



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências da Saúde
Departamento de Ciências Farmacêuticas
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas



Waleska Pereira Viana

**ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DE DIFERENTES
CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DO ANLODIPINO**

Recife - PE
2015

Waleska Pereira Viana

**ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DE DIFERENTES
CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DO ANLODIPINO**

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 Antônio Lima Neto

Recife – PE
2015

V614e Viana, Waleska Pereira.
Estudo de caracterização do estado sólido de diferentes cristais e dispersões sólidas do anlodipino / Waleska Pereira Viana. – Recife: O autor, 2015.
85 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 (CCS2015-132)

Waleska Pereira Viana

**ESTUDO DE CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DE DIFERENTES
CRISTAIS E DISPERSÕES SÓLIDAS DO ANLODIPINO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao colegiado
do Programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas da Universidade Federal de
Pernambuco – UFPE como exigência para obtenção
do título de Mestre.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Santos de Souza
Orientador

Prof.^a Dr.^a Beate Saegesser Santos - UFPE
Membro Interno

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

Recife – PE
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. 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 e bondade,
Aos meus pais José Marcos e Maria Lúcia,
A minha irmã e Cunhado, Waléria e George,
Ao meu Noivo Daniel,
Aos meus amigos.

Dedico

AGRADECIMENTOS

À **Deus** em primeiro lugar sempre, pelo amor infinito, bondade e a minha devoção é que me dá forças para continuar caminhando;

Aos meus pais **José Marcos** e **Maria Lúcia** e minha irmã **Waléria**, pelo amor, pela confiança, o apoio e a segurança, sempre me mostrando que todo esforço é válido;

A toda minha **família**, pela dedicação e incentivo e a **Daniel** pelo carinho nos momentos em que estive ao meu lado, pela compressão e por todas as vezes que me incentivou a continuar mesmo quando eu dizia que não conseguiria mais;

Ao **Prof. Dr. Fábio Santos de Souza**, pela orientação, apoio e disponibilidade em orientar esse trabalho;

Aos **colegas** do Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos (LCQPF) em especial a **Taynara, Rayanne, Ana Paula, Fabrício, Islaine, Valmir, Renata, Severino** e ao **Prof. Rui Macedo** pelo apoio e auxílio no decorrer de todo o trabalho;

As minhas colegas de pós-graduação **Taynara** e **Rayanne** pelo companheirismo e amizade, construindo não apenas uma carreira acadêmica, como também um laço de fraternidade;

À **Universidade Federal da Paraíba**, pela estrutura física que possibilitou o desenvolvimento desse trabalho;

Ao **LABETOX** pelo impulso à iniciação científica durante minha vida acadêmica e as amizades então construídas, em especial a **João Carlos Pita**;

Aos meus **amigos** que fazem toda a diferença na minha vida.

À **Universidade Federal de Pernambuco**, pela oportunidade de fazer parte desse programa. A todos que fazem o **Departamento de Ciências Farmacêuticas** da UFPE. A **Coordenação do mestrado** da UFPE.

As pessoas que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho ou estiveram presentes ao meu lado nesta jornada.

“A menos que modifiquemos a nossa maneira de pensar, não seremos capazes de resolver os problemas causados pela forma como nos acostumamos a ver o mundo”.

(Albert Einstein)

RESUMO

Viana, W. P. **Estudo de caracterização do estado sólido de diferentes cristais e dispersões sólidas do anlodipino**. 2015. 85f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2015.

O besilato de anlodipino é um antagonista dos canais de cálcio, utilizado como um anti-hipertensivo e anti-isquêmico, sendo utilizado como uma mistura racêmica dos enantiômeros *S* e *R*, dos quais o *S*-anlodipino é o que apresenta maior atividade como bloqueador de cálcio. Por tanto, o objetivo desse estudo foi caracterizar as formas cristalinas do besilato de anlodipino e correlacionar os parâmetros térmicos e analíticos das dispersões sólidas do besilato de anlodipino obtidas por liofilização. Os ângulos vistos no DRX demonstraram a presença de uma estrutura cristalina anidra, para o AMB. Os deslocamentos nos comprimentos de onda no espectro de infravermelho (FTIR) do cristal do AMBACt corroboraram com os resultados do DRX que apresentou mudança no tamanho dos cristalitos, além disso a curva de DSC apresentou dois picos endotérmicos diferentemente do fármaco, com apenas um processo endotérmico e grau de pureza de 96%. A energia cinética de ativação ($E_a = 121,6 \text{ KJ mol}^{-1} \pm 1,2$), o fator de frequência ($A = 27,87 \pm 4,1 \text{ min}^{-1}$), e a ordem de reação ($n = 0$) da etapa principal da decomposição térmica do AMB foram realizadas de acordo com o Modelo de Ozawa. No estudo das dispersões sólidas, os dados do DRX para o AMBHPMC apresentou amorfização e essa alteração no arranjo cristalino também foi evidenciada nos resultados encontrados no FTIR, com deslocamentos nas bandas de intensidade, supressão e aparecimento de novas bandas. Além disso, o método termoanalítico mostrou supressão e deslocamento dos picos de fusões das dispersões sólidas, e perda de massa diferente do fármaco. Portanto, juntas, as técnicas colaboraram para a caracterização das formas cristalinas, e nos estudos de compatibilidade fármaco-excipientes através avaliação das interações físico-químicas nas dispersões sólidas.

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

ABSTRACT

Viana, W. P. **Characterization study of solid state different crystals and solid dispersions of amlodipine.** 2015. 85F. Dissertation (Master). Federal University of Pernambuco, Recife, 2015.

The amlodipine besylate is a calcium channel antagonist used as antihypertensive and anti-ischemic, and used as a racemic mixture of R and S enantiomers, of which the S- amlodipine is what is more active as blockers calcium. Therefore, the aim of this study was to characterize the crystalline forms of amlodipine besylate and correlate the thermal and analytical parameters of solid dispersions of amlodipine besylate obtained by lyophilization. The angles viewed XRD showed the presence of an anhydrous crystalline structure for the AMB. The shifts in wavelengths in the infrared spectrum (FTIR) of the AMBACt crystal corroborate with the results of the XRD which showed change in the size of the crystallites, furthermore the DSC curve showed two endothermic peaks unlike the drug with only one process endothermic and purity of 96%. The activation kinetic energy ($E_a = 121.6 \text{ kJ mol}^{-1} \pm 1.2$), the frequency factor ($A = 27.87 \pm 4.1 \text{ min}^{-1}$) and the reaction order ($n = 0$) of the main stage of AMB thermal decomposition were performed according to the Ozawa model. In the study of the solid dispersions, the XRD data for AMBHPMC which showed amorphization and this change in the crystalline arrangement was also evidenced in the results found in the FTIR, with shifts in intensity bands, suppression and appearance of new bands. Also, the thermal method proved suppression and displacement of the melting peaks of the solid dispersions and loss of mass different than drug. Porting together the characterization techniques contributed to the evaluation of crystalline forms, and of the physicochemical interactions in solid dispersions.

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

LISTA DE FIGURAS

Capítulo I

Figura 1. Fórmula estrutural do besilato de anlodipino.....	22
Figura 2. Impurezas identificadas em cromatografia líquida do Besilato de anlodipino (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009).....	23
Figura 3. Difração de Raio X por um cristal.....	31
Figura 4. Estado Sólido na Ciência Farmacêutica: potenciais causas e efeitos de mudanças estruturais.....	32

Capítulo II

Capítulo III

Figura 5. Difração do besilato de anlodipino (AMB).....	42
Figura 6. Difratoograma dos cristais (A) AMBMeOH, (B) AMBACt e (C) AMBAcEt.....	43
Figura 7. Espectros de absorção no infravermelho do AMB e suas recristalizações, com comprimento de onda entre 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} . Linha pontilhada indica deslocamento do comprimento de onda, no pico indicativo de variação de cristalinidade.....	45
Figura 8. Curvas do DSC do AMB nas diferentes razões de aquecimento: (1) razão de $2^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ (2) razão de $5^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ (3) razão de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio.....	47
Figura 9. Curva de DSC do AMB (1) e as recristalizações de (2) AMBAcEt (3) AMBMeOH (4) AMBACt, na razão de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio.....	48
Figura 10. DSC fotovisual do AMB na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, atmosfera de nitrogênio, (A) temperatura inicial, (E) início da fusão, (F) processo de fusão, (H) final de fusão, (I) início da decomposição, (J) decomposição completa.....	49
Figura 11. DSC fotovisual dos cristais de AMBACt na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, (A) temperatura inicial, (B) diminuição de massa, (C) início de fusão, (D) ponto de fusão, (E) início da segunda fusão, (F) início da segunda fusão, (G) ponto de fusão e (J) degradação completa.....	50
Figura 12. Curvas termogravimétricas de AMB nas razões de aquecimento de (1) $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, (2) $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e (3) $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$	51

Figura 13. Gráfico de Ozawa.....	52
Figura 14. Curvas termogravimétricas de AMB e seus cristais na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$	53
Figura 15. Difratoograma do AMB e das dispersões sólidas.....	54
Figura 16. Difratoograma do AMB e as dispersões AMBCBP, AMBHPMC, AMBPEG e AMBUTZ, sobreposição dos picos no ângulo de 10° à $12^{\circ}20'$	55
Figura 17. Gráfico de componente principal na técnica de DRX.....	56
Figura 18. Estrutura química do besilato de anlodipino.....	58
Figura 19. Espectro do AMBHPMC, HPMC e AMB.....	60
Figura 20. Espectro do AMBPEG, PEG e AMB.....	61
Figura 21. Espectro de AMBCBP, AMB e CBP.....	62
Figura 22. Espectro do AMBUTZ, AMB e UTZ.....	63
Figura 23. Gráfico de componente principal comparando DRX e FTIR.....	64
Figura 24. Curvas calorimétricas do AMB e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$	66
Figura 25. Curvas termogravimétricas do AMB e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C.min}^{-1}$ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e 20 mL min^{-1}).....	69
Figura 26. Gráfico de componente principal comparando DRX, FTIR e AT.....	70

LISTA DE TABELAS

Capítulo I

Capítulo II

Capítulo III

Tabela 1. Posição angular, tamanho do cristal, largura total do pico a meia altura (FWHM), distância interplanar e intensidade relativa do besilato de anlodipino SQR, quando as intensidades são maiores que 17%.....	41
Tabela 2. Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do AMB e seus cristais <i>AMBACt</i> , <i>AMBMeOH</i> e <i>AMBAcEt</i>	44
Tabela 3. Dados do espectro de infravermelho para AMB e os cristais <i>AMBACt</i> , <i>AMBMeOH</i> e <i>AMBAcEt</i>	46
Tabela 4. Valores da temperatura de fusão e energia de entalpia do AMB e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10°C em atmosfera de nitrogênio e ar sintético.....	48
Tabela 5. Grau de pureza dos picos de fusão na razão aquecimento de 10°C/min do AMB e suas recristalizações.....	49
Tabela 6. Temperatura inicial (T_i) e temperatura final (T_f), e perda de massa (%) dos diferentes cristais de AMB na razão de aquecimento de 10°C min ⁻¹	52
Tabela 7. Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do AMB e as dispersões sólidas <i>AMBCBP</i> , <i>AMBPEG</i> e <i>AMBUTZ</i>	57
Tabela 8. Comprimento de onda das respectivas bandas do besilato de anlodipino (AMB) e suas dispersões sólidas <i>AMBHPMC</i> , <i>AMBCBP</i> , <i>AMBPEG</i> e <i>AMBUTZ</i>	59
Tabela 9. Dados das curvas de DSC do besilato de anlodipino e suas dispersões sólidas.....	65
Tabela 10. Temperatura inicial do estagio principal do fármaco e das dipersões sólidas na razão de 10 °C mim ⁻¹	68

ABREVIATURAS E SIGLAS

°C = Graus Celsius

A = Fator de frequência

AMB = besilato de anlodipino

AMBAcEt = Cristais Besilato de anlodipino obtido com acetato de etila

AMBACt = Cristais de Besilato de anlodipino obtido com acetona

AMBCBP = dispersão sólida do besilato de anlodipino com Carbopol®

AMBHPMC = dispersão sólida do besilato de anlodipino com hidroxipropilmetilcelulose

AMBMeOH = Cristais Besilato de anlodipino obtido com metanol

AMBPEG = dispersão sólida do besilato de anlodipino com PEG 6000,

AMBUTZ = dispersão sólida do besilato de anlodipino Carbopol Ultrez®,

DA = discriminante de Hotelling

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

DRX = Difração de Raios-X

DS = Dispersão sólida

DSC = Calorimetria de Varredura Diferencial

E_a = Energia de ativação

F = fração da amostra que fundiu em T_s

FTIR = Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

IFA = Ingrediente farmacêutico ativo

K = Constante que depende da forma das partículas

min = minuto

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

PCA = Análise de Componente Principal

R = constante dos gases (8,314 J mol⁻¹K⁻¹)

SQR = Substância química de referência

T = Temperatura

T₀ = 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

θ = Ângulo de difração.

λ = Comprimento de onda da radiação eletromagnética

λ = Comprimento de onda do raio x incidente.

τ = Tamanho do cristalito

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	18
2. OBJETIVOS	20
2.1. Objetivo geral	20
2.2. Objetivos específicos	20
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	22
3.1. Besilato de anlodipino	22
3.1.1. Propriedades Farmacológicas	22
3.1.2. Propriedades Físico-químicas	23
3.1.3. Métodos Analíticos	24
3.2. Polimorfismo	25
3.3. Dispersão sólida.....	26
3.4. Análise Térmica.....	27
3.4.1. Termogravimetria (TG).....	28
3.4.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	29
3.4.2.1. Determinação de pureza	30
3.5. Espectrometria de infravermelho (FTIR)	30
3.6. Difração de Raios X	31
3.6.1. Cristalização mediada por solvente.....	33
CAPÍTULO II.....	35
<i>Material e Métodos</i>	35
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	36
4.1. Local da pesquisa.....	36
4.2. Reagentes e materiais	36
4.3. Preparação de cristais	36
4.4. Preparação das dispersões sólidas	37
4.5. Análise de espectroscopia no infravermelho	38
4.6. Difração de Raios X	38
4.7. Os métodos térmicos de análise.....	38
4.8. Análise de Componente Principal (PCA).....	40

CAPÍTULO III	41
<i>Resultados e discussão</i>	41
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	42
5.1. Caracterização do Besilato de Anlodipino e seus Cristais	42
5.1.1. Difração de Raios X	42
5.1.2. Análise de espectroscopia no infravermelho.....	46
5.1.3. Análise no DSC e DSC-fotovisual	47
5.1.4. Análise no TG	51
5.1.4.1. Investigação da cinética pelo modelo de Ozawa.....	52
5.1.4.2. Investigação Termogravimetrica para os cristais	53
5.2. Caracterização das Dispersões sólidas de besilato de anlodipino	54
5.2.1. Difração de Raios X	54
5.2.2. Análise de espectroscopia no infravermelho.....	59
5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	65
5.2.4. Termogravimetria (TG).....	68
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS	73
REFERÊNCIAS	75

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

Atualmente, o aumento do número de antagonistas de cálcio, sejam por novas formulações ou novas estruturas químicas, tem contribuído para prevenção, tratamento e controle das doenças cardiovasculares. Dentre estes, o besilato de anlodipino se apresenta como um dos anti-hipertensivos mais prescritos (GUS et al., 2005; RIBEIRO et al., 2001; HUMPHREYS et al., 2003).

A geração de diferentes formas sólidas de um ingrediente farmacêutico ativo (IFA), e subsequentemente, a seleção de uma forma adequada para o uso pretendido tornou-se uma parte essencial no desenvolvimento farmacêutico (HILFIKER et al., 2006). Diferentes propriedades físico-químicas como solubilidade, forma cristalina e estabilidade influenciam na qualidade do medicamento podendo causar, consequentemente risco aos pacientes (VIEGAS, 2001; GARDNER et al., 2004).

A caracterização da estrutura cristalina, dos polimorfos e de formas solvatadas é uma importante atividade de pré-formulação. Alterações nas características do cristal podem influenciar a biodisponibilidade e a estabilidade química e física do fármaco, além de ter implicações importantes na preparação da forma farmacêutica.

Além disso, várias possibilidades de sobrepor os problemas de biodisponibilidade com compostos fracamente solúveis em água têm sido relatadas na literatura. Sendo assim, o método de dispersão sólida é uma abordagem alternativa, com o objetivo de controlar a liberação do fármaco, e vem sendo amplamente utilizado em várias formulações para aumentar a velocidade de dissolução e biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água (GIRI, 2012).

Diante disto, inúmeras técnicas são usadas para determinar as propriedades do cristal, sendo microscopia *hot stage*, análise térmica, espectroscopia no infravermelho e difração de raios X as mais amplamente usadas (ALLEN JUNIOR et al, 2007). A caracterização dos medicamentos constitui um passo importante durante o desenvolvimento das formas de dosagem e constitui um dos elementos de estudo de pré-formulação, sendo de extrema importância que as propriedades físicas e químicas das moléculas e excipientes que vão pertencer aos medicamentos sejam determinadas (BÖER, 2013).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Caracterizar as formas cristalinas do besilato de anlodipino através da correlação dos dados térmicos, cristalográficos de DRX em pó e espectroscópicos de FTIR das dispersões sólidas do besilato de anlodipino obtidas por liofilização.

2.2. Objetivos específicos

- Obter cristais de besilato de anlodipino a partir de recristalização, utilizando solventes com diferente grau de polaridade;
- Caracterizar as mudanças na estrutura cristalina através do DRX em pó e interações por espectroscopia de infravermelho (FTIR) do fármaco cristalizado;
- Determinar parâmetros cinéticos de estabilidade térmica através dos dados termogravimétricos dinâmicos do besilato de anlodipino e suas diferentes formas cristalinas;
- Obter dispersões sólidas através de processos de liofilização, utilizando diferentes adjuvantes tecnológicos;
- Caracterizar as dispersões sólidas do fármaco besilato de anlodipino por difração de raios-X;
- Avaliar as interações físico-químicas das dispersões sólidas por espectroscopia de infravermelho (FTIR);
- Avaliar as interações fármaco-excipientes das dispersões sólidas por métodos termoanalíticos (DSC e TG).

CAPÍTULO I

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

3.1. Besilato de anlodipino

3.1.1. *Propriedades Farmacológicas*

Anlodipino é uma di-hidropiridina antagonista do cálcio e seu sal besilato (Norvasc[®] fabricado pela Pfizer) é um dos anti-hipertensivos mais prescritos no mundo (HUMPHREYS & BOERSIG, 2003). Tem sido relatado que sua velocidade de dissolução é baixa, devido à solubilidade limitada em água (MCDAID & DEASY, 1996). O anlodipino é também conhecido como fotossensível já que a luz catalisa a oxidação dos derivados de piridina que tornam-se terapeuticamente ineficazes (RAGNO et al, 2002; CHONG-KOOK KIM, 2006).

O besilato de anlodipino é um inibidor seletivo do influxo de cálcio através das membranas celulares no músculo liso vascular e cardíaco (AJRIN et al., 2013) (SILVA et al., 2014). Os bloqueadores de cálcio são assim chamados porque agem primariamente, embora não exclusivamente, inibindo o fluxo de cálcio extracelular para o interior das células através dos canais lentos das membranas celulares (KOROLKOVAS, 2011).

O mecanismo de ação do besilato de anlodipino é explicado pela ligação iônica do grupo amino protonizado com o oxigênio aniônico presente na membrana fosfolipídica, o que explica o início de ação lento e efeito prolongado da vasodilatação (KOROLKOVAS, 2011; CAMPBELL, 1989).

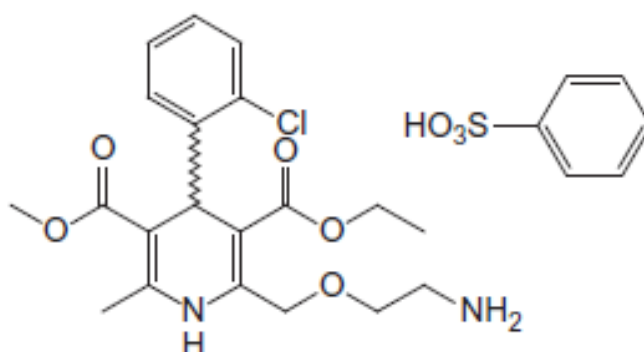
Anlodipino vem apresentando de forma significativa uma redução na pressão sanguínea sistólica e diastólica, um aumento nos níveis de colesterol HDL e redução do estado de resistência à insulina (DUDA-SEIMAN, et al., 2011). Apesar do anlodipino ser eficaz como base livre, usualmente ele é utilizado na forma de um racemato (SZABÓ et al., 2009). Como uma mistura racêmica o anlodipino é composto pelos enantiômeros S e R, porém seus efeitos como bloqueador de cálcio se limita a sua forma de besilato de S-anlodipino, que apresenta uma maior atividade que a sua forma R (JOSHI, et al., 2009).

Esse fármaco está disponível na forma de comprimido com concentração de 5 e 10 mg sendo rápido e completamente absorvido via oral, atinge concentração plasmática máxima em 5,6 a 6,4 horas e apresenta biodisponibilidade sistêmica média de 64%, variando entre 52 e 88% (KOROLKOVAS, 2011; PFIZER, 2014).

3.1.2. Propriedades Físico-químicas

O besilato de anlodipino apresenta valor de pKa igual a 8,7, significando que o fármaco apresenta-se na forma ionizada a um pH fisiológico, possuindo uma forte afinidade pelas membranas celulares (VAN ZWIETEN, 1994). O sal besilato se caracteriza por ser um pó cristalino branco ou quase branco, com ponto de fusão de 195°C a 204°C, estável em condições normais de temperatura e umidade. Além disso, apresenta-se pouco solúvel na água, ligeiramente solúvel em etanol, facilmente solúvel em metanol e pouco solúvel em 2-propanol (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009; KORADIA, 2010).

Figura. 1. Fórmula estrutural do besilato de anlodipino



Esse fármaco possui como nome químico o benzenossulfonato de (4*RS*)-2-[(2-aminoetoxi)metil]-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-di-hidropiridina-3,5-dicarboxilato de 3-etilo e de 5-metilo, e peso molecular de 567,1g/mol (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009). Sua estrutura apresenta duas cadeias laterais longas no anel di-hidropiridínico, uma delas é a 2-aminoetoximetila, que apresenta um efeito estérico que protege a ação do citocromo P₄₅₀, que promove a oxidação do anel di-hidropiridínico (KOROLKOVAS, 2011). Possui, ainda, um carbono assimétrico que confere ao fármaco a existência dos isômeros S (-) e R (+), que possuem propriedades farmacológicas distintas (KIM et al., 2010).

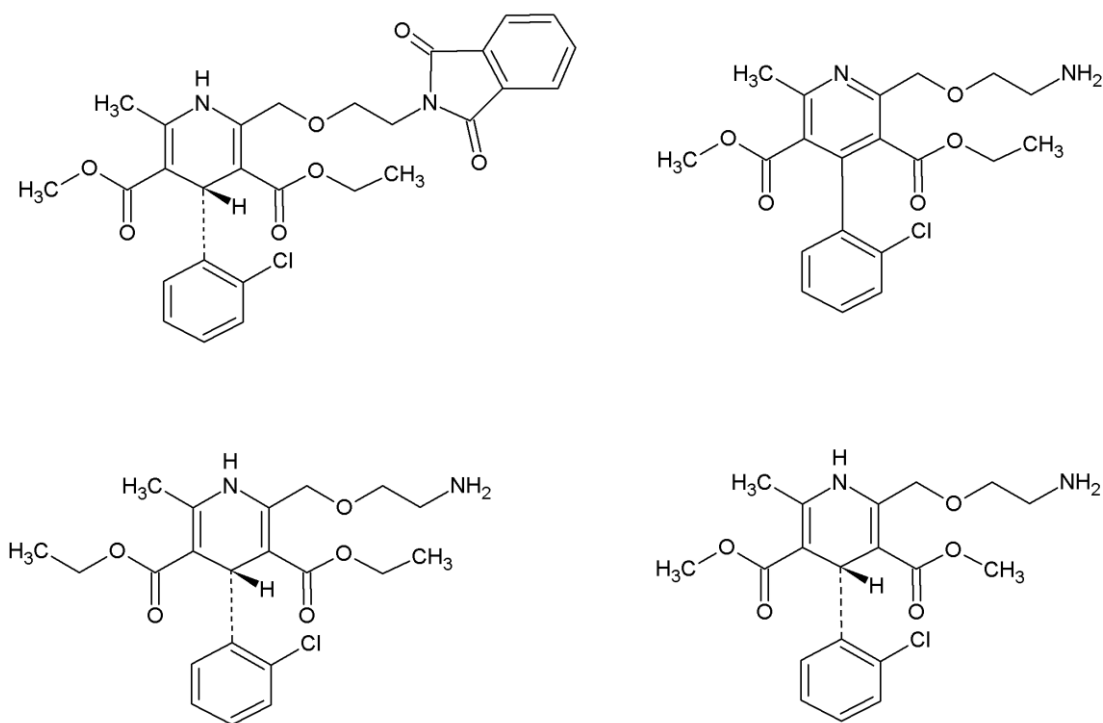
O besilato do anlodipino pertencente à classe das 1,4 – di-hidropiridinas, que apresenta como característica sofrer oxidação quando exposta à luz, absorvendo intensamente no UV-A.

3.1.3. Métodos Analíticos

A identificação do besilato de anlodipino pode ser realizada por espectrofotômetros de infravermelhos na região de $4000\text{-}650\text{ cm}^{-1}$ ou, em alguns casos, para 200 cm^{-1} (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009).

As Impurezas podem ser identificadas através de picos de identificação do anlodipino em cromatogramas obtidos com solução de referência (Figura 2) (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009).

Figura 2. Impurezas identificadas em cromatografia líquida do Besilato de anlodipino (BRITISH PHARMACOPEIA, 2009).



Relatos na literatura acerca da determinação e quantificação do anlodipino isolado ou em associação com outros fármacos mostrou que esse fármaco pode ser facilmente detectado e quantificado tanto em fluidos biológicos (soro e plasma sanguíneos) quanto nas formas farmacêuticas em que ele se apresenta (NAIDU et al., 2005; QUTAB et al., 2009; KAWAI et al., 2011; ANAND BABU et al., 2011).

3.2. Polimorfismo

A habilidade que o fármaco tem de existir em duas ou mais formas cristalinas com diferentes conformações moleculares, estudada como a química do estado sólido dos fármacos, é conhecida como polimorfismo (BYRN et al., 1999; RAW et al., 2004; STORPIRTIS et al., 2009).

O polimorfismo do estado cristalino de compostos farmacêuticos é comum e tem sido objeto de estudo por mais de 40 anos (BERNSTEIN, 2002). Dentre as formas polimórficas, podemos citar: solvatos, que contêm ou não quantidades estequiométricas de um solvente incorporado na estrutura cristalina; hidratos, quando o solvente utilizado é água; forma amorfa que consiste em arranjos desordenados sem estrutura cristalina definida (RAW et al., 2004). Os polimorfos podem ser interconvertidos por transformações de fase ou de processo mediado por solventes, calor ou tensão mecânica (RUSTICHELLI et al., 2000).

As formas farmacêuticas são afetadas de diferentes maneiras pelo polimorfismo, e esta interferência é devido às variações de conformações e/ou interações intra e intermolecular que modificam o empacotamento das moléculas (BYRN et al., 1999). Esses diferentes arranjos no empacotamento cristalino faz com que essas formas apresentem diferentes propriedades físicas e químicas, como pontos de fusão, diferente reatividade química, taxa de dissolução e biodisponibilidade (RUSTICHELLI et al., 2000).

A existência de polimorfos interfere diretamente no comportamento de dissolução dos fármacos, devido a mudanças na solubilidade dos distintos polimorfos. A utilização de uma forma metaestável, em geral, resulta em velocidade de dissolução e solubilidade maior que uma forma cristalina estável do mesmo fármaco.

Por isso, o polimorfismo deve ser determinado no início do desenvolvimento do fármaco e mesmo no desenvolvimento da formulação, não apenas sendo necessário a determinação da presença do polimorfo, como também o monitoramento dessas formas e como podem afetar o desempenho do medicamento (ICH, 2005). Uma forma indesejada do medicamento pode levar a biodisponibilidade diferente no organismo alvo, podendo tornar a droga inútil ou aumentar a sua potência a um limite perigoso (SARMA et al., 2011).

Visando isso é que a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA regulamenta a produção de fármacos através de suas formas polimorfas através da resolução RDC N° 136 de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003), solicitando que os fabricantes informem as formas polimorfas dos princípios ativos utilizados nos fármacos.

O besilato de anlodipino pode ser encontrado em quatro formas distintas: anidra, monohidratada, di-hidratada e amorfa (ROLLINGER; BURGER, 2002) (KORADIA et al., 2010). Em geral, a forma di-hidratada contém 1,8 a 2,2 moles de água por cada mole de anlodipino, em termos de peso a forma mono-hidratada contém cerca de 2,5 – 3,7% em peso, de água, e as duas formas apresentam estruturas cristalina distintas (ETTEMA, 2004 - US6828339).

Uma vez que o besilato de anlodipino é uma substância pouco solúvel em água, a sua forma anidra é a principal escolha na fabricação de formas sólidas, já que apresenta uma taxa de solubilidade e dissolução aquosa mais elevada que os hidratos, sendo, portanto, mais aconselhável do ponto de vista biofarmacêutico (ROLLINGER; BURGER, 2002).

3.3. Dispersão sólida

As dispersões sólidas são utilizadas na melhoria das propriedades de dissolução de fármacos pouco solúveis. A redução do tamanho de partículas, aumento da molhabilidade através de mistura com transportadores altamente solúveis, e manutenção da forma amorfa são alguns pontos que podem melhorar a dissolução do fármaco (AL-OBAIDI et al., 2011).

Dispersão sólida é definida como sendo uma dispersão de um ou mais ingredientes farmacêuticos ativos (IFA) em um excipiente ou matriz inerte (veículo) (SAREEN et al., 2012; KAPOOR et al., 2012). Essas matrizes geralmente são polímeros transportadores, adicionados com a finalidade de reduzir a mobilidade molecular do fármaco evitando fase de separação e recristalização durante o armazenamento, além de aumentar a solubilidade, uma vez que o fármaco permanece sob a forma amorfa, estado de energia mais elevado que seu homólogo cristalino, sendo necessária uma energia externa menor para dissolvê-lo (DUARTE et al., 2011). Outras vantagens e aplicações farmacêuticas podem ser destacadas para as dispersões, incluindo a distribuição homogênea e uniforme de pequenas quantidades de fármaco no estado sólido, maior estabilidade, produção de formas de liberação prolongada e melhoramento na taxa de dissolução (VASCONCELOS et al., 2007).

Os métodos relatados para preparação de dispersão sólida incluem a fusão, evaporação do solvente e secagem por pulverização (CHIOU et al., 1971; HIRASAWA et al., 2003; WU et al., 2009). Porém, esses métodos trazem algumas desvantagens em suas aplicações como instabilidade e decomposição do fármaco durante a fusão, a necessidade de uma seleção

adequada do solvente no método de evaporação de solvente e por fim a manutenção do estado amorfo (LEUNER et al., 2000).

A investigação sobre o arranjo molecular das dispersões sólidas pode ser realizado através da quantidade de material cristalino em que se encontra presente na amostra (KAUSHAL et al., 2004), uma vez que a uniformidade da distribuição do fármaco na matriz pode afetar as propriedades de uma dispersão.

O transportador utilizado para a preparação das dispersões sólidas não pode ser tóxico, deve ser quimicamente compatível com o fármaco e farmacologicamente inerte, sendo química, física e termicamente estável, com alta solubilidade em diferentes solventes orgânicos (BROUGH et al., 2013). A preocupação com a escolha adequada do polímero utilizado deve-se ao fato de muitos desses polímeros serem higroscópicos, resultando na separação de fases, assim como o crescimento de cristais ou conversão de uma forma cristalina metaestável para uma mais estável, podendo interferir no desempenho *in vivo* durante o prazo de validade do produto formulado (WANG et al., 2005; BROUGH et al., 2013).

Exemplos de polímeros bastante utilizados na preparação de dispersões sólidas são os sintéticos que incluem povinilpirrolidonas (PVP), polietilenoglicóis (PEGs) e polimetacrilatos. Os polímeros baseados em produtos naturais são principalmente o hidroxipropilmetilcelulose (HPMC), etilcelulose, hidroxipropilcelulose-oftalato, quitosanas, metilcelulose ou os derivados de amido, como as ciclodextrinas (RAGHAVAN et al., 2001; XIE et al., 2008; YUNZHE et al., 2008; LINDFORS et al., 2008).

3.4. Análise Térmica

A análise térmica é um conjunto de técnicas onde as propriedades físicas ou químicas de uma substância e/ou seus produtos de reação são medidos em função da temperatura ou tempo, sobre um programa controlado de temperatura e sob uma atmosfera específica (ARAÚJO, 2003; WENDHAUSEN, 2005).

Cada vez mais, a análise térmica tem sido utilizada na área farmacêutica como ferramenta útil para avaliar rapidamente uma possível interação entre os componentes ativos e os excipientes em estudos de compatibilidade em pré-formulação, podendo ainda, avaliar a existência de polimorfismo, compostos de inclusão e dispersões sólidas, determinação de pureza química, estudos de reações no estado sólido, análise de formas farmacêuticas sólidas

e controle de qualidade (CORDELLA et al., 2002; LAMBI et al., 2003; TOMASSETTI et al., 2005).

Estas técnicas permitem obter informações como variação de massa, estabilidade térmica, água livre, água ligada, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética da reação, estudos de catalisadores, transições vítreas, etc (IONASHIRO, 2005).

A análise térmica é uma família de técnicas que estuda o comportamento de materiais em função da temperatura, sendo a calorimetria de varredura diferencial (DSC) e a termogravimetria (TG), assim como a análise térmica diferencial (DTA) os membros mais populares dessa família (CAUSIN, 2009).

3.4.1. Termogravimetria (TG)

Essa técnica termoanalítica determina a variação da massa da amostra (perda ou ganho) que é determinada em função da temperatura e/ou tempo, enquanto a amostra é submetida a uma programação controlada de temperatura (HATAKEYAMA et al., 1999; THOMAS, 2002). Esse método permite a determinação da temperatura em que os materiais começam a sofrer decomposição, além de fornecer informações a cerca de reações de desidratação, oxidação, combustão e processos físicos como vaporização, sublimação e desorção (STORPIRTIS et al., 2009).

Alguns fatores podem interferir nas informações obtidas a partir de uma curva TG, uma vez que as temperaturas dos eventos térmicos são dependentes de parâmetros relacionados a características da amostra e/ou fatores instrumentais, que são, geralmente, controlados pelos fabricantes dos sistemas termoanalíticos (IONASHIRO, 2005).

O método termogravimétrico é classificado de três modos (WENDLANDT, 1986; YOSHIDA, 1993; MACHADO e MATOS, 2004): TG *isotérmica*, quando a massa da amostra é registrada em função do tempo a uma temperatura constante; TG *quase isotérmica*, quando a amostra é aquecida a uma razão linear enquanto não ocorre variação de massa, quando a balança detecta variação de massa a temperatura é mantida constante ate se obter um novo patamar, característico de massa constante, e assim sucessivamente; TG *dinâmico ou convencional*, onde a temperatura da amostra varia de maneira predeterminada, preferencialmente, a uma razão de aquecimento ou resfriamento linear.

O TG é considerado um método eficaz de se estudar a estabilidade térmica e determinação dos parâmetros cinéticos da decomposição de drogas e medicamentos, podendo ser utilizado no controle de qualidade de medicamentos, em busca da melhoria do produto final (VIANA et al., 2008).

3.4.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A DSC é uma técnica na qual as diferenças do fluxo de calor na substância e referência são medidas como uma função da temperatura da amostra enquanto as duas são submetidas a um programa de temperatura controlado (SKOOG, 2002). De acordo com o método de medição utilizado, há duas modalidades: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor (BERNAL et al., 2002).

Esse método termoanalítico permite o acompanhamento dos efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, essas alterações estão associadas a transições de fase, incluindo inversões de estruturas cristalinas, ou reações de desidratação, decomposição, dissociação, oxido-redução, entre outras. Os efeitos endotérmicos são característicos de transições de fases, desidratação, reduções e certas reações de decomposição, enquanto que os efeitos exotérmicos são as cristalizações, oxidações e algumas reações de decomposição (IONASHIRO, 2005).

Além desses estudos, essa técnica permite estudar transições que envolvem variações de entropia (transições de segunda ordem), tais como transições vítreas que alguns polímeros podem sofrer (IONASHIRO, 2005).

O DSC é utilizado na indústria farmacêutica para investigar a pureza dos produtos, identificar isômeros ópticos, ocorrência de polimorfismo e formação de eutéticos, além de avaliar de forma rápida possíveis interações entre componentes da formulação através da observação da aparência, mudança, ou desaparecimento dos picos endotérmicos ou exotérmicos e através das variações nos valores de entalpia das misturas fármaco-excipiente (THOMAS, 2002; FELIX et al., 2009).

3.4.2.1. Determinação de pureza

A determinação de pureza por análise quantitativa do pico de fusão obtido no DCS é uma prática comum na ciência e na indústria (SARGE et al., 1988). Esse método é aceito desde 1960, e apresenta como vantagens, rapidez, exatidão, precisão e facilidade de execução, além de possibilitar uma determinação de pureza absoluta, sem necessidade da utilização de padrões certificados (STORPIRTIS et al., 2009).

A determinação de pureza é baseado no fato que pequenas quantidades de impureza em um determinado material pode acarretar em uma diminuição no ponto de fusão e alargamento da faixa de fusão (STORPIRTIS et al., 2009).

O DSC, uma técnica empregada para executar medidas quantitativas tanto da temperatura quanto do conteúdo de calor envolvido nos processos térmicos, é utilizado para avaliar o grau de pureza de um composto, com base na determinação do ponto de fusão, usando a equação de Van't Hoff (TOPOR et al., 1988):

$$T_s = T_0 - \frac{R t_0^2 X_1}{\Delta H_f F} \left(\frac{1}{-} \right)$$

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

3.5. Espectrometria de infravermelho (FTIR)

A radiação infravermelha (IR) apresenta comprimento de onda entre 700 nm e 50.000 nm, corresponde aproximadamente à parte do espectro eletromagnético situada entre as

regiões do visível e das microondas. As porções de maior utilidade na química orgânica ficam situadas entre 4000 cm^{-1} e 400 cm^{-1} . Esta técnica não só fornece identificações únicas para cada molécula, como também identifica os grupamentos funcionais, uma vez que cada tipo de ligação tem sua própria frequência natural de vibração, e como tipos idênticos de ligações de compostos diferentes estão em dois ambientes levemente diferentes, os padrões de absorção no infravermelho, ou espectro infravermelho, de moléculas de estrutura diferentes nunca serão exatamente idênticos (SILVERTEIN et al., 2006; PAVIA, 2010).

Logo, a espectroscopia de absorção vibracional na faixa do infravermelho permite identificar ligações químicas entre átomos pelas deformações rotacionais e vibracionais, as quais absorvem energia em determinada frequência de ressonância, de acordo com as características químicas dos átomos envolvidos (SILVERTEIN et al., 2006).

Esse método analítico é bastante empregado na indústria farmacêutica para controle de qualidade de produtos farmacêuticos. O FTIR (Espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier) é uma técnica precisa, de baixo custo, simplicidade no preparo da amostra e rápida análise qualitativa, já que produz um interferograma em menos de um segundo (AHMED et al., 2013).

Alguns estudos utilizam o FTIR para avaliar as modificações moleculares ocorridas devido a interações entre fármaco e polímeros na obtenção de dispersões sólidas, além da avaliação das modificações polimórficas (SZABÓ et al., 2009; AL-OBAIDI et al., 2011; PUGLISI et al., 2013).

3.6. Difração de Raios X

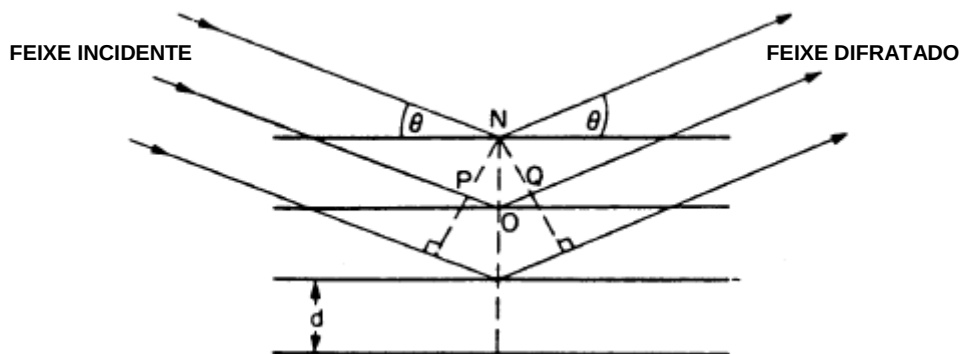
A difração de Raio-X foi usado por muitos anos para determinar a cristalinidade de materiais (CLAS et al., 1995). Em sistemas farmacêuticos, a cristalografia de raios-X é agora usado rotineiramente para determinar conjuntos de proteínas de drogas-alvo e otimizar o planejamento de fármacos (LUNDSTROM, 2006).

A difração de raios X consiste em uma técnica não destrutiva e bem estabelecida com uma boa reprodutibilidade. Ela usa uma quantidade relativamente pequena de amostra e recolhe a maior parte das intensidades espalhadas a partir da amostra examinada (LU et al., 2001).

Uma vez que os raios x são uma forma de radiação eletromagnética que possui uma alta energia e pequeno comprimento de onda, equivalente ao espaçamento atômico de materiais sólidos (CALLISTER, 2008), o feixe ao incidir sobre um átomo isolado, ou íon, os elétrons deste átomo serão excitados e vibrarão com a mesma frequência do feixe incidente, emitindo assim, raios x em todas as direções – espalhamento de raios x. O fóton do raio-X muda a trajetória, mas conserva a energia e a fase do fóton do elétron incidente (PADILHA, 1997).

A figura 3 ilustra o fenômeno de difração em um sólido com estrutura cristalina, em que um feixe monocromático de raios x, com comprimento de onda λ , incide com um ângulo θ em um conjunto de planos cristalinos com espaçamento interplanar d_{hkl} , conhecido com índice de Miller, este usado para a identificação dos diversos planos cristalinos (CALLISTER, 2008; FLORENCE, 2011).

Figura 3. Difração de Raio X por um cristal



A condição para que ocorra a difração é expressa numericamente pela Lei de Bragg, segundo a equação:

$$n \lambda = 2d \sin \theta$$

Onde

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

λ = Comprimento de onda do raio x incidente.

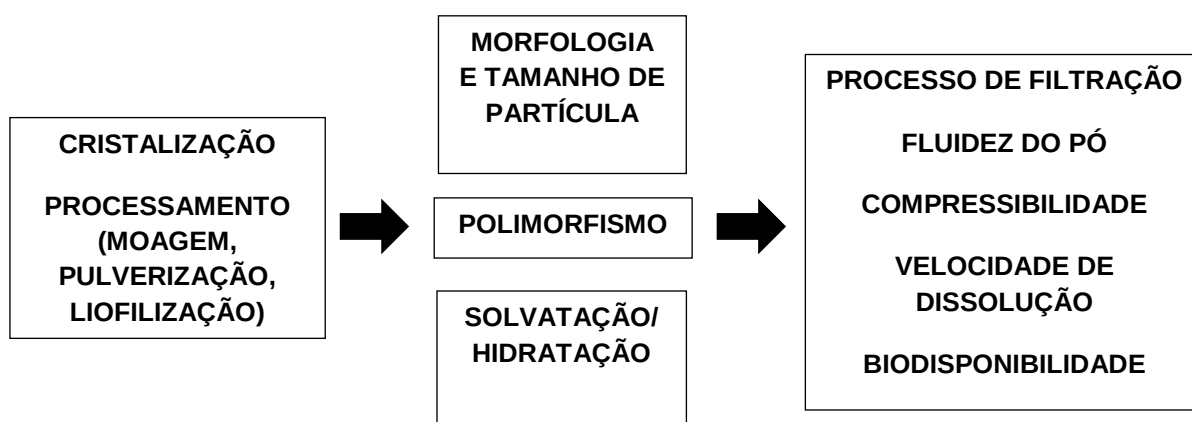
d_{hkl} = Distância interplanar dos cristais (índice de Miller)

θ = Ângulo de difração.

Um dos principais usos da difratometria de raios X está na determinação da estrutura cristalina, importante, pois, o estado sólido pode afetar a filtração, fluidez, compactação de

comprimidos, dissolução e biodisponibilidade (Figura 4). As substâncias cristalinas apresentam moléculas que estão dispostas segundo uma ordem definida, que se repete ao longo de toda a partícula. Portanto com a utilização do DRX, o tamanho e a geometria da célula unitária pode ser identificado a partir das posições angulares dos picos de difração, enquanto o arranjo dos átomos dentro da célula unitária esta associado com as intensidades relativas desses picos (CALLISTER, 2008).

Figura 4. Estado Sólido na Ciência Farmacêutica: potenciais causas e efeitos de mudanças estruturais (FLORENCE, 2011).



3.6.1. *Cristalização mediada por solvente*

Muitas transformações polimórficas são mediadas por solventes sendo conveniente para se preparar diferentes formas cristalinas de uma substância, devido à sua facilidade operacional. Uma cristalização pode acarretar na formação de uma nova rede cristalina e gerar diferentes formas polimórficas (KOGERMANN, et al., 2011), e essa técnica pode ser eficiente na preparação de formas estáveis de uma determinada substância, assim como eliminar a forma metaestável em uma mistura de estruturas polimórficas.

A escolha de um solvente adequado é um dos passos primordiais para a realização de um processo de cristalização, devendo ser levando em consideração aspectos como: solubilização do sólido no solvente, o solvente deve ser quimicamente inerte, seu ponto de ebulição deve ser relativamente baixo, para que possa ser facilmente removido da substância recristalizada (GU et al., 2001).

No processo de cristalização o contato do solvente com o soluto acarreta na destruição da estrutura cristalina do soluto, e pouco a pouco, partículas do solvente atacam a superfície do retículo cristalino, fazendo com a estrutura do solvente se modifique de forma que as partículas do soluto agora façam parte do solvente, e essas modificações irão depender da intensidade relativa das forças entre as partículas do soluto (interação soluto-soluto); das forças entre as partículas do solvente (interação solvente-solvente) antes da dissolução; das forças entre partículas do soluto com as do solvente (interação soluto-solvente) depois da dissolução (GU et al., 2001).

Portanto, técnicas analíticas como difração de raio-X (DRX), espectroscopia vibracional (IV) pode junto com técnicas termoanalíticas (DSC e TG) avaliar o comportamento e modificações estruturais sofridas em uma molécula, portanto muitos autores têm usado essas técnicas para caracterização de vários materiais (ZIMMERMANN, et al., 2011; SANGEETHA, et al., 2014).

CAPÍTULO II

Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Local da pesquisa

A pesquisa foi realizada nas dependências dos Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos localizado no Departamento de Ciências Farmacêuticas / Centro de Ciências da Saúde / Universidade Federal da Paraíba (LUDEM/DCF/CCS/UFPB).

4.2. Reagentes e materiais

Besilato de Anlodipino: benzenossulfonato de (*R,S*)-3-etil 5-metil 2-[(2-aminoetoxi)methyl]-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato matéria-prima (AMB), obtido a partir da Fagron SM EMPREENDIMENTOS LTD (Lote AMB0311012, Brasil) e cristais obtidos por recristalização de AMB em diferentes solventes como metanol (AMBMeOH), acetato de etila (AMBACet) e acetona (AMBACt).

Para obtenção das dispersões sólidas por liofilização os surfactantes utilizados foram: Carbopol® (lote: L20130707020, Henrifarma), hidroxipropil metil celulose (HPMC) (lote: ALL055008, All chemistry), polietileno glicol (PEG) 6000 (lote: Q 1102 CP-01, Henrifarma) e Carbopol Ultrez 20® (lote: 0101316789, Fragon).

4.3. Preparação de cristais

Os cristais foram obtidos pelo método de recristalização, a partir de uma solução saturada de AMB em três diferentes solventes (metanol, acetato de etila e acetona) a uma temperatura controlada de 25°C sob pressão constante e protegidas da luz.

Para os cristais de metanol foi utilizado uma massa total de 1,25g do besilato de anlodipino, para um volume de 20 mL de metanol, apresentando portanto concentração molar de 0,011 mol/L.

O acetato de etila foi utilizado 0,974g de AMB para um volume de 20 mL do solvente, com concentração molar de $8,59.10^{-3}$ mol/L.

Nos cristais de acetona foi utilizado uma massa de 0,8824 g de AMB para um volume de 20 mL de acetona, a concentração molar foi de $7,78.10^{-3}$ mol/L.

Após a mistura as soluções foram mantidas sob temperatura ambiente até total evaporação do solvente e então obtenção dos diferentes cristais.

Os solventes foram selecionados de acordo com o grau de polaridade e utilização na indústria química farmacêutica.

4.4. Preparação das dispersões sólidas

As dispersões sólidas foram obtidas por liofilização, a partir de uma solução aquosa de 1:1 de AMB e surfactante. Foram utilizados quatro diferentes surfactantes: HPMC, Carbopol 940®, Carbopol Ultrez 20® e PEG 6000.

A solução aquosa foi preparada em agitador mecânico, onde inicialmente o surfactante foi dissolvido em quantidade suficiente de água, para então adição do fármaco a essa solução mantida sobre agitação por 10 minutos a fim de garantir a homogeneidade da solução. As quantidade de surfactante, besilato de anlodipino e água destilada foram adicionada da seguinte forma:

Para a dispersão com PEG 6000 (*AMBPEG*), foram pesados 3 g do surfactante e 3 g do besilato de anlodipino, para um volume final de 5 mL de água destilada.

A dispersão com Carbopol940® (*AMBCBP*), Xg de Carbopol foram pesados e mesma quantidade de AMB com volume final de X mL de água destilada.

A solução de HPMC (*AMBHPMC*) foi preparado de forma que Xg de HPMC foi mantido sobre agitação com x mL de água, após 24 horas x g de besilato de anlodipino foram incorporados a essa solução para então obtenção da solução final de *AMBHPMC*.

Por fim, para o Carbopol Ultrez20® (*AMBUTZ*), x g de AMB e xg de Ultrez, para X mL de água.

Após preparação das amostras, essas foram congeladas à -20°C e mantidas a essa temperatura por um período de 24 h. Em seguida, levadas ao liofilizador (especificações) à temperatura de -40°C e vácuo de 1250 mmHg por 24 h.

4.5. Análise de espectroscopia no infravermelho

O espectro IV dos cristais de besilato de anlodipino e das dispersões sólidas foram obtidos em pastilhas de brometo de potássio sob vácuo, utilizando um modelo de sistema Shimadzu IRPrestige-21 ao longo de um intervalo de 400 - 4.000 cm^{-1} .

4.6. Difração de Raios X

Padrões de difração de besilato de anlodipino da IFA, suas recristalizações e suas dispersões sólidas foram analisados usando um modelo D2 PHASER da Bruker (geometria de CuK α , θ -2 θ , 40 KV-30 mA, tamanho 0,02°2 θ -2°2 θ).

A equação de scherrer foi utilizada para estimar o tamanho do cristalito sendo calculado segundo a fórmula (STOCK, et al., 2001):

$$\tau = \frac{K\lambda}{\beta \cos\theta_{\beta}}$$

Onde:

τ = Tamanho do cristalito

K = Constante que depende da forma das partículas

λ = Comprimento de onda da radiação eletromagnética

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

θ = Ângulo de difração

Os picos cristalinos foram selecionados de acordo com os picos atribuídos na literatura ao insumo farmacêutico ativo (IFA).

4.7. Os métodos térmicos de análise

Na caracterização térmica do fármaco foram realizados a análise de DSC, que foi feito com um calorímetro da modelo DSC-50, utilizando cadinhos de alumínio com cerca de 5 mg de amostras, com uma atmosfera de nitrogênio 50 mL min^{-1} , com razões de aquecimento de 2, 5 e 10 $^{\circ}\text{C min}^{-1}$, em intervalo de temperatura de 25-500°C.

Utilizando a razão de aquecimento de 10°C sob atmosfera de nitrogênio, cadinhos com 5g dos cristais de besilato de anlodipino e dispersões sólidas foram preparadas para a obtenção dos calorímetros por DSC-50. A célula de DSC foi calibrada com índio (pf 156,6 °C; $\Delta H_{fus} = 28,54 \text{ J g}^{-1}$) e zinco (p.f. 419,6 °C). O grau de pureza foi calculado de acordo com a equação de van't Hoff:

$$T_s = T_0 - \frac{Rt_0^2 X_1}{\Delta H_f} \left[\frac{1}{F} \right]$$

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 do besilato de anlodipino (AMB) e do cristal de acetona, através do calorímetro Shimadzu, modelo DSC-50, acoplado a um sistema fotovisual da Shimadzu com câmara 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 definida na faixa de 25 a 450°C, com uma razão de aquecimento de $10^\circ\text{C}.\text{min}^{-1}$, 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.

As curvas TG 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 amostra (Besilato de anlodipino, cristais e dispersões sólidas), sob atmosfera de ar sintético e nitrogênio (20 e 50mL min^{-1}) e taxa de aquecimento de 10, 20 e $40^\circ\text{C min}^{-1}$. Foi empregado o modelo Ozawa para a determinação dos dados de cinética do fármaco. Na caracterização dos cristais, realizou-se o DSC, DSC-fotovisual e TG nas mesmas condições, porém utilizando apenas a razão de aquecimento $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

4.8. Análise de Componente Principal (PCA)

Realizou-se a análise de componentes principais “componentanalysis principal” (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.

Os componentes principais que mais contribuírem para a distinção das amostras foram utilizados na análise discriminante de Hotelling (DA), considerando o nível de significância de 0,1%. As matrizes foram processadas no software PAST 3.01.

CAPÍTULO III

Resultados e discussão

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Caracterização do Besilato de Anlodipino e seus Cristais

5.1.1. Difração de Raios X

O besilato de Anlodipino e suas recristalizações foram analisados por DRX, a fim de, caracterizar alguns parâmetros de cristalinidade das diferentes formas, como por exemplo: ângulos de difração, grau de cristalinidade, intensidade relativa e tamanho do cristalito.

Os picos encontrados nos ângulos de difração 9,6; 10,36; 11,38; 11,53; 19,24 e 24,18°2 θ na SQR (substância química de referência) (Tabela 1) indicam a presença da estrutura cristalina anidra, essa forma é mais solúvel em comparação ao monohidrato (ângulos de difração 4,8; 9,6 e 13,9°2 θ), dihidratada (ângulos de difração 4,9; 13,4; 19,4, e 24,9°2 θ) e amorfo (STOCK, et al., 2001; KORADIA, et al., 2010).

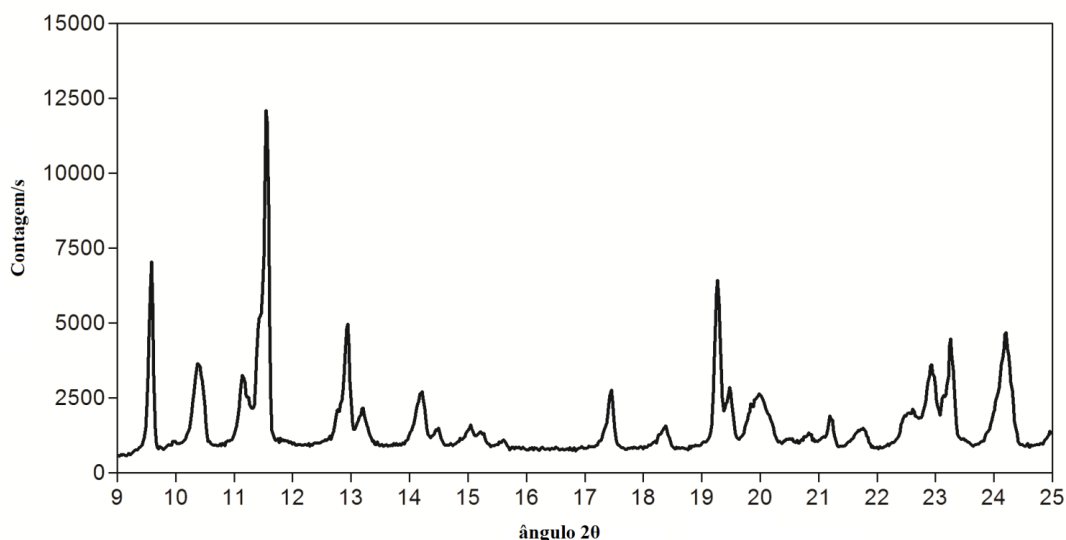
O perfil do difratograma do AMB (Figura 5) mostra, o grau de cristalinidade elevado com picos intensos e definidos. Comercialmente o Besilato de anlodipino está disponível em seu estado cristalino (LAURO, et al., 2013), porém sua forma cristalina, segundo Rollinger e Burger, 2002, ainda não foi definida devido ao pequeno tamanho do cristalito.

Tabela 1. Posição angular, tamanho do cristal, largura total do pico a meia altura (FWHM), distância interplanar e intensidade relativa do besilato de anlodipino SQR, quando as intensidades são maiores que 17%.

Posição angular [°2 θ]	Tamanho do cristalito [Å]	FWHM [°2 θ]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]
9,55	780	0,102	9,259	49,24
10,37	324	0,246	8,528	29,13
11,52	867	0,092	7,678	100*
12,91	666	0,120	6,857	40,21
19,25	532	0,151	4,611	46,99
23,23	614	0,133	3,828	36,04
24,18	402	0,202	3,681	37,80

*Pico referência, maior intensidade relativa

Figura 5. Difratoograma do besilato de anlodipino (AMB).



Na figura 6 observam os cristais de AMB obtidos por cristalização em diferentes solventes. Assim como o SQR os cristais de AMB apresentaram um grau cristalino elevado.

Na Tabela 2 observa-se o padrão AMB e suas recristalizações obtidas por diferentes solventes. Diferença no padrão cristalino pode ser confirmada, devido mudanças de intensidade, distância interplanar e tamanho do cristalito. Os cristais podem variar de tamanho no desenvolvimento relativo de uma dada face, assim como no número e tipos de faces ou formas, esse novo hábito cristalino pode ser adquirido pelo cristal dependendo das condições de cristalização (FLORENCE, 2011). Ao se modificar o solvente observa-se que o tamanho do cristalito varia de acordo com o novo arranjo cristalino formado.

As formas cristalinas *AMBAC_{Et}*, *AMBMeOH* e *AMBAC_t* apresentaram posição angular características, exibindo estruturas cristalinas distintas. A análise do *AMBAC_t* exibiu diferença no seu padrão em relação a SQR, onde observou-se um pico no ângulo de 13,76°2θ característico desse cristal obtido a partir de sua recristalização em solventes com ordem crescente de polaridade: acetona, acetato de etila e metanol, como as intensidades relativas estão associadas ao arranjo dos átomos no interior da célula unitária, esses achados corroborando com o fato de que os arranjos cristalinas se organizam de formas diferentes quando muda-se as condições de obtenção de um forma cristalina (FLORENCE, 2011) (Tabela 2).

Figura 6. Difratoograma dos cristais (A) AMBMeOH, (B) AMBACt e (C) AMBACtEt.

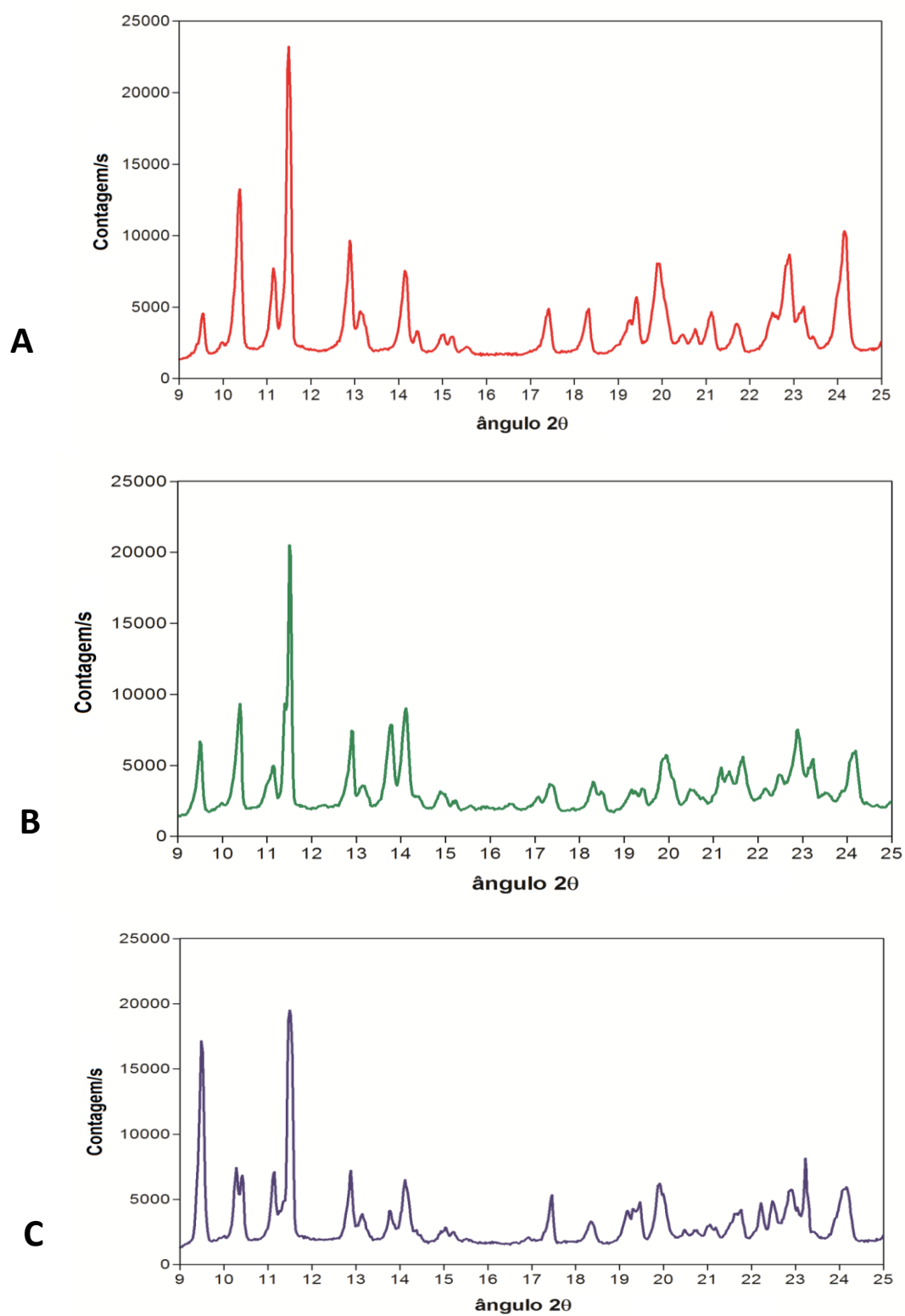


Tabela 2. Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do AMB e seus cristais *AMBACt*, *AMBM_eOH* e *AMBAC_et*

AMB				AMBAC _t				AMBM _e OH				AMBAC _e t			
Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]
9,55	780	9,259	49,24	9,49	3986	9,311	35,65	a	a	a	a	9,49	659	9,319	80,30
10,37	324	8,528	29,13	10,37	767	8,528	43,49	10,37	396	8,53	53,77	10,28	505	8,594	30,83
a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	11,13	78	7,941	29,16
11,52	867	7,678	100*	11,50	962	7,693	100*	11,49	591	7,696	100*	11,51	554	7,684	100*
12,91	666	6,857	40,21	12,90	851	6,865	34,43	12,89	342	6,863	40,07	12,87	428	6,870	28,45
a	a	a	a	13,76	370	6,433	36,41	a	a	a	a	a	a	a	a
a	a	a	a	14,10	4002	6,282	41,71	14,14	478	6,261	31,74	a	a	a	a
19,25	532	4,611	46,99	a	a	a	a	19,91	4033	4,457	34,59	19,91	303	4,455	27,48
a	a	a	a	22,89	251	3,884	34,05	22,88	405	3,887	34,59	a	a	a	a
23,23	614	3,828	36,04	a	a	a	a	a	a	a	a	23,23	381	3,825	31,37
24,18	402	3,681	37,80	a	a	a	a	24,16	430	3,684	45,13	a	a	a	a

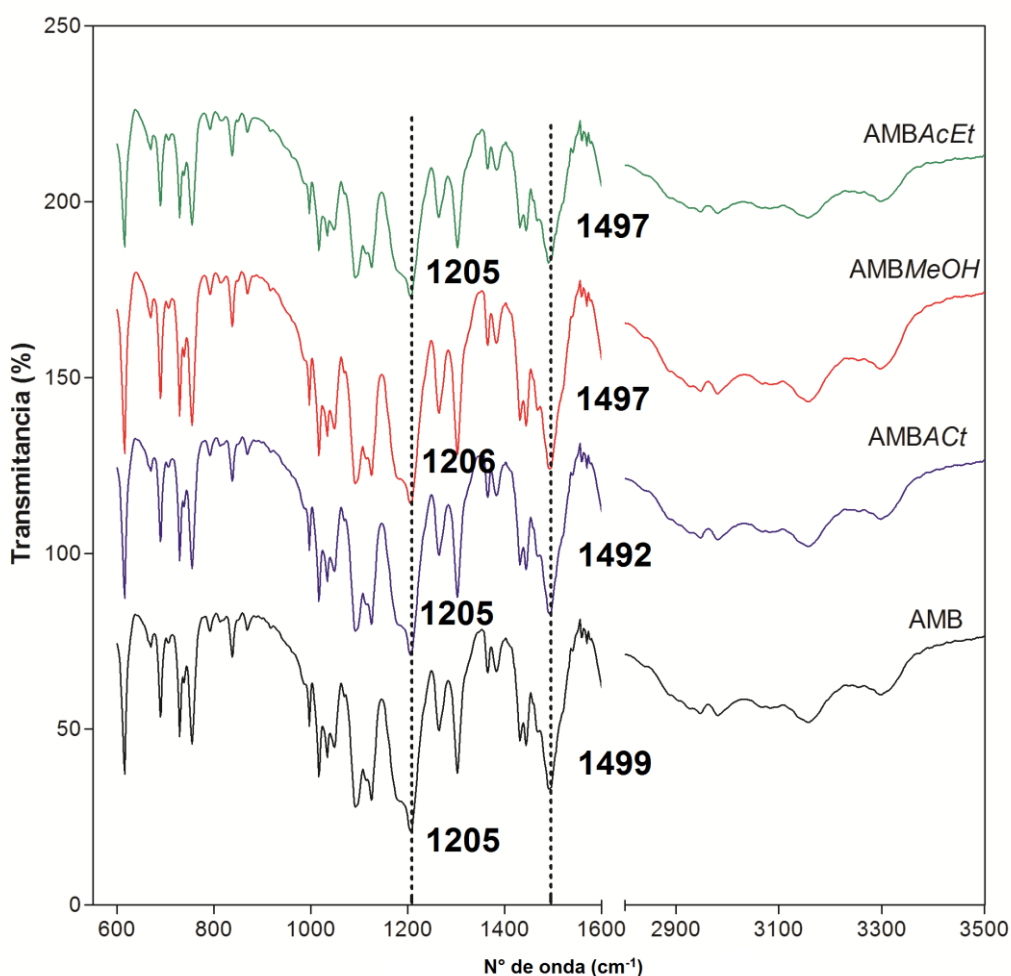
**Pico de maior intensidade relativa*

(a) Não apresentou intensidade relativa

5.1.2. Análise de espectroscopia no infravermelho

Os métodos espectroscópicos fornecem informações sobre o nível molecular sobre as formas sólidas e são também mais adequados para monitorar as transformações induzidas pelo processo (JØRGENSEN, et al., 2009). Na Figura 7 observa-se o perfil espectroscópico do AMB e suas cristalizações com o intuito de encontrar possíveis mudanças intermoleculares ocorridas durante o processo da recristalização.

Figura 7. Espectros de absorção no infravermelho do AMB e suas recristalizações, com comprimento de onda entre 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} . Linha pontilhada indica deslocamento do comprimento de onda, no pico indicativo de variação de cristalinidade.



As bandas de absorção características de AMB no espectro de FTIR são comparadas com os cristais aqui estudados, exceto o AMBACt que apresentou pequenos deslocamentos

em seu comprimento de onda na maioria de suas bandas de absorção, porém não foi observado aparecimento de novas bandas ou perdas, nos demais cristais não houve mudança entre suas bandas características (Tabela 3).

Tabela 3. Dados do espectro de infravermelho para AMB e os cristais AMBACt, AMBMeOH e AMBACet.

	AMB	AMBACt	AMBMeOH	AMBACet
Bandas	Número de onda (cm ⁻¹)			
N-H	3303	3303	3303	3303
C - H (aromático)	3157	3157	3157	3157
C - H (Alifático)	2984	2984	2984	2984
C = O	1698, 1680	1697, 1679	1698, 1680	1698,1680
Trechos aromáticos	1615, 1499	1613, 1492	1615, 1497	1615, 1497
CH ₃ , CH ₂	1442, 1433	1445, 1433	1442, 1433	1442, 1433
Éster (C - O) estiramento simétrico e estiramento assimétrico (C - O - C)	1205, 1123, 1095	1205, 1128, 1099	1205, 1123, 1095	1205, 1123, 1095
Sulfonato (S = O) com estiramento assimétrico	1205	1205	1205	1205
Sulfonato (S = O) com estiramento simétrico	1095	1099	1095	1095
Estiramento aromático (C - Cl)	1095	1099	1095	1095
Éter (C - O - C) com estiramento simétrico	1035, 1013	1034, 1015	1035, 1013	1032, 1013
Aromático (C - H)	758, 731, 612	754, 726, 614	758, 731, 612	758, 731, 612

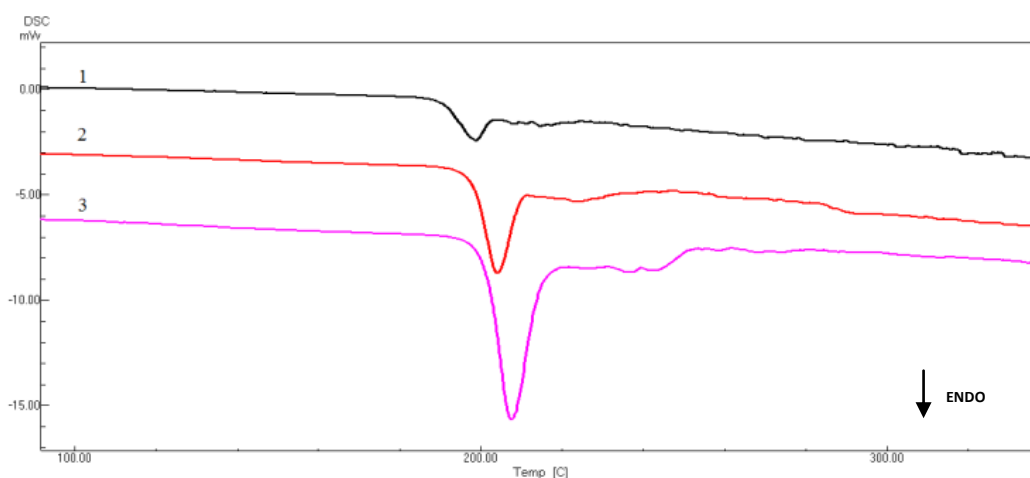
5.1.3. Análise no DSC e DSC-fotovisual

As curvas de DSC fornecem uma melhor compreensão das transformações térmicas que ocorrem quando diferentes razões de aquecimento do AMB são utilizadas, e entre seus cristais.

Quando a razão de aquecimento é utilizada como variável, podemos caracterizar diferentes formas através das alterações na faixa de fusão com variações na entalpia. Na Figura 8, a análise da curva mostra um pico endotérmico na temperatura de 198,32°C (ΔH

=55,40 J g⁻¹) na razão de aquecimento de 2°C.min⁻¹, já na razão de aquecimento de 5°C.min⁻¹ a temperatura registrada foi de 203,86°C ($\Delta H = 67,97 \text{ J g}^{-1}$), e uma variação de temperatura de 207,64°C ($\Delta H = 76,39 \text{ J g}^{-1}$) foi observada na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹. Esses resultados evidenciam mudança na temperatura de fusão com deslocamento para temperaturas maiores, à medida que se aumento a razão de aquecimento do processo.

Figura 8. Curvas do DSC do AMB nas diferentes razões de aquecimento: (1) razão de 2°C.min⁻¹ (2) razão de 5°C.min⁻¹ (3) razão de 10°C.min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.



Dos cristais obtidos na recristalização, o AMBACt apresentou uma diferença com o AMB, uma vez que, foi registrado um pico na temperatura de 109,4°C ($\Delta H = 34,3 \text{ J g}^{-1}$) além do ponto de fusão característico do AMB em 207,2°C ($\Delta H = 66,4 \text{ J g}^{-1}$), esse primeiro evento térmico pode estar relacionado à fusão do isômero *S*-anlodipino, relatado na literatura por Sun Y., e seus colaboradores em 2009 que evidência a temperatura de fusão desse isômero como sendo em 109,27°C (ROLLINGER, et al., 2002).

Contrariamente, o AMBACet e AMBMeOH apresentaram perfil semelhante ao AMB com pico de fusão simétrico em 207,6°C ($\Delta H = 67,8 \text{ J g}^{-1}$) e 208,3°C ($\Delta H = 68,7 \text{ J g}^{-1}$), respectivamente (Tabela 4). Foi observado que as temperaturas do pico de fusão encontram-se próximas nos diferentes cristais na razão estudada (Figura 9). Isso demonstra, o fármaco estudado apresenta um comportamento térmico bem definido frente aos diferentes solventes utilizados no processo de recristalização, com pouca variação de temperatura de fusão, essa característica também foi evidenciada no nifedipino que compõe a classe das dihidropiridinas (LEITE et al., 2013).

Figura 9. Curva de DSC do AMB (1) e as recristalizações de (2) AMB*AcEt* (3) AMB*MeOH* (4) AMB*ACt*, na razão de 10°C.min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

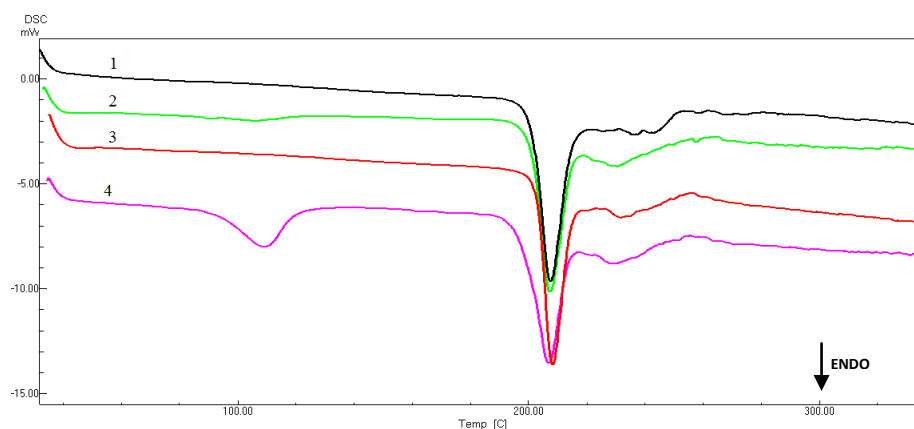


Tabela 4. Valores da temperatura de fusão e energia de entalpia do AMB e suas recristalizações na razão de aquecimento de 10°C em atmosfera de nitrogênio e ar sintético.

	$T_{\text{fusão}}(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H(\text{J g}^{-1})$	$T_{\text{fusão}}(^{\circ}\text{C})$	$\Delta H(\text{J g}^{-1})$
AMB	-	-	207,64	76,39
AMB <i>ACt</i>	109,4	34,3	207,2	66,4
AMB <i>MeOH</i>	-	-	208,3	68,7
AMB <i>AcEt</i>	-	-	207,6	67,8

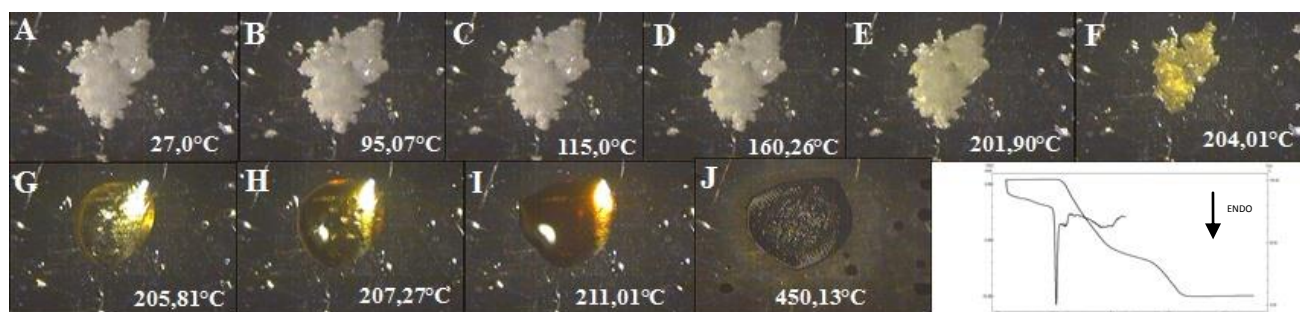
A técnica de DSC permite determinar o grau de pureza, a partir dele podemos avaliar se as impurezas interferiram no deslocamento do pico de fusão (MEDHAM et al., 2002) calculado para o fármaco e seus cristais na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, utilizando o modelo de van't Hoff o grau de pureza de cada amostra (Tabela 5). Observou-se que o AMB, AMB*MeOH* e AMB*AcEt* apresentaram elevado grau de pureza, enquanto que o AMB*ACt* teve uma pureza inferior.

Tabela 5. Grau de pureza dos picos de fusão na razão aquecimento de 10°C/min do AMB e suas recristalizações.

	Pureza (%)
AMB	96,57
AMBACt	92,23
AMBACeEt	96,92
AMBMeOH	97,78

As imagens capturadas do DSC-fotovisual possibilitaram a visualização em tempo real das mudanças físicas que sofre o besilato de anlodipino. As imagens obtidas no DSC-fotovisual (Figura 10) nos mostra as seguintes etapas: (E) início de fusão a uma temperatura de 201,90°C, (H) final da fusão em 207,27°C, (I) início da decomposição em 211,01°C e (J) completa decomposição em 450,13°C, segundo Koradia e colaboradores em 2010, a forma anidra do besilato de anlodipino apresenta ponto de fusão igual a 201°C ($\Delta H_f = 51.54 \pm 0.30$ kJ/mol) seguido por decomposição, na razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹, em recipiente aberto (KORADIA, 2010).

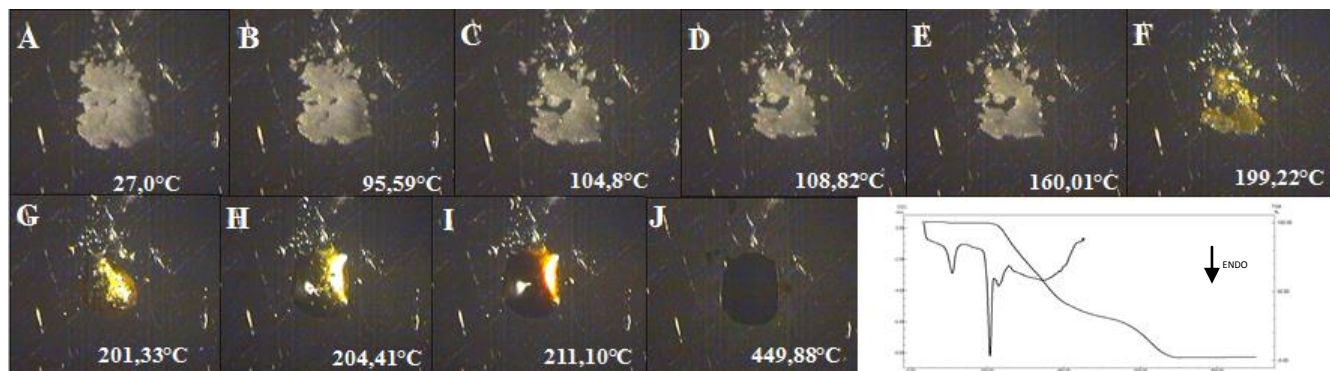
Figura 10. DSC fotovisual do AMB na razão de aquecimento de 10°C min⁻¹, atmosfera de nitrogênio, (A) temperatura inicial, (E) início da fusão, (F) processo de fusão, (H) final de fusão, (I) início da decomposição, (J) decomposição completa.



A Figura 11 mostra os cristais do AMBACt onde, o primeiro pico fusão detectado no DSC foi atribuído ao isômero *S*-anlodipino e ocorreu na temperatura de 108,82°C (D) e a segunda fusão característica do AMB teve início em 199,22°C (F). Uma retração no volume que ocorreu entre 104,8 – 108,82° evidencia a fusão do isômero. Esses resultados corroboram

com o que foi visto no FTIR, onde houve a mudança de bandas de intensidade assim como a variação no perfil cristalino desses cristais formados, visto no DRX. Dessa forma, a sobreposição das curvas TG e DSC na razão de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$ permite identificar eventos com maior precisão (Figura 11). O evento caracterizado pela fusão ocorre numa faixa de temperatura em que a amostra não apresenta perda de massa. É importante ressaltar que transformações físicas não apresentam perda de massa.

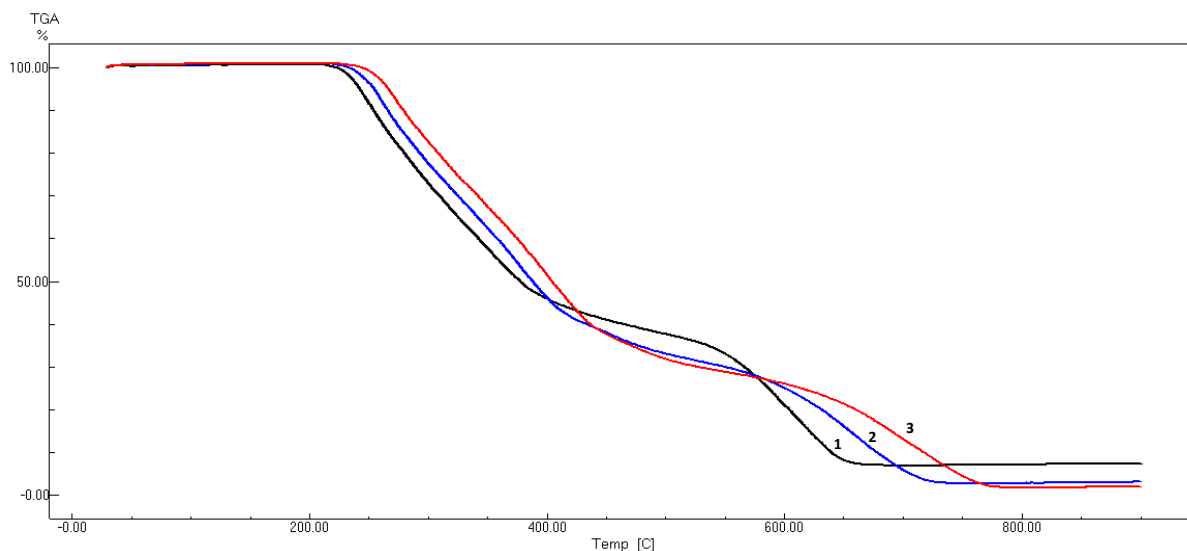
Figura 11. DSC fotovisual dos cristais de AMBACt na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, (A) temperatura inicial, (B) diminuição de massa, (C) início de fusão, (D) ponto de fusão, (E) início da segunda fusão, (F) início da segunda fusão, (G) ponto de fusão e (J) degradação completa.



5.1.4. Análise no TG

A Figura 12 apresenta as curvas termogravimétricas de AMB na faixa de temperatura de 25 – 900°C em atmosfera de ar sintético e nitrogênio, na variação de aquecimento de 10, 20 e $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$. O besilato de anlodipino apresentou três estágios de decomposição térmica nas razões de aquecimento estudadas, evidenciando perfis de TG similares em relação às perdas de massas da etapa principal. O principal estágio de degradação (etapa 1) na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 21,6\%$ ($T_{\text{inicial}} = 238,9^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{final}} = 261^{\circ}\text{C}$), o estágio de decomposição do AMB ocorre depois da temperatura de fusão. No entanto, de acordo com a sobreposição das curvas DSC e TG observa-se que o processo de decomposição corresponde a evento endotérmico de baixa entalpia caracterizado pelo início da perda de massa visualizada na curva termogravimétrica.

Figura 12. Curvas termogravimétricas de AMB nas razões de aquecimento de (1) $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$, (2) $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ e (3) $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$.



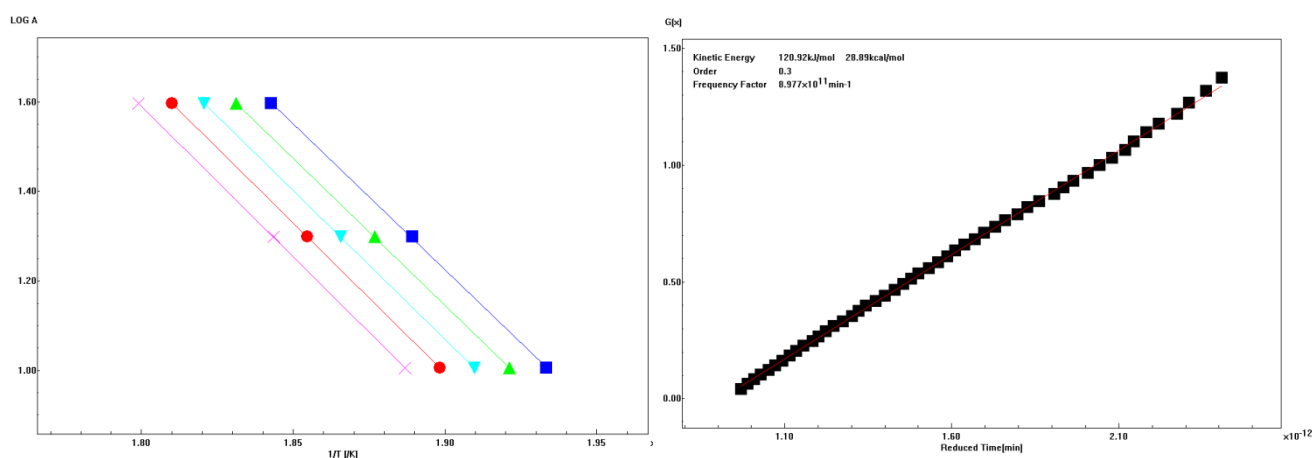
5.1.4.1. Investigação da cinética pelo modelo de Ozawa

Utilizando os parâmetros cinéticos determinados anteriormente é possível estimar o tempo de validade, partindo do fornecimento de calor para aumentar a velocidade de reação química, na qual a velocidade das reações dos produtos farmacêuticos aumenta em progressões exponenciais em relação ao aumento da temperatura.

Para conhecer melhor a decomposição AMB, verificou-se o comportamento do processo de decomposição utilizando método não isotérmico que fornecer dados na determinação de parâmetros cinéticos de reação de decomposição do fármaco. Através do método de Ozawa determinou-se os parâmetros cinéticos de decomposição: ordem de reação (n), fator de frequência (A) e constante de velocidade (k).

Os parâmetros cinéticos do fármaco analisado sob três razões de aquecimento, 10, 20 e $40^{\circ}\text{C min}^{-1}$, considerando a fração de decomposição definida de $\alpha = 0,1 - 0,9$, os parâmetros cinéticos determinados demonstraram uma cinética de ordem zero (0.3 ± 0.0) com energia de ativação de $121,6 \text{ KJ mol}^{-1} \pm 1,2$ e fator de frequência de $\ln A = 27,87 \pm 4,1 \text{ min}^{-1}$.

Figura 13. Gráfico de Ozawa



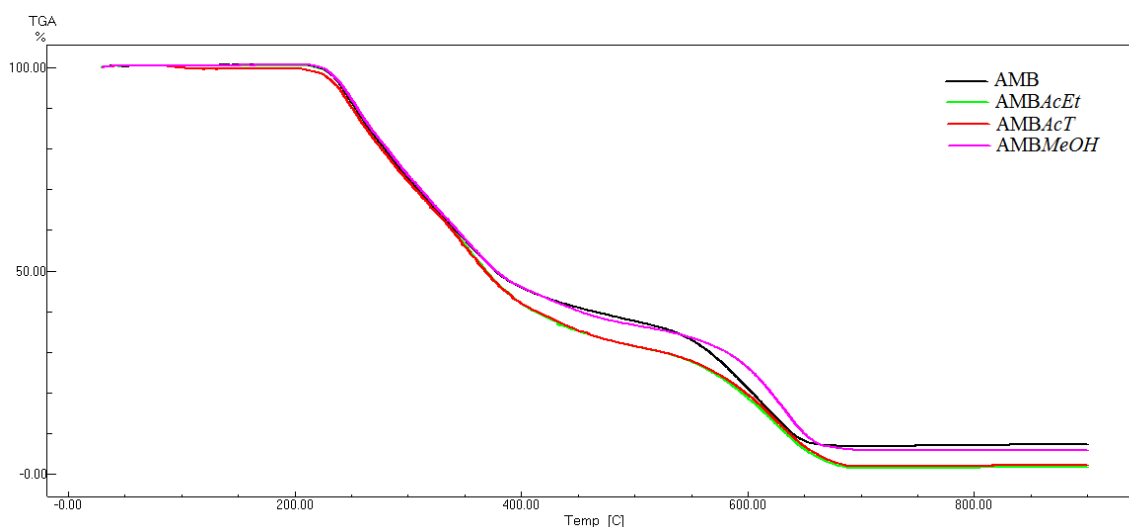
5.1.4.2. Investigação Termogravimétrica para os cristais

Os cristais de AMB (Figura 14) apresentaram três etapas de decomposição térmica na razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$, assim como o besilato de anlodipino. O AMBMeOH apresentou uma degradação térmica com perda de massa superior ao AMB (Tabela 6), enquanto AMBAcEt e AMBAcT sofreram uma menor perda considerando os mesmos critérios em relação a etapa de decomposição. Os cristais de AMBAcT não apresentou faixa de degradação anterior ao fármaco isolado, mostrando que aquele pico observado pela técnica de DSC é na verdade uma alteração física e não química, reforçando o que foi observado na literatura a qual mostra a forma S-anlodipino.

Tabela 6. Temperatura inicial (T_i) e temperatura final (T_f), e perda de massa (%) dos diferentes cristais de AMB na razão de aquecimento de $10^\circ\text{C min}^{-1}$.

Matéria	T_i	T_f	% Perda de massa
AMB	238,9°C	261,0°C	21,6
AMBAcT	234,9°C	253,2°C	11,6
AMBMeOH	232,3°C	253,8°C	22,7
AMBAcEt	234,9°C	258,4°C	15,4

Figura 14. Curvas termogravimétricas de AMB e seus cristais na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C min}^{-1}$.



5.2. Caracterização das Dispersões sólidas de besilato de anlodipino

5.2.1. Difração de Raios X

O besilato de anlodipino apresenta picos característicos em $9,6$; $10,36$; $11,38$; $11,53$; $19,24$ e $24,18^{\circ}2\theta$, da sua forma anidra, quando analisado no DRX, se assemelhando muito aos padrões relatados na literatura (KORADIA et al., 2011; ANANCHENKO et al., 2012) porém as dispersões sólidas do AMB apresentaram diferença nesse padrão no DRX (Figura 15). Um halo amorfo, na faixa do difratograma das dispersões, foi observado na região de maior intensidade do pico do besilato de anlodipino, região entre 10° à $12^{\circ}2\theta$ (Figura 16).

O AMBHPMC foi dentre as dispersões sólidas aquela se amorfizou, caracterizando uma mudança no perfil cristalino, possivelmente devido às características do HPMC, de formar uma camada viscosa sobre a superfície da matriz farmacêutica (WILLIAMS, et al., 2009).

É importante destacar que um sólido amorfo é mais solúvel porque apresenta um arranjo molecular com ligações mais fracas que um arranjo cristalino e, portanto, maior instabilidade química, com tendência ao retorno da forma cristalina, além disso, os átomos de um material cristalino estão situados em um arranjo com ângulos com mesmos valores e que se repetem, apresentando simetria, já o material amorfo não apresenta esse padrão (SINKO, 2008; CALLISTER JUNIOR, 2008).

Figura 15. Difratoograma do AMB e das dispersões sólidas.

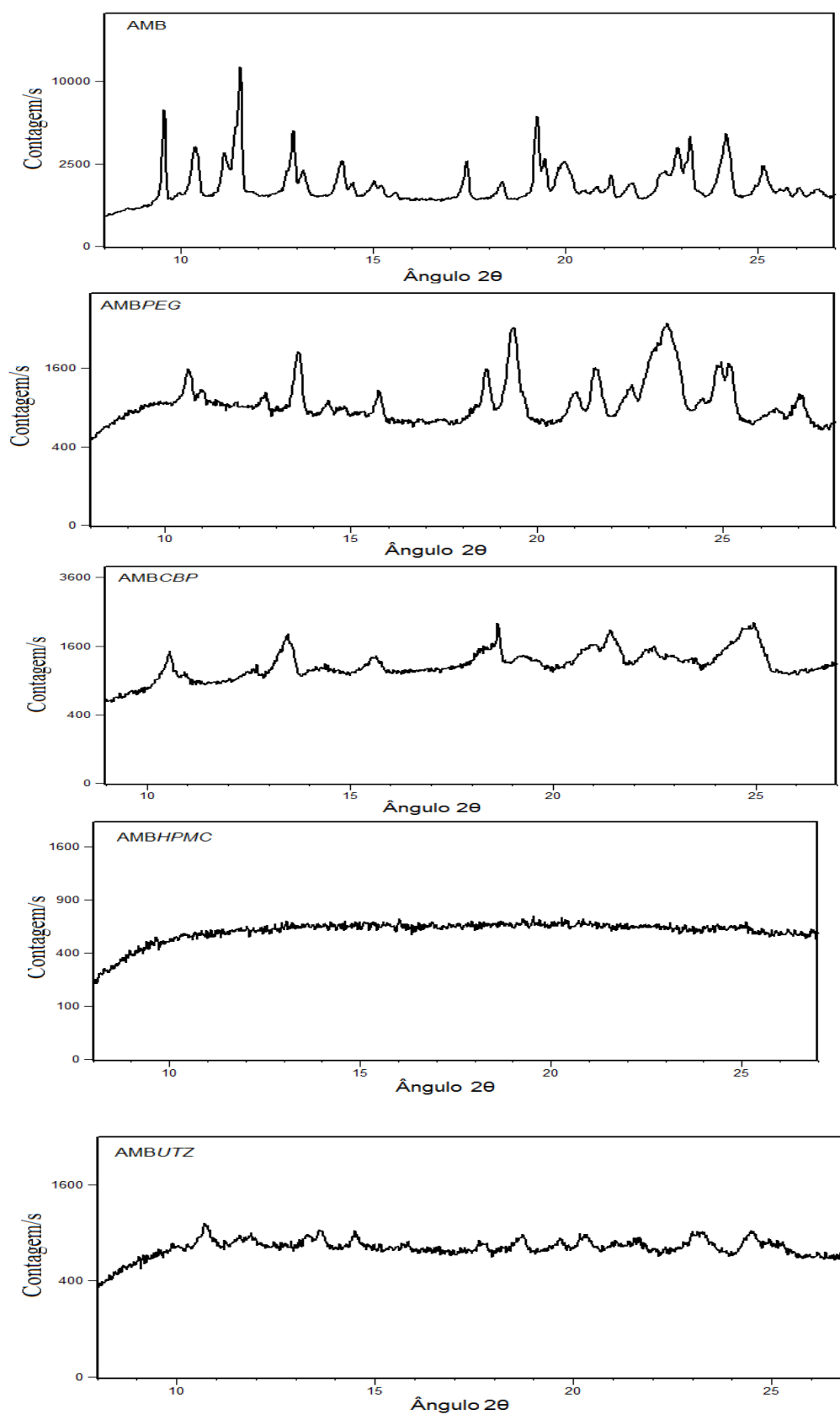
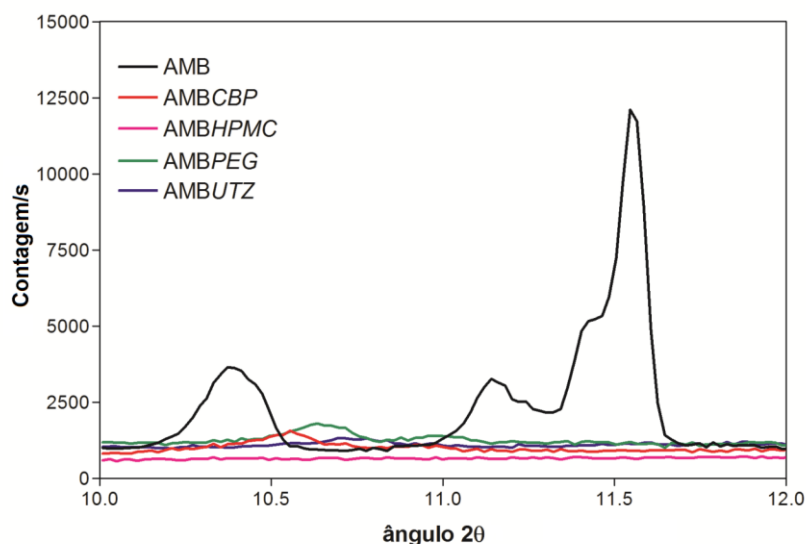


Figura 16. Difrátograma do AMB e as dispersões AMBCBP, AMBHPMC, AMBPEG e AMBUTZ, sobreposição dos picos no ângulo de 10° à 12°2θ



Na tabela 7 observa-se a posição angular, tamanho do cristalito, distancia interplanar e a intensidade relativa tanto do AMB como das dispersões, onde foi possível analisar com mais precisão as modificações relacionadas à estrutura cristalina. As dispersões sólidas obtidas com os surfactantes PEG (AMBPEG) e Cabopol® (AMBCBP) apresentaram maior grau de cristalinidade com picos mais intensos e tamanho de cristalito maior, porém com perfil diferente do fármaco.

A dispersão sólida com o Carbopol Ultrez® (AMBUTZ) mostrou-se parcialmente cristalino, com picos mais largos e menos intensos e tamanho do cristalito pequeno, principalmente em relação ao besilato de anlodipino. Enquanto o AMBHPMC mostrou elevado grau de amorfização (Figura 15).

Análise estatística pelo modelo componente principal, mostra a variação das dispersões sólidas em seu arranjo cristalino, contribuindo positivamente para diferenciação dos grupos (Figura 17). A aproximação na cristalinidade das dispersões do AMBCBP e AMBPEG com o fármaco puro corrobora com as observações do difratograma já descritas.

Na PCA, os três componentes principais (PCs) explicam a correlação existente dentro dos grupos, 45,57% (PC1), 25,70% (PC2) e 18,17%(PC3). Nítida distinção das amostras é observada no intervalo de confiança de 95%, com HPMC e UTZ no PC1 negativo e AMB, CBP e PEG no PC1 positivo, sem intersecção das amostras. Estes resultados mostram que as DS (dispersão sólida) 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 das propriedades tecnológicas das dispersões sólidas, evidenciando interações físicas e alterações no grau cristalino do fármaco AMB em relação as DS que utilizam excipientes empregados como adjuvantes tecnológicos de amorfização no processo de produção.

Figura 17. Gráfico de componente principal na técnica de DRX

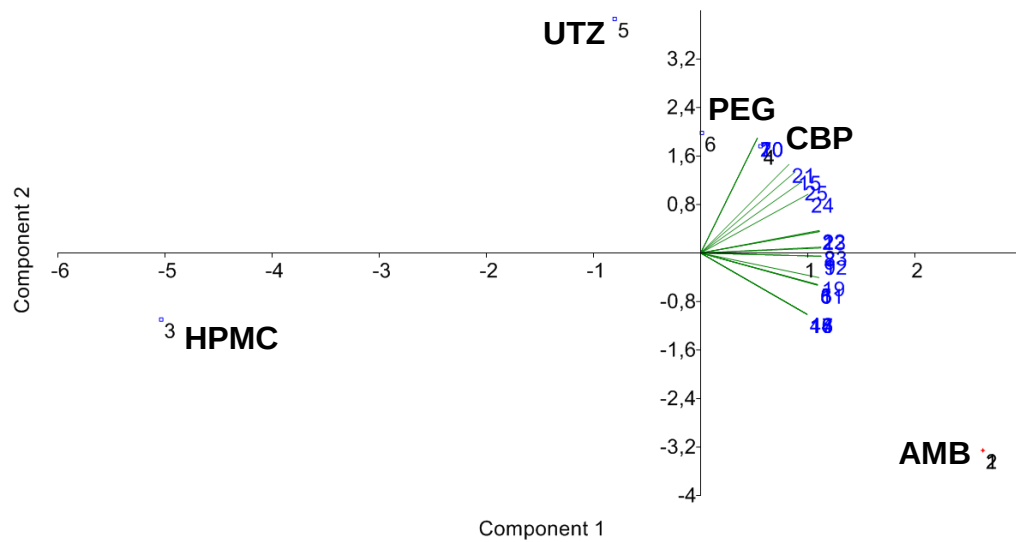


Tabela 7. Posição angular, tamanho do cristalito, distância interplanar e intensidade relativa do AMB e as dispersões sólidas AMBCBP, AMBPEG e AMBUTZ.

(a) Não apresentou pico na mesma posição angular

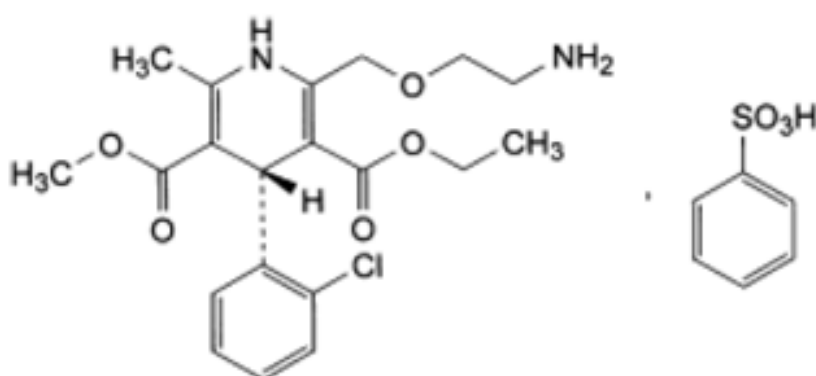
*Pico de maior intensidade relativa

AMB				AMBCBP				AMBPEG				AMBUTZ			
Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa [%]	Posição angular [°2θ]	Tamanho do cristalito [Å]	Distância interplanar [Å]	Intensidade Relativa. [%]
9,55	780	9,259	49,24	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
10,37	324	8,528	29,13	10,55	410	8,38	61,01	10,64	305	8,312	73,44	10,735	137	8,241	98,98
11,52	867	7,678	100*	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a
12,91	324	6,857	40,21	12,67	1589	6,98	44,89	a	a	a	a	a	a	a	a
a	a	a	a	13,455	195	6,58	81,17	13,58	305	6,517	73,44	13,614	111	6,504	88,31
a	a	a	a	18,64	472	4,76	100*	18,64	270	4,759	56,55	18,72	3441	4,741	78,9
19,25	532	4,611	46,99	19,27	1535	4,604	55,05	19,35	218	4,587	98,06	a	a	a	a
a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	a	20,32	4035	4,370	100*
23,23	614	3,828	36,04	a	a	a	a	23,474	126	3,789	100*	23,161	83	3,840	81,75
24,18	402	3,681	37,80	24,959	168	3,567	98,2	24,894	371	3,577	60,53	24,506	170	3,632	87,93

5.2.2. Análise de espectroscopia no infravermelho

O Besilato de anlodipino apresenta em sua estrutura (Figura 18) ligação amina (N-H) na região de 3500-3100 cm^{-1} e C-H na região de estiramento aromático em 3150-3050 cm^{-1} presentes no anel dihidropiridina. A faixa correspondente aos grupos carbonila nas ligações éster encontram-se entre 1750-1730 cm^{-1} e os trechos aromáticos estão na faixa de vibração de 1600-1475 cm^{-1} , essas regiões são relatadas na literatura como mais susceptíveis de sofrer modificações quando submetidas à complexação com ciclodextrina, lipossomos, nanoesfera e microesfera (MIELCAREK et al., 2006; KAPOR et al., 2010; LAURO et al., 2012)

Figura 18. Estrutura química do besilato de anlodipino



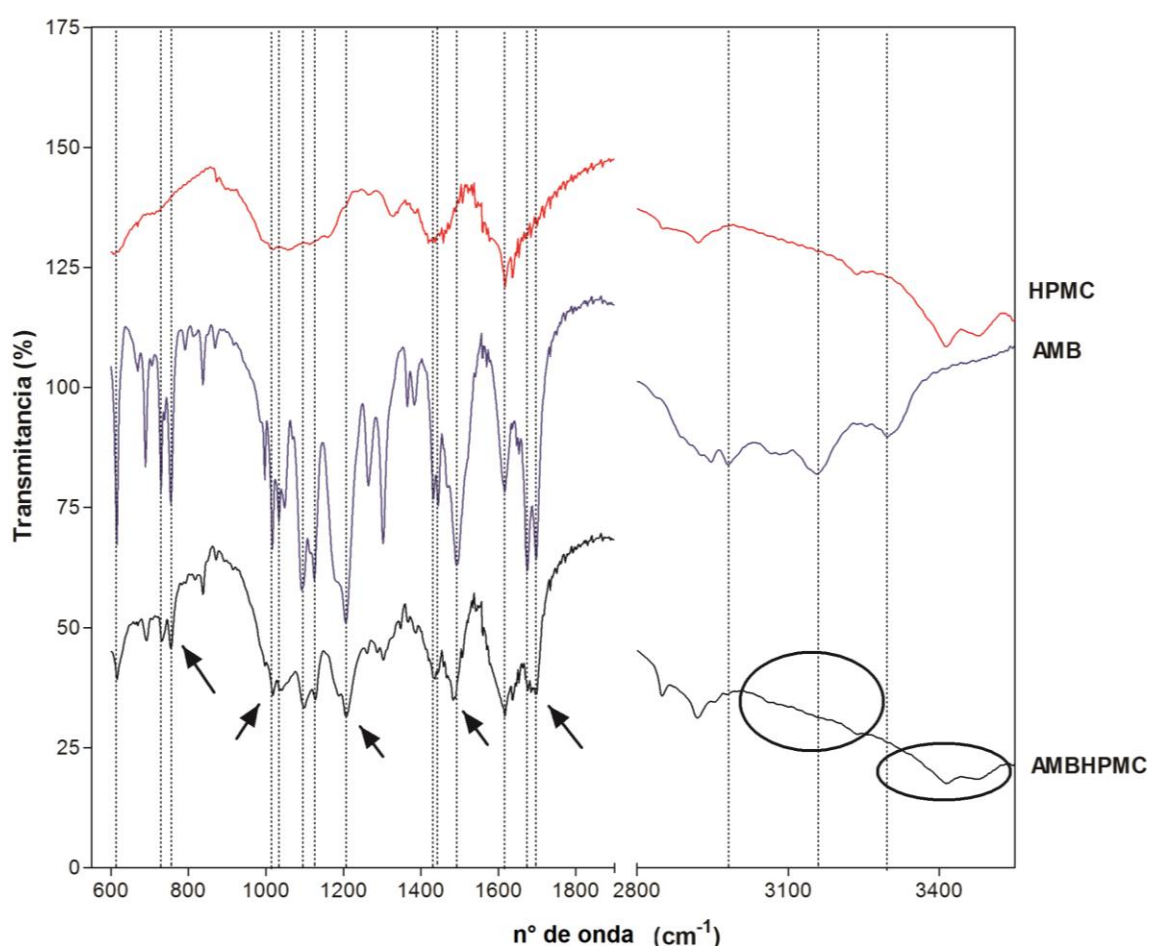
As interações químicas das dispersões sólidas foram avaliadas por FTIR e os picos característicos tanto das dispersões como do besilato de anlodipino são observados na Tabela 8.

Tabela 8. Comprimento de onda das respectivas bandas do besilato de anlodipino (AMB) e suas dispersões sólidas AMBHPMC, AMBCBP, AMBPEG e AMBUTZ.

	AMB	AMBHPMC	AMBCBP	AMBPEG	AMBUTZ
Bandas	Número de onda (cm ⁻¹)				
N-H	3303	3478, 3412	3473, 3414, 3329	3474, 3412, 3328	3477, 3412, 3323
C - H (aromático)	3157	--	--	--	3157
C - H (Alifático)	2984	2920, 2850	2982	2982	2983
C = O	1698, 1680	1697, 1682	1696, 1682	1696, 1682	1697, 1674
Trechos aromáticos	1615, 1499	1616, 1484	1616, 1484	1616, 1484	1616, 1490
CH ₃ , CH ₂	1442, 1433	1436	1436	1436	1444, 1433
Éster (C - O) estiramento simétrico e estiramento assimétrico (C - O - C)	1205, 1123, 1095	1205, 1130, 1096	1214, 1124 --	1210, 1124 --	1205, 1124, 1093
Sulfonato (S = O) com estiramento assimétrico	1205	1205	1214	1210	1205
Sulfonato (S = O) com estiramento simétrico	1095	1096	--	1101	1093
Estiramento aromático (C - Cl)	1095	1096	--	1101	1093
Éter (C - O - C) com estiramento simétrico	1035, 1013	1040, 1016	1030, 1020	1035, 1018	1033, 1016
Aromático (C - H)	758, 731, 612	756, 732, 615	755, 732, 618	756, 732, 618	756, 727, 615

Na figura 19 o *AMBHPMC* apresentou principalmente mudanças nas bandas características do IFA (insumo farmacêutico ativo), na mesma faixa do estiramento de aminas (N-H) do HPMC foi visto bandas na dispersão sólida no comprimento de onda em 3478, 3412 cm^{-1} . Observou-se uma supressão na faixa correspondente ao C-H de aromáticos, e diminuição de intensidade e alargamento de bandas foram observados em várias faixas de intensidade. Essas mudanças no perfil do *AMBHPMC* são devido as interação químicas do *AMB* com o HPMC através do grupo N-H considerando o tipo de ligação de hidrogênio, como relatado na literatura nas β -ciclodextrinas (MIELCAREK; CZERNIELEWSKA; CZARCZYŃSKA, 2006).

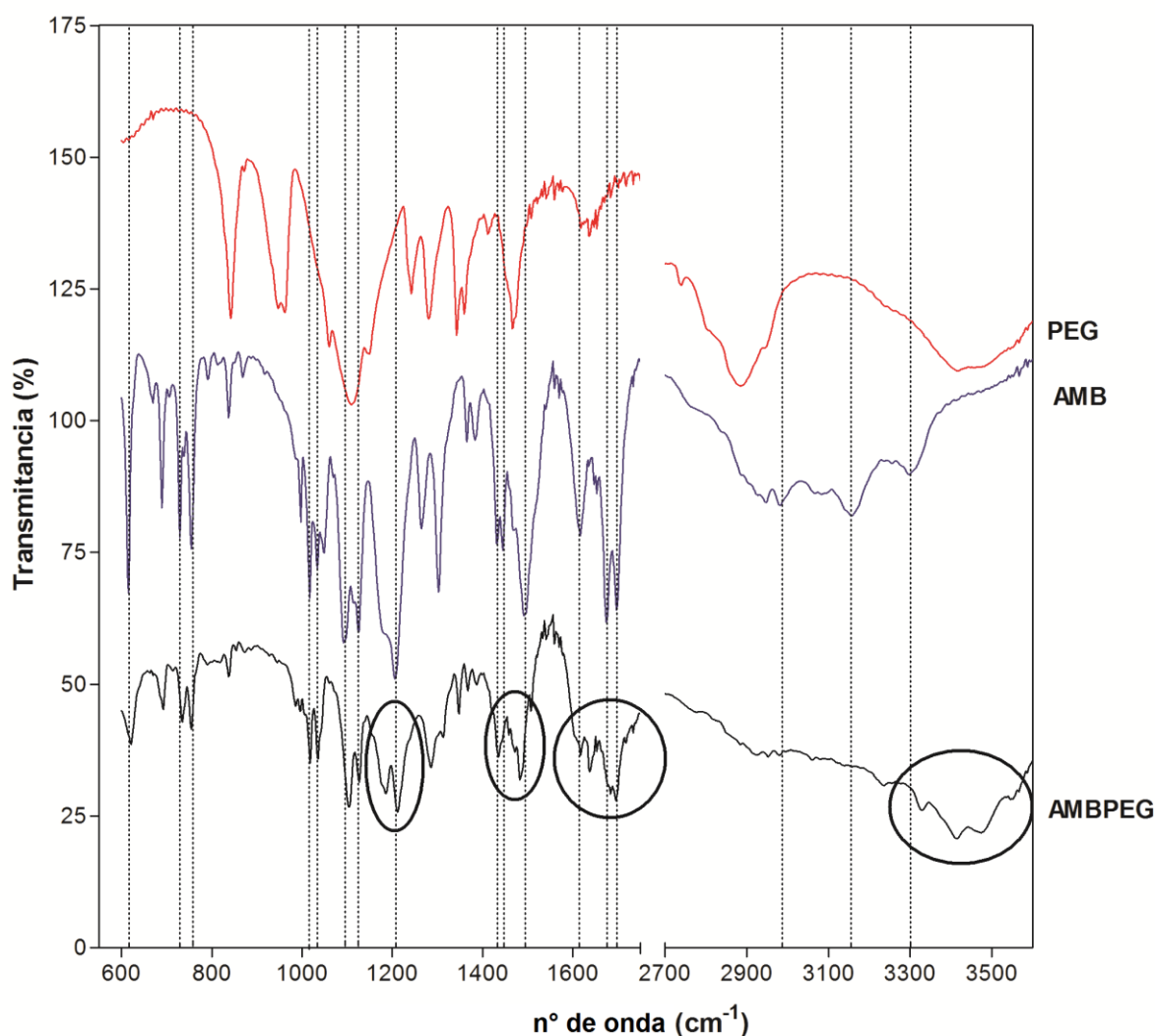
Figura 19. Espectro do *AMBHPMC*, HPMC e *AMB*



A interação química entre o *AMB* e o PEG6000 (Figura 20) foi observada em diferentes faixas, presença das aminas na mesma faixa do PEG6000 e supressão do C-H de

aromático, além disso, diminuição de intensidade e presença de novas bandas foram verificados no espectro de FTIR (Tabela 8), esses achados são indicativos da formação de complexo entre PEG e AMB. A formação desses complexos pode ocorrer através da formação de ligações não covalentes tais como: pontes de hidrogênio, ligações iônicas, Van der Waals, entre outras (YANG et al, 2008; WOJNAROWSKA et al, 2010).

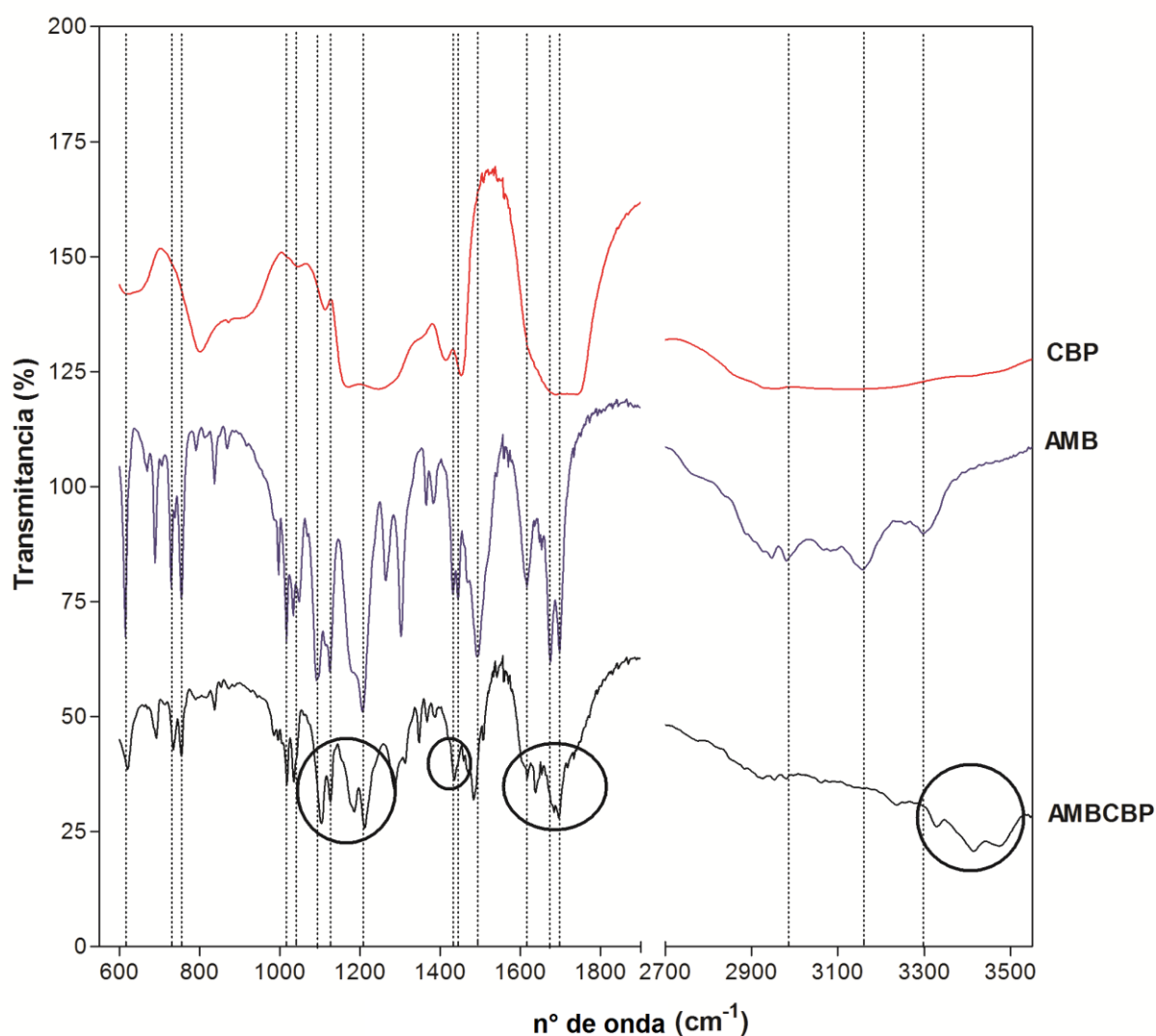
Figura 20. Espectro do AMBPEG, PEG e AMB



As alterações físicas ocorridas quando o AMB é complexado ao Carbopol® são observadas na Figura 21, assim como ocorreu com as demais dispersões às bandas de N-H foram deslocados para frequências mais altas em 3473 cm^{-1} e o C-H de aromático sofreu

supressão. Os trechos aromáticos também apresentam mudanças, assim como o estiramento de éster e sulfonato ($S=O$) (Tabela 8). A hidratação da molécula do polímero também contribui para o maior deslocamento na faixa do N-H, uma vez que essa banda indica forte ligação de hidrogênio envolvido com esse grupo (SZABÓ et al., 2009).

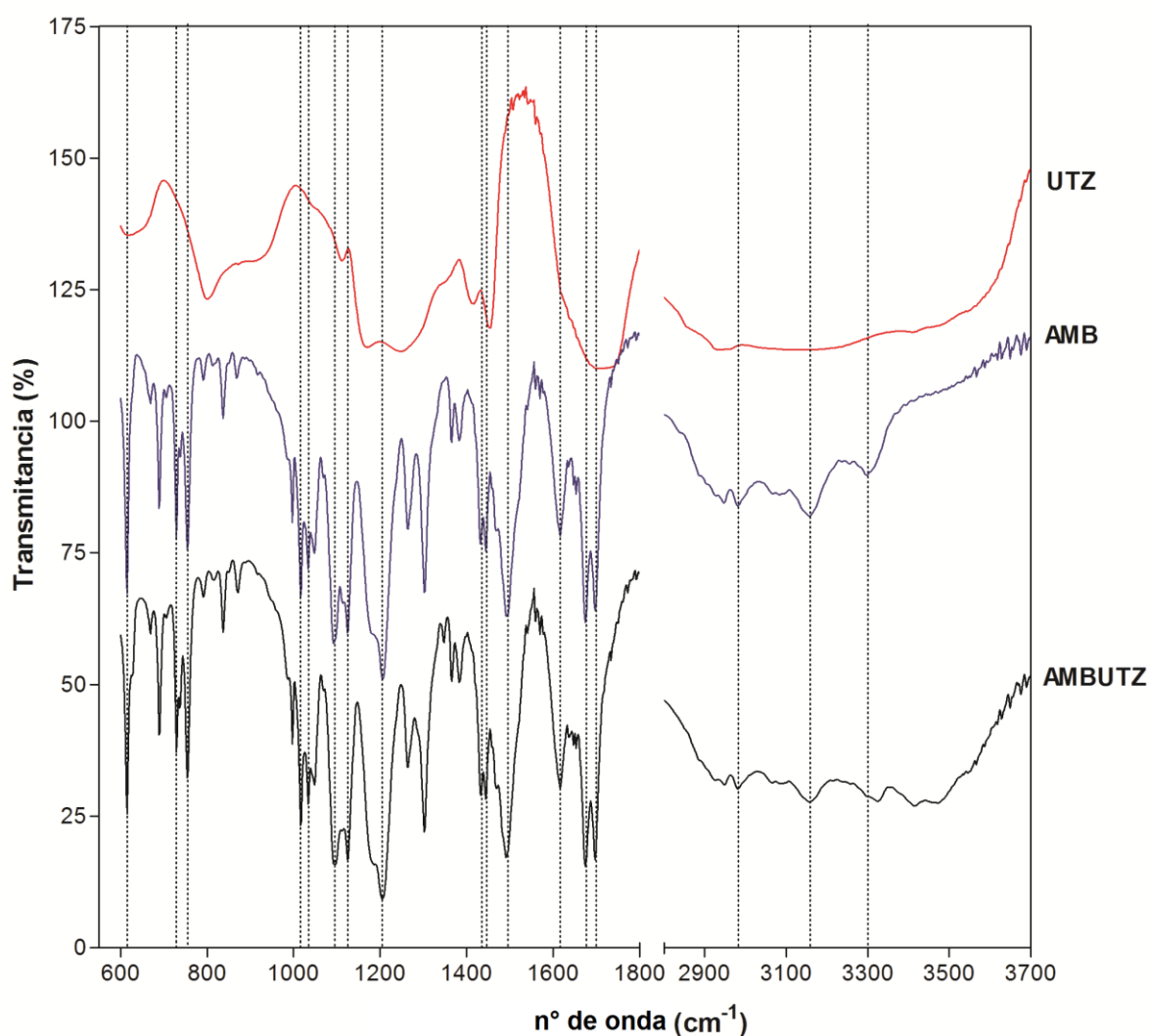
Figura 21. Espectro de AMBCBP, AMB e CBP.



A Figura 22 mostra o espectro da dispersão sólida do AMB usando o Carbopol Ultrez®, a maioria das bandas característica do besilato de anlodipino não sofreram alterações, observa-se como nas demais dispersões o adiantamento na faixa de absorção da amina, segundo Szabó et al, 2009, as diferenças vibracionais para regiões mais altas do espectro ocorre particularmente na banda de N-H, através de interações intermoleculares dos grupos NH e NH_3^+ . Na estrutura do besilato de anlodipino o grupo N-H do anel

dihidropiridina forma uma ligação de hidrogênio bifurcada, fazendo com que essa força de ligação diminua devido a essas duas pontes de hidrogênio, logo o hidrogênio envolvido no grupo amina (N-H) faz com que a faixa apresente-se em um comprimento de onda menor que as dispersões aqui estudadas (KORADIA et al., 2010).

Figura 22. Espectro do AMBUTZ, AMB e UTZ.

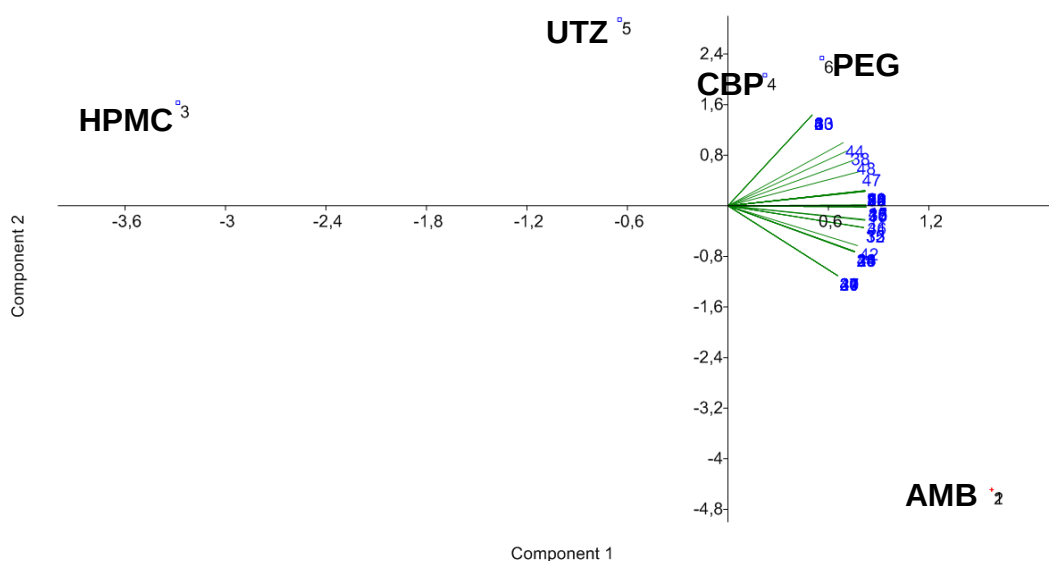


Análise estatística pelo modelo componente principal mostra a variação das dispersões sólidas em seu arranjo cristalino e as interações moleculares ocorridas nas dispersões sólidas, correlacionando a posição angular e intensidade relativa do DRX com a variação das bandas de absorção no FTIR, onde o AMBPEG e o AMBCBP contribuiu de forma positiva.

Ao comparar esses dois métodos (Figura 23), observamos que as variações ocorridas no comprimento de onda do espectro de infravermelho não interfere nos resultados obtidos na técnica de DRX, o que significa que o método de infravermelho não é tão discriminatório quanto o DRX.

Na PCA, o primeiro e o segundo componentes principais (PCs) explicam correlação existente dentro dos grupos em 44,11% (PC1), 26,54 (PC2) e 17,76% (PC3), respectivamente. As dispersões sólidas estão distribuídas no PC1 positivo e negativo, com nenhuma intersecção de amostra no PC1 positivo no intervalo de confiança de 95%. Nas dispersões sólidas não temos indícios que apenas os deslocamentos de bandas na região de IR seja útil na discriminação, visto que não apresentou variações.

Figura 23. Gráfico de componente principal comparando DRX e FTIR



5.2.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC nas razões de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ das dispersões sólidas apresentaram perfil térmico diferente em relação ao fármaco na faixa de temperatura de 190 a 220°C (Tabela 9), destacando-se a curva de DSC do AMBHPMC que mostrou uma supressão na temperatura do pico de fusão nessa faixa de interesse. Por meio da análise das curvas de DSC fica visível que

o *AMBCBP*, *AMBPEG* e *AMBUTZ* suas variações na temperatura de pico de fusão foram baixas como mostrado na Figura 24.

As curvas de DSC da dispersão com o HPMC apresentou supressão do pico de fusão do fármaco mostrando a interação entre as moléculas do fármaco com as do surfactante, essa interação física pode ser confirmada pelos dados do DRX que mostra o *AMBHPMC* totalmente amorfo.

O perfil de cristalinidade das dispersões com Carbopol® e PEG 6000 mostrou nas curvas de DSC o pico de fusão semelhante ao do fármaco isolado com picos mais largos e curtos o que colabora com os dados do DRX onde esses apresentaram maior grau de cristalinidade.

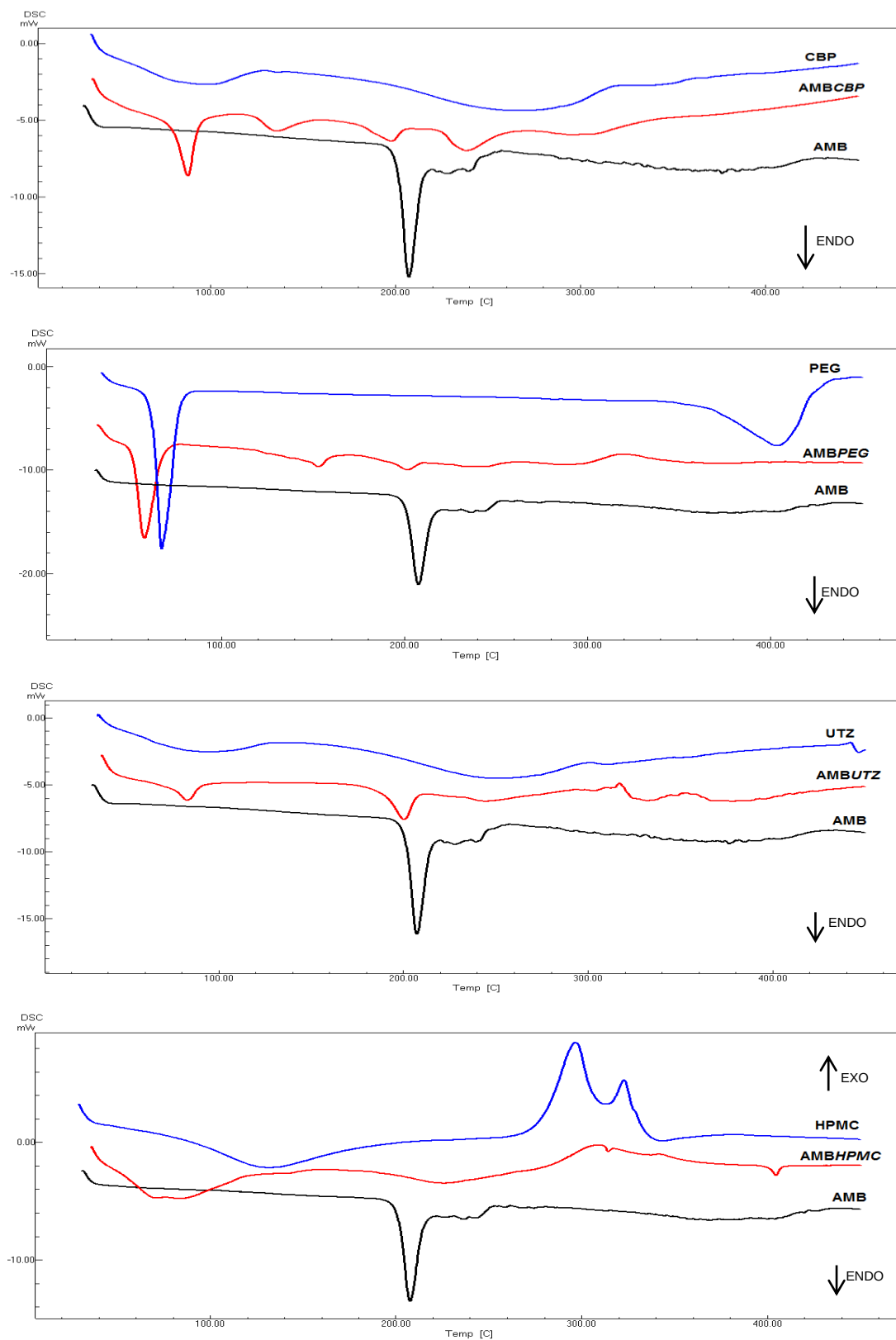
O *AMBUTZ* foi o que apresentou maior aproximação da temperatura de fusão do fármaco, o que corrobora com os dados do FTIR que mostra uma semelhança no perfil do espectro do infravermelho, assim como relativo grau de cristalinidade no DRX.

Dessa forma analisando a Tabela 9 é possível caracterizar as amostras através da transição de fase de fusão, verificando a seguinte ordem crescente de ponto de fusão *AMBHPMC* < *AMBCBP* < *AMBPEG* < *AMBUTZ* < *AMB*.

Tabela 9. Dados das curvas de DSC do besilato de anlodipino e suas dispersões sólidas

Matéria	Pico de fusão (°C)	Entalpia (J/g)
<i>AMB</i>	207,6	76,4
<i>AMBCBP</i>	198,2	13,2
<i>AMBHPMC</i>	---	---
<i>AMBPEG</i>	199,4	9,8
<i>AMBUTZ</i>	200,3	29,7

Figura 24. Curvas calorimétricas do AMB e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$



5.2.4. Termogravimetria (TG)

As curvas do TG do besilato de anlodipino apresentaram três estágios de decomposição térmica na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, enquanto que as dispersões sólidas variaram entre 4 a 5 etapas (Figura 25). O principal estágio de degradação do fármaco foi o primeiro estágio que na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$, apresentou uma perda de massa de $\Delta m = 21,6\%$ ($T_{\text{inicial}} = 238,9^{\circ}\text{C}$ e $T_{\text{final}} = 261^{\circ}\text{C}$).

As dispersões com Carbopol Ultrez® e Carbopol® apresentaram uma interação química, observadas pelas mudanças nas curvas do TG, onde a faixa de temperatura de decomposição foi inferior ao fármaco, apresentando uma antecipação do processo de degradação quando o fármaco interage com esses surfactantes.

Para as dispersões AMBPEG e AMBHPMC observa-se que esses surfactantes tiveram um perfil mais protetor, uma vez que o início do processo de degradação ocorreu em uma temperatura muito próxima ou maior que a IFA. Esses dados colaboram com os achados no DRX de amorfização da dispersão com HPMC mostrando que esse surfactante se complexou com o fármaco causando esse efeito, assim como os dados da curva de DSC que mostrou uma supressão do pico de fusão da dispersão.

Os dados de TG mostram na tabela 10 uma seguinte ordem crescente de estabilidade $\text{AMBCBP} < \text{AMBUTZ} < \text{AMBHPMC}_{\text{amorfa}} = \text{AMBPEG} = \text{AMB}$.

Análise estatística pelo modelo componente principal, mostra a correlação dos dados DRX em pó, FTIR e AT das dispersões sólidas 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 25).

Na PCA, os três componentes principais (PCs) explicam a correlação existente dentro dos grupos, 44,35% (PC1), 26,93% (PC2) e 16,53% (PC3). Nítida distinção das amostras é observada no intervalo de confiança de 95%, com AMB e AMBPEG no PC1 positivo e AMBCBP, AMBUTZ e AMBHPMC no PC1 negativo, sem intersecção das amostras. Entre as amostras com características cristalinas a dispersão sólida AMBPEG sofreu menor interação física fármaco-excipiente.

A 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.

Tabela 10. Temperatura inicial do estagio principal do fármaco e das dispersões sólidas na razão de 10 °C min⁻¹.

Matéria	T_i (°C)	T_f (°C)	% de Perda de massa
AMB	238,9	261,0	21,6
AMBCBP	206,7	236,5	15,6
AMBPEG	232,6	259,2	6,78
AMBUTZ	212,6	239,6	14,4
AMBHPMC	228,6	252,4	4,32

Figura 25. Curvas termogravimétricas do AMB e suas dispersões sólidas na razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ em atmosfera de azoto dinâmico (50 e 20 $\text{mL}.\text{min}^{-1}$)

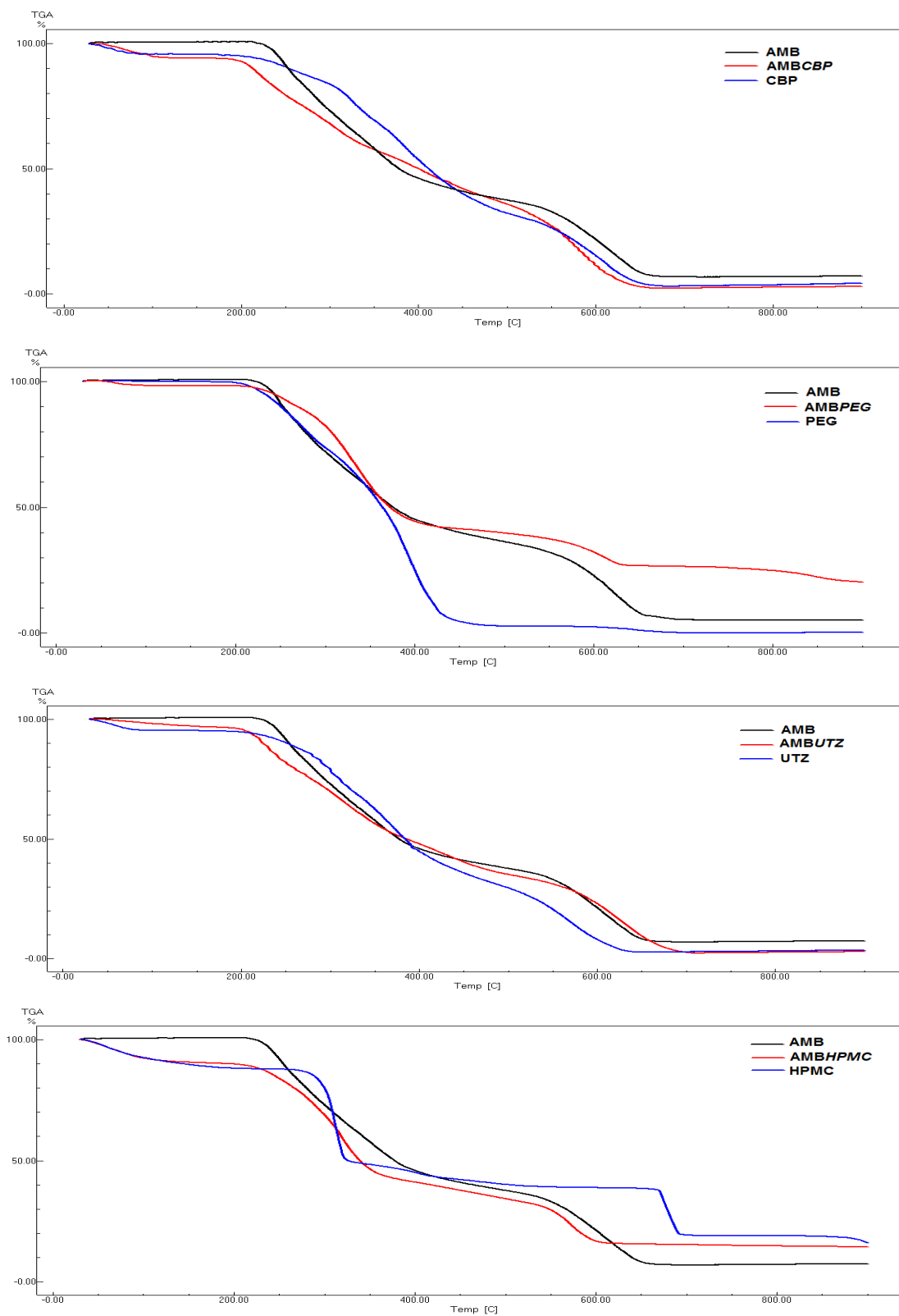
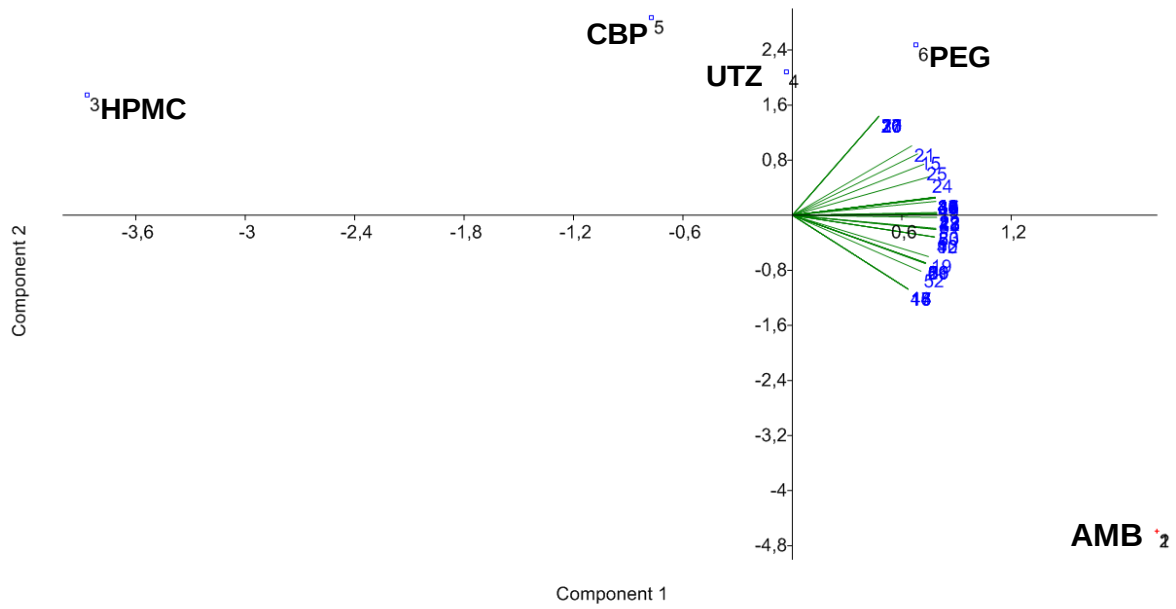


Figura 26. Gráfico de componente principal comparando DRX, FTIR e AT



CONSIDERAÇÕES FINAIS

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados dos difratogramas mostraram a existência de diferentes estruturas cristalinas para o besilato de anlodipino conforme o solvente de recristalização, os dados do FTIR não foram seletivos para observação dessas mudanças, uma vez que a faixas de deslocamentos foram baixas.

Os parâmetros cinéticos mostraram interação física, o besilato de anlodipino e seus cristais apresentam um comportamento estáveis com picos de fusão semelhantes nas curvas de DSC e faixa de decomposição semelhante no TG.

Dispersões sólidas obtidas por liofilização foram caracterizadas pelas técnicas de FTIR, DRX, DSC E TG, sendo possível compreender as interações físico-químicas ocorridas nesses produtos intermediários.

Os resultados do DRX mostram a amorfização da dispersão sólida obtida com o HPMC com modificação no seu arranjo cristalino. A complexação do HPMC com o besilato de anlodipino favorece a formação de pontes de hidrogênios e essas acarretam em deslocamento no comprimento de onda que foi visto no FTIR.

Interações químicas podem ser visualizadas para as dispersões com o Carbopol Ultrez® e Cabopol®, com alargamento do pico de fusão e temperatura do pico de fusão menor que o do fármaco puro, assim como antecipação da faixa de degradação na curva de TG. Já as dispersões com HPMC e PEG, apresentaram na curva de DSC, supressão do pico de fusão e alargamento de pico, respectivamente. Nas curvas do TG essas dispersões favoreceram a estabilidade térmica do fármaco.

A correlação dos dados térmicos, cristalográficos de DRX em pó e espectroscópicos de FTIR pode ser uma metodologia aplicada nos estudos de caracterização do estado sólido dos diferentes cristais e das dispersões sólidas de fármacos.

REFERENCIAS

REFERÊNCIAS

- AHMED, S., SHERAZ, M. A., YORUCU, C., & UR REHMAN, I. Quantitative determination of tolfenamic acid and its pharmaceutical formulation using FTIR and UV spectrometry. **Central European Journal of Chemistry**, v. 11, n. 9, p. 1533-1541, 2013.
- AJRIN, M., SEN, N., KHAN, I. N., KHAN, M. I. Effect of Ca (II) ion on the in vitro availability and protein binding of Amlodipine besylate. **Journal of Pharmacy Research**, v. 7, n. 8, p. 671–676, ago. 2013.
- ALLEN JUNIOR, L. V.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos**. 8 ed, Porto Alegre: Artmed, p. 111 e 117-119, 2007.
- AL-OBAIDI, H., KE, P., BROCCCHINI, S., BUCKTON, G. Characterization and stability of ternary solid dispersions with PVP and PHPMA. **International journal of pharmaceutics**, v. 419, n. 1, p. 20-27, 2011.
- ANANCHENKO G, NOVAKOVIC J, LEWIS J. **Amlodipine besylate**. Profiles Drug Subst. Excip. Relat. Methodol. p. 31–77, 2012.
- ANAND BABU, K.; VINOTH KUMAR, G.; SIVASUBRAMANIAN, L. Simultaneous estimation of Ramipril and Amlodipine in pharmaceutical dosagem form by RP-HPLC method. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. v.3, n.4, p.196 – 198, 2011.
- ANVISA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 136, DE 29 DE MAIO DE 2003. Dispõe sobre o registro de medicamento novo.**
- ARAÚJO de, C. R.; MOTHE, C. G. Uso de programa computacional aliado às técnicas de análise térmica para determinação de parâmetros cinéticos de compósitos de pu/fibra de curauá. **Revista Analytica**, Rio de Janeiro, n. 4, p. 37 – 43, Mai. 2003.

BERNAL, C.; COUTO, A.B.; BREVIGLIERI, S.T.; CAVALHEIRO, E.T.G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais-DSC. **Química Nova**, v.25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BERNSTEIN, J. **Polymorphism in Molecular Crystals**. Oxford University. Press: New York, 2002.

BÖER M. T., PROCÓPIO V. V. J., NASCIMENTO, G. T., MACÊDO, O. R. Correlation of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC–MS in the characterization of tacrolimus. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. vol. 73, p. 18-23, 2013.

BRITISH PHARMACOPOEIA COMISSION. **British pharmacopoeia 2009**. London: The Stationery Office, 2009. v. 1-2, p. 1381-1385. CD-ROM.

BROUGH, C., WILLIAMS, R.O. Amorphous solid dispersions and nano-crystal technologies for poorly water-soluble drug delivery. **International Journal of Pharmaceutics**. vol. 453. p.157– 166, 2013.

BYRN, S.R.; PFEIFFER R.R.; STOWELL J.G. **Solid-state Chemistry of Drugs**. 2nd ed. West Lafayette: SSCI. p. 3-43, 1999.

CALLISTER JUNIOR; WILLIAN D. **Ciência e Engenharia de Materiais: Uma introdução**. 7. ed. São Paulo: LTC, p. 366, 2008.

CAMPBELL, S. F., MASON R. P., WANG, S., HERBETTE, L.G. Comparison of Location and Binding for the Positively Charged 1,4- Dihydropyridine Calcium Channel Antagonist Amlodipine with Uncharged Drugs of this Class in Cardiac Membranes. **Molecular Pharmacology**. Vol. 36, p. 634-640, 1989.

CAUSIN, V., MAREGA, C., MARIGO, A., CARRESI, P., GUARDIA, V. D., SCHIAVONE, S. A method based on thermogravimetry/differential scanning calorimetry for the forensic differentiation of latex gloves. **Forensic Science International**, vol. 188, p.57– 63, 2009.

CHIOU, W.L., RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **J. Pharm. Sci.** vol. 60, p. 1281–1302, 1971.

CHONG-KOOK KIMA, DONG-JIN JANGA, EUN JU JEONGB, HWA-MI LEEA, BAE-CHAN KIMA, SOO-JEONG LIMC. Improvement of bioavailability and photostability of amlodipine using redispersible dry emulsion. **European journal of pharmaceutical sciences.** vol. 28, p. 405-411, 2006.

CLAS, S. D., FAIZER, R., O'CONNOR, R. E., & VADAS, E. B. Quantification of crystallinity in blends of lyophilized and crystalline MK-0591 using X-ray powder diffraction. **International journal of pharmaceuticals**, v. 121, n. 1, p. 73-79, 1995.

CORDELLA C.; ANTINELLI J. F.; AURIERES C.; FAUCON J. P.; CABROL-BASS D.; SBIRRAZZUOLI, N. Use of differential scanning calorimetry (DSC) as a new technique for detection of adulteration in honeys. 1. Study of adulteration effect on honey thermal behavior. **J Agric Food Chem.** vol. 203, p. 208-50, 2002;

DUARTE, I., TEMTEM, M., GIL, M., GASPAR, F. Overcoming poor bioavailability through amorphous solid dispersions. **Ind. Pharm.** vol. 30, p.4–6, 2011.

DUDA-SEIMAN, C., VLASE, T., VLASE, G., DUDA-SEIMAN, D., ALBU, P., DOCA, N. Thermal analysis study of amlodipine as pure compound and in binary mixture. **Journal of thermal analysis and calorimetry.** v. 105, n. 2, p. 677-683, 2011.

ETTEMA, G. J. B.; HOORN, H.; LEMMENS, J. M. Amlodipine salt forms and processes for preparing them. **US6828339B2**, 2004.

FELIX, F. S., DA SILVA, L. C., ANGNES, L., & MATOS, J. R. Thermal behavior study and decomposition kinetics of salbutamol under isothermal and non-isothermal conditions. **Journal of thermal analysis and calorimetry.** vol.95, n°3, p.877-880, 2009.

FLORENCE, A. T., ATTWOOD, DAVID. **Princípios físico-químicos em farmácia.** Pharmabooks, 2011.

GARDNER, C. R.; WALSH, C. T.; ALMARSSON, O. Drugs as materials: valuing physical form in drug discovery. **Nat. Rev. Drug. Discovery**. vol. 3 n.11, p.926–934, 2004.

GIRI K.T., KUMAR K., ALEXANDER A., AJAZUDDIN, BADWAIK H., TRIPATHI K. D. A novel and alternative approach to controlled release drug delivery system based on solid dispersion technique. **Bulletin of Faculty of Pharmacy**. vol 50, p. 147–159, 2012.

GU C.; YOUNG Jr. V.; GRANT D.J.W. Polymorph Screening: Influence of Solvents on the Rate of Solvent-mediated Polymorphic Transformation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol.90, p. 1978-1890; 2001.

GUS, M., GUERRERO, P., FUCHS, F.D. Perspectivas da associação de fármacos no tratamento da hipertensão arterial sistêmica. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Rio Grande do Sul**. Rio Grande do Sul, nº 06, Set/Out/Nov/Dez, 2005.

HATAKEYAMA, T. & QUINN, F. X. **Thermal Analysis: fundamentals and applications to polymer science**. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons, 1999.

HILFIKER, R.; BLATTER, F.; VON RAUMER, M. Relevance of solid-state properties for pharmaceutical products. **In Polymorphism: In the Pharmaceutical Industry**. p. 1-19, 2006.

HIRASAWA, N., ISHISE, S., MIYATA, H., DANJO, K. Physicochemical characterization and drug release studies of nilvadipine solid dispersions using a water-insoluble polymer as a carrier. **Drug Dev. Ind. Pharm.** vol. 29, p. 339–344, 2003.

HUMPHREYS, A., BOERSIG, C. Cholesterol drugs dominate. **Med. Ad. News**, vol. 22, p. 42–57, 2003.

ICH - INTERNACIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **Quality guidelines Q8 (R1) pharmaceutical development**. Geneve: ICH, 2005.

IONASHIRO, M. Giolito. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz, 2005.

IONASHIRO, M. Giolito. **Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial**. São Paulo: Giz, 2005.

JØRGENSEN, A. C., STRACHAN, C. J., PÖLLÄNEN, K. H., KORADIA, V., TIAN, F., RANTANEN, J. An insight into water of crystallization during processing using vibrational spectroscopy. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 98, n. 11, p. 3903-3932, 2009.

JOSHI, SNEHA J.; KARBHARI, PRADNYA A.; BHOIR, SUVARNA I. RP-LC simultaneous determination of nebivolol hydrochloride and amlodipine besilate in bi-layer tablets. **Chromatographia**. v. 70, n. 3-4, p. 557-561, 2009.

KAPOR, A., NIKOLIĆ, V., NIKOLIĆ, L., STANKOVIĆ, M., CAKIĆ, M., STANOJEVIĆ, L., ILIĆ, D. Inclusion complexes of amlodipine besylate and cyclodextrins. **Central European Journal of Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 834-841, 2010.

KAUSHAL, Aditya Mohan; GUPTA, Piyush; BANSAL, Arvind Kumar. Amorphous drug delivery systems: molecular aspects, design, and performance. **Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 21, n. 3, 2004.

KAWAI, H.; DEGUCHI, S.; DEGUCHI, K.; YAMASHITA, T.; OHTA, Y.; SHANG, J.; TIAN, F.; ZHANG, X.; LIU, N.; LIU, W.; IKEDA, Y.; MATSUURA, T.; ABE, K. Synergistic benefit of combined amlodipine plus atorvastatina on neuronal damage after stroke in Zucker metabolic rat. **Brain Research**. v. 1368, p.317 – 323, 2011.

KIM, BO-HYUNG, KIM, JUNG-RYUL, MIN-GUL KIM, KYU-PYO KIM, BONG-YONG LEE, IN-JIN JANG, SANG-GOO SHIN, YU KYUNG-SANG. Pharmacodynamic (Hemodynamic) and Pharmacokinetic Comparisons of S-Amlodipine Gentisate and Racemate Amlodipine Besylate in Healthy Korean Male Volunteers: Two Double-Blind, Randomized, Two-Period, Two-Treatment, Two-Sequence, Double-Dummy, Single-Dose Crossover Studies. **Clinical Therapeutics**. vol. 32, Number 1, 2010.

KOGERMANN K, VESKI P, RANTANEN J, NAELAPÄÄ K. X-ray powder diffractometry in combination with principal component analysis--a tool for monitoring solid state changes. **Eur. J. Pharm. Sci.** vol. 43, p. 278–89, 2011.

KORADIA, V., LOPEZ DE DIEGO, H., FRYDENVANG, K., RINGKJØBING-ELEMA, M., MÜLLERTZ, A., BOND, A. D., RANTANEN, J. Solid Forms of Amlodipine Besylate: Physicochemical, Structural, and Thermodynamic Characterization. **Cryst. Growth Des.** vol. 10, p. 5279–90, 2010.

KOROLKOVAS, A. FRANÇA, F. F. A. C. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2011.

LAMBI, J. N.; NSEHYUKS, A. T.; EGBEWATT, N.; CAFFERATA, L. F. R. & ARVIA, A. J. Synthesis, spectral properties and thermal behaviour of zinc(II) acetylsalicylate. **Thermochim Acta**. vol. 398, n° 1-2, p.145-51, 2003.

LAURO, M. R., CARBONE, C., AUDITORE, R., MUSUMECI, T., SANTAGATI, N. A., AQUINO, R. P., PUGLISI, G. A new inclusion complex of amlodipine besylate and soluble β -cyclodextrin polymer: preparation, characterization and dissolution profile. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 76, n. 1-2, p. 19-28, 2013.

LEITE, R. D. S., MACEDO, R. D. O., TORRES, S. M., BATISTA, C. C. N., BALTAZAR, L. D. O., NETO, S. A. L., DE SOUZA, F. S. Evaluation of thermal stability and parameters of dissolution of nifedipine crystals. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2117-2123, 2013.

LEUNER, C., DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **Eur. J. Pharm. Biopharm.** vol. 50, p. 47–60, 2000.

LINDFORS, L., FORSSÉN, S., WESTERGREN, J., OLSSON, U. Nucleation and crystal growth in supersaturated solutions of a model drug. **J. Colloid Interface Sci.** vol. 325, p. 404–413, 2008.

LU, L., SAHAJWALLA, V., KONG, C., & HARRIS, D. Quantitative X-ray diffraction analysis and its application to various coals. **Carbon**, v. 39, n. 12, p. 1821-1833, 2001.

LUNDSTROM, K. Structural genomics for membrane proteins. **Cellular and Molecular Life Sciences CMLS**, v. 63, n. 22, p. 2597-2607, 2006.

MACHADO, L.D.B.; MATOS, J.R. Analise térmica – Termogravimetria. In: CANEVARO JR., S.V. **Técnicas de Caracterização de Polímeros**. São Paulo: Artliber, p. 209-261, 2004.

MCDAID, D. M., DEASY, P.B. Formulation development of a transdermal drug delivery system for amlodipine base. **International Journal of Pharmaceutics**, vol. 133, p. 71- 83, 1996.

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

MIELCAREK, J.; CZERNIELEWSKA, A.; CZARCZYŃSKA, B. Inclusion Complexes of Felodipine and Amlodipine with Methyl- β -cyclodextrin. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 54, n. 1-2, p. 17–21, fev. 2006.

NAIDU, K.R.; KALE, U.N.; SHINGARE, M.S. Stability RP-HPLC method for simultaneous determination of amlodipine and benazepril hydrochloride from their combination drug product. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. v.39, n.1-2, p.147-155. 2005.

PADILHA, ANGELO FERNANDO. **Materiais de engenharia**. Hemus, 1997.

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

PFIZER, 2014. Disponível em
<http://www.pfizer.com.br/sites/g/files/g10018481/f/product_attachments/Norvasc_PS.pdf>
acesso em 15 de outubro de 2014.

PUGLISI, G., LAURO, M. R., CARBONE, C., AUDITORE, R., MUSUMECI, T., SANTAGATI, N. A., AQUINO, R. P. A new inclusion complex of amlodipine besylate and soluble β -cyclodextrin polymer: preparation, characterization and dissolution profile. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v. 76, n. 1-2, p. 19-28, 2013.

QUTAB, S.S.; RAZZAQ, S. N.; ASHFAQ, M.; KHAN, I.U.; MUMTAZ, A.M. Simultaneous quantitation of olmesatan medoxomil and amlodipine besylate in combined tablets using HPLC. **Journal of the Chilean Chemical Society**. V.54, n.3, p.234 – 237. 2009.

RAGHAVAN, S.L., TRIVIDIC, A., DAVIS, A.F., HADGRAFT, J. Crystallization of hydrocortisone acetate: influence of polymers. **Int. J. Pharm.** vol. 212, p. 213-221, 2001.

RAGNO, G., GAROFALO A., VETUSCHI C. Photodegradation monitoring of amlodipine by derivative Spectrophotometry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, vol. 27, p. 19–24, 2003.

RAW, A. S., FURNESS, M. S., GILL, D. S., ADAMS, R. C., HOLCOMBE, F. O., & LAWRENCE, X. Y. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Advanced drug delivery reviews**, v. 56, n. 3, p. 397–414, 23 fev. 2004.

RIBEIRO, W., MUSCARÁ, M. N. Características farmacocinéticas de antagonistas de cálcio, inibidores da ECA e antagonistas de angiotensina II em humanos. **Revista Brasileira de Hipertensão**. v. 8, n.1, p. 114-124, 2001.

ROLLINGER, J. M.; BURGER, A. Physico-chemical characterization of hydrated and anhydrous crystal forms of amlodipine besylate. **Journal of thermal analysis and calorimetry**. v. 68, n. 2, p. 361-372, 2002.

RUSTICHELLI, C., GAMBERINI, G., FERIOLI, V., GAMBERINI, M. C., FICARRA, R., TOMMASINI, S. Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepine. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 23, n. 1, p. 41-54, 2000.

SANGEETHA MK, MARIAPPAN M, MADHURAMBAL G, MOJUMDAR SC. TG–DTA, XRD, SEM, EDX, UV, and FT-IR spectroscopic studies of l-valine thiourea mixed crystal. **J. Therm. Anal. Calorim.** 2014.

SAREEN, S., MATHEW, G., JOSEPH, L. Improvement in solubility of poor water soluble drugs by solid dispersion. **Int. J. Pharm. Invest.** n° 2, p. 12–17, 2012.

SARGE, S.; BAUERECKER, S.; CAMMENGA, H. K. Calorimetric determination of purity by simulation of DSC curves. **Thermochimica acta**, v. 129, n. 2, p. 309-324, 1988.

SARMA, B., CHEN, J., HSI, H. Y., MYERSON, A. S. Solid forms of pharmaceuticals: Polymorphs, salts and cocrystals. **Korean Journal of Chemical Engineering**. v. 28, n. 2, p. 315–322, 31 jan. 2011.

SILVA, A. C. M., GÁLICO, D. A., GUERRA, R. B., PERPÉTUO, G. L., LEGENDRE, A. O., RINALDO, D., BANNACH, G. Thermal stability and thermal decomposition of the antihypertensive drug amlodipine besylate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**. p. 1-4, 2014.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed., Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SINKO PJ. MARTIN. **Físico-Farmácia e Ciências Farmacêuticas**. 5. ed, Porto Alegre: Artmed; p. 810, 2008.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de Análise Instrumental**. 5 ed, Porto Alegre: Bookman, p. 271, 640 e 704-712, 2002.

STOCK, S. R.; CULLITY, B. D. **Elements of X-ray diffraction**. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, 2001.

STORPIRTIS, S., GONÇALVES, J. E., CHIANN, C., & GAI, M. N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

SZABÓ, L., CHIȘ, V., PÎRNĂU, A., LEOPOLD, N., COZAR, O., & OROSZ, S. Spectroscopic and theoretical study of amlodipine besylate. **Journal of Molecular Structure**, v. 924, p. 385-392, 2009.

THOMAS, M. J. K. BARNES, J. D. DENNEY, R. C. MENDHAM, J. **Vogel: Análise Química Quantitativa**. LTC editora. 6 ed. Rio de Janeiro. p. 265-276, 2002.

TOMASSETTI, M.; CATALANI, A.; ROSSI, V. & VECCHIO, S. Thermal analysis study of the interactions between acetaminophen and excipients in solid dosage forms and in some binary mixtures. **J Pharm Biomed Anal**. v. 37, p. 949-55, 2005.

TOPOR, N.D., AVRAMENKO, N.V. Application of DSC for the determination of purity of organic semiconductors. **Journal of Thermal Analysis**. vol 33, p. 1221—1229, 1988.

VASCONCELOS, T., SARMENTO, B., COSTA, P. Solid dispersion as strategy to improve oral bioavailability of poor water soluble drugs. **Drug Discov**. vol. 12, p. 1068–1075, 2007.

VIANA, O. S.; ARAÚJO, A. A.S.; SIMÕES, R. A.; SOARES, J. L.; MATOS, C. R.S.; GRANGEIRO-JÚNIOR, S.; LIMA, C. M.; ROLIM-NETO, P. J. Kinetic Analysis of the Thermal Decomposition of Efavirenz and Compatibility Studies with Selected Excipients. **Latin American Journal of Pharmacy**. vol. 27, 2008.

VIEGAS, T. X., CURATELLA, R. U., VANWINKLE, L.L., BRINKER, G. Intrinsic drug dissolution testing using the stationary disk system. **Dissolution Technologies**, v. 8, p. 11-15, 2001.

WANG, Z., DENG, Y., SUN, S., ZHANG, X. Preparation of hydrophobic drugs cyclodextrin complex by lyophilization monophasic solution. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 32, n. 1, p. 73-83, 2006.

WENDHAUSEN, P.A. Caracterização de materiais III. **Análise Térmicas**. vol 1, p.223-245, 2005.

WENDLANDT, W. W. **Thermal Analysis**, 3ª edição. New York: Willey, p. 814, 1986.

WILLIAMS, H. D., WARD, R., HARDY, I. J., MELIA, C. D. The extended release properties of HPMC matrices in the presence of dietary sugars. **Journal of Controlled Release**, v. 138, n. 3, p. 251-259, 2009.

WOJNAROWSKA, Z., GRZYBOWSKA, K., ADRIANOWICZ, K., KAMINSKI, K., PALUCH, M., HAWELEK, L., BIEG, T. Study of the Amorphous Glibenclamide Drug: Analysis of the Molecular Dynamics of Quenched and Cryomilled Material. **Molecular Pharmaceutics**, v. 7, n.5, p.1692–1707, 2010.

WU, K., LI, J., WANG, W., WINSTEAD, D.A. Formation and characterization of solid dispersions of piroxicam and polyvinylpyrrolidone using spray drying and precipitation with compressed antisolvent. **J. Pharm. Sci.** vol. 98, p. 2422-2431, 2009.

XIE, Y., XIE, P., SONG, X., TANG, X., SONG, H. Preparation of esomeprazole zinc solid dispersion and study on its pharmacokinetics. **International Journal of Pharmaceutics**. vol 360, p.53-57, 2008.

YANG, Xinghao et al. Detecting and Identifying the Complexation of Nimodipine with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin Present in Tablets by Raman Spectroscopy. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.97, n.7, p. 2702-2719, 2008.

YOSHIDA, M. I. *Tese de Doutorado*. Instituto de Ciências Exatas, UFMG. Belo Horizonte, 1993

YUNZHE, S., RUI, Y., WENLIANG, Z., XING, T. Nimodipine semi-solid capsules containing solid dispersion for improving dissolution. **International journal of Pharmaceutics**. vol. 359, p.144-149, 2008.

ZIMMERMANN B., BARANOVIĆ G. Thermal analysis of paracetamol polymorphs by FT-IR spectroscopies. **J. Pharm. Biomed. Anal.** vol. 54, p. 295–302, 2011.