral (CRAIG, 2002; EL-BADRIER et al, 2009).

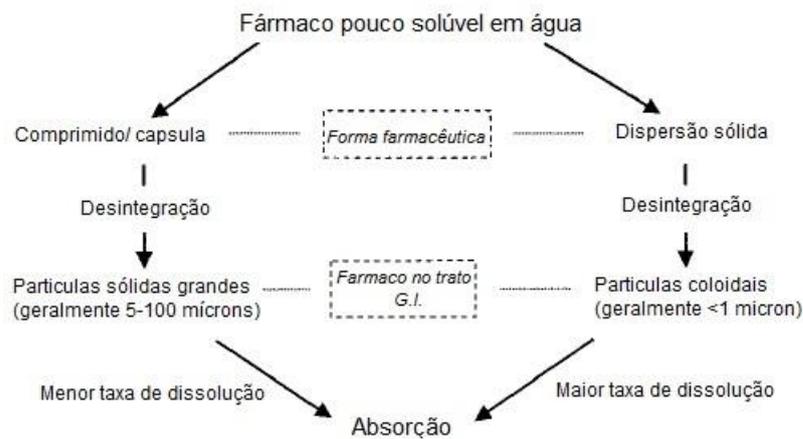
O aumento da biodisponibilidade oral de fármacos pouco solúvel em água continua sendo um dos aspectos mais desafiadores de desenvolvimento desses insumos. Dessa forma, a técnica de dispersão sólida pode ser usada para melhorar a velocidade de dissolução,

solubilidade e absorção por via oral de drogas pouco solúveis em água (SERAJUDDIN, 1999; TRAN et al, 2011).

A dispersão sólida de insumos fracamente solúveis em água são, comumente, carregados com surfactantes e/ou agente auto-emulsionáveis que tendem a aumentar a dissolução do fármaco e, conseqüentemente, sua biodisponibilidade. Além disso, a redução do tamanho de partícula do insumo para microcristais ou a nível molecular possibilita sua rápida dissolução e absorção (VIPAGUNTA et al, 2002).

A figura 3 mostra a vantagem da dispersão sólida quando comparada com as formulações convencionais.

Figura. 2 - Uma representação esquemática do aumento de biodisponibilidade um fármaco pouco solúvel em água, por comparação com a dispersão sólida e formulações convencionais.



Fonte: SERAJUDDIN, 1999.

A partir das formulações convencionais, a taxa de dissolução é limitada pelo tamanho das partículas primárias formadas após a desintegração da forma farmacêutica. Seu tamanho médio de partícula é de 5 μm que é geralmente o limite inferior pois os tamanhos de partículas maiores são preferida para facilitar o processo de fabricação e a formulação. Por outro lado, em dispersão sólida uma porção do fármaco se dissolve imediatamente para saturar o fluido gastrointestinal, e o excesso de droga precipita-se como finas partículas coloidais de tamanho submicrons (SERAJUDDIN, 1999).

Nas dispersões sólidas, a dimensão das partículas das drogas é reduzida, a molhabilidade e a capacidade de dispersão são reforçados e, portanto, a dissolução do fármaco é melhorada acentuadamente (EL-BADRIER et al, 2009).

Vários métodos têm sido relatados para a preparação das dispersões sólidas onde incluem a fusão, evaporação do solvente, liofilização e spray drier (NAKANISHI et al, 2011; YAN et al, 2012).

METODOLOGIA

4.1 MATERIAIS

Atorvastatina: ácido [R-(R*, R*)]-2-(4-fluorofenil)-beta, delta-dihidroxi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino)carbonil]-1H-pirrol-1-heptanoico, matéria-prima (ATC), obtido a partir da Gemini Indústria de Insumos Farmacêuticos Ltda (Lote ATRC3011, Brasil).

Para obtenção dos cristais obtidos por recristalização de ATC em diferentes solventes foram utilizados o metanol (ATC-MeOH), etanol (ATC-EtOH), éter (ATC-Et), acetato de etila (ATC-AcEt) e clorofórmio (ATC-CLF).

Na obtenção das DP, os surfactantes utilizados foram: carbopol® (lote: L20130707020, Henrifarma), hidroxipropil metil celulose (HPMC) (lote: ALL055008, All chemistry), lauril sulfato sódio (lote: 0011674008, MAPRIC), polietileno glicol (PEG) 6000 (lote: Q 1102 CP-01, Henrifarma) e carbopol-ultrez® 20 (lote: 0101316789, Fragon).

4.2 Preparação de cristais

Os cristais foram obtidos pelo método de recristalização, a partir de uma solução saturada de ATC (Tabela 2) em cinco diferentes solventes (metanol, etanol, éter, acetato de etila e clorofórmio) e a uma temperatura controlada de 25 ° C sob pressão constante e protegidas da luz. A seleção dos solventes foram de acordo com o grau de polaridade e sua utilização na indústria farmacológica.

Tabela 2 – Concentração molar do fármaco atorvastatina em cada solvente estudado.

Solvente	Concentração molar (mol.L ⁻¹)
Etér	0,025
Clorofórmio	0,029
Acetato de etila	0,028
Etanol	0,026
Metanol	0,035

4.2 Preparação das dispersões sólidas (DS)

As DS foram obtidas por liofilização, a partir de uma solução aquosa de 1:1 (m/m) de ATC e surfactante (Tabela 3). A solução aquosa foi preparada em agitador mecânico, onde inicialmente o surfactante foi dissolvido em quantidade suficiente de água, depois o fármaco

foi adicionado a essa solução e mantido sobre agitação por 10 minutos a fim de garantir a homogeneidade da solução. Na solução com o surfactante HPMC foi necessário adição de outro surfactante, lauril, para garantir a total homogeneidade da solução.

Após as soluções ficarem prontas, as amostras foram condicionadas em bandejas e congeladas num freezer a -20°C durante 24 h. Em seguida as bandejas, foram colocadas no liofilizador com temperatura de -40°C e vácuo de 1250 mmHg por 24 h.

Tabela 3. Quantidade de fármaco, surfactante e água utilizado para obtenção das dispersões sólidas

Dispersão sólida	Fármaco (g)	Surfactante (g)	Água (mL)
ATC-CBP	3,002	3,002	200
ATC-HMPC	3,004	3,002*	200
ATC-LR	3,006	3,004	10
ATC-PEG	3,002	3,003	12
ATC-UTZ	3,001	3,004	100

(*) Nessa dispersão foi adicionada 1,000g de lauril sulfato de sódio

4.3 Difração de Raios X

Padrões de difração da atorvastatina e das amostras estudadas foram analisadas usando um modelo D2 PHASER da Bruker (geometria de CuK α , θ - 2θ , 40 KV-30 mA, tamanho $0,02^{\circ}2\theta$ - $2^{\circ}2\theta$).

A Equação de Scherrer (1) foi utilizada para estimar o tamanho do cristalito a partir dos difratogramas obtidos, seguindo a fórmula (CULLITY, 1956):

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta \cdot \cos \theta} \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde:

τ = tamanho do cristalito

K = constante que depende da forma das partículas (K= 0,9000)

λ = comprimento de onda da radiação eletromagnética

β = largura na metade da altura do pico de difração

θ = ângulo de difração

Em adicional para as dispersões sólidas, foi realizado o grau de cristalinidade que foi estimado usando software TOPAS®. A área integrada de cada pico cristalino (ICr) foi calculada com uma função de pico tipo Split Pearson VII (SPVII), dentro de uma faixa de ângulos que variaram de $2\theta = 5$ a 40° . A área de contribuição do ruído de fundo (Ibk), foi estimada usando um polinômio de quinta ordem. Os picos cristalinos foram selecionados de acordo com os picos atribuídos na literatura aos insumos farmacêuticos ativos.

4.4 Análise de espectroscopia com absorção na região do infravermelho

O espectro de FTIR das amostras estudadas (cristais e dispersões sólidas) da atorvastatina foram obtidos em pastilha de brometo de potássio. Essas foram preparadas com 100mg de KBr e 1mg da amostra, após a homogeneização em grau os pós, a mistura foi prensada a 9Kg/ton por 3 minutos sobre à vácuo. A pastilha formada foi analisada em um espectrofotômetro modelo de sistema Shimadzu IRPrestige-21 ao longo de um intervalo de $400-4,000\text{ cm}^{-1}$. Os espectros obtidos foram analisados no programa IR-solutions da Shimadzu.

4.5 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e DSC-fotovisual

As curvas de DSC foram obtidas com um calorímetro da Shimadzu, modelo DSC-50, utilizando cadinhos de alumínio com cerca de 2 mg de amostras, com uma atmosfera de nitrogênio 50 mL min^{-1} . A célula de DSC foram calibrados com índio (pf $156,2\text{ }^\circ\text{C}$; $\Delta H_{fus} = 28,54\text{ J g}^{-1}$) e zinco (p.f. $419,4\text{ }^\circ\text{C}$).

Na caracterização do fármaco por essa técnica foi realizado nas razões de aquecimento de $2, 5$ e $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$ e cada razão foi realizada em triplicata. Enquanto que as amostras obtidas nesse estudo (cristais e dispersões sólidas), na $10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$, num intervalo de temperatura de $25-450\text{ }^\circ\text{C}$ que, também, foram realizados em triplicata exceto para os cristais.

O grau de pureza foi calculado de acordo com a equação de van't Hoff (Eq. 2) (MEDHAM et al, 2002):

$$T_s = T_0 - \frac{Rt_0^2 X_1}{\Delta H_f} \left(\frac{1}{F}\right) \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde:

T_s = temperatura da amostra

T_0 = ponto de fusão teórico do composto puro (K)

X_1 = fração molar da impureza

R = constante dos gases ($8,314 \text{ J mol}^{-1}\text{K}^{-1}$)

ΔH_f = calor de fusão do composto principal puro (J mol^{-1})

F = fração da amostra que fundiu em T_s

Adicionalmente, procedeu-se a realização do DSC-fotovisual da ATC através do mesmo calorímetro, acoplado a um sistema fotovisual da Shimadzu com câmara da Sanyo, modelo VCC-D520, conectado a um microscópio Olympus modelo SZ-CTV60. A amostra foi acondicionada em uma panelinha de alumínio e submetida ao aquecimento, com variação de temperatura definido na faixa de 25 a 250°C, com uma razão de aquecimento de 5 °C.min⁻¹, sob as mesmas condições do fluxo de nitrogênio do DSC convencional. As imagens registradas foram capturas, em tempo real, pelo programa Asymetrix DVP 4.0 para observar as transições de fase na amostra.

4.6 Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas foram obtidas com um modelo de equilíbrio térmico TGA 50 (Shimadzu) na faixa de temperatura de 25-900 °C, cadinhos de alumina com 5 mg de amostras, sob atmosfera de nitrogênio e ar sintético (50 e 20 mL min⁻¹, respectivamente).

Para a caracterização da ATC foi realizado nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 °C min⁻¹ e cada razão foi realizado em triplicata. A caracterização das amostras em estudo nessa técnica utilizou só na razão de aquecimentos 10 °C.min⁻¹ que, também, foram realizados em triplicata exceto para os cristais.

4.7 Análise de Componente Principal (PCA)

Afim de avaliar a correlação do dados de caracterização das dispersões sólidas realizou-se a análise de componentes principais “principal component analysis” (PCA) dos valores obtidos, para a redução das variáveis, com a obtenção de novas variáveis (componentes principais), posteriormente foi explorada a distribuição dos espécimes no espaço bidimensional, com intervalo de confiança de 95%, utilizando o método de variância-covariância entre os grupos. As matrizes foram processadas no software PAST 3.01.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

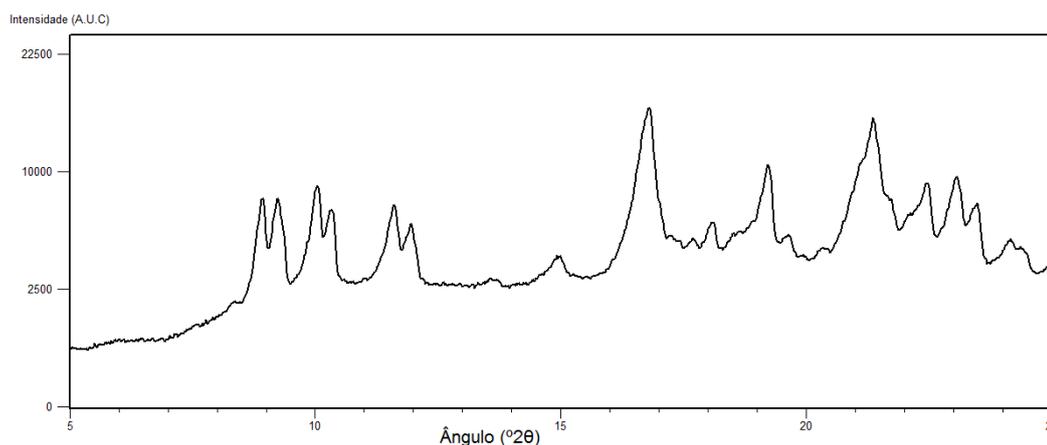
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do fármaco

5.1.1 Difração de Raios X

Os padrões de difração de raios-X foram obtidos para o ATC (Figura 3), a fim de estudar o estado cristalino da ATC. O padrão da ATC apresentou picos pontiagudos com ângulos de difração em $2\theta = 9,03^\circ$; $9,93^\circ$; $10,12^\circ$; $11,74^\circ$; $16,89^\circ$; $19,50^\circ$; $21,58^\circ$; $22,69^\circ$; $23,30^\circ$ e $23,74^\circ$ descritos também por SONJE et al. (2010).

Figura 3 - Padrões de difração do fármaco atorvastatina (região 8-25°/2 θ) obtido experimentalmente



A Tabela 4 observou que há diferenças entre as posições angulares dos picos de difração das amostras frente ao relatado na literatura. Segundo a Farmacopeia Americana, pode-se assegurar que uma amostra teste é equivalente à referência quando os valores de 2θ dos ângulos de difração mais intensos podem variar aproximadamente $\pm 0,10^\circ$, no entanto as intensidades relativas podem variar devido ao preparo da amostra e as condições experimentais (USP, 2011). A referida literatura só leva considera o ângulo de difração e a intensidade, mas se observarmos a distância interplanar (*d-spacing*) temos valores muito próximos ao relatado da patente, assim, ao observamos o conjunto dos parâmetros nos leva acreditar que a amostra de ATC está na forma cristalina no polimorfo I.

Tabela 4 - Relação dos dados de difração de raios-X da ATC em relação ao relatado na literatura.

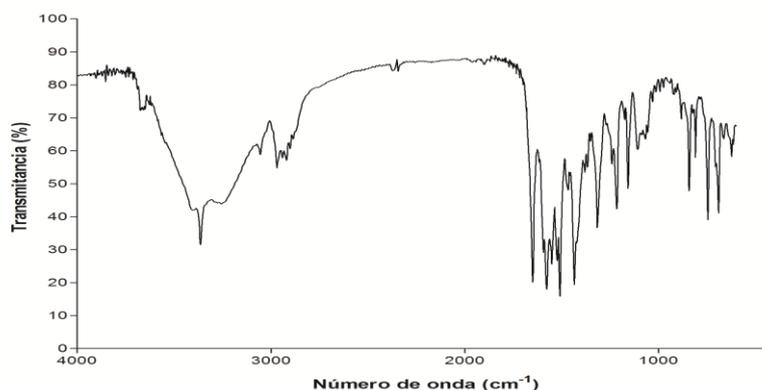
US patent 5,969,156 (BRIGGS, 1999)					ATC				
PA ($^{\circ}2\theta$)	[d] (Å)	IR (%)	τ (Å)	FWHM ($^{\circ}2\theta$)	PA ($^{\circ}2\theta$)	[d] (Å)	IR (%)	TC (Å)	FWHM ($^{\circ}2\theta$)
9,03	9,78	42,60	-	-	8,94	9,89	46,87	506	0,1574
9,39	9,14	41,94	-	-	9,23	9,58	46,13	578	0,1378
10,12	8,74	55,67	-	-	10,06	8,80	51,15	579	0,1378
11,74	7,53	41,74	-	-	11,63	7,61	36,89	451	0,1771
16,89	5,45	60,12	-	-	16,82	5,27	100,00	583	0,1378
19,5	4,56	73,59	-	-	19,25	4,61	51,73	585	0,1378
21,58	4,12	100,00	-	-	21,38	4,16	86,98	514	0,1574
22,69	3,92	45,85	-	-	22,48	3,96	39,9	588	0,1378
23,3	3,81	63,004	-	-	23,10	3,85	44,72	412	0,1968
23,74	3,74	63,04	-	-	23,50	3,79	27,86	383	0,2165

* PA = Posição Angular, τ = Tamanho do Cristalito, [d] = distância interplanar, IR = Intensidade Relativa e FWHM = Largura total do pico à meia altura

5.1.2 Análise de espectroscopia no infravermelho

As bandas de absorção características da ATC no espectro de FT-IR são o O-H em 3365.5 cm^{-1} , N-H em 3228.3 cm^{-1} , C=O em 1651.7 , -CH (aromático) em 2903.5 e -C=C em 1595.1 (SONJE et al., 2010). As bandas de absorção do fármaco e dos cristais são mostradas na Figura 4.

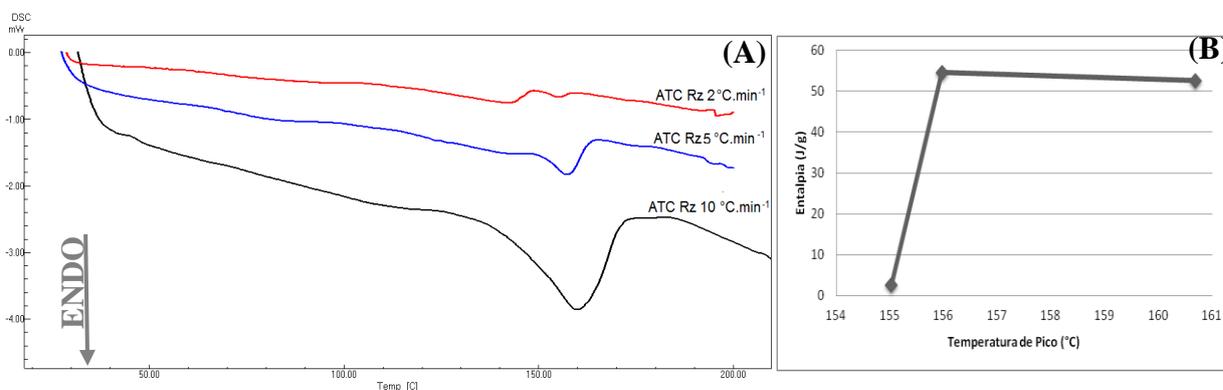
Figura 4 - Espectro de absorção na região do infravermelho do fármaco atorvastatina obtido experimentalmente



5.1.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e DSC-fotovisual

As curvas de DSC estão ilustradas na figura 5A. Na razão de aquecimento de $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ocorreram dois processos endotérmicos com início em $134,30$ e $151,50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e com pico em $143,20$ e $155,03\text{ }^{\circ}\text{C}$ e entalpias de $11,95$ e $2,70\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$ respectivamente. Na razão de aquecimento de $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ ocorreu apenas um processo endotérmico que teve início em $134,18\text{ }^{\circ}\text{C}$, com pico em $155,97\text{ }^{\circ}\text{C}$ e entalpia de fusão em $54,6\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$. Já na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ este processo endotérmico iniciou em $146,62\text{ }^{\circ}\text{C}$, com pico máximo em $160,69\text{ }^{\circ}\text{C}$ tendo calor de reação de $52,6\text{ J}\cdot\text{g}^{-1}$, que se refere ao processo de fusão do polimorfo-I do fármaco, conforme descrito na literatura (SHAYANFAR; JOUYBAN, 2013; SONJE et al., 2010). Esses resultados evidenciam uma mudança da temperatura de fusão com deslocamento para temperaturas maiores, à medida que se aumentou a razão de aquecimento, havendo uma variação da entalpia nas razões estudadas.

Figura 5 - (A) Curvas calorimétricas da ATC razões de aquecimento de 2, 5 e 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera de azoto; (B) Figura da temperatura de pico de fusão versus entalpia de fusão



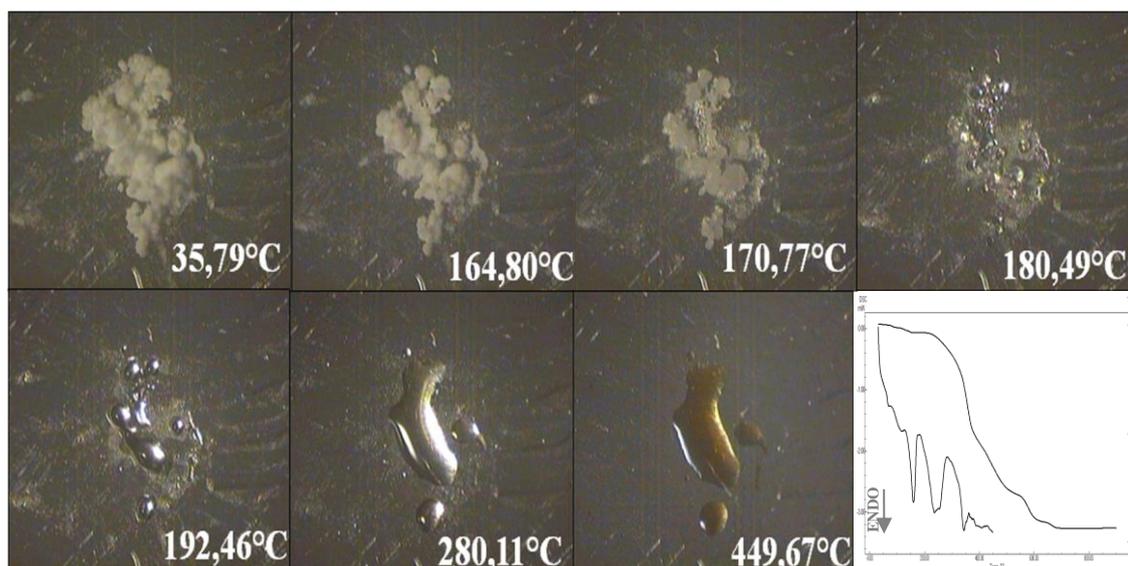
Os dados do gráfico de temperatura de pico de fusão *versus* entalpia de fusão (Figura 5B) mostra que a variação de pico de fusão não se correlaciona proporcionalmente com os valores de entalpia correspondente ao processo de fusão. Isto mostra a necessidade investigar qual a melhor razão de aquecimento nos estudos de caracterização de forma a visualizar as transições de menor fluxo de calor e não sobrepor possíveis eventos. O aumento da sensibilidade das transições pode ser expressa pela relação da capacidade de calor versus razão de aquecimento.

Ao observamos os dados da pureza do pico da fusão calculado através da equação de van't Hoff observamos que eles correlacionam com os valores encontrados na relação

temperatura de pico de fusão *versus* entalpia de fusão, uma vez que a razão de aquecimento de $2\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ mostrou uma pureza de pico de 99,48 %, enquanto que as razões de aquecimento de 5 e $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ apresentaram variações na determinação da pureza do pico correspondente a 67,0 e 72,3%, respectivamente. Tal fato mostra que o modelo van't Hoff apresenta limitações na aplicação e deve estabelecer com critério as condições de análise da ATC.

Em adicional a técnica de DSC, foi realizada o DSC fotovisual (Figura 6) que possibilitou a visualização em tempo real das mudanças físicas e químicas que sofre a ATC. A primeira imagem (Figura 6 - foto TA) mostra o fármaco na temperatura inicial sem alterações visíveis. As imagens seguintes correspondem aos processos de transição de fase do fármaco referência. O processo de fusão do fármaco iniciou na temperatura de $164,80\text{ }^{\circ}\text{C}$, completando sua total liquefação em $170,77\text{ }^{\circ}\text{C}$. A foto capturada na temperatura de $180,49\text{ }^{\circ}\text{C}$ mostram o início da decomposição da mesma, a partir dessa temperatura as imagens posteriores mostram a decomposição com o escurecimento do material até o fim do experimento.

Figura 6 - Imagens do DSC-fotovisual da ATC na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera de azoto de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$



5.1.4 Termogravimetria (TG)

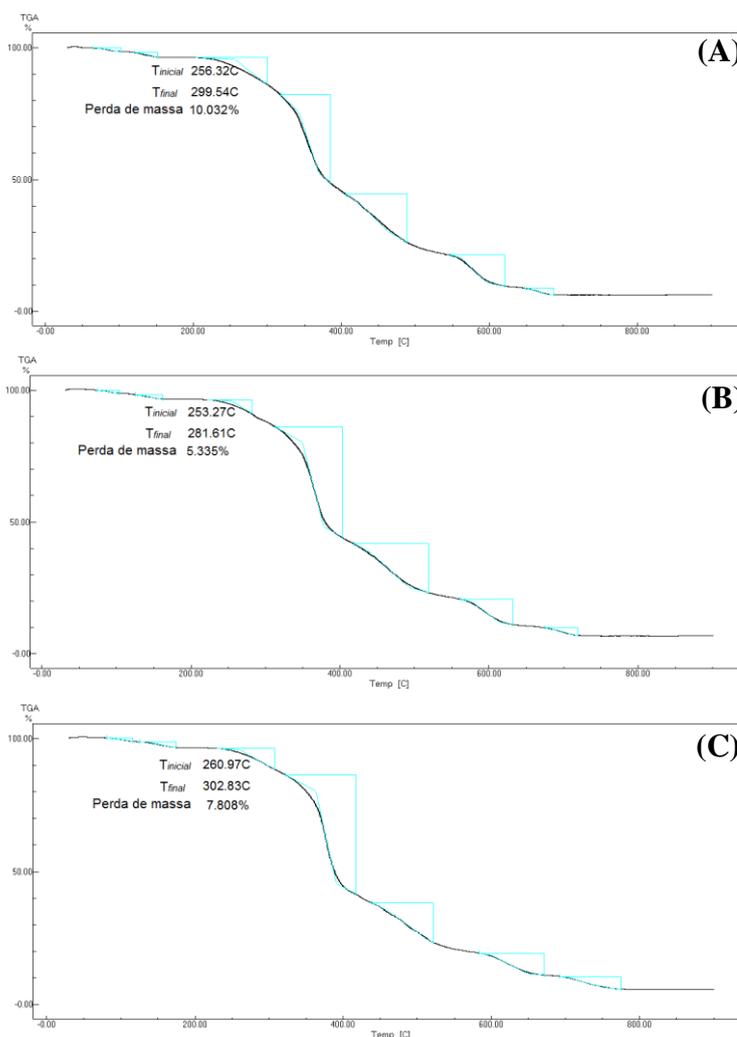
As curvas de TG do ATC apresentam perfis de TG similares em relação às perdas de massas da etapa principal (Figura 7). Os cálculos para determinação da perda de massa foram

determinados através da sobreposição da curva derivada da TG, a qual permite melhor visualização das etapas, bem como o cálculo realizado pela tangente. De acordo com as curvas TG obtidas podemos visualizar na figura a presença de 7 etapas de perda de massas.

O primeiro e segundo estágio é relativo à perda de água por parte da ATC, uma vez que essa se apresenta como um sal tri-hidratado (Formula química: $[C_{33}H_{34}FN_2O_5]_2 Ca \cdot 3H_2O$) (SHETE *et al.*, 2010).

O estágio principal de degradação foi, dito, o terceiro estágio que na razão de aquecimento de 10 °C/min., apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 10,26\%$ ($T_{inicial} = 254,6\text{ °C}$ e $T_{final} = 299,9\text{ °C}$). Assim, o estágio de decomposição inicia-se do ATC após a temperatura de fusão.

Figura 7 - Curvas termogravimétricas da ATC nas razões de aquecimento 10 (A), 20 (B) e 40 (C) °C.min⁻¹ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e 20 mL.min⁻¹)



5.2. Caracterização dos cristais

5.2.1. Difração de Raios X

Os padrões dos difratogramas da ATC, das recristalizações do acetato de etila (ATC-AcEt) e éter (ATC-Et) (Figura 8), apresentaram picos com semelhantes ângulos de difração, mas com variações nas intensidades relativas (Tabela 2). Já os padrões dos difratogramas obtidos com clorofórmio (ATC-CLF), metanol (ATC-MeOH) e etanol (ATC-EtOH), mostraram um padrão difratométrico tendendo a amorficidade (Figura 2C, D e E). Comparando-se as três maiores intensidades relativas e seus respectivos ângulos difratados para os cristais ATC, ATC-AcEt e ATC-Et, observa-se variações distintas onde leva-se a crer que há uma formação de polimorfos, podendo ser corroborado pela mudanças no hábito cristalino dos produtos (fotomicrografias não disponível).

Ao analisarmos a intensidade de pico mostrada da Figura 9 para podemos observar uma variação, a qual é atribuída a diferenças relacionadas ao tamanho do cristalito (Tabela 2). O mesmo foi exposto por Lee e outros (2009), que a diferença de intensidade dos picos do entre as amostras analisadas foi devido á diferença no tamanho do cristalito. Porém, são escassos os relatos na literatura científica que abordem o tamanho do cristalito para as IFAs.

Avaliar o tamanho de cristalito é importante, uma vez que essa propriedade dos materiais possa ser altamente relacionada com as propriedades físico-químicas dessas IFA. Essa caracterização da medição do tamanho de cristalito é tão importante como a identificação da composição elementar, fase cristalina e descrição morfológica (UVAROV; POPOV, 2013).

Figura 8 - Padrões de difração da atorvastatina e suas recristalizações estudadas (região 8-25°/2 θ).

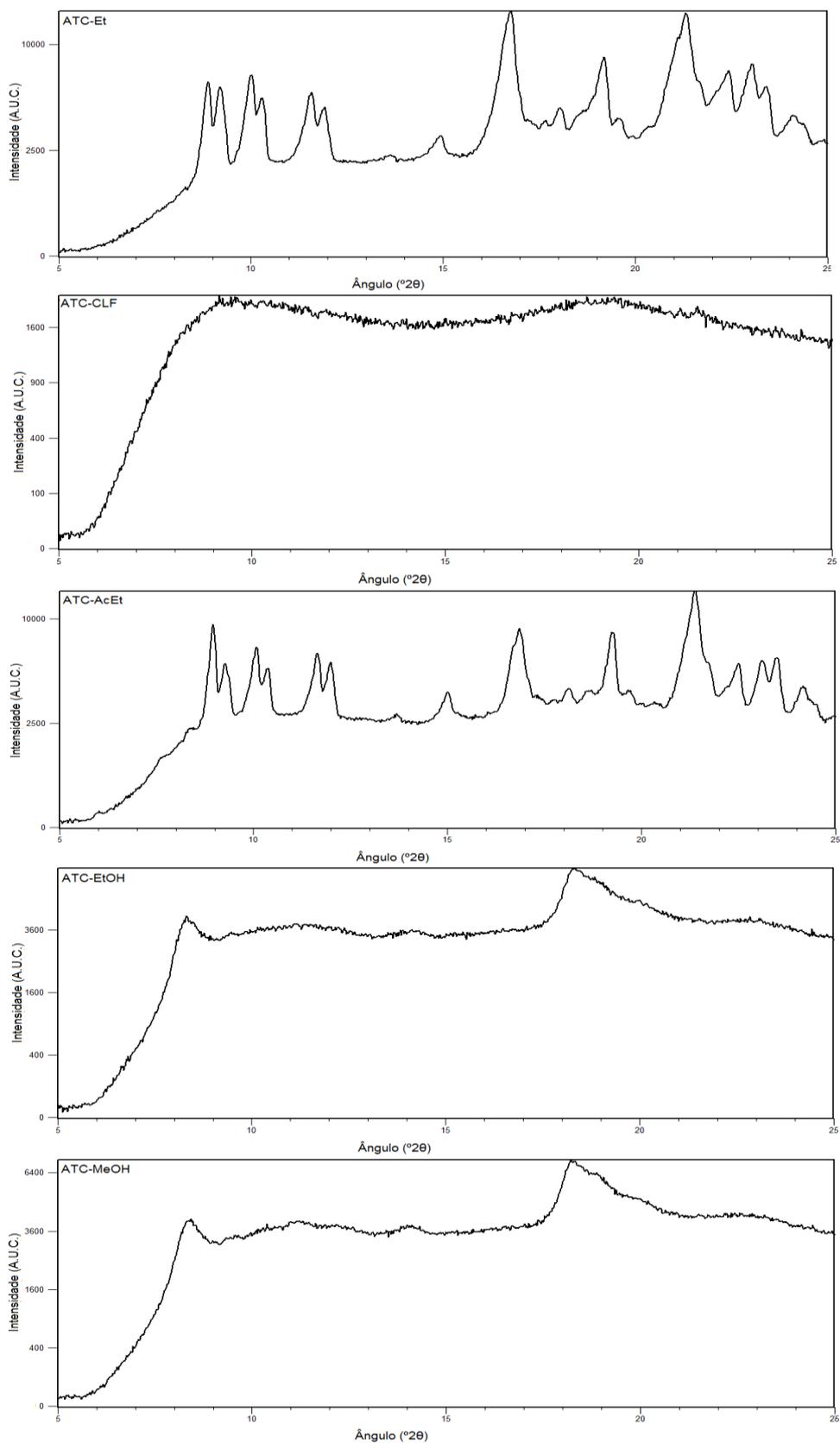


Tabela 5 - Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do padrão de DRX da ATC, ATC-AcEt e ATC-Et

ATC				ATC-AcEt				ATC-Et			
PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)	PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)	PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)
8,94	506	9,8929	46,87	8,98	578	9,8508	79,77	8,88	578	9,9544	57,10
9,23	578	9,5772	46,13	9,26	578	9,5484	45,44	9,20	506	9,6079	50,67
10,06	579	8,7967	51,15	10,09	507	8,7635	55,26	10,03	368	8,8170	55,75
16,82	583	5,2702	100,00	11,67	676	7,5824	44,67	16,62	583	5,3352	88,25
19,25	585	4,6106	51,73	19,28	585	4,6039	55,75	19,22	409	4,6179	54,47
21,38	514	4,1569	86,98	21,41	457	4,1509	100,00	21,33	456	4,1663	100,00
23,10	412	3,8511	44,72	23,08	458	3,85345	32,94	23,05	515	3,8591	50,73

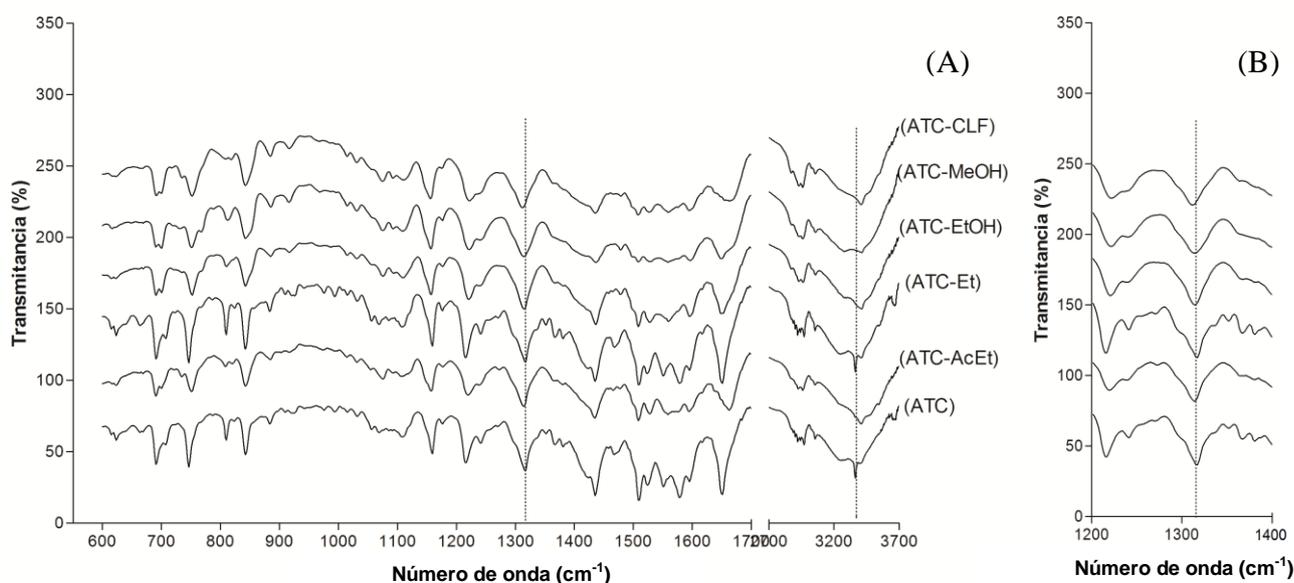
*PA = Posição Angular, τ = Tamanho do Cristalito, [d] = distância interplanar, IR = Intensidade Relativa

5.2.2 Análise de espectroscopia no infravermelho

A fim de verificar possíveis alterações na ATC durante o processo de recristalização intermolecular com diferente solvente do foi utilizado espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourreir (FT-IV) (Figura 9).

O espectro de FT-IR de ATC e os cristais obtidos em cinco diferentes solventes tiveram alterações significativas na banda característica do fármaco de 3365 cm^{-1} , que é o pico de estiramento do grupo hidroxila. A banda referenciada foi observado nas formas cristalinas, ATC, ATC-AcEt, ATC-Et, foi observado em 3663.8 , 3665.7 e 3365.8 cm^{-1} , respectivamente porém, a banda de absorção do OH observado no espectro de FT-IR nos caracteriza um grau de amorfização nos cristais seguindo uma ordem decrescente de polaridade: ATC-EtOH, ATC-MeOH, ATC-CLF, onde apresentaram-se bandas largas em 3412 , 3414 e 3408 , respectivamente (Tabela 6). Isto mostra que os solventes com maior polaridade promovem mudanças na rede cristalina, como foram evidenciados no resultados do DRX.

Figura 9 - (A) Espectros de infravermelho da atorvastatina e suas recristalizações com comprimento de onda entre $4000 - 600\text{ cm}^{-1}$, as linhas pontilhas destacando as bandas que apresentaram variação no comprimento de onda; (B) Detalhe ampliado na banda de absorção em 1300 cm^{-1}



Essa alteração na banda de estiramento da hidroxila também foi observado por Kim (2008) que obtiveram a nanoparticulas da ATC. A analise do DRX dessas nanoparticulas

mostou amorfa e o FTIR, tiveram deslocamentos na banda da hidroxila, este relato nos indica que esses grupamentos químicos estejam envolvidos na formação das ligações inter molecular para formação do cristal (KIM et al., 2008).

Tabela 6 - Dados dos espectros de infravermelho da atorvastatina e suas recristalizações e dados da literatura.

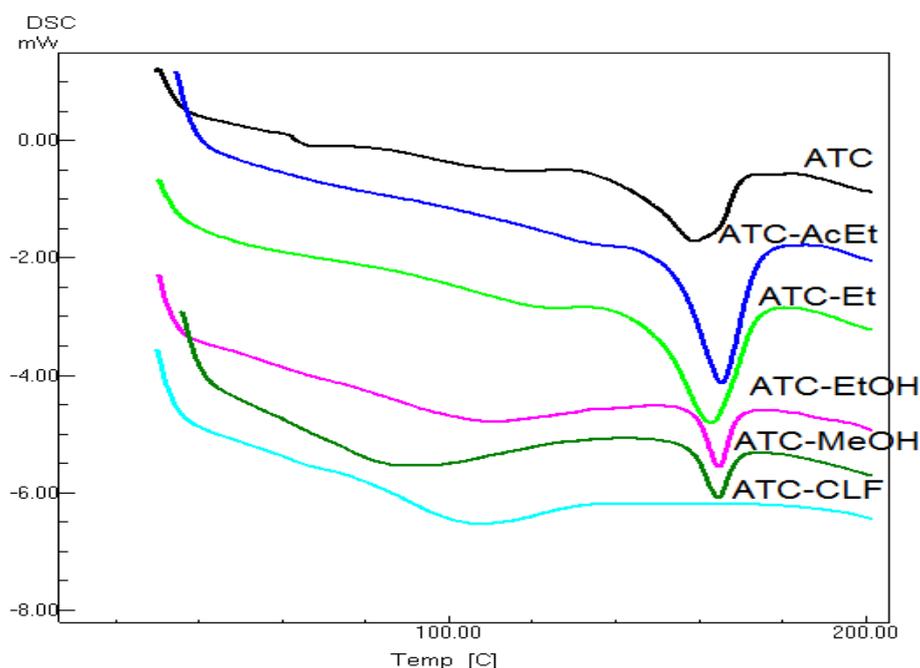
	Assinalamentos				
	N-H	O-H	C=O	C-H(Arom)	-C=C
	ν (cm ⁻¹)				
Atorvastatina cálcica (KIM <i>et al.</i> , 2008)	3365,5	3228,3	1651,7	2903,5	1595,1
ATC	3363,86	3255,92	1651,07	2903,5	1577,77
ATC-AcEt	3365,78	3239,07	1662,64	2929,75	1595,13
ATC-Et	3363,86	3253,91	1651,07	2981,82	1577,77
ATC-EtOH	3412,08	--	1649,14	2926,75	1595,13
ATC-MeOH	3414	3277,06	1647,21	2931,8	1595,06
ATC-CLF	3408,22	--	1662,87	2929,87	1595,13

5.2.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC nas razões de 10 °C.min⁻¹ dos cristais obtidos apresentaram um perfil térmico diferente em relação ao fármaco na faixa de temperatura de 130 a 200 °C Por meio da análise das curvas de DSC dos cristais obtidos foi possível constatar que houve variações na entalpia de fusão de todos os cristais como mostrado na Figura 10 e Tabela 7.

O cristal obtido com clorofórmio que não apresentou pico de fusão apresentando apenas uma transição vítrea (81 °C) confirmando o que foi observado pela técnica de DRX do mesmo, em que visualizamos que ocorreu uma diminuição do grau cristalino predominando a característica amorfa. O dado corrobora como os achados de Shayanfar & Jouyban (2013) que obtiveram coamorfos de atorvastatina onde os autores observaram na curva calorimétrica um processo endotérmico largo devido a desorganização estrutural da amostra, visto que o padrão de difração da amostra apresentou-se sem estrutura definida (SHAYANFAR; JOUYBAN, 2013).

Figura 10- Curvas calorimétricas da atorvastatina e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹



Segundo Rawlinson e colaboradores em 2007 é possível estabelecer uma relação entre a entalpia e o grau de cristalinidade onde mostrou no seu estudo que a diminuição da entalpia de fusão do ibuprofeno estava correlacionada com a diminuição da organização do hábito cristalino (RAWLINSON et al., 2007). O mesmo também foi visto por Shahzad *et al.* em 2013 com as dispersões de artemisina (SHAHZAD et al., 2013). Assim, ao observar as entalpias de fusão dos cristais na Tabela 1 pode-se uma redução dos valores indicando uma ordem de organização cristalina em que ATC-Et, ATC-AcEt > ATC-EtOH, ATC-MeOH.

Tabela 7 - Pico e entalpia de fusão do fármaco e dos cristais.

Matéria	Pico de fusão (°C)	Entalpia (J/g)
ATC	160,69 ± 3,91	52,60 ± 2,46
ATC-AcEt	165,35	59,49
ATC-Et	162,18	65,10
ATC-EtOH	164,62	12,50
ATC-MeOH	164,64	11,75

*Os valores representaram $\bar{x} \pm DP$

5.2.4 Termogravimetria (TG)

As curvas de TG dos cristais estudados da ATC apresentam perfis de TG diferentes em relação às perdas de massas da etapa principal. O estágio principal de degradação, o terceiro estágio que na razão de aquecimento de 10 °C/min., apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 10,26\%$ ($T_{inicial} = 254,6\text{ °C}$ e $T_{final} = 299,9\text{ °C}$). Esse mesmo estágio para os cristais ocorreram em temperaturas e percentuais de perda de massa inferiores a ATC isolada (Figura 11 e Tabela 8).

Figura 11- Curvas termogravimétricas da atorvastatina e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹

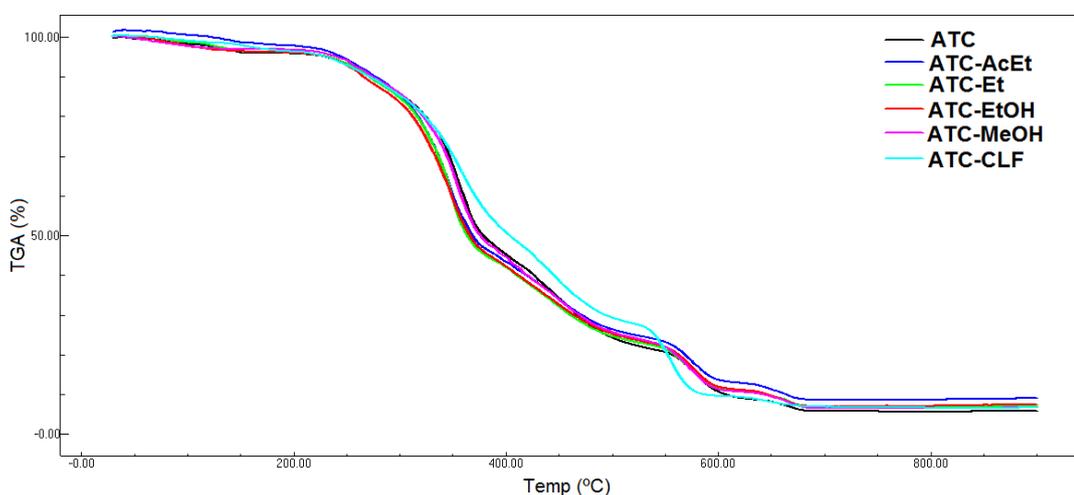


Tabela 8 - Temperatura inicial do estágio principal do fármaco e dos cristais na razão de 10 °C/mim.

Matéria	T _i (°C)	T _f (°C)	% de Perda de massa
ATC	257,59 ± 4,06	299,94 ± 0,49	10,26 ± 0,22
ATC-AcEt	246,28	280,72	9,098
ATC-Et	244,09	275,12	6,800
ATC-EtOH	242,04	269,42	7,341
ATC-MeOH	240,22	279,54	8,358

*Os valores representaram $\bar{x} \pm DP$

5.3 Caracterização das dispersões sólidas

5.3.1 Difração de raios X

As dispersões sólidas com surfactantes obtidas por liofilização (ATC-PEG; ATC-LR e ATC-HPMC), apresentaram padrões de difração diferenciados em relação a ATC, de acordo com os dados apresentados na Tabela 9 e perfis da Figura 12.

A Figura 12a, mostra o padrão de difração da dispersão sólida ATC-CBP, onde é constatado um padrão difratométrico essencialmente amorfo. Nas Figuras 12b, 12c e 12d são observados os padrões de difração das dispersões sólidas ATC-HPMC, ATC-LR e ATC-PEG com cristalinidade nos seguintes percentuais, 16,69 % (GOF: 1,30 e Rwp: 4,33), 61,82 % (GOF: 1,60 e Rwp: 4,44) e 68,07 % (GOF: 1,30 e Rwp: 4,33) respectivamente, no entanto para a dispersão ATC-HPMC o alargamento dos picos em seu padrão de difração se deve à baixa cristalinidade e a diminuição do tamanho de seu cristalito, uma vez que quanto menor o cristalito, maior a largura total do pico a meia altura, conseqüentemente mais largo o pico difratado se apresentará.

A Figura 12e, mostra o padrão de dispersão da ATC-UTZ, onde o cálculo da cristalinidade evidenciou um baixo percentual (18,09 %, GOF: 2,29 e Rwp: 6,08), no entanto não foi possível calcular as posição angulares, o tamanho dos cristalitos, os distâncias interplanares e suas intensidades relativas respectivas, tendo em vista o alto grau de complexidade do padrão difratométrico em questão. O grau de cristalinidade da ATC foi calculado em 66,62 % para um GOF de 2,0 e Rwp de 2,95.

Hai Wei e outros (2008) cita em seus estudos que “difração de raio-X de pó (PDRX) pode não ser sensível o suficiente para detectar pequenas quantidades de diferentes formas cristalinas ou amorfas de pequenas quantidades de fármaco. Onde o limite de detecção deste método para a detecção de formas amorfas requer pelo menos 10% material amorfo”.

Em nossos estudos observamos que não existe limite de detecção em relação à quantidade de material cristalino ou amorfo, quando os cálculos forem realizados através do software Diffract TOPAS. A determinação da cristalinidade por XRPD através do TOPAS pode ser estimada pela subtração da contribuição cristalina menos a contribuição amorfa menos o background.

Hind El-Zein e outros (1998) usou para fins comparativos, o método Hanawalt descrito em Cullity (1990), onde os três maiores valores de intensidade relativa (IR) e de suas correspondentes distâncias interplanares [d] foram comparadas ao fármaco, carreadores e os

sistemas correspondentes. A diferença de $\pm 0,02$ para distâncias $[d]$ sugere uma alteração na estrutura cristalina do fármaco e carreador.

Foi observado da mesma forma que em Hind El-Zein e outros de acordo com a Tabela 9, que existe uma diferença significativa levando-se em consideração tanto as difrações das três maiores IR das dispersões sólidas em relação a ATC, quanto em relação aos valores das $[d]$ para as três maiores IR, onde sugere-se possíveis interações ou alterações polimórficas das dispersões sólidas.

Figura 12 - Perfil de difração da atorvastatina e suas dispersões sólido (região 5-25°/2 θ), onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ

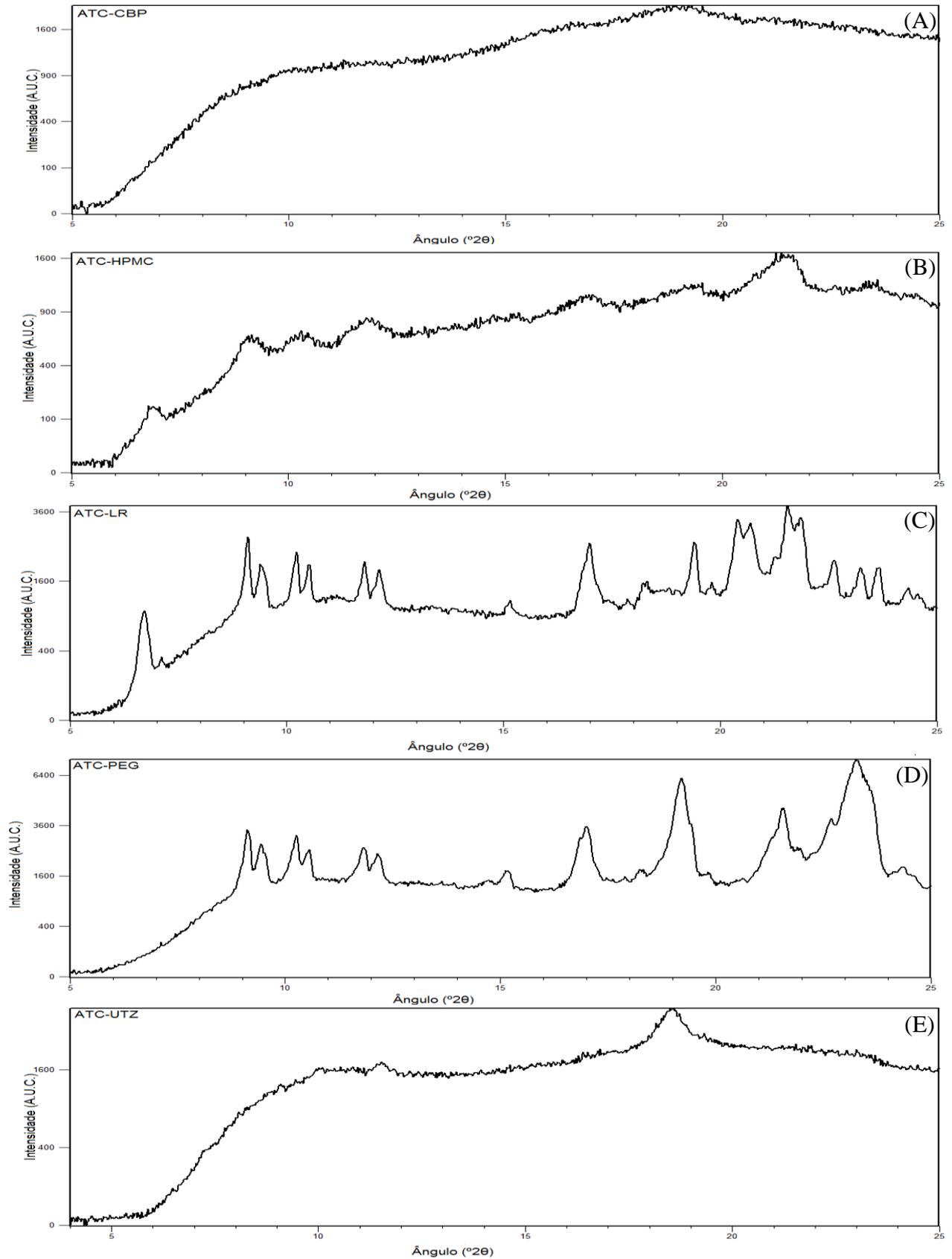


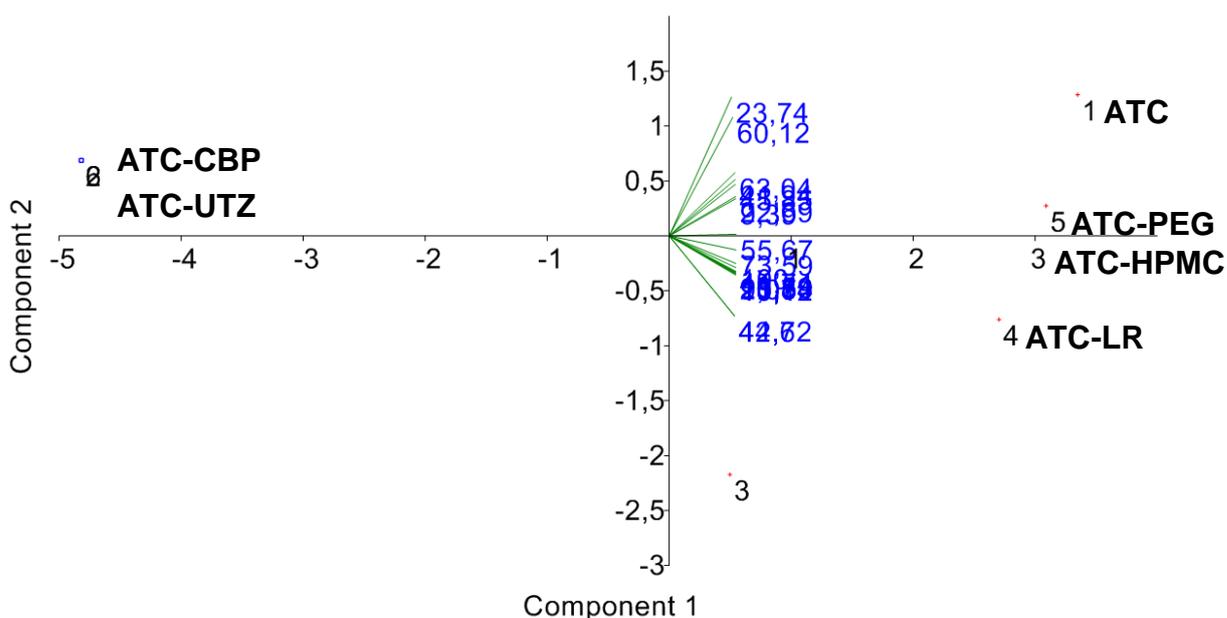
Tabela 9 - Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa dos padrões de DRX da ATC, ATC-LR, ATC-PEG e ATC-HPMC

ATC				ATC-LR				ATC-PEG				ATC-HPMC			
PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)	PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)	PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)	PA(°2θ)	τ (Å)	[d] (Å)	IR (%)
8,94	506	9,8929	46,87	9,11	810	9,7053	86,08	9,15	675	9,6615	41,45	8,97	337	9,8609	51,57
9,23	578	9,5772	46,13	10,23	811	8,6466	60,62	10,27	675	8,611	32,92	10,37	145	8,5299	33,25
10,06	579	8,7967	51,15	17,00	680	5,2150	63,01	19,23	372	4,6151	80,34	11,84	254	7,4751	42,89
16,82	583	5,2702	100,00	20,40	586	4,3528	82,51	21,57	514	4,1197	51,27	17,01	204	5,2118	30,85
19,25	585	4,6106	51,73	20,71	568	4,2885	74,28	22,68	686	3,9214	42,09	19,30	128	4,5984	35,61
21,38	514	4,1569	86,98	21,53	685	4,1259	100,00	23,23	687	3,8298	100,00	21,66	294	4,1019	100,00
23,10	412	3,8511	44,72	21,87	685	4,0643	84,48	23,71	516	3,7533	48,85	23,46	172	3,7916	38,74

*PA = Posição Angular, τ = Tamanho do Cristalito, [d] = distância interplanar, IR = Intensidade Relativa

Na PCA, o primeiro componente (PC1) explica a correlação existente dentro dos grupos, 75,71 % (PC1), 14,60 % (PC2) e 7,53 % (PC3). Nítida distinção das amostras é observada no intervalo de confiança de 95%, com ATC-CBP e ATC-UTZ no PC1 negativo e ATC, ATC-HPMC, ATC-LR e ATC-PEG no PC1 positivo, sem intersecção das amostras (Figura 13). Estes resultados mostram que as DS apresentaram diferença entre os valores de PC1, PC2 e PC3, gerados a partir dos conjuntos de medidas originais. Assim, podemos afirmar que a técnica de DRX em pó pode ser aplicada na caracterização e avaliação do processo tecnológico de obtenção das DS. Evidenciando interações físicas e alterações no grau cristalino do fármaco ATC em relação as DS que utilizam excipientes empregados como adjuvantes tecnológicos de amorfização no processo de produção.

Figura 13 - Gráfico de componente principal para DRX



5.3.2 Análise de espectroscopia no infravermelho

A fim de verificar possíveis alterações na ATC durante o processo de obtenção das DS e avaliar a interação com os excipientes foi utilizado espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourreir (FT-IR) (Figura 13). As bandas de absorção características da ATC no espectro de FT-IR são o O-H em 3365.5 cm^{-1} , N-H em 3228.3 cm^{-1} , C=O em 1651.7 , -CH (aromático) em 2903.5 e -C=C em 1595.1 (SONJE et al., 2010). As bandas de absorção do fármaco e das DS são mostradas na Figura 14 e Tabela 10.

Tabela 10 - Dados dos espectros de infravermelho da atorvastatina e suas dispersões sólidas

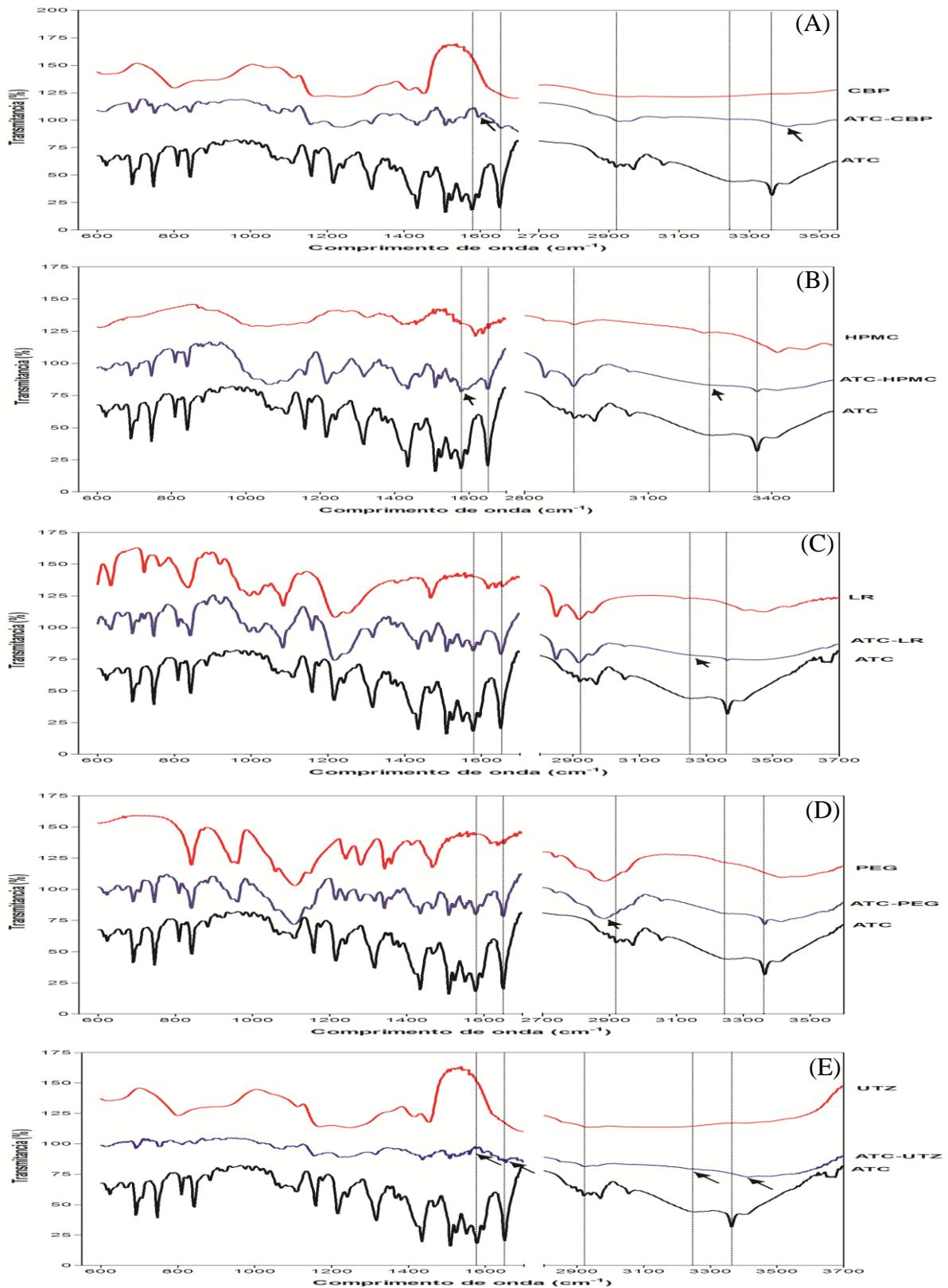
ν (cm ⁻¹)							
Assinalamentos	Frequência relatada na Literatura*	ATC	ATC-CBP	ATC-HPMC	ATC-LR	ATC-PEG	ATC-UTZ
N-H	3365,5	3363,9	3412,1	3363,9	3363,9	3363,9	3414,0
O-H	3228,3	3255,9	3236,5	3236,6	3236,5	3238,5	--
C=O	1651,7	1651,1	1647,2	1649,1	1651,1	1651,1	--
C-H(Arom)	2903,5	2921,7	2929,9	2954,9	2954,9	--	2924,1
-C=C	1595,1	1577,8	1595,1	1595,1	1595,1	1577,8	--

(*) KIM *et al.*, 2008)

As dispersões estudadas mostram alterações nas principais bandas de absorção FTIR, principalmente da dispersão sólida carbopol-ultrez, na qual as bandas correspondente ao N-H, C=O e -C=C sofreram alargamento. A banda de estiramento da hidroxila foi deslocada para regiões de maior comprimento de onda nas dispersões que apresentaram amorfização (ATC-CBP, ATC-UTZ), indicando que esse grupo funcional está correlacionado com a estruturação para formação da rede cristalina.

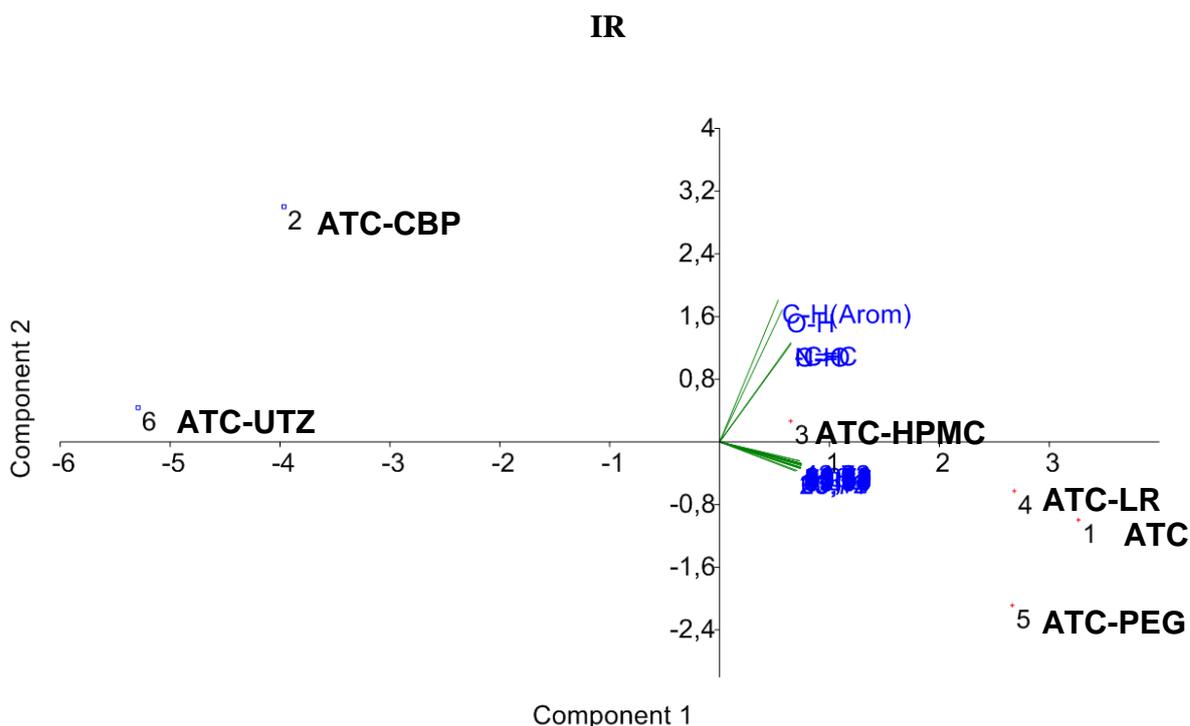
A literatura relata existe uma diferença na banda de absorção do alongamento da carbonila quando a ATC está na forma cristalina (1651 cm⁻¹) e na forma amorfa (1662 cm⁻¹) (KIM *et al.*, 2008; SHAHZAD *et al.*, 2013). Observando esta banda e da hidroxila podemos ver que as dispersões que apresentaram um perfil cristalino no DRX apresenta em 1651 cm⁻¹, e isso é um corrobora com os dados de DRX que a dispersão de ATC-HMPC está cristalina, porém com um tamanho de cristal pequeno.

Figura 14 - Espectros de infravermelho da atorvastatina e suas dispersões , onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ



Na PCA, o primeiro e o segundo componentes principais (PCs) explicam correlação existente dentro dos grupos em 70,% (PC1), 26,54 (PC2) e 17,76% (PC3), respectivamente. As DS estão distribuídas no PC1 positivo e negativo, com nenhuma intersecção de amostra no PC1 positivo no intervalo de confiança de 95% (Figura 15). Nas DS ATC-CBP e ATC-UTZ temos indícios de deslocamentos de bandas na região de IR sendo útil na discriminação, enquanto que as demais DS estão distribuídas PC1 positivo semelhante à ATC.

Figura 15 - Gráfico de componente principal correlacionando as técnicas de DRX e FT-



5.3.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC nas razões de 10 °C.min⁻¹ das DS obtidas apresentaram um perfil térmico diferente em relação ao fármaco na faixa de temperatura de 130 a 200 °C, exceto as dispersões de ATC-HPMC e ATC-LR. Por meio da análise das curvas de DSC foi possível constatar estas duas dispersões não houve variações na temperatura de pico de fusão como mostrado na Figura 16 e Tabela 11.

Tabela 11 - Dados das curvas de DSC da atorvastatina e suas dispersões sólidas

Matéria	Pico de fusão (°C)	Entalpia (J/g)
ATC	160,69 ± 3,91	52,60 ± 2,46
ATC-CBP	--	--
ATC-HPMC	162,24 ± 1,42	14,66 ± 3,10
ATC-LR	156,84 ± 1,90	16,75 ± 3,15
ATC-PEG	--	--
ATC-UTZ	--	--

*Os valores representaram $\bar{x} \pm DP$

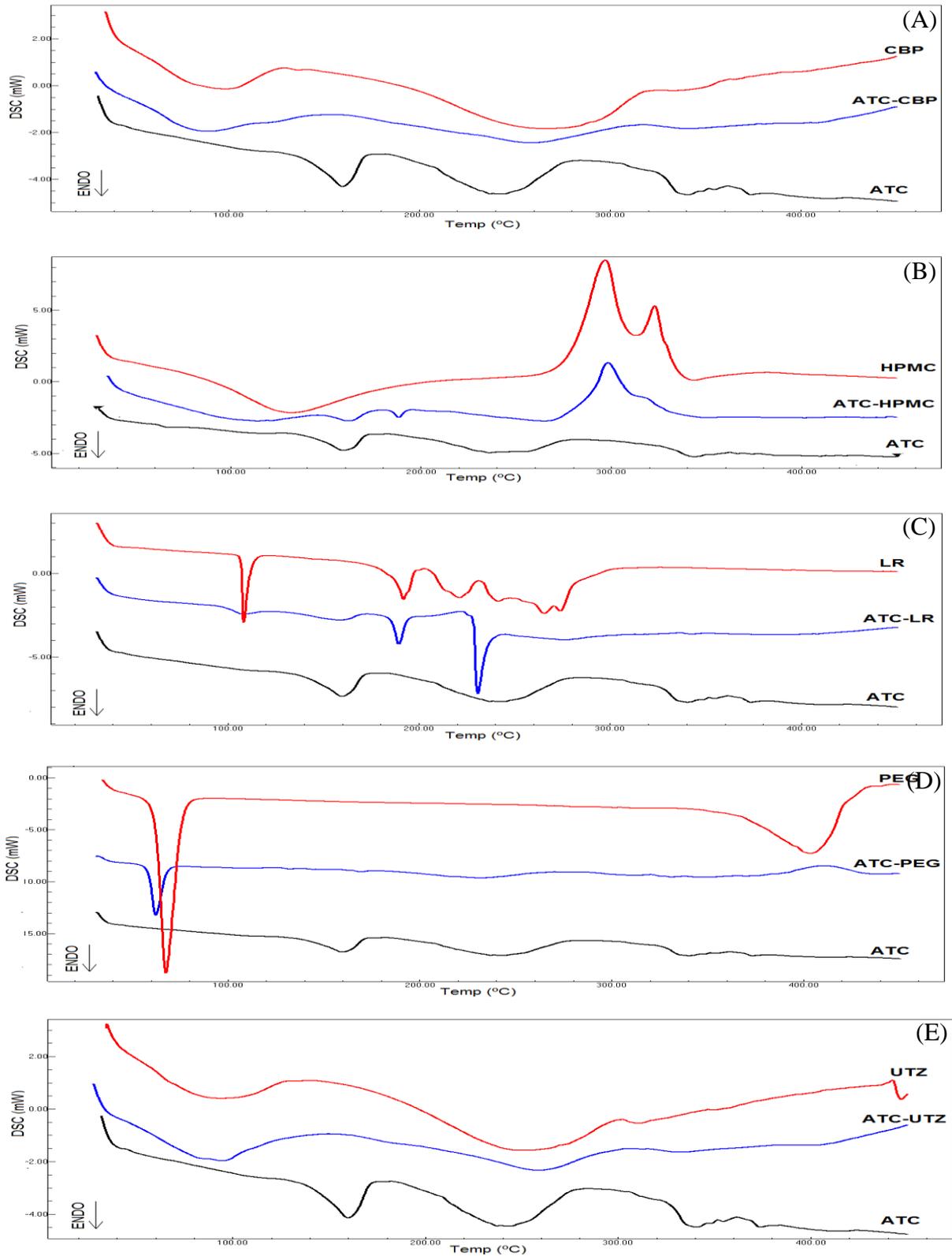
Através da análise das curvas de DSC da dispersão com o carbopol e cabopol-ultrez, pode ser observado observar a supressão do pico de fusão do fármaco mostrando que ocorre uma interação entre as moléculas do fármaco com os surfactantes. E isso mostra correlação com os dados de DRX em que essas dispersões apresentaram-se amorfas.

No entanto, a dispersão ATC-PEG apresentou-se cristalina, porém não apresentou o pico de fusão do fármaco, sugere-se que esse desaparecimento é devido à formação de uma mistura eutética. O PEG funde primeiro que o fármaco e possui cadeia de carbono grande, e isso leva a solubilização do fármaco durante análise de DSC levando, então, ao desaparecimento do pico de fusão do fármaco (OLIVEIRA, YOSHIDO, GOMES, 2011).

Já as DS ATC-HMPC e ATC-LR, apresentaram picos de fusão com temperatura de pico semelhante ao do fármaco isolado, corroborando com os dados de DRX e FTIR em que essas dispersões apresentaram-se com característica de forma cristalina.

Na curva da dispersão ATC-HPMC (Figura 16B), apresenta um pico endotérmico após a fusão do fármaco, esse pico é referente ao pico do fusão do lauril que foi adicionado para melhorar homogeneidade da solução de aquosa.

Figura 16 - Curvas calorimétricas da atorvastatina e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ



5.3.4 Termogravimetria

As curvas de TG do ATC apresentam sete estágios de decomposição térmica para uma razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, enquanto que as dispersões sólidas variaram entre 3 a 7 etapas (Figura 17).

O estágio principal de degradação do fármaco foi, dito, o terceiro estágio que na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}.$, apresentando uma perda de massa de $\Delta m = 10,26\%$ ($T_{\text{inicial}} = 254,6^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{final}} = 299,9^{\circ}\text{C}$). Esse mesmo estágio para as dispersões ocorreram em temperaturas e percentuais de perda de massa inferiores a ATC isolada (Tabela 12).

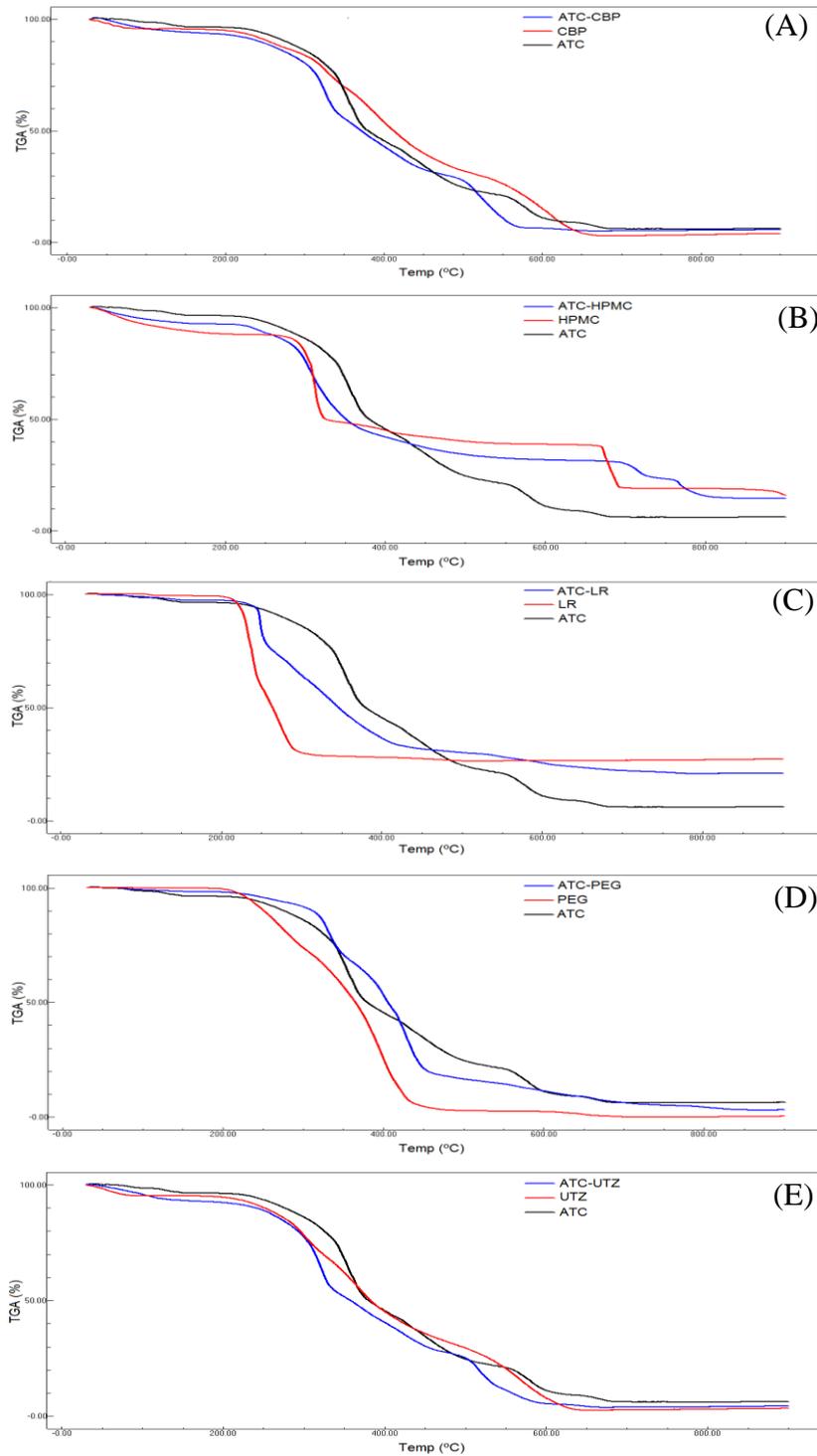
Tabela 12 - Temperatura inicial do estágio principal do ATC e das dispersões sólidas estudadas na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$

Matéria	T_i (°C)	T_f (°C)	% de Perda de massa
ATC	257,59 ± 4,06	299,94 ± 0,49	10,26 ± 0,22
ATC- CBP	249,62 ± 1,39	286,28 ± 1,50	9,42 ± 0,12
ATC- HPMC	226,24 ± 1,46	239,89 ± 1,39	4,16 ± 0,47
ATC-LR	243,99 ± 2,21	250,53 ± 2,05	21,56 ± 0,26
ATC-PEG	232,24 ± 3,88	271,43 ± 1,81	4,03 ± 0,54
ATC-UTZ	253,33 ± 2,85	285,96 ± 2,27	9,97 ± 0,45

*Os valores representaram $\bar{x} \pm \text{DP}$

Esses dados corroboram com os dados de DSC que mostra a interação entre o fármaco do excipiente alterando, assim, o estágio principal de degradação. A dispersão ATC-HMPC mostra maior redução na temperatura inicial dessa etapa. Pelos dados de DRX e DSC nos leva acreditar as interações física e química do fármaco-excipientes que ocorre no processo é evidenciada na diminuição do tamanho do cristal, influenciando de forma indireta na antecipação da degradação.

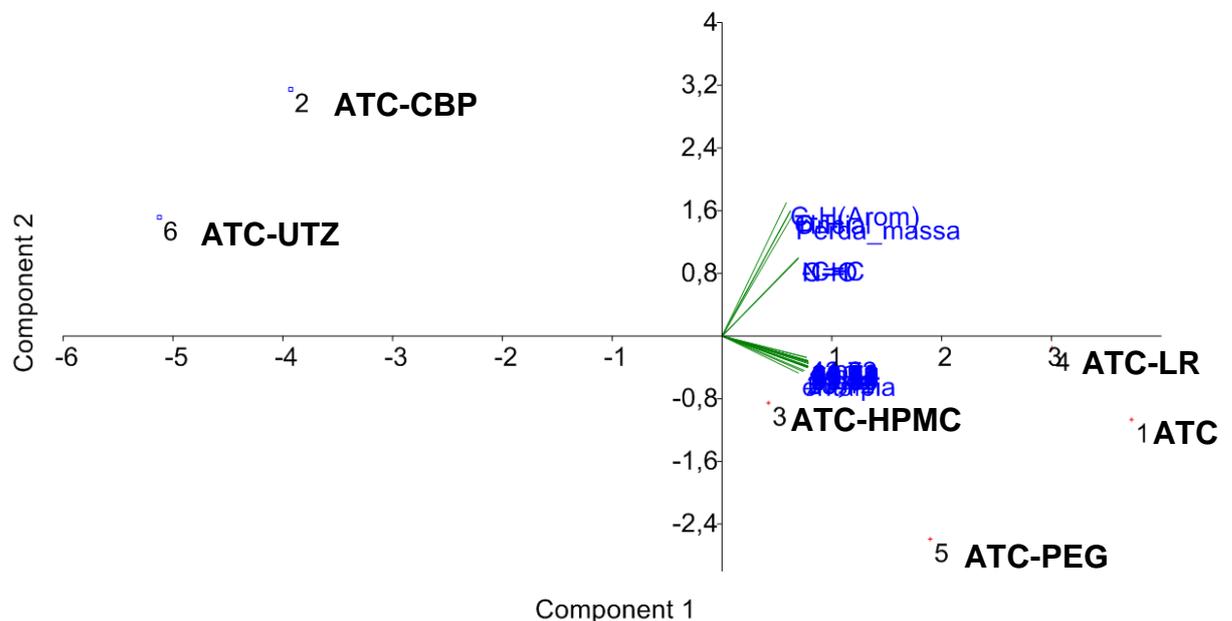
Figura 17 - Curvas termogravimétricas da ATC e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e $20\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), onde (A) ATC-CBP, (B) ATC-HPMC, (C) ATC-LR, (D) ATC-PEG, (E) ATC-UTZ



Análise estatística pelo modelo componente principal, mostra a correlação dos dados DRX em pó, FTIR e AT das DS tanto no que se refere as características cristalinas, espectroscópicas e térmicas, correlacionando a posição ângulos e intensidade relativa do DRX, a variação das bandas de absorção no FTIR, e os parâmetros térmicos (transições de fases, entalpia de fusão e variação de perda de massa) (Figura 18).

Na PCA, os três componentes principais (PCs) explicam a correlação existente dentro dos grupos, 63,61 % (PC1), 15,60 % (PC2) e 10,80 % (PC3). Nítida distinção das amostras é observada no intervalo de confiança de 95%, com e ATC, ATC-HPMC, ATC-LR e ATC-PEG no PC1 positivo e PC2 negativo, e ATC-CBP e ATC-UTZ no PC1 negativo e PC2 positivo, sem intersecção das amostras (Figura 18). Entre as amostras as dispersões sólidas ATC-CBP e ATC-UTZ sofreram maior interação física fármaco-excipiente foram as que apresentaram maior grau de amorfização.

Figura 18 - Gráfico de componente principal correlacionando as técnicas de DRX, FT-IR, DSC e TG



Essa correlação estatística confirma que é possível uma inter correlação entre as técnicas, sendo essa discriminante para as dispersões em estudo contribuindo para diferenciação entre as mesmas.

CONCLUSÃO

CONCLUSÃO

As curvas de DSC permitiu caracterizar as transições de fases, através dos parâmetros de temperatura e entalpia. A correlação dos dados DRX e DSC dos cristais obtidos mostram que os processos de recristalização utilizando éter e acetato de etila favoreceram a obtenção de estruturas cristalinas com maior energia, enquanto que outros sistemas de solventes foram obtidos estruturas cristalinas de menores energias (etanol, metanol e clorofórmio) com características de sólidos amorfos.

Na análise com a técnica de FT-IR, não mostrou mudanças na estrutura química após o processo de recristalização. Os parâmetros de estabilidade a partir dos dados de TG mostraram que a atorvastatina cálcica e suas recristalizações são termodinâmica estáveis com picos de fusão semelhantes nas curvas de DSC e faixa de decomposição semelhante no TG. Exceto para recristalização com clorofórmio que ocorreu desaparecimento do processo de fusão e deslocamento da temperatura inicial da etapa principal de decomposição.

Os dados de DRX, FT-IR e de DSC nos permitiu avaliar as características físico-químicas e térmicas das dispersões sólidas. De acordo com estes resultados, os processos de obtenção das DS utilizando os surfactantes carbopol e carbopol-ultrez favoreceram formação um produto intermediário amorfo. Enquanto que os outros surfactantes estudados, formaram produtos com maior cristalinidade.

As curvas TG-DSC forneceram dados sobre a estabilidade térmica da atorvastatina em atmosferas de ar e nitrogênio e os dados de TG-DSC das DS de atorvastatina com diferentes surfactantes mostraram diferenças na estabilidade térmica.

O estudo de caracterização estado sólido de fármaco pelas técnicas termoanalíticas tem mostrado correlação com as propriedades físicas das substâncias, e assim, predizer problemas de biodisponibilidade de produtos farmacêuticos. Esses resultados apontam para a utilidade de técnicas de análise térmica como uma ferramenta de triagem relevante durante o desenvolvimento de formulação.

Na análise estatística pelo modelo componente principal, mostrou correlação dos dados DRX em pó, FTIR e AT aliados à análise multivariada pode constituir uma ferramenta analítica para o desenvolvimento de um modelo analítico aplicados na avaliação dos parâmetros de qualidade no controle de processos e produtos.

PERSPECTIVAS

PERSPECTIVAS

- Caracterizar as dispersões sólidas da atorvastatina por microscopia eletrônica de varredura e por tamanho de partícula a laser.
- Determinar os parâmetros cinéticos e analíticos de dissolução das dispersões sólidas da atorvastatina.
- Realizar estudo de permeabilidade das dispersões sólidas da atorvastatina.
- Avaliar a estabilidade das dispersões sólidas da atorvastatina.

REFERÊNCIAS
BIBLIOGRÁFICAS

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERS, A. P. F.; MELCHIADES, F. G.; MACHADO, R.; BALDO, J. B.; BOSCHI, A. O. Um método simples de caracterização de argilominerais por difração de raios X. **Cerâmica**, vol.48, n.305, p. 34-37, 2002.

ALVES, R.; REIS, T.V.daS.; SILVA, L.C. C.da; STORPÍRTIS, S.; MERCURI, L.P.; MATOS, J. do R. Thermal behavior and decomposition kinetics of rifampicin polymorphs under isothermal and non-isothermal conditions. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 2010, vol. 46, n. 2, abr./jun.

ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. & ALLEN, J. L. V. **Farmacotécnica: Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8^a ed. São Paulo: Premier, 2007.568p.

BARALDI, C.; TINTI, A.; OTTANI, S.; GAMBERINI, MC. Characterization of polymorphic ampicillin forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 100, p. 329–340, 2014.

BETTINETTI, G., SORRENTI, M., CATENACCI, L., FERRARI, F., ROSSI, S. Polymorphism, pseudopolymorphism, and amorphism of peracetylated alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, n. 4, p. 1205–11, 16 jun. 2006.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA. RDC 136, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o registro de medicamento novo. Diário Oficial da União, Brasília, 02 jun. 2003.

BRIGGS, C. A.; JENNINGS, R. A.; WADE, R.; HARASAWA, K.; ICHIKAWA, S.; MINOHARA, K.; NAKAGAWA, S. **Crystalline [R- (R*,R*)]-2-(4-Dfluorophenyl)-[B,Δ-Dihydroxy-5-(1-Methylethyl)-3-Phenyl-4-[(Phenylamino)Carbonyl]-1h- Pyrrole-L-Heptanoic Acid Hemi Calcium Salt (Atorvastatin)**. A Patente US n. 5.969.156, 19 out. de 1999.

BRITTAIN, H. G. **2 CHARACTERIZATION OF PHARMACEUTICAL COMPOUNDS IN THE SOLID STATE**. 2. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2011. v. 10p. 11–58

CALLISTER, WILLIAM D. JR. WILEY, JOHN, SONS, INC. **Materials Science and Engineering an Introduction**. New York, NY, 1991.

CRAIG, D.Q.M. The mechanisms of drug release from solid dispersions in water-soluble polymers. **International Journal of Pharmaceutics**, vol.231, p. 131–144, 2002.

CULLITY, B.D. **Elements of x ray diffraction**. Addison-wesley publishing company: Massachusetts, 1956.

DE SOUZA, J.S.; FERRÃO, M.F. Aplicações da espectroscopia no infravermelho no controle de medicamentos contendo diclofenaco de potássio. Parte I: dosagem por regressão multivariada. **Ver. Bras. Cienc. Farm.** vol.42, n.3, 2006.

DRUGBANK, 2013. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/drugs/DB01076>. Acesso em: 30 de agosto de 2014.

DUBBINI, A.; CENSI, R.; MARTENA, V.; HOTI, E.; RICCIUTELLI, M.; MALAJ, L.; DI MARTINO, P. Influence of pH and method of crystallization on the solid physical form of indomethacin. **International journal of pharmaceutics**, v. 473, n. 1-2, p. 536–44, 1 out. 2014.

EL-BADRIER, M.; FETIH, G.; FATHY, M. Improvement of solubility and dissolution rate of indomethacin by solid dispersions in Gelucire 50/13 and PEG4000. **Saudi Pharmaceutical Journal**, vol.17, p. 217–225, 2009.

EL-ZEIN, H.; RIAD, L.; EL-BARY, A.A. Enhancement of carbamazepine dissolution: in vitro and in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics** 168 (1998) 209–220

FARMACOPEIA BRASILEIRA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

FERRAZ, H.G. Novas ferramentas farmacológicas para modular a biodisponibilidade de medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. (Eds.). **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.32-65, 2009.

FIGESE, E. F.; HAGEN, T. A. Pré-formulação. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANIG, J. L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001, v. 1, p. 295-339.

GÁLICO, D. A.; PERPÉTUO, G. L.; CASTRO, R. A. E.; TREU-FILHO, O.; LEGENDRE, A. O.; GALHIANE, M. S.; BANNACH, G. Thermoanalytical study of nimesulide and their recrystallization products obtained from solutions of several alcohols. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, n. 3, p. 2385–2390, 23 jul. 2013.

GIRON, D. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals – Part 1. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, 1998, v. 1, n. 5, p. 191-199.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, n. 94, p. 1–59, 1995.

GUO, Y.; SHALAEV, E.; SMITH, S. Physical stability of pharmaceutical formulations: solid-state characterization of amorphous dispersions. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 49, p. 137–144, set. 2013.

HATAKEYAMA, T. & QUINN, F. X. **Thermal Analysis: fundamentals and applications to polymer science**. New York: John Wiley & Sons, 1997.

ISHITANI, L.H.; FRANCO, G.D.C.; PERPÉTUO, I.H.O.; FRANÇA, E. Socioeconomic inequalities and premature mortality due to cardiovascular diseases in Brazil. **Rev Saude Publica**, v. 40, n. 4, p. 684–91, 2006.

KIM, M. S.; JIN, S. J.; KIM, J. S.; PARK, H. J.; SONG, H. S.; NEUBERT, R. H.; HWANG, S. J. Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 454–465, jun. 2008.

LAU, Y. Y.; OKOCHI, H.; HUANG, Y.; BENET, L. Z. Pharmacokinetics of atorvastatin and its hydroxy metabolites in rats and the effects of concomitant rifampicin single doses: Relevance of first-pass effect from hepatic uptake transporters, and intestinal and hepatic metabolism. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 34, n. 7, p. 1175–1181, 2006.

LEE, K. Y.; CHAE, H. J.; JEONG, S. Y.; SEO, G. Effect of crystallite size of SAPO-34 catalysts on their induction period and deactivation in methanol-to-olefin reactions. **Applied Catalysis A: General**, v. 369, n. 1-2, p. 60–66, nov. 2009.

LIMA, N. G.; LIMA, I. P.; BARROS, D. M.; OLIVEIRA, T. S.; RAFFIN, F. N.; E MOURA, T. F. D. L.; ARAGÃO, C. F. Compatibility studies of trioxsalen with excipients by DSC, DTA, and FTIR. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 115, n. 3, p. 2311–2318, 21 maio 2013.

MACÊDO, R. O. NASCIMENTO, T. G. do. Quality control of thiabendazole pre-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system. **Thermochimica Acta**, 2002, v. 392–393, p. 85–92.

MAMEDE, L.C.; CAETANO, B.L.; ROCHA, L.A.; FERREIRA, E.M.; CESTARI, A.; KFURI, C.R.; CIUFFI, K.J.1.; CALEFI, P.S.; MELLO, C.; CUNHA, W.R.; NASSAR, E.J. Comportamento térmico de alguns fármacos e medicamentos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, 2006, vol. 27, n. 2, p.151-155.

MATOS, J.R.; MERCURI, L.P.; ARAUJO, G.L.B. Aspectos gerais relativos ao desenvolvimento farmacotécnico de medicamento: análise térmica aplicada a fármacos e medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. (Eds.). **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009. p.32-65.

MAXIMIANO, F. P. et al. Caracterização físico-química do fármaco antichagásico benznidazol. **Química Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714–1719, 2010.

MEDEIROS, A. C. D.; CORREIA, L. P.; SIMÕES, M. O. da S.; MACÊDO, R. O. Technological quality determination of pharmaceutical disintegrant by dsc cooling and dsc photovisual. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2007, v. 88, n. 2, p. 311–315.

MEDHAM, J.; DENNEY, R. C.; BARNES, J. D.; THOMAS, M. **Análise Química Quantitativa**. 6 ed, Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos Editora SA, 2002, p. 265–276.

NAKANISHIA, S.; FUJII, M.; SUGAMURA, Y.; SUZUKI, A.; SHIBATA, Y.; KOIZUMI, N.; WATANABE, Y. Evaluation of the physicochemical characteristics of crosopvidone that influence solid dispersion preparation. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 413, p.119– 125, 2011

OLIVEIRA, M.A.de; YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.deL.; MUSSEL, W.da N.; VIANNA-SOARES, C.D.; PIANETTI, G.A. Análise térmica aplicada à caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, 2010, vol. 33, nº. 8, 1653-1657.

OLIVEIRA, M.A.de; YOSHIDA, M.I.; LIMA GOMES, E.C.de. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**. 2011, vol.34, n.7, pp. 1224-1230.

PADILHA, A. F. **Materiais de Engenharia. Microestrutura e Propriedades**. Curitiba: Hemus Editora. 2000, p. 349.

PATEL, J. R.; CARLTON, R. A.; NEEDHAM, T. E.; CHICHESTER, C. O.; VOGT, F. G. Preparation, structural analysis, and properties of tenoxicam cocrystals. **International journal of pharmaceutics**, v. 436, n. 1-2, p. 685–706, 15 out. 2012b.

PATEL, J. R.; CARLTON, R. A.; YUNIATINE, F.; NEEDHAM, T. E.; WU, L.; VOGT, F. G. Preparation and structural characterization of amorphous spray-dried dispersions of tenoxicam with enhanced dissolution. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 101, n. 2, p. 641–63, fev. 2012a.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à Espectroscopia**, 4ª ed, Cengage Learning: São Paulo, 2010.

PFIZER, 2014. Disponível em: <http://www.pfizer.com.br/sites/g/files/g10016861/f/product_attachments/Lipitor.pdf>. Acesso em: 20 de agosto de 2014.

PROCÓPIO, J. V. V.; SOUZA, V. G. de; COSTA, R. A. da; CORREIA, I. p.; SOUZA, F. s. DE; MACÊDO, R. O. Application of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS in the qualification of sinvastatin pharmaceutical raw material. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2011, v. 106, p. 665–670.

PYRAMIDES, G; ROBINSON, J. W.; ZITO, S. W. The combined use of DSC and TGA for the thermal analysis of atenolol tablets. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, 1995, v. 13, n. 2, p. 103-110.

RAWLINSON, C. F.; WILLIAMS, A. C.; TIMMINS, P.; GRIMSEY, I. Polymer-mediated disruption of drug crystallinity. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 336, n. 1, p. 42–48, 4 maio 2007.

SERAJUDDIN, A.T.M. Solid Dispersion of Poorly Water-Soluble Drugs: Early Promises, Subsequent Problems, and Recent Breakthroughs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, vol. 88, No. 10, outubro, 1999.

SHAHZAD, Y.; SOHAIL, S.; ARSHAD, M. S.; HUSSAIN, T.; SHAH, S. N. H.. Development of solid dispersions of artemisinin for transdermal delivery. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 457, n. 1, p. 197–205, 30 nov. 2013.

SHAYANFAR, A.; JOUYBAN, A. Drug–Drug Coamorphous Systems: Characterization and Physicochemical Properties of Coamorphous Atorvastatin with Carvedilol and Glibenclamide. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 8, n. 4, p. 218–228, 27 out. 2013.

SHEKUNOV, B. Y.; YORK, P. Crystallization processes in pharmaceutical technology and drug delivery design. **Journal of Crystal Growth**, v. 211, p. 122–136, 2000.

SHETE, G.; PURI, V.; KUMAR, L.; BANSAL, A. K. Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 2, p. 598–609, jun. 2010.

SILVA, E. C.; PAOLA, M. V. R. V.; MATOS, J. R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Science**, 2007, v. 43, n. 3, p. 347-356.

SILVA, R. M. F. da; MEDEIROS, F. P. M. de; NASCIMENTO, T. G.; MACÊDO, R. O.; NETO, P. J. R. Thermal characterization of indinavir sulfate using TG, DSC and DSC-photovisual. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, 2009, v. 95, n. 3, p. 965-968.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D.J. Identificação **Espectrométrica de Compostos Orgânicos**, 7^a ed., LTC: Rio de Janeiro, 2006.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. & NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed. Porto Alegre: Bookman, 2002, p. 704-712

SKORDA, D.; KONTOYANNIS, C. G. Identification and quantitative determination of atorvastatin calcium polymorph in tablets using FT-Raman spectroscopy. **Talanta**, v. 74, n. 4, p. 1066–1070, 15 jan. 2008.

SONJE, V. M.; KUMAR, L.; MEENA, C. L.; KOHLI, G.; PURI, V.; JAIN, R.; BRITAIN, H. G. Atorvastatin calcium. **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**, v. 35, n. 10, p. 1–70, jan. 2010.

SUITCHMEZIAN, V.; JES, I.; NÄTHER, C. Investigations on the polymorphism and pseudopolymorphism of triamcinolone diacetate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 323, n. 1-2, p. 101–109, 12 out. 2006.

TRAN, P. H.-L. et al. Controlled release systems containing solid dispersions: strategies and mechanisms. **Pharmaceutical research**, v. 28, n. 10, p. 2353–78, out. 2011.

USP. THE UNITED STATES PHARMACOPOEIA. 34 ed. United States Pharmacopeial Convention: Rockville, 2011.

UVAROV, V.; POPOV, I. Metrological characterization of X-ray diffraction methods at different acquisition geometries for determination of crystallite size in nano-scale materials. **Materials Characterization**, v. 85, p. 111–123, nov. 2013.

VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. Crystalline solids. **Advanced drug delivery reviews**, v. 48, p. 3–26, 2001.

VIPPAGUNTA, S.R.; MAUL, K.A.; TALLAVAJHALA, S.; GRANT, D.J.W. Solid-state characterization of nifedipine solid dispersions. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 236, p. 111–123, 2002.

WANG, J. et al. Liquid chromatography – tandem mass spectrometry assay for the simultaneous quantification of simvastatin , lovastatin , atorvastatin , and their major metabolites in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v. 983-984, p. 18–25, 2015.

WEI, H.; DALTON, C.; DI MASO, M.; KANFER, I.; LOBENBERG, R. Physicochemical characterization of five glyburide powders: A BCS based approach to predict oral absorption **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics** 69 (2008) 1046–1056.

YAN, Y.D.; SUNG, J.H.; KIM, K.K.; KIM, D.W., KIM, J.O.; LEE, B.J.; YONG, C.S.; CHOI, H.G. Novel valsartan-loaded solid dispersion with enhanced bioavailability and no crystalline changes. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 422, p. 202– 210, 2012.

ZARBIELLI, M.G.; MACEDO, S.M.D.; MENDEZ, A.S.L. Controle de qualidade de cápsulas de piroxicam manipuladas em farmácias do município de Erechim – RS. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 87, n. 2, p. 55-59, 2006.

ZHANG, H. X. et al. Micronization of atorvastatin calcium by antisolvent precipitation process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, p. 106–113, 2009.