



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

Centro de Ciências da Saúde

Departamento de Farmácia

Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas

Karla Monik Alves da Silva

**ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE  
MICROPARTICULADO CONTENDO ATORVASTATINA CÁLCICA**

Recife

2016

Karla Monik Alves da Silva

**ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE  
MICROPARTICULADO CONTENDO ATORVASTATINA CÁLCICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr Fábio Santos de Souza

Coorientador: Dr<sup>a</sup> Mara Rúbia Winter de Vargas

Recife

2016

Catálogo na Publicação (CIP)  
Bibliotecária: Gláucia Cândida, CRB4 1662

S586e Silva, Karla Monik Alves da.  
Estudos de caracterização e estabilidade de microparticulado contendo atorvastatina cálcica / Karla Monik Alves da Silva. – 2016.  
155 f: il. ; 30 cm.

Orientador: Fábio Santos de Souza.  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS.  
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Recife, 2016.  
Inclui referências.

1. Solubilidade. 2. Estabilidade de Medicamentos. 3. Reprodutibilidade de Testes. I. Souza, Fábio Santos de (Orientador). II. Título.

615.3 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2016-160)

Karla Monik Alves da Silva

**ESTUDOS DE CARACTERIZAÇÃO E ESTABILIDADE DE  
MICROPARTICULADO CONTENDO ATORVASTATINA CÁLCICA**

Dissertação apresentada ao Programa de  
Pós-Graduação em Ciências  
Farmacêuticas da Universidade Federal  
de Pernambuco como requisito parcial  
para obtenção do título de Mestre em  
Ciências Farmacêuticas.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof. Dr. Fábio Santos de Souza  
Orientador

---

Prof. Dr. José Lamartine Soares Sobrinho-UFPE  
Membro interno

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Ana Cláudia Dantas de Medeiros-UEPB  
Membro externo

Recife, fevereiro de 2016.

**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.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Elba Lúcia Cavalcante de Amorim**

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

**Prof. Almir Gonçalves Wanderley**

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

**Prof. Dr. Rafael Matos Ximenes**

*Aos meus pais, Antônio Neto e Dapaz,*

*Pelo amor e referência de valores.*

*Ao meu irmão, Charles,*

*Pela cumplicidade e apoio.*

*A minha amada avó, Gercina,*

*Pelo imenso amor e dedicação prestada.*

*Ao meu namorado, Felipe,*

*Pelo amor, amizade e companheirismo.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as bênçãos derramadas durante a realização desse sonho.

A toda minha família pelo incentivo e pelas referências de valores ensinadas.

Aos meus pais, Antônio Neto e Dapaz por acreditarem em mim e sempre apoiarem e incentivarem com muito amor a minha luta durante todos esses anos.

A minha avó, Gercina por toda ternura e amor que serviram como incentivo à realização dessa etapa.

Ao meu irmão Charles pela cumplicidade e amizade.

Ao meu namorado, Felipe por ter se tornado meu ponto forte durante a concretização dessa etapa, dividindo comigo as angústias e alegrias, incentivando-me a seguir adiante e não desistir do meu sonho.

As minhas amigas, Joanda, Gisele, Laianne, Monique, Elaine, Magna, Luiza e Elviane pelo apoio e por estarem sempre conectadas comigo mesmo nas maiores distâncias.

Aos meus companheiros de vida, Deysiane e Fernando pelos ensinamentos, amor, cumplicidade e apoio durante essa nova etapa das nossas vidas.

Ao laboratório unificado de desenvolvimento e ensaios de medicamentos (LUDEM) em especial a José Venancio e Severino pela ajuda científica e a Nathália e Pollianne por terem se tornado um ícone importante principalmente na etapa final dessa jornada.

Ao meu orientador Fábio de Souza por ter me acolhido no grupo, me proporcionando conhecimentos ímparos.

À minha coorientadora Mara Rúbia pela ajuda, incentivo, motivação e todos os ensinamentos científicos e humanos.

Ao laboratório de desenvolvimento e ensaios de medicamentos (LABDEM) pelo apoio sempre prestado, em especial a Thiago Pereira, Cleildo Santana e a professora Ana Cláudia por todos os ensinamentos ao longo da minha jornada científica, pela amizade construída, pela confiança e, sobretudo, pelo carinho.

À Universidade Estadual da Paraíba, a qual me proporcionou a graduação em Farmácia.

À Universidade Federal de Pernambuco, a qual me proporcionou o título de mestre.

À Universidade Federal da Paraíba, a qual me proporcionou o desenvolvimento desse trabalho.

Ao CNPq pelo incentivo financeiro da pesquisa.

A todos que ajudaram direta ou indiretamente na conclusão desse trabalho.

Todos esses que aí estão

Atravancando o meu caminho

Eles passarão...

Eu passarinho!

(Mário Quintana)

## RESUMO

SILVA, K. M. A. **Estudos de caracterização e estabilidade de microparticulado contendo atorvastatina cálcica**. 2016. 155p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

Um dos grandes desafios para o desenvolvimento de medicamentos contendo Insumos Farmacêuticos Ativos (IFAs) com baixa solubilidade é agregar tecnologias ao processo de desenvolvimento no sentido de aumentar a biodisponibilidade ao mesmo tempo em que possa garantir a estabilidade. Assim, objetivou-se desenvolver metodologias analíticas para serem aplicadas na caracterização e estabilidade de dispersões sólidas de atorvastatina cálcica (ATV). Inicialmente foi realizada a triagem por meio do incremento de solubilidade das dispersões sólidas da ATV com carbopois®, hidroximetilpropilcelulose (HPMC), polietilenoglicol (PEG) 6000 e Lauril sulfato de sódio (LSS). As dispersões com maiores desempenhos de dissolução (dispersão usando PEG e LSS) foram reproduzidas usando lotes diferentes de ATV, sendo estes caracterizados. A caracterização das dispersões e dos lotes foi obtida por meio da calorimetria exploratória diferencial (DSC), calorimetria exploratória diferencial acoplada ao sistema fotovisual (DSC-fotovisual), termogravimetria (TG) e espectroscopia do infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a fim de investigar possíveis interações físicas e/ou químicas entre a ATV e os carreadores. Para avaliação da estabilidade térmica, os produtos foram submetidos à degradação térmica em estufa durante 24h e avaliadas por meio da análise de produtos de degradação detectados pela cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Sendo essa metodologia desenvolvida e validada previamente ao estudo de estabilidade. Os dados obtidos indicam que as dispersões de atorvastatina foram capazes de incrementar a solubilidade da ATV, apresentando reprodutibilidade e estabilidade nas condições testadas. Dessa forma foi possível concluir que as ferramentas analíticas utilizadas foram elucidativas, rápidas e de grande importância na pesquisa da ATV e adjuvantes tecnológicos.

**Palavras-chave:** Sistema de liberação de medicamentos. Solubilidade. Estabilidade de Medicamentos. Reprodutibilidade de resultados.

## ABSTRACT

SILVA, K. M. A. **Studies of Characterization and microparticle stability containing atorvastatin calcium.** 2016. 155p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

A major challenge for the development of medicinal products containing Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) with low solubility is to aggregate technologies to the development process in order to increase the bioavailability while ensuring stability. Thus, the main goal is to develop analytical methods to be applied in the characterization and stability of solid dispersions of atorvastatin calcium (ATV). Initially, the screening was performed by increasing the solubility of solid dispersions of the ATV with carbopois®, hydroxymethylpropylcellulose (HPMC), polyethylene glycol (PEG) 6000 and Sodium lauryl sulfate (SLS). Dispersions with higher performances of dissolution (dispersion using PEG and LSS) were produced using different ATV batches, which were characterized. The characterization of the dispersions and batches was obtained by differential scanning calorimetry (DSC), differential scanning calorimetry coupled to fotovisual system (DSC-fotovisual), thermogravimetry (TG), and Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), in order to investigate possible physical and/or chemical interactions between the ATV and the carriers. To evaluate the thermal stability, products were subjected to thermal decomposition in an oven for 24 hours, and evaluated by the analysis of degradation products detected by high-performance liquid chromatography (HPLC). This methodology was developed and validated previously to the stability study. The data obtained show that atorvastatin dispersions were able to increase the ATV solubility, presenting reproducibility and stability under the tested conditions. Therefore, we conclude that analytical tools used were enlightening, fast and of great importance in the research of ATV and pharmaceutical carriers.

**Keywords:** System Drug Delivery. Solubility. Drug Stability . Reproducibility of Results.

## LISTA DE FIGURAS

|            |                                                                                                                        |    |
|------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 - | Etapas do desenvolvimento de produtos farmacêuticos .....                                                              | 20 |
| FIGURA 2 - | Parâmetros avaliados durante o desenvolvimento de uma<br>formulação.....                                               | 21 |
| FIGURA 3 - | Estratégias para incremento de solubilidade do IFA baseado no<br>SCB.....                                              | 23 |
| FIGURA 4 - | Estrutura química da ATV.....                                                                                          | 25 |
| FIGURA 5 - | Fórmula estrutural do LSS.....                                                                                         | 30 |
| FIGURA 6 - | Fórmula estrutural dos PEG's.....                                                                                      | 31 |
| FIGURA 7 - | Fórmula Estrutural do HPMC.....                                                                                        | 32 |
| FIGURA 8 - | Fórmula estrutural dos Carbopois.....                                                                                  | 32 |
| FIGURA 9 - | Esquema dos principais métodos de obtenção das dispersões<br>sólidas.....                                              | 33 |
| FIGURA 10- | Difratogramas da ATVI e de suas dispersões sólidas.....                                                                | 45 |
| FIGURA 11- | Perfil de dissolução da ATVI e suas dispersões sólidas.....                                                            | 48 |
| FIGURA 12- | Fotomicrografias obtidas por microscopia óptica da ATVI (A),<br>DS-U (B), DS-C (C), DS-H (D), DS-P (E) e DS-L (F)..... | 52 |
| FIGURA 13- | Difratogramas dos três lotes da ATV.....                                                                               | 57 |
| FIGURA 14- | Difratograma do polimorfo I da ATV.....                                                                                | 58 |
| FIGURA 15- | FTIR espectro da ATVI, ATVII e ATVIII.....                                                                             | 59 |
| FIGURA 16- | FTIR espectra da forma I da ATV.....                                                                                   | 60 |
| FIGURA 17- | Curvas de DSC dos três lotes nas razões de 5, 10 e 20 °C. min <sup>-1</sup><br>de aquecimento.....                     | 61 |
| FIGURA 18- | Curvas termogravimétricas dos três lotes da ATV na razão de<br>aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....            | 64 |
| FIGURA 19- | Curvas termogravimétrica e calorimétrica da ATV na razão de<br>aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....            | 66 |
| FIGURA 20- | Imagens do DSC-fotovisual da ATV na razão de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....                                             | 67 |
| FIGURA 21- | Perfil de dissolução dos da ATVI, ATVII, ATVIII.....                                                                   | 68 |
| FIGURA 22- | Cromatograma do padrão de ATV.....                                                                                     | 75 |
| FIGURA 23- | Cromatograma da seletividade do método para ATV.....                                                                   | 76 |
| FIGURA 24- | Curva de calibração do padrão de ATV.....                                                                              | 77 |

|            |                                                                                                                                                          |     |
|------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 25- | Cromatograma da ATV submetida à degradação ácida.....                                                                                                    | 80  |
| FIGURA 26- | Provável mecanismo da degradação ácida da ATV.....                                                                                                       | 82  |
| FIGURA 27- | Difratogramas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L                                                                                             | 88  |
| FIGURA 28- | Espectros de infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas<br>respectivas DS-L.....                                                                        | 90  |
| FIGURA 29- | Curvas de DSC da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-<br>L na razão de 10°C.min <sup>-1</sup> aquecimento.....                                     | 93  |
| FIGURA 30- | Curvas termogravimétricas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas<br>respectivas DS-L na razão de aquecimento de 10°C.min <sup>-1</sup> .....                      | 94  |
| FIGURA 31- | Perfil de dissolução da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas<br>DS-L.....                                                                              | 97  |
| FIGURA 32- | Difratograma da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P                                                                                              |     |
| FIGURA 33- | Espectros de infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas<br>respectivas DS-P.....                                                                        | 101 |
| FIGURA 34- | Curvas de DSC da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-<br>P na razão de 10°C.min <sup>-1</sup> aquecimento.....                                     | 103 |
| FIGURA 35- | Curvas termogravimétricas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas<br>respectivas DS-P na razão de aquecimento de 10°C.min <sup>-1</sup> .....                      | 105 |
| FIGURA 36- | Perfil de dissolução da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas<br>DSP.....                                                                               | 107 |
| FIGURA 37- | Difratogramas da ATVIII e suas DS-LIII obtidas por liofilização<br>e <i>spray drier</i> .....                                                            | 113 |
| FIGURA 38- | Difratogramas da ATVIII e suas DS-PIII obtidas por liofilização<br>e <i>spray drier</i> .....                                                            | 114 |
| FIGURA 39- | Espectros de infravermelho da ATVIII e suas DS-LIII obtidas<br>por liofilização e <i>spray drier</i> .....                                               | 116 |
| FIGURA 40- | Espectros de infravermelho da ATVIII e suas respectivas DS-P<br>obtidas por liofilização e <i>spray drier</i> .....                                      | 116 |
| FIGURA 41- | Curvas de DSC da ATVIII e suas respectivas DS-LIII obtidas por<br>liofilização e <i>spray drier</i> na razão 10°C.min <sup>-1</sup> aquecimento.....     | 118 |
| FIGURA 42- | Curvas de DSC da ATVIII e suas respectivas DS-PIII obtidas por<br>liofilização e <i>spray drier</i> na razão de aquecimento 10°C.min <sup>-1</sup> ..... | 118 |
| FIGURA 43- | Curvas termogravimétricas da ATVIII e suas respectivas DS-L                                                                                              |     |

|            |                                                                                                                                                                                 |     |
|------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
|            | obtidas por liofilização e <i>spray drier</i> na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .....                                                             | 120 |
| FIGURA 44- | Curvas termogravimétricas da ATVIII e suas respectivas DS-P obtidas por liofilização e <i>spray drier</i> na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ ..... | 120 |
| FIGURA 45- | Perfil de dissolução da ATVIII e suas respectivas DS-LIII.....                                                                                                                  | 123 |
| FIGURA 46- | Perfil de dissolução ATVIII e suas respectivas DS-PIII.....                                                                                                                     | 123 |
| FIGURA 47- | Cromatogramas da estabilidade térmica da ATVIII, MF-LIII, DS-LIII lio e DS-LIII SD .....                                                                                        | 124 |

## LISTA DE QUADROS E TABELAS

|           |                                                                                                                                                       |     |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| QUADRO 1  | Dispersões sólidas comercializadas.....                                                                                                               | 31  |
| QUADRO 2  | Classificação das dispersões de acordo com sua composição.....                                                                                        | 32  |
| TABELA 1  | Definição de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Americana                                                                                       | 2   |
| TABELA 2  | Limites de notificação, identificação e qualificação do(s) produto(s) de degradação no decorrer do estudo de estabilidade.....                        | 40  |
| TABELA 3  | Valor do teor das dispersões sólidas da ATV.....                                                                                                      | 49  |
| TABELA 4  | Solubilidade aquosa da ATV.....                                                                                                                       | 50  |
| TABELA 5  | Valores médios do percentual de liberação de ATVI e do fármaco nas dispersões sólidas.....                                                            | 51  |
| TABELA 6  | Dados dos espectros do infravermelho da ATVI, ATVII e ATVIII....                                                                                      | 61  |
| TABELA 7  | Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII e ATVIII nas razões de 5, 10 e 20 °C.min <sup>-1</sup> .....                                                 | 67  |
| TABELA 8  | Parâmetros Cromatográficos.....                                                                                                                       | 73  |
| TABELA 9  | Ensaio de recuperação do método desenvolvido.....                                                                                                     | 80  |
| TABELA 10 | Resultados da precisão intra e inter-dia.....                                                                                                         | 77  |
| TABELA 11 | Robustez do método cromatográfico utilizado na análise da ATV.....                                                                                    | 81  |
| TABELA 12 | Degradação forçada da ATV.....                                                                                                                        | 79  |
| TABELA 13 | Decaimento da área da ATV com aumento das áreas dos picos de degradação ácida de acordo com o tempo de estudo.....                                    | 80  |
| TABELA 14 | Dados dos espectros do infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L.....                                                              | 91  |
| TABELA 15 | Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII, ATVII e suas respectivas DS-L na razão de 10°C.min <sup>-1</sup> .....                                      | 92  |
| TABELA 16 | Dados termogravimétricos da 1ª, 2ª e 4ª etapa da ATVI, ATVII e ATVIII e suas respectivas DS-L na razão de aquecimento de 10°C.min <sup>-1</sup> ..... | 95  |
| TABELA 17 | Valor do teor da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L.....                                                                                     | 96  |
| TABELA 18 | Dados dos espectros do infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P.....                                                              | 104 |

|           |                                                                                                                                                                               |     |
|-----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| TABELA 19 | Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P na razão de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .....                                               | 106 |
| TABELA 20 | Valor do teor da ATVI, ATVII e ATVIII e suas respectivas DS-P....                                                                                                             | 106 |
| TABELA 21 | Dados dos espectros do infravermelho da ATVIII e suas DS-L e DS-P obtidas por liofilização e <i>spray drier</i> .....                                                         | 119 |
| TABELA 22 | Faixa e entalpia de fusão da ATVIII e suas DS-LIII e DS-PIII obtidas por liofilização e <i>spray drier</i> na razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ ..... | 120 |
| TABELA 23 | Dados termogravimétricos da 1ª, 2ª e 4ª etapa da ATVIII e suas respectivas DS-LIII e DS-PIII na razão de aquecimento de $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .....            | 123 |
| TABELA 24 | Valor do teor da ATVIII e suas respectivas DS-P.....                                                                                                                          | 123 |
| TABELA 25 | Degradação térmica da ATVIII, MF-LIII, DS-LIII lio e DS-LIII SD.....                                                                                                          | 126 |
| TABELA 26 | Degradação térmica ATVIII, MF-PIII, DS-PIII lio e DS-PIII SD.....                                                                                                             | 127 |

## LISTA DE SIGLAS

**AER**- aerosil<sup>®</sup>

**ANVISA**- agencia nacional de vigilância sanitária

**ATV**- Atorvastatina cálcica

**ATVI**- lote I da atorvastatina cálcica

**ATVII**- lote II da atorvastatina cálcica

**ATVIII**- lote III da atorvastatina cálcica

**CV**- coeficiente de variação

**DP**- desvio padrão

**DRXP**- difração de raios-X de pó

**DSC**- calorimetria exploratória diferencial

**DS**- dispersão sólida

**DS-C**- dispersão sólida da atorvastatina usando carpobol<sup>®</sup> como carreador

**DS-H**- dispersão sólida da atorvastatina usando hidroxpropilmetilcelulose como carreador

**DS-LI**- dispersão sólida do lote I da atorvastatina usando lauril sulfato de sódio

**DS-LII**- dispersão sólida do lote II da atorvastatina usando lauril sulfato de sódio

**DS-LIII**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando lauril sulfato de sódio

**DS-LIII lio**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando lauril sulfato sódio, obtidas por meio da liofilização

**DS-LIII SD**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando lauril sulfato sódio, obtidas por meio do *spray drier*

**DS-PI**- dispersão sólida do lote I da atorvastatina usando polietilenoglicol como carreador

**DS-PII**- dispersão sólida do lote II da atorvastatina usando polietilenoglicol como carreador

**DS-PIII**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando polietilenoglicol como carreador

**DS-PIII lio**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando polietilenoglicol como carreador, obtidas por meio da liofilização

**DS-PIII SD**- dispersão sólida do lote III da atorvastatina usando polietilenoglicol como carreador, obtidas por meio do *spray drier*

**DS-U**- dispersão sólida da atorvastatina usando carpobol<sup>®</sup> ultrez como carreador

**FTIR**- espectroscopia na região do infravermelho com Transformada de Fourier

**HPMC**- hidroxipropilmetilcelulose

**IFA**- Ingrediente Farmacêutico Ativo

**LI-** liberação imediata

**LSS-** lauril sulfato de sódio

**MEV-** microscopia eletrônica de varredura

**MO-** microscopia óptica

**°C-** graus Celsius

**PEG-** polietilenoglicol

**RMN-** ressonância magnética nuclear

**T endset-** temperatura final de fusão

**T onset-** temperatura inicial da fusão

**T pico-** pico da fusão

**TG-** termogravimetria

**TR-** tempo de retenção

**VO-** Via oral

**$\theta$ -** ângulo de difração

## SUMÁRIO

|                                                                                                               |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1 INTRODUÇÃO.....                                                                                             | 22 |
| 2 OBJETIVOS.....                                                                                              | 25 |
| 3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....                                                                                  | 27 |
| 3.1 Desenvolvimento de Produtos Farmacêuticos.....                                                            | 27 |
| 3.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SBC) e Estratégias para Aumento da Solubilidade.....            | 28 |
| 3.3 Estatinas .....                                                                                           | 31 |
| 3.3.1 Atorvastatina.....                                                                                      | 32 |
| 3.3.1.1 Definição e Características Físico-Químicas.....                                                      | 32 |
| 3.3.1.2 Polimorfismo e a ATV.....                                                                             | 33 |
| 3.3.1.3 Estratégias de aumento de solubilidade da ATV.....                                                    | 34 |
| 3.4 Dispersões Sólidas.....                                                                                   | 34 |
| 3.4.1 Carreadores utilizados.....                                                                             | 37 |
| 3.4.1.1 Lauril Sulfato de Sódio (LSS).....                                                                    | 37 |
| 3.4.1.2 Polietilenoglicol (PEG).....                                                                          | 38 |
| 3.4.1.3 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).....                                                                | 38 |
| 3.4.1.4 Carbopol®.....                                                                                        | 39 |
| 3.4.2 Preparação das Dispersões Sólidas.....                                                                  | 40 |
| 3.4.2.1 Método da Fusão.....                                                                                  | 40 |
| 3.4.2.2 Método do solvente (Método da evaporação do solvente).....                                            | 41 |
| 3.4.2.2.1 <i>Spray drying</i> (Atomização).....                                                               | 41 |
| 3.4.2.2.2 <i>Freezing drying</i> (Liofilização).....                                                          | 42 |
| 3.4.2.3 Fusão com solvente.....                                                                               | 42 |
| 3.4.3 Métodos de caracterização das dispersões sólidas.....                                                   | 43 |
| 3.5 Estudo de Estabilidade.....                                                                               | 45 |
| 3.5.1 Degradação Forçada.....                                                                                 | 46 |
| 4 AVALIAÇÃO <i>IN VITRO</i> DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA ATORVASTATINA CÁLCICA USANDO DIFERENTES CARREADORES..... | 50 |
| 4.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....                                                                                  | 50 |
| 4.1.1 Materiais.....                                                                                          | 50 |
| 4.1.2 Métodos.....                                                                                            | 50 |
| 4.1.2.1. Preparação das Dispersões Sólidas por Liofilização.....                                              | 50 |
| 4.1.2.2 <u>Análise por Difração de Raios-X do Pó (PDRX)</u> .....                                             | 51 |
| 4.1.2.3 <u>Análise Morfológica</u> .....                                                                      | 51 |
| 4.1.2.4 <u>Uniformidade de Conteúdo</u> .....                                                                 | 51 |
| 4.1.2.5 <u>Estudo de Solubilidade</u> .....                                                                   | 51 |
| 4.1.2.6 <u>Perfil de Dissolução</u> .....                                                                     | 52 |
| 4.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....                                                                              | 52 |
| 4.2.1 <i>Análise por Difração de Raios-X do pó (PDRX)</i> .....                                               | 52 |
| 4.2.2 <i>Uniformidade de conteúdo</i> .....                                                                   | 54 |
| 4.2.3 <i>Estudo de Solubilidade</i> .....                                                                     | 55 |
| 4.2.4 <i>Perfil de Dissolução</i> .....                                                                       | 56 |
| 4.2.5 <i>Análise Morfológica</i> .....                                                                        | 58 |
| 4.3 CONCLUSÃO.....                                                                                            | 61 |

|                                                                                                                                                       |           |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>5 CARACTERIZAÇÃO DO ESTADO SÓLIDO DA ATORVASTATINA CÁLCICA DE DIFERENTES LOTES.....</b>                                                            | <b>63</b> |
| <b>5.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>                                                                                                                   | <b>63</b> |
| 5.1.1 <i>Materiais</i> .....                                                                                                                          | 63        |
| 5.1.2 <i>Métodos</i> .....                                                                                                                            | 63        |
| 5.1.2.1 <u>Análise de espectroscopia no infravermelho (FTIR)</u> .....                                                                                | 63        |
| 5.1.2.2 <u>Difração de Raios-X do pó (PDRX)</u> .....                                                                                                 | 64        |
| 5.1.2.3 <u>Análises Calorimétricas</u> .....                                                                                                          | 64        |
| 5.1.2.3.1 <i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i> .....                                                                                    | 64        |
| 5.1.2.3.2 <i>Termogravimetria (TG)</i> .....                                                                                                          | 64        |
| 5.1.2.4 <u>Perfil de Dissolução</u> .....                                                                                                             | 64        |
| <b>5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                                                                | <b>65</b> |
| 5.2.1 <i>PDRX</i> .....                                                                                                                               | 65        |
| 5.2.2 <i>FTIR</i> .....                                                                                                                               | 66        |
| 5.2.3 <i>Análise calorimétrica</i> .....                                                                                                              | 68        |
| 5.2.3.1 <i>DSC</i> .....                                                                                                                              | 68        |
| 5.2.3.2 <i>TG</i> .....                                                                                                                               | 71        |
| 5.2.3.3 <i>DSC fotovisual</i> .....                                                                                                                   | 73        |
| 5.2.3.4 <i>Perfil de dissolução</i> .....                                                                                                             | 75        |
| <b>5.3 CONCLUSÃO.....</b>                                                                                                                             | <b>75</b> |
|                                                                                                                                                       | 75        |
| <b>6 DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DOSEAMENTO E DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA ATORVASTATINA CÁLCICA .....</b> | <b>77</b> |
| <b>6.1 MATERIAS E MÉTODOS.....</b>                                                                                                                    | <b>77</b> |
| 6.1.1 <i>Materiais</i> .....                                                                                                                          | 77        |
| 6.1.2 <i>Métodos</i> .....                                                                                                                            | 77        |
| 6.1.2.1 <u>Desenvolvimento do Método</u> .....                                                                                                        | 77        |
| 6.1.2.2 <u>Validação do Método</u> .....                                                                                                              | 78        |
| 6.1.2.2.1 <i>Determinação da Seletividade</i> .....                                                                                                   | 78        |
| 6.1.2.2.1.1 <i>Análise Qualitativa</i> .....                                                                                                          | 78        |
| 6.1.2.2.1.1.1 <i>Solução diluente</i> .....                                                                                                           | 78        |
| 6.1.2.2.1.1.2 <i>Preparo das amostras</i> .....                                                                                                       | 78        |
| 6.1.2.2.1.2 <i>Análise quantitativa</i> .....                                                                                                         | 79        |
| 6.1.2.2.1.2.1 <i>Preparo das soluções de degradação</i> .....                                                                                         | 79        |
| 6.1.2.2.1.2.1.2 <i>Degradação forçada da ATV</i> .....                                                                                                | 80        |
| 6.1.2.2.2 <i>Determinação da linearidade</i> .....                                                                                                    | 80        |
| 6.1.2.2.3 <i>Precisão</i> .....                                                                                                                       | 81        |
| 6.1.2.2.4 <i>Exatidão</i> .....                                                                                                                       | 81        |
| 6.1.2.2.5 <i>Robustez</i> .....                                                                                                                       | 81        |
| <b>6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>                                                                                                                | <b>82</b> |
| 6.2.1 <i>Desenvolvimento do método</i> .....                                                                                                          | 82        |

|                                                                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 6.2.2 Parâmetros de desempenho analítico.....                                                                | 82  |
| 6.2.2.1 Especificidade.....                                                                                  | 83  |
| 6.2.2.2 Linearidade.....                                                                                     | 83  |
| 6.2.2.3 Exatidão.....                                                                                        | 84  |
| 6.2.2.4 Precisão.....                                                                                        | 85  |
| 6.2.2.5 Robustez.....                                                                                        | 86  |
| 6.2.3 Testes de degradação forçada .....                                                                     | 86  |
| 6.3 CONCLUSÃO.....                                                                                           | 90  |
| <br>7 AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA<br>ATORVASTATINA CÁLCICA.....                  | 91  |
| 7.1 MATERIAIS E MÉTODOS.....                                                                                 | 92  |
| 7.1.1 Materiais.....                                                                                         | 92  |
| 7.1.2 Métodos.....                                                                                           | 92  |
| 7.1.2.1 <u>Preparação das Dispersões Sólidas</u> .....                                                       | 92  |
| 7.1.2.1.1 Liofilização.....                                                                                  | 92  |
| 7.1.2.2 <u>Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)</u> .....                                      | 93  |
| 7.1.2.3 <u>Difração de Raios-X do pó (PDRX)</u> .....                                                        | 93  |
| 7.1.2.4 <u>Análise Calorimétrica</u> .....                                                                   | 93  |
| 7.1.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....                                                   | 93  |
| 7.1.2.4.2 Termogravimetria (TG).....                                                                         | 93  |
| 7.1.2.5 <u>Uniformidade de Conteúdo</u> .....                                                                | 93  |
| 7.1.2.6 <u>Perfil de Dissolução</u> .....                                                                    | 93  |
| 7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                              | 94  |
| 7.2.1 <u>Avaliação da reprodutibilidade de dispersões sólidas da ATV usando LSS<br/>como carreador</u> ..... | 94  |
| 7.2.1.1 PDRX.....                                                                                            | 94  |
| 7.2.1.2 FTIR.....                                                                                            | 96  |
| 7.2.1.3 <i>Análise calorimétrica</i> .....                                                                   | 98  |
| 7.2.1.3.1 DSC.....                                                                                           | 98  |
| 7.2.1.3.2 TG.....                                                                                            | 101 |
| 7.2.1.4 <i>Uniformidade de conteúdo</i> .....                                                                | 103 |
| 7.2.1.5 <i>Perfil de dissolução</i> .....                                                                    | 103 |
| 7.2.2 <u>Avaliação da reprodutibilidade de dispersões sólidas da ATV usando PEG<br/>como carreador</u> ..... | 105 |
| 7.2.2.1 PDRX.....                                                                                            | 105 |
| 7.2.2.2 FTIR.....                                                                                            | 107 |
| 7.2.2.3 <i>Análise calorimétrica</i> .....                                                                   | 109 |
| 7.2.2.3.1 DSC.....                                                                                           | 109 |
| 7.2.2.3.2 TG.....                                                                                            | 111 |
| 7.2.2.4 <i>Uniformidade de conteúdo</i> .....                                                                | 113 |
| 7.2.2.5 <i>Perfil de dissolução</i> .....                                                                    | 113 |

|                                                                                                    |            |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 7.2.3 CONCLUSÃO.....                                                                               | 114        |
| <b>8 COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA ATORVASTATINA CÁLCICA .....</b> | <b>115</b> |
| 8.1 MATERIAIS E MÉTODO.....                                                                        | 116        |
| 8.1.1 Materiais.....                                                                               | 116        |
| 8.1.2 Métodos.....                                                                                 | 117        |
| 8.1.2.1 <u>Preparação das Dispersões Sólidas .....</u>                                             | 117        |
| 8.1.2.1.1 Liofilização.....                                                                        | 117        |
| 8.1.2.1.2 <i>Spray Drying</i> .....                                                                | 117        |
| 8.1.2.2 <u>Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR).....</u>                             | 117        |
| 8.1.2.3 <u>Difração de Raios-X do pó (PDRX).....</u>                                               | 117        |
| 8.1.2.4 <u>Análise Calorimétrica.....</u>                                                          | 117        |
| 8.1.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....                                         | 117        |
| 8.1.2.4.2 Termogravimetria (TG).....                                                               | 118        |
| 8.1.2.5 <u>Uniformidade de Conteúdo.....</u>                                                       | 118        |
| 8.1.2.6 <u>Perfil de Dissolução.....</u>                                                           | 118        |
| 8.1.2.7 <u>Degradação térmica.....</u>                                                             | 118        |
| 8.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                    | 119        |
| 8.2.1 PDRX.....                                                                                    | 121        |
| 8.2.2 FTIR.....                                                                                    | 121        |
| 8.2.3 DSC.....                                                                                     | 124        |
| 8.2.4 TG.....                                                                                      | 126        |
| 8.2.5 <i>Uniformidade de conteúdo.....</i>                                                         | 128        |
| 8.2.6 <i>Perfil de dissolução.....</i>                                                             | 129        |
| 8.2.7 <i>Estabilidade térmica.....</i>                                                             | 130        |
| 8.3 CONCLUSÃO.....                                                                                 | 132        |
| <b>9 CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>                                          | <b>133</b> |
| <b>10 REFERÊNCIAS.....</b>                                                                         | <b>136</b> |

## INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

Aproximadamente 40% dos novos candidatos a fármacos são conhecidos por pertencer à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS) (STEGEMANN et al., 2007; YADAV et al., 2013). E, portanto, tem o seu desenvolvimento dificultado devido à alta lipofilicidade e baixa solubilidade em água, resultando numa inadequada e variável biodisponibilidade (KADU et al., 2011; KOMMAVARAPUET al., 2015).

Há várias estratégias para incremento de solubilidade, como o uso de surfactantes, formação de sal, redução do tamanho de partícula, formação de co-cristais, formação de coamorfos, formação de prodrogas (RAUTIO et al., 2008) dispersões sólidas (VASCONCELOS et al., 2007; KONNO et al., 2008; ALONZO et al., 2011; NEWMAN, KNIPP, ZOGRAFI, 2012;) entre outras.

No campo dos produtos farmacêuticos, a tecnologia da dispersão sólida é uma das tecnologias mais comuns para aumentar temporariamente a solubilidade do insumo farmacêutico ativo nos fluidos gastrointestinais (YOSHIDA et al., 2012). Nelas, o fármaco pode ser solubilizado ou disperso num polímero carreador, proporcionando um aumento na taxa de dissolução (YUN et al., 2014). No entanto, o interesse em comercializar medicamentos a base destas dispersões sólidas não é tão alto. Isso se deve a dificuldade de transposição de escala, problema de instabilidade físico-química e ineficiência da reprodutibilidade entre os lotes. (KAWABATA et al., 2011; DAN SMITHEY et al., 2013).

Dessa forma, é necessário que se busque um modelo adequado formado por um conjunto de metodologias analíticas que seja capaz de desenvolver e caracterizar dispersões sólidas que incrementem a solubilidade de fármacos de classe II, que apresentem estabilidade físico-química e reprodutibilidade. Dentre as técnicas analíticas destacam-se a calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG) a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), a espectroscopia de Raman, a difração de raios-X de pó (PDRX) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Atorvastatina cálcica (ATV) pertence à classe das estatinas, usada para diminuir o nível de colesterol sanguíneo. Apresenta uma boa permeabilidade e tempo de meia vida baixa ( $T_{max}$  1-2h). Porém possui baixa biodisponibilidade oral (12%), devido a inadequada solubilidade em água (0,1 mg/ml), a natureza cristalina e ao extenso metabolismo de primeira passagem hepático (CHOUDHAR et al., 2012). Corresponde a estatina mais potente do grupo, sendo recomendadas pela *Heart Association and the American College of Cardiology* como terapia de primeira escolha para reduzir os níveis de colesterol plasmáticos. No entanto,

apresenta uma terapia limitada devido os problemas anteriormente citados (HARDMAN; LIMBIRD, 2003; JONES et al., 2011).

Após a quebra da patente do Lipitor®, várias estratégias de formulações têm sido descritas para aumento de solubilidade da ATV, como por exemplo, formação de nanopartículas amorfas (KIM et al., 2010), emulsão (YIN et al., 2010), formulação líquida do tipo SEDDS (do inglês *Self-emulsifying Drug Delivery Systems*) (KADU et al., 2011), formação de sal (AHJEL et al., 2010), inclusões com  $\beta$ -ciclodextrina (PALEM et al., 2010), dispersão sólida com leite desnatado (CHOUDHAR et al., 2012), dispersão sólida com PEG 6000 pelo método da fusão (NARASIAH et al., 2010); dispersão sólida com polímeros derivados de celulose e pirrolidona (KIM et al., 2013).

Diante do exposto, verifica-se que é de grande interesse o desenvolvimento de métodos analíticos que sejam adequados para o desenvolvimento e caracterização de dispersões sólidas da ATV capazes de aumentarem a solubilidade do fármaco, de se manterem estáveis e apresentarem reprodutibilidade.

## **OBJETIVOS**

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Desenvolver um modelo adequado formado por um conjunto de métodos analíticos para serem aplicados no desenvolvimento, caracterização e estabilidade de dispersões sólidas da ATV.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolver dispersões sólidas da ATV usando diferentes carreadores por meio da liofilização;
- Selecionar as dispersões que apresentarem os melhores desempenhos de dissolução;
- Caracterizar o estado sólido de diferentes lotes da ATV por meio do DSC, TG, DSC-fotovisual, FTIR e PDRX;
- Desenvolver e validar metodologia analítica para o doseamento e detecção de produtos de degradação da ATV por meio de CLAE;
- Realizar degradação forçada da ATV;
- Reproduzir as dispersões sólidas que apresentarem os melhores perfis de dissolução usando lotes diferentes da ATV por meio da liofilização;
- Avaliar as interações físico-químicas dos liofilizados da ATV utilizando DSC, TG, FTIR e PDRX;
- Produzir dispersões sólidas por meio de *spray drier*;
- Comparar as interações físico-químicas das dispersões sólidas obtidas por liofilização e *spray drier* utilizando DSC, TG, FTIR e PDRX;
- Avaliar o perfil de dissolução das dispersões sólidas obtidas por liofilização e *spray drier*;
- Avaliar a estabilidade térmica das dispersões sólidas obtidas por liofilização e *spray drier* por meio da degradação térmica.

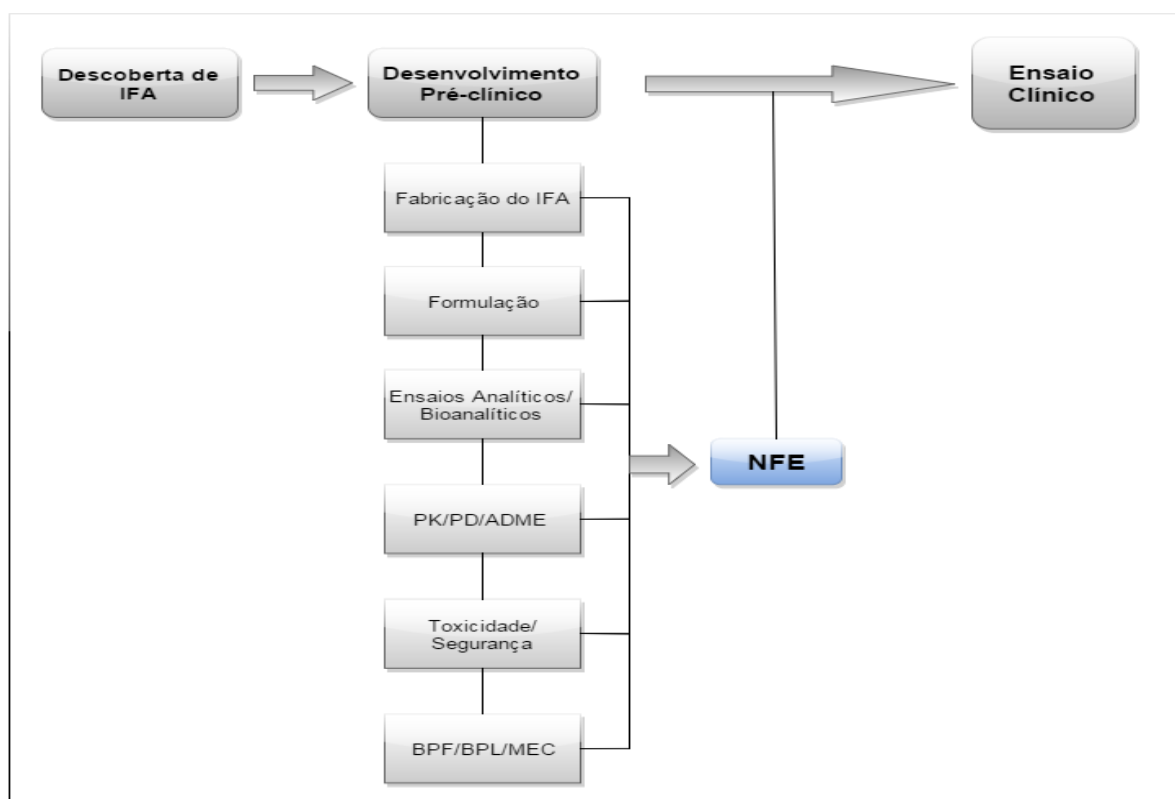
## FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

#### 3.1 Desenvolvimento de Produtos Farmacêuticos

O desenvolvimento de um novo medicamento, seja ele obtido a partir de um composto químico sintético ou extraído de uma fonte natural, correspondente a um processo longo e complexo que envolve uma abordagem multidisciplinar (Figura 1) (GIBSON et al, 2008; PINTO et al, 2013). As tecnologias metodológicas envolvidas na elaboração deste processo são indispensáveis para assegurar a eficácia, segurança, qualidade e estabilidade do medicamento desenvolvido.

**Figura 1- Etapas do desenvolvimento de produtos farmacêuticos**



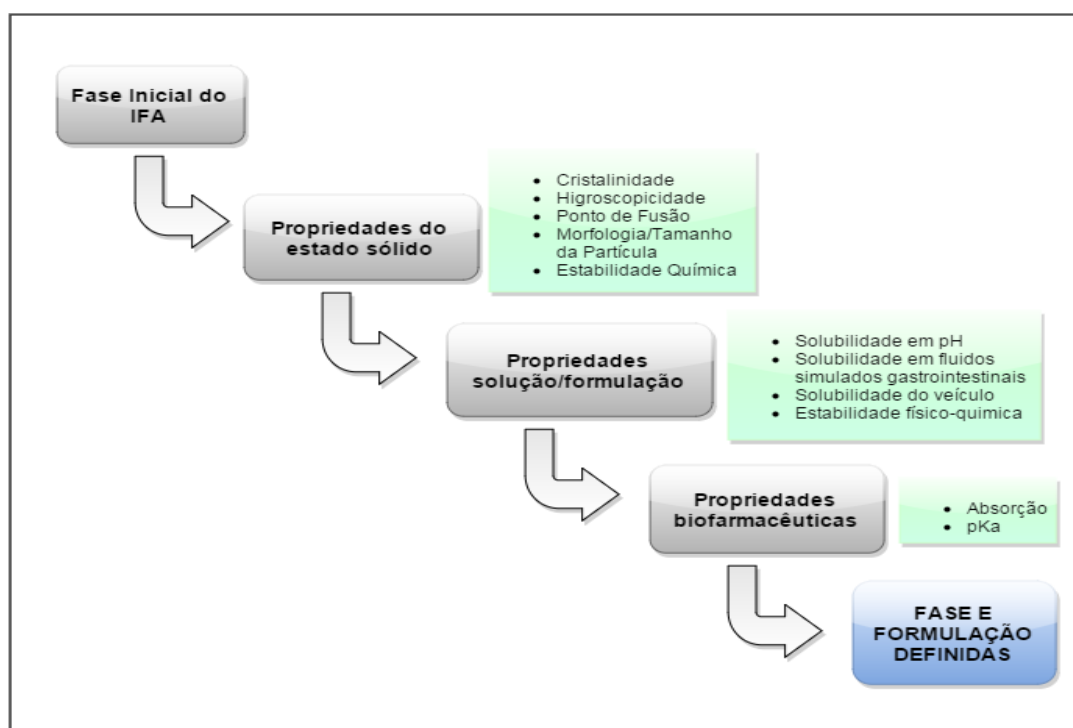
**Legenda:** IFA: Ingrediente Farmacêutico Ativo; PK: Farmacocinética; PD: Farmacodinâmica; ADME: Administração, Distribuição, Metabolismo, Excreção; BPF: Boas Práticas de Fabricação; BPL: Boas Práticas de Laboratório; MEC: Material de Ensaio Clínico; NFE: Novo IFA de Estudo.

**Fonte: Adaptado de SHAH; AGNIHOTRI, 2011.**

Durante o processo de desenvolvimento de produtos farmacêuticos há a necessidade de um bom planejamento para selecionar e promover formulações bem caracterizadas, a fim de garantir uma forma farmacêutica estável e com característica biofarmacêutica satisfatória (SHAH et al., 2011).

Na fase de formulação do desenvolvimento pré-clínico, descrito na Figura 1 alguns parâmetros devem ser criteriosamente avaliados, principalmente quando um dos componentes presentes na formulação apresenta-se no estado sólido (PALUCKI et al., 2010). Esses critérios são divididos em três categorias (Figura 2).

**Figura 2 - Parâmetros avaliados durante o desenvolvimento de uma formulação**



Fonte: PALUCKI et al., 2010.

### 3.2 Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SBC) e Estratégias para Aumento da Solubilidade

Segundo Kawabata et al. (2011) a descoberta de novos candidatos a fármacos apresentando baixa solubilidade aumentou em cerca de 70% nos últimos anos (KU et al., 2010). Dentre esses cerca de 40 % dos fármacos dos medicamentos de liberação imediata são

praticamente insolúveis ( $\leq 100 \text{ mg.L}^{-1}$ ), justificando a necessidade de uma melhor avaliação a cerca desse parâmetro no desenvolvimento de uma formulação.

A solubilidade de um insumo farmacêutico ativo (IFA) é um parâmetro crítico no desenvolvimento de uma formulação, influenciando a dissolução, além de afetar a absorção e consequentemente a biodisponibilidade de um medicamento (FIGUEROA et al., 2012; KALEPU et al., 2015).

A farmacopeia americana (The United States Pharmacopeia – USP) define sete faixas de solubilidade para fármacos, conforme a Tabela 1. Kasin et al.(2003) utiliza essa classificação para atribuir a solubilidade de fármacos indicados como essenciais pela Organização Mundial de Saúde. Entre eles encontra-se a atorvastatina cálcica.

**Tabela 1 - Definição de solubilidade de acordo com a Farmacopeia Americana (USP, 2007)**

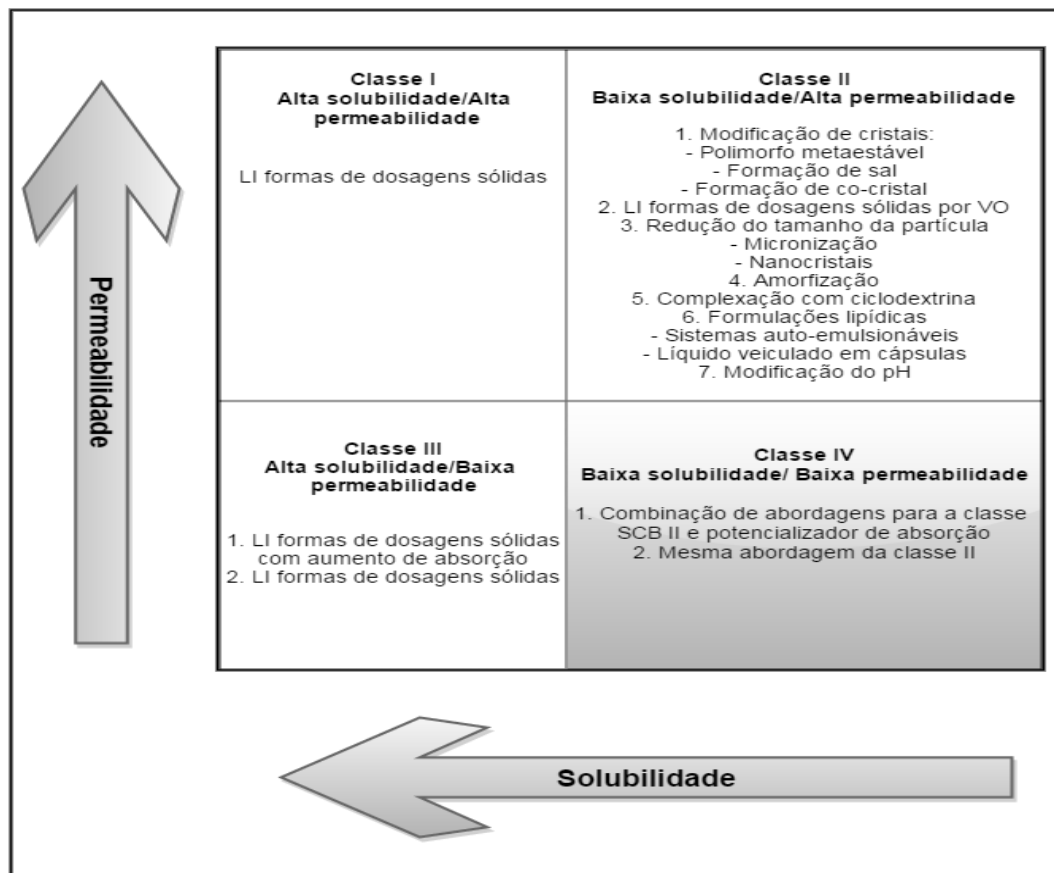
| <b>Definição</b>              | <b>Parte solvente/1 parte soluto</b> | <b>Faixa de solubilidade (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b> | <b>Solubilidade atribuída (<math>\text{mg.L}^{-1}</math>)</b> |
|-------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| <b>Muito solúvel</b>          | < 1                                  | $\geq 1000$                                                  | 1000                                                          |
| <b>Livemente solúvel</b>      | 1-10                                 | 100-1000                                                     | 100                                                           |
| <b>Solúvel</b>                | 10-30                                | 33-100                                                       | 33                                                            |
| <b>Moderadamente solúvel</b>  | 30-100                               | 10-33                                                        | 10                                                            |
| <b>Levemente solúvel</b>      | 100-1000                             | 1-10                                                         | 1                                                             |
| <b>Muito pouco solúvel</b>    | 1000-10000                           | 0,1-1                                                        | 0,1                                                           |
| <b>Praticamente insolúvel</b> | $\geq 10000$                         | < 0,1                                                        | 0,01                                                          |

Amidon et al. (1995) revelaram que os parâmetros fundamentais para controlar a taxa e a extensão da absorção da droga após administração oral, são a permeabilidade através da membrana gastrointestinal (GI) e a solubilidade / dissolução do fármaco. Com base nesses parâmetros desenvolveu o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).

Esse sistema auxilia na previsão da absorção *in vivo*, pois prediz o grau de solubilidade e permeabilidade dos IFAs. Estes são classificados em quatro classes de acordo com a SCB: Fármacos de classe I – alta permeabilidade e alta solubilidade; Farmacos de classe II: alta permeabilidade e baixa solubilidade; Farmacos de classe III: baixa permeabilidade e alta solubilidade e Fármacos de classe IV: baixa permeabilidade e baixa solubilidade (FIGUEROA et al., 2012; ZUR et al., 2014; KELEPU et al., 2015).

Na Figura 3, visualizam-se possíveis estratégias para solucionar os inconvenientes encontrados nos IFAs pertencentes a cada classe. Para fármacos de classe I e III, estratégias mais simples são utilizadas. Porém, para fármacos de classe II e IV, o desenvolvimento de formulações com base nas propriedades físico-químicas e biofarmaceuticas do medicamento são necessárias para obter biodisponibilidade suficiente e reprodutível após administração oral (KAWABATA et al., 2011, BASAVARAJ et al., 2014).

**Figura 3- Estratégias para incremento de solubilidade do IFA baseado no SCB**



**Legenda:** LI: liberação imediata; VO: Via oral

**Fonte:** Adaptado de Kawabata et al., 2011.

### 3.3 Estatinas

As estatinas foram isoladas a partir de uma cultura da colônia *Penicillium citrinum*. A primeira estatina estudada foi a mevastatina, que demonstrou o potencial terapêutico dessa classe de fármacos (HARDMAN; LIMBIRD, 2003). Algumas estatinas são produtos naturais, isoladas a partir do metabolismo de fungos, como a mevastatina, a lovastatina, a pravastatina e a sinvastatina (derivado semissintético), outras são completamente sintéticas como a atorvastatina, a cerivastatina e a fluvastatina (BASTARDA et al., 2005; JACOBSON et al., 2014).

Dentre os fármacos citados, a sinvastatina e a atorvastatina estão entre as estatinas mais potentes, sendo recomendadas pela *Heart Association and the American College of Cardiology* como terapia de primeira escolha para reduzir os níveis de colesterol plasmáticos. Em estudos realizados para comparar os efeitos das estatinas na redução do colesterol plasmático, demonstrou-se que a dose de 20 mg de sinvastatina equivale à dose de 10 mg de atorvastatina. A atorvastatina é a estatina mais potente, seguindo a sinvastatina, a lovastatina e a pravastatina com potências semelhantes e a fluvastatina com menor potência (HARDMAN; LIMBIRD, 2003; JONES et al., 2011).

As estatinas reduzem o LDL colesterol (*Low Density Lipoproteins*) em 25-45%, dependendo da dose e da estatina utilizada. As doses recomendadas de cada estatina são 10-80 mg/dia de atorvastatina, 20-40 mg/dia de pravastatina e 20-80 mg/dia de fluvastatina, lovastatina e sinvastatina (CARVALHO et al 2007). Pacientes hipertrigliceridêmicos que utilizam as doses mais altas (80 mg/dia) de sinvastatina ou atorvastatina apresentam uma redução de 35-45% do LDL colesterol e uma redução semelhante nos níveis de triglicerídeos em jejum (HARDMAN; LIMBIRD, 2003; JACOBSON et al., 2014).

Esta classe de fármacos corresponde a inibidores competitivos da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, que sintetiza o ácido mevalônico, um importante precursor na síntese de colesterol, por meio de redução do substrato HMGCoA. (CARVALHO et al., 2007; OTA et al., 2015).

De maneira geral, a eficiência e a relativa segurança demonstradas pelas estatinas tornaram esses medicamentos amplamente utilizados em todo o mundo, sendo atualmente um dos mais comercializados. No ano de 2003, a atorvastatina alcançou o recorde de vendas de toda a história da indústria farmacêutica (BONFIN et al., 2013).

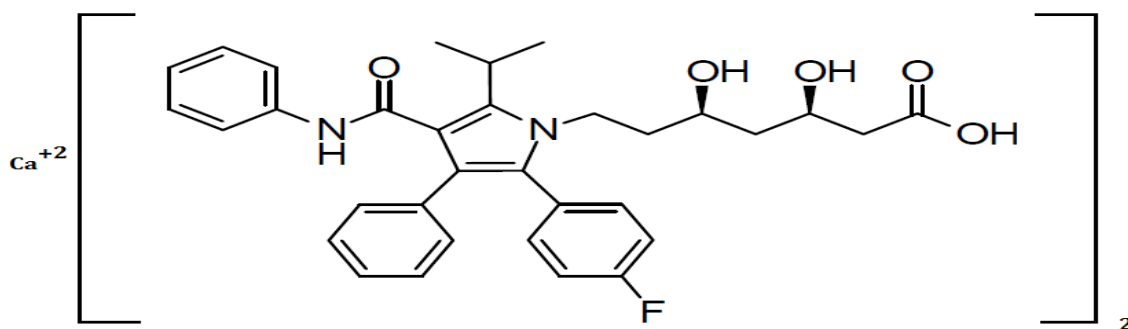
Apesar de bem tolerada pela maioria dos pacientes, as estatinas estão relacionadas à ocorrência de efeitos tóxicos hepáticos e, principalmente, musculares (JOY et al., 2009). As lesões musculares decorrentes do uso das estatinas podem ser leves ou graves, variando desde a mialgia à rabdomiólise, e podem atingir cerca de 5 a 10% dos pacientes. Os desconfortos musculares se manifestam como dores, câimbras e/ou rigidez muscular, além de redução de força muscular em idosos (BROWN et al., 2008; MAUSKOP et al., 2011; MAJI et al., 2013; OTA et al., 2015).

### 3.3.1 Atorvastatina

#### 3.3.1.1 Definição e Características Físico-Químicas

A atorvastatina é um agente hipocolesterolêmico sintético que inibe a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, catalisadora da etapa inicial e limitante da biossíntese hepática do colesterol (Sharma et al., 2014). Apresenta como fórmula molecular  $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$  e nomenclatura (3R, 5R)-7[2-(4-fluorofenil)-3-fenil-4(fenilcarbamoil)-5propano-2-ilpirrol-1-il]-3,5 dihidroxiheptanoato de cálcio (USP, 2011) (Figura 4).

**Figura 4 - Estrutura química da Atorvastatina**



**Fonte: Adaptado da USP (The United States Pharmacopeia), 2011.**

Caracteriza-se como um pó branco ou praticamente branco, muito pouco solúvel em soluções aquosas, de acordo com a farmacopeia americana ( $0,1 \text{ mg.L}^{-1}$ ). Apresenta boa permeabilidade intestinal e curto tempo de meia vida ( $T_{\text{max}}$ . 1-2h). Entretanto, possui biodisponibilidade absoluta de apenas 12% após administração de 40mg, devido a sua baixa

solubilidade, extenso metabolismo hepático de primeira passagem e a natureza cristalina (LAU et al., 2006; KIM et al., 2011; NASRIN et al., 2014; ZHANG, 2015).

Dessa forma, o desenvolvimento de uma formulação capaz de aumentar a solubilidade da atorvastatina é de grande importância para aumento da biodisponibilidade, uma vez que sua absorção é limitada apenas pela solubilidade, por se enquadrar na classe II do SCB.

### **3.3.1.2 Polimorfismo e a ATV**

O polimorfismo é definido como uma situação em que um dado composto se apresenta em diferentes formas ou arranjos cristalinos, porém com composição química idêntica (LEE, 2014).

A caracterização de polimorfos é muito importante, pois a natureza da estrutura cristalina exerce grande influência nas propriedades do estado sólido. Assim, formas cristalinas distintas podem apresentar diferenças quanto à estabilidade, solubilidade, velocidade de dissolução e consequentemente, biodisponibilidade (CHIENG et al., 2011; LEE, 2014).

Dessa forma, o polimorfismo deve ser determinado no início do desenvolvimento da formulação, não apenas sendo necessária 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 na formulação pode levar a biodisponibilidades diferentes, podendo tornar o IFA inútil ou aumentar a sua potência a um limite perigoso (SARMA et al., 2011).

Na tentativa de eliminar ou diminuir os problemas relacionados à presença de diferentes polimorfos, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA regulamenta a resolução N° 136 de 29 de maio de 2003 (ANVISA, 2003), solicitando que os fabricantes informem as formas polimorfas dos princípios ativos e suas características.

Atorvastatina cálcica existe em diversas formas polimorfas, relatadas na literatura (ROTH, 1987; BRIGGS et al., 1999; KUMAR et al., 2000; MCKENZIE, 2000; ARONHIME et al., 2003; LIMOR et al., 2004; KRZYZANIAK et al., 2008; SCHAAF et al., 2009), atingindo um valor maior que 70 polimórfos cristalinos. Algumas delas estão incluídas em patentes, que descrevem as diversas modificações cristalinas, bem como o processo de obtenção (JIN et al., 2010).

Sendo assim, a caracterização do estado sólido da atorvastatina cálcica torna-se um fator indispensável no desenvolvimento de uma formulação com qualidade biofarmacotécnica e biofarmacêutica aceitável.

### 3.3.1.3 Estratégias de aumento de solubilidade da ATV

Após a quebra da patente comercial do medicamento da atorvastatina cálcica (Lipitor<sup>®</sup>) em 2010, várias estratégias vêm sendo desenvolvidas com intuito de obter uma formulação capaz de manter o fármaco no estado solubilizado no trato gastrointestinal, aumentando assim a sua biodisponibilidade.

Palanisamy, James, Khanam (2016) prepararam inclusões da ATV por meio de  $\beta$ -ciclodextrina. Kadu et al., (2011) desenvolveram uma formulação líquida do tipo SEDDS (do inglês *Self-emulsifying Drug Delivery Systems*) contendo Captex<sup>®</sup> 335 como fase oleosa, Twin<sup>®</sup> 80 e Capmul<sup>®</sup> MCM como mistura de surfactantes e PEG-400 como co-solvente. Sonje et al., (2012) mostraram incremento de solubilidade da ATV por meio de sais amorfos. Kim et al., (2011) obtiveram aumento da solubilidade por meio de nanopartículas amorfas da atorvastatina. Yin et al., (2010) demonstraram aumento da biodisponibilidade por meio de uma emulsão seca da atorvastatina cálcica.

Ha et al. (2014) prepararam dispersões sólidas e avaliaram a taxa de liberação da atorvastatina cálcica *in vitro* e *in vivo* usando dispersões sólidas com Soluplus<sup>®</sup>. Nasrin (2014) obteve aumento da taxa de dissolução por meio de dispersões sólidas da atorvastatina cálcica utilizando poloxamer 407 como carreador. Panghal et al. (2014) obtiveram incremento da solubilidade por meio do desenvolvimento de dispersões sólidas usando goma alfarroba como matriz polimérica. Choudhary et al. (2012) desenvolveram e caracterizaram dispersões sólidas usando leite desnatado como carreador. Sharma et al. (2012) mostraram aumento da taxa de liberação *in vitro* da atorvastatina cálcica por meio de dispersões sólidas com vários polímeros hidrofílicos.

## 3.4 Dispersões Sólidas

O conceito de dispersão sólida foi introduzido pela primeira vez em 1961 por Sekiguchi e Obi (LI et al., 2015) e desde então vem sendo extensamente estudadas (YANG et al., 2010; GHOSH et al., 2011; DJURIS et al., 2013;). Chiou and Riegelman (1971) definiu o termo dispersão sólida como [...dispersão de um ou mais ingredientes ativos em um carreador

inerte no estado sólido, preparada por meio da fusão, evaporação de solvente ou a combinação de ambos”.]

Na dispersão sólida, o IFA pode existir na forma cristalina, amorfa e/ou no estado molecular (QI et al., 2008). Porém, quando um fármaco está presente apenas no estado molecular no carreador, um sistema termodinamicamente estável é formado e passa a ser denominado de solução sólida (LI et al., 2015).

As dispersões sólidas podem ter inúmeras vantagens e aplicações farmacêuticas, sendo as mais destacadas: a distribuição homogênea e uniforme de pequenas quantidades de fármaco no estado sólido; estabilização de fármacos instáveis; dispensar compostos gasosos ou líquidos; produzir formas de liberação prolongada e por último, aumentar consideravelmente as taxas de dissolução do fármaco seja pela diminuição do tamanho da partícula, modificação cristalina, modificação polimorfa ou aumento da molhabilidade e da porosidade (BARZEGAR-JALALI et al., 2012; ADIBKIA et al., 2013; SHI et al., 2015).

Apesar de tais interesses pelo desenvolvimento das dispersões sólidas, o número de produtos comercializados é extremamente baixo. Isso se deve a dificuldade de transposição de escala, problemas de instabilidade físico-química durante a produção ou armazenamento, levando a uma separação de fases e recristalização (KAWABATA et al., 2011; DAN SMITHEY et al., 2013). Apenas alguns produtos são comercializados (Quadro 1).

**Quadro 1 - Dispersões sólidas comercializadas**

| <b>Produtos</b>           | <b>IFA</b>           | <b>Carreador</b> | <b>Forma de dosagem</b> |
|---------------------------|----------------------|------------------|-------------------------|
| Certican <sup>®</sup>     | Everolimo            | HPMC             | Comprimido              |
| Casamet <sup>®</sup>      | Nabilone             | PVP              | Comprimido              |
| Gris-Peg <sup>®</sup>     | Griseofulvina        | PEG              | Comprimido              |
| Isoptin SR-E <sup>®</sup> | Verapamil            | HPC/HPMC         | Comprimido              |
| Nivadil <sup>®</sup>      | Nivaldipino          | HPMC             | Comprimido              |
| Rezulin <sup>®</sup>      | Troglitazona         | HPMC             | Comprimido              |
| Kaletra <sup>®</sup>      | Lopinavir, Ritonavir | PVPVA            | Comprimido              |
| Intelence <sup>®</sup>    | Etravirine           | HPMC             | Comprimido              |
| Zelboraf <sup>®</sup>     | Vemurafenib          | HPMCAS           | Comprimido              |
| Incivek <sup>®</sup>      | Telaprevir           | HPMCAS           | Comprimido              |
| Crestor <sup>®</sup>      | Rosuvastatin         | HPMC             | Comprimido              |
| Afeditab CR <sup>®</sup>  | Nifedipino           | Poloxamer/PVP    | Comprimido              |
| Fenoglide <sup>®</sup>    | Fenofibrate          | PEG              | Comprimido              |

|                       |             |      |         |
|-----------------------|-------------|------|---------|
| Prograf <sup>®</sup>  | Tacrolimus  | HPMC | Cápsula |
| Sporanox <sup>®</sup> | Itraconazol | HPMC | Cápsula |

HPMC: Hidroxipropilmetilcelulose; PVP: Polivinilpirrolidona; PEG: Polietilenoglicol; HPC: Hidroxipropilcelulose; PVPVA: Polivinilpirrolidona/vinil acetato; HPMCAS: Hidroxipropilmetilcelulose/acetato succinato.

**Fonte: Adaptado de KAWABATA et al., 2011; DAN SMITHEY et al., 2013; LE-NGOC VO et al., 2013.**

Dependendo do estado físico do carreador, as dispersões sólidas podem ser classificadas em dispersões amorfas e cristalinas. Ainda, segundo Storpis (2009) e Le-Ngoc Vo (2013), as dispersões podem ainda ser classificadas em quatro gerações de acordo com sua composição (Quadro 2).

**Quadro 2 - Classificação das dispersões de acordo com sua composição.**

|                         | <b>Carreadores</b>                                | <b>Descrição</b>                                                                                                                                                                                | <b>Dissolução</b>                                                                                            | <b>Estabilidade</b>                                                      |
|-------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------|
| <b>Primeira Geração</b> | Cristalino                                        | Formação de misturas eutéticas utilizando carreadores solúveis em água como uréia e sorbitol.                                                                                                   | Baixa taxa de liberação, devido à natureza cristalina do carreador.                                          | Baixa estabilidade devido à instabilidade quando em meio aquoso.         |
| <b>Segunda Geração</b>  | Amorfo                                            | Diminuição da cristalinidade de fármacos por meio da utilização de carreadores, como PVP, PEG e derivados de celulose, podendo formar soluções sólidas, suspensões sólidas ou simples misturas. | Alta taxa de liberação devido à natureza amorfa do carreador.                                                | Baixa estabilidade devido à recristalização após a supersaturação        |
| <b>Terceira Geração</b> | Polímero surfactante                              | Mistura com surfactantes (como Gelucire 14/44, polissorbato e lauril sulfato de sódio), para aumento da solubilidade por meio da diminuição da tensão superficial.                              | Maiores taxas de liberação devido à diminuição da tensão superficial e aumento da molhabilidade.             | Alta estabilidade devido à diminuição da recristalização após saturação. |
| <b>Quarta Geração</b>   | Polímero insolúvel em água ou polímero expansível | Mistura com polímeros de polivinil (como o Carbopol) para formação de dispersões de liberação controlada.                                                                                       | Liberação controlada por meio da formação de redes reticulares capazes de incluir o fármaco no seu interior. | Boa estabilidade                                                         |

### 3.4.1 Carreadores utilizados

Os carreadores escolhidos para o preparo das dispersões sólidas deste estudo foram PEG 6000, Lauril Sulfato de Sódio, HPMC, Carbopol 940 e Ultrez. Essa escolha baseou-se em dados da literatura acerca das características físico-química e da toxicidade dos carreadores. Os mesmos devem ser farmacologicamente inertes e não tóxico.

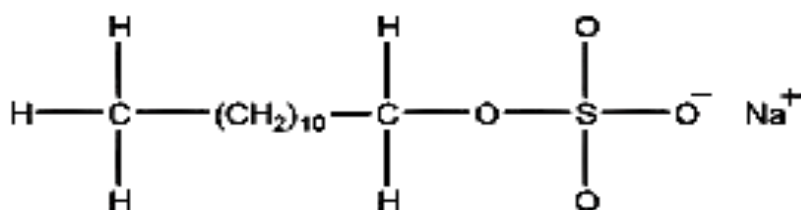
Como descrito anteriormente, o tipo de carreador utilizado determina o tipo de dispersão sólida formada. Dessa forma, foram produzidas dispersões sólidas de segunda geração (Atorvastatina/HPMC; Atorvastatina PEG), terceira (Atorvastatina/ Lauril Sulfato de Sódio) e quarta (Atorvastatina/carbopol; Atorvastatina/Ultrez).

#### 3.4.1.1 Lauril Sulfato de Sódio (LSS)

O LSS pertence à classe dos surfactantes aniônicos (Figura 5). Apresenta ampla aplicabilidade no âmbito farmacêutico, devido a sua alta capacidade de molhabilidade em toda faixa de pH (ROWE et al., 2009).

Tem a aparência de um pó ou flocos de coloração branca ou amarelada, de odor gorduroso e sabor amargo, se funde em torno de 204-207 °C e possui massa molecular de 288, 38 (ROWE et al., 2009).

**Figura 5 - Fórmula estrutural do LSS**



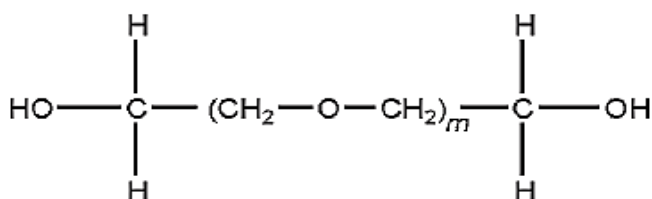
**Fonte: Adaptado de ROWE et al, 2009.**

Está listado no GRAS (*Generally Regarded as Safe*), sendo considerado como seguro e incluído no Guia de Ingredientes Inativos do *Food and Drug Administration* (FDA) em preparações dentárias, cápsulas orais, suspensões, comprimidos e formulações de uso tópico e vaginal, além de pertencer à lista canadense de ingredientes não medicinal aceitável do Canadá (TAHA et al., 2008; ROWE et al., 2009).

### 3.4.1.2 Polietilenoglicol (PEG)

Os polietilenoglicóis correspondem a polímeros de óxido de etileno com peso molecular variando de 200-300.000 (Figura 6). Porém, os mais utilizados em dispersões sólidas são os de peso molecular entre 1.500-20.000 (BLEY et al., 2010; LEUNER; DRESSEMAN, 2010).

**Figura 6- Fórmula estrutural dos PEG's**



**Fonte: Adaptado de ROWE et al, 2009.**

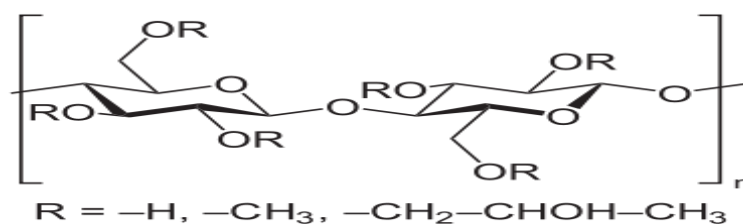
Os PEG's são usualmente utilizados em uma variedade de formulações farmacêutica, incluindo preparações oftálmica, oral e renal. Em adição, podem ser usados como base para pomadas, plastificante, base para supositório, lubrificante para comprimidos e cápsulas e como co-solvente (ROWE, 2009; BANDARI et al, 2013).

De acordo com Yam e cols.(2011) polietilenoglicóis são excelentes polímeros biocompatíveis e exibem uma combinação de propriedades hidrofílicas e lipofílicas. Dependendo do seu peso molecular, os polímeros de PEG encontram-se como líquidos viscosos e incolores (peso moleculares inferior a 100 Daltons) como ceras e sólidos (peso molecular inferior de até 10.000.000 Daltons).

### 3.4.1.3 Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

O HPMC é um polímero não iônico, derivado da celulose (Figura 7) (RIEKES et al., 2014). É bastante utilizado em formulações farmacêuticas de uso oral, oftálmico e tópico. Além de exercer um importante papel na produção de formulações de liberação controlada, incluindo dispersões sólidas (ASARE-ADDO et al., 2011).

**Figura 7 - Fórmula Estrutural do HPMC**



**Fonte: Adaptado de ROWE et al, 2009.**

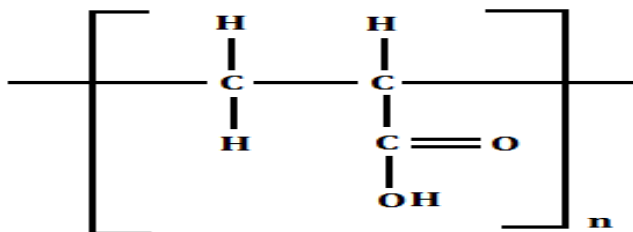
Pode atuar nas formulações como agente bioadesivo, de revestimento, de liberação controlada, modificada e sustentada; emulsionante; estabilizador; espessante; de aumento da viscosidade; de formador de película, entre outros (ROWE et al, 2009; SIEPMANN et al, 2013).

#### 3.4.1.4 Carbopol®

Foram utilizados nesse estudo o Carrbopol 940 e o ultrez, os quais diferem apenas em algumas propriedades físicas, como a densidade e o peso molecular.

Os carpobois são polímeros de vinila constituídos de poli cadeias de ácido acrílico (Figura 8). Apresentam baixa solubilidade em água e por essa razão e a sua capacidade de formar um sistema reticular capaz de aprisionar o fármaco, são ótimas escolhas para a produção de dispersões sólidas de liberação controlada, (do inglês *Controlled release solid dispersion- CRSD*) (HUANG et al, 2006; KELESSIDIS et al, 2012).

**Figura 8 - Fórmula estrutural dos Carbopois**



**Fonte: Adaptado de ROWE et al, 2009.**

### 3.4.2 Preparação das Dispersões Sólidas

Existem três grandes métodos de preparação das dispersões sólidas (Figura 9), incluindo o método da fusão, o do solvente e o fusão-solvente. Todas estas técnicas apresentam vantagens e desvantagens e, portanto a escolha de uma deve ser avaliada quanto às características do fármaco em questão e da forma farmacêutica em geral. Contudo, os métodos de fusão e do solvente são os mais frequentemente utilizados.

**Figura 9- Principais métodos de obtenção das dispersões sólidas**



**Fonte: adaptado de LE-NGOC VO et al., (2013).**

#### 3.4.2.1 Método da Fusão

As primeiras dispersões sólidas para aplicação farmacêutica foram preparadas por Sekiguchi & Obi (1961) usando o método de fusão. Nesse, o fármaco é fundido no carreador, logo após, a mistura é resfriada por diferentes técnicas, como o banho de gelo com agitação ou imersão em nitrogênio líquido (YAO et al., 2005), dentre outras. Pode também ser submetido a técnicas patenteadas como a Meltrex<sup>TM</sup> (VASCONCELOS et al., 2007). Apesar da simplicidade, baixo custo de manuseio e ausência de solventes orgânicos durante o processo de obtenção das dispersões sólidas, esse método é limitado para componentes termossensíveis e carreadores de elevado ponto de fusão (WU et al., 2011; LE-NGOC VO et al., 2013).

### 3.4.2.2 Método do solvente (Método da evaporação do solvente)

No método da evaporação de solvente, as dispersões sólidas são obtidas após a evaporação do solvente a partir de uma solução contendo o IFA e o carreador (GURUNATH et al., 2013). Este método tem solucionado muitos problemas do método anteriormente citado, relacionado à decomposição dos componentes quando submetidos a elevadas temperaturas. Pois a evaporação do solvente pode ser removida sem aquecimento como ocorre na liofilização. Entretanto, este método apresenta como pré-requisito a escolha do solvente e/ou co solvente, que deve ser comum para o carreador e o fármaco (LEUNER; DRESSMAN, 2012).

Os solventes frequentemente utilizados nesse método incluem o metanol, etanol, acetato de etila, acetona, água e mistura de solventes. Uma importante desvantagem correspondente à presença de remanescente de solvente após evaporação que pode causar toxicidade além de modificações na estrutura da matriz (LE-NGOC VO et al., 2013).

Semelhante ao método de fusão, a taxa de solidificação determina o estado físico da droga na dispersão sólida. A rápida solidificação é sempre preferida para garantir o estado amorfo da droga. Dessa forma vários métodos veem sendo desenvolvidos para remoção rápida do solvente, como a evaporação rotativa (LE-NGOC VO et al., 2013), secagem por atomização (*spray drying*) (ADIBKIA et al., 2013), secagem a vácuo (WANG et al., 2010), liofilização (GURUNATH et al., 2013), congelamento ultra rápido (OVERHOFF et al., 2011).

#### 3.4.2.2.1 *Spray drying* (Atomização)

*Spray drying* é uma eficiente tecnologia para a produção de dispersões sólidas por apresentar uma rápida evaporação do solvente, resultando em uma rápida transformação da solução IFA-carreador para partículas IFA-carreador (PAUDEL et al., 2013). Nessa técnica a solução ou suspensão dos constituintes da formulação é transportada a partir de um recipiente para o atomizador através de um sistema de bomba, em que será atomizada em finas gotículas com grande área superficial que posteriormente forma a dispersão sólida (SOSNIK; SEREMETA, 2015).

É um dos métodos mais utilizados para a produção de dispersões sólidas devido à possibilidade de produção contínua, fácil transposição de escala, boa uniformidade e relação custo-eficácia em grande escala de produção (BIKIARIS et al., 2011; SRINARONG et al.,

2011; DAN SMITHEY et al., 2013). Há disponível no mercado produtos de dispersões sólidas obtidas por esta técnica, como o Incivek<sup>®</sup> e o Intelence<sup>®</sup> (ADIBKIA et al., 2013; DAN SMITHEY et al., 2013).

#### **3.4.2.2 Freezing drying (liofilização)**

A liofilização pode ser usada como método alternativo para fármacos e carreadores termossensíveis. Esse método inclui duas etapas: o congelamento e a liofilização. A velocidade de congelamento é muito importante para o controle da separação de fase. O processo consiste basicamente na imersão da solução IFA-carreador em nitrogênio líquido até completo congelamento e da liofilização da solução congelada (VAN DROOGE et al., 2014).

A vantagem desse método é o menor risco de separação de fase e a desvantagem é que a maioria dos solventes orgânicos apresenta baixa temperatura de congelamento, não estando totalmente congelado durante a sublimação, resultando em uma ineficiente liofilização (CHUNG et al., 2012). Desse modo o solvente de escolha nessa técnica é a água, o que restringe sua aplicação para determinados fármacos.

#### **3.4.2.3 Fusão com solvente**

O método de fusão com solvente corresponde à combinação dos métodos fusão e evaporação com solvente. O IFA é então dissolvido em um solvente adequado, misturado com o carreador fundido, seguido da remoção do solvente formando assim a dispersão sólida.

A vantagem desse método é a proteção à degradação térmica e a imiscibilidade. A desvantagem é a limitação com IFA de dose terapêutica baixa.

Dos métodos descritos, *spray drying* e extrusão a quente são os mais comumente usados por serem facilmente escalonáveis e de grande aplicabilidade.

De maneira geral o melhor critério de escolha do método de preparação das dispersões sólidas deve ser aquele baseado nas características físico-química do IFA e carreador (LE-NGOC VO et al., 2013).

### 3.4.3 Métodos de caracterização das dispersões sólidas

A caracterização de uma dispersão sólida é uma etapa importante e indispensável no desenvolvimento de uma formulação. Esta caracterização pode ser dada por meio da utilização de diferentes técnicas. Porém, a presença de uma não exclui a importância de outra. A utilização de uma única técnica não é suficiente para obter uma caracterização completa. Assim, são utilizadas técnicas termoanalíticas, difração de raios-X, espectroscopia do infravermelho, ensaio de dissolução e análise microscópica para caracterização completa (SETHIA; SQUILANTE, 2013).

As técnicas termoanalíticas avaliam as características do sistema em função da temperatura. Estas técnicas são frequentemente utilizadas na indústria farmacêutica como técnicas rápidas e precisa do controle da qualidade e desenvolvimento de produtos (QI et al, 2015), incluindo caracterização térmica (GOMES et al., 2007; WILCZYNSKI et al., 2015), estudos de estabilidade (MARCINIEC et al., 2004), estudo de compatibilidade e pré-formulação (PROCÓPIO et al., 2011), como também qualificação de fornecedores. Dentre elas, a análise termogravimétrica (TG) e a calorimetria exploratória diferencial (DSC) são bastante utilizadas na caracterização de dispersão sólida (NASCIMENTO et al., 2009).

A DSC é uma técnica pela qual se mede a diferença de energia fornecida à amostra e a um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura, enquanto a substância e a referência são submetidas a uma programação controlada de temperatura. Essa técnica possibilita acompanhar e obter dados quantitativos quanto às alterações físicas ou químicas da amostra, tais como: mudança de estado físico, transições de fase ou reações de desidratação e de decomposição (MATOS et al., 2009; SILVA et al., 2009, OLIVEIRA, 2011).

Termogravimetria corresponde à técnica na qual a mudança de massa de uma substância é medida em função da temperatura. Esta técnica determina as perdas ou ganhos de massa de uma substância em função da temperatura ou do tempo. As curvas geradas possibilitam a obtenção de informações quanto à estabilidade térmica da amostra, composição e estabilidade dos compostos intermediários e do produto final (ARAÚJO, 2003; AMICO et al, 2011).

A difração de raios-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).

A espectroscopia na região do infravermelho é um tipo de espectroscopia de absorção que usa a região do infravermelho no espectro eletromagnético. Assim como, as demais técnicas espectroscópicas, ela pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra, e se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibrações específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (VIANNA-FILHO et al., 2013, ESSID et al., 2015).

O ensaio de dissolução permite avaliar a taxa de liberação *in vitro* do fármaco fornecendo informações úteis para o desenvolvimento de formulações para administração oral. Dissolução pode ser definida como um processo pelo qual um fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo. O ensaio de dissolução é um teste físico de natureza destrutiva, no qual o fármaco passa para a forma solúvel a partir da forma farmacêutica intacta ou de seus fragmentos e partículas formados durante o teste, no caso de cápsulas e comprimidos. Portanto, a dissolução é uma importante condição para absorção sistêmica do fármaco, podendo afetar a biodisponibilidade do mesmo (ANSEL, 2007, CUFFINE et al., 2011).

O estudo da morfologia externa das partículas é a principal aplicação da microscopia óptica na área farmacêutica. Também se avalia a cristalinidade, mas na maioria das vezes, apenas quando o ensaio está descrito nas monografias dos compêndios oficiais. Entretanto a microscopia óptica possui outras aplicações, tais como avaliações das dimensões das partículas e estudo de polimorfismo (polimorfos diferentes desviam a luz polarizada de forma distinta) (CUFFINE et al., 2011).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) é uma técnica útil para a caracterização dos diferentes efeitos superficiais dos polimorfos e morfologia das partículas. Ela se baseia na irradiação de um feixe fino de elétrons sobre uma amostra. A interação entre o feixe e a superfície da amostra provoca a emissão de uma série de radiações. Na microscopia eletrônica de varredura, a detecção dos elétrons secundários é responsável pela imagem de alta resolução da topografia da superfície analisada. O aumento da imagem é muito superior ao obtido pela microscopia óptica (CUFFINE et al., 2011).

### 3.5 Estudo de Estabilidade

A estabilidade é definida como o tempo durante o qual o medicamento ou mesmo a matéria-prima, mantém dentro dos limites especificados, as mesmas condições e características que possuíam quando da época de sua estocagem (MARIN et al 2012).

Os fabricantes são os responsáveis por garantir que os medicamentos permaneçam inalterados e que os mesmos sejam seguros e eficazes. Para isso, realizam-se os testes de estabilidade, pois estes são uma maneira de conhecer o comportamento do fármaco ou medicamento durante seu tempo de utilização (EMEA, 2004), determinar o prazo de validade dos mesmos, e ainda determinar as condições ideais de armazenamento (EMEA, 2004; KOPP, 2006, STENGER, 2011, MAGGIO et al., 2013).

A instabilidade dos produtos farmacêuticos pode dar origem aos produtos de degradação. Estes devem ser notificados, identificados e/ou qualificados quanto ao grau de toxicidade, por ocasião do registro, pós-registro e renovação de registro de medicamentos junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), segundo o Informe Técnico nº 1, de 15 de julho de 2008 (BRASIL, 2008) e a Consulta pública nº 68, de 29 de agosto de 2014 (BRASIL, 2014).

Além dos produtos de degradação, o fármaco pode apresentar outras impurezas, como as misturas racêmicas que podem ser geradas durante a sua síntese. Dessa forma, são de suma importância a identificação e qualificação destas impurezas, que podem causar efeitos tóxicos. A exemplo encontra-se a talidomida, que durante a síntese sem adequado monitoramento surgiram os enantiômeros tóxicos (STENGER, 2011).

A preocupação com a estabilidade de fármacos e medicamentos é crescente, e os órgãos regulatórios vêm ampliando suas exigências na concessão do registro de medicamentos para comercialização nos diferentes países (ICH,1996; 2006; BRASIL, 2008; 2014).

O estabelecimento de normas regulatórias, quanto às impurezas em novos fármacos têm sido constantemente discutidas e atualizadas por meio de guias internacionais, pelo ICH (*International Conference on Harmonization of Technical Requirements*) (EMEA, 2004; ICH 2006). No Brasil, a ANVISA publicou um Regulamento Técnico nº 1 (BRASIL, 2008) exigindo a notificação, identificação e quantificação dos produtos de degradação para o registro e renovação de registros de todos os tipos de medicamentos (referência, genérico e similares), mesmo os já tradicionais. Estes documentos sugerem as condições de teste de estresse às quais os produtos devem ser submetidos, bem como determina os limites de

identificação, quantificação e qualificação das impurezas para cada faixa de dose diária ingerida de fármaco.

O estudo de estabilidade requer o emprego de metodologias analíticas validadas que sejam indicadoras de estabilidade (Métodos Indicadores de Estabilidade-MIE) do analito em estudo. Testes de degradação forçada do analito podem auxiliar no estabelecimento das vias de degradação, na identificação dos produtos de degradação e na avaliação da estabilidade intrínseca da molécula além de validar a capacidade do método analítico de ser indicativo da estabilidade da amostra em estudo. A natureza dos testes de degradação forçada ou de estresse irá depender das características individuais do fármaco e do tipo de forma farmacêutica envolvida (ICH, 2006).

O teste de estabilidade é definido como um conjunto de testes desenvolvidos para obter informações sobre a estabilidade de produtos farmacêuticos, objetivando definir seu prazo de validade e período de utilização em embalagem e condições de armazenamento especificadas (BRASIL, 2005).

Atualmente a ANVISA mantém em vigência o “Guia para realização de Estudos de Estabilidade” contido na RE 01 de 2005. Este guia orienta a realização do estudo de estabilidade acelerada, que consiste num estudo projetado para acelerar a degradação química e/ou física de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento. Orienta também o estudo de longa duração, que correspondente a um estudo desenvolvido para verificar as características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico durante e, opcionalmente após o prazo de validade. Seus resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade e recomendações de armazenamento. Orienta ainda o estudo de estabilidade de acompanhamento é projetado para verificar se o produto farmacêutico mantém suas características conforme os resultados obtidos nos estudos de longa duração.

### **3.5.1 Degradação Forçada**

Um dos principais objetivos a serem atingidos através dos testes de estresse ou testes de degradação forçada é demonstrar a especificidade ao desenvolver um método indicativo de estabilidade, sobretudo quando poucas informações estão disponíveis sobre os possíveis produtos de degradação. Estes também fornecem informações sobre as rotas de degradação e dos produtos formados, que poderiam ser produzidos durante o período de armazenamento (SILVA *et al.*, 2009; STENGER, 2011).

Para o medicamento o planejamento dos estudos deve ser baseado nas propriedades do fármaco e dos excipientes que serão utilizados na formulação, assim como nas condições de armazenamento. Neste caso, são utilizadas condições mais severas do que as condições do estudo de estabilidade acelerada, como estratégia para a fase de desenvolvimento da forma farmacêutica. No entanto, tais exames podem não ser necessários, se for demonstrado que os produtos de degradação não são formados nas condições de estudo de estabilidade acelerada ou de longa duração (ICH, 2003; SILVA et al., 2009).

Além dos produtos de degradação, o fármaco pode apresentar outras impurezas, como as misturas racêmicas que podem ser geradas durante a sua síntese. Nesse aspecto é de suma importância a identificação e qualificação destas, pois podem causar efeitos tóxicos, podendo colocar em risco a vida humana. O estabelecimento de normas regulatórias quanto a impurezas em novos fármacos tem sido constantemente discutido e atualizado por meio de guias internacionais (ICH, 2006; STENGER, 2011; SINGH et al 2012).

A ICH traz especificações acerca dos limites dos produtos de degradação que podem surgir durante o armazenamento do produto. Os limites permitidos são baseados na ingestão diária total do fármaco e são separados em limites de notificação, identificação e qualificação. O limite de notificação é definido como o nível que deve ser reportado às agências reguladoras a fim de alertar a presença de produtos de degradação; enquanto que, o limite de identificação define-se como o nível que requer a identificação química da substância. Finalmente, o limite de qualificação é o nível que deve ser testado em estudos toxicológicos para garantir a segurança do composto. A Tabela 2 apresenta os níveis específicos de produtos de degradação permitidos para o analito em estudo (WATERMAN; ADAMI, 2005; ICH, 2006).

**Tabela 2 - Limites de notificação, identificação e qualificação do(s) produto(s) de degradação no decorrer do estudo de estabilidade**

| <b>Tipo de limites</b>          | <b>Dose máxima diária</b> | <b>Limites</b>                           |
|---------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|
| <b>Limites de notificação</b>   | $\leq 1$ g                | 0,1%                                     |
|                                 | $> 1$ g                   | 0,05%                                    |
| <b>Limites de identificação</b> | $< 1$ mg                  | 1,0% ou 5 $\mu$ g TDI, o que for menor   |
|                                 | 1 mg – 10 mg              | 0,5% ou 20 $\mu$ g TDI, o que for menor  |
|                                 | 10 mg – 2 g               | 0,2% ou 2mg TDI, o que for menor         |
|                                 | $> 2$ g                   | 0,10%                                    |
| <b>Limites de qualificação</b>  | $< 10$ mg                 | 1,0% ou 50 $\mu$ g TDI, o que for menor  |
|                                 | 10 mg – 100 mg            | 0,5% ou 200 $\mu$ g TDI, o que for menor |
|                                 | $> 100$ mg – 2 g          | 0,2% ou 3mg TDI, o que for menor         |
|                                 | $> 2$ g                   | 0,15%                                    |

**Fonte: Adaptado de ICH, 2006; BRASIL, 2014.**

## **CAPÍTULO I**

***Avaliação *in vitro* de dispersões sólidas da atorvastatina cálcica usando, diferentes carreadores***

## **4. AVALIAÇÃO *IN VITRO* DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA ATORVASTATINA CÁLCICA USANDO DIFERENTES CARREADORES.**

O propósito desse capítulo foi avaliar a solubilidade de dispersões sólidas de atorvastatina cálcica obtidas por liofilização, comparando os cinco diferentes carreadores utilizados: Carbopol<sup>®</sup> 940, hidroxipropilmetilcelulose – HPMC, lauril sulfato de sódio - LSS, polietilenoglicol (PEG) 6000 e carbopol-ultrez<sup>®</sup> 20.

As amostras foram denominadas DS-C (usando Carbopol<sup>®</sup>), DS-U (usando carbopol ultrez), DS-H (usando HPMC), DS-L (usando LSS) e DS-P (usando PEG 6000).

### **4.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **4.1.1 Materiais**

A atorvastatina cálcica (ATVI- lote I), insumo farmacêutico ativo, foi obtida a partir da Gemini Indústria de Insumos Farmacêuticos LTDA. Os seguintes itens foram utilizados como carreadores: Carbopol<sup>®</sup> 940 (Henrifarma), hidroxipropilmetilcelulose – HPMC (All chemistry), lauril sulfato de sódio - LSS (Mapric), polietilenoglicol (PEG) 6000 (Henrifarma) e carbopol-ultrez<sup>®</sup> 20 (Fragon).

#### **4.1.2 Métodos**

##### **4.1.2.1.Preparação das Dispersões Sólidas por Liofilização**

As dispersões sólidas usando carbopol (DS-C), carbopol ultrez (DS-U), HPMC (DS-H), LSS (DS-L) e PEG (DS-P) foram preparadas por liofilização na proporção de 1:1 de fármaco/carreador. Inicialmente foi obtida uma solução aquosa, em que o carreador foi solubilizado em quantidade suficiente de água, seguido da adição do fármaco e submetido à agitação por 10 minutos. Na solução com o HPMC foi utilizada quantidade suficiente de LSS para obter melhor homogeneidade. Após a obtenção das soluções, as amostras foram congeladas em um freezer a -20°C durante 24h, seguidas da liofilização por 24h a uma temperatura de -40°C e vácuo de 1250 mmHg.

#### **4.1.2.2 Análise por Difração de Raios-X do Pó (PDRX)**

Para análise por PDRX foi utilizado um difratômetro Bruker AXS modelo D5000 (Siemens), tubo emissor de cobre ( $1,54060 \text{ \AA}$ ), geometria  $\theta$ - $2\theta$ , tensão aplicada de 40 KV, corrente de 30 mA,  $\theta_i = 5^\circ$ ,  $\theta_f = 45^\circ$ , tamanho de passo de 0,02, velocidade de  $20^\circ/\text{min}$ .

O grau de cristalinidade foi calculado através do software DIFFRAC SUITE TOPAS 4.2 (Bruker), da última geração de softwares que utiliza os princípios do método de Rietveld. A área integrada de cada pico cristalino foi calculada com uma função de pico Parâmetro Fundamental, numa faixa de ângulo de  $5$  a  $40^\circ 2\theta$ . A área de contribuição do ruído de fundo foi estimada usando um polinômio de quinta ordem.

Os picos cristalinos nas dispersões sólidas foram selecionados baseados no padrão de difração de ATV fornecidos na literatura. A contribuição amorfa foi calculada com dados de região do difratograma em forma de halo, tendo a intensidade integrada.

#### **4.1.2.3 Análise Morfológica**

A morfologia da ATVI e suas dispersões sólidas foram analisadas usando um microscópio óptico digital (HIROX - KH-7700).

#### **4.1.2.4 Uniformidade de Conteúdo**

A uniformidade de conteúdo das dispersões sólidas foi obtida a partir do doseamento das amostras. Uma quantidade equivalente a 20mg de ATVI, na proporção 1:1 foi pesada e diluída em água destilada, seguida de filtração em filtro de seringa de  $0,45 \mu\text{m}$ . A solução produzida foi lida em espectrofotômetro UV/vis, no modelo 1650PC, marca Shimadzu, usando um comprimento de onda de 245nm.

#### **4.1.2.5 Estudo de Solubilidade**

O estudo de solubilidade foi conduzido de acordo com o método reportado por Higuchi e Connors (1965), com modificações. Os resultados foram obtidos em triplicata a partir da adição de quantidades em excesso da ATVI em água destilada (20mg/25mL de água). As soluções foram agitadas constantemente a 100 rpm em incubadora de bancada com agitação orbital (Shaker) – modelo TE 420, marca Tecnal, e mantidas a temperatura constante

de 37°C. Após 60 minutos, as amostras foram filtradas em membranas de 0,45 µm e analisadas no espectrofotômetro UV- 1650PC - Shimadzu a 245nm.

#### **4.1.2.6 Perfil de Dissolução**

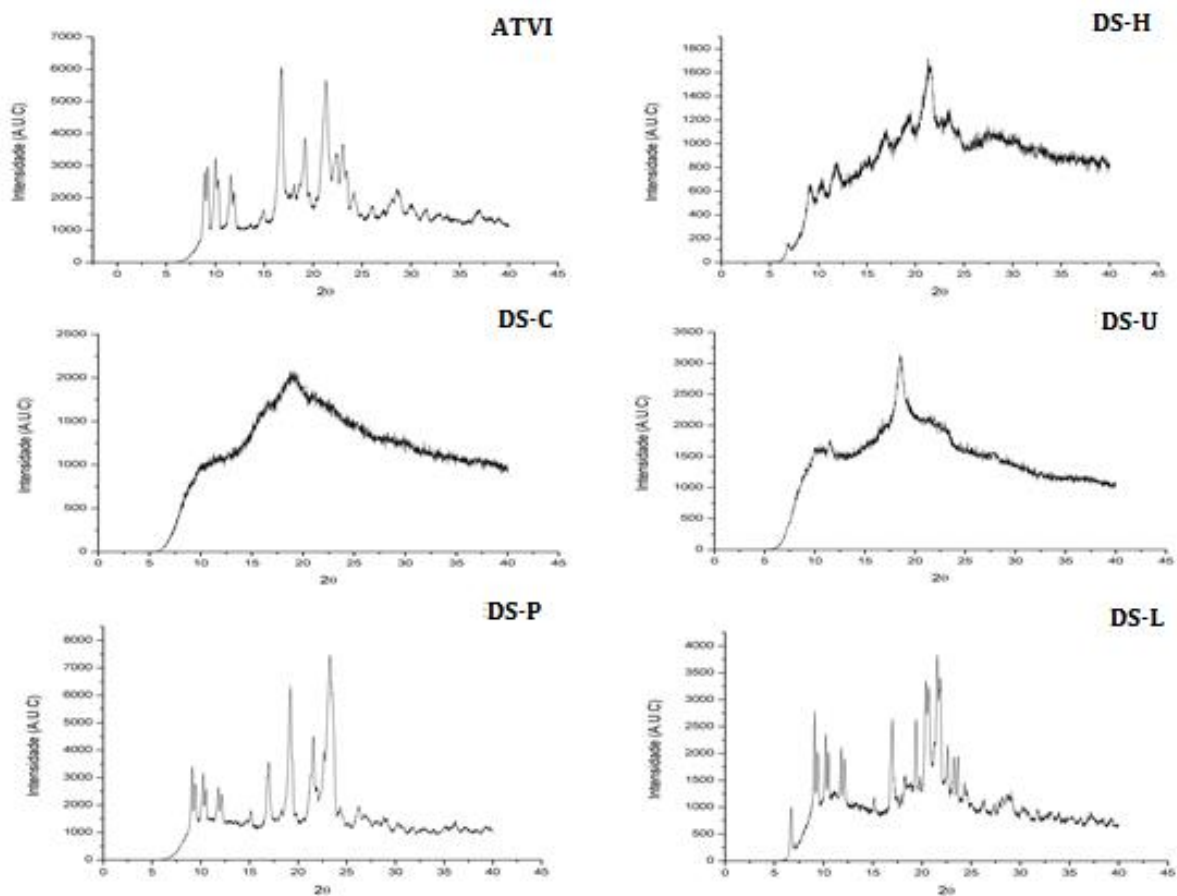
O perfil de dissolução foi realizado utilizando um dissolutor (Nova ética 299) e o aparato II da USP (pá). As amostras equivalentes a 20mg de ATV dos três lotes foram submetidas à dissolução no interior de cápsulas de gelatina e mantidas em rotação de 50 rpm e banho de temperatura de 37±0,5 °C, durante 60 minutos. Alíquotas de 5mL foram retiradas em intervalos de tempo predeterminado (no intervalo de 5 a 60 minutos), filtradas em filtros de seringa de 0,45 µm e analisadas no espectrofotômetro UV (UV- 1650PC - Shimadzu) a 245nm. O ensaio foi realizado em triplicata.

## **4.2 RESULTADOS E DISCUSSÕES**

### ***4.2.1 Análise por Difração de Raios-X do pó (PDRX)***

Os resultados da análise por PDRX de ATV e suas dispersões sólidas está demonstrado na Figura 10. O padrão de difração do fármaco apresentou picos numerosos, intensos e definidos com ângulos de difração de 8, 94; 9,23; 10,06; 16,82; 19,25; 21,38 e 23,10°, compatível com material cristalino. Estes achados corroboram com o padrão de difração do polimorfo I da ATV descrito na literatura (BRIGGS et al.,1999; SONJE et al., 2010).

**Figura 10 - Difratomogramas da ATVI e de suas dispersões sólidas**



Os difratogramas de DS-U, DS-C e a DS-H revelaram um perfil amorfo, sendo confirmado pelo resultado do grau de cristalinidade com valores de 18, 18,09 e 16,69% respectivamente. De modo diferente, os difratogramas DS-L e DS-P apresentaram um perfil cristalino, sendo confirmado pelo resultado do grau de cristalinidade, com resultados de 61,82 e 68,07%, respectivamente e semelhantes à ATV, que apresentou um valor de 66,62%.

Esses resultados demonstram que houve maior influência da técnica de preparação com relação à estrutura cristalina de DS-U e DS-C, em que verifica uma modificação cristalina da ATV nessas dispersões.

Loh; Tan; Peh (2014) preparam dispersões sólidas de norfloxacinol usando carbopol<sup>®</sup>, como carreador e obtiveram padrões de difração característicos do fármaco utilizado, não alterando sua estrutura cristalina. As dispersões foram obtidas por meio da evaporação de solvente a temperatura de 40°C. Esses achados podem ser indicativos de que a modificação

cristalina encontrada nas dispersões DS-U e DS-C neste trabalho esteja relacionada com a técnica de obtenção, embora os fármacos de ambos os trabalhos sejam diferentes.

Padrões de difração semelhantes à amorfização da ATV nas dispersões DS-U e DS-C foram encontrados em Kim et al. (2008), em que por meio do *spray drier* obtiveram amorfos da ATV. Zhang et al. (2009) produziram amorfos micronizados de ATV usando HPMC como carreador. Estes amorfos foram obtidos por meio da precipitação com antisolvente seguida da secagem por *spray drier*.

Kim et al (2013) obtiveram dispersões sólidas amorfas da ATV usando HPMC e PVP (polivinilporrildona) como carreadores, por meio da utilização do processo super crítico. Ha et al.(2014) produziram dispersões sólidas amorfas da ATV usando Soluplus® como carreador, por meio da secagem por *spray drier*.

#### 4.2.2 Uniformidade de conteúdo

As dispersões sólidas após serem produzidas foram submetidas à análise de teor do fármaco por meio da espectroscopia do UV e obtiveram valores entre 32-97% (Tabela 3) da concentração teórica (curva de calibração  $y=0,0399x-0,0059$ ;  $R^2=0,9996$ ).

**Tabela 3- Valor do teor das dispersões sólidas da ATV**

| Amostras | Proporção | Concentração<br>teórica<br>( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) | Teor (%)      |
|----------|-----------|-------------------------------------------------------|---------------|
| DS-L     | 1:1       | 20                                                    | 91 $\pm$ 0,93 |
| DS-P     | 1:1       | 20                                                    | 97 $\pm$ 0,54 |
| DS-H     | 1:1       | 20                                                    | 79 $\pm$ 0,74 |
| DS-C     | 1:1       | 20                                                    | 37 $\pm$ 0,48 |
| DS-U     | 1:1       | 20                                                    | 32 $\pm$ 0,80 |

Média dos valores (n=3)  $\pm$  desvio padrão

Não há monografias em compêndios oficiais que tratam das especificações dos valores do teor da ATV em formulações. Dessa forma, os valores aqui encontrados foram comparados com os valores encontrados na literatura.

Narasaiah et al (2010) produziram dispersões sólidas usando PEG 6000 como carreador com teor na faixa de 95-99%. Choudhary et al (2012) encontraram valores de teor da ATV em dispersões sólidas, usando proteínas do leite como carreadores numa faixa de 96-

102. Panghal et al (2014) obtiveram dispersões com faixa de teor entre 92-104%. Rani et al (2014) desenvolveram dispersões sólidas na faixa de teor entre 91-99%.

Verifica-se na Tabela 3 que apenas as amostras DS-P e DS-L apresentaram valores de teor superior a 90%. O baixo teor das demais pode estar relacionado com as propriedades dos carreadores que serão discutidas nos itens 4.2.4 e 4.2.5, além da falta de uniformidade dos componentes ou ainda suas solubilidades, uma vez que tanto a ATV como os carbopóis são insolúveis em água.

#### 4.2.3 Estudo de Solubilidade

A concentração esperada, caso a dosagem de 20mg estivesse completamente solubilizada em meio aquoso, seria de 0,8 mg.mL<sup>-1</sup>. Os resultados do estudo de solubilidade estão apresentados na Tabela 4, em que ATV apresentou solubilidade de 0,30 mg/mL ± 0,19 em meio aquoso, o que correspondente a 35,5% da solubilidade do fármaco.

**Tabela 4 - Solubilidade aquosa da ATV**

| <b>Amostra</b> | <b>Solubilidade Aquosa<br/>(mg.mL<sup>-1</sup>)</b> | <b>Aumento de Solubilidade<br/>(%)</b> |
|----------------|-----------------------------------------------------|----------------------------------------|
| <b>ATVI</b>    | 0,30 ± 0,001                                        | -                                      |
| <b>DS-H</b>    | 0,30 ± 0,014                                        | 0,00                                   |
| <b>DS-C</b>    | 0,07 ± 0,005                                        | 0,00                                   |
| <b>DS-U</b>    | 0,05 ± 0,008                                        | 0,00                                   |
| <b>DS-P</b>    | 0,50 ± 0,005                                        | 66,7                                   |
| <b>DS-L</b>    | 0,50 ± 0,056                                        | 66,7                                   |

Média dos valores (n=3) ± desvio padrão

Com relação às dispersões sólidas, DS-H apresentou solubilidade igual a do fármaco; DS-C e DS-U apresentaram solubilidade inferior ao fármaco e DS-P e DS-L aumentaram a solubilidade do fármaco, ambas com valor de 66,7%.

Desse modo observou-se que os carreadores influenciaram de forma diversa a solubilidade do fármaco nas dispersões sólidas, sendo os melhores resultados apresentados por DS-P e DS-L, com resultados semelhantes ao valor de solubilidade proposto (62,5% do valor teórico), caso o fármaco estivesse completamente solúvel no meio. Pode-se dizer que PEG e LSS foram capazes de promover o aumento de solubilidade aquosa do fármaco, com a técnica de preparação de dispersão sólida utilizada.

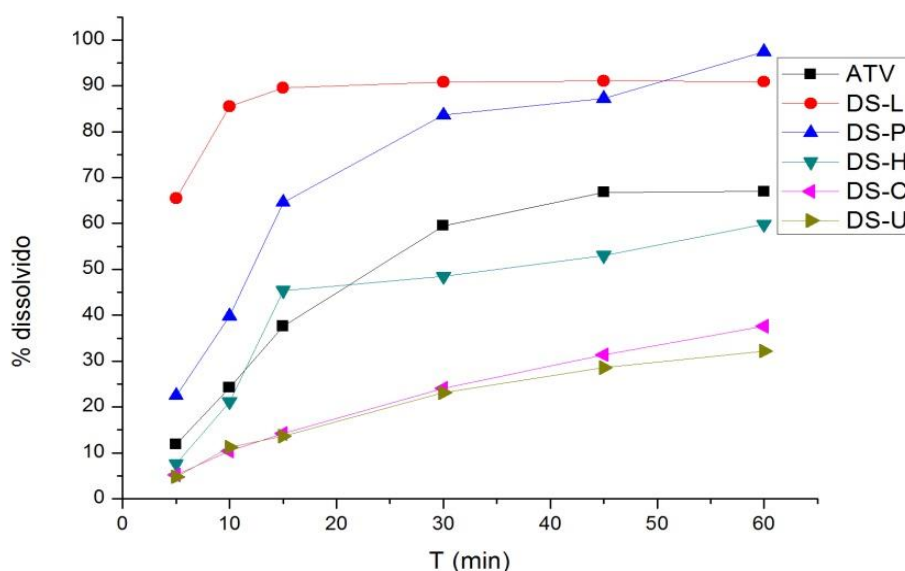
Os resultados encontrados foram comparados com os de perfil de dissolução.

#### 4.2.4 Perfil de Dissolução

Os perfis de dissolução das dispersões sólidas e da ATV são mostrados na Figura 11, em que apenas as dispersões DS-L e DS-P apresentaram um aumento na velocidade e extensão da dissolução em relação ao fármaco em 60 minutos, resultados semelhantes aos encontrados no estudo de solubilidade. As demais dispersões sólidas mostraram um menor desempenho.

Os valores médios do percentual de liberação com os respectivos desvios-padrão para cada uma das amostras avaliadas encontram-se na Tabela 5.

**Figura 11 - Perfil de dissolução da ATVI e suas dispersões sólidas**



**Tabela 5 - Valores médios do percentual de liberação de ATVI e do fármaco nas dispersões sólidas ( $\pm$  desvios-padrão) em função do tempo (min)**

| Tempo (min) | ATVI (%)        | DS-H (%)        | DS-C (%)        | DS-U (%)        | DS-P (%)        | DS-L (%)        |
|-------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 5           | 11,9 $\pm$ 0,12 | 7,60 $\pm$ 0,03 | 5,2 $\pm$ 0,00  | 4,8 $\pm$ 0,23  | 22,5 $\pm$ 0,08 | 65,5 $\pm$ 0,10 |
| 10          | 24,2 $\pm$ 0,02 | 21,1 $\pm$ 0,09 | 10,4 $\pm$ 0,01 | 11,2 $\pm$ 0,02 | 39,8 $\pm$ 0,10 | 85,5 $\pm$ 0,01 |
| 15          | 37,6 $\pm$ 0,06 | 45,4 $\pm$ 0,04 | 14,2 $\pm$ 0,04 | 13,6 $\pm$ 0,02 | 64,6 $\pm$ 0,07 | 89,6 $\pm$ 0,01 |
| 30          | 59,5 $\pm$ 0,08 | 48,5 $\pm$ 0,05 | 24,1 $\pm$ 0,04 | 23,1 $\pm$ 0,02 | 83,6 $\pm$ 0,10 | 90,8 $\pm$ 0,01 |
| 45          | 66,8 $\pm$ 0,12 | 53,0 $\pm$ 0,12 | 31,4 $\pm$ 0,04 | 28,6 $\pm$ 0,02 | 87,2 $\pm$ 0,09 | 91,1 $\pm$ 0,00 |
| 60          | 67,5 $\pm$ 0,09 | 59,8 $\pm$ 0,08 | 37,6 $\pm$ 0,04 | 32,2 $\pm$ 0,01 | 97,4 $\pm$ 0,04 | 90,9 $\pm$ 0,01 |

Média dos valores (n=3)  $\pm$  desvio padrão.

A análise de variância ( $P < 0,05$ ) revelou diferenças significativas entre as amostras, tendo a velocidade de liberação aumentado na seguinte ordem: DS-P > DS-L > ATV > DS-H > DS-C > DS-U.

As amostras DS-U e DS-C apresentaram caráter amorfo, conforme discutido no item 4.2.1. Desse modo, as referidas amostras deveriam apresentar uma velocidade de dissolução maior, quando comparadas ao fármaco, uma vez que um sólido amorfo apresenta maior solubilidade, por ter um arranjo molecular com ligações mais fracas que o arranjo cristalino (SINKO 2008; LAITINEN et al., 2013). No entanto, essas dispersões sólidas apresentaram os menores valores no perfil de dissolução. Esses resultados demonstram que a amorfização do material não foi eficiente para promover o aumento de solubilidade do fármaco.

Os carbopois são polímeros de vinilo constituído de poli cadeias de ácido acrílico que tendem a formar um sistema reticular capaz de incluir o fármaco no seu interior, impedindo sua liberação imediata. Esses carreadores são insolúveis em soluções aquosas e por essa razão são utilizados na obtenção de dispersões sólidas de liberação controlada (LE-NGOC VO et al., 2013).

Isso explica o porquê de em 60 minutos as amostras DS-U e DS-C terem apresentados apenas uma liberação de 32,2 e 37, 6% respectivamente (OZEKI et al., 2000; KELESSIDIS et al., 2011), além de ter formado um complexo com a cápsula impedindo a desintegração da mesma, como visualizado experimentalmente.

A amostra DS-H apresentou comportamento semelhante às demais dispersões sólidas citadas anteriormente. No entanto, esse achado pode estar relacionado com a capacidade do HPMC em se gelatinizar e aumentar a viscosidade quando em solução e a 37 °C (LARSSON et al., 2010, PYGALL et al., 2011). Por essa razão o HPMC é muito utilizado em formulações com liberação controlada (RIEKES et al., 2014).

Kim et al. (2013) obtiveram aumento do perfil de dissolução da ATV por meio de dispersão sólida, usando HPMC como carreador. Esse aumento foi de aproximadamente 80%, em 30 minutos. Alam et al. (2011) produziram dispersão sólida da ATV usando HPMC, capaz de liberar 80% do fármaco em 60 minutos.

De acordo com a Tabela 5, verifica-se que a DS-H apresentou apenas uma liberação de 59,8 % em 60 minutos, ao contrário dos desempenhos obtidos pelos autores citados anteriormente. Dessa forma, esse menor perfil de liberação da ATV pode estar relacionado à técnica de obtenção das dispersões, uma vez que as técnicas utilizadas nos trabalhos anteriores foram antisolvente supercrítico e evaporação de solvente a temperatura ambiente, respectivamente. Ademais, esse achado pode ainda estar relacionado com a presença do LSS

utilizado na amostra DS-H como cosolvente. É relatado na literatura interações entre éteres de celulose e LSS, como será discutido com mais detalhes no item 4.2.5.

Com relação à DS-L e DS-P os resultados indicaram que a velocidade de dissolução foi aumentada, o que não ocorreu com as demais dispersões sólidas. Ao final dos 60 minutos, ambas mostraram valores semelhantes, de 90,9 e 97,4%, para DS-L e DS-P, respectivamente (aumento de dissolução do fármaco em torno de 140 %). Porém, a DS-P liberou o fármaco de forma gradativa, ao contrário do que ocorreu com a DS-L, em que ocorreu uma rápida liberação já em 5 minutos (65,5%), em detrimento de DS-P que liberou 22,5% no mesmo tempo. Esse é um achado importante, que não foi possível visualizar no estudo de solubilidade, podendo esta dispersão sólida ser escolhida no caso de haver a necessidade de um com liberação mais rápida enquanto que a DS-P poderia ser a escolhida no caso de se necessitar uma liberação mais lenta.

Os mecanismos que justificam o perfil de liberação diferenciado em DS-P e DS-L não estão relacionados a uma amorfização, como já discutidos em 4.2.1. No caso de DS-L é possível que seja por um mecanismo de formação de micelas em solução ou de molhabilidade. Segundo Le-ngoc vo et al., (2013) agentes tensioativos ou emulsionantes, como LSS são capazes de melhorar a molhabilidade e impedir a precipitação devido a supersaturação ao absorver para a camada externa as partículas de fármacos ou formar micelas capazes de encapsular fármacos. Esses achados podem estar relacionados com o possível mecanismo de aumento de solubilidade da ATV em DS-L.

#### **4.2.5 Análise Morfológica**

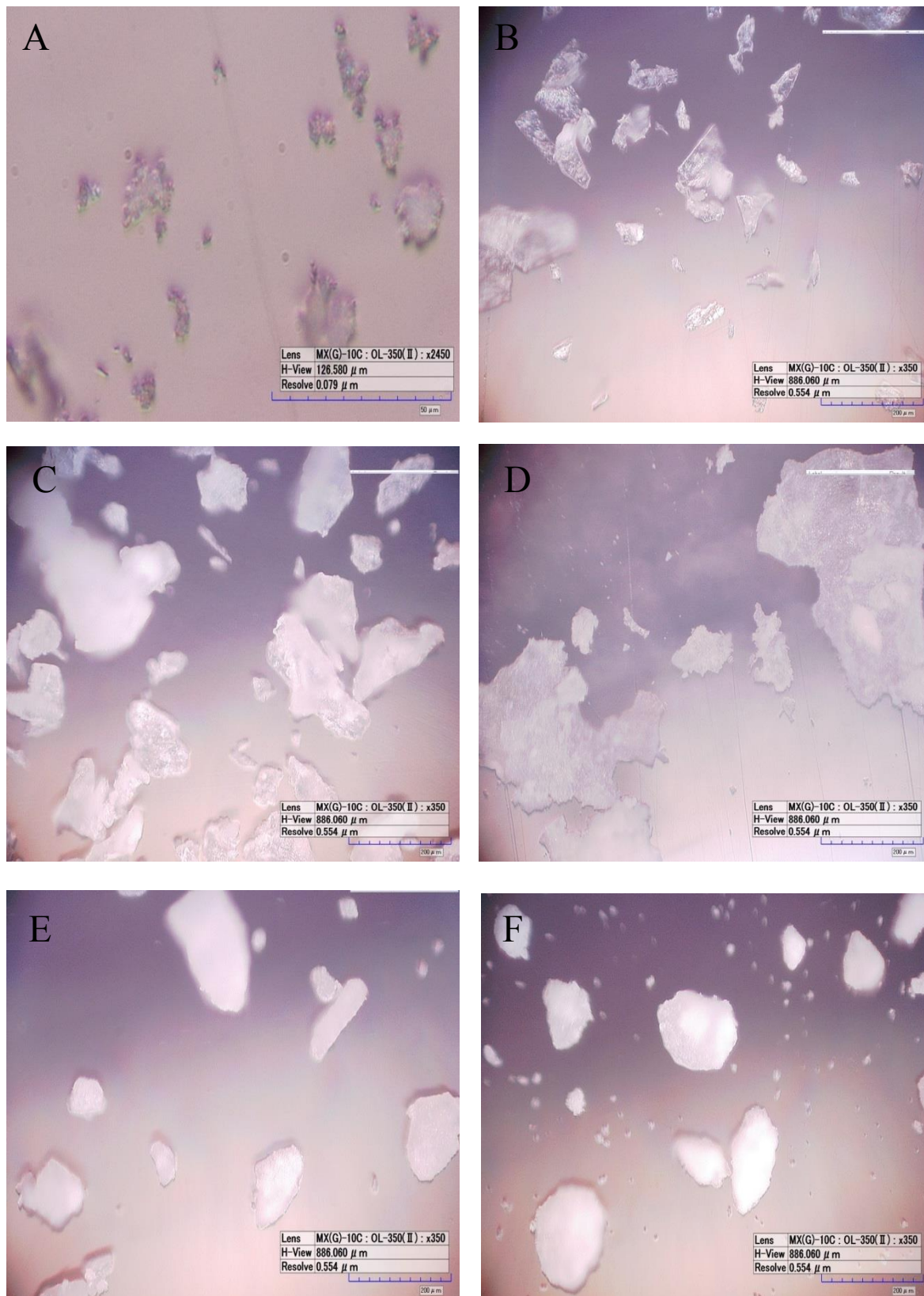
Ao analisar os resultados da análise morfológica observou-se que ATVI mostrou-se como aglomerados cristalinos (Figura 12 A) e que as dispersões sólidas apresentaram modificações morfológicas em relação às partículas do fármaco.

As DS-U e DS-C apresentaram morfologia semelhante, ambas apresentaram estruturas achatadas e irregulares. As amostras DS-L e DS-P (Figura 12 E e 12 F, respectivamente) apresentaram-se como pequenos aglomerados dispersos, porosos e densos. Segundo Sinko (2008), partículas porosas podem adsorver gases e vapor d'água em seus interstícios, promovendo o aumento da dissolução de seus componentes. Essas características possivelmente conferiram uma maior velocidade de liberação do fármaco o que justificariam o aumento da velocidade de dissolução, em que uma liberação mais rápida de DS-L poderia ser explicado por uma contribuição, tanto de formação de micelas em solução, quanto da

morfologia porosa. Quanto à velocidade de liberação de DS-P poderia ser justificada pela morfologia.

A amostra com DS - H (Figura 12 D) apresentou partículas em grandes blocos, densos e opacos. Essa morfologia provavelmente é resultado da interação entre o HPMC e o LSS utilizados na formulação. São relatados na literatura interações entre éteres de celulose e surfactantes aniônicos. Essa interação resulta na formação de grandes aglomerados por meio da formação de uma rede tridimensional do polímero que se torna insolúvel, devido à reorientação das moléculas de água em torno das regiões de substituição hidrofóbica (PYGALL et al, 2011; SILVA et al, 2011; CALEJO et al, 2012). Esses achados justificam a menor taxa de liberação da ATV na amostra DS-H obtida nesse trabalho.

**Figura 12 - Fotomicrografias obtidas por microscopia óptica da ATVI (A),  
DS-U (B), DS-C (C), DS-H (D), DS-P (E) e DS-L (F)**



### 4.3 CONCLUSÃO

A partir dos dados obtidos, conclui-se que o método da liofilização é eficaz para produção de dispersões sólidas capazes de aumentar consideravelmente a taxa de liberação da ATV. Porém, nem sempre as dispersões amorfas são as responsáveis pelos maiores desempenhos de solubilidade. Nesse trabalho, as formulações DS-L e DS-P apresentaram as maiores performances de liberação, apesar do elevado grau de cristalinidade.

## **CAPÍTULO II**

**Caracterização da atorvastatina cálcica de diferentes lotes por técnicas analíticas**

## **5. CARACTERIZAÇÃO DA ATORVASTATINA CÁLCICA DE DIFERENTES LOTES POR TÉCNICAS ANALÍTICAS**

A maioria dos Insumos Farmacêuticos Ativos (IFA) pode existir em diferentes formas de estado sólido como polimorfos, solvatos, e estado amorfo. Estas formas sólidas podem diferir amplamente em suas propriedades físico-química, mecânica e biofarmacêutica, e, assim, podem influenciar na qualidade, segurança e eficácia do medicamento.

Sabendo que a ATV existe no estado sólido em mais de 70 formas polimorfas, esse capítulo se propôs a caracterizar o estado sólido dos três lotes diferentes usados para o desenvolvimento das dispersões sólidas do capítulo I e IV.

### **5.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **5.1.1 Materiais**

Para esse estudo foi utilizada a atorvastatina cálcica de três lotes diferentes (ATVI, ATVII, ATVIII respectivamente), obtidas da empresa Gemini (ATVI) e Fragon Indústria de Insumos Farmacêuticos Ltda (ATVII e ATVIII).

#### **5.1.2 Métodos**

##### **5.1.2.1 Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)**

Os espectros FT-IR da ATV pura e das dispersões sólidas foram obtidos usando um modelo de sistema da Shimadzu IR Prestige-21. As amostras foram previamente preparadas com brometo de potássio na proporção de aproximadamente 1:5 (amostras: KBr). Os discos de KBr foram preparados por meio da compressão do pó em uma prensa hidráulica, com uma pressão de 9 toneladas e digitalizada contra o branco do KBr em números de onda em um intervalo de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ .

##### **5.1.2.2 Difração de Raios-X do pó (PDRX)**

Os padrões de difração da ATV de todos os lotes foram analisados usando a mesma metodologia já descrita em 4.1.2.2.

### **5.1.2.3 Análises Calorimétricas**

#### **5.1.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

As análises foram feitas utilizando um calorimétrico diferencial exploratório, DSC 50 da Shimadzu, calibrado com índio (PF: 156,6 °C;  $\Delta H_{fus} = 28,54 \text{ J.g}^{-1}$ ) e zinco (PF: 419,6 °C). As amostras foram hermeticamente fechadas em cadinhos de alumínio com 2mg e aquecidas na razão de aquecimento de 5, 10 e 20 °C.min<sup>-1</sup> até 230°C, em atmosfera de nitrogênio.

As curvas foram analisadas por meio do programa TASYs da Shimadzu para analisar os eventos endotérmicos e exotérmicos. Os valores negativos da entalpia fazem referências aos processos endotérmicos.

Adicionalmente, procedeu-se a realização do DSC-fotovisual da ATV dos três lotes por meio 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. As amostras foram acondicionadas em uma panelinha de alumínio e submetidas ao aquecimento na razão de 10°C.min<sup>-1</sup> até 450°C, sob as mesmas condições do fluxo de nitrogênio do DSC convencional. As imagens registradas foram capturadas, em tempo real, pelo programa Asymetrix DVP 4.0 para observar as transições de fase na amostra.

#### **5.1.2.3.2 Termogravimetria (TG)**

As curvas de TG foram obtidas utilizando uma termobalança Shimadzu, modelo TGA 50H, sob atmosfera não inerte, com fluxo de 20 mL.min<sup>-1</sup>. As amostras foram acondicionadas em cadinhos de alumina aquecidas na razão de 10°C.min<sup>-1</sup> até 900°C. Foi utilizada massa de 3,0 mg ( $\pm 0,003$ ).

O equipamento TG foi calibrado usando oxalato de cálcio monoidratado. As curvas foram analisadas pelo programa TASYs da Shimadzu para analisar as etapas de perda de massa.

#### **5.1.2.4 Perfil de Dissolução**

O perfil de dissolução foi realizado utilizando equipamento, material e metodologia já descritos no item 4.1.2.6.

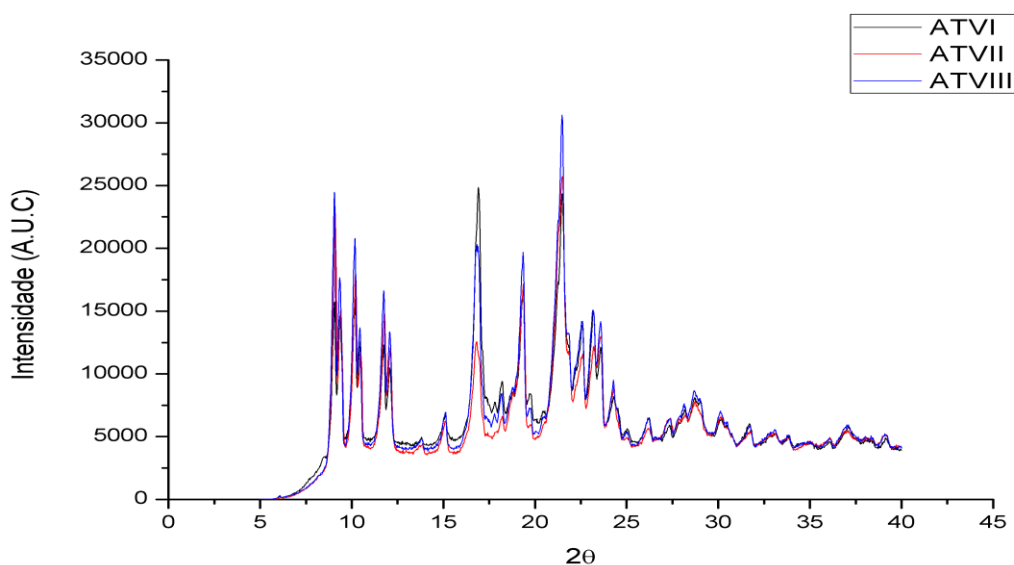
### **5.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **5.2.1 PDRX**

Observam-se na Figura 13 os difratogramas obtidos dos diferentes lotes da ATV. Verifica-se que todos os lotes apresentaram os mesmos sinais no difratograma, o que demonstra se tratar da mesma estrutura cristalina.

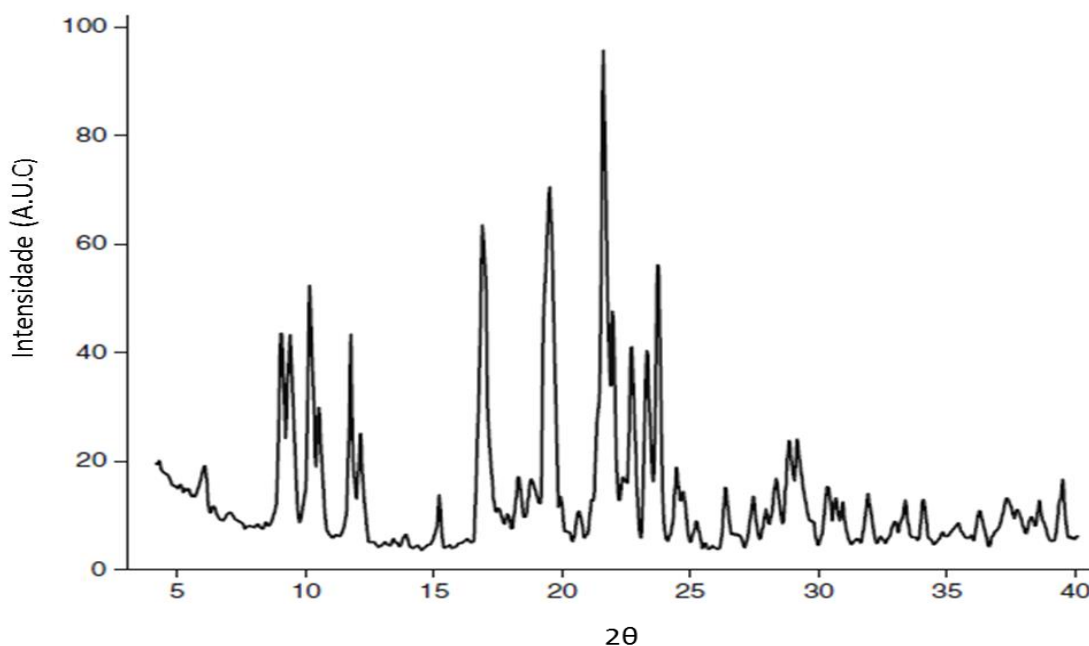
As amostras mostraram picos intensos e definidos em  $2\theta$  com valores de 8, 94; 9,23; 10,06; 16,82; 19,25; 21,38° e 23,10°, correspondentes a forma I da ATV que apresenta picos intensos e definidos em ângulos de 9,03; 9,39; 10,12; 16,89; 19,5°; 21,58 e 23,3° (BRIGGS et al., 1999). Nenhum pico extra foi observado nas amostras sendo sugestivo da pureza da forma cristalina. Porém, observa-se uma elevada contribuição amorfa.

**Figura 13- Difratogramas dos três lotes da ATV**



Na Figura 14 visualiza-se o padrão de difração da forma I dos polimorfos da ATV. Ao comparar esse achado com os resultados das amostras, verifica-se que todos os lotes tratam-se da forma I dos polimorfos da ATV (BRIGGS et al., 1999; SONJE et al., 2010).

**Figura 14- Difratoograma do polimorfo I da ATV**



**Fonte: Adaptado de US 5.969,156 (1999)**

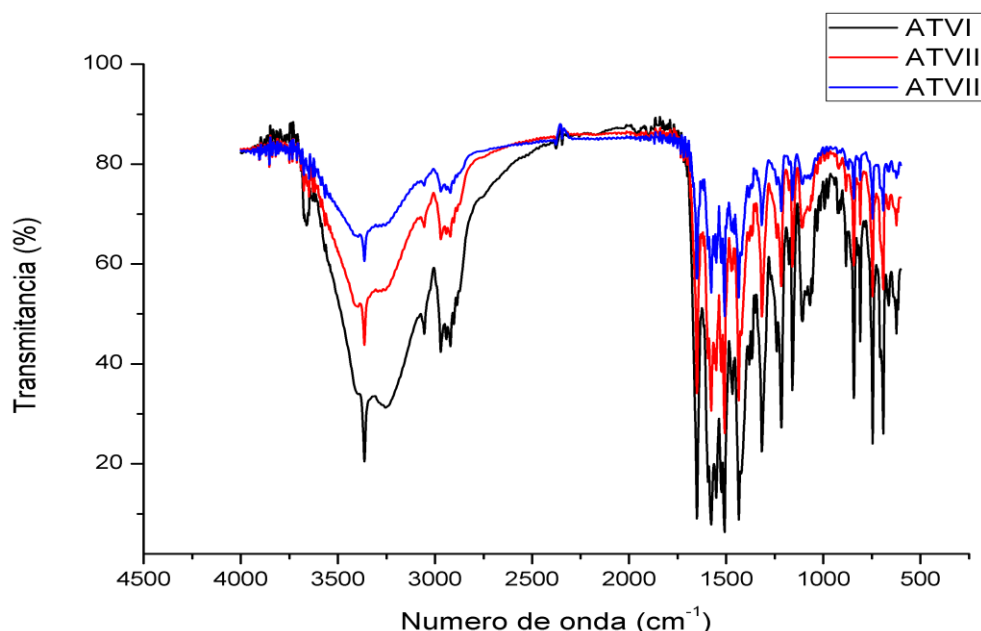
Shete et al., (2010) caracterizaram o estado sólido de amostras comerciais cristalinas e amorfas da ATV com intuito de destacar a diversidade nas propriedades do estado sólido disponível no mercado indiano e fornecer informações valiosas para futuros formulários de especificações. Doze amostras foram obtidas para caracterização, entre elas seis eram cristalinas. Dessas, cinco amostras apresentaram padrões de difração correspondentes a forma I dos polimorfos da ATV, com ângulos de difração de 9,07°; 9,41°; 10,18°; 10,46°; 11,76°; 12,10° e 16,96°.

### **5.2.2 FTIR**

Os espectros de infravermelho obtidos para os diferentes lotes da ATV foram apresentados na Figura 15. As principais bandas de absorção características do fármaco,

descritas na literatura e mostradas na Figura 16 para a forma I, foram observadas em todos os lotes selecionados.

**Figura 15- FTIR espectro da ATVI, ATVII e ATVIII**



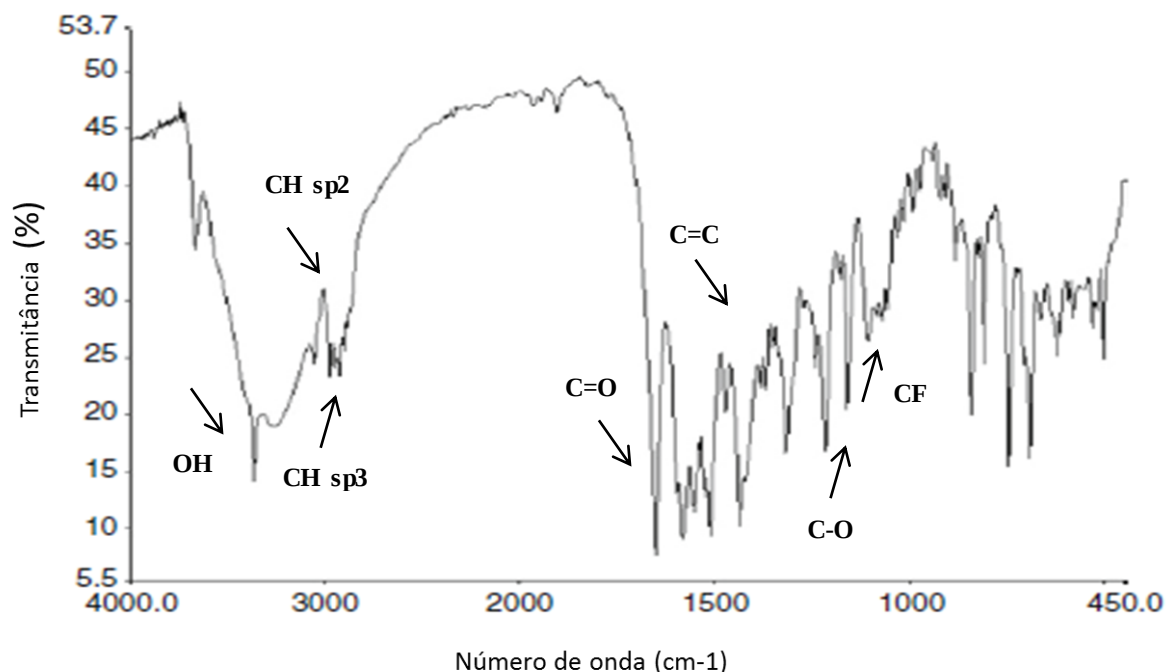
As bandas de absorção da ATV no espectro de FTIR foram avaliadas na região O-H ( $3650-3200\text{ cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^2$  ( $3050-3010\text{ cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^3$  ( $3300-2750\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1800-1600\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1600-1400\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ ) e C-F ( $1400-1000\text{ cm}^{-1}$ ).

De acordo com a Tabela 6, todas as amostras apresentaram picos característicos da ATV e semelhantes ao polimorfo I.

**Tabela 6- Dados dos espectros do infravermelho da ATVI, ATVII e ATVIII**

| <b>Bandas</b>                       | <b>Sonje et al.,<br/>(2010)</b> | <b>ATVI</b> | <b>ATVII</b> | <b>ATVIII</b> |
|-------------------------------------|---------------------------------|-------------|--------------|---------------|
| <b>O-H</b>                          | 3365                            | 3364        | 3370         | 3370          |
| <b>C-H <math>\text{sp}^2</math></b> | 3042                            | 3046        | 3058         | 3058          |
| <b>C-H <math>\text{sp}^3</math></b> | 2903                            | 2930        | 2930         | 2941          |
| <b>C=O</b>                          | 1651                            | 1651        | 1651         | 1651          |
| <b>C=C</b>                          | 1600-1400                       | 1600-1400   | 1600-1400    | 1600-1400     |
| <b>C-O</b>                          | 1319                            | 1318        | 1319         | 1318          |
| <b>C-F</b>                          | 1159                            | 1159        | 1159         | 1159          |

**Figura 16- FTIR espectra da forma I da ATV**



**Fonte: Adaptado de Sonje et al. (2010)**

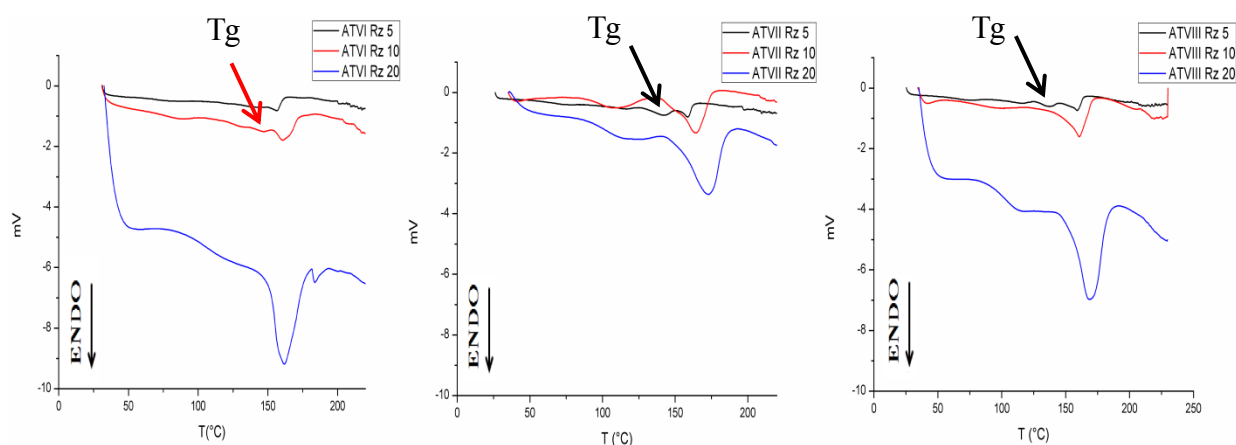
### 5.2.3 Análise calorimétrica

#### 5.2.3.1 DSC

As técnicas de DSC e TGA isoladamente, não são suficientes para a identificação da ATV, devido à ausência de dados, uma vez que a caracterização das formas sólidas descritas em patentes é feita apenas por meio das técnicas DRX e ressonância magnética nuclear (RMN) (SKORDA; KONTOYANNIS, 2008, ANTONIO, 2010).

As curvas de DSC (Figura 17) da ATV apresentam dois eventos endotérmicos: o primeiro na faixa de 50-140°C e o segundo em torno de 160°C, corroborando com os achados da literatura (SONJE et al., 2010; CHOUDHARY et al., 2012; PANGHAL et al., 2014; JAHANGRI et al., 2015). Segundo Jahangiri et al (2015) o primeiro pico correspondente a perda de água ou desidratação, o qual é característico da forma triidratada do polimorfo I da ATV, e o segundo à fusão do fármaco. Breitreitz (2010) descreve em seu trabalho que essa perda de água se dá em duas etapas: uma até 70°C correspondente a perda de água de superfície e outra na faixa de 100-120°C correspondente à perda de água de hidratação.

**Figura 17- Curvas de DSC dos três lotes nas razões de 5, 10 e 20 °C. min<sup>-1</sup> de aquecimento**



De acordo com a Tabela 7, verifica-se que houve aumento da temperatura de fusão e da entalpia para cada lote, à medida que a razão de aquecimento foi aumentada. Ademais, percebe-se que os eventos de fusão são melhores visualizados em razões mais altas, com surgimento de picos mais amplos e definidos.

Essas variações já foram descritas por Bernal et al. (2002), que observaram a intensificação da magnitude dos picos com o aumento da razão de aquecimento e consequente aumento na relação variação da entalpia/variação da temperatura. Esse aumento é justificado pelo maior número de reações que ocorrem com aumento da entalpia. Verifica-se uma variação dos valores mínimo e máximo da entalpia de fusão de  $-9,24$  a  $-50,79$  J.g<sup>-1</sup> para a ATVI,  $-10,26$  a  $-65,53$  J.g<sup>-1</sup> para a ATVII e  $-17,58$  a  $-75,75$  J.g<sup>-1</sup> para a ATVIII (Tabela 7) conforme aumenta-se a razão de 5 para 20 °C.

Shete et al., (2010) submeteram a ATV à diferentes razões de aquecimento e obtiveram picos amplos, com *Tonset* deslocada para valores maiores conforme se aumentou a razão. Segundo os autores, em razões baixas de aquecimento, o pico de fusão do fármaco apresenta-se mais largo, menos intenso e não definido (apresentando ombros). Este fato está relacionado à reorganização molecular que ocorre em temperaturas baixas, devido o maior tempo de análise. Por outro lado, em razões maiores, o pico de fusão da ATV se torna único (sem ombros), definido e com *Tonset* na faixa de 150-160 °C. Esses dados estão em consonância com resultados encontrados nesse trabalho e apresentados na Figura 17 e Tabela 7, ou seja, as amostras apresentaram picos mais amplos e definidos na razão de 20 °C. min<sup>-1</sup> com *Tonset* na faixa de 156-168 °C.

**Tabela 7- Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII e ATVIII nas diferentes razões de aquecimento**

| <b>ATVI</b>  |                         |                        |                          |                                       |
|--------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| <b>Razão</b> | <b>° T <i>onset</i></b> | <b>° T <i>pico</i></b> | <b>° T <i>endset</i></b> | <b>Energia<br/>(J.g<sup>-1</sup>)</b> |
| <b>5</b>     | 151,86                  | 156, 22                | 160,24                   | -9,24                                 |
| <b>10</b>    | 155,76                  | 160,65                 | 170,46                   | -14,39                                |
| <b>20</b>    | 157,44                  | 164,72                 | 173,69                   | -50,79                                |

| <b>ATVII</b> |                         |                        |                          |                                       |
|--------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| <b>Razão</b> | <b>° T <i>onset</i></b> | <b>° T <i>pico</i></b> | <b>° T <i>endset</i></b> | <b>Energia<br/>(J.g<sup>-1</sup>)</b> |
| <b>5</b>     | 154,91                  | 158,61                 | 161,67                   | -10,26                                |
| <b>10</b>    | 154,15                  | 164,34                 | 174,78                   | -56,51                                |
| <b>20</b>    | 156,23                  | 172,63                 | 183,04                   | -65,53                                |

| <b>ATVIII</b> |                         |                        |                          |                                       |
|---------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| <b>Razão</b>  | <b>° T <i>onset</i></b> | <b>° T <i>pico</i></b> | <b>° T <i>endset</i></b> | <b>Energia<br/>(J.g<sup>-1</sup>)</b> |
| <b>5</b>      | 155,34                  | 158,97                 | 163,35                   | -17,58                                |
| <b>10</b>     | 153,39                  | 160,67                 | 169,8                    | -40,1                                 |
| <b>20</b>     | 168,63                  | 168,63                 | 180,73                   | -75,75                                |

Bernal et al., (2002) relata em seu trabalho que em razões elevadas de aquecimento, pode ocorrer mascaramento de eventos, por sobreposição de picos. Essa afirmação é condizendo com as curvas de DSC (Figura 17), em que apenas na razão de 5 e 10 °C.min<sup>-1</sup> é possível visualizar o evento de transição vítrea da ATV, caracterizado por uma sutil projeção da linha de base. Sendo observado em todos os lotes na razão de 5 °C.min<sup>-1</sup>. Esse evento ocorreu na temperatura de 134,67 °C; 130,57 °C e 124,14 °C para ATVI, ATVII e ATVIII respectivamente.

A transição vítrea da ATV já é relatada na literatura para amorfos do fármaco (SHETE et al., 2010, SONJE et al., 2011). Verifica-se na Figura 13 que a ATV apresenta uma elevada contribuição amorfa. Dessa forma, a transição vítrea observada nas amostras pode estar relacionada com a presença de sólido amorfo. Sonje et al (2011) obtiveram diferentes Tg (temperatura de transição vítrea) para os três sais amorfos produzidos: o sal de cálcio apresentou Tg de 147, 7°C, o sal de magnésio Tg 107,49 °C e o sal de sódio Tg 96, 66°C. Shete et al (2010) encontraram para os amorfos da ATV uma Tg de 140°C. Esses eventos não foram acompanhados de perda de massa no TG convergindo com os resultados aqui apresentados.

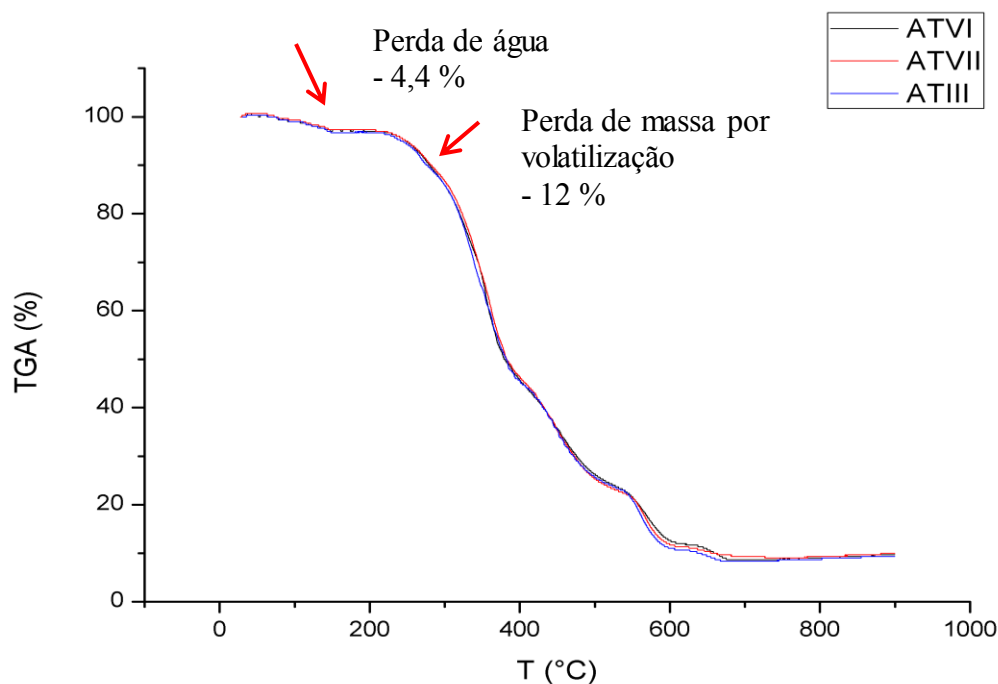
### 5.2.3.2 TG

As curvas termogravimétricas dos três lotes da ATV são mostradas na Figura 18. Observa-se que todas as curvas se sobreposaram, apresentando o mesmo perfil térmico. Os dados do TG confirmaram os dados do DSC.

A ATV apresentou nove etapas de degradação, sendo a primeira e a segunda correspondente a uma perda de massa de 4,4 % entre as temperaturas de 50 a 144°C. Segundo Kim et al. (2008) o valor teórico da perda de massa do triidrato da ATV é de 4,46%. Dessa forma, essa perda de massa observada nas primeiras etapas indica perda de água e a presença do triidrato.

Shete et al (2010) obtiveram em suas curvas termogravimétricas, resultados semelhantes a este trabalho. Segundo os autores, a primeira e a segunda etapa foram relacionadas à perda de água, sendo a primeira relacionada à perda de água ligada e a segunda a perda de água de hidratação. A primeira etapa se deu na faixa de 80-125°C com perda de 2,84% e a segunda na faixa de 141 a 147 °C com perda de 1,55%. Esses dados corroboram com os obtidos neste trabalho, em que a primeira perda de água se deu na faixa de 50-120 °C com perda de 3% e a segunda na faixa de 140-144 °C com perda de 1,4%.

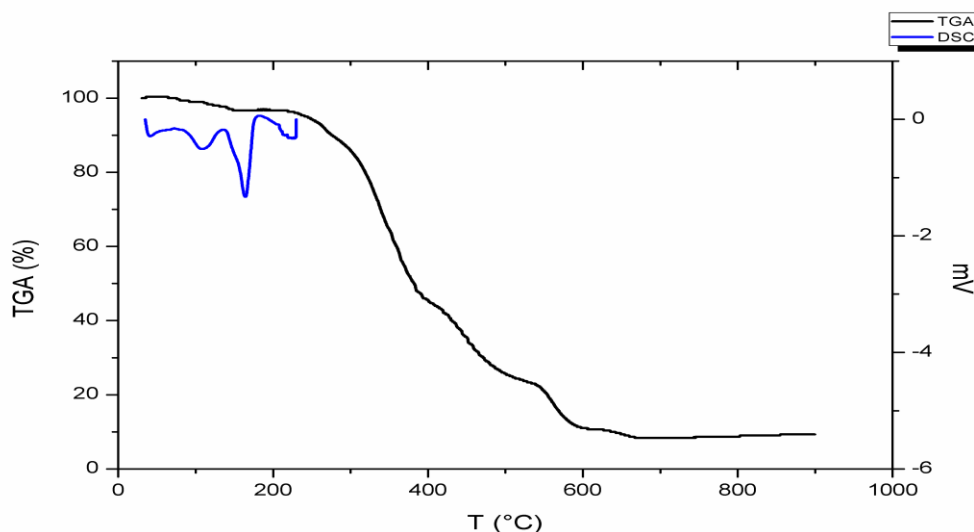
**Figura 18- Curvas termogravimétricas dos três lotes da ATV na razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>**



Os picos observados na curva DSC (Figura 17) na temperatura de 160°C para ATVI e ATVIII e 164 °C para ATVII não é acompanhado de perda de massa no TG (Figura 18 e 19), indicando se tratar de um processo físico atribuído a fusão do fármaco.

O início da decomposição ocorreu logo após a fusão do fármaco (Figura 19), apresentando uma maior perda de massa após 200 °C, devido à degradação do fármaco, sendo, portanto, possível trabalhar até essa temperatura sem que ocorra degradação térmica. Esse evento não foi visualizado no DSC devido à faixa utilizada na análise ser até 230. Porém, Zerbini (2010) atribuiu a degradação do fármaco a um processo endotérmico, observado na temperatura de 250°C no DSC. A última etapa de degradação das amostras se deu na temperatura de aproximadamente 650 °C. As amostras exibiram valores elevados de produtos não degradáveis com valor em torno de 15%, sendo estes possivelmente relacionados à formação de oxalato de cálcio.

**Figura 19- Curvas termogravimétrica e calorimétrica da ATV na razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>**



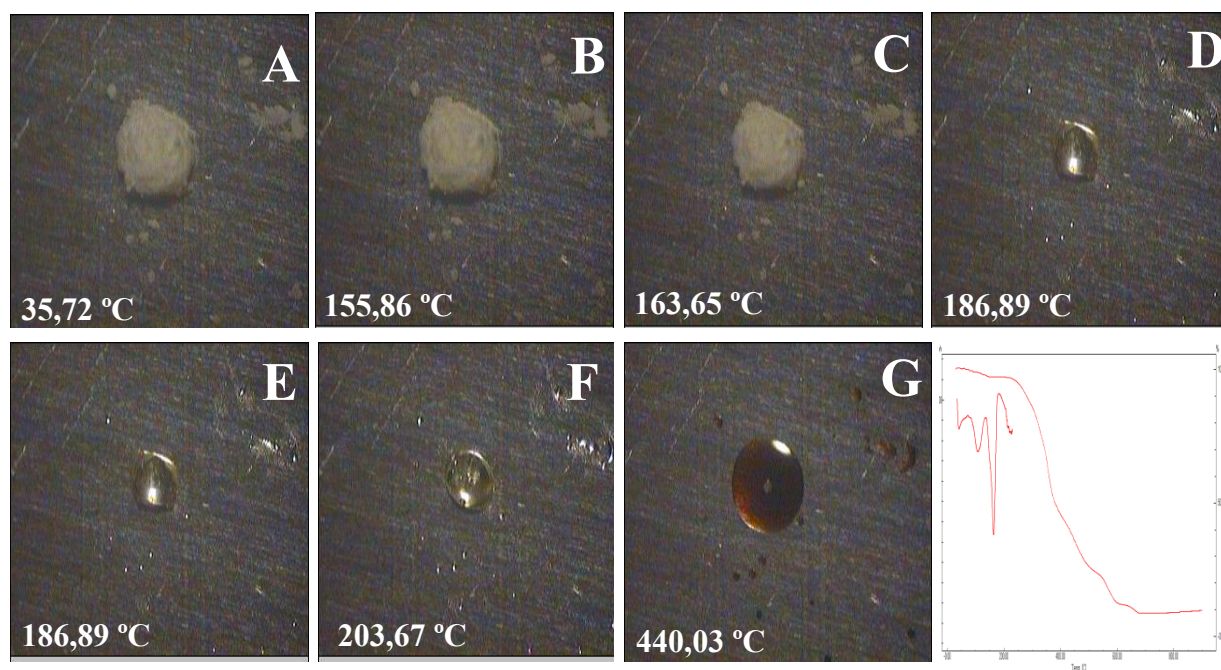
### 5.2.3.3 DSC fotovisual

Foi realizado o mapeamento do perfil térmico dos três lotes da ATV por meio do DSC fotovisual, em que foi possível visualizar em tempo real as mudanças químicas e físicas que ocorrem com a ATV, quando submetida à temperatura, complementando os resultados do DSC e TG.

Todos os lotes apresentaram perfil térmico semelhante e correspondente à Figura 20. A Figura 20 A correspondente ao fármaco na temperatura inicial antes do aquecimento. O primeiro evento endotérmico da ATV (descrito no item 5.2.3.1) não foi visualizado nessa técnica. Antes da fusão, na temperatura de 155,86 °C foi visualizado uma expansão da amostra (Figura 20 B), possivelmente relacionado à transição vítrea, conforme discutido no item 5.2.3.1. O início da fusão foi visualizado na temperatura de 163,65 °C (Figura 20 C) apresentando uma retração da amostra, diminuindo seu volume. A fusão total se deu na temperatura de 186,89 (Figura 20 D e E). O início da decomposição ocorreu após a fusão, se iniciando na temperatura de 203,67 °C (Figura 20 F), com a presença de bolhas. Estas, podendo estar relacionadas à perda de massa por volatilização. Porém, esse evento não foi visualizado na Figura 17 que apresentou eventos até a temperatura de 230 °C. No entanto, nas curvas DSC obtidas Zerbini (2010), observa-se um processo exotérmico logo após a fusão do fármaco, podendo estar relacionado à referida volatilização. Ademais, é visualizada na curva termogravimétrica uma perda de massa de 12% na mesma temperatura da volatilização,

correspondente a 3ª etapa de degradação (Figura 18). A decomposição total da amostra ocorreu na temperatura de 440 °C (Figura 20 G) caracterizada pela sua carbonização. Fato este, confirmado pelo escurecimento da amostra, que corresponde à presença de resíduos.

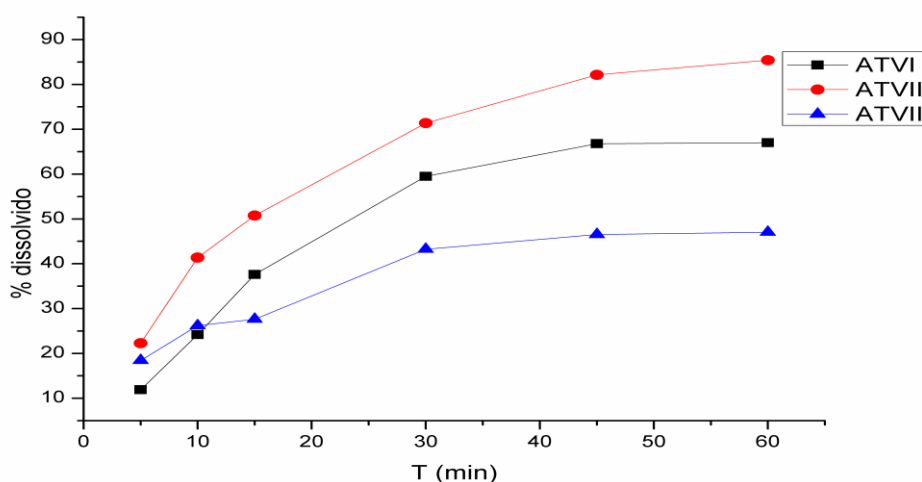
**Figura 20- Imagens do DSC-fotovisual da ATV na razão de 10 °C.min<sup>-1</sup>**



### 5.2.3.4 Perfil de dissolução

Observam-se na Figura 21 os perfis de dissolução dos três lotes da ATV. O aumento da dissolução se deu na seguinte ordem: ATVII>ATVI>ATVIII.

**Figura 21- Perfil de dissolução dos da ATVI, ATVII, ATVIII**



Essa diferença no perfil de dissolução das amostras não está relacionada com a presença de diferentes polimorfos nas amostras, uma vez que todas as amostras se tratam do polimorfo I da ATV, conforme discutido nos itens anteriores desse capítulo. A correlação dos parâmetros biofarmacêuticos com os dados de PDRX, FTIR e análise calorimétrica pode ser facilmente estabelecida para fármacos com elevado grau de cristilidade. No entanto, os dados obtidos por essas técnicas aplicadas em fármacos com diferentes formas cristalinas e/ou elevada contribuição amorfa como a ATV apresenta uma correção limitada, devido ao fato da variabilidade das características físicas e a complexidade desses fármacos. Assim, a diferença visualizada nos lotes da ATV possivelmente está relacionada à sua complexidade.

## 5.3 CONCLUSÃO

As técnicas analíticas utilizadas foram úteis e complementares para a caracterização da ATV, embora tenha tido uma correlação limitada com os parâmetros biofarmacêuticos devido à complexidade da natureza química e física da ATV. Todas as amostras se tratavam do polimorfo I da ATV de acordo com os dados obtidos pelas técnicas analíticas.

## **CAPÍTULO III**

**Desenvolvimento e validação de metodologia  
analítica para doseamento e determinação de  
produtos de degradação da atorvastatina  
cálcica**

## **6. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA DOSEAMENTO E DETERMINAÇÃO DE PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO DA ATORVASTATINA CÁLCICA**

Devido à ausência de metodologias em compêndios oficiais que tragam testes quantitativos da ATV, este capítulo se propôs a desenvolver e validar um método capaz de dosear e determinar impurezas e produtos de degradação em formas farmacêuticas e matérias-primas, se enquadrando na categoria II da RE 899 da ANVISA.

### **6.1 MATERIAS E MÉTODOS**

#### **6.1.1 Materiais**

Utilizou-se nesse estudo o IFA atorvastatina cálcica grau farmacêutico (ATVIII) (Neo-Dankong, lote 201410010), metanol grau CLAE (JT. Baker, lote M30c08), etanol grau CLAE (Tédia, lote 9128); trietilamina (Sigma, lote 5HBG1702V); ácido ortofosfórico (Merck lote 5798); HCl (Vetec, lote 154); NaOH (Vetec, lote 1006730) e Peróxido ( Labsynth lote 189680) e os equipamentos: balança analítica Sartorius modelo 2842 e HPLC Shimadzu L201547 com detector arranjo de fotodiodos SPD-M20A.

#### **6.1.2 Métodos**

##### **6.1.2.1 Desenvolvimento do Método**

A fase móvel foi selecionada por meio da análise dos parâmetros cromatográficos obtidos quando a proporção dos solventes e a variação do pH na fase móvel foram alteradas. A proporção do solvente selecionado foi metanol: água (70:30) por proporcionar um melhor tempo de retenção para a ATV. A adição da trietilamina à fase móvel melhorou o fator de cauda do pico e a assimetria referente ao fármaco. As condições cromatográficas que apresentaram melhores resultados na análise da ATV estão apresentadas na Tabela 8 abaixo:

Tabela 8 - Parâmetros Cromatográficos

| Descrição            | Parâmetros                                                                   |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Fase móvel (FM)      | Metanol: água (70:30); trietilamina 0,1%;<br>pH - 3,5 (ácido ortofosfórico). |
| Temperatura do forno | 40°C                                                                         |
| Fluxo                | 1 mL. min <sup>-1</sup>                                                      |
| Volume de injeção    | 20µL                                                                         |
| Coluna               | Phenomenex C18 (250 x 3,0mm 3µm)                                             |
| Comprimento de onda  | 245 nm                                                                       |

#### **6.1.2.2 Validação do Método**

A validação do método foi feita conforme as especificações contidas na RE 899 (BRASIL, 2003), que trata do guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos e conforme diretrizes do *International Conference on Harmonization* (ICH, 1996; ICH, 2005).

##### **6.1.2.2.1 Determinação da Seletividade**

###### **6.1.2.2.1.1 Análise Qualitativa**

Para análise qualitativa da seletividade foram utilizadas amostras contaminadas e não contaminadas com o fármaco. Foram utilizadas misturas físicas da ATV com PEG (MF-P) 6000 e LSS (MF-L) na proporção de 1:1 e os carreadores separados, constituindo os placebos.

###### **6.1.2.2.1.1.1 Solução diluente**

Esta foi obtida a partir da solução de metanol e água, na proporção 70:30, respectivamente.

###### **6.1.2.2.1.1.2 Preparo das amostras**

Foram pesados 25 mg (triplicata) das amostras citadas acima e transferidas para balão volumétrico de 50 mL, solubilizando-as com aproximadamente 30 mL de solução hidroalcolica (50%), seguidas de sonicação até completa solubilização, obtendo-se soluções-mãe na concentração de 0,5mg.mL<sup>-1</sup>. Foram então coletadas alíquotas de 400 µL para balão

de 10 mL e completando com diluente a fim de se obter uma concentração final de 20  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . As amostras foram filtradas, transferidas para *vials* e analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodo (CLAE – DAD).

#### **6.1.2.2.1.2 Análise quantitativa**

Para análise quantitativa da seletividade foi realizada degradação forçada da ATV. Foi realizada hidrólise ácida, básica, alcalina e oxidativa, a fim de verificar se há interferências dos produtos de degradação com o fármaco.

Sabe-se que um dos principais objetivos a serem atingidos por meio dos testes de estresse ou testes de degradação forçada é demonstrar a especificidade ao desenvolver um método indicativo de estabilidade, sobretudo quando poucas informações estão disponíveis sobre os possíveis produtos de degradação (SILVA et al., 2009; STENGER, 2011).

Dessa forma, objetivou-se nesse capítulo, desenvolver e validar um método que seja capaz de quantificar a ATV em produtos farmacêuticos e que atue como um método indicativo de estabilidade.

De acordo com o item 2.9 da Resolução RE 01 (BRASIL, 2005) deve ser realizado ensaios de identificação e quantificação de produtos de degradação e método analítico correspondente no estudo de estabilidade, para todos os produtos a serem registrados na ANVISA. Porém, não existe ainda uma regulamentação brasileira, que esclareça os requisitos do item citado. Dessa forma, esse estudo baseou-se em diretrizes contidas no ICH (ICH, 2003), o Informe Técnico nº 1 (BRASIL, 2008), a Consulta Pública nº 11 (BRASIL, 2012), a RDC nº 58 (BRASIL, 2013) e a consulta pública nº 68 (BRASIL, 2014).

##### **6.1.2.2.1.2.1 Preparo das soluções de degradação**

Foi preparada solução de ácido clorídrico 0,1 mol.  $\text{L}^{-1}$ , hidróxido de sódio 0,1 mol.  $\text{L}^{-1}$  e peróxido 3%, conforme Farmacopéia Brasileira (BRASIL, 2010) com adaptações. Como a ATV apresenta baixa solubilidade em água, as soluções ácida, básica e neutra foram preparadas com solução hidroalcoólica 50%.

#### 6.1.2.2.1.2 Degradação forçada da ATV

Foram pesadas 25 mg de ATV em triplicata para cada solução (meio ácido, básico e oxidativo). As amostras foram solubilizadas nas respectivas soluções de degradação, sendo transferidas para balões volumétricos de 50 mL, seguidas de sonicação até completa solubilização, obtendo-se desse modo três soluções-mãe para cada condição de degradação, as quais foram armazenadas em recipientes adequados e fechados, durante todo o estudo.

Nos tempo 0 h e 24 h, foram coletadas alíquotas de 400 µL para balão de 10 mL e completando com o diluente a fim de se obter uma concentração final de 20 µg.mL<sup>-1</sup>. As amostras foram filtradas, transferidas para *vials* e analisadas por CLAE – DAD.

#### 6.1.2.2.2 Determinação da linearidade

As amostras foram obtidas pesando-se 25 mg do padrão da ATV em triplicata e transferidas para balão de 50 mL, as quais foram solubilizadas com o diluente, seguida de sonicação até completa solubilização. Obtendo-se soluções-mãe na concentração de 0,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Ao término destas, foram coletadas alíquotas de 400 µL para balão de 10 mL (completando-os com o diluente) a fim de se obter concentração final de 20 µg.mL<sup>-1</sup>.

A partir das soluções-mãe, foram obtidas as concentrações de 10, 16, 20, 24 e 30 µg.mL<sup>-1</sup> (em triplicata) para a construção da curva de calibração. As soluções foram então injetadas no cromatógrafo, sendo analisada a área do pico *versus* concentração do fármaco e obtida a curva de calibração pelo método do ajuste por mínimos quadrados, com os dados plotados no Microsoft Excel.

O limite de detecção (LD) e o limite de quantificação (LQ) foram calculados por meio das equações:

$$LD = \frac{DPa \times 3}{IC} \quad e \quad LQ = \frac{DPa \times 10}{IC}$$

Em que DPa é o desvio padrão do intercepto com o eixo Y de, no mínimo, 3 curvas de calibração construídas contendo concentrações do fármaco próxima ao suposto limite de quantificação e IC é a inclinação da curva de calibração.

#### 6.1.2.2.3 Precisão

Foi avaliada a precisão intra-corrida (repetibilidade) e inter corrida (precisão intermediária).

As amostras foram obtidas pesando-se 25 mg do padrão em triplicata de ATV e transferidos para balão de 50 mL, as quais foram solubilizadas com o diluente, seguido de sonicação até completa solubilização obtendo-se soluções-mãe na concentração de 0,5 mg.mL<sup>-1</sup>. Ao término destas, foram coletadas alíquotas de 400 µL para balão de 10 mL, completando-se com o diluente, a fim de obter uma concentração final de 20 µg.mL<sup>-1</sup>. As amostras foram filtradas, transferidas para *vials* e injetadas em triplicata em concentrações equivalentes aos níveis baixo (75%), médio (100%) e alto (125%) da curva de calibração (10, 20 e 30 µg.mL<sup>-1</sup>).

Para determinação da precisão inter-corrida, as análises descritas acima foram repetidas em dias diferentes e com analistas diferentes.

#### 6.1.2.2.4 Exatidão

As amostras foram obtidas pesando-se 25 mg do padrão de ATVIII em triplicata e transferidos para balão de 50 mL, sendo solubilizadas com o diluente, seguido de sonicação até completa solubilização, obtendo-se assim soluções-mãe na concentração de 0,5mg.mL<sup>-1</sup>. Ao término destas, foram coletadas alíquotas de 400 µL para balão de 10 mL, completando-se com o diluente a fim de se obter concentração final de 20 µg.mL<sup>-1</sup>. As amostras foram filtradas, transferidas para *vials* e injetadas em triplicata em concentrações equivalentes aos níveis baixo (75%), médio (100%) e alto (125%) da curva de calibração (10, 20 e 30 µg.mL<sup>-1</sup>).

#### 6.1.2.2.5 Robustez

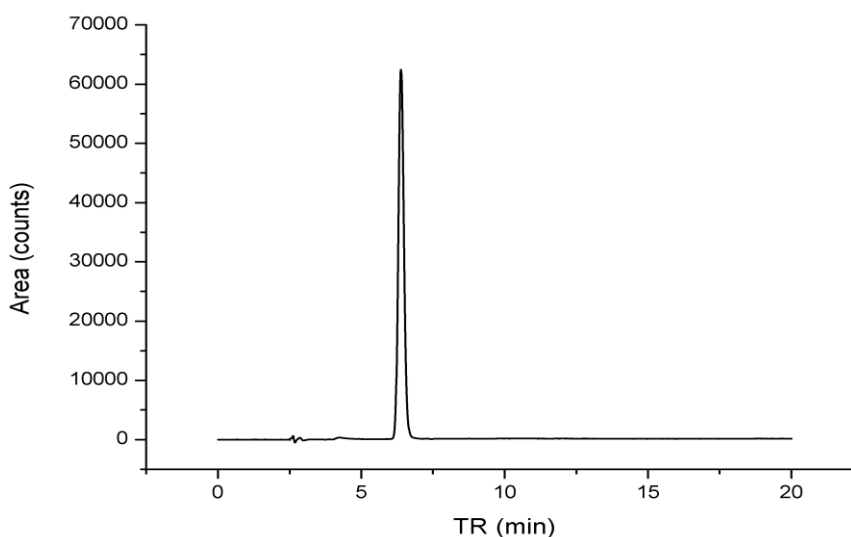
A robustez do método foi determinada por meio de soluções do padrão em condições normais e alterando algumas condições analíticas, como proporção da fase móvel (68,6: 31,4; 71,4: 28,6 – metanol: água), fluxo (0,9 e 1,1 mL. min<sup>-1</sup>) e temperatura do forno (38 e 42°C).

## 6.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 6.2.1 Desenvolvimento do método

O cromatograma referente ao padrão de ATV está apresentado na Figura 22. Observa-se um tempo de retenção de 6,38 min; assimetria igual a 1,00; pratos teóricos em torno de 3300 e pureza total do pico igual a 1,00.

**Figura 22 - Cromatograma do padrão da ATV**



TEJERINA (2011) desenvolvendo um método para quantificação de estatinas mostra características cromatográficas para a ATV semelhantes às encontradas neste trabalho, apresentando diferenças apenas no tempo retenção. Estas diferenças podem ser atribuídas a diferenças das temperaturas do forno e acidificação da fase móvel, bem como a coluna utilizada.

SANGSHETTI et al. (2013) apresentaram em seu desenvolvimento tempo de retenção semelhante ao encontrado para ATV neste estudo, usando parâmetros cromatográficos diferentes, entre eles, a fase móvel.

### 6.2.2 Parâmetros de desempenho analítico

As validações de métodos analíticos envolvem processos por meio dos quais estudos são utilizados para garantir que o método desenvolvido atenda às exigências desejadas,

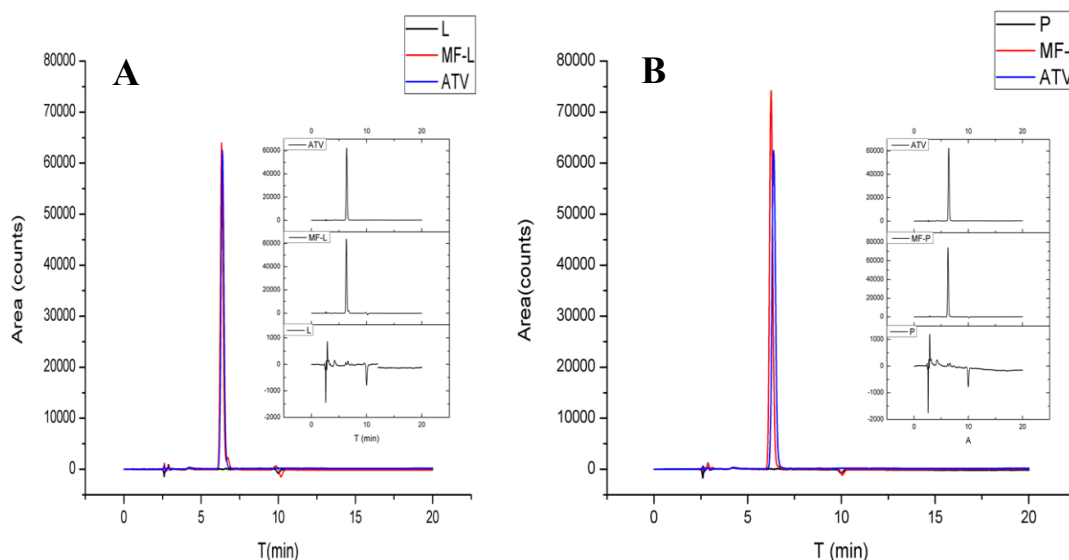
fornecendo uma evidência documentada de que o método desempenha função para a qual é indicado. A validação de um método analítico inclui a validação da exatidão, precisão, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, especificidade e robustez.

#### 6.2.2.1 Especificidade

A seletividade ou especificidade é o primeiro passo para o desenvolvimento e validação de um método analítico e este parâmetro deve ser reavaliada continuamente durante a validação e o uso do método, pois, se a especificidade não for assegurada, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão seriamente comprometidas (RIBANI et al., 2004, SILVA et al., 2010).

De acordo com a Figura 23 verifica-se que o método apresenta seletividade, já que as amostras do placebo não apresentaram interferentes ao fármaco. Observa-se que nas amostras contaminadas com a ATV, apenas o pico característico do fármaco é detectado e não há alterações nas suas características cromatográficas.

**Figura 23 - Cromatograma da seletividade do método para ATV**



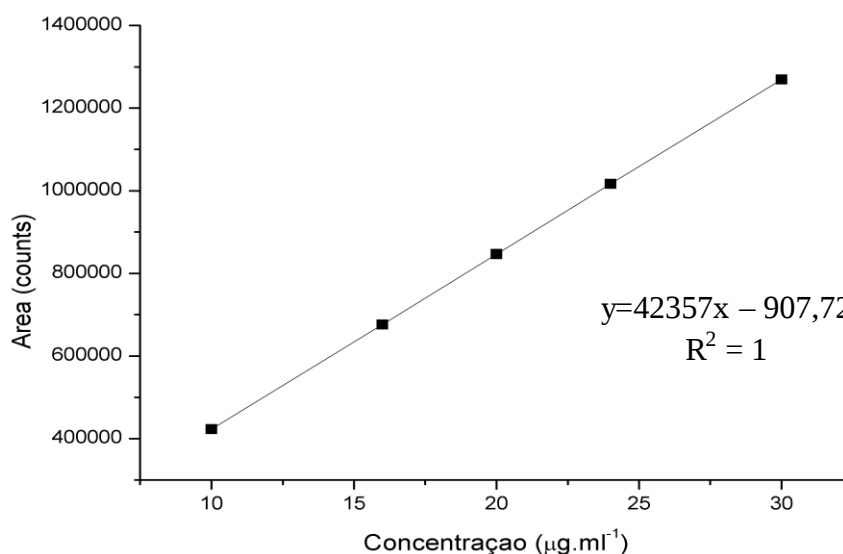
#### 6.2.2.2 Linearidade

A curva de calibração apresentou linearidade ao longo de um intervalo de 10,0 a 30,0  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ . Segunda a RE 889/2003 (BRASIL, 2003) o coeficiente de correlação linear ( $r^2$ ) deve

ser igual ou superior a 0,98, para que se considere a curva analítica adequada. O valor encontrado para o método proposto foi de 1,00, apontando uma existência de uma correlação linear (Figura 24).

Os dados correspondentes à linearidade do teste mostram o intervalo de concentração estudado em que a resposta do detector é proporcional à concentração da substância analisada.

**Figura 24 - Curva de calibração do padrão de ATV**



O coeficiente de correlação ( $r^2$ ) correspondente à fração da variância total de Y que é explicada pela variação em X, ou seja, a proporção da variação total da área do pico do fármaco é explicada pela variação da concentração da ATV. Essa variação linear também foi explicada pelo teste da falta de ajuste, apresentando um valor de teste igual a 0,450 abaixo do valor Tabelado (3,34).

Pela análise da curva de calibração foi possível determinar com 95% de confiança, o limite de detecção ( $LD = 0,00349 \mu\text{g. mL}^{-1}$ ) e o limite de quantificação ( $LQ = 0,010577 \mu\text{g.mL}^{-1}$ ).

### 6.2.2.3 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada após a determinação da linearidade e da seletividade, sendo verificada a partir de nove determinações contemplando o intervalo linear do procedimento, ou seja, três réplicas de uma concentração baixa ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), três réplicas

de uma concentração média ( $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e três réplicas de uma concentração alta ( $30 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) conforme descrito na Tabela 9.

**Tabela 9 - Ensaio de recuperação do método desenvolvido**

| Níveis | Concentração teórica ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) | Concentração encontrada média $\pm$ DP(n=3) | Exatidão (%) | CV (%) |
|--------|------------------------------------------------|---------------------------------------------|--------------|--------|
| Baixo  | 10                                             | 9,99                                        | 99,99%       | 0,273  |
| Médio  | 20                                             | 20,00                                       | 100,03%      | 0,204  |
| Alto   | 30                                             | 29,98                                       | 99,95%       | 0,183  |

CV: coeficiente de variação.

Os resultados mostram que o método é exato e atende às especificações exigidas na RE 899 (BRASIL, 2003) e no ICH (ICH, 2005).

#### 6.2.2.4 Precisão

A precisão foi avaliada quanto à repetitividade (precisão intradia) e precisão intermediária (interdias). Os valores de desvio padrão e coeficiente de variação foram considerados para determinação desse parâmetro (Tabela 10), não admitindo valores superiores a 5% de acordo com a RE 899 (BRASIL, 2003).

**Tabela 10 - Resultados da precisão intra e inter-dia**

|                        | Precisão                 |                          |                          |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
|                        | $10 \mu\text{g.mL}^{-1}$ | $20 \mu\text{g.mL}^{-1}$ | $30 \mu\text{g.mL}^{-1}$ |
| <b>1º dia</b>          |                          |                          |                          |
| Média da área (counts) | 422616,333               | 846462,667               | 1269143,667              |
| DP                     | 1151,751                 | 1726,816                 | 2327,229                 |
| CV(%)                  | 0,273                    | 0,204                    | 0,183                    |
| <b>2º dia</b>          |                          |                          |                          |
| Média da área (counts) | 432576,667               | 867951,667               | 1298864,500              |
| DP                     | 10936,798                | 23567,331                | 32609,917                |
| CV (%)                 | 2,528                    | 2,715                    | 2,511                    |

DP: desvio padrão; CV: coeficiente de variação.

Os resultados encontrados mostram que os valores do coeficiente de variação estão abaixo de 5%, indicando, portanto, que o método desenvolvido é preciso e apresenta baixa variabilidade.

### 6.2.2.5 Robustez

Segundo a *International Conference on Harmonisation*, a robustez do método é a medida da sua capacidade de permanecer inalterado sob pequenas, mas estudadas variações nos parâmetros do método, e de prover indicação da sua dependência durante o uso normal (ICH, 1996; ICH, 2005).

De acordo com os dados da Tabela 11, verifica-se que o método permaneceu inalterado em relação a valores da área e tempo de retenção do fármaco, mantendo o CV abaixo do valor permitido (5%), apenas no parâmetro temperatura do forno. O fluxo 0,9 apresentou modificações na área com valor do CV de 7%. No parâmetro proporção da fase móvel, visualizam-se fortes alterações no TR, com valores do CV de 21, 2% e 12, 6% para 68,6: 31,4 e 71,4: 28,6, respectivamente. Porém, em nenhuma das condições não houve alterações no perfil cromatográfico e do teor recuperado do fármaco, mantendo a concentração média acima de 95% de recuperação.

Foi realizada a análise de variância a fim de confirmação, e verifica-se que com 95% de confiança o método apresenta-se robusto em relação à área, apresentando um valor de  $p$  maior que 0,05.

**Tabela 11 - Robustez do método cromatográfico utilizado na análise da ATV**

| Parâmetros                             | Área<br>(counts) | CV<br>(%)  | TR<br>(min) | CV<br>(%)   | Teor<br>(%) | $p$    |
|----------------------------------------|------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------|
| <b>Fluxo<br/>(mL.min<sup>-1</sup>)</b> |                  |            |             |             |             |        |
| 0,9                                    | 904642,8         | <b>7,0</b> | 6,7         | 5,2         | 106         |        |
| 1,1                                    | 817611,0         | 3,8        | 6,1         | 5,3         | 97          |        |
| <b>Temperatura do forno<br/>(°C)</b>   |                  |            |             |             |             | 0,1516 |
| 38                                     | 857041,5         | 1,4        | 6,4         | 0,9         | 101         |        |
| 42                                     | 856351,2         | 1,3        | 6,3         | 1,6         | 103         |        |
| <b>Proporção FM<br/>(metanol:água)</b> |                  |            |             |             |             |        |
| 68,6: 31,4                             | 857550,5         | 1,5        | 7,704       | <b>21,2</b> | 101         |        |
| 71,4: 28,6                             | 871090,3         | 4,4        | 5,9         | <b>12,6</b> | 102         |        |

CV: coeficiente de variação; TR: tempo de retenção, FM: fase móvel. Nível de significância ( $\alpha=0,05$ ),  $p<0,05$ .

### 6.2.3 Testes de degradação forçada

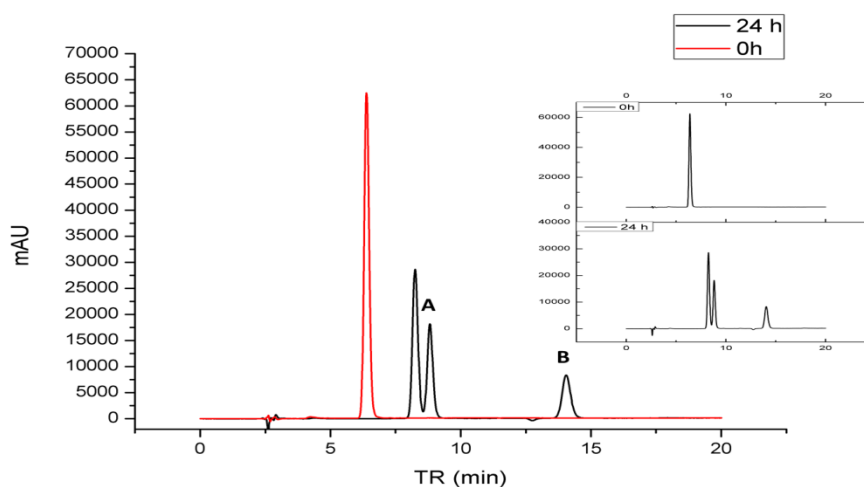
Observa-se na Tabela 12 que das condições testadas, apenas a degradação ácida apresentou decaimento do teor da ATV durante o tempo de estudo, apresentando um valor de aproximadamente 49% e teor de 50% ao término do estudo. Esse decaimento está relacionado com a presença de dois picos de degradação (A e B), (Figura 25).

**Tabela 12 - Degradação forçada da ATV**

| Tempo (h) | Ácida    |               | Básica   |          | Neutra   |          | Oxidativa |          |
|-----------|----------|---------------|----------|----------|----------|----------|-----------|----------|
|           | Teor (%) | Deg. (%)      | Teor (%) | Deg. (%) | Teor (%) | Deg. (%) | Teor (%)  | Deg. (%) |
| <b>0</b>  | 99,179   | 0,821         | 105,130  | -5,130   | 101,884  | -1,884   | 99,603    | 0,396    |
| <b>24</b> | 50,621   | <b>49,378</b> | 99,179   | 0,821    | 99,966   | 0,034    | 99,252    | 0,748    |

A ATV mostrou-se resistente as demais hidrólises, não apresentando produtos de degradação durante o tempo de estudo, como consta na Tabela 12. No entanto, não se pode afirmar que o fármaco é estável nessas condições, pois segundo o informe técnico nº 1(BRASIL, 2008) um fármaco é considerado estável na ausência de produtos de degradação após 10 dias de ter sido submetido a condições de estresse. Porém, pode-se afirmar que a ATV não é facilmente degradada nessas condições e que se apresentou estável durante 24h nas condições testadas.

**Figura 25 - Cromatograma da ATV submetida à degradação ácida**



Segundo a Consulta Pública nº 11 (BRASIL, 2012) e a consulta pública nº 68 (BRASIL, 2014), o estresse da amostra deverá gerar produto(s) de degradação em quantidade suficiente para se desenvolver e validar a metodologia analítica utilizada para a quantificação do teor do fármaco e do(s) produto(s) de degradação. Em torno de 10-30% (dez a trinta por cento), com intuito de evitar a degradação dos produtos de degradação, como preconizado no informe técnico nº 1 (BRASIL, 2008).

Assim, a condição ácida para a ATV atende a essa exigência, não apresentando uma degradação exagerada do fármaco, não comprometendo, portanto, a seletividade do método desenvolvido.

Na Tabela 13 visualiza-se a correlação do decaimento da área da ATV com o aumento da área dos picos de degradação no decorrer do estudo.

Observou-se um decaimento da área da ATV de 846462,7 para 428491,7, bem como o aumento da área dos picos de degradação. O pico que obteve um maior crescimento foi o pico **A**, apresentando um valor de 33,00%.

**Tabela 13 - Decaimento da área da ATV com aumento das áreas dos picos de degradação ácida de acordo com o tempo de estudo**

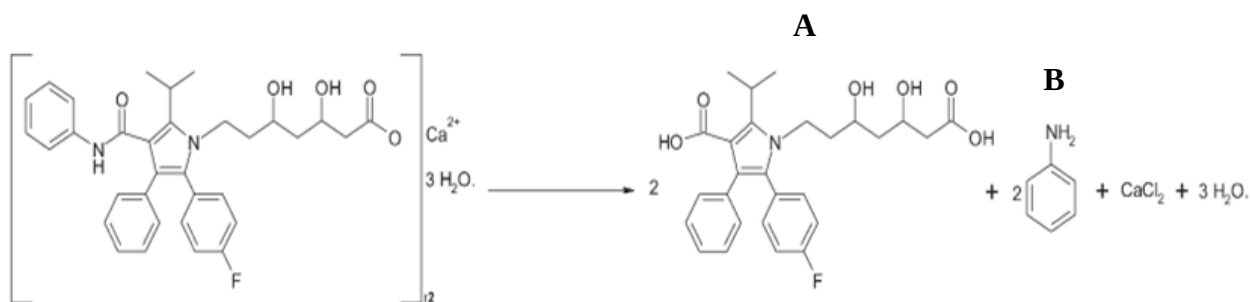
| <b>Tempo (h)</b> | <b>Picos</b> | <b>TR</b> | <b>Área dos picos (counts)</b> | <b>Área da ATV (counts)</b> | <b>Teor dos picos (%)</b> | <b>Teor da ATV (%)</b> |
|------------------|--------------|-----------|--------------------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|
| <b>0</b>         |              |           |                                | 846462,7                    |                           | 99,2                   |
| <b>24</b>        | <b>A</b>     | 8,5       | 281687,3                       | 428491,7                    | <b>33,3</b>               | 50,6                   |
|                  | <b>B</b>     | 13,4      | 199348,0                       |                             | 23,5                      |                        |

A degradação ácida da ATV é bem relatada na literatura. Shah; Kumar; Singh (2008) ao submeter a ATV à condições extremas, verificaram que apenas a degradação ácida foi capaz de proporcionar uma degradação extensa após 24h de exposição. As hidrólises neutra, básica e oxidativa obtiveram uma insignificante degradação, apesar do uso de concentrações maiores (1M e 30% para a solução básica e oxidativa, respectivamente) e tempo de exposição quando comparado a esse trabalho. Esses achados corroboram com os dados obtidos neste trabalho e os descritos por Chaudhari, Patel, Shah, (2007) e Kadav e Vora (2008).

Darwish et al (2016), em seu desenvolvimento de um método indicativo de estabilidade seletivo a ATV e ao enlodino, obteve produtos de degradação da ATV apenas quando submetido a condições ácidas de estresse. Ademais, explica o mecanismo dessa

degradação por meio da confirmação dos resultados obtido pelo espectro de massa e o espectro na região do infravermelho. Segundo os autores, essa condição cliva a ligação amida da ATV formando o produto de degradação principal com um grupo carboxílico livre e a anilina, conforme Figura 26.

**Figura 26 - Provável mecanismo da degradação ácida da ATV**



**Fonte: DARWISH et al (2016) com adaptações.**

Dessa forma, os dois picos de degradação (**A e B**) encontrado nesse trabalho podem estar relacionados à presença dos produtos de degradação citados por Darwish et al.,(2016) (Figura 4). Isso explica o porquê do produto **A** apresentar TR tão próximo a ATV e similaridade de 0,98 quando comparado ao padrão. E o produto **B** por se tratar de anilina e ser mais apolar que o fármaco, eluiu em TR maior.

Verificou-se na Figura 25 que a presença dos picos de degradação aumentou o tempo de retenção do fármaco de 6,3 para 7,6 minutos aproximadamente. No entanto, o método mostrou-se seletivo para ATV, pois, apesar da alteração no tempo de retenção, o pico manteve-se puro e houve similaridade do fármaco em relação ao padrão, como preconiza a RDC 58 (BRASIL, 2013) e a Consulta pública nº 11 e 68 (BRASIL, 2012; 2014). Essa alteração pode estar relacionada à modificações na ionização devido à acidificação do meio.

De acordo com a Consulta Pública nº 68 (BRASIL, 2014), a análise crítica do perfil de degradação deve contemplar, além da avaliação dos fatores que podem interferir de alguma forma na estabilidade do medicamento, a análise da perda de teor do fármaco em relação à formação de possíveis produtos de degradação nas diferentes condições testadas. Deve contemplar ainda, a verificação da pureza cromatográfica do pico do fármaco no medicamento.

Foi realizada a análise da pureza do pico no início e no término do estudo, como preconizado na Consulta Pública nº 68 (BRASIL, 2014), a fim de comprovar de que não há

interferência dos produtos de degradação no pico cromatográfico do fármaco. Todos os picos da ATV em todas as condições testadas mostraram-se puros, não sofrendo nenhum tipo de interferência. Ademais, em todas as condições testadas, durante os tempos de análises, o fármaco analisado realmente se tratava da ATV. Fato este, confirmado por meio da similaridade dos espectros entre o fármaco em questão e seu padrão.

### 6.3 CONCLUSÃO

Os resultados mostram que o método desenvolvido atende as exigências das diretrizes da RE da Anvisa e da *International Harmonization Conference*, apresentando linearidade, precisão, exatidão e seletividade a ATV, sendo útil no doseamento da ATV em formulações farmacêuticas.

Ademais, o método desenvolvido e validado também atua como um método indicativo de estabilidade, sendo capaz de detectar e quantificar possíveis produtos de degradação da ATV, não interferindo nas características cromatográficas do fármaco, apresentando, portanto, seletividade e especificidade.

## **CAPÍTULO IV**

### **Avaliação da reprodutibilidade de dispersões sólidas da atorvastatina cálcica**

## **7. AVALIAÇÃO DA REPRODUTIBILIDADE DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA ATORVASTATINA CÁLCICA**

Sabendo que apesar do grande interesse pelo desenvolvimento das dispersões sólidas, o número de produtos comercializados é extremamente baixo, devido à dificuldade de transposição de escala, problemas de instabilidade físico-química durante a produção ou armazenamento e principalmente problemas relacionados à reprodutibilidade. Esse capítulo se propôs a reproduzir as dispersões sólidas que apresentaram os melhores perfis de dissolução do capítulo I (DS-L e DS-P), usando diferentes lotes da ATV (ATVI, ATVII e ATVIII), a fim de otimizar o processo de liofilização.

### **7.1 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **7.1.1 Materiais**

Atorvastatina cálcica de três lotes diferentes (ATVI, ATVII, ATVIII respectivamente), foi obtida a partir da Gemini e Fragon Indústria de Insumos farmacêuticos LTDA. Os seguintes itens foram utilizados como carreadores: Lauril sulfato de sódio - LSS (Mapric), polietilenoglicol (PEG) 6000. Como agente secante foi utilizado o aerosil 200 – AER (Henrifarma produtos químicos e farmacêuticos). Os solventes utilizados foram álcool etílico (Neon) e água destilada.

#### **7.1.2 Métodos**

##### **7.1.2.1 Preparação das Dispersões Sólidas**

###### **7.1.2.1.1 Liofilização**

A fim de avaliar a reprodutibilidade e otimização do processo de obtenção das dispersões, foram preparadas DS-P e DS-L com ATVII e ATVIII, sob as mesmas condições citadas no item 4.1.2.1.

#### **7.1.2.2 Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)**

Os espectros FT-IR obtidos da ATVI, ATVII, ATVIII e suas dispersões sólidas foram obtidos conforme item 5.1.2.1, já descrito.

#### **7.1.2.3 Difração de Raios-X do pó (PDRX)**

Os padrões de difração obtidos da ATVI, ATVII, ATVIII e suas dispersões sólidas foram obtidos conforme item 4.1.2.2, já descrito.

#### **7.1.2.4 Análise Calorimétrica**

##### **7.1.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

As análises da ATVI, ATVII e ATVIII e suas dispersões sólidas foram feitas do mesmo modo que já relatado no item 5.1.2.3.1, porém somente na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .

##### **7.1.2.4.2 Termogravimetria (TG)**

As curvas de TG da ATVI, ATVII e ATVIII e suas dispersões sólidas foram obtidas conforme já descrito no item 5.1.2.3.2.

#### **7.1.2.5 Uniformidade de Conteúdo**

A uniformidade de conteúdo das dispersões sólidas foi obtida a partir do doseamento das amostras seguindo a mesma metodologia já descrita no item 4.1.2.4.

#### **7.1.2.6 Perfil de Dissolução**

O perfil de dissolução da ATVI, ATVII e ATVIII e suas dispersões sólidas foi realizado utilizando equipamento, material e metodologia já descritos no item 4.2.2.6.

## 7.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

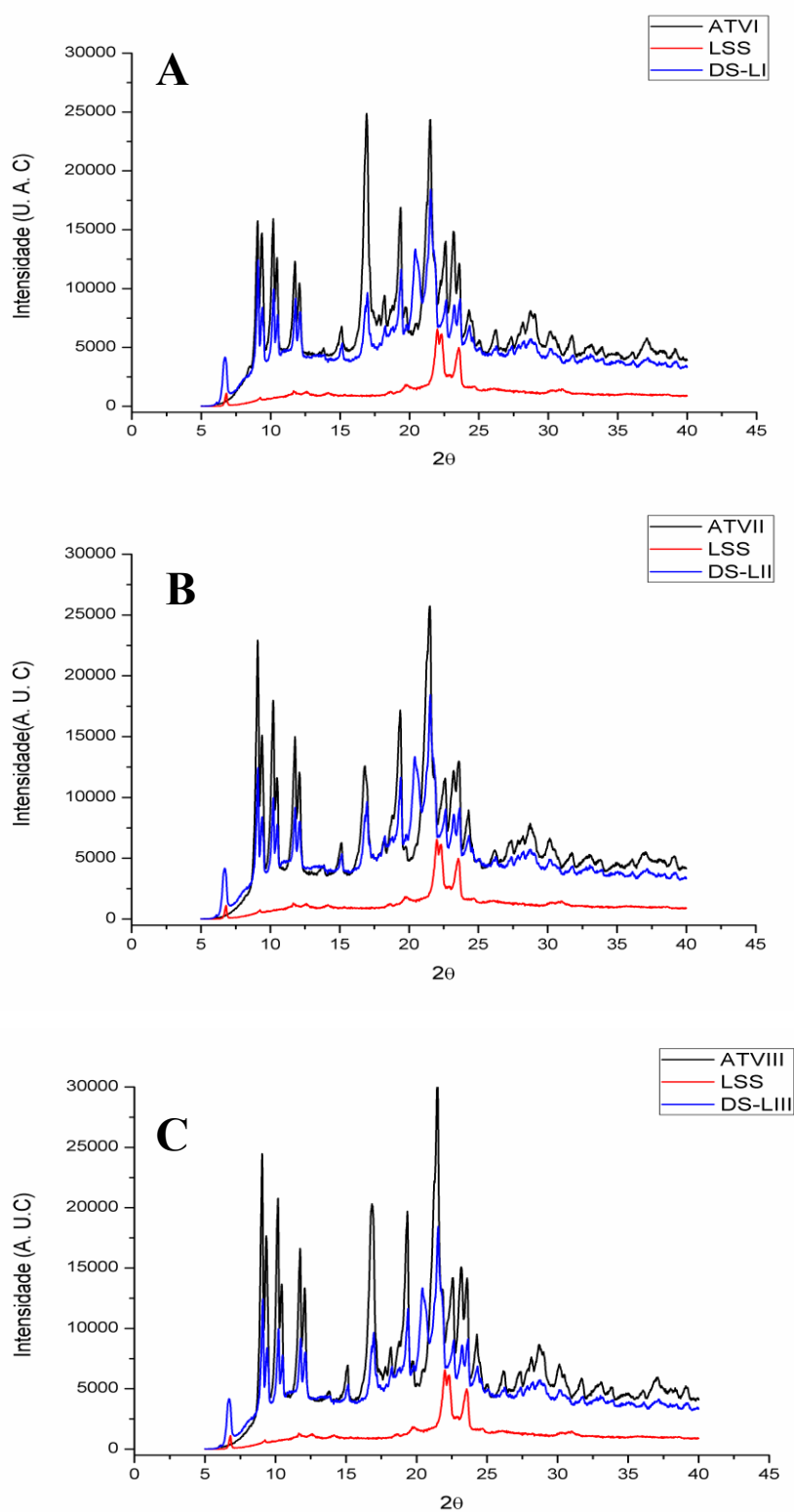
### **7.2.1 Avaliação da reprodutibilidade de dispersões sólidas da ATV usando LSS como carreador**

#### **7.2.1.1 PDRX**

Os difratogramas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L são mostrados na Figura 27. A ATV de todos os lotes apresentaram picos intensos e definidos em  $2\theta$  com valores de 8,94; 9,23; 10,06; 16,82; 19,25, 21,38 e 23,10° (ítem 5.2.1). O LSS mostrou picos característicos em 21,3 e 24,1°. Visualiza-se nos difratogramas, que as DS-L de todos os lotes apresentaram semelhanças entre elas e o padrão de difração do fármaco foi verificado em todas as amostras, indicando que a ATV se encontra na forma cristalina após a liofilização e que houve reprodutibilidade nas amostras.

Observa-se que a liofilização não foi suficiente para modificar a estrutura cristalina do fármaco e que o LSS possivelmente ajudou na manutenção da estrutura cristalina da ATV. Essa conclusão é reforçada por Choudhary et al. (2012), que obtiveram dispersões sólidas da ATV por meio da liofilização e encontraram modificações do fármaco após o processo. Segundo os autores, essa amorfização se deu devido à natureza amorfa do carreador utilizado (proteína do leite).

**Figura 27- Difratomogramas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L**



### 7.2.1.2 FTIR

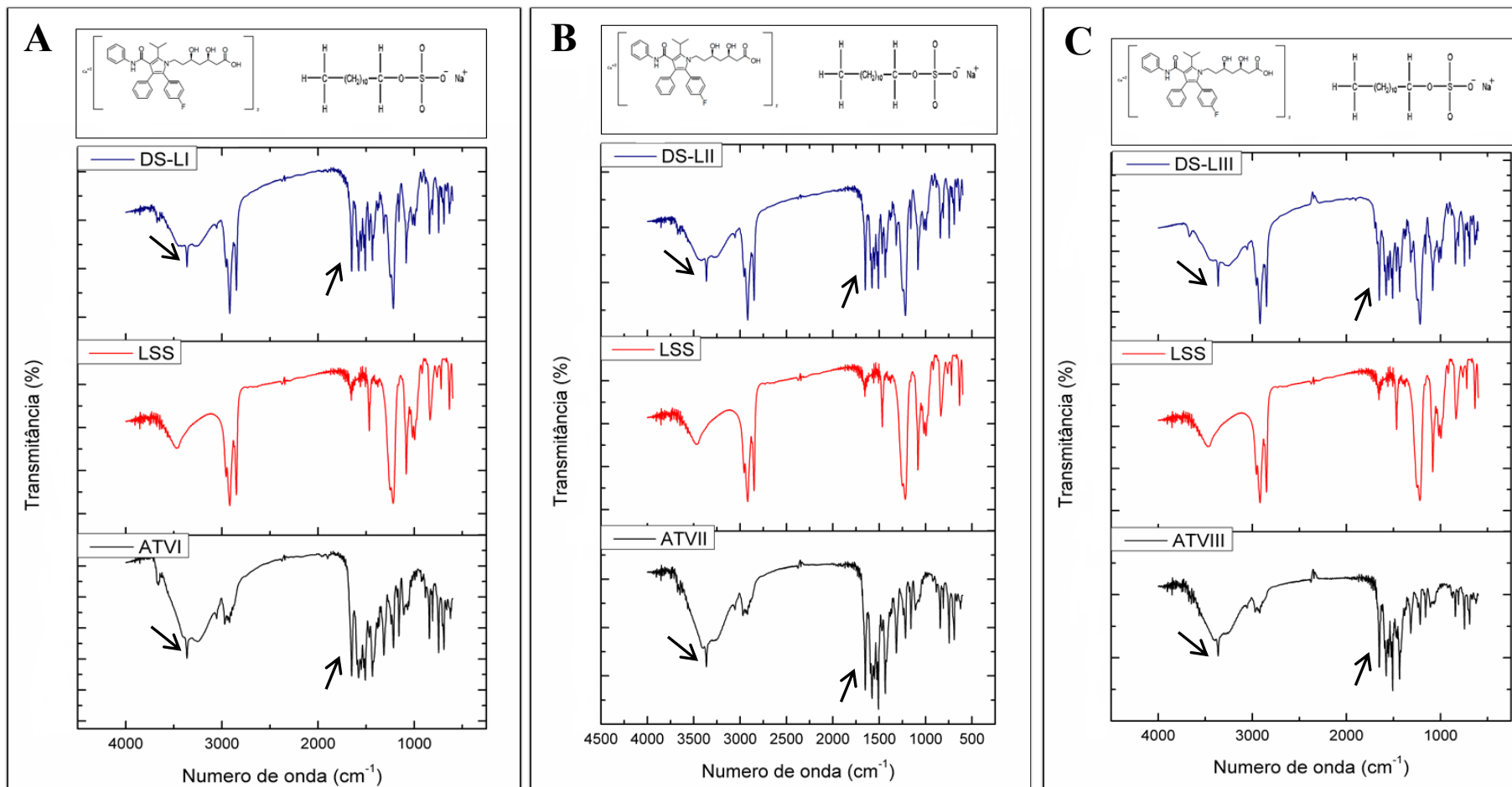
Medições no FTIR foram realizadas para obter informações sobre as possíveis alterações no nível molecular entre a ATV e as dispersões sólida.

As bandas de absorção da ATV no espectro de FTIR foram avaliadas na região O-H (3650-3200  $\text{cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^2$  (3050-3010  $\text{cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^3$  (3300-2750  $\text{cm}^{-1}$ ), C=O (1800-1600  $\text{cm}^{-1}$ ), C=C (1600-1400  $\text{cm}^{-1}$ ), C-O (1300-1000  $\text{cm}^{-1}$ ) e C-F (1400-1000  $\text{cm}^{-1}$ ).

Na forma cristalina, as moléculas da ATV semelhante com o que ocorre com a sinvastatina, estão ligadas por meio de ligações de hidrogênio entre o grupo éster e a hidroxila da molécula. Após a transformação para a forma amorfa, ocorrem alterações em duas regiões, a da carbonila e a da hidroxila, em que observa-se deslocamento e alargamento de pico. Estas alterações estão relacionadas com uma mudança na ligação do hidrogênio intermolecular (ZHANG et al., 2009, LÖBMANN et al., 2012). Segundo Kim et al., (2008) e Shaynfar; Jouyban., (2013), existe uma diferença entre a banda de estiramento da carbonila da ATV na forma de cristal ( 1651  $\text{cm}^{-1}$ ) e na forma amorfa (1662  $\text{cm}^{-1}$ ).

De acordo com a Figura 28 e a Tabela 14, verifica-se que as DS-L da ATVI (Figura 28 A), ATVII (Figura 28 B) e ATVIII (Figura 28 C), não apresentaram modificações nos picos característicos do fármaco e do adjuvante tecnológico (LSS), sendo indicativo de uma não interação química entre os componentes. Ademais, as dispersões apresentaram valores de número de onda semelhantes e ausência de alargamento e deslocamento de bandas na região da O-H e da C=O, indicando reprodutibilidade e manutenção da estrutura cristalina da ATV após o processo de liofilização.

Figura 28- Espectros de infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L



**Tabela 14- Dados dos espectros do infravermelho da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L**

| <b>Bandas<br/>(cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>ATVI</b> | <b>ATVII</b> | <b>ATVIII</b> | <b>DS-LI</b> | <b>DS-LII</b> | <b>DS-LIII</b> |
|-------------------------------------|-------------|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|
| <b>O-H</b>                          | <b>3364</b> | <b>3370</b>  | <b>3370</b>   | <b>3364</b>  | <b>3364</b>   | <b>3370</b>    |
| <b>C-H sp<sup>2</sup></b>           | 3046        | 3058         | 3058          | 3052         | 3052          | 3058           |
| <b>C-H sp<sup>3</sup></b>           | 2930        | 2930         | 2941          | 2919         | 2930          | 2925           |
| <b>C=O</b>                          | <b>1651</b> | <b>1651</b>  | <b>1651</b>   | <b>1651</b>  | <b>1651</b>   | <b>1651</b>    |
| <b>C=C</b>                          | 1600-1400   | 1600-1400    | 1600-1400     | 1538-1437    | 1578-1437     | 1578-1431      |
| <b>C-O</b>                          | 1318        | 1319         | 1318          | 1220         | 1217          | 1214           |
| <b>C-F</b>                          | 1159        | 1159         | 1159          | 1159         | 1159          | 1159           |

### 7.2.1.3 Análise calorimétrica

#### 7.2.1.3.1 DSC

Como discutido no item 5.2.3.1, as curvas DSC da ATV apresentam dois eventos endotérmicos: o primeiro referente à perda de água e o segundo a fusão. Verifica-se na Figura 29 que houve somatório dos eventos térmicos da ATV e do LSS em todas as amostras, indicando compatibilidade entre eles, complementando os achados discutidos nos itens 7.2.1.1 e 7.2.1.2 a cerca da manutenção da estrutura cristalina do fármaco nas dispersões.

Jung et al., (2016) produziram dispersões sólidas do tracolimos usando LSS como carreador por meio da evaporação de solvente sob vácuo e obtiveram modificações cristalina do fármaco em todas as proporções IFA/LSS usada. Nas curvas DSC, foi possível visualizar a supressão do pico do fármaco, indicando uma interação entre os componentes. Essa interação, segundo os autores está relacionada à amorfização do fármaco. Esses dados estão em desacordo com os resultados desse trabalho, em que não se observa supressão de nenhum evento térmico da ATV nas amostras apenas uma sutil diminuição na intensidade dos picos, que se justificam por meio dos menores valores de entalpia (Tabela 15).

Waard et al., (2008) produziram dispersões sólidas do diazepam e do fenofibrato usando LSS como co solvente e insulina / trealose como carreador numa proporção de 1:1 para o fármaco e o LSS, por meio da liofilização. Nas curvas DSC, observou-se supressão do pico de fusão dos fármacos, apenas nas amostras que continham insulina como carreador. Resultados opostos foram observados para as dispersões que usaram a trealose como

carreador. Segundo os autores, esses achados são oriundos da interação física e química que ocorreu entre o LSS e a insulina, que resultou numa amorfização do carreador na presença do LSS.

Choudhary et al., (2012) produziram dispersões sólidas da ATV usando proteína do leite como carreador por meio da liofilização e obtiveram supressão do pico de fusão do fármaco recorrente do processo de amorfização que ocorreu. Segundo os autores esse processo ocorreu devido à natureza amorfa do carreador, tendo vista, que a ATV pura após o processo de liofilização não apresentou modificações na sua rede cristalina.

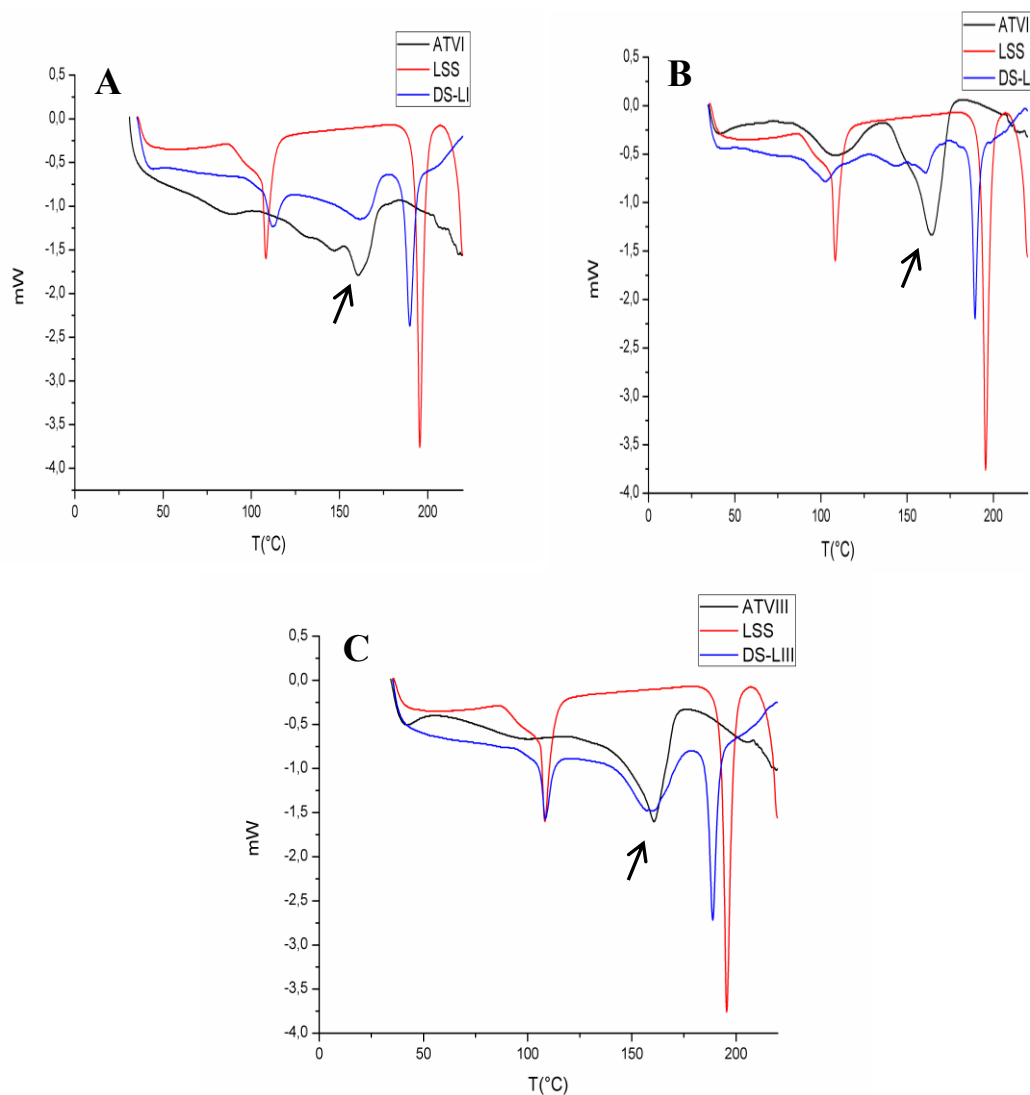
Esses achados são sugestivos de que a manutenção da estrutura cristalina da ATV nas amostras esteja relacionada com a técnica de obtenção e com o carreador, uma vez que Jung et al. (2016), obtiveram dispersões amorfas do tracolimos por meio da evaporação de solvente sob vácuo; Waard et al. (2008), apesar da utilização da mesma técnica de obtenção, obteve dispersões amorfas devido a interação entre o LSS e o carreador (insulina). Talvez resultados semelhantes a esse trabalho tivesse sido alcançado pelos autores, ao produzirem dispersões usando apenas o LSS como carreador e Choudhary et al. (2012), obtiveram amorfização da ATV nas dispersões devido a utilização de um carreador amorfo (proteína do leite).

Observa-se na Tabela 15, que houve diminuição da entalpia de fusão da ATV em todas as dispersões, o que sugere que o sistema se tornou menos estável. Esses eventos são decorrentes de amorfização ou sistemas dispersos, solúveis (REGINALD-OPARA et al., 2015). Sendo assim, as modificações na energia entálpica das amostras possivelmente estão relacionadas à dispersão do fármaco no carreador, pois conforme discutido anteriormente não ocorreu modificações significativas na estrutura cristalina da ATV após a liofilização. Esses dados corroboram com os resultados encontrados por Panghal et al. (2014), que produziram dispersões sólidas da ATV capazes de manter a cristalinidade do fármaco e obtiveram variações na entalpia de fusão.

**Tabela 15- Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L na razão de 10°C.min<sup>-1</sup>**

| <b>Amostras</b> | <b>° T <i>onset</i></b> | <b>° T <i>pico</i></b> | <b>° T <i>endset</i></b> | <b>Energia<br/>(J.g<sup>-1</sup>)</b> |
|-----------------|-------------------------|------------------------|--------------------------|---------------------------------------|
| <b>ATVI</b>     | 155,76                  | 160,65                 | 170,46                   | -14,39                                |
| <b>DS-LI</b>    | 157,98                  | 161,61                 | 169,76                   | -3,17                                 |
| <b>ATVII</b>    | 154,15                  | 164,34                 | 174,78                   | -56,51                                |
| <b>DS-LII</b>   | 163,59                  | 163,59                 | 172,12                   | -12,01                                |
| <b>ATVIII</b>   | 153,39                  | 160,67                 | 169,81                   | -40,10                                |
| <b>DS-LIII</b>  | 159,71                  | 159,71                 | 170,03                   | -19,51                                |

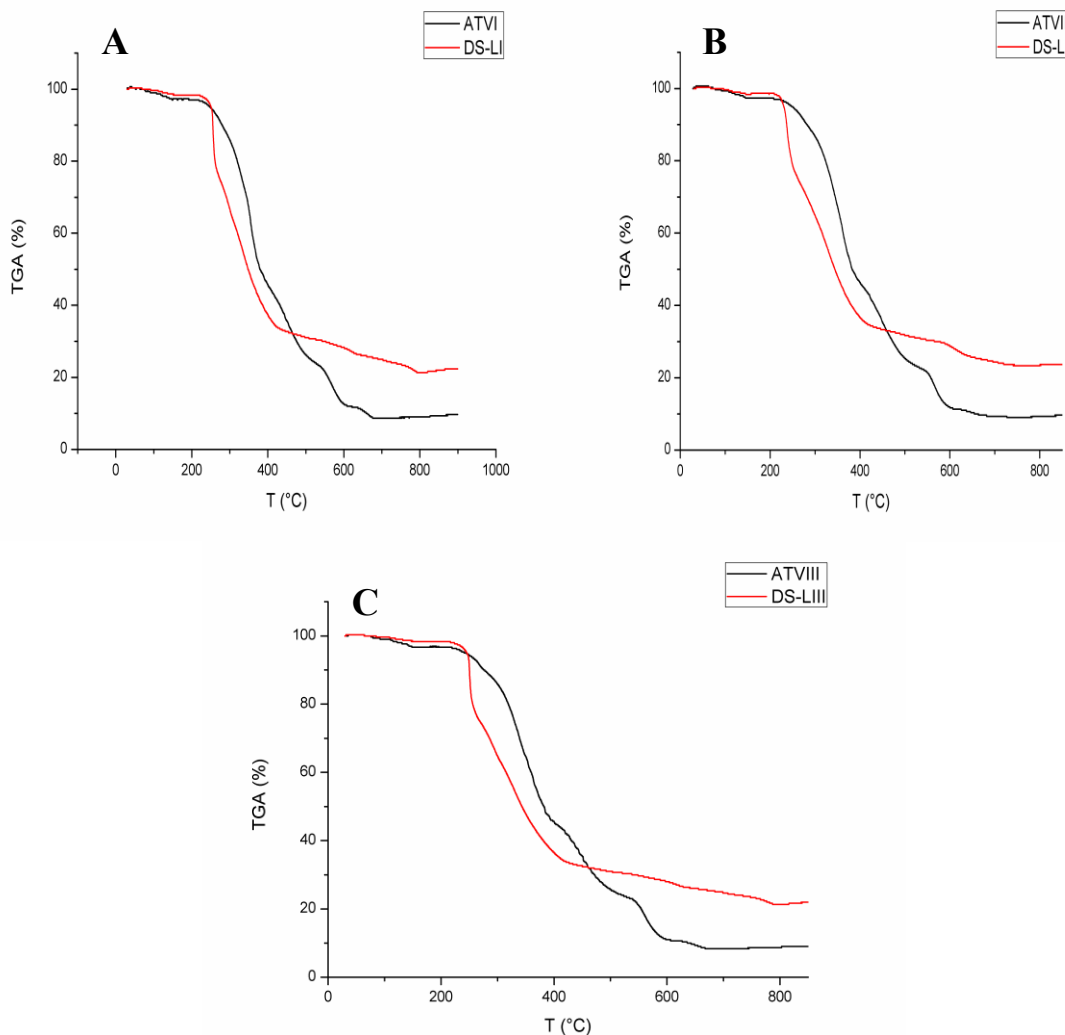
**Figura 29- Curvas de DSC da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L na razão de aquecimento  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



#### 7.2.1.3.2 TG

As curvas termogravimétricas das DS-L dos três lotes da ATV são mostradas na Figura 30. Como citado no item 5.2.3.2, as três amostras de ATV apresentaram nove etapas de degradação, sendo as duas primeiras relacionadas com a perda de água. As DS-L mostraram o mesmo perfil de degradação entre elas, porém, apresentaram uma etapa a menos que os respectivos lotes.

**Figura 30- Curvas termogravimétricas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



Os dados das perdas de massas são mostrados na Tabela 16. Verifica-se que as modificações nos eventos foram sutis, merecendo destaque apenas com relação à perda de água (1<sup>a</sup> e 2<sup>a</sup> etapa) que apresentaram valores inferiores ao fármaco de cada lote. Esse fato pode estar correlacionado ao menor teor de água (água de superfície) nas amostras após o processo de liofilização. A 4<sup>a</sup> etapa correspondente ao estágio que apresentou maior perda de massa, e como tal, foi dito a etapa principal de degradação. Visualiza-se na Tabela 16 que o estágio foi mantido em todas as amostras, apresentando pequenas diferenças entre as dispersões e os respectivos lotes em relação à faixa de temperatura.

Esses achados corroboram com os dados anteriormente discutidos, sendo mais um indicativo de que não houve interação entre o fármaco e o LSS e que todas as amostras

apresentaram reprodutibilidade. Ademais, pode-se concluir que a presença do adjuvante não interferiu na estabilidade térmica da ATV.

**Tabela 16- Dados termogravimétricos da 1ª, 2ª e 4ª etapa da ATVI, ATVII e ATVIII e suas respectivas DS-L na razão de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>**

| <b>Amostras</b> | <b>Ti (°C)</b> | <b>Tf (°C)</b> | <b>Perda de massa (%)</b> |
|-----------------|----------------|----------------|---------------------------|
| <b>ATVI</b>     |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 50             | 144            | <b>4,4</b>                |
| 4º etapa        | 303            | 373            | 32,8                      |
| <b>DS-LI</b>    |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 45             | 143            | <b>3,2</b>                |
| 4ª etapa        | 255            | 344            | 32,9                      |
| <b>ATVII</b>    |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 35             | 145            | <b>4,4</b>                |
| 4º etapa        | 320            | 384            | 31,6                      |
| <b>DS-LII</b>   |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 47             | 144            | <b>3,4</b>                |
| 4º etapa        | 309            | 386            | 32,1                      |
| <b>ATVIII</b>   |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 50             | 144            | <b>4,4</b>                |
| 4º etapa        | 312            | 353            | 31,1                      |
| <b>DS-LIII</b>  |                |                |                           |
| 1ª e 2ª etapa   | 46             | 145            | <b>3,3</b>                |
| 4ª etapa        | 262            | 349            | 31,9                      |

#### **7.2.1.4 Uniformidade de conteúdo**

Observa-se na Tabela 17 que todas as amostras apresentaram valores de teor acima de 90%, apresentando uma boa uniformidade entre os componentes. Ademais, verifica-se que as dispersões estão dentro de uma faixa de  $\pm 9 \%$  da concentração teórica, indicando que o método utilizado foi adequado e de natureza reprodutível.

**Tabela 17- Valor do teor da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L**

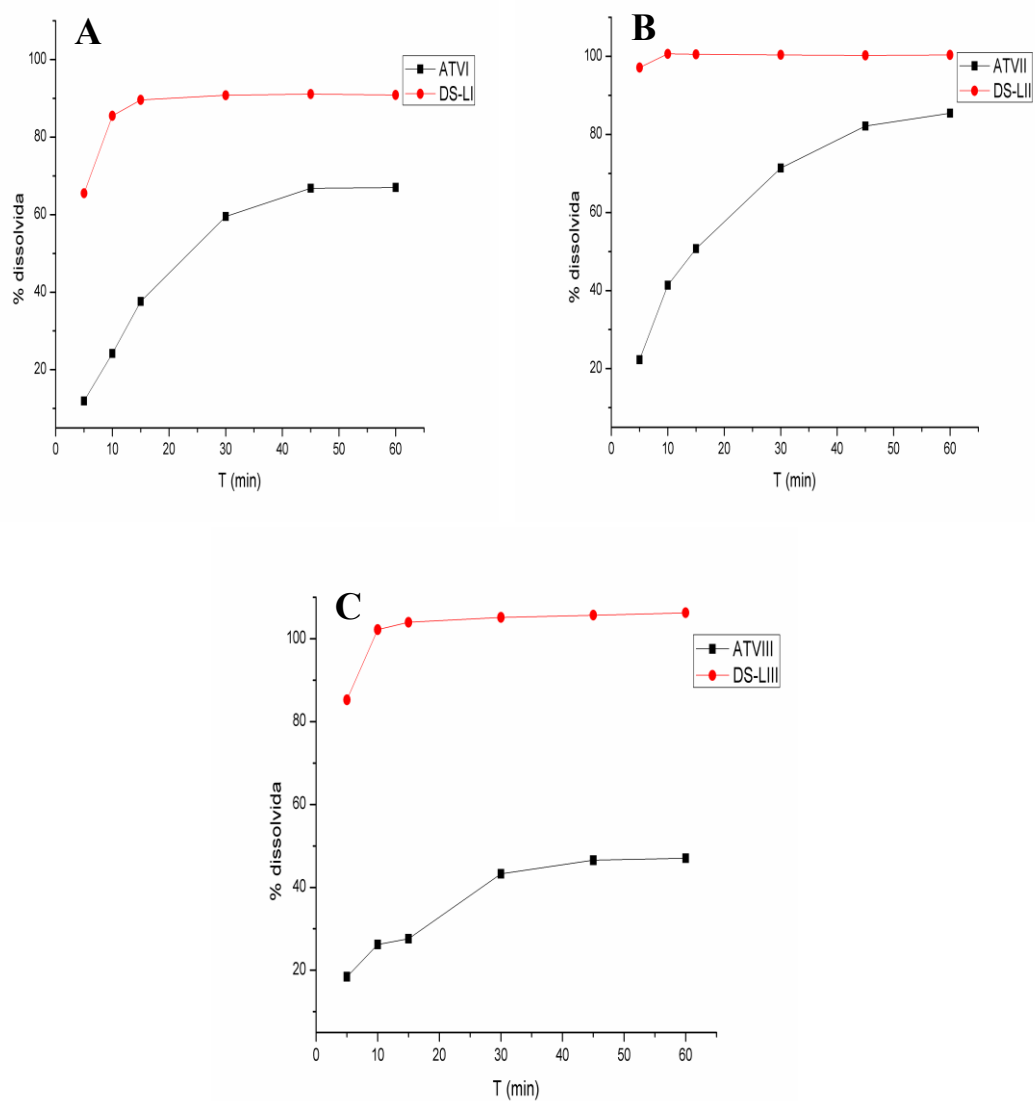
| <b>Amostras</b> | <b>Proporção</b> | <b>Concentração<br/>teórica<br/>(<math>\mu\text{g. mL}^{-1}</math>)</b> | <b>Concentração<br/>experimental<br/>(<math>\mu\text{g. mL}^{-1}</math>)</b> | <b>Teor (%)</b> |
|-----------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>DS-LI</b>    | 1:1              | 20                                                                      | 18,2                                                                         | 91 $\pm$ 0,98   |
| <b>DS-LII</b>   | 1:1              | 20                                                                      | 19,4                                                                         | 97 $\pm$ 0,59   |
| <b>DS-LIII</b>  | 1:1              | 20                                                                      | 19                                                                           | 95 $\pm$ 0,67   |

### **7.2.1.5 Perfil de dissolução**

Os perfis de dissolução das DS-L dos respectivos lotes da ATV são mostrados na Figura 31. Verifica-se que todas as amostras foram capazes de incrementar a solubilidade da ATV de todos os lotes, apresentando ao final dos 60 minutos, valores 90, 104,6 e 100,3% para a DS-LI (Figura 31 A), DS-LII (Figura 31 B) e DS-LIII (Figura 31 C), respectivamente. Essas diferenças na porcentagem liberada da ATV podem estar relacionadas à homogeneização dos componentes antes da liofilização, já que os valores de liberação das amostras se correlacionam com os valores dos teores (item 7.2.1.4), em que foram encontrados valores de 91, 97 e 95% para DS-LI, DS-LII e DS-LIII, respectivamente. No entanto, todas as amostras apresentaram liberação imediata, liberando 100% do fármaco em aproximadamente 15 minutos.

Jung et al (2016) obtiveram aumento na velocidade e extensão da dissolução em relação ao tracolimos apenas com as dispersões sólidas que usaram o LSS como carreador, apresentando liberação de 100% antes das 4h. Segundo os autores, esse incremento de solubilidade está relacionado com a amorfização do fármaco, bem como a formação de micelas. Como discutido anteriormente, não houve amorfização significativa da ATV em nenhuma amostra, e, portanto, o mecanismo envolvido no aumento de solubilidade possivelmente correspondente à formação de micelas, conforme discutido no item 4.2.4.

**Figura 31- Perfil de dissolução da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-L**

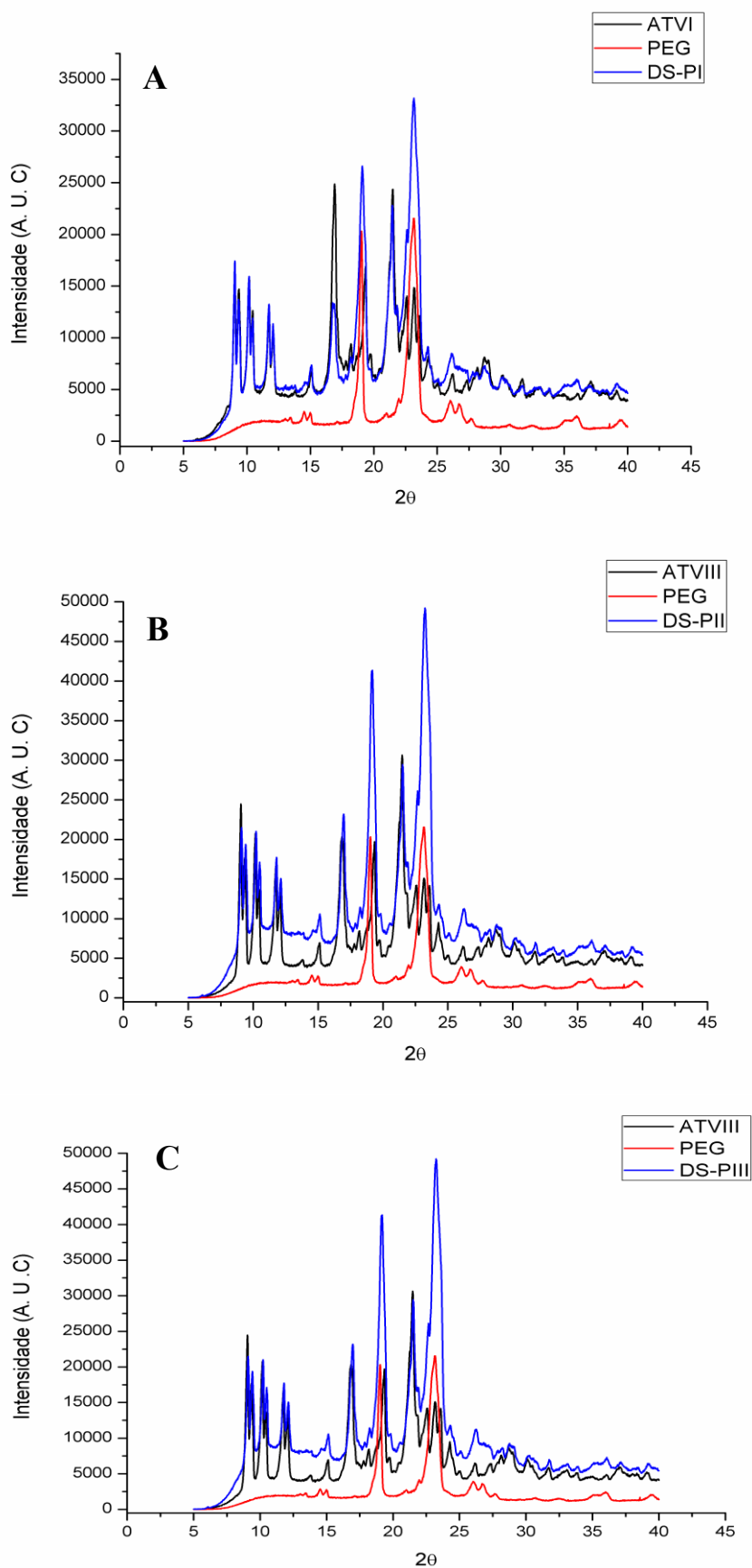


## **7.2.2 Avaliação da reprodutibilidade de dispersões sólidas da ATV usando PEG como carreador**

### **7.2.2.1 PDRX**

Os resultados na análise por PDRX de ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas dispersões são mostrados na Figura 32. Como discutido no item 5.2.1, os três lotes mostraram picos intensos e definidos em  $2\theta$  com valores de 8, 94; 9,23; 10,06; 16,82; 19,25; 21,38 e 23,10°. O PEG mostrou dois picos característicos em 19,22 e 23,36°. Observa-se nos difratogramas, que as DS-P de todos os lotes apresentaram semelhanças entre elas e que o padrão de difração da ATV foi visualizado em todas as amostras, sendo sugestivo de que o fármaco nas amostras se encontra na forma cristalina e que houve reprodutibilidade nas amostras.

Hu et al., (2014) encontraram resultados semelhantes apenas para as misturas físicas da ATV com o PEG. Segundo os autores, os picos característicos da ATV foram mantidos, porém com menor intensidade, indicando a presença do fármaco na forma cristalina, embora seja possível que tenha ocorrido uma maior contribuição amorfa na presença do carreador. Choe et al., (2012) avaliaram a interferência de vários polímeros na modificação cristalina do ATV e encontraram que o PEG não interferiu na rede cristalina do fármaco, mantendo os mesmos padrões de difração.

**Figura 32- Difratoograma da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P**

#### 7.2.2.2 FTIR

Os espectros da ATVI, ATVII e ATVIII e suas respectivas DS-P são mostrados na Figura 33. De maneira semelhante às DS-L obtidas a partir dos três lotes da ATV, as DS-P também não apresentaram modificações a nível molecular, não apresentando alterações nos picos característicos do fármaco e do adjuvante tecnológico (PEG), indicando ausência de interação química entre os componentes. Ademais, as dispersões apresentaram valores de número de onda semelhantes e ausência de alargamento e deslocamento de bandas na região da O-H e da C=O, indicando reprodutibilidade e manutenção da estrutura cristalina da ATV após o processo de liofilização (Tabela 18). As bandas da ligação C-F não puderam ser avaliadas devido à sobreposição dos picos C-O que se tornou mais intenso como resultado das ligações C-O presentes no PEG.

Esses achados corroboram com os resultados de Mayur (2015), de Sharma; Saini; Sharma (2012) e Narasaiah et al., (2014) que produziram dispersões sólidas da ATV usando PEG como carreador e obtiveram compatibilidade química entre os componentes.

Resultados diferentes foram encontrados por Hu et al (2014) que produziram dispersão sólida da ATV usando PEG como carreador, por meio da secagem de solvente a temperatura de 40°C. As dispersões obtidas apresentaram alterações em todas as bandas característica do fármaco, apresentando espectros semelhantes ao do carreador, que segundo os autores, esse fato é indicativo de uma inclusão da ATV no PEG. Apenas as misturas físicas apresentaram valores semelhantes a esse trabalho, ou seja, não modificaram os picos da ATV.



**Tabela 18- Dados dos espectros do infravermelho da ATVI,ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P**

| <b>Bandas<br/>(cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>ATVI</b> | <b>ATVII</b> | <b>ATVIII</b> | <b>DS-PI</b> | <b>DS-PII</b> | <b>DS-PIII</b> |
|-------------------------------------|-------------|--------------|---------------|--------------|---------------|----------------|
| <b>O-H</b>                          | <b>3364</b> | <b>3370</b>  | <b>3370</b>   | <b>3370</b>  | <b>3364</b>   | <b>3364</b>    |
| <b>C-H sp<sup>2</sup></b>           | 3046        | 3058         | 3058          | 3052         | 3063          | 3058           |
| <b>C-H sp<sup>3</sup></b>           | 2930        | 2930         | 2941          | 2890         | 2878          | 2878           |
| <b>C=O</b>                          | <b>1651</b> | <b>1651</b>  | <b>1651</b>   | <b>1650</b>  | <b>1647</b>   | <b>1650</b>    |
| <b>C=C</b>                          | 1600-1400   | 1600-1400    | 1600-1400     | 1584-1437    | 1538-1437     | 1575-1434      |
| <b>C-O</b>                          | 1318        | 1319         | 1318          | 1110         | 1110          | 1110           |
| <b>C-F</b>                          | 1159        | 1159         | 1159          | -            | -             | -              |

### 7.2.2.3 Análise calorimétrica

#### 7.2.2.3.1 DSC

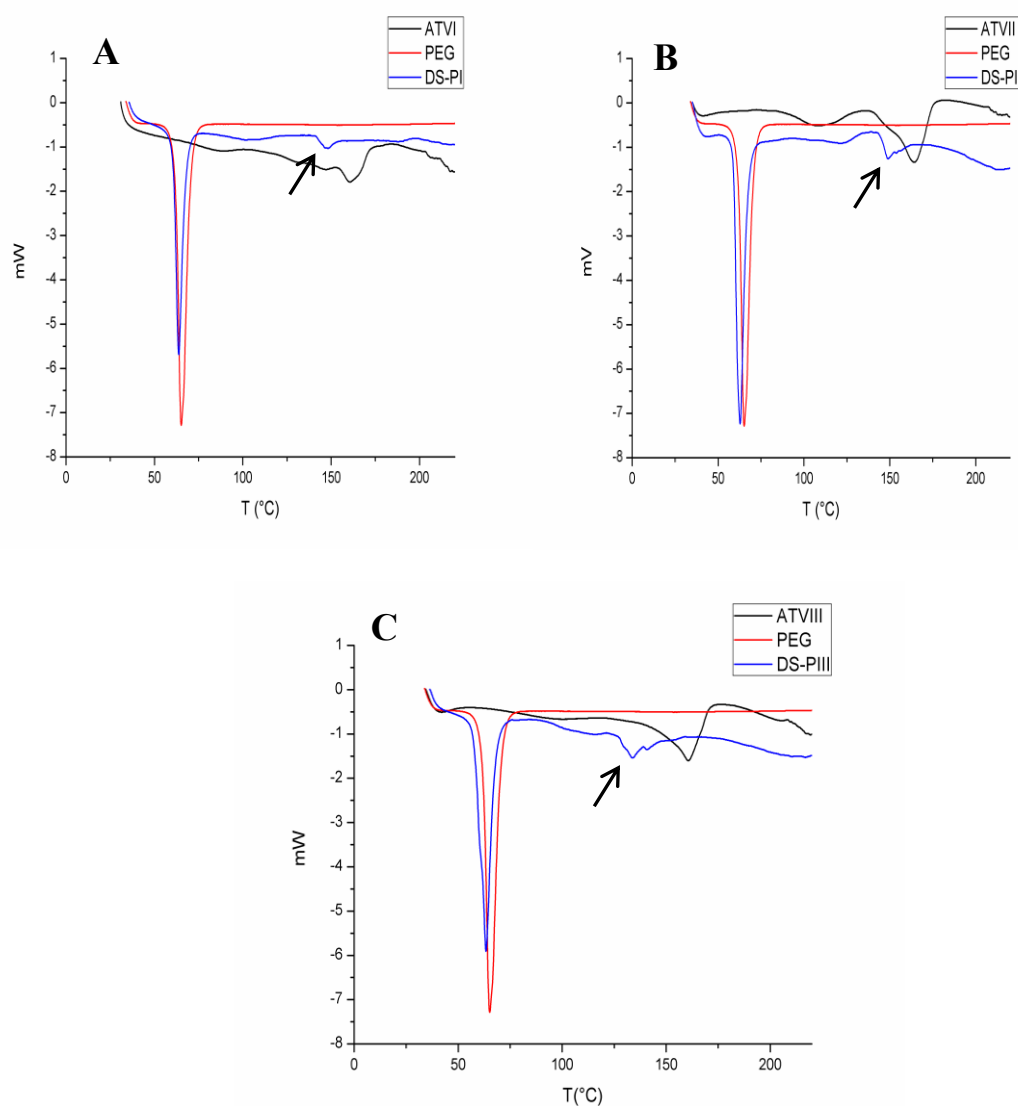
As curvas calorimétricas das DS-P de cada lote são mostradas na Figura 34. Verifica-se que em todas as dispersões sólidas houve um deslocamento do pico de fusão da ATV para valores menores. Este achado possivelmente está relacionado com uma interação física, em nível de partícula, já que não houve interação química entre os componentes conforme discutido no item 7.2.2.2.; e em menor grau à parcial solubilização da ATV pelo PEG que fundiu primeiro ( $T_{\text{pico}}$  de 63°C). Pois, observa-se que além dos componentes apresentarem fusão isoladamente, não houve modificações significativas na energia de fusão do PEG nas dispersões, apresentando variação entálpica de -110, 79 J.g<sup>-1</sup> a -90,25 J.g<sup>-1</sup>, 106,98 J.g<sup>-1</sup> e 99,27 para DS-PI (Figura 34 A), DS-PII (Figura 34 B) e DS-PIII (Figura 34 C), respectivamente. A antecipação da faixa de fusão com redução de entalpia da ATV nas DS-P analisadas pode ser explicada pela recristalização do fármaco no processo de liofilização. Em consonância com esses dados estão os resultados encontrados por Hu et al., (2014) que obtiveram nas curvas DSC a supressão quase total do pico de fusão da ATV, que segundo os autores está correlacionada a solubilização parcial do fármaco no carreador e a modificação cristalina.

É relatada na literatura a solubilização de fármacos em dispersões sólidas usando carreadores de elevado peso molecular (como o PEG), caracterizada pela supressão do pico de

fusão do fármaco, detectados no DSC (OLIVEIRA, YOSHIDO, GOMES, 2011; LE-NGOC VO et al., 2013). Sarma, Sani, Sarma (2012) produziram dispersões da ATV usando PEG e obtiveram supressão do pico do fármaco nas curvas DSC e atribuíram esse evento a solubilidade do fármaco no carreador. Os mesmos achados foram encontrados por Nandi, Pal (2010).

Assim, pode-se concluir que de acordo com os dados obtidos nesse trabalho, o PEG não foi suficiente para solubilizar totalmente a ATV na liofilização, apesar de seu elevado peso molecular.

**Figura 34- Curvas de DSC da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P na razão de 10°C.min<sup>-1</sup> aquecimento**



Observa-se na Tabela 19 que de maneira semelhante ao ocorrido com as DS-L, as DS-P apresentaram diminuição da entalpia de fusão da ATV em todas as amostras. Esse achado possivelmente está correlacionado a solubilização parcial do fármaco no carreador e a interação física entre os componentes, conforme discutido no 7.2.2.3.

**Tabela 19- Faixa e entalpia de fusão da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P na razão de 10°C.min<sup>-1</sup>**

| <b>Amostras</b> | <b>° T onset</b> | <b>° T pico</b> | <b>° T endset</b> | <b>Energia (J.g<sup>-1</sup>)</b> |
|-----------------|------------------|-----------------|-------------------|-----------------------------------|
| <b>ATVI</b>     | 155,76           | 160,65          | 170,46            | -14,39                            |
| <b>DS-PI</b>    | 155,23           | <b>148,18</b>   | 151,85            | -4,25                             |
| <b>ATVII</b>    | 154,15           | 164,34          | 174,78            | -56,51                            |
| <b>DS-PII</b>   | 144,90           | <b>148,90</b>   | 151,56            | -5,10                             |
| <b>ATVIII</b>   | 153,39           | 160,67          | 169,81            | -40,10                            |
| <b>DS-PIII</b>  | 145,32           | <b>148,90</b>   | 150,01            | -5,90                             |

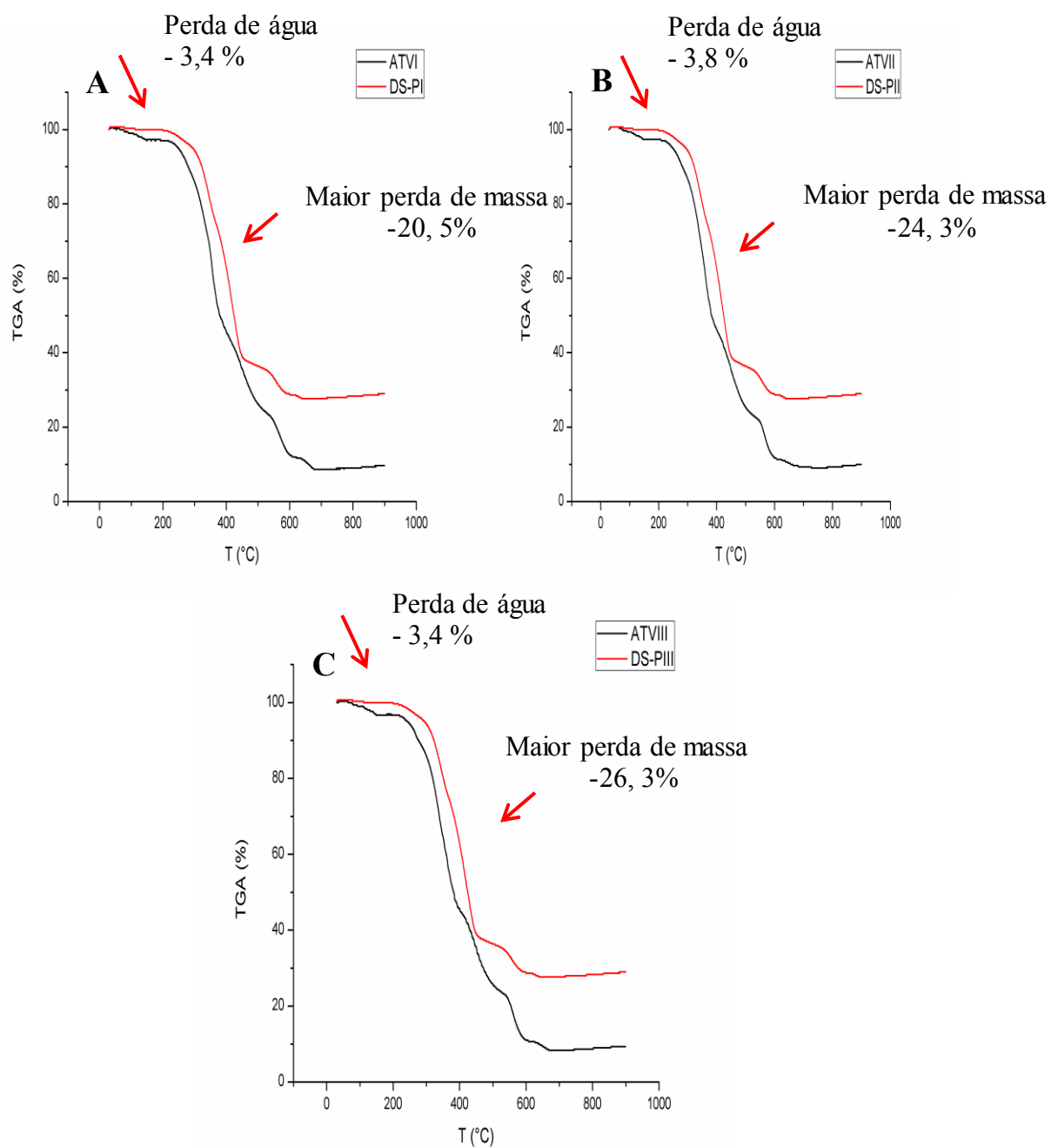
#### 7.2.2.3.2 TG

As curvas termogravimétricas das DS-P dos três lotes de ATV são mostradas na Figura 35. Diferentemente da ATV dos três lotes, que apresentaram 9 etapas de degradação (item 5.2.3.2), todas as DS-P apresentam 6 etapas.

As dispersões mostraram o mesmo perfil de degradação entre elas, indicando reprodutibilidade e maior estabilidade térmica da ATV na presença do carreador. Porém, houve diferenças em todas as etapas de degradação: a perda de água se deu em um único estágio, com perda em torno de 3,5, semelhante aos valores das DS-L; a etapa que apresentou maior perda de massa se deu em faixa maior de temperatura (390 - 450 °C), correspondente a 20%, diferentemente das DS-L e da ATV (do três lotes), em que verifica-se que a perda maior se deu na faixa de 255°C a 374°C (item 7.2.1.3.2) com valor em torno de 31%.

Assim, conclui-se que o PEG presente nas amostras interagiu de maneira positiva, contribuindo para uma maior estabilidade térmica da ATV. Conforme discutido anteriormente, não houve interação química entre o PEG e a ATV, e, portanto, essa interação física se deu por meio da formação de um complexo não covalente, em que o PEG possivelmente envolveu o fármaco.

**Figura 35- Curvas termogravimétricas da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



#### 7.2.2.4 Uniformidade de conteúdo

Os valores dos teores da DS-P de todos os lotes são mostrados na Tabela 20. Verifica-se que todas as amostras apresentaram valores acima de 95%, indicando uma boa uniformidade de conteúdo e reprodutibilidade do método. As dispersões estão dentro de uma faixa de  $\pm 4\%$  da concentração teórica.

**Tabela 20- Valor do teor da ATVI, ATVII e ATVIII e suas respectivas DS-P**

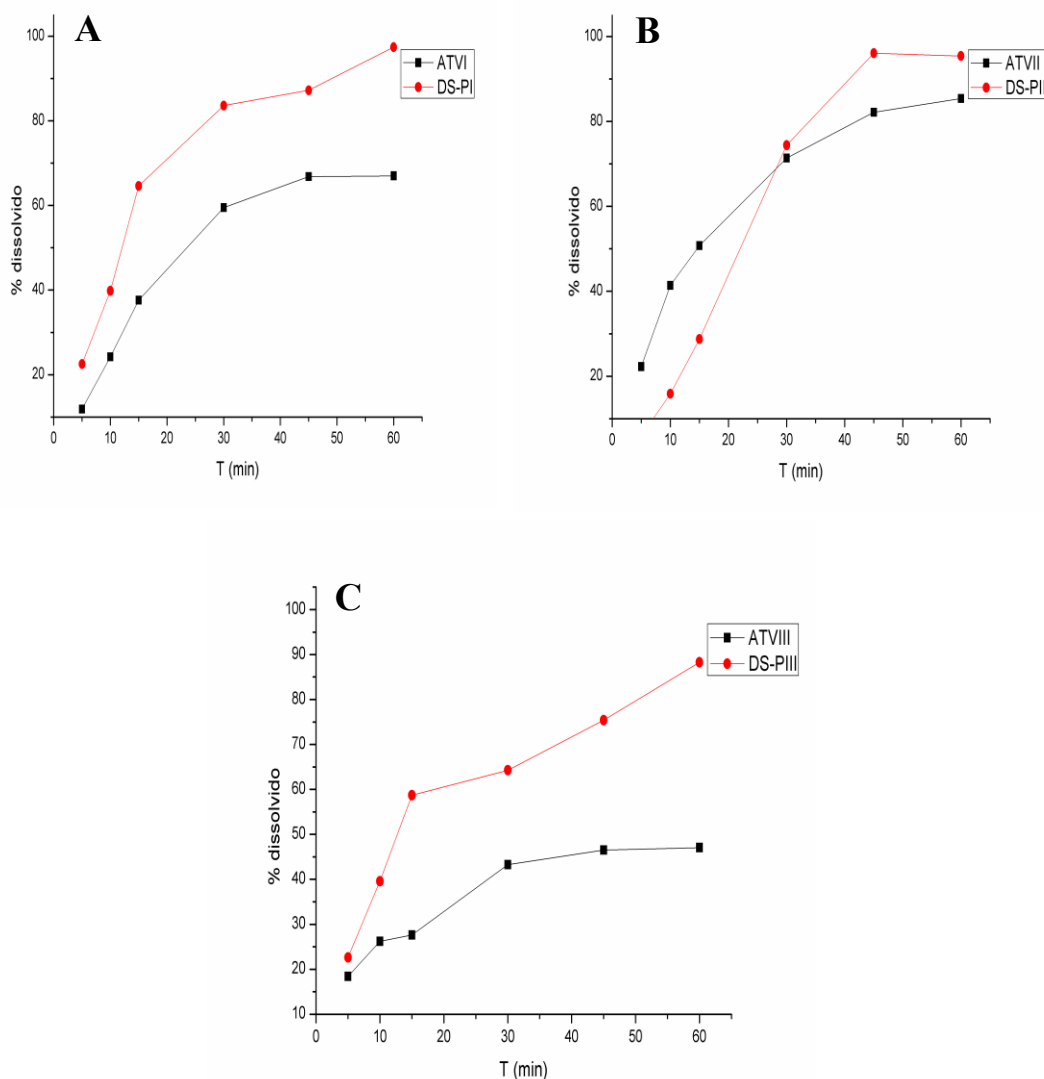
| Amostras | Proporção | Concentração teórica<br>( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) | Concentração Experimental<br>( $\mu\text{g. ml}^{-1}$ ) | Teor (%)      |
|----------|-----------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|---------------|
| DS-PI    | 1:1       | 20                                                 | 19,8                                                    | 99 $\pm$ 0,54 |
| DS-PII   | 1:1       | 20                                                 | 19,4                                                    | 97 $\pm$ 0,59 |
| DS-PIII  | 1:1       | 20                                                 | 19,2                                                    | 96 $\pm$ 0,67 |

#### 7.2.2.5 Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução das DS-P dos respectivos lotes da ATV são mostrados na Figura 36. Observa-se que todas as amostras aumentaram a velocidade e extensão da liberação da ATV de todos os lotes, apresentando ao final de 60 minutos, valores de 97,4%, 95, 4% e 88,3% para a DS-PI (Figura 36 A), DS-PII (Figura 36 B) e DS-PIII (Figura 36 C), respectivamente. Porém, essa liberação ocorreu de forma gradativa, ao contrario do que ocorreu com as DS-L ( ítem 7.2.1.5), em que cocorreu uma liberação de 100% em 15 minutos, em detrimento com DS-P que em 15 minutos liberaram 64% (DS-PI), 28% (DS-PII) e 58% (DS-PIII). No entanto, não se pode dizer que as DS-L são melhores que as DS-P, pois a escolha depende da finalidade do uso, uma vez que as DS-P poderiam ser escolhidas para o desenvolvimento de uma liberação mais lenta.

Esses resultados estão em consonância com os achados na literatura. Rani et al., (2014) produziram dispersões sólida da ATV usando PEG como carreador, e obtiveram liberação lenta, liberando 85% do fármaco em 60 minutos. A liberação total foi alcançada apenas em 240 minutos. Resultados semelhantes foram encontrados por Hu et al., (2014) que obtiveram uma liberação lenta da ATV, apresentando 82% em 60 minutos. Narasaiah et al.,(2010) desenvolveram dispersões que liberaram gradativamente a ATV, apresentando um valor de 64% no tempo máximo de análise (70 minutos).

**Figura 36- Perfil de dissolução da ATVI, ATVII, ATVIII e suas respectivas DS-P**



### 7.2.3 CONCLUSÃO

A técnica de liofilização se mostrou eficiente na obtenção de dispersões sólidas reprodutíveis da ATV, mantendo as mesmas características físico-química entre elas. Não houve diferenças significativas entre as amostras que pudesse alterar o perfil de dissolução. O perfil de liberação imediata das DS-L e o perfil de liberação lenta das DS-P foram mantidos em todas as amostras.

## **CAPÍTULO V**

**Comparação de técnicas para obtenção de dispersões sólidas da atorvastatina cálcica**

## 8. COMPARAÇÃO DE TÉCNICAS PARA OBTENÇÃO DE DISPERSÕES SÓLIDAS DA ATORVASTATINA CÁLCICA

Sabendo que a técnica de *spray drier* correspondente ao método mais utilizado na obtenção de dispersões sólidas, devido o baixo custo, ser rápido, apresentar boa transposição de escala e reprodutibilidade. Esse capítulo se propôs a comparar as amostras DS-L e DS-P obtidas por liofilização e *spray drier* a fim de se compreender os mecanismos físico-químicos envolvidos no aumento da solubilidade da ATV correlacionando às duas técnicas. Ademais, as dispersões obtidas pelas duas técnicas foram submetidas à degradação térmica em estufa de secagem e a busca por produtos de degradação foi conduzida usando o método desenvolvido e validado (capítulo III).

As amostras foram nomeadas em DS-LIII lio (DS da ATVIII usando LSS obtidas por liofilização) e DS-LIII SD (DS da ATVIII usando LSS obtidas por *spray drier*); DS-PIII lio (DS da ATVIII usando PEG obtidas por liofilização), DS-PIII SD (DS da ATVIII usando PEG obtidas por *spray drier*), MF-P (mistura física usando PEG) e MF-L (mistura física usando LSS).

### 8.1 MATERIAIS E MÉTODO

#### 8.1.1 Materiais

Atorvastatina cálcica de três lotes diferentes (ATVI, ATVII, ATVIII respectivamente), foi obtida a partir da Gemini e Fragon Indústria de Insumos farmacêuticos LTDA. Os seguintes itens foram utilizados como carreadores (CA): Lauril sulfato de sódio - LSS (Mapric), polietilenoglicol (PEG) 6000. Como agente secante foi utilizado o aerosil 200 – AER (Henrifarma produtos químicos e farmacêuticos). Os solventes utilizados foram álcool etílico (Neon) e água destilada.

### **8.1.2 Métodos**

#### **8.1.2.1 Preparação das Dispersões Sólidas**

##### **8.1.2.1.1 Liofilização**

A obtenção das DS-L e DS-P com ATVIII foi conduzidas sob as mesmas condições citadas no item 4.1.2.1.

##### **8.1.2.1.2 *Spray Drying***

Foram preparadas DS-P e DS-L da ATVIII utilizando um *spray dryer* escala laboratorial marca LabPlant , modelo SD basic, com temperatura de entrada e de saída 160°C e fluxo de 6 - 8 mL/min.

Inicialmente foi preparada uma solução hidroalcolica (etanol:água 50%), sendo o carreador solubilizado em 200ml dessa solução, seguido da adição da ATV e do AER numa proporção de 10% da solução (8g da ATVIII /CA e 4g AER). Após a obtenção das soluções, as amostras foram submetidas à secagem.

#### **8.1.2.2 Análise de espectroscopia no infravermelho (FT-IR)**

Os espectros FT-IR obtidos da ATVIII e suas dispersões foram obtidos conforme item 5.1.2.1, já descrito.

#### **8.1.2.3 Difração de Raios-X do pó (PDRX)**

Os padrões de difração obtidos da ATVIII e suas dispersões foram obtidos conforme item 4.1.2.2, já descrito.

#### **8.1.2.4 Análise Calorimétrica**

##### **8.1.2.4.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)**

As análises da ATVIII e suas dispersões foram feitas do mesmo modo que já relatado no item 5.1.2.3.1, porém somente na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ .

##### **8.1.2.4.2 Termogravimetria (TG)**

As curvas da ATVIII e suas dispersões foram obtidas conforme já descrito no item 5.1.2.3.2.

#### **8.1.2.5 Uniformidade de Conteúdo**

A uniformidade de conteúdo das dispersões sólidas foi obtida a partir do doseamento das amostras seguindo a mesma metodologia já descrita no item 4.1.2.4.

#### **8.1.2.6 Perfil de Dissolução**

O perfil de dissolução da ATVIII e suas dispersões sólidas foi realizado utilizando equipamento, material e metodologia já descritos no item 4.2.2.6.

#### **8.1.2.7 Degradação térmica**

As amostras ATVIII, DS-PIII SD, DS-PIII lio, DS-LIII SD, DS-LIII lio, MF-LIII, MF-PIII foram colocadas em uma estufa de secagem a  $60^{\circ}$ , sendo armazenadas nesta condição durante todo o estudo. As amostras foram obtidas pesando-se 25 mg em triplicata e transferidas para balão de 50 ml, as quais foram solubilizadas com o diluente, seguida de sonicação até completa solubilização. Obtendo-se soluções-mãe na concentração de  $0,5 \text{ mg}.\text{mL}^{-1}$ . Ao término destas, foram coletadas alíquotas de 400  $\mu\text{l}$  para balão de 10 ml (completando-os com o diluente) a fim de se obter concentração final de  $20 \mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ .

Estes procedimentos foram realizados em cada tempo de análise (0 e 24h).

## 8.2 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 8.2.1 PDRX

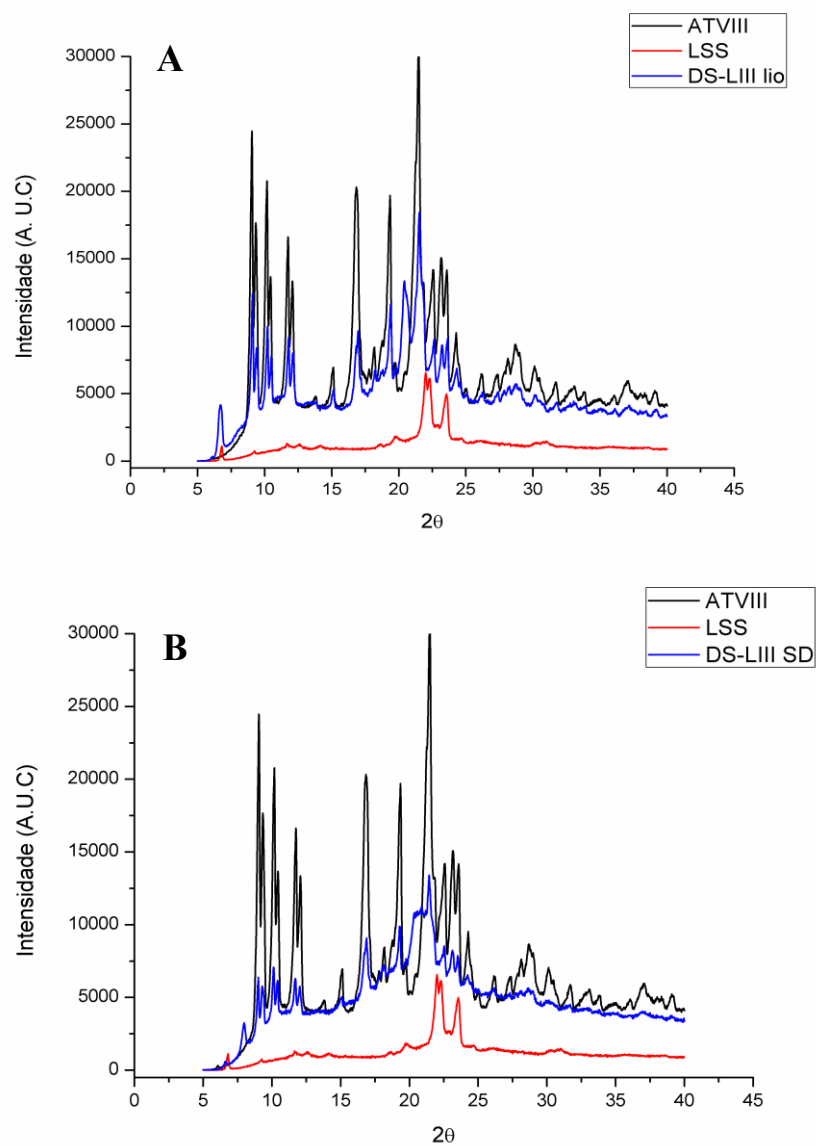
Os difratogramas da ATVIII e suas DS-LIII obtidas por liofilização e *spray drier* são mostrados na Figura 37 e 38. A ATVIII sozinha apresentou picos intensos e definidos em  $2\theta$  com valores de 8,94; 9,23; 10,06; 16,82; 19,25, 21,38 e 23,10° refletindo sua cristalinidade (item 5.2.1). Tanto a DS-LIII SD quanto a DS-PIII SD apresentaram padrões de difração semelhante à ATVIII, diferindo na intensidade dos picos, sendo sugestivo de uma amorfização.

Conforme discutido no item 7.2.1.1 a ATV na DS-LIII lio (Figura 37 A) se apresenta em maior grau na forma cristalina após a liofilização. Resultados opostos foram encontrados para a DS-LIII SD (Figura 37 B), em que observa-se uma maior amorfização da ATV evidenciada por alargamento e redução da intensidade principalmente dos picos 21,38 e 23,10°. O mesmo achado foi encontrado para a DS-PIII lio (Figura 38 A) e DS-PIII SD (Figura 38 B), em que verifica-se uma maior contribuição amorfa da ATV na DS-PIII SD.

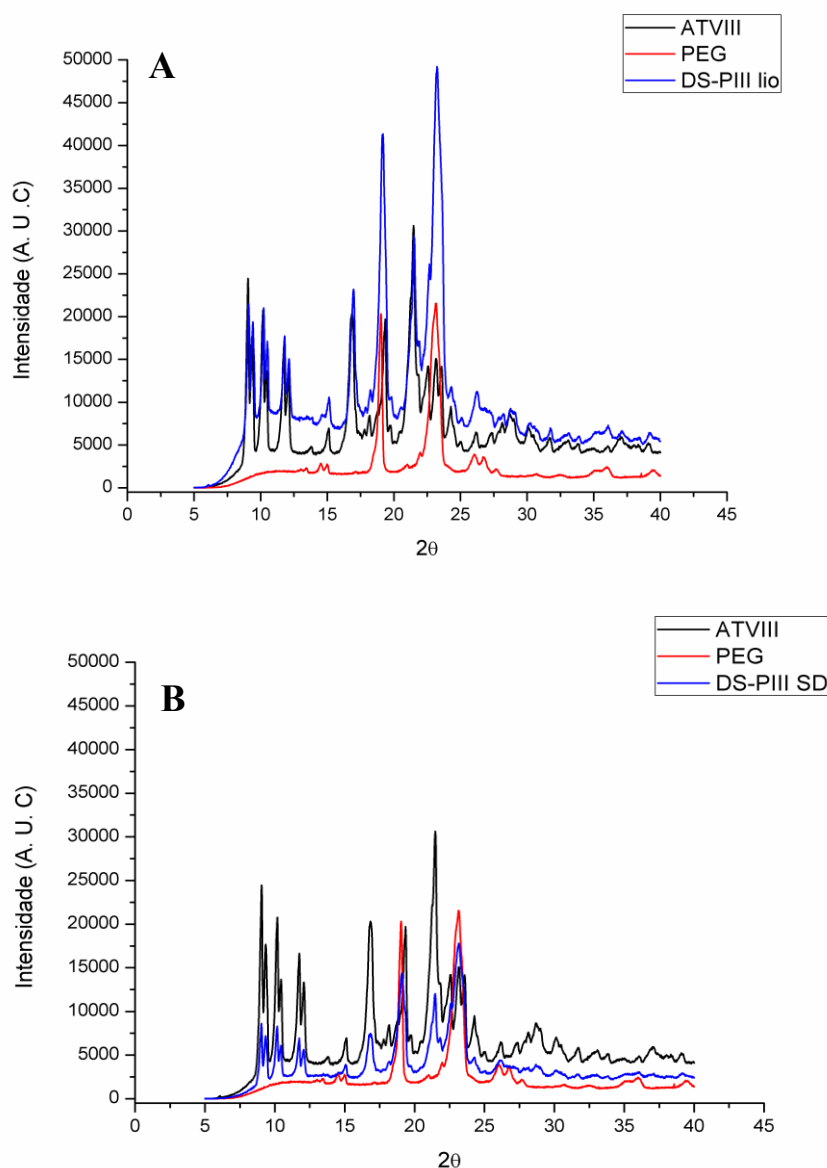
Paudel et al., (2013) relata em seu trabalho que o estado sólido final do fármaco após o processo de *spray drier*, depende em maior grau da sua natureza química, podendo resultar na forma amorfa, misturas parcialmente cristalina, cristais com imperfeições ou formas metaestáveis. A secagem por *spray drier* da indometacina e itraconazol gera formas completamente amorfas com estabilidade considerável, enquanto o naproxeno mostra quase nenhuma amorfização mediante a secagem por *spray drier* (MAHLIN et al., 2011). Segundo Baird et al., (2012), a capacidade de uma substância cristalina se converter na sua forma amorfa depende da sua inerente habilidade de formação de vidro (do inglês *glass forming ability*) a partir da sua estrutura molecular e, em menor medida, do método de obtenção.

Sonje et al., (2011) avaliaram a *glass forming ability* da ATV por meio da formação de sais amorfos usando o monovalente  $\text{Na}^+$  e os divalentes  $\text{Ca}^+$  e  $\text{Mg}^+$  por meio do *spray drier*. Segundo os autores, só foi possível obter formas completamente amorfas usando apenas o divalente  $\text{Ca}^+$  devido a ATV não possuir boa *glass forming ability*. Assim, pode-se sugerir que a presença da contribuição cristalina da ATV após a secagem por *spray drier* esteja relacionada com a sua fraca habilidade de formar sólidos amorfos estáveis.

**Figura 37- Difratomogramas da ATVIII e suas DS-LIII obtidas por liofilização e *spray drier***



**Figura 38- Difrátogramas da ATVIII e suas DS-PIII obtidas por liofilização e *spray drier***



### 8.2.2 FTIR

Medições no FTIR foram realizadas para obter informações sobre as possíveis alterações no nível molecular entre a ATVIII e as DS-PIII e DS-LIII obtidas por meio das duas técnicas (Figura 39). As bandas de absorção da ATV no espectro de FTIR foram avaliadas na região O-H ( $3650-3200\text{ cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^2$  ( $3050-3010\text{ cm}^{-1}$ ), C-H  $\text{sp}^3$  ( $3300-2750\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1800-1600\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1600-1400\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1300-1000\text{ cm}^{-1}$ ) e C-F ( $1400-1000\text{ cm}^{-1}$ ).

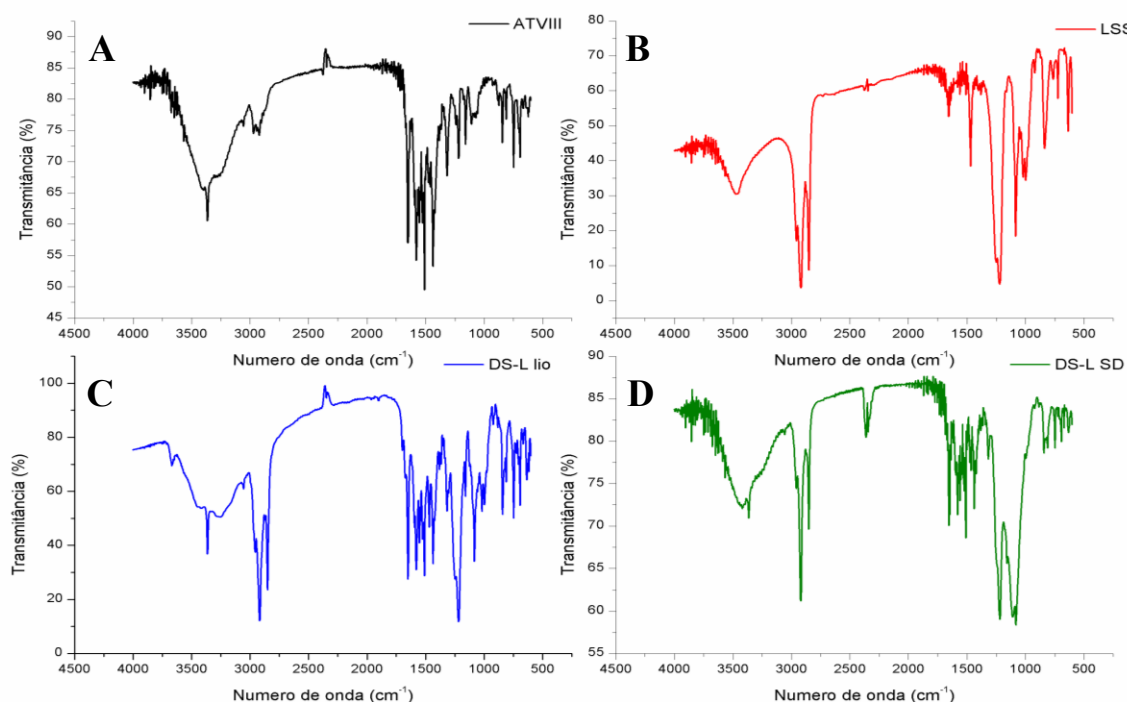
De acordo com as Figura 39 e 40 e Tabela 21, verifica-se que não houve modificações nas bandas características da ATV em nenhuma amostra, não evidenciando por meio destas técnicas, interações física e química entre os componentes. Ademais, as dispersões sólidas apresentaram valores de número de onda semelhantes e ausência de alargamento e deslocamento de bandas na região da O-H e da C=O, indicando semelhança entre as DS-PIII e DS-LIII obtidas pelas duas técnicas de obtenção (liofilização e *spray drier*). As bandas da ligação C-F na DS-LIII SD (Figura 39 D) não puderam ser avaliadas devido à formação de ombros no pico ao se conjugar com o pico da banda S-O que se tornou intenso como resultados das ligações S-O presentes no LSS e no AER. Assim como no item 7.2.2.2, as bandas C-F nas DS-PIII (Figura 40 C e D) obtidas pelas duas técnicas não puderam ser avaliadas devido à sobreposição dos picos C-O.

A técnica de *spray drier* é uma das melhores técnicas utilizadas no incremento de solubilidade de fármacos pouco solúveis, pois, é possível obter partículas na escala micro e nano, bem como amorfos de fármacos cristalinos (PAUDEL., et al, 2013). Ha et al., (2014) produziram dispersões sólidas da ATV por meio do *spray drier* e obtiveram modificações nas bandas características do fármaco, apresentando picos característico do carreador (soluplus®) e de amorfos da ATV (picos menos intensos e ausência de algumas bandas, como a OH). Segundo os autores, essa amorfização se correlaciona com a natureza amorfa do Soluplus® e com a técnica de obtenção.

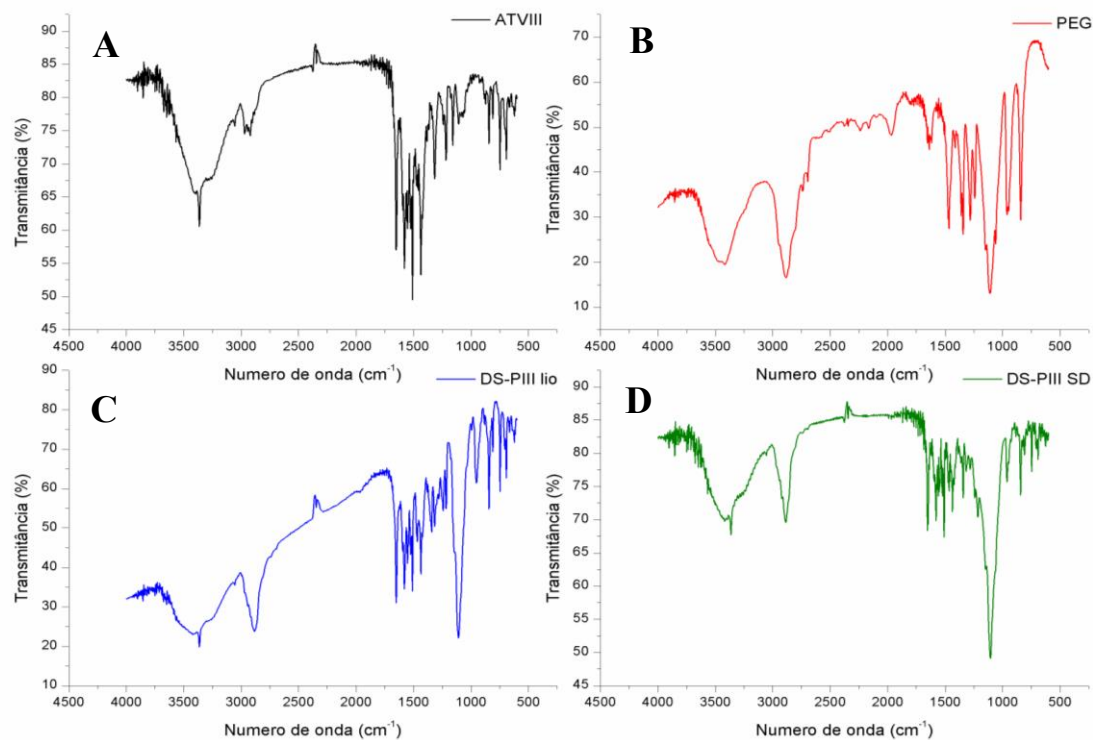
Palanisamy, James, Khanam (2016) produziram inclusões da ATV usando HP $\beta$  - ciclodextrina e obtiveram um sistema amorfo, caracterizado pela ausência das bandas OH no espectro FTIR. Esses dados estão em consonância com os dados de Kim et al (2008) que obtiveram amorfos da ATV caracterizados por diferenças significativa nas transições vibracionais observadas e nas bandas no espectro da forma cristalina.

Correlacionando esses achados com os obtidos nesse trabalho, verifica-se que no processo de nebulização existem variáveis que podem influenciar nas características físicas das dispersões obtidas, uma vez que a ATV em todas as amostras (Figura 39 D e Figura 40 D) obtidas por *spray drier* apresentaram picos característicos da forma cristalina (item 7.2.1.2), embora tenha uma elevada contribuição amorfa (item 8.2.1).

### 39- Espectros de infravermelho da ATVIII e suas DS-LIII obtidas por liofilização e *spray drier*



**Figura 40- Espectros de infravermelho da ATVIII e suas respectivas DS-P obtidas por liofilização e *spray drier***



**Tabela 21- Dados dos espectros do infravermelho da ATVIII e suas DS-L e DS-P obtidas por liofilização e *spray drier***

| <b>Bandas<br/>(cm<sup>-1</sup>)</b> | <b>ATVIII</b> | <b>DS-LIII lio</b> | <b>DS-LIII SD</b> | <b>DS-PIII lio</b> | <b>DS-PIII SD</b> |
|-------------------------------------|---------------|--------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| <b>O-H</b>                          | <b>3370</b>   | <b>3370</b>        | 3370              | <b>3364</b>        | <b>3370</b>       |
| <b>C-H sp<sup>2</sup></b>           | 3058          | 3058               | 3058              | 3058               | 3052              |
| <b>C-H sp<sup>3</sup></b>           | 2941          | 2925               | 2918              | 2878               | 2896              |
| <b>C=O</b>                          | <b>1651</b>   | <b>1651</b>        | 1647              | <b>1650</b>        | <b>1650</b>       |
| <b>C=C</b>                          | 1600-1400     | 1578-1431          | 1592-1422         | 1575-1434          | 1575-1437         |
| <b>C-O</b>                          | 1318          | 1214               | 1217              | 1110               | 1110              |
| <b>C-F</b>                          | 1159          | 1159               | -                 | -                  | -                 |

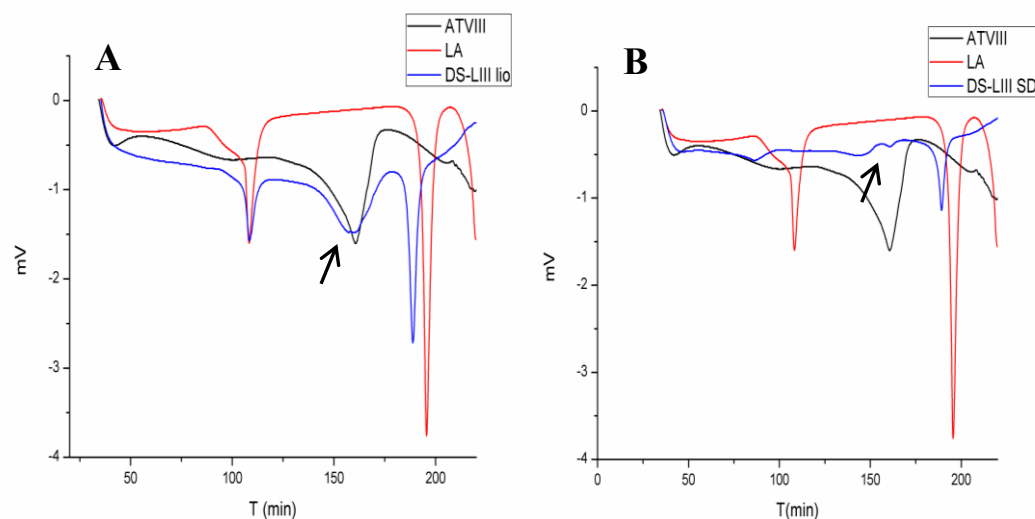
### 8.2.3 DSC

Verifica-se nas Figuras 41 e 42 que houve modificações nas dispersões sólidas obtidas pelas duas técnicas, diferentemente dos achados do item 8.2.2 em que não se encontram alterações a nível molecular.

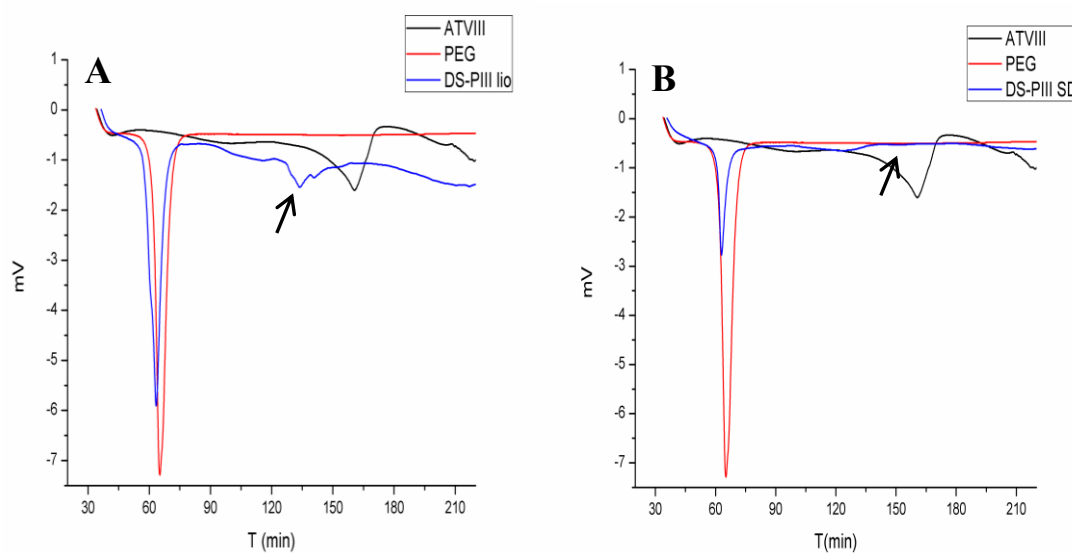
Conforme discutido no item 7.2.1.3.1, não houve interação física entre os componentes das DS-LIII obtidas por liofilização, apresentando todos os eventos térmicos dos constituintes isolados. No entanto, a DS-LIII SD (Figura 41 B) apresentou interação física entre os componentes e diferenças no perfil térmico em relação à DS-LIII lio (Figura 41 A): observa-se dois eventos sucessivos endotérmicos na faixa de fusão da ATV com redução de energia de  $-40,10 \text{ J.g}^{-1}$  a  $-1,18 \text{ J.g}^{-1}$ , caracterizando uma amorfização; antecipação da fusão do LSS (de  $195,03^\circ\text{C}$  para  $189,28^\circ\text{C}$ ) acompanhada de redução da energia de  $-43,76 \text{ J.g}^{-1}$  a  $-17,67 \text{ J.g}^{-1}$  ao contrario da DS-LIII lio que apesar de apresentar antecipação da fusão do LSS (de  $195,03^\circ\text{C}$  a  $188,83^\circ\text{C}$ ), a variação de energia não foi tão significativa ( $-43,76 \text{ J.g}^{-1}$  a  $-30,65 \text{ J.g}^{-1}$ ) (Tabela 21).

De maneira semelhante, a DS-PIII SD também apresentou interação física entre seus componentes (Figura 42 B), caracterizada pela supressão da fusão da ATV e pequeno deslocamento da fusão do PEG com significativa variação de energia de  $123,71 \text{ J.g}^{-1}$  a  $51,84 \text{ J.g}^{-1}$  (Tabela 22). A supressão da fusão da ATV possivelmente está relacionada à solubilização do fármaco no PEG e a amorfização da ATV corroborando com os achados da literatura (SHARMA; SANI; SHARMA, 2012, HU et al., 2014) e com os dados do PDRX (item 8.2.1).

**Figura 41- Curvas de DSC da ATVIII e suas respectivas DS-LIII obtidas por liofilização e *spray drier* na razão  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$  aquecimento**



**Figura 42- Curvas de DSC da ATVIII e suas respectivas DS-PIII obtidas por liofilização e *spray drier* na razão de aquecimento  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



**Tabela 22- Faixa e entalpia de fusão da ATVIII e suas DS-LIII e DS-PIII obtidas por liofilização e *spray drier* na razão de aquecimento 10°C.min<sup>-1</sup>**

| <b>Amostras</b>    | <b>° T onset</b> | <b>° T pico</b> | <b>° T endset</b> | <b>Energia<br/>(J.g<sup>-1</sup>)</b> |
|--------------------|------------------|-----------------|-------------------|---------------------------------------|
| <b>ATVIII</b>      | 153,39           | 160,67          | 169,81            | -40,10                                |
| <b>DS-LIII lio</b> | 159,71           | 159,71          | 170,03            | -19,51                                |
| <b>DS-LIII SD</b>  | -                | -               | -                 | -1,18                                 |
| <b>DS-PIII lio</b> | 145,32           | 148,90          | 150,01            | -5,90                                 |
| <b>DS-PIII SD</b>  | -                | -               | -                 | -                                     |

### 8.2.4 TG

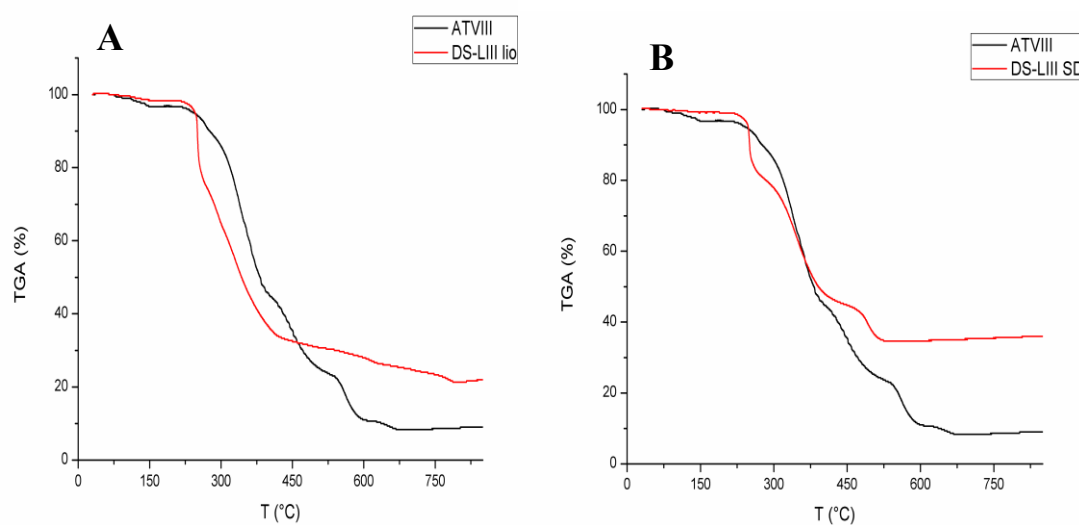
As curvas termogravimétricas das DS-LIII e DS-PIII obtidas pelas duas técnicas são mostradas na Figura 43 e 44 e Tabela 23.

A DS-LIII lio (Figura 43 A) apresentou o mesmo perfil de degradação da ATVIII, diferindo apenas no número de etapas, apresentando uma etapa a menos. (item 7.2.1.3.2). Resultados diferentes são encontrados por DS-LIII SD (Figura 43 B), que apresentaram sete etapas de degradação e o estágio de maior perda de massa (4ª etapa) se deu em faixa de temperatura próximo ao ATVIII e com valor inferior (21,4%) comparado a DS-LIII lio (Tabela 23). Ademais, a DS-LIII SD apresentou perda de água em uma única etapa diferentemente da DS-LIII lio, em que a perda se deu em duas etapas.

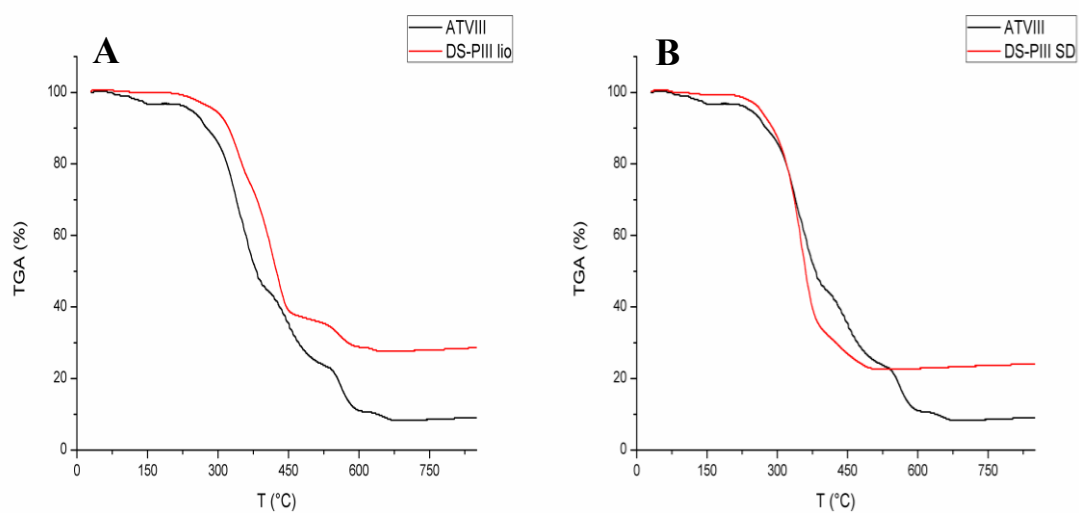
Conforme discutido no item 7.2.2.3.2, o PEG interferiu nas DS-P contribuindo para uma maior estabilidade da ATV. A DS-PIII lio (Figura 44 A) apresentou seis etapas de degradação, tendo a etapa de maior perda de massa ocorrendo em faixa maior de temperatura (390 - 420 °C) e com valor inferior (26,1%) ao da ATVIII. Resultados semelhantes foram encontrados para a DS-PIII SD (Figura 44 B) a cerca da estabilidade do fármaco, porém, a perda de massa se deu em 5 etapas, apresentando o estágio de maior perda com valor inferior (20,8%) ao encontrado para a DS-PIII lio.

Esses achados corroboram com os dados anteriormente discutidos, sendo mais um indicativo das diferenças acerca das características físicas das DS-LIII e DS-PIII obtidas pelas duas técnicas.

**Figura 43- Curvas termogravimétricas da ATVIII e suas respectivas DS-L obtidas por liofilização e *spray drier* na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



**Figura 44- Curvas termogravimétricas da ATVIII e suas respectivas DS-P obtidas por liofilização e *spray drier* na razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$**



**Tabela 23- Dados termogravimétricos da 1ª, 2ª e 4ª etapa da ATVIII e suas respectivas DS-LIII e DS-PIII na razão de aquecimento de 10°C.min<sup>-1</sup>**

| <b>Amostras</b>    | <b>Ti<br/>(°C)</b> | <b>Tf<br/>(°C)</b> | <b>Perda de massa<br/>(%)</b> |
|--------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------|
| <b>ATVIII</b>      |                    |                    |                               |
| 1ª e 2ª etapa      | 50                 | 144                | 4,4                           |
| 4ª etapa           | 312                | 353                | 31,1                          |
| <b>DS-LIII lio</b> |                    |                    |                               |
| 1ª e 2ª etapa      | 46                 | 145                | 3,3                           |
| 4ª etapa           | 262                | 349                | 31,9                          |
| <b>DS-LIII SD</b>  |                    |                    |                               |
| 1ª etapa           | 35                 | 150                | 3,4                           |
| 4ª etapa           | <b>317</b>         | <b>379</b>         | <b>21,4</b>                   |
| <b>DS-PIII lio</b> |                    |                    |                               |
| 1ª etapa           | 46                 | 144                | 3,4                           |
| 4ª etapa           | 390                | 420                | <b>26,1</b>                   |
| <b>DS-PIII SD</b>  |                    |                    |                               |
| 1ª etapa           | 37                 | 150                | 3,8                           |
| 4ª etapa           | 308                | 344                | <b>20,8</b>                   |

### **8.2.5 Uniformidade de conteúdo**

Observa-se na Tabela 24 que todas as amostras apresentaram valores de teor acima de 90%, apresentando uma boa uniformidade entre os componentes. Ademais, verifica-se que as dispersões estão dentro de uma faixa de  $\pm 5\%$  da concentração teórica, indicando que as técnicas não apresentaram diferenças em relação à homogeneização das amostras.

**Tabela 24: Valor do teor da ATVIII e suas respectivas DS-P**

| <b>Amostras</b>    | <b>Proporção</b> | <b>Concentração<br/>teórica<br/>(<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</b> | <b>Concentração<br/>experimental<br/>(<math>\mu\text{g. ml}^{-1}</math>)</b> | <b>Teor (%)</b> |
|--------------------|------------------|-------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-----------------|
| <b>DS-LIII lio</b> | 1:1              | 20                                                                      | 19                                                                           | 95 $\pm$ 0,67   |
| <b>DS-LIII SD</b>  | 1:1              | 20                                                                      | 19,4                                                                         | 97 $\pm$ 0,59   |
| <b>DS-PIII lio</b> | 1:1              | 20                                                                      | 19                                                                           | 95 $\pm$ 0,97   |
| <b>DS-PIII SD</b>  | 1:1              | 20                                                                      | 19,2                                                                         | 96 $\pm$ 0,67   |

### 8.2.6 Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução das DS-LIII e da DS-PIII obtidas pelas duas técnicas são mostrados na Figura 45 e 46.

Os perfis de dissolução de DS-LIII lio (Figura 45 A) e DS-LIII SD (Figura 45 B) mostraram semelhanças, apresentando liberação de 102 e 99% em 15 minutos, caracterizando uma liberação imediata do tipo muito rápida (BRASIL, 2010). Ao final dos 60 minutos a liberação foi de 106 e 109% respectivamente.

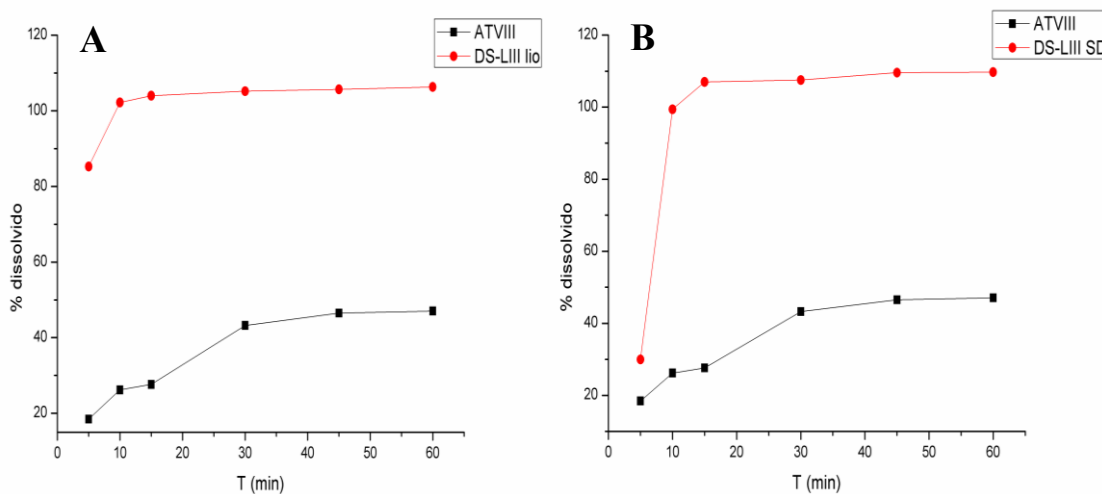
De acordo com a RDC nº 31 (BRASIL, 2010), uma liberação é dita imediata quando libera 75% do fármaco em até 45 minutos. Ela se divide em liberação rápida e muito rápida. Na liberação rápida, no mínimo 85% do fármaco é liberado até 30 minutos e na muito rápida, a liberação de no mínimo 85% se dá até 15 minutos.

Diferenças significativas são observadas para as DS-PIII, em que verifica-se um incremento maior de solubilidade na DS-PIII SD (Figura 46 B), apresentando em 30 minutos uma liberação de 106% em detrimento da DS-PIII lio (Figura 46 A) que apresentou 64% no mesmo intervalo de tempo. Ao final dos 60 minutos a DS-PIII lio liberou apenas 88% ao contrário da DS-PIII SD com 109%. A dissolução da DS-PIII SD assim como das DS-LIII lio e DS-LIII SD correspondente a uma liberação imediata do tipo muito rápida, pois mostrou uma liberação em 15 minutos de 95%, diferentemente da DS-PIII lio que apresentou uma liberação lenta com 59% em 15 minutos.

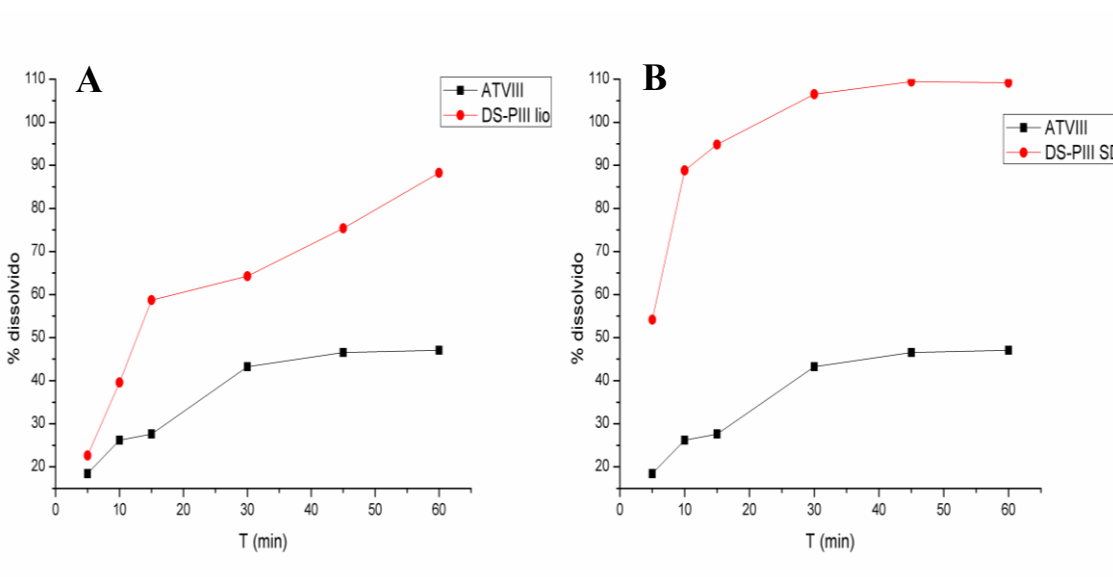
Soulairol et al.,(2014) produziram dispersões sólidas de nifedipino usando PEG como carreador por meio do *spray drier* e obtiveram liberação imediata do fármaco, apresentando perfil de dissolução semelhante aos encontrados nesse trabalho para a DS-PIII SD. Esses dados convergem com os dados de Kim et al., (2008) que produziram amorfos da ATV por meio do *spray drier* e obtiveram uma liberação imediata.

Fong, Ibisogly, Bauer-Brandi (2015) produziram dispersões sólidas do celecoxibe usando lipídeos como carreador por meio do *spray drier* e da liofilização e obtiveram melhores desempenhos com as amostras obtidas por *spray drier*. Segundo os autores, esses achados são resultados da solubilidade do fármaco no carreador e a contribuição amorfa após o processo de secagem corroborando com os dados desse trabalho.

**Figura 45- Perfil de dissolução da ATVIII e suas respectivas DS-LIII**



**Figura 46- Perfil de dissolução ATVIII e suas respectivas DS-PIII**



### 8.2.7 Estabilidade térmica

Foi realizada degradação térmica da ATVIII, MF-LIII, bem como as DS-LIII lio, DS-LIII SD, DS-PIII lio e DS-PIII SD a fim de verificar a estabilidade da ATV frente a condições térmicas e comparar as duas técnicas frente a esse parâmetro (Tabela 25).

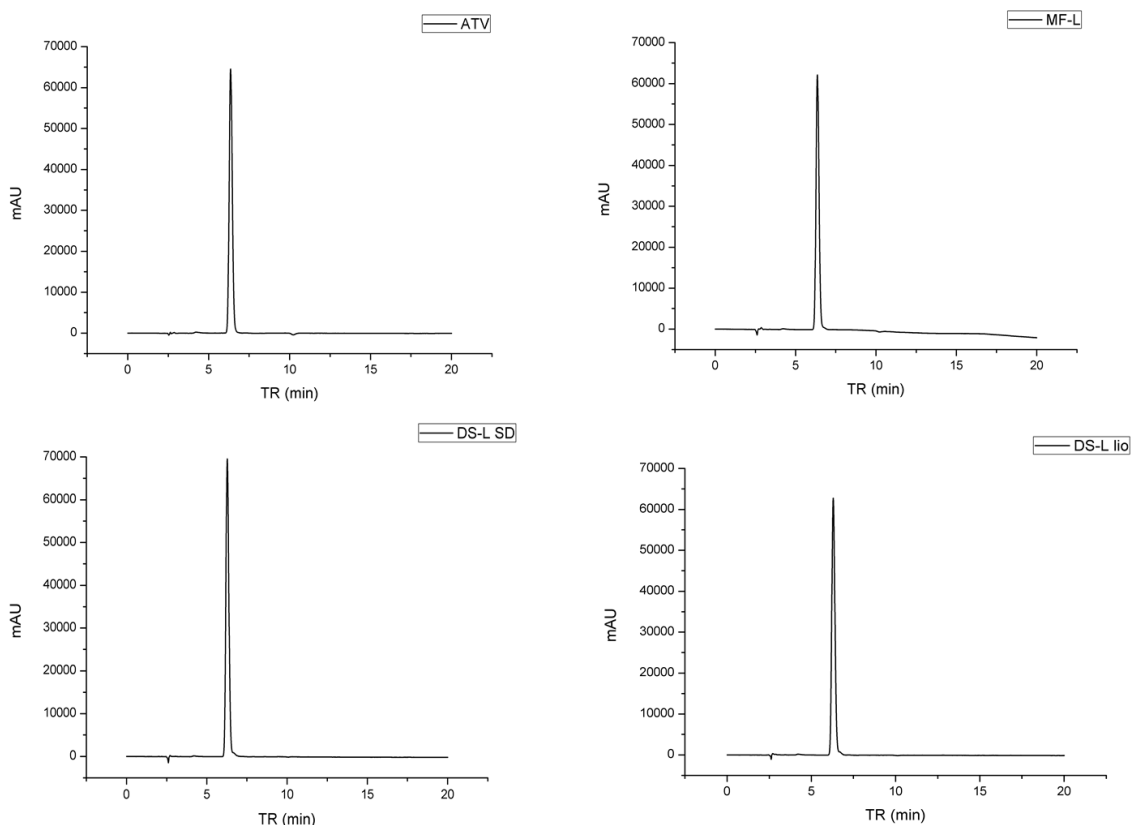
Observa-se na Tabela 25 que não houve diminuição do teor da ATV presente em nenhuma das amostras, exceto a DS-LIII lio que apresentou uma degradação de aproximadamente 3%. Porém, essa degradação não é significativa (valor inferior a 10%) e

possivelmente está relacionada com erros analíticos ou até mesmo produtos de degradação não detectada nas condições da metodologia desenvolvida, uma vez, que esse decaimento não é acompanhado da presença de picos de degradação, como mostra a Figura 47.

**Tabela 25 - Degradação térmica da ATVIII, MF-LIII, DS-LIII lio e DS-LIII SD**

| Tempo<br>(h) | ATV         |             | MF-L        |             | DS-L SD     |             | DS-L lio      |             |
|--------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|
|              | Teor<br>(%) | Deg.<br>(%) | Teor<br>(%) | Deg.<br>(%) | Teor<br>(%) | Deg.<br>(%) | Teor<br>(%)   | Deg.<br>(%) |
| <b>O</b>     | 103,115     | -3,115      | 99,398      | 0,602       | 103,579     | -3,579      | 100,039       | -0,039      |
| <b>24</b>    | 103,339     | -3,339      | 98,844      | 1,156       | 104,880     | -4,880      | <b>97,017</b> | 2,983       |

**Figura 47 - Cromatogramas da estabilidade térmica da ATVIII, MF-LIII, DS-LIII lio e DS-LIII SD**



De modo semelhante às DS-LIII SD e DS-LIII lio, as amostras DS-PIII SD e DS-PIII lio obtidas pelas duas técnicas de obtenção mantiveram-se estáveis nas condições testadas, conforme Tabela 26.

**Tabela 26- Degradação térmica ATVIII, MF-PIII, DS-PIII lio e DS-PIII SD**

| <b>Tempo<br/>(h)</b> | <b>ATV</b>          |                     | <b>MF-P</b>         |                     | <b>DS-P SD</b>      |                     | <b>DS-P lio</b>     |                     |
|----------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|                      | <b>Teor<br/>(%)</b> | <b>Deg.<br/>(%)</b> | <b>Teor<br/>(%)</b> | <b>Deg.<br/>(%)</b> | <b>Teor<br/>(%)</b> | <b>Deg.<br/>(%)</b> | <b>Teor<br/>(%)</b> | <b>Deg.<br/>(%)</b> |
| <b>0</b>             | 100,1148            | -0,1148             | 99,5976             | 0,4024              | 102,5795            | -2,5795             | 100,039             | -0,039              |
| <b>24</b>            | 101,339             | -1,339              | 99,8938             | 0,1062              | 103,88              | -3,88               | 100,0174            | -0,0174             |

Todas as amostras mantiveram-se estáveis nas condições testadas, não apresentando produtos de degradação. Esses resultados corroboram com os estudos de Chaudhar, Patel (2007) e Kadava, Vora (2008), que ao submeter a ATV à estresse térmico não obtiveram produtos de degradação, apesar do uso de condições mais extremas (80°C).

Verificou-se que a presença do carreador não modificou as características térmicas do fármaco, bem como as dispersões obtidas pelas duas técnicas. Dessa forma, ambas as técnicas são capazes de obter dispersões sólidas solúveis com PEG e LSS e estáveis sob as condições testadas. Esses resultados já eram esperados, tendo em vista, a discussão dos resultados acerca das análises termogravimétricas (item 8.2.4).

### 8.3 CONCLUSÃO

De acordo com os dados, as DS-LIII lio, DS-LIII SD, DS-PIII lio e DS-PIII SD apesar de não apresentarem diferenças em nível molecular, visualizou-se diferenças significativas em nível de partícula. E essas diferenças refletiram no perfil de dissolução das amostras que embora todas tenham incrementado a solubilidade da ATVIII, revelaram diferenças consideráveis, em maior grau a DS-PIII SD.

Ambas as técnicas, liofilização e secagem por *spray drier* são capazes de obter dispersões sólidas da ATV solúveis e estáveis nas condições testadas. Não houve interferência dos carreadores utilizados (PEG e LSS) na estabilidade das amostras, ao contrário, o PEG conferiu uma estabilidade maior a ATV.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS**

## 9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

Com a execução desse trabalho percebe-se que é um grande desafio estabelecer correlações entre os parâmetros biofarmacêuticos com os dados obtidos pelas principais ferramentas analíticas usadas na caracterização de fármacos no estado sólido com alta variabilidade das características físicas, no que, tange estabelecer critérios confiáveis de correlação que nos forneça dados relativos à biodisponibilidade.

Apesar das particularidades de cada lote da ATV e de suas diferenças físicas visualizadas por meio das técnicas calorimétricas e dissolução, ao serem submetidos ao modelo proposto foi possível transformar desiguais em iguais, ou seja, produzir dispersões sólidas da ATV por meio da liofilização capazes de incrementarem consideravelmente a solubilidade do fármaco mantendo o mesmo perfil entre elas.

A escolha da técnica de obtenção influenciou diretamente nos mecanismos físico-químicos envolvidos na solubilidade da ATV, em que foi possível obter desempenhos de dissolução diferenciados para as amostras obtidas pelas diferentes técnicas. As ferramentas analíticas utilizadas foram elucidativas na detecção dessas diferenças apesar da complexidade das amostras.

Assim, conclui-se que as duas técnicas de obtenção podem ser utilizadas para a obtenção de dispersões sólidas da ATV capazes de aumentarem a solubilidade do fármaco e se apresentarem estáveis após serem submetidas ao modelo proposto.

Esse trabalho tem como perspectivas futuras:

- Desenvolver um medicamento na forma de apresentação cápsula, a partir das dispersões sólidas obtidas;
- Realizar estudos *in vivo* de biodisponibilidade da ATV;
- Realizar estudos de estabilidade conforme a RE 01/2005 para determinar o prazo de validade do medicamento;
- Realizar estudos *in vivo* para avaliação da eficácia do medicamento.

## REFERÊNCIAS

## REFERÊNCIAS

- AALTONEN, J.; RADES, T. Towards physico-relevant dissolution testing: the importance of solid-state analysis in dissolution. **Dissolution Technologies**, v. 16, p. 47-54, mai. 2009.
- ADIBKIA, K. et al. Physicochemical characterization of naproxen solid dispersions prepared via spray drying technology. **Powder Technology**, v. 246, p. 448-455, jun. 2013.
- AHJEL, S. W.; LUPULEASA, D. Enhancement of solubility and dissolution rate of diferente forms of atorvastatin calcium in direct compression tablete formulas. **Farmacia**, v. 53, n. 3, p. 291-300, abr. 2010.
- ALAM, M. K., et al. Study of dissolution improvement of various poorly water soluble drugs by solid dispersion mixing with hpmc 6cps and peg 6000. **Journal of pharmaceutical science and technology**, v. 3, n. 6, p. 613-627, jan. 2011.
- ALONZO, D. E., et al. Dissolution and Precipitation Behavior of Amorphous Solid Dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 8, ago. 2011.
- AMICO, S.C. et al. Efeito da incorporação de talco nas características térmicas, mecânicas e dinâmico-mecânicas de poliuretanos termoplásticos. **Revista Matéria**, v. 16, n. 1, p. 597-605, jan. 2011.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation on in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v.12, n. 3, p. 413-420, mar.1995.
- ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. and ALLEN, J. L. V. Farmacotécnica: Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos. 8ª ed. São Paulo: Premier, 2007.568p.
- ANTONIO, S. G. **Aplicação da difração de raios X por policristais e do método de Rietveld de refinamento de estruturas cristalinas no estudo de polimorfos cristalinos de fármacos**. 2010. 161f. Tese (doutorado). Universidade Estadual Paulista-Araraquara, Programa de pós-graduação em química, São Paulo.

ARAÚJO de, C. R.; MOTHÉ, 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**, v.10, n. 4, p. 37-43, mai. 2003.

ARONHIME, J. et al. US 7,144,916 B2, 2006.

ASARE-ADDO, K. et al. Effect of ionic strength and pH of dissolution media on theophylline release from hypromellose matrix tablets—Apparatus USP III, simulated fast and fed conditions. *Carbohydrate Polymers*, v. 86, p. 85-93, ago. 2011.

BAIRD, J.A., et al. 2012. Role of viscosity in influencing the glass-forming ability of organic molecules from the undercooled melt state. **Pharmaceutical Research**, v.29, n. 1, p. 271-284, jul. 2012.

BANDARI, S. et al. Physicochemical characterization and dissolution enhancement of loratadine by solid dispersion technique. **Korean Journal Chemical Engineering**, v. 30, n. 1, p. 238-244, ago. 2013.

BARZEGAR-JALALI, M. et al. Comparison of physicochemical characteristics and drug release of diclofenac sodium-eudragit® RS100 nanoparticles and solid dispersions, **Powder Technology**, v. 219, p. 211-216, dez. 2012.

BASAVARAJ, S.; BETAGERI, G. V. Can formulation and drug delivery reduce attrition during drug Discovery and development—review of feasibility, benefits and challenges. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v.4, n. 1, p. 3-17, jan. 2014.

BASTARDA, A. et al. Fast analysis of pravastatin in production media. **Journal of Chromatography B**, v. 822, n. 1-2, p. 311-315, ago. 2005.

BERNAL, C et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais – DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, jan. 2002.

BIKIARIS, D. N. Solid dispersions, Part I: recent evolutions and future opportunities in manufacturing methods for dissolution rate enhancement of poorly water-soluble drugs. **Expert Opinion Drug Delivery**, v. 8, n. 11, p. 1501-1519, nov. 2011.

BLEY, H.; FUSSNEGGER, B.; BODMEIER, R. Characterization and stability of solid dispersions based on PEG/polymer blends. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 390, p. 165-173, fev.2010.

BONFIM, M. R. et al. Caracterização do tratamento medicamentoso com estatinas em unidade básica de saúde: Characterization of statin treatment in basic healthcare unit. **Medicina**, v. 46, n. 1, p. 47-55, jun. 2013.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº 136**, de 29 de maio de 2003.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 11**, de 23 de janeiro de 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Consulta Pública nº 68**, de 29 de agosto de 2014.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe Técnico nº 1**, de 15 de julho de 2008.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 58** de 20 de dezembro de 2013.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução da Diretoria Colegiada- RDC nº 31** de 12 de agosto de 2010.

BRASIL. Resolução nº 01, de 29 de julho de 2005. Guia para a realização de estudos de estabilidade. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Poder Executivo, Brasília, DF, Diário Oficial da União, 01 ago. 2005. Disponível em: <<http://e->

legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=18109&word>. Acesso em 20 de outubro de 2013.

BREITKREITZ, M. C. **Desenvolvimento e Caracterização de formulações de fármacos pouco solúveis em água empregando espectroscopia de imagem e quimiometria**. 2013. 208f. Tese (doutorado). Universidade Estadual de Campinas, Programa de pós-graduação em Química, São Paulo.

BRIGGS, C. V. et al .US 5,969,156,1999.

BROWN, W. V. Safety of statins. **Current Opinion Lipidol**, v. 19, n. 6, p. 558-62, dez. 2008.

CALEJO, M. T. et al. Nyström. Interactions between ethyl(hydroxyethyl) cellulose and lysine-based surfactants in aqueous media. **European Polymer Journal**, v. 48, n. 9, p. 1622-1631, set. 2012.

CARVALHO, I.; CAMPO, L. V. Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas. **Química Nova**, v. 30, n. 2, p. 425-430, ago. 2007.

CHAUDHARI, B. G.; PATEL, N. M.; SHAH, P. B. Stability Indicating RP-HPLC Method for Simultaneous Determination of Atorvastatin and Amlodipine from Their Combination Drug Products. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 55, n. 2, p. 241-246, fev, 2007.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, p. 618-644, 2011.

CHIOU, W.L., RIEGELMAN, S. Pharmaceutical applications of solid dispersion systems. **Journal Pharmaceutical Science**, v. 60, p. 1281-1302, jan. 1971.

CHOI, H., et al. Polymer-Directed Crystallization of Atorvastatin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 8, ago. 2012.

CHOUDHARY, A. et al. Development and characterization of an atorvastatin solid dispersion formulation using skimmed milk for improved oral bioavailability. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 2, n. 4, p. 421-428, fev. 2012.

CHUNG, N.O.; LEE, M. K.; LEE, J. Mechanism Of freeze-drying Drug nanosuspensions. **International Journal Of Pharmaceutics**, v. 437, p. 42–50, ago. 2012.

CLAS, S. D. et al. Quantification of crystallinity in blends of lyophilized and crystalline MK-0591 using X-ray powder diffraction. **International journal of pharmaceutics**, v. 121, n. 1, p. 73-79, dez. 1995.

CUFFINI, S. L.; PITALUGA, A.; TOMBARI, D. G. Polimorfismo em fármacos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIANN, C.; GAI, M.N. (Eds.). Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.32-65, 2009.

DAN SMITHEY, P. G.; TAYLOR, L. Amorphous solid dispersions: an enabling formulation technology for oral delivery of poorly water soluble drugs. **AAPS Newsmagazine**, v. 16, p. 11-14, jan. 2013.

DARWISH, H. W. et al. Advanced stability indicating chemometric methods for quantitation of amlodipine and atorvastatin in their quinary mixture with acidic degradation products. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 154, n.5, p. 58–66, fev. 2016.

DJURIS, J. et al. Preparation of carbamazepine-Soluplus solid dispersions by hot-melt extrusion: and prediction of drug–polymer miscibility by thermodynamic model fitting. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 84, p. 228-237, mai. 2013.

EMA. THE EUROPEAN AGENCY FOR THE EVALUATION OF MEDICINAL PRODUCTS.CPMP. **Guideline on stability testing for active substances and medicinal products manufactured in climatic zones III and IV to be marketed in the EU**. Londres, 25 fevereiro 2004. Disponível em:<<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/qwp/614203en.pdf>> Acessado em: 02 janeiro de 2014.

ESSID, M., RZAIGUI, M. MAROUANI, H. synthesis and physico-chemical studies of a new noncentrosymmetric bis[n-(2-hydroxyethyl)piperazine-1,4-dium]tetrakis (hydrogen oxalate) trihydrate  $[C_6H_{16}N_2O]_2(HC_2O_4)_4 \cdot 3H_2O$ . **Journal of chemical crystallography**, v. 45, n.6, p.310-17, abr. 2015.

FONG, S. I. K.; IBISOGLY, A.; BAUER-BRANDL, A. Solubility enhancement of BCS Class II drug by solid phospholipid dispersions: Spray drying versus freeze-drying. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 496, n. 2, p. 382-391, out. 2015.

GHOSH, I. et al. Comparison of HPMC based polymers performance as carriers for manufacture of solid dispersions using the melt extruder. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 419, p. 12-19, jul. 2010.

GIBSON, M. Pharmaceutical Preformulation And Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form. 1st Ed. New York: Interpharm/ CRC, 2004. 610 p.

GOMES A. P. B. et al. Development thermogravimetric method to quantitative determination of Mebendazole. **Journal of Thermal Analysis & Calorimetry**, v. 87, n. 3, p. 919-25, mar. 2007.

GURUNATH, S. et al. Amorphous solid dispersion method for improving oral bioavailability of poorly water-soluble drugs. **Journal of pharmacy research**, v. 6, n. 4, p. 476-480, mai. 2013.

HA, E. S. et al. Preparation and Evaluation of Solid Dispersion of Atorvastatin Calcium with Soluplus® by Spray Drying Technique. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 62, n. 6, p. 545-551, jun. 2014.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. Goodman & Gilman As Bases Farmacológicas da Terapêutica. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 10ª ed., 2003. p. 739-744.

HU, L., et al. Investigation of Solid Dispersion of Atorvastatin Calcium in Polyethylene Glycol 6000 and Polyvinylpyrrolidone. **Tropical Journal of Pharmaceutical Science and Research**, v. 13, n.6, p. 835-842, abr. 2014.

HUANG, J.; WIGENT, R. J.; SCHWARTZ, J. B. Nifedipine molecular dispersion in microparticles of ammonio methacrylate copolymer and ethylcellulose binary blends for controlled drug delivery: effect of matrix composition. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 32, n. 10, p. 1185-1197, set. 2006.

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

ICH, INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. Guidance for industry Q1A(R2) stability testing of new drug substances and products, 2003.

ICH, INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. Guideline stability testing: photostability testing of new drug Substances and products. nov., 1996.

ICH, INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. Guideline stability testing: photostability testing of new drug Substances and products, 2006.

JACOBSON, T. A.; MD, FNLA, CHAIR, The NLA Task Force on Statin Safety – 2014 Update. NLA Task Force on Statin Safety - 2014 update. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 8, n. 3S, p. 1-4, jun. 2014.

JAHANGIR, A. et al. Pharmacological and histological examination of atorvastatin-PVP K30 solid dispersions. **Powder Technology**, v. 286, n. 1, p. 538-545, dez. 2015.

JARI PAJANDER, J. et al. Behaviour of HPMC compacts investigated Using UV-imaging. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 427, p. 345-353, mai. 2012.

JIN, Y. S.; ULRICH, J. New Crystalline Solvates of Atorvastatin Calcium. **Chemical Engineering Technology**, v. 33, n. 5, p. 839-844, jan. 2010.

JOE, J. H. et al. Effect of the solid-dispersion method on the solubility and crystalline property of tacrolimus. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 395, n. 1-2, p. 161-166, ago. 2010.

JONES, P. et al. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin, and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (the curves study). **American Journal of Cardiology**, v. 81, p. 582-587, mar. 2011.

JOY, T. R.; HEGELE, R. A. Narrative review: statin-related myopathy. **Annals of Internal Medicine**, v. 150, n. 12 p. 858-68, jun. 2009.

JUNG, H. J., et al. Improved oral absorption of tacrolimus by a solid dispersion with hypromellose and sodium lauryl sulfate. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 83, n. 1, p. 282-287, 2016.

KADAV, A. A.; VORA, D. N.. Stability indicating UPLC method for simultaneous determination of atorvastatin, fenofibrate and their degradation products in tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 48, n.1, p. 120–126, set. 2008.

KADU, P. J. et al. Enhancement of oral bioavailability of atorvastatin calcium by self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 16, n. 1, p. : 65-74, fev. 2011.

KADU, P. J., et al. Enhancement of oral bioavailability of atorvastatin calcium by self-emulsifying drug delivery systems (SEDDS). **Pharmaceutical Development and Technology**, v.16, n.1, p. 65-74, jan. 2011.

KALEPU; V. NEKKANTI, S. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v.5, n.5, p.442-453, mai. 2015.

KASIM, N. A. et al. Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. **Molecular Pharmaceutics**. v.1, p. 85-96, dez. 2004.

KAWABATA, Y. et al. Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v.420, p.1-10, ago.2011.

KELESSIDIS, V. C., POULAKAKIS, V., CHATZISTAMOU, V. Use of Carbopol 980 and carboxymethyl cellulose polymers as rheology modifiers of sodium-bentonite water dispersions. **Applied Clay Science**, n. 54, n. 1, p. 63-69, nov. 2011.

KELESSIDIS, V.C., POULAKAKIS, V., CHATZISTAMOU, V. Use of Carbopol 980 and carboxymethyl cellulose polymers as rheology modifiers of sodium-bentonite water dispersions. **Applied Clay Science**, v. 54, n. 1 p. 63-69, abr. 2011.

KIM, M. S. et al. Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, n. 2, p. 454-465, abr. 2011.

KIM, M. S., et al. Oral absorption of atorvastatin solid dispersion based on cellulose or pyrrolidone derivative polymers. **International Journal of Biological Macromolecules**, v.59, p. 138-142, ago. 2013.

KIM, M. S., et al. Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 69, p. 454-46, jan. 2008.

KOMMAVARAPU, P., et al. Preparation and characterization of rilpivirine solid dispersions with the application of enhanced solubility and dissolution rate. Beni-suef University Journal of Basic and Applied Sciences, v. 4, n.1, p. 71-79, mar. 2015.

KONNO, H., et al. Effect of polymer type on the dissolution profile of amorphous solid dispersions containing felodipine. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 70, n. 2, p. 493-499, out. 2008.

KOPP, S. Stability testing of pharmaceutical products in a global environment. **RAJ Pharma**, p. 291-294, mar. 2006.

KRZYZANIAK, F. J. et al. Woods US 2008/0306282 A1, 2008.

KU, M. S.; DULIN, W. A biopharmaceutical classification-based Right-First-Time formulation approach to reduce human pharmacokinetic variability and projec cycle time from First-In-Human to clinical Proof-Of-Concept. **Pharmaceutical Development & Technology**, v. 17, n.3, p.285-302, mai-jun. 2012.

KUMAR, Y.; THAPER, K. R.; KUMAR, S. WO 00/71116 A1, 2000.

LAITINEN, R. et al. Emerging trends in the stabilization of amorphous drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 453, n. 1, p. 65- 79, ago. 2013.

LARSSON, M. et al. The influence of HPMC substitution pattern on solid-state properties. **Carbohydrate Polymers**, n. 82, n. 4, p. 1074-1081, nov. 2010.

LAU, Y. Y. et al. Pharmacokinetics of atorvastatin and its hydroxy metabolites in rat sand the effects of concomitant rifampicin single doses: relevance of first-pass effect from hepatic up take transporters, and intestinal and hepatic metabolism. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 34, n. 7, p. 1175-81, apr. 2006.

LEE, E. H. A practical guide to pharmaceutical polymorph screening & selection. **Journal of pharmaceutical sciences**, v. 9, p. 163-175, mai. 2014.

LE-NGOC VO, C.; PARK, C.; LEE, B. J. Current trends and future perspectives of solid dispersions containing poorly water-soluble drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 85, p. 799-813, set. 2013.

LEUNER, C.; DRESSMAN, J. Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 47-60, jul. 2012.

Li, D. X. et al. Enhanced solubility and bioavailability of sibutramine base by solid dispersion system with aqueous medium. **Biological and Pharmaceutical Bulletin**, 33, n. 2, p. 279-284, fev. 2010.

Li, X. et al. Preparation and characterization of azithromycin – Aerosil 200 solid dispersions with enhanced physical stability. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 486, n. 1, p. 175-184, mar. 2015.

LIMOR, T et al. WO 2003/070702 A1, 2003.

LIMOR, T.; ARONHIME, J.; REVITAL, L. L. WO 2004/043918 A2, 2004.

LITZI GOZÁLEZ TEJERINA, Karina. **Validação de métodos para análise de estatinas em medicamentos por cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar**. 2011.200f. Dissertação (Mestrado) –Universidade de São Paulo, Programa de pós graduação em Ciências Farmacêuticas, São Paulo.

LÖBMANN, K. et al. Co-amorphous simvastatin and glipizide combinations show improved physical stability without evidence of intermolecular interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 81, n. 1, p. 159-169, mai. 2012.

LOH, G. O. K.; TAN, Y. T. F.; PEH, K. K. Hydrophilic polymer solubilization on norfloxacin solubility in preparation of solid dispersion. **Powder Technology**, v. 256 p. 462-469, abr. 2014.

LU, L. et al. Quantitative X-ray diffraction analysis and its application to various coals. **Carbon**, v. 39, n. 12, p. 1821-1833, out. 2001.

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

MAGGIO, R. M.; VIGNADUZZO, S. E.; KAUFMAN, T. S. Practical and regulatory considerations for stability-indicating methods for the assay of bulk drugs and drug formulations. **Trends in Analytical chemistry**, v. 49, p. 57-70, 2013.

MAHLIN, D., et al. Toward in silico prediction of glass-forming ability **from molecular structure alone. A screening tool in early drug development**. **Molecular Pharmaceutical**, v. 8, n.2, p. 498-506, fev. 2011.

MAJI, D. et al. Safety of statins. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, v. 17, n. 4, p. 636-646, jul-aug. 2013.

MARCINIEC, B.; KOZAK, M.; DETTLAFF, K. Thermal analysis in evaluation of the radiochemical stability of some fungicidal drugs. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 77, n. 1, p. 305-17, jul. 2004.

MARIN, E. K. et al. Degradação forçada e análise fatorial para caracterização da estabilidade de formulações líquidas de carbocisteína. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.33, n. 4, p. 537-544.

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

MAUSKOP, A.; BORDEN, W. B. Predictors of statin adherence. **Current Cardiology Reports**, v. 13, p. 553-8, set. 2011.

MAYUR, T. N. Solubility Enhancement of Atorvastatin Calcium by Using Microwave Assisted Solid Dispersion Preparation Method. **International Journal of Pharmaceutical Research & Allied Sciences**, v. 4, n.1, p. 51-56, 2015.

MCKENZIE,. US 6,121,461,2000.

NANDI, U.; PAL, T. Enhancement of dissolution for improving bioavailability of poorly water soluble drug through oral mucosa. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 1, 2012.

NARASIAH, L., et al. Enhanced Dissolution Rate of Atorvastatin Calcium using Solid Dispersion with PEG 6000 by Dropping Method. **Journal of Pharmaceutical Research**, v.2, n. 8, p. 484-491,2010.

NASCIMENTO T. G. et al. Characterization of the indinavir raw materials stability in some pharmaceutical processes. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 98, p. 13-9, 2009.

NASRIN, F. Development and in vitro characterization of atorvastatin calcium poloxamer 407 solid dispersion systems. **International journal of pharmacy & technology**, v.5, n. 4, p. 6151-6164, jan. 2014.

NEWMAN, A.; KNIPP, G.; ZOGRAFI, G. Assessing the Performance of Amorphous Solid Dispersions. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 4, abr. 2012.

OLIVEIRA, A. M., YOSHIDO, M. I., GOMES, C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-30, abri. 2011.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, abr. 2011.

OTA, T. et al. Impact of the statin escape phenomenon on long-term clinical outcomes in patients with acute myocardial infarction: Subgroup analysis of the Nagoya Acute Myocardial Infarction Study (NAMIS). **Atherosclerosis**, v. 242, p. 155-156, jul. 2015.

OVERHOFF, K. A. Novel ultra-rapid freezing particle engineering process for enhancement of dissolution rates of poorly water-soluble drugs **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 65, n. 1, p. 57-67, jan. 2011.

OZEKI, T., YUASA, H., KANAYA, Y. Controlled release from solid dispersion composed of poly(ethylene oxide)–Carbopol interpolymers with various cross-linking degrees of Carbopol. **Journal of Controlled Release**, v. 63, n.3, p. 287-295, fev. 2000.

PALANISAMY, M.; JAMES, A.; KHANAM, J. Atorvastatin e cyclodextrin systems: Physicochemical and biopharmaceutical evaluation. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 31, n. 2, p. 41-52, nov. 2016.

PALUCKI, M. et al. Templeton. Strategies at the Interface of Drug Discovery and Development: Early Optimization of the Solid State Phase and Preclinical Toxicology Formulation for Potential Drug Candidates. **Journal Medicine Chemical**, v.53, n.16, p. 5897–5905, ago. 2010.

PANGHAL, D. et al. Dissolution Improvement of Atorvastatin Calcium using Modified Locust Bean Gum by the Solid Dispersion Technique. *Scientia Pharmaceutica*, v. 82, n. 1, p. 177-191, mar. 2014.

PAUDEL, P. et al. Manufacturing of solid dispersions of poorly water soluble drugs by spray drying: Formulation and process considerations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 253-284, jul. 2013.

PINTO, A. C.; BARREIRO, E. I. Desafios da indústria brasileira. **Química Nova**, v.36, n.10, p. 1557-1560, 2013.

PROCÓPIO, J. V. V. et al. Application of thermal analysis and pyrolysis coupled to GC/MS in the qualification of simvastatin pharmaceutical raw material. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, n. 1, p. 665-670, 2011.

PYGALLA, S. R. et al. Meliaa. Solution interactions of diclofenac sodium and meclofenamic acid sodium with hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n.1-2, p. 55-62, fev. 2011.

Qi, B. et al. Differential scanning calorimetry study—assessing the influence of composition of vegetable oils on oxidation. **Food Chemistry**, v. 194, p. 601-607, mar. 2016.

QI, S. et al. Characterisation of solid dispersions of paracetamol and eudragit e prepared by hot-melt extrusion using thermal, microthermal and spectroscopic analysis **International Journal Pharmaceutics**, v. 354, p. 158-167, dez. 2008.

RANI, P. S., Enhancement of bioavailability of atorvastatin and fenofibrate combination using solid dispersion technique. **International Journal of Pharmaceutical Science and Research**, v. 5, n. 9, p. 3713-3725.

RAUTIO J., et al. Prodrugs: design and clinical applications. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.7, n. 3, p. 255-270, mar. 2008.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e Eletroforéticos. **Química nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, jun. 2004.

RIEKES, M. K. et al. HPMC as a potential enhancer of nimodipine biopharmaceutical properties via ball-milled solid dispersions. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, p. 474-482, ago. 2014.

RIEKES, M. K. et al. HPMC as a potential enhancer of nimodipine biopharmaceutical properties via ball-milled solid dispersions. **Carbohydrate Polymers**, v. 99, n. 2, p. 474- 482, jan. 2014.

ROTH, B. D. US 4,681,893,1987.

ROWE, R.C.; SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6<sup>a</sup> ed London-Chicago: Published by the Pharmaceutical Press and the American Pharmacists Association, 2009.

SANGSHETTI, J. N., et al. Development and validation of RP-HPLC method for determination of Atorvastatin calcium and Nicotinic acid in combined tablet dosage form. **In press**, doi:10.1016/j.jscs.2012.12.005, dez. 2012.

SARMA, B. et al. Solid forms of pharmaceuticals: Polymorphs, salts and cocrystals. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 28, n. 2, p. 315–322, 31 jan. 2011.

SEKIGUCHI, K.; OBI, N. Studies on absorption of eutectic mixture. I. A comparison of the behavior of eutectic mixture of sulfathiazole and that of ordinary sulfathiazole in man. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.9, p. 866-872, jan. 1961.

SETHIA, S.; SQUILLANTE, E. Solid Dispersions: Revival with Greater Possibilities and Applications in Oral Drug Delivery. **Drug Carrier Systems**. v. 20, n. 2-3, p. 215-247, jan. 2003.

SHAH, A. K.; AGNIHOTRI, S. A. Recent advances and novel strategies in pre-clinical formulation development: An Overview. **Journal of Controlled Release**, v. 156, n. 1, p. 281–296, jul. 2011.

SHAH, R. P.; KUMAR, V.; SINGH, S. Liquid chromatography/mass spectrometric studies on atorvastatin and its stress degradation products. **Rapid Communication in Mass Spectrometry**, v. 22, n. 5, p. 613-622, fev. 2008.

SHARMA, B.; SAINI, V.; SHARMA, A. Preparation, Characterization and In-Vitro Evaluation of Atorvastatin Calcium Solid Dispersions with Various Hydrophilic Polymers and Its FDT Formulation. **Current Pharma Research**, V. 2, N.4,P. 620-630, 2012.

SHAYANFAR, A.; JOUYBAR, A. Drug-Grug Coamorphous Systems: Characterization and Physicochemical Properties of Coamorphous Atorvastatin with Caverdilol and Glibenclamide. **Journal of Pharmaceutical Innovation**, v. 8, n. 4, p. 218-228, out. 2013.

SHETE, G., et al. Solid State Characterization of Commercial Crystalline and Amorphous Atorvastatin Calcium Samples. **Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 11, n. 2, jun. 2010.

SHI, C. et al. Preparation, characterization and in vivo studies of amorphous solid dispersion of berberine with hydrogenated phosphatidylcholine. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 74, p. 11-17, abr. 2015.

SIEPMANN, J. et al. Predicting drug release From HPMC/lactose tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 441, n.1-2, p. 826-834, 2013.

SIEVENS-FIGUEROA, L. et al. Preparation and characterization of hydroxypropyl methyl cellulose films containing stable BCS Class II drug nanoparticles for pharmaceutical applications. **International Journal of Pharmaceutics**, v.423, p.496– 508, dez. 2012.

SILVA, J.A., et al. Desenvolvimento e validação de método analítico para quantificação de diclofenaco de dietilamônio em pele humana por cromatografia líquida de alta eficiência. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 31, n.1, p. 41-46, jun. 2010.

SILVA, K. E. R et al. Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica. **Revista de ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. v.30, n.2, p.1-8, abr. 2009.

SILVA, R.M. F. et al. Thermal characterization of inidavir sulfate using TG, DSC and DSC-Photovisual. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 95, n. 3, p. 965-8, jan. 2009.

SILVA, S. M. C. et al. New insights on the interaction between hydroxypropylmethyl cellulose and sodium dodecyl sulfate. **Carbohydrate Polymers**, v. 86, n. 1, p. 35-44, ago. 2011.

SINGH, S., et al. A critical review on the use of modern sophisticated hyphenated tools in the characterization of impurities and degradation products. **Pharmaceutical and Biomedical analysis**, p.148-173, nov. 2012.

SINKO, P. J. M. Físico-Farmácia e Ciências Farmacêuticas. 5 ed, Porto Alegre: 2008. Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretrizes brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Sociedade Brasileira de Cardiologia**, v. 101, n. 4, out. 2013.

SONJE, V. M. et al. Atorvastatin calcium. Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology, v. 35, n.10, p. 1-70, 2010.

SONJE, V. M., et al. **Effect of counterions on the properties of amorphous atorvastatin salts**. European Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 44, n. 4, p. 462-470, nov. 2011.

SOSNIK, A.; SEREMETA, K. P. Advantages and challenges of the spray-drying technology for the production of pure drug particles and drug-loaded polymeric carriers. **Advances in Colloid and Interface Science**, v. 223, p. 40-54, mai. 2015.

SOULAIROL, I., et al. Spray-dried solid dispersions of nifedipine and vinylcaprolactam/vinylacetate/PEG6000 for compacted oral formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 481, n. 1-2, p. 140-147, jan. 2015.

SRINARONG, P. et al. Improved dissolution behavior of lipophilic drugs by solid dispersions: the production process as starting point for formulation considerations. **Expert Opinion Drug Delivery**, v. 8, n. 9, p. 1121-1140, jul. 2011.

STEGEMANN, S., et al. When poor solubility becomes an issue: from early stage to proof of concept. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 3, p. 249-61, abr. 2007.

STENGER, F. C. **Desenvolvimento e validação de metodologia analítica por CLAE indicativa de estabilidade do Cloridrato de Metformina em comprimidos e estudo de citotoxicidade dos produtos de degradação**. [Dissertação Mestrado], Área de concentração em produtos naturais e substâncias sintéticas bioativas. Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2011.

STORPIRTIS, S. et al. **Ciências Farmacêuticas: Biofarmacotécnica**, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2009.

TAHA, M. O.; NASSER, W.; ARDAKANI, A.; ALKHATI, H. S. Sodium lauryl sulfate impedes drug release from zinc-crosslinked alginate beads: Switching from enteric coating release into biphasic profiles. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 350, p. 291-300, set. 2008.

UNITED STATES PHARMACEUTICAL / National Formulary USP30/NF25, Rockville, 2007.

United States Pharmaceutical. USP's Pending Monographs Guideline, Rockville, 2011.  
Disponível em: < <http://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/usp35/PDF/2263-2265%20Atorvastatin%20Calcium.pdf> > Acessado em: 10 de agosto de 2015.

VAN DER SCHAAF, P. et al. US7,538,136 B2, 2009.

VAN DROOGE, D. J. et al. Characterization of the mode of incorporation of lipophilic compounds in solid dispersions at the nanoscale using fluorescence resonance energy transfer (FRET). **Macromolecular Rapid Commun**, v. 27, p. 1149-1155, mar. 2014.

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

VIANNA-FILHO, R.; PETKOWICZ, C. L. O.; SILVEIRA, J. L. M. Rheological characterization of O/W emulsions incorporated with neutral and charged polysaccharides. **Carbohydrate Polymers**, v. 93, p. 266-272, ago. 2013.

WAARD, H., et al. Unexpected differences in dissolution behavior of tablets prepared from solid dispersions with a surfactant physically mixed or incorporated. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 349, n. 2, p. 66-73, 2008.

WANG, X.; MICHOEL, A.; VAN DEN MOOTER, G. Solid state characteristics of ternary solid dispersions composed of PVP VA64, Myrj 52 and itraconazole, **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, n. 1-2, p. 54-61, out. 2010.

WATERMAN, K. C.; ADAMI, R. C. Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals. **Internacional journal of pharmaceutics**, p.101-125, ago. 2005.

WILCZYNSKI, S. The use of dynamic thermal analysis to distinguish between genuine and counterfeit drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 490, n. 1-2, p. 16-21, jul. 2015.

WU, L.; ZHANG, J.; WATANABE, W. Physical and chemical stability of drug nanoparticles. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 30, p. 456-469, mai. 2011.

YADAV, P. S., et al. Physicochemical characterization and in vitro dissolution studies of solid dispersions of ketoprofen with PVP K30 and D-mannitol. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 21, n. 1. P. 77-84, jan. 2013.

YAM, N.; LI, X.; JASTI, B. R. Interactions of topiramate with polyethylene glycol 8000 in solid state with formation of new polymorph. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 411, n. 1-2, p. 86-91, jun. 2011.

YANG, M. et al. Solid dispersion of acetaminophen and poly(ethylene oxide) prepared by hot-melt mixing. **International Journal Pharmaceutics**, v. 395, p. 53-61, mai. 2010.

YAO, W. W. Thermodynamic properties for the system of silybin and poly (ethylene glycol) 6000. **Thermochimica Acta**, v. 437, p.17-20, 2005.

YIN, Y. M. et al. Preparation, characterization and in vitro intestinal absorption of a dry emulsion formulation containing atorvastatin calcium. **Drug Delivery**, v. 16, n. 1, p. 30-3, jan. 2010.

YOSHIDA, T., et al. Aminoalkyl methacrylate copolymers for improving the solubility of tacrolimus: Evaluation of solid dispersion formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 428, n.1-2, p. 18-24, mar.2012.

YUN, F., et al. Preparation of osthole-polymer solid dispersions by hot-melt extrusion for dissolution and bioavailability enhancement. **International Journal of Pharmaceutics**, 465, n. 1-2, p. 436-443, abr. 2014.

ZERBINI, A. P. N. A. **Desenvolvimento e avaliação de minicomprimidos contendo atorvastatina cálcica**. 2010. 104f. Dissertação (mestrado). Universidade de São Paulo, Programa de pós-graduação em Fármacos e Medicamentos, São Paulo.

ZHANG, H. X., et al. Micronization of atorvastatin calcium by antisolvent precipitation process. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, n. 1-2, p. 106-113, 2009.

ZHANG, T. Physiologically based pharmacokinetic modeling of disposition and drug-drug interactions for atorvastatin and its metabolites. **European Journal of Pharmaceutical Sciences** v. 77, p. 216-229, jun. 2015.

ZUR, M. et al. The biopharmaceutics of successful controlled release drug product: Segmental-dependent permeability of glipizide vs. metoprolol throughout the intestinal tract. **International Journal of Pharmaceutics**, v.489, p.304-310, mai. 2015.