



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Estudos de parâmetros térmicos e de dissolução da
sinvastatina na caracterização tecnológica de excipientes**

José Valdilânio Virgulino Procópio

Recife-PE

2010

Estudos de parâmetros térmicos e de dissolução da sinvastatina na caracterização tecnológica de excipientes

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, como um dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Área de Concentração: Produção e Controle da Qualidade de Medicamentos.

Orientador: Prof. Dr. Rui Oliveira Macêdo

Co-Orientador: Prof. Dr. Fábio Santos de Souza

José Valdilânio Virgulino Procópio

Recife-PE

2010

Procópio, José Valdilânio Virgulino

Estudos de parâmetros térmicos e de dissolução da sinvastatina na caracterização tecnológica da excipientes / José Valdilânio Virgulino Procópio. – Recife: O Autor, 2010.

83 folhas: il., fig., tab.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Ciências Farmacêuticas, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Sinvastatina. 2. Análise térmica. 3. Pirólise. 4. Dissolução intrínseca. 5. Pré-formulação. I. Título.

615.015
615.19

CDU (2.ed.)
CDD (20.ed.)

UFPE
CCS2010-115

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Estudos de parâmetros térmicos e de dissolução da
sinvastatina na caracterização tecnológica de excipientes**

BANCA EXAMINADORA:

Membros Internos Titulares

Prof. Dr. Rui Oliveira Macêdo - UFPB

Prof. Dr. Davi Pereira de Santana - UFPE

Membro Externo Titular

Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento - UFAL

Membros Suplentes

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto - UFPE

Prof^a. Dr^a. Ana Cláudia Dantas de Medeiros - UEPB

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

VICE-DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Dr. Márcio Antônio de Andrade Coelho Gueiros

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Dalci José Brondani

VICE-CHEFE DO DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Prof. Dr. Antonio Rodolfo de Faria

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

Prof. Dr. Pedro José Rolim Neto

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

Prof^a. Dr^a. Beate Saegesser Santos



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
FARMACÊUTICAS**

Recife, 24 de fevereiro de 2010.

Defesa de Dissertação de Mestrado defendida e **APROVADO**, por decisão unânime, em 24 de fevereiro de 2010 e cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE ORIENTADOR E EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal da Paraíba - UFPB).

Assinatura: Rui Oliveira Macedo

EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Davi Pereira de Santana

(Deptº de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE).

Assinatura: Davi Pereira de Santana

EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento

(Curso de Farmácia da Universidade Federal de Alagoas - UFAL)

Assinatura: Ticiano Gomes do Nascimento

Ao meu filho Igor.

A minha esposa Alenilda.

Aos meus pais, Heleno Virgulino Primo e Maria Procópio de Souza Primo.

Dedico com muito amor.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pelo dom da vida e ao qual muitas vezes recorri, solicitando a paz e a tranquilidade necessárias para a realização deste trabalho.

Ao **Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco** pela oportunidade.

A **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)** pelo financiamento.

A Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), em especial, na pessoa da professora **Dr^a. Ana Cláudia Dantas de Medeiros**, uma das primeiras pessoas a me incentivar para chegar a esse momento.

Ao meu orientador **Dr. Rui Oliveira Macêdo** e coorientador **Dr. Fábio Santos de Souza**, pela orientação, amizade e oportunidade de crescimento profissional.

A todas as pessoas que direto ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho ou estiveram presentes ao meu lado nesta jornada, em especial:

Aos meus pais **Heleno Virgulino Primo** e **Maria Procópio de Souza Primo**, por não medir esforços para que eu chegasse até aqui investindo na minha educação e crescimento pessoal.

Aos meus **8 (oito) irmãos e familiares** pela amizade e companheirismo.

A **Alenilda** minha esposa, e **Igor** meu filho, dois grandes amores da minha vida, pelo apoio, incentivo nas horas difíceis, por abrir mão de muitos momentos de descontração para ficar ao meu lado e por entenderem o motivo de minha ausência muitas vezes. A eles meu eterno amor.

Aos amigos dos Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos (LUDEM) presentes e os que seguiram: **Agna Hélia, Ana Flávia, Antonilene Medeiros, Elisana, Francinalva Medeiros, Horacina, Irinaldo Diniz, Jailton, João Paulo, Júlia Beatriz, Lidiane, Márcia, Rodrigo Albuquerque, Rodrigo Molina, Tânia e Valmir** pelos momentos de aprendizado, descontração, ajuda e apoio incondicional.

Aos amigos do Instituto de Desenvolvimento e Estudos Farmacêuticos (IDEF): **Hallisson, Flaviano, Sérgio e Samuel** pelos momentos de aprendizado, descontração, ajuda e apoio incondicional.

Ao Instituto de Desenvolvimento e Estudos Farmacêuticos (IDEF) pela parceria e apoio no desenvolvimento do projeto.

RESUMO

A sinvastatina (SV) é um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, muito solúvel em cloreto de metileno e solúvel em álcool. É uma das estatinas mais comumente utilizada para tratar diversas formas de hipercolesterolemia. Este estudo teve como objetivo aplicar a análise térmica [Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e Calorimetria Exploratória Diferencial acoplado ao sistema Fotovisual (DSC-fotovisual) e Análise Térmica Diferencial (DTA)], Pirólise acoplada à Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa (Pir-CG/EM) e dissolução na caracterização da sinvastatina matéria-prima farmacêutica, misturas binárias com diferentes celuloses de diferentes fabricantes e pré formulados. Foram utilizadas três diferentes amostras SV (denominadas SVA, SVB e SVC), misturas do fármaco com amostras de celulose (PH101 e PH102) e preformulados. Os estudos termogravimétricos dinâmicos foram realizados nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 °C/min. Os estudos isotérmicos foram realizados nas temperaturas de 165, 175, 185, 195 e 205 ° C. Os estudos de DSC das amostras SV foram feitos nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40 ° C/min. Foram feitos estudos de DTA na razão de aquecimento de 10 ° C/min para a SV e misturas binárias (1:1) com as diferentes celuloses. Os preformulados foram preparados variando apenas a celulose microcristalina utilizada em cada um deles. Os lotes de celulose utilizados no preparo dos preformulados foram: MCR102, MCB102, MCR101, e MCB101 para os preformulados A, B, C e D, respectivamente. A mistura foi feita via seca em misturador em V e a compressão em uma máquina compressora rotativa. Os resultados mostraram diferenças no comportamento das amostras de SV na fase de transição do processo de fusão e na energia de ativação de decomposição térmica, que foram diretamente correlacionados com a estabilidade térmica das mesmas. O processo de decomposição térmica da SV foi analisado por Pir-CG/EM e seus resultados mostraram que a quebra da SV ocorre com a formação de dois novos compostos de m/z 284 e m/z 207, em proporções que dependem das temperaturas do pirolisador. Os resultados de DTA mostraram não haver interação da celulose com a sinvastatina no processo de fusão do fármaco. O dados termogravimétrico mostraram alteração na estabilidade térmica da sinvastatina nas misturas binárias com diferentes celuloses. Foi demonstrado também diferença entre as diferentes misturas. A ordem de estabilidade térmica para as amostras estudadas foi SV > SVMCB102 ≥ SVMCB102 ≥ SVMCB101 > SVMCR101. Os dados de dissolução intrínseca analisados pelo fator de diferença (F_1) e fator de semelhança (F_2) mostraram não haver diferença entre os perfis de dissolução intrínseca dos diferentes lotes de sinvastatina. Os perfis de dissolução dos preformulados, analisados pelo mesmo modelo, demonstraram haver diferença entre os perfis de dissolução quando utilizados diferentes tipos de celulose, porém não houve diferença quando utilizado o mesmo tipo de celulose de difentes fabricantes.

Palavras chave: Sinvastatina, Análise térmica, Pirólise, Dissolução intrínseca, Perfil de dissolução, Preformulação.

ABSTRACT

Simvastatin (SV) is a white or almost white, crystalline powder, practically insoluble in water, very soluble in methylene chloride, freely soluble in alcohol. It's one of the statins most commonly used to treat several forms of hypercholesterolemia. This study aimed to apply the thermal analysis [Thermogravimetry (TG), Differential Scanning Calorimetry (DSC), Differential Scanning Calorimetry coupled to Photovisual system (DSC-Photovisual) and Differential Thermal Analysis (DTA)], Pyrolysis coupled to Gas Chromatography/Mass Spectrometry (Pyr-GC/MS) and dissolution to characterize of simvastatin pharmaceutical raw material, binary mixtures with different celluloses (from different manufacturers) and preformulates. It was utilized three different SV samples that were denominates SVA, SVB and SVC, mixtures of drug with different celluloses (PH101 and PH102) and preformulates. The dynamic thermogravimetric studies were performed at heating rates of 10, 20 and 40 ° C/min. The isothermal thermogravimetric studies were performed at temperatures of 165, 175, 185, 195 e 205 ° C. DSC studies of SV samples were made on the grounds heating of 2, 5, 10, 20 and 40 ° C/min. DTA data were obtained using the heat rate of 10 ° C/min to SV and binary mixtures (1:1) with different celluloses. The pre-formulated were prepared varying only the microcrystalline cellulose used in each. The cellulose batches used to obtain the different preformulates were: MCR102, MCB102, MCR101 and MCB101 to preformulates A, B, C and D, respectively. The mixture was made in the dry mixer in V and compression with a rotary compressor machine. The results showed differences in the behavior of samples in the phase transition of melting process and in the activation energies of thermal decomposition, which were directly correlated to the thermal stability of them. The thermal decomposition process of SV was analyzed by Pyr-GC/MS and its results showed that breaking of SV occur with formation of two new compounds of m/z 284 and m/z 207 in proportions that depend from pyrolyzer temperatures. The DTA studies were used a heating rate of 10 ° C/min for the SV and binary mixtures (1:1) with different cellulose. The DTA results showed no interaction of cellulose with simvastatin in the melting process of the drug. The thermogravimetric data showed changes in thermal stability of simvastatin in binary mixtures with different celluloses. It was also shown difference between the different mixtures. The sequence of thermal stability from samples studied was SV > SVMCB102 ≥ SVMCB102 ≥ SVMCB101 > SVMCR101. The intrinsic dissolution data analyzed by difference factor (F_1) and similarity (F_2) showed no difference among the intrinsic dissolution profiles from different batches of simvastatin. The dissolution profiles from preformulates, analyzed by the same model, showed difference among the dissolution profiles when used different types of celluloses, but no difference when using the same type of cellulose from different manufacturers.

Key words: Simvastatin, Thermal analysis, Pyrolysis, Intrinsic dissolution, Dissolution profile, Preformulation.

LISTA DE FIGURAS

Figura I-1: Cadeia de pesquisa e desenvolvimento de fármacos e medicamentos...	19
Figura I-2: Classificação das técnicas termoanalíticas conforme as propriedades estudadas.....	21
Figura I-3: Curva DSC típica da sinvastatina.....	23
Figura I-4: Curva DTA típica da sinvastatina.....	26
Figura I-5: Curvas termogravimétricas típicas da decomposição da sinvastatina: curva TG dinâmica em A e TG isotérmica em B.	27
Figura I-6: Farmacóforo das estatinas.....	31
Figura II-1: Estrutura química da sinvastatina.	35
Figura II-2: Curvas DSC das amostras SVA, SVB e SVC nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40 °C/min.	38
Figura II-3: DSC-Fotovisual das amostras SVA, SVB e SVC na razão de aquecimento de 10 °C/min.	39
Figura II-4: Curvas termogravimétricas dinâmicas das amostras de SV (SVA, SVB and SVC) nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min e DSC na razão de aquecimento de 10 ° C/min.	40
Figura II-5: Correlação entre a energia cinética média de degradação, para cada lote, e suas respectivas constantes extrapoladas a 30 °C em A e o tempo necessário para decomposição de 2 % de massa em B.....	41
Figura II-6: Pirogramas obtidos para a SV mostrando os produtos de degradação no processo de degradação térmica a 200 °C [(1) 284 m/z, (2) 198 m/z], 250 °C [(1) 284 m/z, (2) 198 m/z], 300 °C [(1) 240 m/z, (2) 207 m/z], 400 °C [(1) 238 m/z, (2) 240 m/z, (3) 207 m/z] e 550 °C [(1) 142 m/z, (2) 156 m/z].	42
Figura III-1: Curvas DTA do fármaco e misturas na razão de aquecimento de 10 ° C/min.....	50
Figura III-2: Curvas termogravimétricas dinâmicas do fármaco, celulosas e misturas nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min.	53
Figura IV-1: Percentual dissolvido <i>versus</i> tempo dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.	64
Figura IV-2: Pressão de vapor <i>versus</i> massa dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.	65
Figura IV-3: Correlação da pressão de vapor <i>versus</i> velocidade de dissolução intrínseca dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.	66
Figura IV-4: Perfis de dissolução dos preformulados A, B, C e D mostrando percentual dissolvido <i>versus</i> tempo.	67

LISTA DE TABELAS

Table III-1: Parâmetros calorimétricos das misturas binárias de diferentes amostras de sinvastatina com diferentes celulosas determinados por DTA na razão de aquecimento de 10 ° C/min.	51
Table III-2: Constantes de reação (k) e coeficiente de correlação (r^2) na decomposição isotérmica do fármaco SV e das misturas binárias do mesmo com diferentes celulosas nas temperaturas de (165, 175, 185, 195 and 205 ° C) e a constante extrapolada para 30 ° C.	54
Table IV-1: Dados estatísticos fator de diferença (F_1) e fator de similaridade (F_2) da porcentagem de liberação na dissolução intrínseca dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.	65
Table IV-2: Avaliação do peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e uniformidade dos preformulados A, B, C e D.	67
Table IV-3: Dados estatísticos fator de diferença (F_1) e fator de similaridade (F_2) da porcentagem de liberação no perfil de dissolução dos preformulados A, B, C e D da sinvastatina.	68

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo Geral	17
2.2. Objetivos Específicos.....	17
<i>CAPÍTULO I: Revisão Bibliográfica.....</i>	<i>18</i>
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	19
3.1. Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos.....	19
3.2. Pré-formulação.....	19
3.3. Análise Térmica	21
3.3.1. Aspectos Gerais	21
3.3.2. Aplicação da Análise Térmica no Estudo de Fármacos e Medicamentos.....	22
3.3.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	23
3.3.4. Análise Térmica Diferencial (DTA)	25
3.3.5. Termogravimetria (TG).....	26
3.4. Pirólise acoplada a CG/EM	28
3.5. Dissolução	29
3.6. Estatinas.....	30
<i>CAPÍTULO II: Artigo I.....</i>	<i>33</i>
Aplicação da análise térmica e pirólise acoplada a CG/EM na qualificação da matéria-prima farmacêutica sinvastatina	34
RESUMO.....	34
1. INTRODUÇÃO.....	34
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
2.1. Amostras	35
2.2. Estudos de análise térmica	36
2.2.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	36
2.2.2. DSC acoplado a sistema fotovisual (DSC-Fotovisual).....	36
2.2.3. Termogravimetria (TG).....	36
2.3. Pirólise acoplada a CG/EM	37
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
3.1. Estudos de análise térmica.....	38
3.1.1. DSC e DSC-Fotovisual	38
3.1.2. Termogravimetria	39
3.2. Pirólise acoplada a CG/EM	41
4. CONCLUSÕES	43
5. AGRADECIMENTOS	44
6. REFERÊNCIAS	44
<i>CAPÍTULO III: Artigo II.....</i>	<i>46</i>
Aplicação da TG e DTA no estudo da compatibilidade e estabilidade da sinvastatina com diferentes celulosas.....	47
RESUMO.....	47
1. INTRODUÇÃO.....	47
2. MATERIAIS E MÉTODOS.....	48
2.1. Amostras.....	48
2.2. Estudos de análise térmica.....	49
2.2.1. Análise Térmica Diferencial (DTA)	49

2.2.2. Termogravimetria (TG).....	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	50
3.1. Estudos de análise térmica.....	50
3.1.1. Análise Térmica Diferencial (DTA)	50
3.1.2. Termogravimetria (TG)	52
4. CONCLUSÕES	55
5. AGRADECIMENTOS	55
6. REFERÊNCIAS	56
<i>CAPÍTULO IV: Artigo III</i>	58
Influência de diferentes celulosas microcristalinas na dissolução da sinvastatina	59
<i>RESUMO</i>	59
1. INTRODUÇÃO.....	60
2. MATERIAIS E MÉTODO	61
2.1. Amostras.....	61
2.2. Termogravimetria (TG)	61
2.3. Pressão de Vapor.....	61
2.4. Preparação dos preformulados.....	62
2.5. Avaliação preliminar dos preformulados	62
2.6. Perfil de dissolução e dissolução intrínseca	63
2.7. Análise Estatística	63
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	64
3.1. Dissolução intrínseca da sinvastatina.....	64
3.2. Pressão de vapor	65
3.3. Avaliação preliminar dos preformulados	66
3.4. Perfil de dissolução dos preformulados.....	67
4. CONCLUSÕES	68
5. AGRADECIMENTOS	69
6. REFERÊNCIAS	69
4. CONCLUSÕES	72
PERSPECTIVAS	75
REFERÊNCIAS.....	77

Introdução

1. INTRODUÇÃO

O controle da qualidade é exigido em todas as indústrias para a verificação da conformidade com os padrões estabelecidos, e está intimamente ligado ao fator econômico. Na indústria farmacêutica, a importância e o rigor com o controle da qualidade são bem maiores devido aos aspectos morais e éticos que estão relacionados com a produção de medicamentos [1].

Devido ao exacerbado crescimento do mercado nacional farmacêutico e a rigorosa exigência de controle da qualidade dos medicamentos, busca-se aprimorar cada vez mais os estudos de pré-formulação com métodos rápidos que respondam ao desenvolvimento tecnológico farmacêutico com a qualidade exigida no menor tempo possível.

Um dos princípios do delineamento de formas farmacêuticas é o de assegurar que a integridade química do fármaco seja mantida durante o tempo de vida útil do medicamento. Ao mesmo tempo, alterações químicas que envolvam os adjuvantes, bem como qualquer alteração física do produto, devem ser cuidadosamente monitoradas, de modo a otimizar a estabilidade da formulação [2].

Neste sentido, embora o mecanismo da degradação no estado sólido seja complexo, e muitas vezes de difícil análise, a compreensão deste é um pré-requisito no delineamento de formulações farmacêuticas apropriadas, de modo que a investigação da possibilidade de ocorrência de interação entre os constituintes da formulação e/ou dos materiais de embalagem devem ser consideradas, tendo em vista que tais interações podem favorecer a degradação do princípio ativo, e consequentemente, alterar a qualidade, eficácia e/ou segurança do medicamento.

Ao longo dos últimos anos, os dados obtidos por meio de técnicas termoanalíticas, quando examinados criteriosamente, têm demonstrado ser de grande utilidade na investigação rápida de possíveis interações entre fármacos e excipientes, bem como entre fármacos [3], permitindo desde modo a previsão de possíveis problemas de estabilidade e/ou incompatibilidades de uma determinada formulação desde a fase de desenvolvimento da mesma.

O termo análise térmica é aplicado a qualquer técnica que envolva a medição de uma propriedade específica do material, enquanto a temperatura é controlada (alterada ou mantida) e monitorada [4].

Os métodos de análise térmica mostram-se como métodos rápidos e reprodutíveis que podem ser utilizados, isolados ou combinados com outras técnicas, com diversas finalidades na indústria farmacêutica, por exemplo: no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas [5,6] e no estudo da caracterização e decomposição térmica de fármacos [7-9].

Outra importante ferramenta utilizada na indústria farmacêutica são os testes de dissolução *in vitro*, os quais podem ser utilizados em diferentes estágios do ciclo de vida de um medicamento, como por exemplo: identificação de variáveis críticas na produção, seleção e otimização de formulações, controle da qualidade dos lotes produzidos e isenção dos estudos de biodisponibilidade relativa para algumas dosagens do mesmo produto [10].

As doenças cardiovasculares coronarianas, dislipidemias, hipertensão, obesidade e *diabetes mellitus* formam um conjunto de morbidades geralmente associadas entre si, constituindo-se em graves problemas de Saúde Pública [11-14], sendo as doenças cardiovasculares a principal causa de morte no Brasil.

Existem diferentes classes de fármacos empregados para tratamento das dislipidemias. As estatinas representam poderoso instrumento terapêutico na prevenção e no controle das dislipidemias, reduzindo efetivamente os eventos fatais e não fatais de coronariopatia (CP), acidente vascular encefálico e mortalidade total em função da aterosclerose.

A ação principal destas drogas é reduzir as LDL-colesterol plasmáticas, interferindo na biossíntese do colesterol por inibição competitiva da 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase que catalisa uma etapa inicial e limitante na biossíntese do colesterol (conversão da HMG-CoA em ácido mevalônico) e aumentando o número de receptores hepáticos para a ApoB100 (principal apolipoproteína das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que é responsável por transportar o colesterol para os tecidos) [15-17].

Neste sentido o presente trabalho teve como objetivo a aplicação da análise térmica e estudos de dissolução na caracterização da sinvastatina e excipientes no desenvolvimento de formulações sólidas.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo estudar os parâmetros térmicos e de dissolução na avaliação da qualidade e qualificação da matéria-prima farmacêutica sinvastatina, excipientes, misturas binárias e preformulados.

2.2. Objetivos Específicos

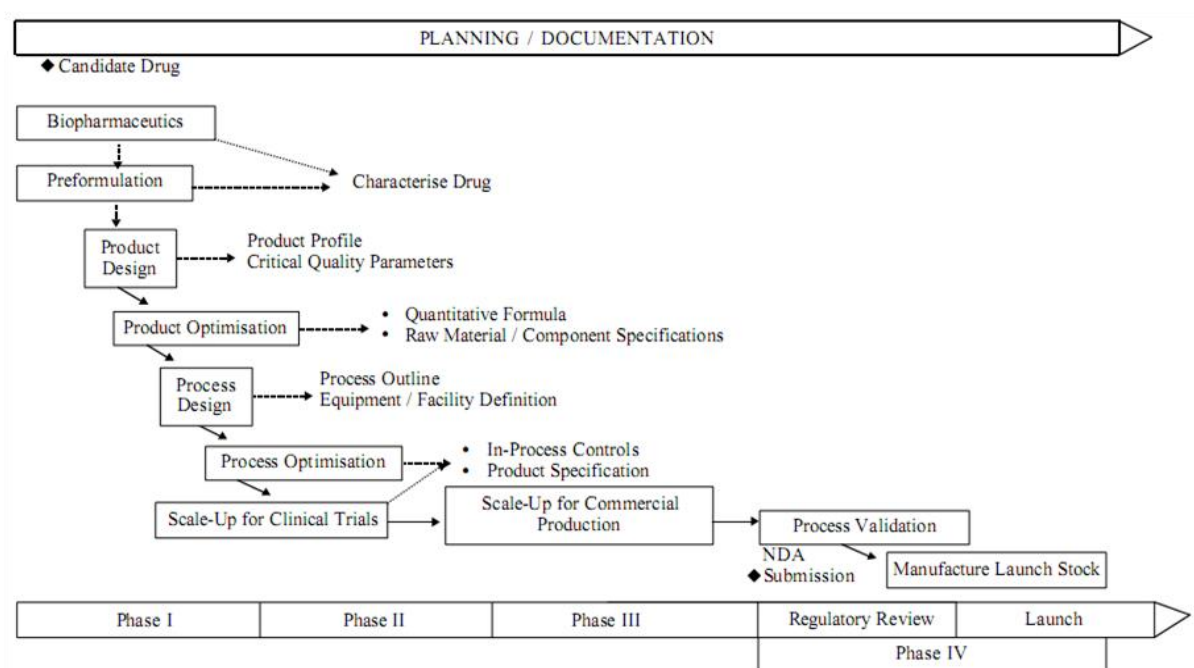
- ✓ Determinar os parâmetros cinéticos de estabilidade térmica do fármaco sinvastatina através dos dados termogravimétricos dinâmicos e isotérmicos;
- ✓ Avaliar o comportamento térmico de decomposição da sinvastatina através da pirólise acoplada à cromatografia gasosa capilar e espectrometria de massa (Pir-CG/EM);
- ✓ Avaliar a compatibilidade do fármaco e excipientes;
- ✓ Determinar as constantes cinéticas de dissolução intrínseca do fármaco;
- ✓ Avaliar a influência de diferentes tipos de celulose microcristalina de diferentes fabricantes na dissolução da sinvastatina.

CAPÍTULO I: Revisão Bibliográfica

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos

O desenvolvimento de um novo medicamento (a partir de um composto químico sintético, um composto químico extraído de uma fonte natural ou um composto produzido por processos biotecnológicos) é um processo longo e complexo que envolve uma abordagem multidisciplinar e em várias fases conforme Figura I-1[18].



Fonte: GIBSON, M.. *Pharmaceutical Preformulation And Formulation: A Practical Guide from Candidate Drug Selection to Commercial Dosage Form*. 1st Ed. New York: Interpharm/ CRC, 2004. p. 9.

Figura I-1: Cadeia de pesquisa e desenvolvimento de fármacos e medicamentos.

3.2. Pré-formulação

A pré-formulação é a etapa no desenvolvimento de uma forma farmacêutica, onde se ocupa da investigação do comportamento físico-químico de um princípio ativo isoladamente e combinado à outras substâncias presentes na formulação, e tem como objetivo gerar informações que auxiliem o pré-formulador a desenvolver uma forma farmacêutica estável e com características de biodisponibilidade adequadas [19-20].

Conforme [1, 21] um estudo de pré-formulação bem elaborado deve incluir avaliação de diversas propriedades incluindo:

✓ Caracterização química	{ identificação; pureza; perfil de impurezas; solventes residuais
✓ Caracterização estrutural	{ polimorfismo; solvato; grau de cristalinidade;
✓ Caracterização física	{ dimensão; distribuição granulométrica; superfície específica; densidade; ponto de fusão; análise térmica; umidade; molhabilidade;
✓ Caracterização mecânica	{ coesão; adesão; escoamento; volume aparente;

3.3. Análise Térmica

3.3.1. Aspectos Gerais

Ao se estudar o desenvolvimento dos métodos termoanalíticos, chama a atenção o fato desta evolução ter sido lenta, embora os fundamentos teóricos já se encontrassem solidamente estabelecidos desde os fins do século XIX (Termodinâmica Clássica), só se acelerando a partir da segunda metade do século XX [22].

O termo análise térmica é aplicado a qualquer técnica que envolva a medição de uma propriedade específica do material, enquanto a temperatura é controlada (alterada ou mantida) e monitorada [4]. A definição correta segundo a Confederação Internacional de Análise Térmica (ICTAC) é: “Um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”.

Conforme [22], esta definição implica que para uma técnica ser considerada termoanalítica ela deverá satisfazer três critérios básicos:

- ✓ Uma propriedade física tem que ser medida;
- ✓ A medida deve ser expressa (direta ou indiretamente) como função da temperatura;
- ✓ A medida tem que ser feita sob um programa controlado de temperatura.

Os métodos que envolvem mudanças no peso ou na energia se enquadram nesta definição [2].

Conforme a propriedade analisada, as técnicas termoanalíticas didaticamente podem ser agrupadas conforme o esquema abaixo, Figura I-2:

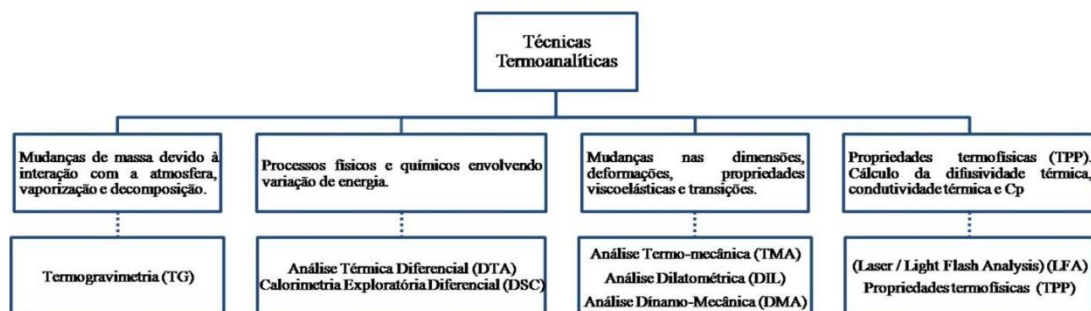


Figura I-2: Classificação das técnicas termoanalíticas conforme as propriedades estudadas.

De acordo com [23], algumas das vantagens que a análise térmica possui em relação a outros métodos analíticos são:

- ✓ A amostra pode ser estudada sobre uma grande faixa de temperatura usando vários programas de temperatura;
- ✓ Quase todas as formas físicas da amostra (sólido, líquido ou gel) podem ser usadas;
- ✓ Uma pequena quantidade da amostra (0,1µg – 10mg) é requerida;
- ✓ A atmosfera na vizinhança pode ser padronizada;
- ✓ O tempo requerido para completar o período de experimento é de alguns minutos a algumas horas;
- ✓ Os instrumentos de análise térmica têm preços razoáveis.

Na indústria farmacêutica a implementação da análise térmica surge como um método analítico, qualitativo e comparativo, capaz de produzir resultados rápidos e reprodutíveis, visando a análise global da qualidade tecnológica de medicamentos [24].

Entre as técnicas termoanalíticas empregadas na indústria farmacêutica, três delas destacam-se como importantes ferramentas no estudo de pré-formulação e formulação, são elas: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Análise Térmica Diferencial (DTA) e Termogravimetria (TG) [25].

3.3.2. Aplicação da Análise Térmica no Estudo de Fármacos e Medicamentos

Um medicamento é uma associação de um ou mais fármacos, com um ou mais excipientes e/ou veículos contido em uma embalagem, sendo que como corpos químicos tem uma certa energia interna e estão sujeitos a reagir entre si. Além disso, como o sistema não é isolado está sujeito à ação do meio [26].

Deste modo torna-se essencial à realização de estudo de estabilidade das preparações farmacêuticas em todas as suas formas de apresentação, para que se possa garantir a pureza, inocuidade, potência e eficácia do produto até o momento de sua utilização, e estabelecer por quanto tempo, desde o momento de sua produção essas características podem ser mantidas [27-28].

Existem vários fatores capazes de interferir na estabilidade de medicamentos: hidrólise, oxidação, fotólise, pH, tamanho de partícula, incompatibilidade, temperatura, umidade, radiações, etc. [26, 28].

Neste sentido o uso das técnicas termoanalíticas tem aumentado no campo de desenvolvimento de formas farmacêuticas, incluindo a caracterização de excipientes e o desenvolvimento de formulações a partir dos resultados obtidos nas análises térmicas. A calorimetria exploratória diferencial (DSC) pode ser usada para estudar interação fármaco-excipiente. Tais estudos de compatibilidade mostram várias vantagens na sua utilização para avaliar a compatibilidade fármaco-excipiente: não é necessário armazenamento por longo prazo, utiliza pouca quantidade de amostra no desenvolvimento de pré-formulação e avalia a compatibilidade e estabilidade de pré-formulados [29].

Em tais análises a ocorrência de mudanças das propriedades térmicas pode indicar alterações entre componentes da mistura e formulações. As consequências podem resultar em produtos com baixa estabilidade ou alteração na dissolução [3, 30].

A análise térmica de formulações é complexa devido à possibilidade de interações eutéticas, formação de solução sólida, polimorfismo, transições poliméricas, fusão ou decomposição do princípio ativo ou qualquer excipiente [31-32].

3.3.3. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial é uma técnica térmica em que diferenças no fluxo de aquecimento de uma substância e referência são medidas em função da temperatura da amostra, enquanto as duas são sujeitas a um programa controlado de temperatura, mostrado na Figura I-3 [3, 22-23].

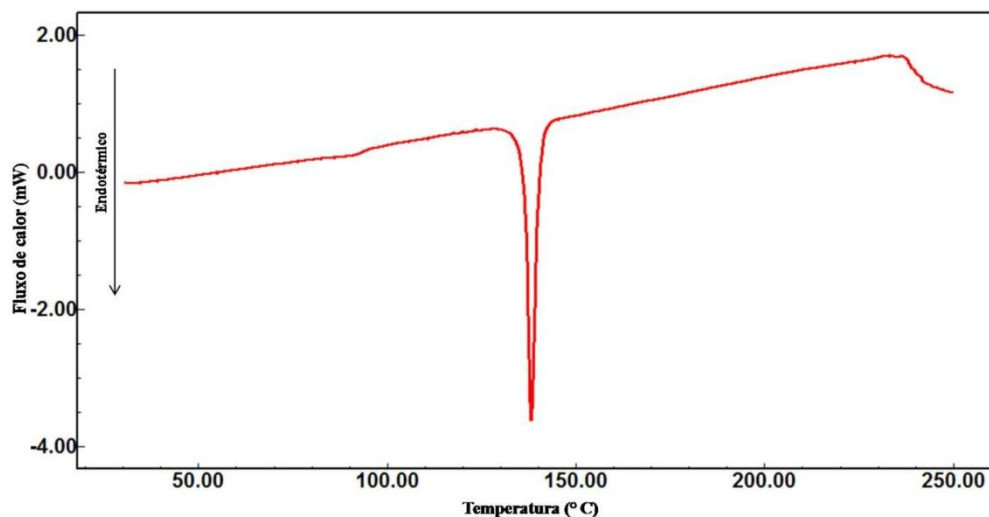


Figura I-3: Curva DSC típica da sinvastatina.

Conforme descrito em [3] existe fundamentalmente dois tipos de instrumentação para obtenção de dados de DSC:

- ✓ DSC de energia compensada - possui dois fornos individuais. A diferença de temperatura entre a amostra e referência é compensada por variação do calor requerido para manter ambas panelinhas a mesma temperatura. Esta diferença de energia é plotada como uma função da temperatura da amostra.

- ✓ DSC de fluxo de calor – utiliza um simples forno. As diferenças no fluxo de calor na amostra e referência são medidas em função da temperatura da amostra. Os dois métodos dão a mesma informação, porém os instrumentos são fundamentalmente diferentes.

As amostras de DSC são analisadas em pequenas panelinhas de metal, designadas pela ótima condutividade térmica e reações mínimas com as amostras (por ex., alumínio, platina, prata, liga e aço inoxidável).

Os picos da calorimetria exploratória diferencial resultam tanto de modificações físicas como reações químicas induzidas por variações de temperatura da amostra. Os processos físicos endotérmicos incluem fusão, vaporização, absorção e desorção. A adsorção e a cristalização geralmente são exotérmicas. As reações químicas podem ser também exotérmicas ou endotérmicas. As reações exotérmicas incluem oxidação no ar ou na presença de oxigênio, polimerização e reações catalíticas. As reações endotérmicas incluem desidratação, redução em uma atmosfera gasosa e decomposição (3).

Conforme [22, 33] as principais vantagens do uso do DSC são:

- ✓ Rápido tempo de análise;
- ✓ Fácil preparo da amostra;
- ✓ Pode ser aplicado para sólidos e líquidos;
- ✓ Larga faixa de temperatura;
- ✓ Medidas quantitativas.
- ✓ Aplicável a processo de resfriamento e medidas sob alta pressão
- ✓ Estudar diferentes tipos de reações químicas.

As principais desvantagens do DSC são[22, 33]:

- ✓ Redução da sensibilidade quando a linha base está em inclinação ou curvatura;

✓ Algumas transições observadas são complexas e apresentam dificuldade para interpretação (por exemplo, temperatura de transição vítrea, fusão e cristalização).

✓ Não permitem determinar a entalpia de reações sobrepostas.

✓ Precisão e exatidão relativamente baixas (5% - 10% em alguns casos)

Existem diversas aplicações para uso do DSC. No setor farmacêutico podemos destacar dentre elas [3, 22, 33].

✓ Determinação do ponto de fusão;

✓ Determinação do calor de fusão;

✓ Determinação de pureza;

✓ Caracterização de polimorfismo;

✓ Caracterização de pseudopolimorfismo;

✓ Estudo de diagramas de fase;

✓ Evaporação, desorção e vaporização de substâncias;

✓ Transição vítrea;

✓ Estudo de compatibilidade droga-excipientes;

✓ Estudo de estabilidade térmica;

✓ Estudo de cinética de decomposição.

3.3.4. *Análise Térmica Diferencial (DTA)*

A Figura I-4 mostra uma curva típica de DTA, na qual a diferença na temperatura entre a amostra e uma substância de referência é medida em função da temperatura. Enquanto, a amostra e a referência são submetidas a um programa de temperatura controlada [3, 23].

Um instrumento de DTA típico compreende um forno, tendo célula de amostra e referência, um controlador do diferencial de temperatura com amplificador associado e sistema de registro com controle de temperatura e atmosfera programada do forno[22-23].

A referência, geralmente utilizada, é a α -alumina, substância termicamente inerte, que não exhibe mudanças de fase com variações de temperaturas.

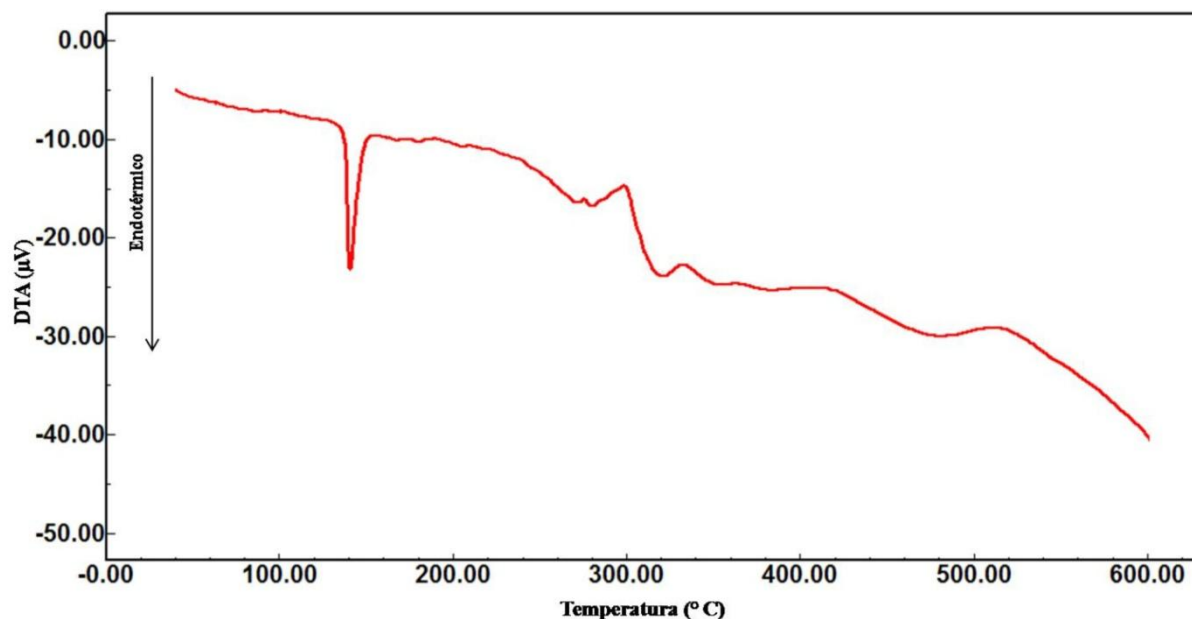


Figura I-4: Curva DTA típica da sinvastatina.

O DTA é utilizado na determinação do comportamento térmico e composição de produtos industrializados. Como também, na formação de diagramas de fase e no estudo de transições de fase. Esse método também fornece um caminho simples e preciso para determinação do ponto de fusão e ebulição e decomposição de compostos orgânicos. Em curvas DSC ou DTA os picos resultam de mudanças físicas e reações químicas induzidas por mudanças na temperatura da amostra. Os processos físicos são endotérmicos e incluem fusão, vaporização, sublimação, absorção e desorção. Sendo que, os processos adsorção e cristalização são geralmente exotérmicos. Reações endotérmicas incluem desidratação, redução em atmosfera gasosa e decomposição. Reações exotérmicas incluem oxidação em ar e oxigênio, polimerização e reações catalíticas [3, 22-23].

3.3.5. Termogravimetria (TG)

É uma técnica termoanalítica na qual se analisa continuamente a massa da amostra, em uma atmosfera controlada, em função da temperatura ou do tempo. O método termogravimétrico fornece informações sobre reações de decomposição e oxidação, e de processos físicos como vaporização, sublimação e desorção. O estudo de decomposição térmica de sólidos compreende três etapas principais: isolamento e identificação dos intermediários e produtos finais da reação;

determinação das constantes de velocidade; determinação dos parâmetros cinéticos, que caracterizam as reações de decomposição térmica[3, 34].

A interpretação das observações obtidas com TG frequentemente requer apoio de métodos complementares. Métodos importantes para confirmar a identidade dos processos investigados por TG frequentemente útil incluem medições de entalpia (DSC e DTA), análise de gás desprendido (EGA), as determinações estruturais (difração de raios-X), microscopia (mudanças texturais dos sólidos), etc [3].

O registro da análise é representado pela curva TG ou termogravimétrica, sendo a massa colocada no eixo das ordenadas, com valores decrescentes de cima para baixo e o tempo (t) ou temperatura (T) no eixo das abscissas, com valores crescentes da esquerda para a direita Figura I-5.

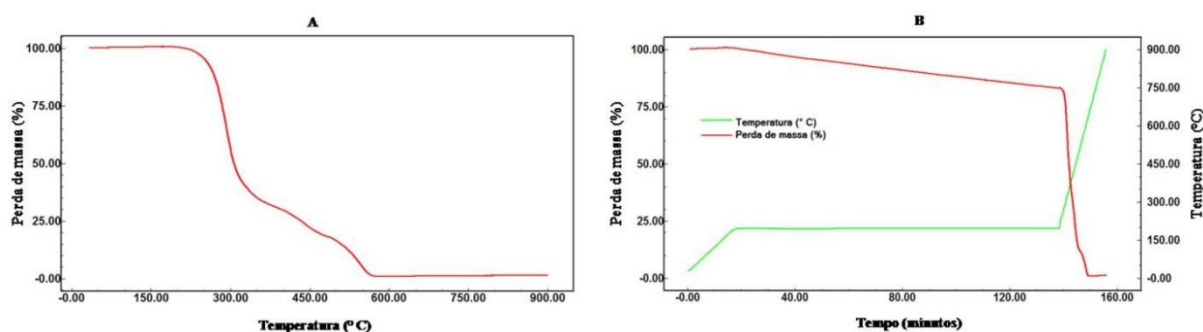


Figura I-5: Curvas termogravimétricas típicas da decomposição da sinvastatina: curva TG dinâmica em A e TG isotérmica em B.

As curvas de variação de massa em função da temperatura, permitem tirar conclusões sobre a estabilidade térmica da amostra e sobre a composição do resíduo [35].

Os componentes essenciais da termobalança moderna consistem em uma microbalança eletrônica, um programador de temperatura, um suporte para a amostra, um acessório para estabelecer a atmosfera adequada e um registrador. A sensibilidade da balança é em torno de micrograma, com uma capacidade total em torno de cem miligramas. O forno pode ser programado a temperatura de até 1000 °C, com velocidade de aquecimento de até 100 °C/minuto. A atmosfera do forno é controlada, principalmente, para garantir que o ambiente seja o mais constante possível durante o experimento. Os materiais do suporte da amostra comumente utilizados incluem: platina, sílica e alumina [36].

Para [3, 22, 25, 37] a termogravimetria provê informações sobre uma variedade de investigações químicas, incluindo:

- ✓ Calcinação;
- ✓ Atividade catalítica;
- ✓ Decomposição;
- ✓ Desolvatação (particularmente desidratação);
- ✓ Avaliação de precipitados gravimétricos;
- ✓ Higroscopicidade;
- ✓ Identificação;
- ✓ Cinética;
- ✓ Estabilidade oxidativa e redutora;
- ✓ Pureza;
- ✓ Reações no estado sólido;
- ✓ Absorção (e desorção);
- ✓ Sublimação;
- ✓ Estabilidade térmica;
- ✓ Vaporização.

3.4. Pirólise acoplada a CG/EM

CG/EM é usado tanto para a identificação qualitativa e quantitativa quanto para a medição de componentes individuais em misturas complexas. O fato da fase móvel ser um gás cria características únicas adicionais, uma das quais tem a ver com mecanismo da separação, visto que envolve as pressões de vapor relativas dos componentes, pois como a fase móvel é um gás, os componentes da mistura também devem ser gases, ou pelo menos líquidos, com pressões de vapor relativamente alta sendo necessário utilizar temperaturas elevadas para que os componentes da mistura a ser separados se apresentem como uma fase gasosa móvel. [38].

A pirólise é uma técnica de degradação de moléculas em fragmentos menores, utilizando exclusivamente energia térmica [39]. Desta forma pode-se associar a pirólise a cromatografia gasosa para obtenção de compostos ou fragmentos na fase gasosa permitindo assim a identificação e/ou quantificação dos mesmos.

A espectrometria de massa é uma técnica analítica baseada na determinação da massa atômica ou molecular de uma espécie individual numa amostra. O grande desenvolvimento da técnica, resultando no aumento de sua aplicabilidade, ocorreu a partir da década de 70, devido ao acoplamento às técnicas cromatográficas, ao surgimento de novas formas de ionização, e ao desenvolvimento de computadores e aplicativos. A importância do seu acoplamento com técnicas cromatográficas deve-se ao tipo de informação que se obtém, como identificação de compostos, quantificação de compostos conhecidos e elucidação da estrutura e de propriedades químicas de moléculas. Na espectrometria de massa, moléculas gasosas são ionizadas, aceleradas por um campo elétrico para um analisador, numa região de alto vácuo, e então separadas de acordo com sua relação massa/carga. A grande quantidade de energia que normalmente é fornecida à molécula para que ocorra a ionização, faz com que esta fragmente, resultando em espectros de massas característicos de cada substância. O espectro de massas corresponde à abundância relativa dos íons em função da razão massa/carga (razão m/z) [40].

3.5. Dissolução

Outra importante ferramenta utilizada na indústria farmacêutica são os testes de dissolução *in vitro*, os quais podem ser utilizados em diferentes estágios do ciclo de vida de um medicamento, como por exemplo: identificação de variáveis críticas na produção, seleção e otimização de formulações, controle da qualidade dos lotes produzidos e isenção dos estudos de biodisponibilidade relativa para algumas dosagens do mesmo produto [10].

De uma maneira simples, dissolução pode ser definida como o processo pelo qual as partículas de um fármaco dissolvem-se, e esse que antes encontrava-se no estado sólido, libera-se de sua forma farmacêutica de administração, sendo as moléculas da superfície as primeiras a entrarem em solução. Na interface fármaco-solução, forma-se uma camada dita estagnante a partir da qual as moléculas do fármaco difundem através do líquido solvente e entram em contato com as membranas biológicas, ocorrendo a absorção [20].

A taxa de dissolução intrínseca de um determinado material é determinada em substâncias puras ou de alto teor de pureza, normalmente sob condições *sink*,

utilizando um procedimento padrão, no qual a geometria do sistema é fixa e mantida constante. Sob essas condições, a relação obtida quando se plotam os dados de quantidade *versus* tempo é linear e a inclinação da reta (*slope*) é igual à taxa de dissolução em unidades de massa por unidades de tempo. Considerando-se que a área superficial exposta é conhecida, a taxa de dissolução intrínseca pode ser expressa como massa dissolvida por área por tempo (por exemplo: mg/cm²/min) [41].

3.6. Estatinas

As doenças cardiovasculares coronarianas, dislipidemias, hipertensão, obesidade e diabetes mellitus formam um conjunto de morbidades geralmente associadas entre si, constituindo-se em graves problemas de Saúde Pública [12-14].

Durante os últimos trinta anos presenciamos declínio razoável da mortalidade por causas cardiovasculares em países desenvolvidos, enquanto elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido em países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil. De acordo com as projeções da Organização Mundial de Saúde, esta tendência de elevação na doença cardiovascular tende a persistir, agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade elevadas nestes países [42-43]. Dentre as Doenças Cardiovasculares (DCV) as que constituem as principais causas de mortalidade são a doença isquêmica do coração (DIC) e a doença cerebrovascular (DCBV) [44].

Nos últimos 40 anos, um grande número de evidências epidemiológicas demonstrou, de forma conclusiva, que as dislipidemias, em particular o aumento dos níveis séricos de LDL colesterol (LDL-c) e/ou baixos níveis de HDL colesterol (HDL-c), são preditores diretos de coronariopatias (CP) [45-49], e por isso são os principais alvos de intervenção, de acordo com as diretrizes do Programa Nacional de Educação sobre o Colesterol [50].

Existem diferentes classes de fármacos empregados para tratamento das dislipidemias. As estatinas representam poderoso instrumento terapêutico na prevenção e no controle das dislipidemias, reduzindo efetivamente os eventos fatais e não fatais de coronariopatia (CP), acidente vascular encefálico e mortalidade total em função da aterosclerose [47, 51-56], sendo portanto, fármacos de primeira linha usados com esta finalidade [57].

A ação principal destas drogas é reduzir as LDL-colesterol plasmáticas, interferindo na biossíntese do colesterol por inibição competitiva da 3-hidróxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase que catalisa uma etapa inicial e limitante na biossíntese do colesterol (conversão da HMG-CoA em ácido mevalônico) e aumentando o número de receptores hepáticos para a ApoB100 (principal apolipoproteína das lipoproteínas de baixa densidade (LDL), que é responsável por transportar o colesterol para os tecidos) [15-17].

Estatinas com ação redutora dos níveis de colesterol incluem: compostos naturais (lovastatina e mevastatina), semi-sintéticos (sinvastatina e pravastatina) e totalmente sintéticos (fluvastatina, atorvastatina, cerivastatina e rosuvastatina). Destas, as mais comumente encontradas nas formulações farmacêuticas são a sinvastatina e a atorvastatina [58-59].

Em geral, as estatinas existem em duas formas, lactona e hidroxíacida. *In vivo*, a forma hidroxíacida é a forma ativa da droga para reduzir o colesterol plasmático, enquanto que a forma lactona é inativa (pró-droga). A forma lactona das estatinas pode ser absorvida pelo trato gastrointestinal e hidrolisada para β -hidroxíacida, forma ativa, no fígado e em tecidos não hepáticos [60-61].

Os componentes estruturais essenciais de todas as estatinas são uma unidade de ácido dihidroxiheptanóico e um sistema de anéis com substituintes diferentes. O grupo farmacofórico das estatinas é um componente modificado do ácido hidroxiglutarico, que é estruturalmente semelhante ao substrato endógeno HMG-CoA redutase (Figura I-6). O farmacóforo das estatinas liga-se ao mesmo sítio ativo que o substrato HMG-CoA e inibe a enzima HMGR [60, 62].

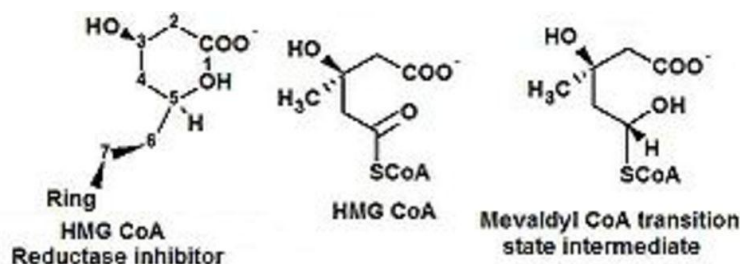


Figura I-6: Farmacóforo das estatinas

Existe metodologia farmacopéica para análise da matéria-prima e comprimidos da sinvastatina na United States Pharmacopoeia 32 (USP-32) e na British Pharmacopoeia 2009 (BP-2009), a qual é descrita como sendo um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, muito solúvel em

cloreto de metileno e solúvel em álcool, com peso molecular de 418,57 u.m.a e fórmula molecular $C_{25}H_{38}O_5$ [36-63].

Os ensaios descritos para a matéria-prima são: Identificação (infravermelho e comparação do tempo de retenção da solução amostra com a solução padrão determinada no doseamento); rotação óptica específica; perda por dessecação (secagem a vácuo); resíduo por incineração; metais pesados (método II), pureza cromatográfica (cromatografia líquida de alta eficiência com sistema de gradiente e detecção por UV); doseamento (cromatografia líquida de alta eficiência com sistema de gradiente e detecção por UV) [36-63].

Os ensaios descritos para os comprimidos são: Identificação (comparação do tempo de retenção da solução amostra com a solução padrão determinada no doseamento); dissolução (tampão pH 7,0 com lauril sulfato de sódio e determinação por UV); uniformidade de dosagem; doseamento (cromatografia líquida de alta eficiência com sistema isocrático e detecção por UV) [36-63].

CAPÍTULO II: Artigo I

**Aplicação da análise térmica e pirólise acoplada a CG/EM
na qualificação da matéria-prima farmacêutica sinvastatina**

Artigo submetido para publicação no *Journal of Thermal Analyses and Calorimetry*

Aplicação da análise térmica e pirólise acoplada a CG/EM na qualificação da matéria-prima farmacêutica sinvastatina

José Valdilânio Virgulino Procópio^{1, 2}, Valmir Gomes de Souza², Rodrigo Albuquerque da Costa¹, Fábio Santos de Souza², Rui Oliveira Macêdo^{1, 2}

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Artur de Sá, Cidade Universitária, CEP: 50740-521, Recife, PE, Brasil

² Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba UFPB - DCF – CCS, Campus I, CEP: 58059-970, João Pessoa, PB, Brasil

E-mail: jvvpf@yahoo.com.br

RESUMO

A sinvastatina (SV) é um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, muito solúvel em cloreto de metileno e solúvel em álcool. É uma das estatinas mais comumente utilizadas para tratar diversas formas de hipercolesterolemia. O presente estudo teve como objetivo aplicar a análise térmica (Termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e calorimetria exploratória diferencial acoplada ao sistema fotovisual (DSC-Fotovisual)) e pirólise acoplada à cromatografia gasosa/espectrometria de massa (Pir-CG/EM) para caracterização da sinvastatina matéria-prima farmacêutica. Foram utilizadas três diferentes amostras de SV que foram denominadas SVA, SVB e SVC. Os resultados mostraram diferenças no comportamento das amostras na fase de transição do processo de fusão e na energia de ativação de decomposição térmica, que foram diretamente correlacionadas com a estabilidade térmica das mesmas. O processo de decomposição térmica da SV foi analisado por Pir-CG/EM e seus resultados mostraram que a quebra da SV ocorre com a formação de dois novos compostos de m/z 284 e m/z 207, em proporções que dependem das temperaturas do pirolisador.

Palavras-chave: Sinvastatina, Pirólise, Análise térmica, Cinética térmica, Pir-CG/EM

1. INTRODUÇÃO

A sinvastatina (SV) é um pó cristalino branco ou quase branco, praticamente insolúvel em água, muito solúvel em cloreto de metileno e solúvel em álcool [1]. A

Figura II-1 mostra a estrutura química da SV que é produzida semi-sinteticamente a partir da lovastatina. Ela é uma das estatinas mais comumente utilizadas para tratar diversas formas de hipercolesterolemia [2].

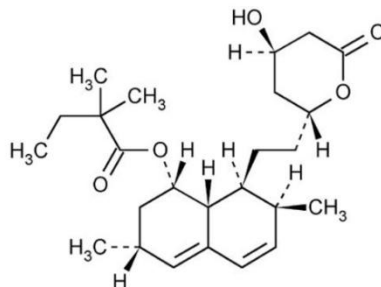


Figura II-1: Estrutura química da sinvastatina.

Em geral, as estatinas existem em duas formas, lactona e hidroxiácida. *In vivo*, a forma hidroxiácida é a forma ativa da droga para reduzir o colesterol plasmático, enquanto que a forma lactona é inativa (pró-droga). A forma lactona das estatinas pode ser absorvida pelo trato gastrointestinal e hidrolisada para β -hidroxiácida, forma ativa, no fígado e em tecidos não hepáticos [3].

O termo análise térmica é aplicado a qualquer técnica que envolva a medição de uma propriedade específica do material, enquanto a temperatura é controlada (alterada ou mantida) e monitorada [4].

Os métodos de análise térmica mostram-se como métodos rápidos e reprodutíveis que podem ser utilizados, isolados ou combinados com outras técnicas, com finalidades diferentes na indústria farmacêutica, por exemplo: estudo de caracterização e decomposição térmica de drogas [5-8] e no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas [9-10].

Desta forma, o presente estudo teve como objetivo aplicar a análise térmica (Termogravimetria (TG), calorimetria exploratória diferencial (DSC) e calorimetria exploratória diferencial acoplada ao sistema fotovisual (DSC-Fotovisual)) e pirólise acoplada à cromatografia gasosa/espectrometria de massa (Pir-CG/EM) para caracterização da sinvastatina matéria-prima farmacêutica.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

Foram utilizadas três diferentes amostras de SV que foram denominadas SVA, SVB e SVC. Todos os gases utilizados foram de grau cromatográfico.

2.2. Estudos de análise térmica

2.2.1. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas calorimétricas foram obtidas em um calorímetro de varredura diferencial (Shimadzu, modelo DSC-50) usando um cadinho fechado de alumínio. O equipamento foi calibrado utilizando índio ($156,6 \pm 0,3$ ° C) como padrão. O sinal de fluxo de calor foi calibrado pelo calor de fusão do índio ($28,59 \pm 0,3$ J/g). Os experimentos foram conduzidos com elevação da temperatura no intervalo de 25-250 ° C nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40 ° C/min, em fluxo de nitrogênio de 50 mL/min. A massa da amostra foi de $2,0 \pm 0,1$ mg. Os dados DSC foram analisados usando o Software TasyS da Shimadzu.

2.2.2. DSC acoplado a sistema fotovisual (DSC-Fotovisual)

Os dados DSC-Fotovisual foram obtidos em um calorímetro diferencial de varredura (Shimadzu, modelo DSC-50) acoplado a um sistema fotovisual, equipado com um microscópio (Olympus, modelo SZ-CTV60) e uma câmera (Sony, modelo VCC-520). As amostras foram colocadas em um cadinho aberto de alumínio e aquecidas no intervalo de temperatura de 25-300 ° C com taxa de aquecimento de 10 ° C/min, nas mesmas condições de fluxo de nitrogênio do DSC convencional. As fotos foram capturadas com o Software Asymetrix DVP 4,0 em tempo real para observar as transições de fase nas amostras.

2.2.3. Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas dinâmicas foram obtidas em uma termobalança (Shimadzu, modelo TGA-50) utilizando cadinho de alumina. O aparelho foi calibrado com oxalato de cálcio monohidratado. Os experimentos foram conduzidos no intervalo de temperatura de 25-900 ° C nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min em ar sintético e nitrogênio com fluxo de 20 e 50 mL/min, respectivamente. A massa da amostra foi de $5,2 \pm 0,1$ mg. As curvas TG isotérmicas foram obtidas no mesmo equipamento sob as mesmas condições de ar e de massa das curvas TG dinâmicas. As temperaturas utilizadas para os estudos isotérmicos foram: 165, 175, 185, 195 e 205 ° C. Os dados da TG isotérmica foram analisados usando o Software TasyS da Shimadzu. A ordem de reação (n) e energia de ativação (E_a) foram

determinadas utilizando o modelo de Ozawa para os dados de TG dinâmica em atmosfera de ar sintético e nitrogênio [11]. Os parâmetros cinéticos de decomposição foram calculados utilizando a equação de Arrhenius com base nos dados de TG isotérmica [12].

A ordem de reação para os dados isotérmicos foi determinada pelo método gráfico usando as seguintes relações: ordem zero $\frac{\Delta m}{\Delta t}$, de primeira ordem $\frac{\Delta \ln m}{\Delta t}$ e segunda ordem $\frac{\Delta(1/m)}{\Delta t}$.

A constante de reação de ordem zero foi determinada através da equação clássica de Arrhenius $k = \frac{(m_0 - m_t)}{t}$, onde, m_0 é a massa inicial e m_t é a massa no tempo t .

As curvas k versus T foram ajustados para uma equação exponencial, a partir da qual foi possível extrapolar os valores para à temperatura ambiente e, consequentemente, permitiu determinar a constante de reação à temperatura de 30 ° C.

O tempo necessário para a decomposição de 2 % da massa inicial na decomposição isotérmica foi determinada utilizando a equação $(m_{100} - m_{98}) = k_{30}t$.

A correlação da energia de ativação determinada pelo modelo de Ozawa e a constante extrapolada a 30 ° C, obtida pela equação de Arrhenius, foi determinada plotando k_{30} versus E_a .

2.3. Pirólise acoplada a CG/EM

Para estudos de pirólise foi utilizado um pirolisador acoplado a um sistema de cromatografia gasosa (Shimadzu, GCMS-QP5050A), diretamente ligado a um espectrômetro de massas com detector de ionização eletrônica. A ionização dos componentes foi realizada por impacto eletrônico com energia de ionização de 70 eV. O espectrômetro foi operado no modo SCAN, varrendo uma faixa de massa m/z 50-550. A temperatura da fonte de íons foi de 290 ° C. Foi utilizada uma coluna capilar com fase estacionária fenil:dimetilpolissiloxano (5:95), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 μ m de tamanho de partícula. O programa de temperatura constou de dois segmentos: no primeiro a coluna foi aquecida a partir da temperatura inicial (100 ° C) com uma taxa de aquecimento de

15 ° C/min até a temperatura final de 290 ° C, e, no segundo foi mantida na temperatura isotérmica de 290 ° C por 10 min. Hélio foi usado como gás de arraste com fluxo de 1 mL/min e razão de *split* de 1:5. A amostra correspondente a um cristal de sinvastatina foi colocado em cadinho de platina e introduzido no pirolisador nas temperaturas de 200, 250, 300, 400 e 550 ° C, separadamente para cada experimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Estudos de análise térmica

3.1.1. DSC e DSC-Fotovisual

A análise das curvas DSC das amostras SVA, SVB e SVC nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40 ° C/min mostradas na Figura II-2, revelou a existência de duas transições endotérmicas no intervalo de 25-250 ° C. A primeira transição de fase no intervalo de temperatura 90-100 ° C corresponde à volatilização da água. A segunda no intervalo 130-160 ° C nas taxas de aquecimento de 2 a 20 ° C/min é devido ao processo de fusão. Na taxa de aquecimento de 40 ° C/min ocorreu um alargamento no pico endotérmico correspondente à fusão da sinvastatina.

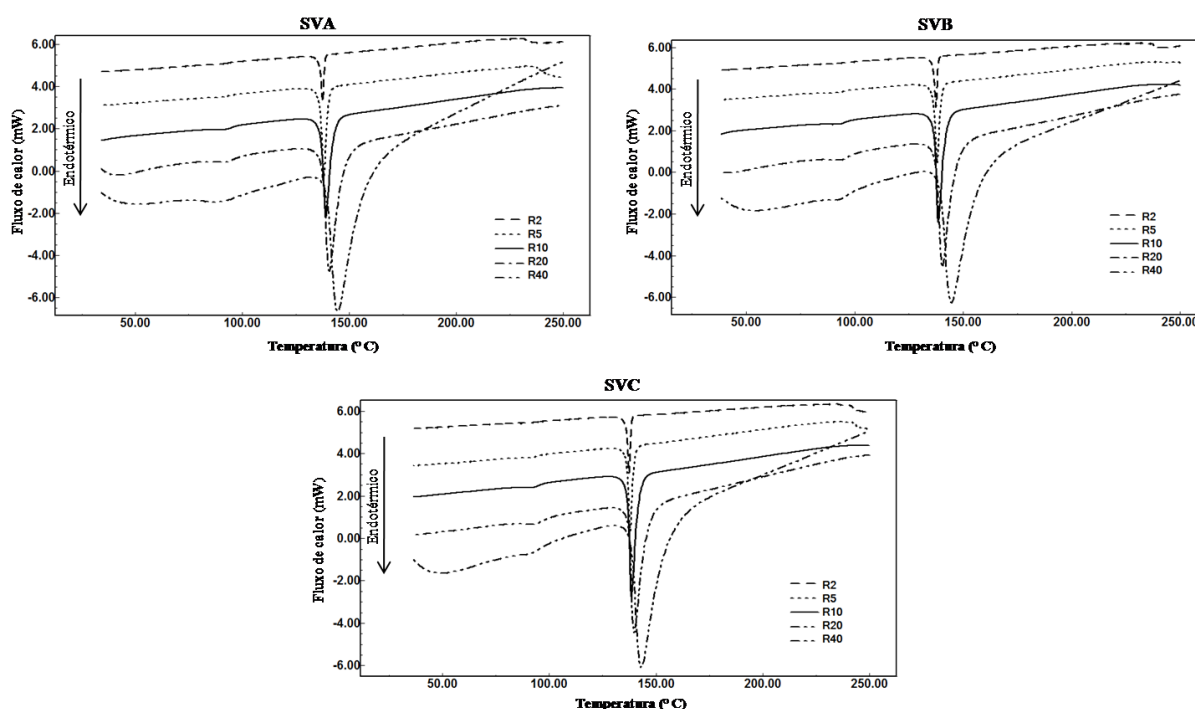


Figura II-2: Curvas DSC das amostras SVA, SVB e SVC nas razões de aquecimento de 2, 5, 10, 20 e 40 °C/min.

Tal fato pode ser explicado pela ocorrência dos processos térmicos de fusão e decomposição simultaneamente, onde na *onset* começa o processo de fusão e na temperatura *endset* tem início o processo de decomposição térmica com a perda de massa.

A Figura II-3 mostra as fotos obtidas no DSC-Fotovisual, onde é possível visualizar o comportamento diferente entre as amostras de sinvastatina. A amostra SVA apresentou um processo de fusão mais lento do que SVB e SVC na temperatura de aproximadamente 137 ° C. O processo de volatilização total da amostra SVA em temperatura inferior a 250 ° C foi mais rápido do que SVB e SVC. O comportamento térmico diferente, sugeri que a sinvastatina matéria-prima farmacêutica de diferentes fabricantes apresenta diferentes qualidades físicas. O SVA é diferente da SVB e SVC.

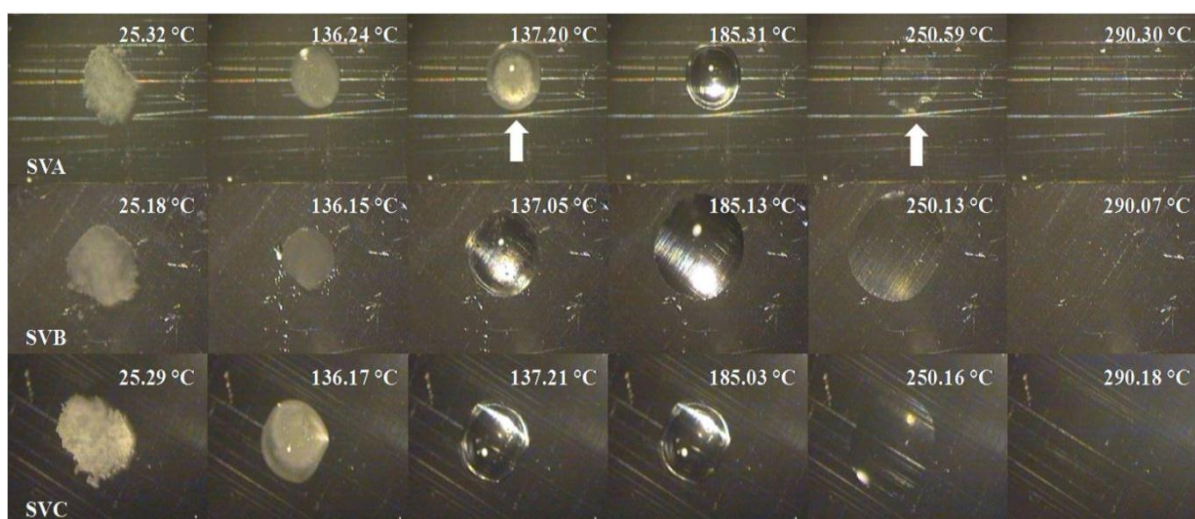


Figura II-3: DSC-Fotovisual das amostras SVA, SVB e SVC na razão de aquecimento de 10 °C/min.

3.1.2. Termogravimetria

A Figura II-4 mostra as curvas termogravimétricas dinâmicas das amostras SVA, SVB e SVC nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min e a curva de DSC na razão de aquecimento de 10 ° C/min.

A curva DSC mostra o ponto de fusão da sinvastatina que ocorre em cerca de 137 ° C, enquanto que as curvas TG mostram comportamento diferente entre as razões de aquecimento para cada amostra de sinvastatina. Na razão de aquecimento de 10 ° C/min pode ser verificado três etapas consecutivas de perda de massa em todas as amostras estudadas. Com o aumento da razão de aquecimento

é observado um deslocamento das temperaturas de decomposição térmica associada à tendência a formar uma única etapa.

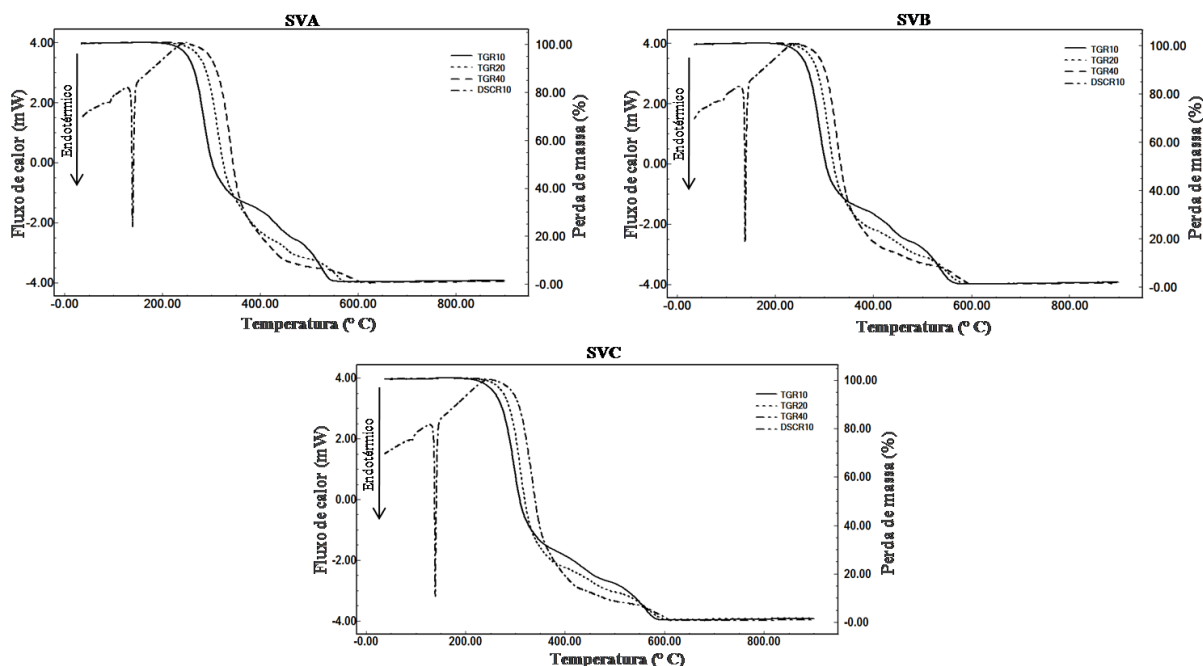


Figura II-4: Curvas termogravimétricas dinâmicas das amostras de SV (SVA, SVB e SVC) nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min e DSC na razão de aquecimento de 10 ° C/min.

Os dados da TG foram utilizados para calcular os parâmetros cinéticos de energia de ativação (E_a) e ordem de reação (n) usando o modelo de Ozawa. Os resultados obtidos para diferentes amostras apresentaram um processo cinético de reação de ordem zero para todas as amostras na primeira e principal etapa de decomposição. Os valores de energia de ativação foram diferentes entre as amostras, onde E_a SVA apresentou cerca de 73,10 kJ/mol, enquanto a SVB e SVC mostraram valores de 98,67 e 99,67 kJ/mol, respectivamente.

Os dados da TG isotérmica foram utilizados para determinar os parâmetros cinéticos utilizando a equação de Arrhenius. A ordem de reação foi obtida pelo método gráfico e sua correlação linear apresentou valores similares para zero, primeira e segunda ordem. A decisão sobre a ordem de reação de decomposição térmica da sinvastatina foi resultante da comparação entre a TG dinâmica e TG isotérmica após comparação dos resultados obtidos com os modelos de Arrhenius e de Ozawa. A ordem escolhida foi a reação de ordem zero. As constantes de velocidade foram calculadas a partir de dados TG isotérmicos utilizando a equação de Arrhenius para reação de ordem zero.

A correlação da energia de ativação determinada pelo modelo de Ozawa e as constantes extrapoladas a 30 ° C, obtidas pela equação de Arrhenius mostrou correlação linear inversa, Figura II-5 (A), onde a amostra SVC com a maior energia de ativação de decomposição térmica dinâmica (99,67 kJ/mol) mostrou a menor constante de reação de decomposição isotérmica com valor de k_{30} ($1,88 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$), enquanto que a amostra SVA com menor energia de ativação de decomposição térmica dinâmica (73,10 kJ/mol) mostrou a maior constante de reação de decomposição isotérmica k_{30} ($2,14 \times 10^{-8} \text{ s}^{-1}$).

Usando a equação de Arrhenius para a reação de ordem zero foi obtido o tempo necessário para a decomposição de 2 % da massa inicial na decomposição isotérmica e correlacionada com as energias de ativação de decomposição térmica dinâmica para essas amostras, Figura II-5 (B). A amostra SVC com a maior energia de ativação de decomposição necessitaria de 3,38 anos, enquanto a SVA precisaria de apenas 2,96 anos. Estes resultados validam o modelo de análise e diferenciação entre amostras de SV, onde o processo de cinética de reação de ordem zero apresentou boa correlação entre os modelos de Ozawa e Arrhenius.

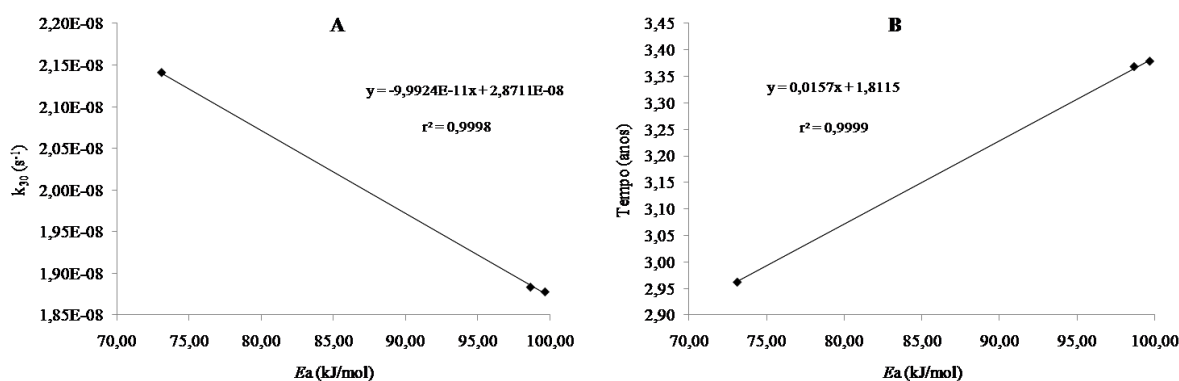


Figura II-5: Correlação entre a energia cinética média de degradação, para cada lote, e suas respectivas constantes extrapoladas a 30 ° C em A e o tempo necessário para decomposição de 2 % de massa em B.

3.2. Pirólise acoplada a CG/EM

A Figura II-6 mostra os pirogramas obtidos nas temperaturas de 200, 250, 300, 400 e 550 ° C, onde foi possível identificar a fragmentação da SV na decomposição térmica. Nenhum pico com íon molecular da SV em m/z 418 foi visualizado nos espectros. Este fato significa que a SV foi decomposta em todas as temperaturas utilizadas neste trabalho.

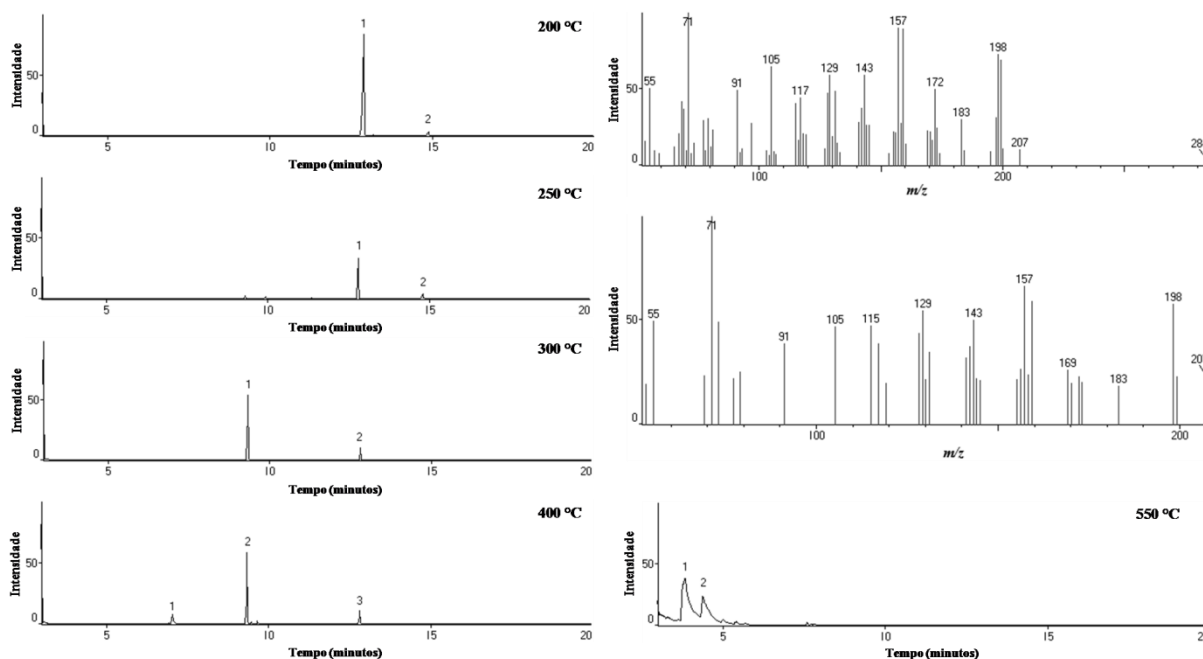


Figura II-6: Pirogramas obtidos para a SV mostrando os produtos de degradação no processo de degradação térmica a 200 °C [(1) m/z 284, (2) m/z 207], 250 °C [(1) m/z 284, (2) m/z 207], 300 °C [(1) m/z 240, (2) m/z 207], 400 °C [(1) m/z 238, (2) m/z 240, (3) m/z 207] e 550 °C [(1) m/z 142, (2) m/z 156].

Nas temperaturas de 200 e 250 °C correspondentes a primeira etapa de decomposição térmica dinâmica mostrou a formação de dois compostos em proporções diferentes quando aplicadas as temperaturas de 200 ou 250 °C no pirolisador. Na temperatura de 200 °C, Figura II-6, o pico 1 no pirograma corresponde a um fragmento de m/z 284 que apresentou 95,67 % de área relativa. O segundo pico no pirograma foi identificado como um fragmento de m/z 207 correspondendo a 4,33% de área relativa. Na temperatura de 250 °C, os picos 1 e 2, atribuídos aos mesmos fragmentos da temperatura de 200 °C mudou apenas a proporção deles, os picos 1 e 2 apresentaram 87,52 e 12,48% de áreas relativas, respectivamente.

As perdas de massa no pirolisador correspondentes aos dois fragmentos foram calculadas em relação ao peso molecular da SV (m/z 418) e representaram perda de 67,14% a temperatura de 200 °C e 65,64% a temperatura de 250 °C, usando a equação:

$$\% = \left\{ \left[\frac{284}{418,57} * (\% \text{ do pico } 1) \right] + \left[\frac{207}{418,57} * (\% \text{ do pico } 2) \right] \right\}$$

Estes valores foram comparados com os valores obtidos na primeira etapa de decomposição térmica dinâmica nas curvas TG dos três lotes de SV, que

apresentou uma perda média de massa de 64,16% na razão de aquecimento de 10 ° C/min.

Nas temperaturas superiores a 300 ° C, correspondendo a outras etapas de decomposição térmica nas curvas TG dinâmicas, o fragmento m/z 284 não foi detectado mostrando uma diferença na fragmentação pirolítica. A 300 ° C, os picos 1 e 2 foram identificados como m/z 240 e 207, com 75,94 e 24,06% de áreas relativas, respectivamente. A 400 ° C três picos foram observados no pirograma onde o pico 1 foi identificado como um novo composto com m/z 238 responsáveis por 19,66% da área relativa. Os picos 2 e 3 foram semelhantes aos formados a 300 ° C, ou seja, m/z 240 e 207 com áreas relativas de 60,03 e 20,31%, respectivamente. A 550 ° C, o pirograma na Figura II-6 mostra os picos 1 e 2, que foram identificados, respectivamente, como novos compostos com m/z 142 e 156 apresentando áreas relativa de 65,28 e 34,72%.

Os valores obtidos mostraram uma boa correlação entre o mecanismo de reação dos produtos de decomposição térmica obtidos na termogravimetria e no pirolisador.

A decomposição térmica no pirolisador com a formação de dois novos compostos a 200 ° C pode ser comparada com o comportamento cinético da sinvastatina analisada com dados da termogravimetria dinâmica, onde é difícil decidir a ordem de reação, porque a primeira etapa de decomposição não mostra a degradação direta da sinvastatina, mas apresenta dependência da formação simultânea de dois compostos.

4. CONCLUSÕES

Os resultados de DSC e DSC-Fotovisual mostraram diferenças no comportamento térmico das amostras nas transições de fase dos processos de fusão e volatilização.

Os parâmetros cinéticos obtidos pelos dados da termogravimetria dinâmica e isotérmica mostraram que a perda de massa da sinvastatina obedece a um processo cinético de reação de ordem zero. As energias de ativação foram diretamente correlacionadas com as constantes de decomposição térmica com todas as amostras.

Os dados Pir-CG/EM mostraram uma boa correlação entre a perda de massa do processo no pirolisador com a decomposição térmica na termogravimetria dinâmica.

A identificação de novos compostos no pirograma com m/z 284 e m/z 207, na primeira etapa da decomposição térmica, permitiu confirmar a complexidade na interpretação sobre a ordem de reação de decomposição térmica da sinvastatina.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio técnico e financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- [1] *British Pharmacopoeia*. London: United Kigdon, 2009.
- [2] METCALFE, C.D.; MIAO, X. S.. Determination of cholesterol-lowering statin drugs in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 998:133-14, 2003.
- [3] HWANG, L.S.; YANG D.J.. Study on the conversion of three natural statins from lactone forms to their corresponding hydroxy acid forms and their determination in Pu-Erh-tea. *Journal of Chromatography A*. 1119:277-284, 2006.
- [4] CHENG, S. Z. D.; LI, C. Y.; CALHOUN, B. H.; ZHU, L.; ZHOU, W. W.. Thermal analysis: the next two decades. *Thermochimica Acta*. 355:59-68, 2000.
- [5] MOURA, E. A.; CORREIA, L. P.; PINTO, M. F.; PROCÓPIO, J. V. V.; SOUZA, F. S. de; MACÊDO, R. O.. Thermal characterization of the solid state and raw material fluconazole by thermal analysis and pyrolysis coupled to CG/EM. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. doi:10.1007/s10973-009-0473-x, 2009.
- [6] SILVA, R. M. F. da; MEDEIROS, F. P. M. de; NASCIMENTO, T. G.; MACÊDO, R. O.; NETO, P. J. R.. Thermal characterization of indinavir sulfate using TG,

- DSC and DSC-photovisual. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 95(3):1-4, 2009.
- [7] SHULGA, O.; DUNN, Jeffrey.. A simultaneous TG–DTA study of the thermal decomposition of 2-hydroxybenzoic acid, 2-carboxyphenyl ester (salsalate). *Thermochimica Acta*. 410:15-21, 2004.
- [8] CHAWLA, G.; GUPTA, P.; THILAGAVATHI, R.; CHAKRABORTI, A. K.; BANSAL, A. K.. Characterization of solid-state forms of celecoxib. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 20:305-317, 2003.
- [9] MEDEIROS, A. F. D.; SANTOS, A. F. O.; SOUZA, F. S. de; JÚNIOR, I. D. B.; VALDILANIO, J.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, D. P. de; MACÊDO R. O.. Thermal studies of pre-formulates of metronidazole obtained by spray drying technique. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 89(3):775-781, 2007.
- [10] MEDEIROS, A. F. D.; SANTOS, A. F. O.; SOUZA, F. S. de; PROCÓPIO, J. V. V.; PINTO, M. F.; MACÊDO R. O.. Thermal stability of paracetamol and its pre-formulates obtained by spray drying. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 88(2):377-782, 2007.
- [11] MACÊDO, R. O.; NASCIMENTO, T. G.. Quality control of thiabendazole pre-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system. *Thermochimica Acta*. 392–393:85–92, 2002.
- [12] GOMES, A. P. B.; CORREIA, L. P.; SIMOES, M. O. S.; MACÊDO, R.O.. Development of thermogravimetric method to quantitative determination of mebendazole. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 87(3):919-925, 2007.

CAPÍTULO III: Artigo II

Aplicação da TG e DTA no estudo da compatibilidade e estabilidade da sinvastatina com diferentes celulosas

Aplicação da TG e DTA no estudo da compatibilidade e estabilidade da sinvastatina com diferentes celulosas

José Valdilânio Virgulino Procópio^{1, 2}, Lidianne Pinto Correia¹, Fábio Santos de Souza², Rui Oliveira Macêdo^{1, 2}

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Artur de Sá, Cidade Universitária, CEP: 50740-521, Recife, PE, Brasil

² Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaios de Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba UFPB - DCF – CCS, Campus I, CEP: 58059-970, João Pessoa, PB, Brasil

E-mail: jvvpf@yahoo.com.br

RESUMO

O desenvolvimento de um novo medicamento é um processo longo e complexo que envolve uma abordagem multidisciplinar e em várias fases. O presente trabalho teve como objetivo aplicar a análise Termogravimétrica (TG) e a Análise Térmica Diferencial (DTA) para estudo da compatibilidade e estabilidade térmica da sinvastatina com diferentes celulosas. Foram utilizados três diferentes lotes de sinvastatina (SV) e dois tipos diferentes de celulose microcristalina (PH101 e PH102) de dois diferentes fabricantes. Foram preparadas misturas binárias de cada um dos três lotes de SV com os diferentes lotes de celulose. Os resultados de DTA mostraram não haver diferença entre as amostras de SV estudadas nem interação da celulose com a sinvastatina no processo de fusão do fármaco. Os dados termogravimétricos mostraram alteração na estabilidade térmica da sinvastatina nas misturas binárias com diferentes celulosas. Foi demonstrado também diferença entre as diferentes misturas. A ordem de estabilidade para as amostras estudadas foi a seguinte: SV > SVMCB102 ≥ SVMCB102 ≥ SVMCB101 > SVMCR101.

Palavras-chave: Pré-formulação, Compatibilidade, Estabilidade, Análise térmica

1. INTRODUÇÃO

Devido ao exacerbado crescimento do mercado nacional farmacêutico e a rigorosa exigência de controle da qualidade dos medicamentos, busca-se aprimorar cada vez mais os estudos de pré-formulação com métodos rápidos que respondam

ao desenvolvimento tecnológico farmacêutico com a qualidade exigida no menor tempo possível.

A avaliação de possíveis incompatibilidades entre um componente ativo e diferentes excipientes, juntamente com a avaliação da estabilidade térmica são pontos essenciais a serem considerados em um estudo de pré-formulação para ajuste final da formulação [1-2].

A incompatibilidade de um fármaco com um ou mais excipientes na formulação ou na embalagem pode alterar a estabilidade e/ou biodisponibilidade o que poderá afetar sua segurança e/ou eficácia [3-6].

Diversos estudos de caracterização e compatibilidade no estágio de pré-formulação são relatados na literatura, muitos dos quais utilizam métodos térmicos isolados ou combinados com outras técnicas [7-11].

As estatinas, classe de fármacos a qual pertence a sinvastatina, são inibidores da HMG-CoA redutase, uma das enzimas chave na síntese intracelular do colesterol. Sua inibição reduz o conteúdo intracelular de colesterol e, como consequência, há aumento do número de receptores de LDL nos hepatócitos que então removem mais VLDL, IDL e LDL da circulação para repor o colesterol intracelular [12].

A celulose microcristalina é uma celulose parcialmente despolimerizada e purificada, preparada por tratamento da α -celulose com minerais ácidos produzindo microcristais. Em termos de aparência é um pó cristalino branco composto de aglomerados de partículas porosas [13].

O presente trabalho teve como objetivo aplicar a análise Termogravimétrica (TG) e a Análise Térmica Diferencial (DTA) para estudo da compatibilidade e estabilidade da sinvastatina com diferentes celulosas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Amostras

Foram utilizados três lotes de SV (SVA, SVB e SVC). Como excipiente foi utilizado celulose microcristalina de dois tipos diferentes (PH101 e PH102) de dois diferentes fabricantes. Para a celulose microcristalina PH101 foi utilizado três lotes do fabricante B (MCB101L1, MCB101L2 e MCB101L3) e um lote do fabricante R

(MCR101). Para a celulose microcristalina PH102 foi utilizado três lotes do fabricante B (MCB102L1, MCB102L2 e MCB102L3) e um lote do fabricante R (MCR102).

Foram preparadas misturas binárias de cada um dos três lotes de SV com os diferentes lotes de celulose. As misturas físicas foram preparadas na proporção 1:1 (massa:massa) por mistura simples de 500 mg de cada constituinte durante 30 minutos utilizando um recipiente de polipropileno.

2.2. Estudos de análise térmica

2.2.1. *Análise Térmica Diferencial (DTA)*

As curvas DTA foram obtidas em um analisador térmico diferencial (Shimadzu, modelo DTA-50) usando um cadinho de alumina. O equipamento foi calibrado utilizando o ponto de fusão e a entalpia de fusão do índio e do zinco como padrões. Os experimentos foram conduzidos com elevação da temperatura no intervalo de 25-900 ° C na razão de aquecimento de 10 ° C/min, em fluxo de nitrogênio de 50 mL/min. A massa da amostra foi de $7,0 \pm 0,05$ mg. Os dados DTA foram analisados usando o Software Tasys da Shimadzu.

2.2.2. *Termogravimetria (TG)*

As curvas termogravimétricas dinâmicas foram obtidas em uma termobalança (Shimadzu, modelo TGA-50) utilizando cadinho de alumina. O aparelho foi calibrado com oxalato de cálcio monohidratado. Os experimentos foram conduzidos no intervalo de temperatura de 25-900 ° C nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min em ar sintético e nitrogênio com fluxo de 20 e 50 mL/min, respectivamente. A massa da amostra foi de $5,2 \pm 0,1$ mg. As curvas TG isotérmicas foram obtidas no mesmo equipamento sob as mesmas condições de ar e de massa das curvas TG dinâmicas. As temperaturas utilizadas para os estudos isotérmicos foram: 165, 175, 185, 195 e 205 ° C. Para ordem de reação do fármaco foi considerado a ordem zero determinada em trabalho prévio. Os parâmetros cinéticos de decomposição das misturas foram calculados utilizando a equação de Arrhenius com base nos dados de TG isotérmica. A ordem de reação para os dados isotérmicos, das misturas binárias, foi determinada pelo método gráfico usando as seguintes relações: ordem zero $\frac{\Delta m}{\Delta t}$, de primeira ordem $\frac{\Delta \ln m}{\Delta t}$ e segunda ordem $\frac{\Delta(1/m)}{\Delta t}$.

A constante de reação de ordem zero foi determinada através da equação clássica de Arrhenius $k = \frac{(m_0 - m_t)}{t}$, onde, m_0 é a massa inicial e m_t é a massa no tempo t .

As curvas k versus T foram ajustados para uma equação exponencial, a partir da qual foi possível extrapolar os valores para a temperatura ambiente e, conseqüentemente, permitiu determinar a constante de reação à temperatura de 30 °C.

O tempo necessário para a decomposição de 2 % da massa inicial na decomposição isotérmica do fármaco foi determinada utilizando a equação $(m_{100} - m_{98}) = k_{30}t$. Para as misturas foi determinado o tempo necessário para perda de 10 % da massa inicial através da fórmula $(m_{100} - m_{90}) = k_{30}t$.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Estudos de análise térmica

3.1.1. Análise Térmica Diferencial (DTA)

A Figura III-1 mostra curvas DTA do fármaco e misturas binárias com diferentes celuloses. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os picos de fusão ($p = 0,87$) e o calor de reação ($p = 0,41$) das três diferentes amostras de SV. Os valores foram: SVA ($140,75 \pm 0,28$ °C e $-67,64 \pm 1,30$ J/g), SVB ($140,81 \pm 0,21$ °C e $-68,59 \pm 1,15$ J/g) e SVC ($140,84 \pm 0,05$ °C e $-68,84 \pm 1,38$ J/g).

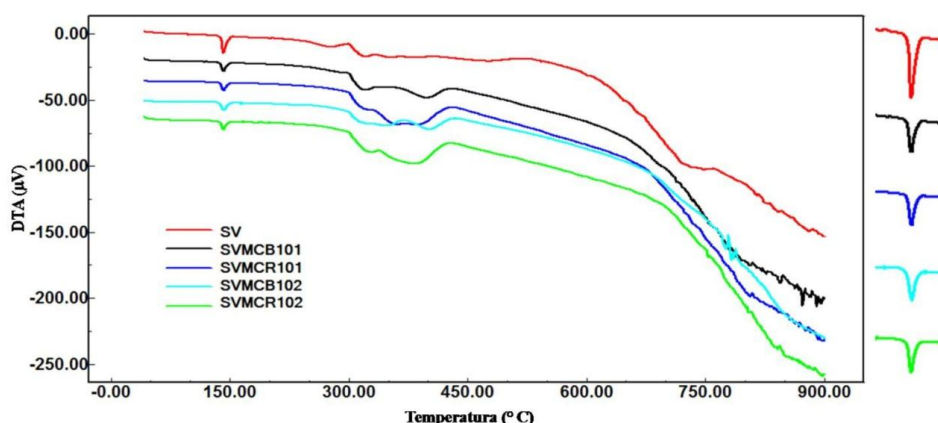


Figura III-1: Curvas DTA do fármaco e misturas na razão de aquecimento de 10 °C/min.

Nas misturas binárias com as diferentes celuloses houve um pequeno aumento na temperatura do pico de fusão em relação aos fármacos isolados Tabela III-1.

Table III-1: Parâmetros calorimétricos das misturas binárias de diferentes amostras de sinvastatina com diferentes celulosas determinados por DTA na razão de aquecimento de 10 ° C/min.

Fármaco	Parâmetros	Celulose microcristalina PH101				Celulose microcristalina PH102			
		MCR101	MCB101L1	MCB101L2	MCB101L3	MCR102	MCB102L1	MCB102L2	MCB102L3
SVA	ΔH_f (J/g)	-31,12±0,92	-32,00±2,03	-31,99±1,42	-31,53±1,75	-31,60±1,39	-31,44±1,43	-31,67±2,12	-31,61±1,18
	Pico (°C)	141,57±0,17	141,39±0,06	141,14±0,26	141,01±0,17	141,62±0,23	141,75±0,16	142,11±0,08	141,43±0,07
	Onset (°C)	136,94±0,11	136,92±0,11	137,07±0,14	136,89±0,15	136,87±0,04	136,48±0,25	136,74±0,23	136,72±0,25
SVB	ΔH_f (J/g)	-32,05±1,62	-31,52±0,98	-32,76±1,61	-31,98±1,48	-30,96±1,29	-32,46±1,31	-32,11±1,59	-31,24±1,74
	Pico (°C)	141,64±0,16	141,25±0,20	140,93±0,07	141,34±0,29	141,77±0,25	141,44±0,13	141,86±0,24	141,30±0,19
	Onset (°C)	136,91±0,09	136,89±0,31	136,85±0,05	136,87±0,18	136,57±0,23	137,01±0,16	136,76±0,25	136,79±0,20
SVC	ΔH_f (J/g)	-31,53±1,89	-32,00±1,88	-31,19±1,50	-31,06±1,17	-31,39±1,97	-32,83±1,54	-31,59±1,41	-31,76±1,36
	Pico (°C)	141,59±0,10	141,50±0,11	140,96±0,14	140,90±0,03	141,68±0,51	141,94±0,16	141,77±0,15	141,13±0,22
	Onset (°C)	136,86±0,11	137,10±0,23	136,69±0,04	136,83±0,13	137,00±0,17	136,84±0,20	136,88±0,11	136,71±0,17

A temperatura do pico de fusão mais baixo de 140,90 °C foi para a mistura SVMCB101L3 e o maior 142,11 °C para a mistura SVAMCB102L2. Em relação as energias de reação foi verificado redução nos valores para todas as misturas. Os valores encontrados corresponderam a aproximadamente metade daqueles mostrados para os fármacos isolados, sendo o menor valor obtido com a mistura SVBMCR102 (30,96±1,29 J/g) e o maior para a mistura SVMCB102L1 (32,83±1,54 J/g). Este fato evidencia que a celulose promove uma pequena proteção do fármaco em relação ao pico de fusão e não há interação da SV com a celulose, tendo em vista que os valores de energia correspondentes a metade dos valores do fármaco isolado são explicados como função de na mistura (1:1) apenas metade da massa utilizada corresponder ao fármaco.

3.1.2. Termogravimetria (TG)

Na Figura III-2 são visualizadas as curvas termogravimétricas dinâmicas do fármaco, celulosas e misturas binárias na razão de aquecimento de 10, 20 e 40 °C/min.

Para o fármaco na razão de aquecimento de 10 °C/min pode ser verificado três etapas consecutivas de perda de massa, onde foi constatado que a perda de massa na primeira e principal etapa foi de 62,91±0,31 % com início na temperatura de 175 °C. Com o aumento da razão de aquecimento é observado um deslocamento das temperaturas de decomposição térmica associada à tendência a formar uma única etapa.

Na razão de aquecimento de 10 °C/min as diferentes celulosas e as misturas do fármaco com a celulose MCR101 e MCR102 apresentaram duas etapas consecutivas de perda de massa, enquanto que quando misturado com a celulose MCB101 e MCB102 foi verificado a ocorrência de três etapas. Os valores para perda de massa em % na primeira etapa foram de aproximadamente: SV (63), MCB101 (72), MCB102 (75), MCR101 (82), MCR102 (81), SVMCR101 (67), SVMCR102 (75), SVMCB101 (29) e SVMCB102 (30). Com o aumento da razão de aquecimento é observado um deslocamento das temperaturas de decomposição térmica associada à tendência a formar uma única etapa.

As misturas do fármaco com as celulosas MCR102, MCB101 e MCB102 apresentaram uma antecipação de cerca de 5 °C na temperatura do início de perda de massa na primeira etapa de decomposição na razão de aquecimento de 10 °C/min.

C/min, enquanto que a antecipação na mistura com MCR101 foi maior com valor de aproximadamente 10 ° C. Tal fato sugere a possibilidade de ocorrência de diferenças na estabilidade.

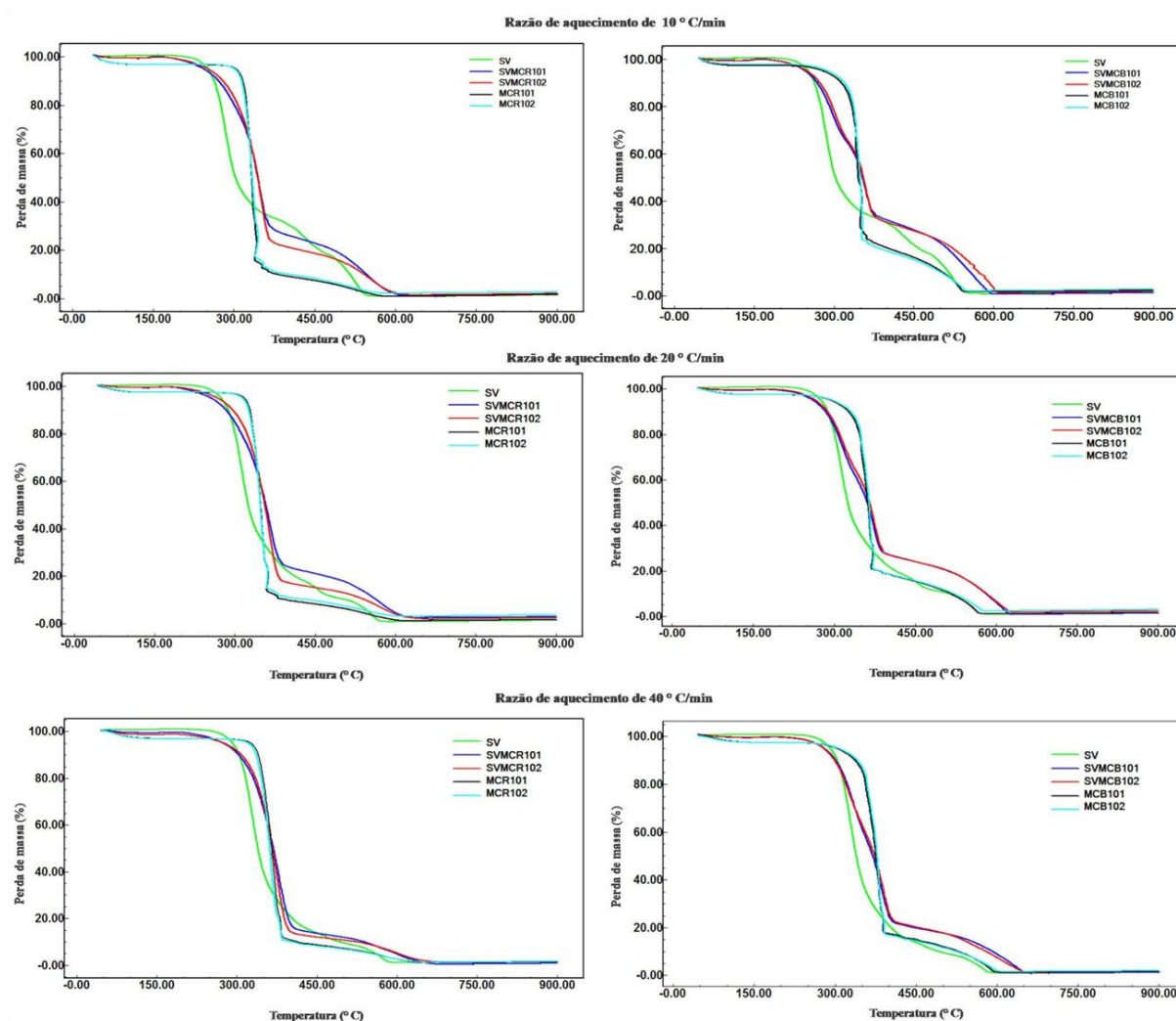


Figura III-2: Curvas termogravimétricas dinâmicas do fármaco, celulosas e misturas nas razões de aquecimento de 10, 20 e 40 ° C/min.

Os dados da TG isotérmica foram utilizados para determinar os parâmetros cinéticos utilizando a equação de Arrhenius. A ordem de reação foi obtida pelo método gráfico e sua correlação linear apresentou valores similares para zero, primeira e segunda ordem. A ordem escolhida foi a reação de ordem zero, tendo em vista que anteriormente já havia sido determinada a ordem de reação da sinvastatina por comparação dos modelos de Arrhenius e Ozawa, onde foi verificado comportamento de ordem zero.

A Tabela III-2 mostra as constantes de reação (k) e coeficiente de correlação (r^2) na decomposição isotérmica do fármaco SV e das misturas binárias.

Table III-2: Constantes de reação (k) e coeficiente de correlação (r^2) na decomposição isotérmica do fármaco SV e das misturas binárias do mesmo com diferentes celulosas nas temperaturas de (165, 175, 185, 195 and 205 ° C) e a constante extrapolada para 30 ° C.

Amostra	Ordem	Temperatura °C					
		30	165	175	185	195	205
SV	$k_0 (r^2)$	$2,14 \times 10^{-8}$	$6,94 \times 10^{-6}$ (0,9953)	$1,08 \times 10^{-5}$ (0,9943)	$1,67 \times 10^{-5}$ (0,9946)	$2,54 \times 10^{-5}$ (0,9974)	$3,77 \times 10^{-5}$ (0,9980)
	$k_1 (r^2)$	$1,13 \times 10^{-8}$	$4,26 \times 10^{-6}$ (0,9960)	$6,69 \times 10^{-6}$ (0,9956)	$1,05 \times 10^{-5}$ (0,9964)	$1,63 \times 10^{-5}$ (0,9991)	$2,50 \times 10^{-5}$ (0,9998)
	$k_2 (r^2)$	$1,59 \times 10^{-8}$	$7,16 \times 10^{-6}$ (0,9967)	$1,13 \times 10^{-5}$ (0,9966)	$1,80 \times 10^{-5}$ (0,9979)	$2,86 \times 10^{-5}$ (0,9998)	$4,51 \times 10^{-5}$ (0,9993)
SVMCR102	$k_0 (r^2)$	$5,60 \times 10^{-8}$	$5,58 \times 10^{-6}$ (0,9669)	$7,02 \times 10^{-6}$ (0,9682)	$1,04 \times 10^{-5}$ (0,9837)	$1,46 \times 10^{-5}$ (0,9858)	$2,15 \times 10^{-5}$ (0,9860)
	$k_1 (r^2)$	$2,88 \times 10^{-8}$	$3,45 \times 10^{-6}$ (0,9682)	$4,37 \times 10^{-6}$ (0,9699)	$6,54 \times 10^{-6}$ (0,9856)	$9,29 \times 10^{-6}$ (0,9883)	$1,38 \times 10^{-5}$ (0,9896)
	$k_2 (r^2)$	$2,94 \times 10^{-8}$	$5,70 \times 10^{-6}$ (0,9695)	$7,22 \times 10^{-6}$ (0,9716)	$1,09 \times 10^{-5}$ (0,9874)	$1,55 \times 10^{-5}$ (0,9905)	$2,35 \times 10^{-5}$ (0,9926)
SVMCB102	$k_0 (r^2)$	$5,72 \times 10^{-8}$	$6,10 \times 10^{-6}$ (0,9817)	$8,07 \times 10^{-6}$ (0,9784)	$1,28 \times 10^{-5}$ (0,9834)	$1,72 \times 10^{-5}$ (0,9833)	$2,41 \times 10^{-5}$ (0,9816)
	$k_1 (r^2)$	$2,95 \times 10^{-8}$	$3,78 \times 10^{-6}$ (0,9818)	$5,02 \times 10^{-6}$ (0,9800)	$8,02 \times 10^{-6}$ (0,9857)	$1,09 \times 10^{-5}$ (0,9865)	$1,56 \times 10^{-5}$ (0,9862)
	$k_2 (r^2)$	$3,03 \times 10^{-8}$	$6,25 \times 10^{-6}$ (0,9838)	$8,33 \times 10^{-6}$ (0,9816)	$1,34 \times 10^{-5}$ (0,9879)	$1,85 \times 10^{-5}$ (0,9893)	$2,67 \times 10^{-5}$ (0,9902)
SVMCR101	$k_0 (r^2)$	$8,03 \times 10^{-8}$	$5,93 \times 10^{-6}$ (0,9623)	$8,40 \times 10^{-6}$ (0,9704)	$1,17 \times 10^{-5}$ (0,9785)	$1,59 \times 10^{-5}$ (0,9818)	$2,22 \times 10^{-5}$ (0,9733)
	$k_1 (r^2)$	$2,76 \times 10^{-8}$	$3,68 \times 10^{-6}$ (0,9638)	$5,25 \times 10^{-6}$ (0,9724)	$7,38 \times 10^{-6}$ (0,9809)	$1,01 \times 10^{-5}$ (0,9847)	$1,43 \times 10^{-5}$ (0,9782)
	$k_2 (r^2)$	$5,63 \times 10^{-8}$	$6,06 \times 10^{-6}$ (0,9653)	$8,69 \times 10^{-6}$ (0,9743)	$1,23 \times 10^{-5}$ (0,9874)	$1,70 \times 10^{-5}$ (0,9874)	$2,43 \times 10^{-5}$ (0,9826)
SVMCB101	$k_0 (r^2)$	$5,92 \times 10^{-8}$	$6,53 \times 10^{-6}$ (0,9668)	$8,59 \times 10^{-6}$ (0,9801)	$1,27 \times 10^{-5}$ (0,9853)	$1,92 \times 10^{-5}$ (0,9802)	$2,68 \times 10^{-5}$ (0,9707)
	$k_1 (r^2)$	$2,46 \times 10^{-8}$	$4,06 \times 10^{-6}$ (0,9684)	$5,37 \times 10^{-6}$ (0,9818)	$8,03 \times 10^{-6}$ (0,9875)	$1,23 \times 10^{-5}$ (0,9840)	$1,75 \times 10^{-5}$ (0,9770)
	$k_2 (r^2)$	$3,16 \times 10^{-8}$	$6,70 \times 10^{-6}$ (0,9700)	$8,89 \times 10^{-6}$ (0,9834)	$1,34 \times 10^{-5}$ (0,9895)	$2,08 \times 10^{-5}$ (0,9873)	$3,00 \times 10^{-5}$ (0,9825)

As constantes de velocidade foram calculadas a partir dos dados TG isotérmicos utilizando a equação de Arrhenius para reação de ordem zero. As curvas k versus T foram ajustados para equações exponenciais, a partir das quais foi possível extrapolar os valores para a temperatura ambiente e, conseqüentemente, permitiu determinar a constante de reação à temperatura de 30 ° C para o fármaco e misturas (Tabela III-2). As equações obtidas para ordem zero foram as seguintes: SV ($y = (6 \times 10^{-9})^{0,0424x}$), SVMCR101 ($y = (3 \times 10^{-8})^{0,0328x}$), SVMCR102 ($y = (2 \times 10^{-8})^{0,0343x}$), SVMCB101 ($y = (2 \times 10^{-8})^{0,0362x}$) e SVMCB102 ($y = (2 \times 10^{-8})^{0,0350x}$).

Usando a equação de Arrhenius para a reação de ordem zero e as constantes extrapoladas foi obtido o tempo necessário para a decomposição de 2 e 10 % da massa inicial na decomposição isotérmica da sinvastatina e das misturas, respectivamente.

Foi verificado uma redução acentuada na estabilidade térmica das misturas em relação ao fármaco isolado, como também diferença na estabilidade entre as misturas. Os tempos calculados em anos foram: SV (2,96), SVMCR101 (3,95), SVMCR102 (5,67), SVMCB101 (5,35) e SVMCB102 (5,55). A ordem de estabilidade encontrada foi: SV > SVMCB102 ≥ SVMCB102 ≥ SVMCB101 > SVMCR101.

4. CONCLUSÕES

Os resultados de DTA mostraram não haver diferença entre as amostras de SV estudadas nem interação da celulose com a sinvastatina no processo de fusão do fármaco.

O dados termogravimétrico mostraram alteração na estabilidade térmica da sinvastatina nas misturas binárias com diferentes celuloses. Foi demonstrado também diferença entre as diferentes misturas. A ordem de estabilidade para as amostras estudadas foi SV > SVMCB102 ≥ SVMCB102 ≥ SVMCB101 > SVMCR101.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio técnico e financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- [1] LIRA, A. M.; ARAÚJO, A. A. S.; BASÍLIO, I. D. J.; SANTOS, B. L. L.; SANTANA, D.P.; MACEDO, R. O. Compatibility studies of lapachol with pharmaceutical excipients for the development of topical formulations. *Thermochimica Acta*. 457(1-2): 1-6, 2007.
- [2] MONAJJEMZADEH, F.; HASSANZADEH, D.; VALIZADEH, H.; SIAHI-SHADBAD, M. R.; MOJARRAD, J. S.; ROBERTSON, T. A.; ROBERTS, M. S.. Compatibility studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 73(3):404-413, 2009.
- [3] KUMAR, V.; SHAH, R. P.; MALIK, S.; SINGH, S.. Compatibility of atenolol with excipients: LC–MS/TOF characterization of degradation/interaction products, and mechanisms of their formation. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 49(4):880-888, 2009.
- [4] SHIN, H. C.; ALANI, A. W. G.; RAO, D. A.; ROCKICH, N. C.; KWON, G.. Multi-drug loaded polymeric micelles for simultaneous delivery of poorly soluble anticancer drugs. *Journal of Controlled Release*. 140:294-300, 2009.
- [5] BENAJ, B.; DINE, T.; LUYCKX, M.; GREISSER, B.; BRUNET, C.; GOUDALIEZ, F.; CAZIN, M.; CAZIN, J. C.. Stability and compatibility studies of zorubicin in intravenous fluids and PVC infusion bags. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 14:695-705, 1996.
- [6] CROWLEY, P. J.. Excipients as stabilizers. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 2(6):237-243, 1999.
- [7] GUO, P.; LI, X.; WANG, J.; YOU, A.. Study on the compatibility of cefotaxime with tinidazole in glucose injection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 43(11):1849-1853, 2007.
- [8] SILVA, R. M. F. da; MEDEIROS, F. P. M. de; NASCIMENTO, T. G.; MACÊDO, R. O.; NETO, P. J. R.. Thermal characterization of indinavir sulfate using TG,

- DSC and DSC-photovisual. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 95(3):1-4, 2009.
- [9] CHAWLA, G.; GUPTA, P.; THILAGAVATHI, R.; CHAKRABORTI, A. K.; BANSAL, A. K.. Characterization of solid-state forms of celecoxib. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 20:305-317, 2003.
- [10] MEDEIROS, A. F. D.; SANTOS, A. F. O.; SOUZA, F. S. de; PROCÓPIO, J. V. V.; PINTO, M. F.; MACÊDO R. O.. Thermal stability of paracetamol and its pre-formulates obtained by spray drying. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 88(2):377-782, 2007.
- [11] MACÊDO, R. O.; NASCIMENTO, T. G.. Quality control of thiabendazole pre-formulation and tablets by TG and DSC coupled to the photovisual system. *Thermochimica Acta*. 392–393:85–92, 2002.
- [12] SPOSITO, A. C. (Editor). IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 88(1):2-19, 2007.
- [13] JIVRAJ, M.; MARTINI, L. G.; THOMSON, C. M.. An overview of the different excipients useful for the direct compression of tablets. *Pharmaceutical Science & Technology Today*. 3(2):58-63, 2000.

CAPÍTULO IV: Artigo III

**Influência de diferentes celulosas microcristalinas na
dissolução da sinvastatina**

Influência de diferentes celulosos microcristalinas na dissolução da sinvastatina

José Valdilânio Virgulino Procópio^{1, 2}, Elisana Afonso de Moura¹, Fábio Santos de Souza², Rui Oliveira Macêdo^{1, 2}

¹ Departamento de Ciências Farmacêuticas – Universidade Federal de Pernambuco, Avenida Artur de Sá, Cidade Universitária, CEP: 50740-521, Recife, PE, Brasil

² Laboratórios Unificados de Desenvolvimento e Ensaio de Medicamentos, Departamento de Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal da Paraíba UFPB - DCF – CCS, Campus I, CEP: 58059-970, João Pessoa, PB, Brasil

E-mail: jvvpf@yahoo.com.br

RESUMO

A solubilidade e a velocidade de dissolução de ingredientes ativos são de grande importância nos estudos de preformulação de formas farmacêuticas [1]. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes celulosos microcristalinas na dissolução da sinvastatina. Foram utilizados três diferentes lotes de sinvastatina (SV), dois tipos diferentes de celulose microcristalina (PH101 e PH102) de dois diferentes fabricantes e um lote de estearato de magnésio, dióxido de silício coloidal e croscarmellose. Os dados termogravimétricos dinâmicos foram obtidos na razão de aquecimento de 10 ° C/min. Foram preparados preformulados por via seca variando apenas a celulose. A avaliação do peso médio, dureza, friabilidade, tempo de desintegração e uniformidade de conteúdo foi feita conforme a metodologia geral para tais parâmetros descrita na Farmacopéia Brasileira [2]. A avaliação da dissolução intrínseca da matéria-prima e os perfis de dissolução dos preformulados foi feita utilizando os parâmetros para o ensaio de dissolução dos comprimidos de sinvastatina descrito USP32-NF27 [3]. Os perfis de dissolução intrínseca analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), e, a velocidade de dissolução intrínseca analisada pelo teste ANOVA mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os perfis de dissolução e velocidade de dissolução intrínseca dos diferentes lotes de sinvastatina. A pressão de vapor ponderada analisada pelo teste ANOVA demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os diferentes lotes de sinvastatina e foi verificado correlação direta entre a pressão de vapor e a velocidade de dissolução intrínseca

da mesma. Os perfis de dissolução dos preformulados, analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), demonstraram haver diferença entre os perfis de dissolução quando utilizados diferentes tipos de celulose, porém não houve diferença quando utilizado o mesmo tipo de celulose de diferentes fabricantes.

Palavras-chave: Perfil de dissolução, Pressão de vapor, Sinvastatina, Celulose microcristalina.

1. INTRODUÇÃO

A solubilidade e a velocidade de dissolução de ingredientes ativos são de grande importância no estágio de preformulação de formas farmacêuticas [1]. Um bom conhecimento da constante de dissolução do fármaco é necessário visto que esta propriedade do composto é reconhecida como um fator significativo para a biodisponibilidade do mesmo [4].

Tradicionalmente, os excipientes eram definidos como sendo substâncias inertes. No entanto, recentes trabalhos têm demonstrado que esta definição tornou-se inadequada. Os excipientes farmacêuticos são substâncias adicionadas ao processo de fabricação para proteger e/ou melhorar as propriedades tecnológicas e a biodisponibilidade. Estudos de compatibilidade fármaco-excipientes representam uma importante etapa na preformulação para o desenvolvimento de uma formulação adequada, pois potencialmente as interações físicas e químicas entre o fármaco e excipientes podem afetar a natureza química, a estabilidade e/ou a biodisponibilidade do fármaco e, conseqüentemente, a segurança e eficácia terapêutica do produto durante o período de estocagem e uso [5-7].

A compressão de comprimidos promove a consolidação das partículas em aglomerados de resistência específica. A compressão normalmente resulta em rearranjo das partículas, deformação de partículas, formação de ligações interpartículas e recuperação elástica na ejeção do compactado da matriz [8].

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência de diferentes celulosas microcristalinas na dissolução da sinvastatina.

2. MATERIAIS E MÉTODO

2.1. Amostras

Foram utilizados três lotes de sinvastatina (SVA, SVB e SVC). Como excipiente foi utilizado celulose microcristalina de dois tipos diferentes (PH101 e PH102) de dois diferentes fabricantes. Para a celulose microcristalina PH101 foi utilizado um lote do fabricante B (MCB101) e um lote do fabricante R (MCR101). Para a celulose microcristalina PH102 foi utilizado um lote do fabricante B (MCB102) e um lote do fabricante R (MCR102). Para a croscarmelose, estearato de magnésio e dióxido de silício coloidal foi utilizado um único lote de cada. Foram preparados quatro diferentes preformulados, variando apenas a celulose microcristalina utilizada. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2. Termogravimetria (TG)

As curvas termogravimétricas dinâmicas foram obtidas em uma termobalança (Shimadzu, modelo TGA-50) utilizando cadinho de alumina. O aparelho foi calibrado com oxalato de cálcio monohidratado. Os experimentos foram conduzidos no intervalo de temperatura de 25-900 ° C na razão de aquecimento de 10 ° C/min em ar sintético e nitrogênio com fluxo de 20 e 50 mL/min, respectivamente. A massa da amostra foi de $5,2 \pm 0,1$ mg.

2.3. Pressão de Vapor

O padrão usado para calibração foi o metilparabeno e apresentou cinética de reação de ordem zero, como previsto para compostos que apresentam processo de vaporização, conforme literatura [9]. Os valores de 'k' obtidos para o metilparabeno na razão de 10 ° C/min, com ar sintético é de $125555 \pm 0,10$ [10].

Os dados obtidos dos experimentos termogravimétricos do metilparabeno foram utilizados para construir as curvas de pressão de vapor, utilizando a equação de Antoine, e posteriormente determinar o valor de 'k', o qual será utilizado para a construção das curvas de pressão do fármaco, utilizando a equação de Langmuir, ambas apresentadas a seguir:

A equação de Antoine [11] é apresentada como se segue:

$$\log P = (A - B) * (T + C)$$

Onde, P é a pressão de vapor, T é a temperatura absoluta e A , B e C são as constantes de Antoine de um dado intervalo de temperatura [12]. As constantes de Antoine registradas para o metilparabeno são: $A = 5,23662$, $B = 1159,34$ e $C = -220,03$ [12].

A equação de Langmuir [11] é apresentada como se segue:

$$dm/dt = P\alpha (M/2\pi RT)$$

Onde (dm/dt) é a razão da perda de massa por unidade de área, P é a pressão de vapor, α é a constante de vaporização e M é a massa molecular do vapor.

A equação de Langmuir pode ser modificada para obter os valores de pressão de vapor de vários componentes simples. A seguinte modificação é descrita: [11]

$$P = \left[\alpha^{-1} (2\pi R)^{1/2} \right] * \left[(T/M)^{1/2} * (dm/dt) \right] = k * u$$

Onde $k = \alpha^{-1} (2\pi R)^{1/2}$ e $u = (T/M)^{1/2} * (dm/dt)$

Se k é considerado uma constante para um dado grupo de dados e é independente do material usado, então o gráfico de P versus u dá o valor de k .

2.4. Preparação dos preformulados

Os preformulados foram preparados de acordo com a seguinte composição: celulose microcristalina (79,5 %), sinvastatina (12,5 %), croscarmelose (4,0 %), dióxido de silício coloidal (3,0 %) e estearato de magnésio (1,0 %). Os lotes de celulose utilizados no preparo dos preformulados foram: MCR102, MCB102, MCR101, e MCB101 para os preformulados A, B, C e D, respectivamente. A mistura foi feita via seca em misturador em V e a compressão em uma máquina compressora rotativa.

2.5. Avaliação preliminar dos preformulados

Para o peso médio, dureza, friabilidade e tempo de desintegração foram utilizadas as metodologias gerais para cada teste descritas na farmacopeia brasileira [2]. Para comprimidos ou núcleos para drágeas com peso médio entre 80 e 250 mg admite-se variação de $\pm 7,5$ % para o peso médio. Para a dureza utilizando durômetro com força exercida por mola espiral o mínimo aceitável é de 30 N (aproximadamente 3kgf). Na avaliação da friabilidade consideram-se aceitáveis os comprimidos que apresentem perda inferior a 1,5 % do seu peso. Em relação ao

tempo de desintegração os comprimidos devem apresentar tempo de desintegração inferior a 30 minutos.

2.6. Perfil de dissolução e dissolução intrínseca

Para a determinação da velocidade de dissolução intrínseca foi utilizado um sistema de disco rotativo Wood da Vankel Industries, Inc. (Cary, NC) e para o perfil de dissolução dos preformulados foi utilizado o aparato 2 (pás). As matérias-primas foram colocadas, separadamente, na cavidade da matriz com diâmetro de 0,8 cm. A massa utilizada para cada amostra foi de 150 mg, a qual foi comprimida em uma prensa hidráulica utilizando a força de compressão de 1,0 tonelada. O meio de dissolução utilizado, para a dissolução intrínseca da matéria-prima e dos preformulados, foi o meio descrito na USP32-NF27 [1] para dissolução de comprimidos de sinvastatina, o qual consiste de tampão fosfato de sódio monobásico 0,01 M, pH 7,0, contendo 0,5 % (m:V) de dodecil sulfato de sódio. O meio foi deaerado e mantido a temperatura de $37,0\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$, a velocidade de rotação foi de 50 rpm e o volume de meio utilizado foi de 900 mL para ambas situações. Cada alíquota de 5 mL retirada do meio foi filtrada utilizando filtros de 10 μm , nos tempos 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos para a dissolução intrínseca e 5, 10, 15, 30 e 45 minutos para a dissolução dos preformulados. As concentrações analíticas da sinvastatina foram recalculadas para cada alíquota tomada. A análise das amostras foi realizada num espectrofotômetro UV-Visível (Shimadzu, UVmini 1240), com leituras em 247 e 257 nm, sendo feita a diferença entre as leituras de absorbância entre os dois comprimentos. A concentração do padrão foi de 0,022 mg/mL e para as amostras a leitura foi feita diretamente sem diluição.

A velocidade ou taxa de dissolução intrínseca foi calculada pela *Equação IV-1*, onde: j é a velocidade ou taxa de dissolução intrínseca ($\text{mg}/\text{min}/\text{cm}^2$), V o volume do meio de dissolução (mL), A a área superficial da amostra (cm^2) e $\Delta C/\Delta t$ a velocidade de dissolução através do tempo ($\text{mg}/\text{mL}/\text{min}$).

$$j = \left[\left(\frac{V * \Delta C}{\Delta t} \right) * \left(\frac{1}{A} \right) \right] \quad \text{Equação IV-1}$$

2.7. Análise Estatística

Foi utilizado o teste ANOVA para comparar as pressões de vapor ponderadas e as velocidades de dissolução intrínseca entre os diferentes lotes.

Foi utilizado, também, o fator de diferença F_1 e o fator de semelhança F_2 calculados conforme as *Equações IV-2 e IV-3*, respectivamente, para comparação dos perfis de dissolução intrínseca do fármaco e para comparação dos perfis de dissolução dos formulados. Os limites aceitáveis para que duas amostras sejam pertencentes à mesma população são: F_1 menor que 15 % e F_2 maior que 50 %.

$$F_1 = \left\{ \left[\sum_{i=1}^n |R_f - T_t| \right] / \left[\sum_{i=1}^n R_f \right] \right\} * 100 \quad \text{Equação IV-2}$$

$$F_2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) * \sum_{i=1}^n (R_f - T_t)^2 \right]^{-0,5} * 100 \right\} \quad \text{Equação IV-3}$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. Dissolução intrínseca da sinvastatina

Os diferentes lotes apresentaram liberação linear em função do tempo, com coeficientes de correlação linear maior ou igual a 0,99. Os valores obtidos foram; 0,9933; 0,9962 e 0,9902 para a SVA; SVB e SVC, respectivamente Figura IV-1.

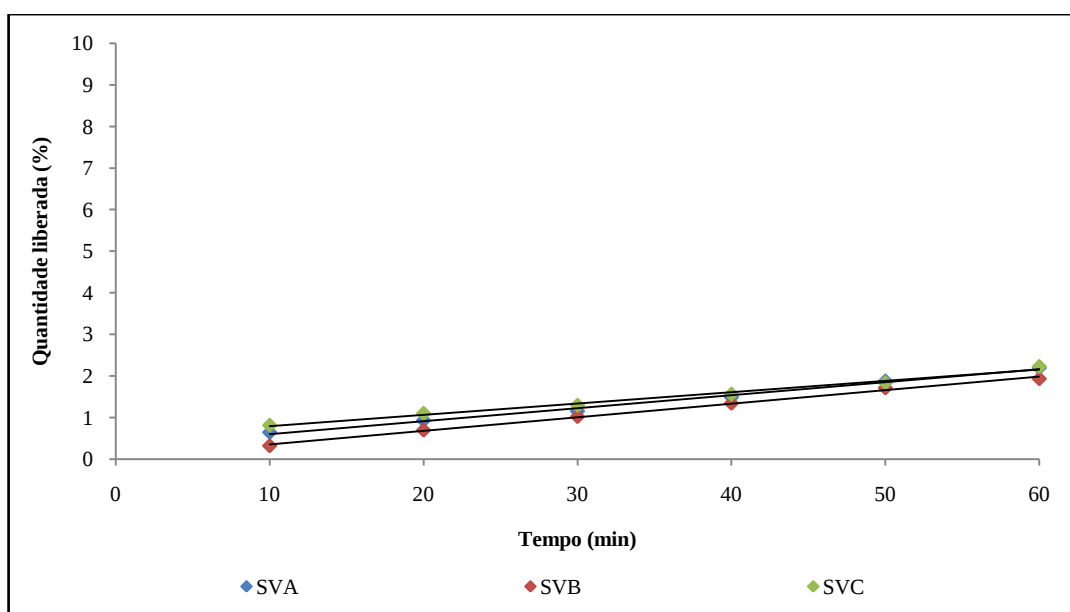


Figura IV-1: Percentual dissolvido *versus* tempo dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.

A Tabela IV-1 mostra a avaliação estatística dos valores das porcentagens de dissolução dos diferentes lotes do fármaco através dos parâmetros F_1 e F_2 .

Os diferentes lotes quando comparados entre eles demonstraram não haver diferença estatisticamente significativa ($p = 0,13$) em relação a velocidade de

dissolução intrínseca. Os valores calculados para os três diferentes lotes em $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{min}$ foram SVA ($12,54 \pm 0,60$), SVB ($12,03 \pm 1,04$) e SVC ($10,54 \pm 0,62$).

A ordem das velocidades de dissolução intrínseca foi $\text{SVA} \geq \text{SVB} \geq \text{SVC}$.

Table IV-1: Dados estatísticos fator de diferença (F_1) e fator de similaridade (F_2) da porcentagem de liberação na dissolução intrínseca dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.

Tempo	SVA versus SVB		SVA versus SVC		SVB versus SVC	
	F_1	F_2	F_1	F_2	F_1	F_2
10-20	3,05	99,52	2,12	99,62	4,53	98,37
10-30	6,06	99,52	2,80	99,79	7,57	99,79
10-40	7,66	99,63	3,99	99,82	10,02	99,02
10-50	9,27	99,69	4,15	99,86	11,44	99,11
10-60	12,18	99,66	5,13	99,87	14,73	99,20

3.2. Pressão de vapor

A Figura IV-2 mostra a pressão de vapor dos diferentes lotes de sinvastatina em relação a massa.

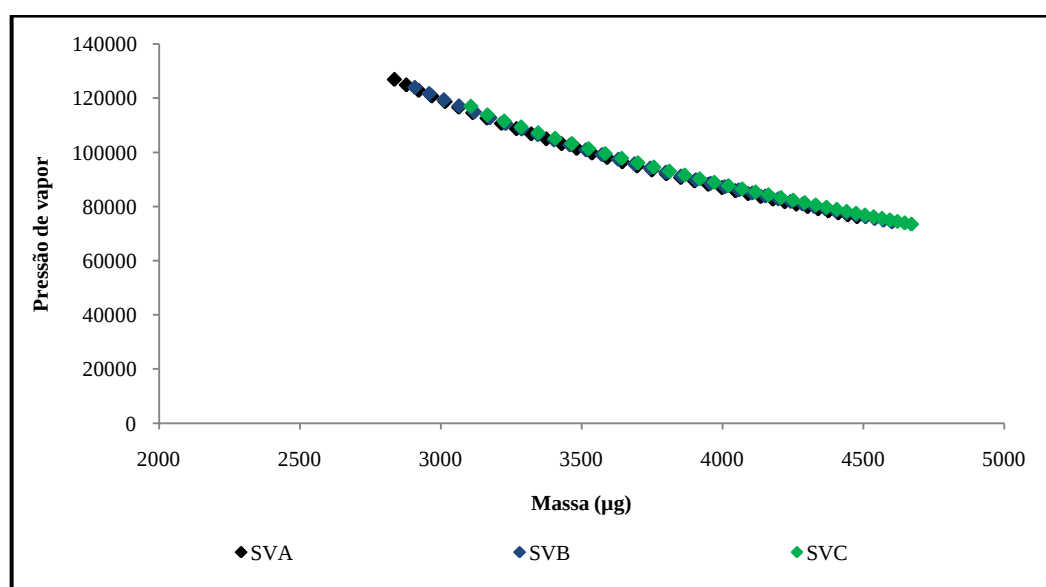


Figura IV-2: Pressão de vapor *versus* massa dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.

Os diferentes lotes quando comparados entre eles demonstraram não haver diferença estatisticamente significativa ($p = 0,09$) em relação a pressão de vapor

ponderada. Os valores calculados para os três diferentes lotes foram SVA ($99115,46 \pm 2695,44$), SVB ($96483,50 \pm 2818,99$) e SVC ($91623,28 \pm 1670,80$).

A ordem das pressões de vapor ponderadas foram $SVA \geq SVB \geq SVC$.

Usando os dados da velocidade de dissolução intrínseca foi feita a correlação com os valores das pressões de vapor ponderadas, obtendo-se correlação linear direta mostrado na Figura IV-3. A amostra SVA com a maior pressão de vapor ponderada foi a que apresentou maior velocidade de dissolução intrínseca e a SVC com menor pressão de vapor ponderada apresentou menor velocidade de dissolução intrínseca.

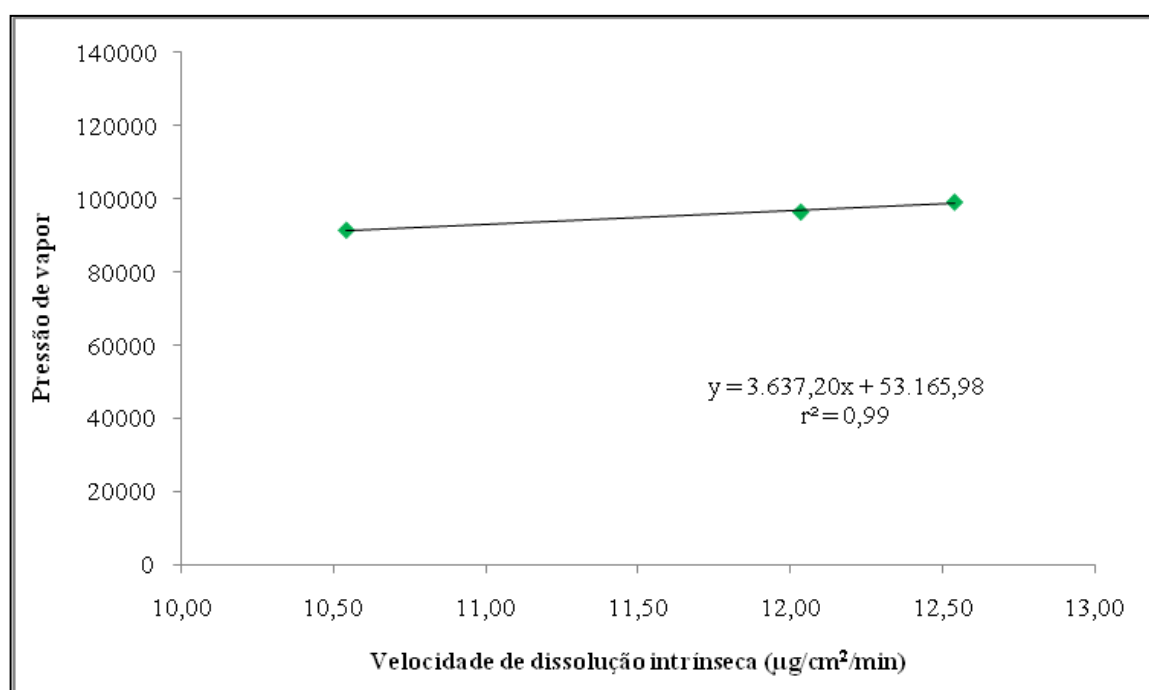


Figura IV-3: Correlação da pressão de vapor *versus* velocidade de dissolução intrínseca dos lotes SVA, SVB e SVC da sinvastatina.

Os resultados mostram boa correlação entre a velocidade de dissolução intrínseca do fármaco e a pressão de vapor ponderada obtida na sua decomposição.

3.3. Avaliação preliminar dos preformulados

Na Tabela IV-2 são visualizados os resultados obtidos para o peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e uniformidade para os preformulados A, B, C e D. Os resultados mostraram que os diferentes preformulados apresentaram valores conforme os critérios de aceitação.

Table IV-2: Avaliação do peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e uniformidade dos preformulados A, B, C e D.

Parâmetros	Critérios de aceitação	Pré-formulados			
		A	B	C	D
Peso médio (mg)	160±12	161,14±4,34	162,26±5,74	157,16±5,51	159,57±4,47
Dureza (kgf)	≥ 3,0	7,01±0,83	6,96±0,71	6,67±0,63	6,86±0,92
Friabilidade (%)	≤ 1,5	0,33±0,13	0,45±0,21	0,38±0,17	0,21±0,23
Desintegração (min)	≤ 30	4,73±1,05	4,21±1,31	3,89±1,57	4,03±1,05
Uniformidade (%)	85-115	100,67±1,29	99,33±1,24	96,41±0,99	103,59±2,23

3.4. Perfil de dissolução dos preformulados

A Figura IV-4 mostra os perfis de dissolução dos preformulados A, B, C e D.

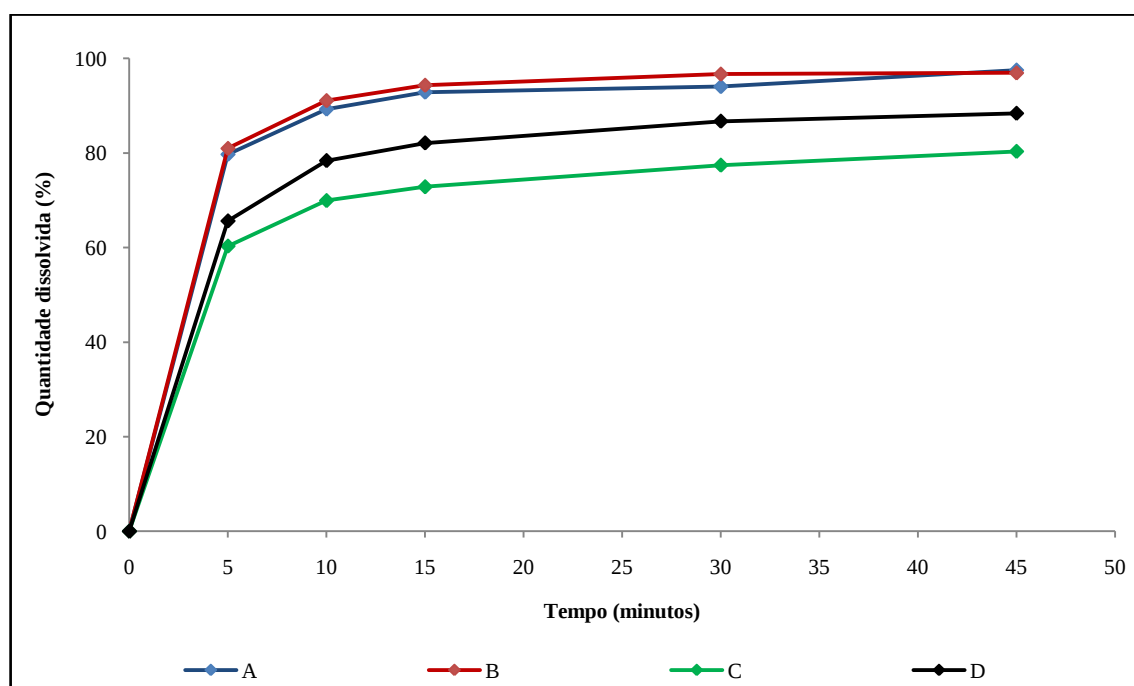


Figura IV-4: Perfis de dissolução dos preformulados A, B, C e D mostrando percentual dissolvido *versus* tempo.

No tempo de 45 minutos os preformulados A, B, C e D liberaram (97,55 %, 96,95 %, 80,36 % e 88,38 %). Verifica-se que há diferença na velocidade quantidade liberada entre os diferentes preformulados. Para avaliar essa variação foi aplicado a análise através dos fatores de diferença (F_1) e de semelhança (F_2) sendo mostrados os valores ponto a ponto na Tabela IV-3.

Table IV-3: Dados estatísticos fator de diferença (F_1) e fator de similaridade (F_2) da porcentagem de liberação no perfil de dissolução dos preformulados A, B, C e D da sinvastatina.

Tempo	A versus B		C versus D		A versus C		B versus D	
	F_1	F_2	F_1	F_2	F_1	F_2	F_1	F_2
5	0,28	89,73	1,47	63,42	5,38	35,57	3,83	40,62
10	0,68	86,65	3,80	57,40	10,74	35,61	7,00	42,47
15	1,00	86,93	6,37	55,09	16,28	35,37	10,05	43,40
30	1,58	83,66	8,94	54,08	20,89	36,15	12,54	44,70
45	1,72	85,29	11,16	54,18	25,66	36,53	14,68	45,95

Os resultados demonstraram haver diferença entre os perfis de dissolução quando utilizados diferentes tipos de celulose do mesmo fabricante (A versus C) e (B versus D), porém não houve diferença quando utilizado o mesmo tipo de celulose de diferentes fabricantes (A versus B) e (C versus D). Através dos dados obtidos observa-se que os preformulados A e B apresentam maior liberação. Há relatos de diversos fatores capazes de exercer influência sobre a velocidade de dissolução de fármacos em formas farmacêuticas sólidas, tais como: características físico-químicas do fármaco, excipientes utilizados, processo de fabricação; embalagem e armazenamento e parâmetros do ensaio de dissolução [13-14]. No presente trabalho foi variado apenas o tipo de celulose (PH101 ou PH102) e o fabricante das mesmas (fabricante B ou R). Desta forma, as diferenças observadas podem ser explicadas em função da diferença do tipo de celulose empregada.

4. CONCLUSÕES

Os perfis de dissolução intrínseca analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), e, a velocidade de dissolução intrínseca analisada pelo teste ANOVA mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os perfis de dissolução e velocidade de dissolução intrínseca dos diferentes lotes de sinvastatina.

A pressão de vapor ponderada analisada pelo teste ANOVA demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os diferentes lotes de sinvastatina e foi verificado correlação direta entre a pressão de vapor e a velocidade de dissolução intrínseca da mesma.

Os perfis de dissolução dos preformulados, analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), demonstraram haver diferença entre os perfis de dissolução quando utilizados diferentes tipos de celulose, porém não houve diferença quando utilizado o mesmo tipo de celulose de difentes fabricantes.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ) pelo apoio técnico e financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- [1] MILANI, P. Z.; JALALI, M. B.; AZIMI, M.; VALIZADEH, H.. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 73(1):102-106, 2009.
- [2] *FARMACOPÉIA BRASILEIRA*. 4ª Ed. Parte 1: Fascículo I, 1988.
- [3] *UNITED STATES PHARMACOPOEIA*. USP32-NF27, 2010.
- [4] TENHO, M.; HEINANEN, P.; TANNINEN, V. P.; LEHTO, V. P.. Does the preferred orientation of crystallites in tablets affect the intrinsic dissolution?. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 43:1315–1323, 2007.
- [5] MORA, P. C.; CIRRI, M.; MURA, P.. Differential scanning calorimetry as a screening technique in compatibility studies of DHEA extended release formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 42:3-10, 2006.
- [6] BARACAT, M. M.; NERY, M. M. F.; GOUVEIA, E. de F.; MENEGUELLI, L.; HIZUKA, S. M.; MAMPRIM, C. M.. Estudo comparativo de excipientes em diferentes técnicas de preparação de comprimidos de cloridrato de propranolol. *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde*. 22:19-24, 2001.
- [7] MORETON, R. C. Tablet excipients to the year 2001: a look into the crystal ball. *Drug Development Indian Pharmaceutiacal*. 22(1):11-23, 1996.

-
- [8] WANG, J.; WEN, H.; DESAI, D.. Lubrication in tablet formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. doi:10.1016/j.ejpb.2010.01.007, 2010.
- [9] GOMES, A. P. B.; CORREIA, L. P.; SIMÕES, M. O. S.; MACEDO, R. O.. Development Of Thermogravimetric Method For Quantitative Determination Of Metronidazole. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 88(2):383-387, 2007.
- [10] GOMES, A. P. B.; CORREIA, L. P.; SIMÕES, M. O. S.; MACEDO, R. O.. Development of Thermogravimetric Method to Quantitative Determination of Mebendazole. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 87(3):919-925, 2007.
- [11] HAZRA, A.; ALEXANDER, K.; DOLLIMORE, D.; RIGA, A.. Characterization of some essential oils and their key components: Thermoanalytical techniques *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 73:317-330, 2004.
- [12] OZAWA, T. A new method of analyzing thermogravimetric data. *Bulletin of Chemical Society Japan*. 38:1881-1886, 1965.
- [13] 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.
- [14] AMIDON, G.L.; LENNERNANS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R.. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. *Pharmaceutical Research*. 12:413-420, 1995.

Conclusões

4. CONCLUSÕES

Os resultados de DSC e DSC-Fotovisual mostraram diferenças no comportamento térmico das amostras nas transições de fase dos processos de fusão e volatilização.

Os parâmetros cinéticos obtidos pelos dados da termogravimetria dinâmica e isotérmica mostraram que a perda de massa da sinvastatina obedece a um processo cinético de reação de ordem zero. As energias de ativação foram diretamente correlacionadas com as constantes de decomposição térmica com todas as amostras.

Os dados Pir-CG/EM mostraram uma boa correlação entre a perda de massa do processo no pirolisador com a decomposição térmica na termogravimetria dinâmica. A identificação de novos compostos no pirograma com m/z 284 e m/z 207, na primeira etapa da decomposição térmica, permitiu confirmar a complexidade na interpretação sobre a ordem de reação de decomposição térmica da sinvastatina.

Os resultados de DTA mostraram não haver diferença entre as amostras de SV estudadas nem interação da celulose com a sinvastatina no processo de fusão do fármaco.

O dados termogravimétrico mostraram alteração na estabilidade térmica da sinvastatina nas misturas binárias com diferentes celulosas. Foi demonstrado também diferença entre as diferentes misturas. A ordem de estabilidade para as amostras estudadas foi $SV > SVMCB102 \geq SVMCB102 \geq SVMCB101 > SVMCR101$.

Os perfis de dissolução intrínseca analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), e, a velocidade de dissolução intrínseca analisada pelo teste ANOVA mostraram não haver diferença estatisticamente significativa entre os perfis de dissolução e velocidade de dissolução intrínseca dos diferentes lotes de sinvastatina.

A pressão de vapor ponderada analisada pelo teste ANOVA demonstrou não haver diferença estatisticamente significativa entre os diferentes lotes de sinvastatina e foi verificado correlação direta entre a pressão de vapor e a velocidade de dissolução intrínseca da mesma.

Os perfis de dissolução dos preformulados, analisados pelo fator de diferença (F_1) e de semelhança (F_2), demonstraram haver diferença entre os perfis de

dissolução quando utilizados diferentes tipos de celulose, porém não houve diferença quando utilizado o mesmo tipo de celulose de diferentes fabricantes.

Perspectivas

PERSPECTIVAS

- ✓ Desenvolver a formulação completa, produzir três lotes piloto e submeter aos testes de equivalência farmacêutica e bioequivalência;
- ✓ Realizar os estudos de estabilidade conforme o “Guia para Realização de Estudos de Estabilidade” da Resolução RE nº 1/2005..
- ✓ Desenvolver e validar metodologia para identificação, quantificação e isolamento dos produtos de degradação;
- ✓ Realizar testes toxicológicos para avaliação da toxicidade *in vitro* e *in vivo* dos produtos de degradação.

Referências

REFERÊNCIAS

- [1] PRISTA, L. N.. Segurança e eficácia medicamentosa e controle de qualidade. *Revista Portuguesa de Farmácia*. 38(3):1-8, 1988.
- [2] AULTON, M. E. *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2ª Ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677p.
- [3] CRAIG, M. Q. D.; READING, M.. *Thermal Analysis of Pharmaceuticals*. 1st Ed. New York: CRC Press, 2007. 416 p.
- [4] CHENG, S. Z. D.; LI, C. Y.; CALHOUN, B. H.; ZHU, L.; ZHOU, W. W.. Thermal analysis: the next two decades. *Thermochimica Acta*. 355:59-68, 2000.
- [5] MEDEIROS, A. F. D.; SANTOS, A. F.O.; SOUZA, F. S de; BASÍLIO JÚNIOR, I. D.; PROCÓPIO, J. V. V.; SANTANA, D. P de; MACÊDO, R. O.. Thermal studies of pre-formulates of metronidazole obtained by spray drying technique. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 89:775-81, 2007.
- [6] MEDEIROS, A. F. D.; SANTOS, A. F. O.; SOUZA, F. S. de; PROCÓPIO, J. V. V.; PINTO, M. F.; MACÊDO R. O.. Thermal stability of paracetamol and its pre-formulates obtained by spray drying. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 88(2):377-782, 2007.
- [7] MOURA, E. A.; CORREIA, L. P.; PINTO, M. F.; PROCÓPIO, J. V. V.; SOUZA, F. S de; MACÊDO, R. O.. Thermal characterization of the solid state and raw material fluconazole by thermal analysis and pyrolysis coupled to CG/EM. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2009;doi:10.1007/s10973-009-0473-x.
- [8] SILVA, R. M. F. da; MEDEIROS, F. P. M. de; NASCIMENTO, T. G.; MACÊDO, R. O.; NETO, P. J. R.. Thermal characterization of indinavir sulfate using TG, DSC and DSC-photovisual. *Journal of Thermal Analysis and calorimetry*. 95(3):1-4, 2009.

-
- [9] SHULGA, O.; DUNN, Jeffrey.. A simultaneous TG–DTA study of the thermal decomposition of 2-hydroxybenzoic acid, 2-carboxyphenyl ester (salsalate). *Thermochimica Acta*. 410:15-21, 2004.
- [10] MARCOLONGO, R. Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica. *Dissertação de Mestrado*. USP. São Paulo, 2003. 127 p.
- [11] KERNAN, W. N.; VISCOLI, C. M.; IZZUCCHI, S. E.; BRASS, L. M.; BRAVATA, D. M.; SHULMAN, G. I.; MCVEETY, J. C.. Prevalence of abnormal glucose tolerance following a transiente ischemic attack or ischemic stroke. *Archives of Internal Medicine*. 165:228-233, 2005.
- [12] GORAYA, T. Y.; LEIBSON, C. L.; PALUMBO, P. J.; WESTON, S. A.; KILLIAN, J. M.; PFAIFER, E. A.; JACOBSEN, S. J.; FRYE, R. L.; ROGER, V. L.. Coronary Atherosclerosis in Diabetes mellitus. *Journal of the American College of Cardiology*. 40(5):46-53, 2002.
- [13] KOJDA, G.; HARRISON, D.. Interaction between NO and reactive oxygen species: pathophysiological importance in atherosclerosis, hypertension, diabetes and heart failure. *Cardiovascular Research*. 43:562-571, 1999.
- [14] MARTINS, I. S.; COELHO, L. T.; MAZZILLI, R. N.; SINGER, J. da M.; SOUZA, C. U. DE; ANTONIETO-JUNIOR, A. E.; PASINI, U.; NIETO, R. A.; ÁLVARES, E. D.; OKANI, E. T.. Doenças cardiovasculares ateroscleróticas, dislipidemias, hipertensão, obesidade, diabetes melito da área metropolitana da região sudeste do Brasil. *Revista de Saúde Pública*. 27(4):250-261, 1993.
- [15] TOBERT, J. A.. Lovastatin and beyond: the history of the HMG-CoA reductase inhibitors. *Nature Reviews*. 2:517-526, 2003.
- [16] ISTVAN, E. S.; DEISENHOFER, J.. Structural mechanism for statin inhibition of HMG-CoA reductase. *Science*. 292:1160-1164, 2001.

-
- [17] VAUGHAN C. J.; GOTTO A. M.; BASSON C. T.. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *Journal American College Cardiology*. 35:1-10, 2000.
- [18] 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.
- [19] LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A. & KANIG, J. L.. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. 1^a Ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.
- [20] ANSEL, H. C.; POPOVICH, N. G. & ALLEN, L. V.. *Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos*. São Paulo: Premier, 2000. 568p.
- [21] SOUZA, N. A. B. *Dissertação de Mestrado apresentada ao DCF/CCS/UFPB*. João Pessoa, 2005.
- [22] IONASHIRO, M.. *Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial*. 1^a Ed. Araraquara: Giz Editorial, 2004. 98 p.
- [23] SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J. & NIEMAN, T. A. *Principles of Instrumental Analysis*. 5th, Philadelphia: Harcourt Brace & Company. 1998. p. 798-809.
- [24] MACÊDO, R. O. Controle de Qualidade de Formas Farmacêuticas Sólidas Através de Dados Termogravimétricos. *Tese do concurso para professor titular, apresentado ao DCF/CCS/UFPB*. João Pessoa, Novembro de 1996.
- [25] MEDEIROS, A. C. D. de. *Dissertação de Mestrado apresentada ao DCF/CCS/UFPB*. João Pessoa, 2001.
- [26] GOMES, M. J. V.; REIS, A. M. M.. *Ciências Farmacêuticas: uma Abordagem em Farmácia Hospitalar*. São Paulo: Atheneu, 2000.

-
- [27] HUYNH-BA, K.. *Handbook of stability testing in pharmaceutical development: regulations, methodologies and best practices*. Delaware: Springer, 2009. 390 p.
- [28] FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D.. *Physicochemical Principles of Pharmacy*. 4th ed. London: Pharmaceutical Press, 2006. 513 p.
- [29] SOUZA, F. S de. *Dissertação de Mestrado apresentada ao DCF/CCS/UFPB*. João Pessoa, 2001.
- [30] FORD, J. L.; TIMMINS, P.. *Pharmaceutical Thermal analysis: Techniques and Applications*. New York: John Willey & Sons. 1989. 245p.
- [31] DOLLIMORE, D.; ALEXANDER, K. S.. A thermogravimetric study of ascorbic acid and its excipients in pharmaceutical formulation. *Thermochimica Acta*, 284, 115-126, 1996.
- [32] DAGAR, V. D.. Factors affecting the stability of pharmaceutical products. *East. Pharm. New Delhi*. 6:41-42, 1990.
- [33] MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. *Análise térmica de materiais*. São Paulo: Ed. Ieditora, 2002.
- [34] HATAKEYAMA, T. ; QUINN, F. X.. *Thermal Analysis: Fundamentals and application to polymer science*. New York: John Willey & Sons, 1997. 158p.
- [35] RIBEIRO, Y. A.; CAIRES, A. C. F.; BORALLE, N.; IONASHIRO, M.. Thermal decomposition of acetylsalicylic acid (aspirin). *Thermochimica Acta*. 279:177-181, 1996.
- [36] *UNITED STATES PHARMACOPOEIA*. USP32-NF27, 2010.
- [37] KEATTCH, C. J.; DOLLIMORE, D. *An Introduction to Thermogravimetry*. 2nd ed. New York: John Willey & Sons, 1975. 164p.

-
- [38] KENKEL, J.. *Analytical Chemistry for Technicians*. 3rd ed.. CRC Press, 2002. 584 p.
- [39] BRITTO, J. M.; RANGEL, M. do C.. Processos avançados de oxidação de compostos fenólicos em efluentes industriais. *Química Nova*. 31(1):114-122, 2008.
- [40] ANDREY, R.E.. *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An introduction*. England: John Wiley & Sons, LTD, 2003.
- [41] BAPTISTA, E. B.. *Dissertação de Mestrado apresentada ao CCS/UFRJ*. Rio de Janeiro, 2005.
- [42] SPOSITO, A. C. (Editor). IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 88(1):2-19, 2007.
- [43] CESSE, E. A. P.; CARVALHO, E. F. de; SOUZA, W. V. de; LUNA, C. F.. Tendência da Mortalidade por doenças do Aparelho Circulatório no Brasil: 1950 a 2000. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 93(5):490-497, 2009.
- [44] FARIAS, N.; SOUZA, J. M. P. de; LAURENTI, R.; ALENCAR, S. M. de. Mortalidade Cardiovascular por Sexo e Faixa Etária em São Paulo, Brasil: 1996 a 1998 e 2003 a 2005. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 93(5):498-505, 2009.
- [45] OLIVARES, C. A. S.; CARDONA, M. M.. Prevalencia de factores de riesgo cardiovascular em pacientes evaluados por dolor torácico. *Revista Mexicana de Cardiologia*. 18(3):109-118, 2007.
- [46] TENENBAUM, A.; FISMAN, E. Z.; MOTRO, M.; ADLER, Y.. Atherogenic dyslipidemia in metabolic syndrome and type 2 diabetes: therapeutic options beyond statins. *Cardiovascular Diabetology*. 5:1-8, 2006.

-
- [47] DAVIDSON, M. H.; TOTH, P. P.. Comparative effects of lipid-lowering therapies. *Progress in Cardiovascular Diseases*. 42(2):73-104, 2004.
- [48] MAAS, R.; BÖGER, R. H.. Old and new cardiovascular risk factors: from unresolved issues to new opportunities. *Atherosclerosis Supplements*. 4(4):5-17, 2003.
- [49] DESPRÉS, J. P.; LEMIEUX, I.; DAGENAIS, G. R.; CANTIN, B.; LAMARCHE, B.. HDL-cholesterol as a marker of coronary heart disease risk: the Québec cardiovascular study. *Atherosclerosis*. 153(2):263-272, 2000.
- [50] RIBAS, S. A.; SILVA, L. C. S. da. Dislipidemia em Escolares na Rede Privada de Belém. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 92(5):446-451, 2009.
- [51] CHAPMAN, M. J.; GOFF, W. L.; GUERIN, M.; KONTUSH, A.. Cholesteryl ester transfer protein: at the heart of the action of lipid-modulating therapy with statins, fibrates, niacin, and cholesteryl ester transfer protein inhibitors. *European Heart Journal*. 31:149–164, 2010.
- [52] KRYSIAK, R.; ABUZEK, K.; OKOPIEŃ, B.. Effect of atorvastatin and fenofibric acid on adipokine release from visceral and subcutaneous adipose tissue of patients with mixed dyslipidemia and normolipidemic subjects. *Pharmacological Reports*. 61:1134-1145, 2009.
- [53] HAHN, B. H.; GROSSMAN, J.; ANSELL, B. J.; SKAGGS, B. J.; MCMAHON, M.. Altered lipoprotein metabolism in chronic inflammatory states: proinflammatory high-density lipoprotein and accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 10(4):1-12, 2008.
- [54] NISSEN S. E.; TUZCU, E. M.; SCHOENHAGEN, P.; CROWE, T.; SASIELA, W. J.; TSAI, J.; ORAZEM, J.; MAGORIEN, R. D.; O'SHAUGHNESSY, C.; GANZ, P.. Statin Therapy, LDL Cholesterol, C-Reactive Protein, and Coronary Artery Disease. *The new england journal of medicine*. 352(1):29-38, 2005.
-

- [55] JORGE, P. A. R.; ALMEIDA, E. A. de; OZAKI, M. R., JORGE, M; CARNEIRO, A. Efeitos da Atorvastatina, Fluvastatina, Pravastatina e Simvastatina Sobre a Função Endotelial, a Peroxidação Lipídica e a Aterosclerose Aórtica em Coelhos Hipercolesterolêmicos. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 84(4):314-319, 2005.
- [56] VAUGHAN C. J.; GOTTO A. M.. Update on statins: 2003. *Journal of the American Heart Association*. 35:1-10, 2004.
- [57] GOODMAN, L.S.; GILMAN, A.. *As bases farmacológicas da terapêutica*. 10^a ed. Rio de Janeiro: McGraw -Hill, 2003. 1647p
- [58] NOVAKOVA, L.; SATINSKY, D.; SOLICH, P. HPLC methods for the determination of simvastatin and atorvastatin. *Trends in Analytical Chemistry*. 27(4):352-367, 2008.
- [59] METCALFE, C.D.; MIAO, X. S.. Determination of cholesterol-lowering statin drugs in aqueous samples using liquid chromatography-electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 998:133-14, 2003.
- [60] ROCHE, Victoria F. Estatinas antihyperlipidemicas. *American Journal of Pharmaceutical Education*. 69(4):546-560, 2005.
- [61] HWANG, L.S.; YANG D.J.. Study on the conversion of three natural statins from lactone forms to their corresponding hydroxy acid forms and their determination in Pu-Erh-tea. *Journal of Chromatography A*. 1119:277-284, 2006.
- [62] ERTURK, S.; ONAL, A.; CETIN, S.M. Analytical methods for the quantitative determination of 3-hydroxy-3methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors in biological samples. *Journal of Chromatography B*. 793:193-205, 2003.
- [63] *BRITISH PHARMACOPOEIA*. London: United Kingdom, 2009.