

**Universidade Federal de Alfenas
Pró Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós Graduação em Química**

JOSIANE SOUZA PEREIRA DANIEL

**Estudo de estabilidade e compatibilidade em
formulações farmacêuticas contendo Ziprasidona ou
Risperidona**

Alfenas, MG

2013

JOSIANE SOUZA PEREIRA DANIEL

**Estudo de estabilidade e compatibilidade em
formulações farmacêuticas contendo Ziprasidona ou
Risperidona**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.
Orientadora: Jerusa Simone Garcia Trevisan
Coorientador: Marcello Garcia Trevisan

Alfenas/MG

2013

Daniel, Josiane Souza Pereira
Estudo de estabilidade e compatibilidade em formulações
farmacêuticas contendo Ziprasidona ou Risperidona / Josiane Souza
Pereira Daniel. - 2013.
97 f. -

Orientadora: Jerusa Simone Garcia Trevisan
Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de
Alfenas, Alfenas, MG, 2013.
Bibliografia.

1. Risperidona. 2. Termogravimetria. 3. Varredura Diferencial de
Calorimetria. 4. Cromatografia Líquida. 5. Análise de Componente
Principal. I. Trevisan, Jerusa Simone Garcia. II. Título.

CDD: 543

JOSIANE SOUZA PEREIRA DANIEL

**Estudo de estabilidade e compatibilidade em
formulações farmacêuticas contendo Ziprasidona ou
Risperidona**

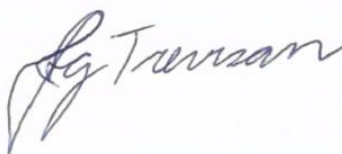
A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a dissertação apresentada como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica.

Orientadora: Jerusa Simone Garcia Trevisan

Aprovada em 22 de julho de 2013.

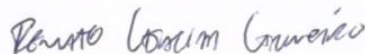
Professora. Dr.^a Jerusa Simone Garcia

Instituição: UNIFAL-MG Assinatura:



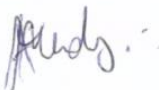
Prof. Dr. Renato Lajarim Carneiro

Instituição: UFSCar Assinatura:



Prof. Dr. Roni Antonio Mendes

Instituição: UNIFAL-MG Assinatura:



*Dedico este trabalho aos meus pais
Jeremias e Penha, que dedicaram suas
vidas a me dar o melhor que podiam
sempre, e eles foram instrumentos de
Deus pra me fazer chegar até aqui.*

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos pela conclusão desse trabalho são, em primeiro lugar, a Deus. Ele providenciou tudo o que era necessário para que eu chegasse até aqui e me deu força e coragem o tempo todo para que eu pudesse encarar e vencer esse desafio.

Agradeço aos meus pais Jeremias e Penha, que, mesmo tendo que suportar uma saudade terrível por causa da distância, me deram todo o suporte que precisei e me apoiaram o tempo todo. Aos meus irmãos e familiares que sempre me deram apoio e palavras de incentivo.

Aos amigos, hoje distantes, que me incentivaram a seguir em frente. Aos amigos da Família IPI e da ABU, que se tornaram minha nova família, caminharam comigo e me deram força nos momentos difíceis.

Às meninas Polichinelo: Isabela, Rebeca, Letícia, Cibelle, Carol e Ana, que foram minhas colegas de república, pela convivência, ajuda e companheirismo. Em especial à Isabela, que também foi de faculdade na graduação e colega de laboratório no mestrado, e muito me incentivou a vir para Alfenas me deu todo o apoio que precisei quando cheguei aqui.

Aos meus orientadores Prof.^a Dra. Jerusa Simone Garcia e Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan, pela excelente orientação, pela paciência e disposição em me auxiliar na execução deste trabalho.

Aos demais professores e funcionários da Unifal-MG que de alguma forma tenham contribuído na execução deste trabalho. Em especial à Fabiana, secretária do Programa de Pós-Graduação, que sempre me ajudou quando precisei.

Aos colegas do LACFar, em especial à Larissa Rodrigues, a quem devo a execução de partes deste trabalho.

Agradeço à Universidade Federal de Alfenas – Unifal-MG pela oportunidade de realizar este trabalho.

À FAPEMIG e CNPQ pelo suporte financeiro e à CAPES pela bolsa de estudos concedida.

Aos laboratórios farmacêuticos Aché, pelas matérias-primas cedidas.

Ao Instituto de Química da Unicamp e ao Laboratório de Cristalografia da Unifal-MG pelas medidas realizadas.

Aos membros da banca examinadora, pela disposição em avaliar meu trabalho e contribuir com suas correções e críticas.

A todos o meu “MUITO OBRIGADA”!

“Não se preocupem com sua própria vida, quanto ao que comer ou beber; nem com seu próprio corpo, quanto ao que vestir. Não é a vida mais importante que a comida, e o corpo mais importante que a roupa? Busquem, pois, em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça, e todas essas coisas lhes serão acrescentadas.”

(Jesus Cristo – Evangelho de Mateus. Bíblia Sagrada)

RESUMO

Primeiramente, os fármacos risperidona e ziprasidona foram caracterizados físico-quimicamente pelas técnicas Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC), Termogravimetria (TG), Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR), Difractometria de Raios X (PXRD), Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e Espectroscopia Raman (somente para ziprasidona). Em seguida, os fármacos foram submetidos a estudos de estabilidade na presença de excipientes, de acordo com as normas da ICH (*International Conference Harmonization*), que apresentam diretrizes internacionais para esses estudos, as quais são adotadas no Brasil pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Neste trabalho foram analisados os dois fármacos, os excipientes e as misturas binárias (proporção 1:1 (m/m) constituída pelo fármaco com cada excipiente imediatamente depois do preparo. Estas amostras foram novamente analisadas após serem armazenadas em câmara de estabilidade a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa (UR) por 3 meses e 6 meses. Os resultados obtidos para as amostras incubadas foram comparados com os das amostras iniciais. A risperidona foi caracterizada como forma polimórfica C pela PXRD. Na DSC apresentou evento endotérmico de fusão na faixa $170,5^{\circ}\text{C}$ a $175,3^{\circ}\text{C}$ e uma entalpia de fusão de $\Delta H_f = 101,91 \text{ J g}^{-1}$. Sua degradação térmica ocorreu a partir de $230,3^{\circ}\text{C}$, portanto foi termicamente estável na faixa de temperatura empregada no DSC (30°C a 200°C). Nos estudos de estabilidade da risperidona empregaram-se as técnicas de DSC, TG, FT-IR associada ao método quimiométrico denominado Análise de Componente Principal (PCA) e ainda a Cromatografia Líquida (LC). Os resultados mostraram que a risperidona foi compatível com amido e laurilsulfato de sódio, enquanto apresentou interação química com lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio. A ziprasidona foi caracterizada por PXRD e FT-IR como a forma polimórfica F. Apesar de ser cristalino, não foi possível realizar os estudos de compatibilidade com DSC, pois o fármaco não apresentou uma temperatura de fusão definida na qual fosse termicamente estável. As técnicas LC e FT-IR associada à PCA foram utilizadas para os estudos de estabilidade da ziprasidona. De acordo com os resultados, estearato de magnésio e PVP foram incompatíveis, enquanto amido, celulose microcristalina, manitol e talco foram compatíveis.

Palavras chave: Compatibilidade. Risperidona. Ziprasidona. DSC. TG. LC.

ABSTRACT

Stability studies of formulation containing the drugs risperidone or ziprasidone were done. These drugs were characterized through their physical and chemical characteristics by Differential Scanning Calorimetry (DSC), Thermogravimetry (TG), Spectroscopy Fourier Transform Infrared (FT-IR), X-ray Diffraction (PXRD), Scanning Electron Microscopy and Raman Spectroscopy (employed only for ziprasidone). Then, the drugs were submitted to stability studies using excipients, what is also called drug-excipient compatibility studies, according to the ICH standards (International Conference Harmonization), which provides international guidelines for its studies, adopted by ANVISA (National Agency for Sanitary Vigilance) in Brazil. Binary mixtures of each drug with excipient in a proportion of 1:1(w/w) immediately preparation and after stored instability chamber at $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ and $75\%\pm 5\%$ of relative moisture. The samples were analyzed again after 3 and 6 months of incubation and the results compared with the initials. The techniques used for the risperidone study were DSC, TG, FT-IR associated with chemometric method Principal Component Analysis (PCA) and Liquid Chromatography (LC). For ziprasidone were used LC and FT-IR associated with PCA. Risperidone was characterized as a polymorphic form C by the PXRD. The DSC showed a melting endothermic event at the range of 170.5°C to 175.3°C and a melting enthalpy of $\Delta H_f = 101.91 \text{ J g}^{-1}$. Risperidone thermal degradation occurred on 230.3°C thus it was thermally stable at the range temperature employed in DSC analysis (30° to 200°C). The stability studies showed that risperidone was compatible with starch and sodium lauryl sulfate, whilst it showed chemical interaction with magnesium stearate, anhydrous lactose and microcrystalline cellulose. Ziprasidone was characterized by PXRD and FT-IR as the polymorphic form F. In despite of being crystalline it wasn't possible to perform compatibility studies with DSC because this drug didn't show a defined melting temperature in range it is thermally stable. The results of stability studies revealed an incompatibility with PVP and magnesium stearate.

Key words: Compatibility. Risperidone. Ziprasidone. DSC. TG. LC

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura química da risperidona -----	19
Figura 2 - Fórmula estrutural da ziprasidona -----	21
Figura 3 - Esquema de célula calorimétrica de um equipamento de DSC por compensação de potência -----	30
Figura 4 - Esquema de célula calorimétrica de um equipamento de DSC por fluxo de calor -----	31
Figura 5 - Curva típica obtida no DSC-----	32
Figura 6 - Esquema de uma termo balança utilizada em equipamentos de análise termogravimétrica -----	33
Figura 7 - Curva TG para $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ -----	34
Figura 8 - Curvas térmicas para a risperidona -----	55
Figura 9 - Estrutura da risperidona com grupamentos assinalados e espectro de absorção no infravermelho da risperidona-----	55
Figura 10 - Difratoograma de raios X da risperidona -----	56
Figura 11 - Eletromicrografias da risperidona em aumento de 500x, 5000x e 1000x antes e depois do aquecimento-----	57
Figura 12 - Curvas DSC da risperidona e de cada excipiente isolado no tempo inicial -----	57
Figura 13 - Curvas DSC da risperidona em comparação com as misturas binárias no tempo inicial-----	58
Figura 14 - Espectros de absorção no infravermelho risperidona -----	60
Figura 15 - Comparação entre espectros de absorção no infravermelho de quatro misturas antes e após aquecimento -----	61
Figura 16 - Análise PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias -----	62
Figura 17 - Curvas TG da risperidona, da celulose microcristalina e da mistura binária entre os dois compostos -----	64
Figura 18 - Curvas TG da risperidona isolada, da lactose anidra isolada e da mistura binária entre os dois compostos -----	64
Figura 19 - Cromatogramas: branco e risperidona-----	65

Figura 20 - Curva de calibração da risperidona-----	66
Figura 21 - Cromatogramas das amostras de risperidona e misturas binárias 1:1 (m/m) após serem submetidas a aquecimento -----	67
Figura 22 - DSC das misturas binárias e da risperidona após 3 meses de incubação -----	68
Figura 23 - Bandas de absorção no infravermelho para risperidona-----	70
Figura 24 - PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias após 3 meses de incubação-----	71
Figura 25 - PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias após 6 meses de incubação-----	72
Figura 26 - Curvas térmicas para a ziprasidona -----	73
Figura 27 - Estrutura da ziprasidona com grupamentos assinalados e espectro de absorção no infravermelho da risperidona -----	74
Figura 28 - Espectro Raman para ziprasidona-----	74
Figura 29 - Difratoograma da ziprasidona -----	75
Figura 30 - Eletromicrografia da ziprasidona -----	76
Figura 31 - Cromatogramas branco e ziprasidona -----	76
Figura 32 - Curva de calibração para ziprasidona -----	77
Figura 33 - Espectros de absorção no infravermelho ziprasidona, manitol e mistura	78
Figura 34 - Comparação entre os espectros de absorção no infravermelho ziprasidona, excipientes e misturas binárias -----	79
Figura 35 - Cromatogramas da amostras após 3 meses de incubação-----	81
Figura 36 - Cromatogramas da amostras após 6 meses de incubação-----	82
Figura 37 - Espectros de absorção no infravermelho ziprasidona inicial e após 6 meses de incubação -----	83
Figura 38 - Triplicatas dos espectros de absorção no infravermelho para ziprasidona, manitol e ziprasidona +manitol -----	84
Figura 39 - Comparação entre os espectros de absorção no infravermelho -----	85
Figura 40 - PCA dos dados espectrais das amostras de ziprasidona e misturas binárias (risperidona/excipiente) -----	87
Figura 41 - Análise PCA para amostras contendo PVP -----	88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Condições de estocagem e tempo de incubação, exigidos pelo ICH, para estudos de estabilidade de fármacos -----	26
Tabela 2 - Seleção das amostras quanto aos conjuntos controle (Xc) e avaliação (Xa)-- -----	49
Tabela 3 - Gradiente da fase móvel para cromatografia da risperidona -----	50
Tabela 4 - Seleção das amostras quanto aos conjuntos controle (Xc) e avaliação (Xa) -----	52
Tabela 5 - Atribuições das bandas do espectro infravermelho aos grupos correspondentes na molécula de risperidona -----	56
Tabela 6 - Valores de entalpia de fusão da risperidona em comparação com as misturas binárias no tempo inicial -----	59
Tabela 7 - Valores de temperatura de fusão da risperidona nas amostras incubadas a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa -----	69
Tabela 8 - Valores entalpia de fusão da risperidona nas amostras incubadas -----	69

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- DSC** – Calorimetria Exploratória Diferencial (do inglês *Differential Scanning Calorimetry*)
- TG** – Termogravimetria (do inglês *Thermogravimetry*)
- DTG** – Termogravimetria Diferencial (do inglês *Differential Thermogravimetry*)
- DTA** – Análise Térmica Diferencial (do inglês *Differential Thermo Analyses*)
- FT-IR** – Infravermelho com Transformada de Fourier (do inglês *Fourier Transform Infrared*)
- PXRD** – Difração de Raios X de Pó (do inglês *Powder X Ray Diffraction*)
- MEV** – Microscopia Eletrônica de Varredura
- ICH** – Conferência Internacional de Harmonização (do inglês *International Conference on Harmonisation*)
- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- UR** – Umidade Relativa
- PCA** – Análise de Componente Principal (do inglês *Principal Component Analyses*)
- LC** – Cromatografia Líquida (do inglês *Liquid Chromatography*)
- MS** – Espectroscopia de Massas (do inglês *Mass Spectroscopy*)
- NIR** – Infravermelho Próximo (do inglês *Near Infrared*)
- UV** – Ultravioleta
- RMN** – Ressonância Magnética Nuclear
- HPLC** – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography*)
- UHPLC** – Cromatografia Líquida de Ultra Alta Eficiência (do inglês *Ultra High Performance Liquid Chromatography*)
- PDA** – Arranjo de Fotodiodos (do inglês *Photodiode Array*)
- PVP** – Polivinilpirrolidona
- ATR** – Reflectância Total Atenuada (do inglês *Attenuated Total Reflectance*)
- USP** – Farmacopéia dos Estados Unidos (do inglês *United States Pharmacopeia*)
- IC** – Intervalo de Confiança

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS.....	17
2.1.1	Risperidona	18
2.1.2	Ziprasidona.....	20
2.2	ESTUDO DE ESTABILIDADE DE FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS	22
2.3	TÉCNICAS ANALÍTICAS EMPREGADAS NOS ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE	27
2.3.1	Análise térmica	29
2.3.2	Difratometria de raios X e Espectroscopia no Infravermelho e Raman	35
2.3.3	Cromatografia líquida	38
3	OBJETIVOS	42
4	MATERIAIS E MÉTODOS	43
4.1	INSTRUMENTOS E ACESSÓRIOS.....	43
4.2	MATÉRIAS -PRIMAS	44
4.3	PREPARO DAS AMOSTRAS.....	44
4.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FÁRMACOS RISPERIDONA E ZIPRASIDONA	45
4.4.1	Calorimetria exploratória diferencial	45
4.4.2	Análise termogravimétrica	45
4.4.3	Espectroscopia no infravermelho	46
4.4.4	Difratometria de raios X.....	46
4.4.5	Microscopia eletrônica de varredura.....	46
4.4.6	Espectroscopia Raman	47
4.5	ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM RISPERIDONA	47

4.5.1	Calorimetria exploratória diferencial	47
4.5.2	Espectroscopia no infravermelho e Análise de Componente Principal	48
4.5.3	Análise termogravimétrica	49
4.5.4	Cromatografia líquida	50
4.6	ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM ZIPRASIDONA	51
4.6.1	Espectroscopia no Infravermelho	51
4.6.2	Cromatografia líquida	52
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
5.1	CARACTERIZAÇÃO DA RISPERIDONA	54
5.1.1	Análise térmica	54
5.1.2	Espectroscopia no infravermelho	55
5.1.3	Difratometria de raios X	56
5.1.4	Microscopia eletrônica de varredura	56
5.2	ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM RISPERIDONA	57
5.2.1	Análises das amostras de tempo inicial	57
5.2.1.1	<i>Calorimetria exploratória diferencial</i>	<i>57</i>
5.2.1.2	<i>Espectroscopia no infravermelho</i>	<i>59</i>
5.2.1.3	<i>Análise de Componente Principal</i>	<i>61</i>
5.2.1.4	<i>Análise termogravimétrica</i>	<i>63</i>
5.2.1.5	<i>Cromatografia líquida</i>	<i>65</i>
5.2.2	Análises das amostras de 3 e 6 meses	68
5.2.2.1	<i>Calorimetria exploratória diferencial</i>	<i>68</i>
5.2.2.2	<i>Espectroscopia no infravermelho</i>	<i>69</i>
5.3	CARACTERIZAÇÃO DA ZIPRASIDONA	72
5.3.1	Análise térmica	72

5.3.2	Espectroscopia no infravermelho e Raman.....	73
5.3.3	Difratometria de raios X.....	75
5.3.4	Microscopia eletrônica de varredura.....	75
5.4	ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM ZIPRASIDONA	76
5.4.1	Análises das amostras de tempo inicial.....	76
5.4.1.1	<i>Cromatografia líquida</i>	76
5.4.1.2	<i>Espectroscopia no infravermelho</i>	77
5.4.2	Análise das amostras de 3 e 6 meses.....	78
5.4.2.1	<i>Cromatografia líquida</i>	78
5.4.2.2	<i>Espectroscopia no infravermelho</i>	83
5.4.2.3	<i>Análise do Componente Principal</i>	86
6	CONCLUSÃO	89

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, o comércio mundial de produtos farmacêuticos apresentou um crescimento que atraiu a atenção de autoridades reguladoras e da indústria farmacêutica de diversos países. Isso porque há uma preocupação relacionada aos aspectos científicos e técnicos do registro de medicamentos, para que atendam aos parâmetros de segurança, eficácia e qualidade de acordo com as exigências de cada país. Nesse sentido, um aspecto importante a ser estudado é a estabilidade das formulações farmacêuticas, ou seja, a extensão em que um medicamento é capaz de conservar, ao longo do tempo, as mesmas propriedades e características apresentadas na ocasião em que foi fabricado. Por isso uma das exigências fundamentais para a aprovação de uma nova formulação é a realização de estudos de estabilidade para o produto proposto. Este estudo avalia a estabilidade intrínseca do fármaco tanto no estado sólido como em solução, e sua estabilidade na presença de outros componentes da formulação. A realização de testes de estabilidade durante o desenvolvimento de uma nova formulação tem como o objetivo fornecer evidências de como a qualidade dessa formulação varia com o tempo sob a influência de uma variedade de fatores ambientais como temperatura, umidade e luz. Isso é importante para estabelecer, adequadamente, as condições de armazenamento, tipo de embalagem e prazo de validade; além de fornecer informações sobre as possíveis interações entre o fármaco e outros componentes da formulação. Um estudo de estabilidade mal conduzido pode levar a problemas na formulação que comprometam a segurança, eficácia e qualidade desejadas.

Em 2011, os antipsicóticos foram a quinta classe de medicamentos mais vendida no mundo, atingindo um total de vendas de 28,4 bilhões de dólares. Desse total, 14,7 bilhões são referentes aos cinco primeiros mais vendidos (aripiprazol, quetiapina, olanzapina, ziprasidona, risperidona), todos pertencentes à classe dos antipsicóticos atípicos. Essa classe de fármacos é recente no mercado e apresenta grandes vantagens em relação aos antipsicóticos clássicos, por apresentarem melhor resposta clínica com menos efeitos colaterais. Assim, as pesquisas relacionadas aos antipsicóticos atípicos tem se intensificado no sentido de desenvolver novos fármacos da mesma classe, sendo necessário o desenvolvimento de técnicas para avaliar a estabilidade química desse grupo de

fármacos. Além disso, a expiração de patentes dos medicamentos que já estão no mercado, abre caminho para o desenvolvimento de genéricos e similares, que necessitam dos mesmos estudos de estabilidade para serem desenvolvidos.

Neste trabalho foram abordados os fármacos risperidona e ziprasidona, como representantes do grupo de antipsicóticos atípicos. Os estudos foram conduzidos de acordo com as normas da ICH (*International Conference Harmonization*), que apresentam diretrizes internacionais para esses estudos, as quais são adotadas no Brasil, pela agência reguladora nacional, a ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária).

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguir será apresentada uma revisão bibliográfica a respeito do tema abordado neste trabalho.

2.1 ANTIPSICÓTICOS ATÍPICOS

O primeiro medicamento utilizado para tratamento de doenças psicóticas data de 1950, com a síntese da clorpromazina.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) Desde então, uma variedade de outros fármacos vêm sendo desenvolvidos para a terapia de doenças psicóticas como esquizofrenia, transtorno esquizoafetivo, transtornos de humor com manifestações psicóticas (depressão ou mania) e outros transtornos psicóticos relacionados.(Brunton, 2011) Pessoas com esse tipo de doença mental apresentam um senso distorcido ou inexistente da realidade e apresentam sintomas como alucinações, delírios, discurso desorganizado e comportamento agitado.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) Esses sintomas, chamados de “sintomas positivos”, são encontrados individualmente, ou raramente juntos, em todos os transtornos psicóticos e, normalmente, são responsivos à farmacoterapia.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) A esquizofrenia, no entanto, também é caracterizada pelos chamados “sintomas negativos” (alogia – pobreza do conteúdo do pensamento e da fala; avoliação – ausência ou diminuição de iniciativa; apatia) e por um déficit cognitivo, sintomas que demonstram uma resposta limitada ao tratamento antipsicótico clássico.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011)

A primeira geração de antipsicóticos, também conhecida como antipsicóticos típicos ou clássicos, tem como mecanismo de ação um intenso bloqueio dos receptores dopaminérgicos do tipo D2.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) Eles são efetivos na redução dos sintomas relacionados aos distúrbios psicóticos, sobretudo dos sintomas positivos, e apresentam grande importância clínica.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) No entanto, em muitos casos, sua eficácia é limitada, principalmente em relação aos sintomas negativos da doença, além disso, alguns pacientes são naturalmente resistentes ao tratamento.(Jibson; Tandon, 1998; Brunton, 2011) A adesão ao tratamento é prejudicada pelos fortes efeitos adversos que esses medicamentos produzem, como disforia (mal estar psíquico acompanhado por sentimentos depressivos, tristeza, melancolia e pessimismo),

discinesia (movimentos involuntários do corpo), prejuízos na aprendizagem e processamento de informações, além de aumentar a agressividade, hostilidade e as chances de suicídio.(Jibson; Tandon, 1998; Carpenter; Koenig, 2008; Brunton, 2011) O termo “neurolépticos” também é usado para se referir a essa classe de medicamentos devido a um efeito colateral característico chamado “efeito extrapiramidal”, que é caracterizado por tremores semelhantes aos provocados pela doença de Parkinson.(Jibson; Tandon, 1998)

Tantas limitações ao tratamento levaram à busca de novos fármacos com mecanismos de ação alternativos e maior eficácia terapêutica. Avanços no tratamento foram alcançados a partir de 1989 com a aprovação da clozapina para uso clínico nos Estados Unidos, que deu início a uma nova geração de antipsicóticos, os chamados antipsicóticos atípicos.(Kapur; Remington, 2001; Stimmel; Gutierrez; Lee, 2002; Brunton, 2011) Os medicamentos dessa classe são potentes antagonistas dos receptores de serotonina 5-HT₂ e bloqueiam os receptores D₂ com menor potência do que os antigos agentes antipsicóticos típicos. Esses mecanismos de ação resultam em um perfil clínico “atípico” de eficácia antipsicótica, caracterizado por uma maior eficácia contra os sintomas negativos e redução significativa dos efeitos colaterais como os efeitos extrapiramidais e outros distúrbios de movimento, o que leva a uma maior adesão ao tratamento.(Jibson; Tandon, 1998; Carpenter; Koenig, 2008; Brunton, 2011)

A seguir, serão apresentadas informações referentes aos dois fármacos avaliados neste trabalho.

2.1.1 Risperidona

A risperidona foi o segundo antipsicótico atípico lançado no mercado farmacêutico. Sua aprovação, em 1994, foi importante para consolidar o uso de antipsicóticos atípicos no tratamento de rotina. Isso porque a clozapina, o fármaco pioneiro da classe, tem seu uso limitado pelo risco de causar agranulocitose, o que exige contínua monitorização terapêutica por meio de hemograma.(Jibson; Tandon, 1998)

Como é característico dos atípicos, a risperidona apresenta atividade antagonista para os receptores de serotonina (5-HT₂), de dopamina (D₂), além de inibir receptores de histamina (H₁). É considerado “quantitativamente atípico”, pelo

fato de que, em doses mais altas, pode provocar efeitos extrapiramidais, característicos dos antipsicóticos clássicos; no entanto em doses menores que 6 mg por dia, esses efeitos são limitados.(Brunton, 2011) Clinicamente é utilizada no tratamento de psicoses como esquizofrenia, mania aguda e transtorno bipolar. Pode ser administrada por via oral ou injeção intramuscular.(Janssen Pharmaceutica; Janssen Research Foundation, 1994; Sweetman, 2009; Brunton, 2011)

Quimicamente, a risperidona é caracterizada por um pó branco, praticamente insolúvel em água e solúvel em diclorometano e metanol. Apresenta valores de $pK_{b1} = 8,24$ e $pK_{b2} = 3,11$ e ponto de fusão entre 169°C e 173°C .(Janssen Pharmaceutica; Janssen Research Foundation, 1994) A Figura 1 exibe a estrutura química deste fármaco. (Janssen Pharmaceutica; Janssen Research Foundation, 1994)

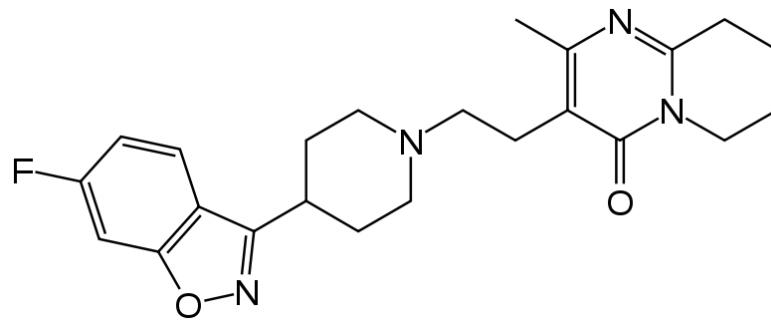


Figura 1 Estrutura química da risperidona

Fonte: (Janssen Pharmaceutica; Janssen Research Foundation, 1994)

No mercado, o medicamento de referência para a risperidona é o Risperdal, do laboratório Janssen Pharmaceutica. Porém, devido à expiração da sua patente em dezembro de 2007, atualmente existem diferentes marcas, de diferentes laboratórios, que comercializam medicamentos com este princípio ativo.

A literatura relata a aplicação da técnica de LC associada aos detectores de ultravioleta (UV) e espectrometria de massa (MS) para identificação e quantificação de risperidona em amostras de matéria prima, comprimidos e amostras biológicas;(Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007; Baldania et al., 2008; Huang et al., 2008) além disso, foi feita caracterização de polimorfos da risperidona por IR, Raman e XRPD USP 32.(United States Pharmacopeial Convention, 2008) No entanto, não há publicações a respeito de estudos de compatibilidade entre a risperidona e excipientes farmacêuticos.

2.1.2 Ziprasidona

Mais recentemente, o foco das pesquisas tem mudado no sentido de caracterizar as diferenças clínicas importantes entre cada integrante dessa classe terapêutica.(Stimmel; Gutierrez; Lee, 2002) Com isso, novos antipsicóticos atípicos foram desenvolvidos, como olanzapina e quetiapina, além da ziprasidona, que tornou-se o quinto antipsicótico atípico a ser aprovado para o tratamento da esquizofrenia e transtorno esquizoafetivo nos Estados Unidos.(Jibson; Tandon, 1998; Stimmel; Gutierrez; Lee, 2002; Carpenter; Koenig, 2008)

A ziprasidona é um antagonista dos receptores dopaminérgicos do tipo D2, porém sua ação é substancialmente maior nos receptores de serotonina do tipo 5HT2A e interage ainda com outros receptores serotoninérgicos (5HT2C, 5HT1D e 5HT1A) com afinidade igual ou maior à sua afinidade pelo receptor D2.(Sweetman, 2009; Pfizer Canada, 2010) Este fármaco se diferencia dos outros antipsicóticos atípicos por apresentar atividade agonista dos receptores serotoninérgicos 5HT1A e inibir a recaptção de serotonina e noradrenalina, que lhe confere ainda efeitos ansiolíticos e antidepressivos.(Kapur; Remington, 2001; Stimmel; Gutierrez; Lee, 2002)

Ensaio clínico estabeleceram a eficácia da ziprasidona no tratamento tanto dos sintomas positivos quanto dos negativos da esquizofrenia; da exacerbação aguda de sintomas da esquizofrenia e do transtorno esquizoafetivo; na prevenção da recidiva com uso a longo prazo; no tratamento da mania aguda em pacientes com transtorno bipolar do tipo 1. Um importante efeito adverso relacionado ao uso desse medicamento é a hiperprolactinemia transitória, um aumento na produção do hormônio prolactina, que ocorre no período inicial do tratamento. No entanto, a ziprasidona, ao contrário da maioria das drogas antipsicóticas atípicas, não está associada a ganho de peso, hiperlipidemia, ou níveis elevados de glicose no plasma.(Kapur; Remington, 2001; Stimmel; Gutierrez; Lee, 2002)

As vias de administração da ziprasidona são oral – na forma de cloridrato monohidratado – e parenteral – na forma de mesilato. As doses, no entanto, são expressas em termos da base, de forma que 11,3 mg de cloridrato de ziprasidona ou 13,6 mg de mesilato de ziprasidona são equivalentes a cerca de 10 mg de ziprasidona base.(Sweetman, 2009)

Quimicamente, a ziprasidona é caracterizada como um pó branco ligeiramente rosa, com pK_a de 6,68; pouco solúvel em dimetilsulfóxido e metanol; muito pouco solúvel em água; praticamente insolúvel em acetona, clorometano, hexano, isopropanol, ácido clorídrico 0,01 mol.L⁻¹ e hidróxido de sódio 0,1 mol.L⁻¹. Seu ponto de fusão não é bem definido, uma vez que, simultaneamente à fusão, ocorre degradação da molécula a uma temperatura de 318°C.(Pfizer Canada, 2010) Sua molécula apresenta uma forte tendência à cristalização devido à formação de ligações de hidrogênio intramoleculares (entre átomos da mesma molécula) e às interações intermoleculares, o que explica sua baixa solubilidade em água.(Hong; Shah; McGonagle, 2011) Sua fórmula molecular é C₂₁H₂₁ClN₄OS.HCl.H₂O e sua estrutura é apresentada na Figura 2.(Pfizer Canada, 2010)

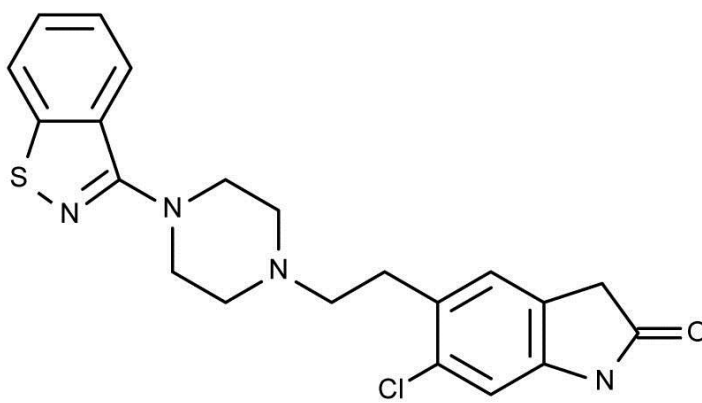


Figura 2 Fórmula estrutural da ziprasidona

Fonte: (Pfizer Canada, 2010)

No mercado, o medicamento de referência, cujo princípio ativo é a ziprasidona é o Zeldox[®], que foi desenvolvido pelo Laboratório Pfizer, atual detentor da patente do fármaco.(Pfizer Canada, 2010) No Brasil, esse medicamento é comercializado com o nome Geodon[®] (também fabricado pela Pfizer), registrado desde 2008, e está na lista de medicamentos sujeitos a controle especial.(Brasil, 2002)

Uma pesquisa realizada na base de dados *Web of Knowledge*SM usando a palavra-chave “ziprasidona” mostra que a técnica de LC associada aos detectores de UV (Spencer et al., 2005; Singh et al., 2007; Marghade; Musmade; Moorkoth, 2012; Skibinski, 2012; Raj et al., 2013) e MS(AI-Dirbashi et al., 2006; Aravagiri; Marder; Pollock, 2007; Zhang; Terry; Bartlett, 2007; Lei et al., 2010; Nikolic et al.,

2012; Skibinski, 2012) é a mais utilizada para a identificação e quantificação de ziprasidona em matéria prima, (Singh et al., 2007; Nikolic et al., 2012; Zakowiecki; Cal, 2012) formulação de cápsulas (Singh et al., 2007; Nikolic et al., 2012; Zakowiecki; Cal, 2012; Raj et al., 2013) e amostras biológicas.(Spencer et al., 2005; Al-Dirbashi et al., 2006; Aravagiri; Marder; Pollock, 2007; Zhang; Terry; Bartlett, 2007; Lei et al., 2010; Marghade; Musmade; Moorkoth, 2012) Além disso, outros métodos desenvolvidos para determinação do fármaco em formulações empregam as técnicas de espectrofluorimetria, eletroforese capilar e espectroscopia UV. No entanto, não foram encontradas publicações que relatam estudos de compatibilidade fármaco-excipiente para a ziprasidona.

2.2 Estudos de estabilidade e compatibilidade de formulações farmacêuticas

Uma formulação farmacêutica é definida como a combinação de um fármaco (princípio ativo), ou mais de um, com excipientes farmacêuticos. Esses excipientes, também conhecido como adjuvantes, são substâncias sem atividade farmacológica, que possuem a função de auxiliar na obtenção mais eficiente da forma farmacêutica (produto final – cápsula, comprimido, xarope) desejada, agindo como diluentes, estabilizantes, conservantes, corantes, flavorizantes, entre outras funções.(Allen; Popovich; Ansel., 2011)

O termo estabilidade, aplicado a produto farmacêutico (ou medicamento), refere-se à extensão em que esse produto retém, dentro dos limites especificados e dentro do período de armazenagem e de uso, as mesmas propriedades e características que possuía na ocasião em que foi fabricado.(Allen; Popovich; Ansel., 2011) Na prática, o que se espera é que não haja degradação do princípio ativo, nem qualquer outra alteração no produto final durante o tempo de prateleira que venha modificar a ação esperada. A estabilidade interfere diretamente na qualidade do medicamento, a qual leva em conta sua eficácia e segurança ao ser administrado a um paciente. A eficácia, por sua vez, está relacionada com a manutenção da dosagem do princípio ativo na formulação, bem como da solubilidade e biodisponibilidade do mesmo, para que este seja capaz de atingir níveis plasmáticos suficientes para exercer sua função farmacológica. Enquanto a segurança está relacionada à não formação de produtos de degradação potencialmente tóxicos ou a alterações que possam aumentar a solubilidade e biodisponibilidade do fármaco de

forma que venha atingir níveis tóxicos no organismo. Para alcançar esses parâmetros, é fundamental que sejam feitos estudos de estabilidade nas etapas de pré-formulação, a fim de se determinar a formulação mais estável para cada princípio ativo. Uma formulação estável, portanto, é aquela capaz de superar todos os fatores que comprometem a qualidade do medicamento. (Allen; Popovich; Ansel., 2011; World Health Organization; WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring, 2002; Center for Drug; Research; Research, 2003; Ahuja, 2005)

Nos últimos anos, o comércio mundial de produtos farmacêuticos tem aumentado significativamente, sendo comum a produção de um medicamento em um país e sua comercialização em outro. Esse fato despertou uma preocupação internacional com a qualidade dos medicamentos que estão sendo produzido em cada país e levou ao surgimento de ações no sentido de padronizar regulamentos técnicos relacionados ao desenvolvimento e produção mundial de produtos farmacêuticos. (World Health Organization; WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring, 2002) Nesse sentido, em 1990, foi criada a “Conferência Internacional de Harmonização dos Requisitos Técnicos para Registro de Produtos Farmacêuticos para Uso Humano” mais conhecida como ICH (*International Conference on Harmonisation*), cujo comitê, formado por autoridades reguladoras e representantes da indústria farmacêutica da Europa, Japão e Estados Unidos, se reúne a cada 2 anos para discutir aspectos científicos e técnicos de registro de medicamentos com o objetivo de alcançar uma maior harmonização que garanta o desenvolvimento e registro de medicamentos seguros, eficazes e de alta qualidade.(*International Conference on Harmonisation*) Autoridades sanitárias de diversos países têm adotado as diretrizes da ICH como regulamentos e normas estabelecidos por suas agências reguladoras. Essa medida é interessante para que os produtos de cada país tenham maior credibilidade no mercado farmacêutico mundial. No Brasil, o órgão responsável por essa regulamentação é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que considera as diretrizes da ICH como requisitos para o desenvolvimento e produção de medicamentos no país.(Brasil, 2005)

A estabilidade de formulações farmacêuticas é um dos itens discutidos pela ICH, tendo em vista seu grau de importância para a manutenção da qualidade dos medicamentos produzidos. Ela pode ser estudada sob cinco aspectos: químico, físico, microbiológico, terapêutico e toxicológico.(Allen; Popovich; Ansel., 2011)

Procedimentos para a realização de testes de estabilidade durante o desenvolvimento de uma formulação, com o objetivo de fornecer evidências de como a qualidade dessa formulação varia com o tempo sob a influência de fatores ambientais, como temperatura, umidade e luz são discutidos nas diretrizes da ICH, na categoria “*Quality Guidelines*” (Diretrizes de Qualidade). (International Conference on Harmonisation; Center for Drug; Research; Research, 2003)

Ao se iniciar um projeto de desenvolvimento de um novo medicamento, é necessário que seja feita a caracterização adequada tanto do fármaco quanto dos excipientes a serem utilizados na formulação.(Giron, 1998) Para isso, técnicas analíticas apropriadas devem ser utilizadas para determinar suas propriedades físicas e químicas. (Ahuja, 2005) Tita et al (2011) utilizaram as técnicas de análise térmica [Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e Termogravimetria (TG)], Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) e Difractometria de Raios X (PXRD) para caracterizar o fármaco cetoprofeno e excipientes farmacêuticos antes de iniciar um estudo de pré-formulação. Rahman et al (2010) utilizaram as técnicas de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), DSC, FT-IR, XRPD e Espectroscopia no Infravermelho Próximo (NIR - do inglês *Near Infrared*) para caracterização do fármaco risperidona. Ayala et al (2010) utilizaram as técnicas de FT-IR e Raman para caracterização de diferentes polimorfos do fármaco olanzapina. Essa caracterização é fundamental, pois as características do fármaco podem se alterar na presença de determinados excipientes, o que pode comprometer a qualidade da formulação final. Essas possíveis alterações devem ser avaliadas durante os testes de estabilidade.(Auton, 2005)

Dentro do estudo de estabilidade recomendado pelo ICH estão inseridas ações como: análise da estabilidade intrínseca do fármaco, ou seja, a estabilidade frente a fatores ambientais (umidade, luz, pH e temperatura) relacionada exclusivamente à sua estrutura química, independente da presença de outras substâncias. E também a sua estabilidade na presença de excipientes, submetida aos mesmos fatores, o que caracteriza os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente. (Center for Drug; Research; Research, 2003; Allen; Popovich; Ansel., 2011)

A estabilidade intrínseca é estudada a partir da submissão do fármaco, tal qual produzido, a reações de degradação forçada, também chamadas de “*stress testing*”. Essas reações avaliam o comportamento do fármaco frente a variações

bruscas de pH, ambiente oxidativo, presença de radiação UV. Soluções concentradas de HCl, NaOH e H₂O₂ são utilizadas como meio de dissolução para o fármaco e o mesmo também é exposto na forma de pó à radiação UV. As condições de temperatura e tempo de exposição são variáveis de acordo com a estrutura de cada fármaco. Após essas exposições, as amostras geralmente são analisadas por LC (Cromatografia Líquida) a fim de analisar o grau de degradação do fármaco em cada um dos ambientes ao qual foi submetido. Esses testes também são importantes para identificar os produtos de degradação que podem ser formados à partir do fármaco, bem como as condições ambientais que podem favorecer a formação de tais produtos. (Center for Drug; Research; Research, 2003; El-Sherif et al., 2004; Singh et al., 2007; Mehta; Shah; Singh, 2010; Allen; Popovich; Ansel., 2011; Junwal et al., 2012; Lecoeur et al., 2012; Thomas et al., 2012)

Junwal et al (2012) fizeram a aplicação desses estudos para o fármaco oseltamivir, um antiviral utilizado para tratamento de infecções pelo vírus influenza. Neste trabalho o fármaco foi submetido a condições de estresse por hidrólise ácida, básica e neutra; oxidação; fotólise e estresse térmico. Em seguida as amostras foram analisadas por LC para a identificação dos produtos de degradação formados. Os resultados revelaram que houve degradação apenas nas amostras submetidas às hidrólises ácida e básica. Os produtos de degradação foram quimicamente caracterizados por LC-MS (LC acoplada a Espectrometria de Massas) e LC-NMR (LC acoplada a Ressonância Magnética Nuclear). A partir dos resultados, foi possível determinar as vias de degradação às quais o fármaco é suscetível e ainda determinar a estrutura molecular dos produtos de degradação.

Os estudos de compatibilidade fármaco-excipientes avaliam a estabilidade do fármaco na presença do excipiente. Idealmente os excipientes deveriam ser totalmente inertes ao fármaco, ou seja, sem qualquer tipo de interação entre eles. No entanto, por se tratarem de compostos químicos diversos em contato entre si, algumas interações podem ocorrer entre os componentes de uma formulação, as quais podem ser de duas naturezas: física ou química. Uma interação física:(Bernardi et al., 2009; Kumar et al., 2009; Pani et al., 2012; Julio et al., 2013) nem sempre está relacionada a uma incompatibilidade, uma vez que não leva à degradação do fármaco. Interações desse tipo podem ser: indução à mudança de forma polimórfica do fármaco (amorfização, recristalização, formação de co-cristal); solubilização do fármaco pelo excipiente; interação intermolecular entre os grupos

funcionais dos componentes da formulação (ligação de hidrogênio, por exemplo). As interações químicas (Lilto et al., 2011; Tita et al., 2011; Julio et al., 2013) constituem-se em incompatibilidade, uma vez que levam à degradação química do fármaco, com formação de produtos de degradação que levam à perda da eficácia e comprometimento da segurança da formulação em questão.

Para realizar um estudo de compatibilidade, geralmente são utilizadas misturas binárias, contendo o fármaco e um excipiente, geralmente preparadas na proporção 1:1 (m/m), que são armazenadas em câmara de estabilidade, com temperatura e umidade controladas. Amostras do fármaco isolado e dos excipientes isolados, também são armazenadas sob as mesmas condições e utilizadas como controle. (Center for Drug; Research; Research, 2003; Bernardi et al., 2009; Kumar et al., 2009; Allen; Popovich; Ansel., 2011; Lilto et al., 2011; Tita et al., 2011; Pani et al., 2012; Julio et al., 2013) Esses estudos podem ser em curto prazo (estabilidade acelerada e intermediária) ou em longo prazo (estabilidade prolongada). As condições de temperatura e umidade, bem como o tempo de armazenamento variam de acordo com o objetivo do estudo. A Tabela 1 apresenta as condições de armazenamento recomendadas pelo ICH para esses tipos de estudo. (Center for Drug; Research; Research, 2003)

Tabela 1 Condições de estocagem e tempo de incubação exigidos pelo ICH para estudos de estabilidade de fármacos.

Estudo	Condições de estocagem	Período mínimo de incubação
Longo prazo	25°C ± 2°C/60% UR* ± 5% UR ou 30°C ± 2°C/65% UR ± 5% UR	12 meses
Intermediário	30°C ± 2°C/65% UR ± 5% UR	6 meses
Acelerado	40°C ± 2°C/75% UR ± 5% UR	3 meses

*UR: Umidade relativa

Fonte: (Center for Drug; Research; Research, 2003)

No Brasil, para o registro de um novo medicamento, seja ele inovador (um novo princípio ativo ainda não presente no mercado), similar ou genérico, a ANVISA exige a apresentação dos resultados desses estudos conforme orientado pelo ICH. No entanto, muitos autores têm se utilizado de adaptações dessas condições de armazenamento, no intuito de obter resultados mais rápidos para uma triagem prévia dos excipientes. Além disso, atualmente, novas técnicas analíticas, como as análises térmicas, por exemplo, têm permitido a obtenção de resultados imediatos,

que possibilitam uma pré-seleção dos excipientes a serem submetidos às condições de armazenamento do ICH.

Antes de serem submetidas à câmara de estabilidade, as amostras devem ser analisadas e caracterizadas físico-quimicamente, por meio de diversas técnicas analíticas, como por exemplo, DSC, TG, FT-IR, PRXD ,(Bernardi et al., 2009; Soares et al., 2011)(Murakami et al., 2009; Yoshida et al., 2010; Paluch et al., 2011; Yoshida et al., 2011; Ryu; Sohn, 2012; Zielinska-Pisklak; Pisklak; Wawer, 2012) como já foi descrito anteriormente. Após determinado período de incubação, essas mesmas amostras são novamente avaliadas, sob as mesmas condições de análise, para observar se houve alguma alteração no perfil físico-químico. (Center for Drug; Research; Research, 2003)

Julio et al (2013) estudaram a compatibilidade do fármaco citrato de sildenafil com 10 diferentes excipientes farmacêuticos utilizando as técnicas de análise térmica (DSC e TG) e LC-UV. Neste estudo, amostras do fármaco isolado e de misturas binárias 1:1 (m/m) do fármaco com cada excipiente foram analisadas assim que preparadas e, em seguida, armazenadas em câmara de estabilidade a 40°C e 75% de umidade relativa. Os resultados iniciais da análise térmica revelaram que o fármaco interage com os excipientes estearato de magnésio, dióxido de silício coloidal, croscarmelose, manitol, sucrose e lactose monoidratada. Após um mês de incubação, as análise por LC-UV revelaram que concentrações do fármaco foram menores do que o esperado em todas as amostras, exceto na mistura com estearato de magnésio. Dessa forma, foi possível concluir, ainda numa etapa inicial do estudo, que o citrato de sildenafil é incompatível com os excipientes dióxido de silício coloidal, croscarmelose, manitol, sucrose e lactose monoidratada.

A compatibilidade da desloratadina com oito excipientes foi estudada por Veronez et al (2013). Misturas binárias 1:1 (m/m) do fármaco com cada excipiente foram preparadas e analisadas por DSC. Os resultados revelaram que a desloratadina foi compatível com fosfato de cálcio dibásico, amido e talco e incompatível com celulose microcristalina, lactose anidra, estearato do magnésio e ácido esteárico.

2.3 Técnicas analíticas empregadas nos estudos de estabilidade e compatibilidade

Como mencionado no item anterior, para desenvolver uma nova formulação farmacêutica, é essencial conhecer bem as características físico-químicas do fármaco e dos excipientes que se pretende usar na formulação alvo; uma vez que variações dessas propriedades podem refletir alterações na segurança, eficácia e qualidade do fármaco. (Bernardi et al., 2009; Allen; Popovich; Ansel., 2011; Soares et al., 2011) Portanto, técnicas analíticas apropriadas devem ser empregadas com a finalidade de obter informações sobre essas características ainda no estágio inicial do desenvolvimento. Essas mesmas técnicas devem ser utilizadas nos estudos de compatibilidade, para verificar se o fármaco mantém suas características ao longo do estudo. Esses dados são úteis para prever a estabilidade do produto final e garantir que o fármaco mantenha suas propriedades iniciais durante todo o período de prateleira, até chegar ao consumidor final. (World Health Organization; WHO Collaborating Centre for International Drug Monitoring, 2002; Center for Drug; Research; Research, 2003; Allen; Popovich; Ansel., 2011)

Dentre essas técnicas analíticas, por exemplo, a cromatografia pode ser empregada para avaliar variação de dosagem do fármaco na mistura e também para pesquisa de possíveis produtos de degradação.(Kumar et al., 2009; Liltorp et al., 2011; Julio et al., 2013) A difração de raios X é comumente utilizada para avaliar possíveis alterações na estrutura cristalina do fármaco.(Murakami et al., 2009; Yoshida et al., 2010; Yoshida et al., 2011) As espectroscopias Raman (Ayala et al., 2006; Cesur; Gokbel, 2008; Bernardi et al., 2009; Murakami et al., 2009; Ayala et al., 2010; Tita et al., 2011) e infravermelho (Bernardi et al., 2009; Murakami et al., 2009; Ayala et al., 2010; Tita et al., 2011) podem ser utilizadas para avaliar alterações nas bandas de absorção características da estrutura do fármaco, que podem indicar uma possível degradação dessa estrutura. As análises térmicas (principalmente DSC e TG) (Soares et al., 2011; Yoshida et al., 2011; Lavor et al., 2012; Julio et al., 2013) podem ser empregadas para avaliar possíveis alterações na estabilidade térmica do fármaco, alterações no ponto de fusão, que podem estar relacionadas a alterações polimórficas e presença de produtos de degradação, e alterações no valor da entalpia de fusão, que pode estar relacionado com variação da dosagem do fármaco na mistura devido à degradação.(Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007; Singh et al., 2007; Tita et al., 2011) (Giron, 1998)

Nos itens a seguir, serão fornecidos mais detalhes sobre as técnicas empregadas nos estudos de compatibilidade da risperidona e da ziprasidona.

2.3.1 Análise térmica

Aquecer uma amostra e observar o seu comportamento é uma maneira simples de se estudar um material. Isso porque as propriedades termodinâmicas como capacidade calorífica, entalpia e entropia são características individuais de cada substância. (Haines, 2002) Considerando esse fato, métodos de análise térmica foram desenvolvidos para estudar o comportamento termodinâmico de uma amostra (Haines, 2002) cuja propriedade física é medida em função da temperatura ou do tempo, quando submetida a um programa controlado de temperatura. (Giron, 1998; Verma; Garg, 2005) Tais métodos são utilizados como valiosa ferramenta na análise de fármacos e medicamentos. (Giron, 1998)

A análise de um sólido puro em determinada forma cristalina (um fármaco ou um excipiente, por exemplo) fornece curvas termoanalíticas características, das quais podem ser extraídas informações do tipo: temperatura de fusão, entalpia de mudança de fase e temperatura de decomposição. (Brown, 2001) Em uma mistura de sólidos, como no caso de uma formulação farmacêutica, onde o fármaco está associado a um ou mais excipientes, ocorrem interações entre as substâncias, as quais podem promover modificações nas propriedades do fármaco que são reveladas por alterações nas curvas termoanalíticas. (Brown, 2001) O estudo dessas interações é importante, pois elas são diretamente relacionadas à qualidade, segurança e eficácia do produto final.

A aplicação das técnicas de análise térmica, nos estudos de pré-formulação é um fato recente, porém vem ganhando espaço entre os pesquisadores. Destacam-se, entre elas, a DSC e a TG, por serem técnicas que permitem a obtenção de informações prévias sobre a compatibilidade de maneira rápida, com baixo custo e consumo mínimo de amostra (em torno de 3-20 mg por análise). (Tita et al., 2011; Tita et al., 2013; Veronez et al., 2013)

A técnica de DSC registra a diferença de energia cedida a uma amostra e a um material de referência em função da temperatura, quando estas são submetidas a um programa controlado de temperatura. Por meio dessa técnica, é possível acompanhar os efeitos do calor associados com alterações físicas e químicas da amostra como, por exemplo, transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, transições polimórficas); reações de desidratação, dissociação,

decomposição, oxirredução, as quais são capazes de causar variações de calor. Em geral, eventos de fusão, desidratação, reações de redução são endotérmicas; enquanto as cristalizações, oxidações são exotérmicas e reações de decomposição podem ser endo ou exotérmicas.

A amostra a ser analisada por DSC deve ser acondicionada em um cadinho de 5 a 6 mm de diâmetro, que pode ser feito de diferentes materiais (alumínio, platina, cobre e aço inoxidável) e de diferentes modelos (aberto, fechado, hermético).(MOTHÉ; Azevedo, 2009) Como referência pode-se utilizar um material inerte (como alumina, por exemplo) acondicionado em um cadinho idêntico ao utilizado para a amostra, ou simplesmente o cadinho vazio.(Haines, 2002)

Existem dois tipos de equipamentos de DSC: DSC por compensação de potência e DSC por fluxo de calor. Na compensação de potência, o cadinho contendo a amostra e o cadinho de referência são acondicionados em fornos separados. Ao serem submetidos a um programa controlado de temperatura, uma potência elétrica é fornecida a cada forno a fim de manter a amostra e a referência à mesma temperatura. Dessa forma, ao ocorrer um evento térmico na amostra, que libere ou absorva calor, a potência do forno é alterada a fim de compensar a alteração causada por esse evento. A diferença entre as potências dos fornos, atribuída à presença da amostra em um dos cadinhos, é mensurada e registrada.(L. Ford; Willson, 1999; Craig, 2007) Um esquema desse tipo de DSC está representado na Figura 3.

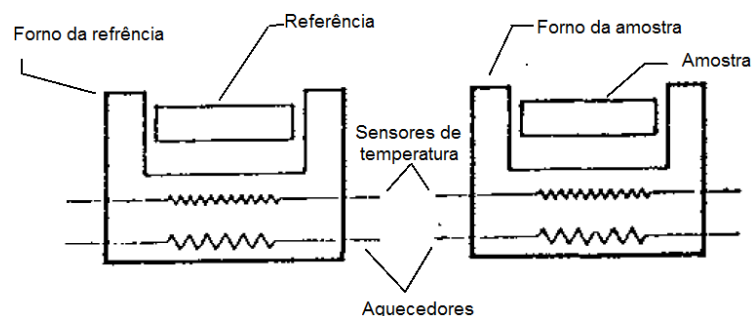


Figura 3 Esquema de célula calorimétrica de um equipamento de DSC por compensação de potência. Fonte: (L. Ford; Willson, 1999)

No DSC por fluxo de calor, tanto o cadinho contendo a amostra, quanto o cadinho de referência são acondicionados no mesmo forno em contato com sensores de temperatura individuais. O forno é submetido a um programa controlado de temperatura, e os sensores registram a diferença de temperatura entre a amostra

e a referência. Essa diferença é atribuída à diferença no fluxo de calor, devido à presença da amostra em um dos cadinhos. Dessa forma, a ocorrência de um evento térmico na amostra que libere ou absorva calor, leva a uma alteração nessa diferença de fluxo, que é mensurada e registrada. (L. Ford; Willson, 1999; Craig, 2007) A Figura 4 apresenta um esquema de DSC por fluxo de calor.

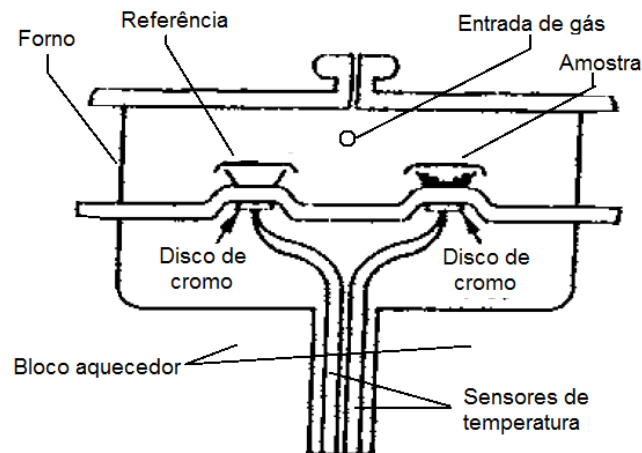


Figura 4 Esquema de célula calorimétrica de um equipamento de DSC por fluxo de calor
Fonte: (L. Ford; Willson, 1999)

Essas duas formas de DSC estão presentes no mercado e apresentam características semelhantes em relação à sensibilidade e exatidão. A escolha entre um ou outro vai depender dos objetivos da análise a ser realizada. Os equipamentos por fluxo de calor fornecem uma linha base mais estável enquanto os de compensação de potência possibilitam a aplicação de fluxos de aquecimento ou resfriamento maiores. (Craig, 2007) Nesta dissertação, todas as análises de DSC foram realizadas em um DSC por fluxo de calor.

Em termos gerais, os resultados obtidos por DSC são registrados em curvas térmicas que apresentam uma linha base enquanto não há diferença de fluxo de calor entre a amostra e a referência. No momento em que acontece um evento térmico na amostra, ele é registrado na curva térmica na forma de pico. Dessa forma, convencionou-se que eventos endotérmicos apresentam pico para baixo, enquanto eventos exotérmicos apresentam picos para cima. Porém, dependendo da configuração do equipamento, essa convenção pode aparecer invertida. Além disso, a DSC fornece informações sobre mudanças na capacidade calorífica da amostra, as chamadas transições vítreas ou T_g , que se caracterizam por uma alteração da

linha base da curva.(Brown, 2001; Haines, 2002) A Figura 5 apresenta um exemplo desse tipo de curva térmica.

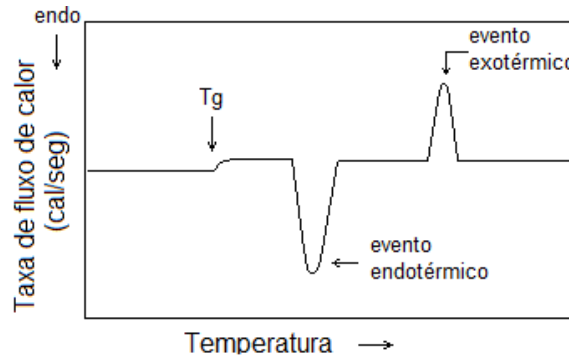


Figura 5 Curva típica obtida no DSC.
Fonte: (MOTHÉ; Azevedo, 2009)

Tita et al (2011) empregaram a técnica de DSC para estudo de compatibilidade do fármaco anti-inflamatório cetoprofeno com nove excipientes farmacêuticos. Dentre eles, sete apresentaram curvas térmicas correspondentes ao somatório das curvas de cada componente isolado, mantendo o pico de fusão do cetoprofeno em torno de 90 °C. Já as curvas das misturas com PVP e estearato de magnésio apresentaram alterações que indicam a ocorrência de interações químicas entre o cetoprofeno e estes excipientes. Foi observado que, na mistura com PVP, houve o desaparecimento do pico de fusão característico do cetoprofeno. Esse fato foi atribuído a uma interação química entre as duas substâncias devido ao aquecimento. Os autores sugeriram que o pico de fusão do cetoprofeno foi deslocado para uma temperatura menor ou foi sobreposto pelo pico de perda de água do excipiente. Uma segunda hipótese foi que a água liberada pelo excipiente causou a solubilização do fármaco, justificando o desaparecimento do pico de fusão. Na curva térmica da mistura com estearato de magnésio foi observado o desaparecimento do pico de fusão do cetoprofeno, uma alteração no sinal do estearato e o aparecimento de um novo pico endotérmico (72°C) anterior à temperatura de fusão do fármaco (96,8°C). Esse novo pico foi atribuído à formação de ácido esteárico proveniente da reação do estearato de magnésio com o fármaco, o qual apresenta uma temperatura de fusão em torno de 71°C. Os autores destacam ainda a importância de interpretar os dados provenientes da análise térmica com cautela, pois algumas reações observadas podem ter sido causadas pelo aquecimento a altas temperaturas e não necessariamente ocorreriam em

temperatura ambiente. Por isso é importante a utilização de técnicas analíticas complementares para auxiliar na interpretação dos dados, conforme será discutido adiante.

Na TG, a variação de massa da amostra é determinada em função da temperatura ou do tempo, sob um programa controlado de temperatura. Pode-se estudar a variação de massa a uma temperatura constante, ou sob aquecimento ou resfriamento a uma razão determinada, ou ainda utilizar uma combinação desses métodos. A variação de massa mais comumente observada é a perda de massa devido à decomposição térmica da amostra; porém um ganho de massa pode ocorrer quando a amostra reage com algum componente da atmosfera.(Brown, 2001; Haines, 2002)

As análises TG são realizadas por meio de termobalanças compostas por uma balança de alta sensibilidade, forno, suporte para amostra e referência, sensores de temperatura, programador de temperatura do forno, sistema registrador e controle de atmosfera do forno. O tipo de balança utilizado na maioria dos equipamentos é a “balança de nulo”, que contém sensores luminosos para identificar qualquer movimento dos termopares causado por uma alteração de massa da amostra; e um motor de torque, que exerce uma força contrária para retornar o termopar à sua posição. Essa força exercida é proporcional à alteração de massa da amostra.(Ford; Willson, 1999; Brown, 2001; Haines, 2002; Craig, 2007) Um esquema representativo dessa balança é mostrado na Figura 6.

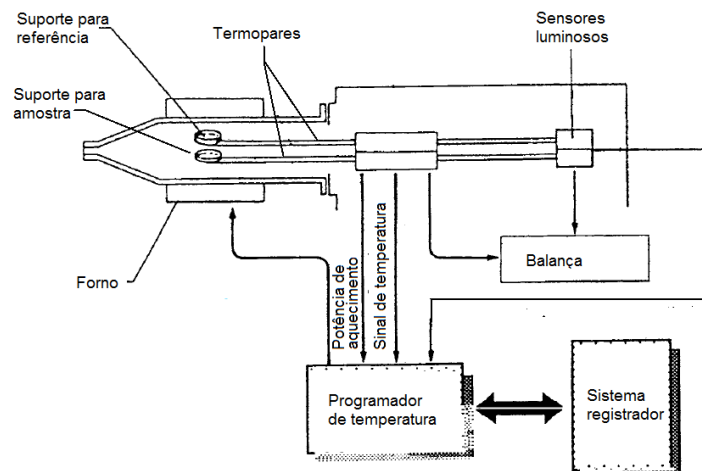


Figura 6 Esquema de uma termobalança utilizada em equipamentos de análise termogravimétrica.
Fonte: (Gallagher, 1998)

Essa técnica é útil para estudar, por exemplo, a decomposição térmica de materiais orgânicos, inorgânicos e biológicos; determinação de umidade; curvas de adsorção e dessorção; corrosão de materiais em várias atmosferas; estudo da cinética de reações. No caso de amostras de fármacos, o objetivo principal é avaliar a estabilidade da molécula em temperaturas elevadas, por isso o método mais utilizado é o aquecimento da amostra a uma razão constante sob atmosfera inerte (principalmente N_2). (Brown, 2001; Haines, 2002; Ionashiro, 2004) Outra aplicação para TG em fármacos é a avaliação da presença de água na amostra, seja devido à umidade absorvida do ambiente, ou devido à água de hidratação da molécula, no caso de hidratos. (Ford; Willson, 1999; Craig, 2007)

A Figura 7 mostra o resultado de uma análise por (Brown, 2001) TG do $CuSO_4 \cdot 5H_2O$, onde é possível observar as temperaturas em que ocorrem as desidratações do sal.

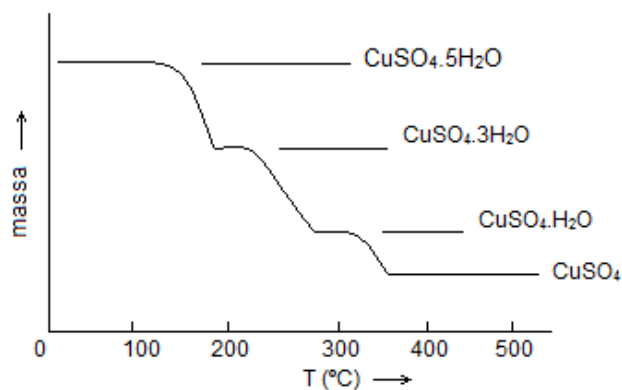


Figura 7 Curva TG para $CuSO_4 \cdot 5H_2O$
Fonte: (Brown, 2001)

O equipamento TG também registra a curva DTG da amostra, que é a primeira derivada da curva TG obtida. Essa curva registra as variações de massa em forma de picos, cuja área é proporcional à variação de massa. Alguns equipamentos fazem ainda o registro simultâneo da curva DTA (Análise Térmica Diferencial), que registra a diferença de temperatura entre a amostra e um material de referência durante a análise. De forma análoga ao DSC, as curvas DTA registram eventos térmicos em forma de picos e também fornecem informações sobre transições vítreas, ou T_g , que se caracterizam por uma alteração da linha base da curva. (Gallagher, 1998; Brown, 2001; Ionashiro, 2004)

Em um estudo de compatibilidade da lovastatina, Yoshida et al (2011) observaram que na análise da mistura binária do fármaco com o excipiente BHA

(Butil Hidroxianisol) por DSC ocorreu o desaparecimento do pico de fusão do fármaco. A fim de elucidar o tipo de interação entre os dois compostos, foi realizada uma análise TG. O resultado obtido mostrou que a curva TG da mistura binária corresponde à sobreposição das curvas dos componentes isolados. Segundo os autores, pode-se concluir que não houve reações químicas entre a lovastatina e o BHA, portanto observou-se a compatibilidade entre esses compostos.

Macêdo et al (2002) empregaram a técnica de TG para avaliar a compatibilidade entre propranolol e os excipientes estearato de magnésio, lactose, amido, PVP, microcel e talco. De acordo com os autores, os excipientes amido e lactose reduziram a temperatura de decomposição do propranolol, de 252,5 °C para 201,2 °C e 242,4 °C, respectivamente. O que indicaria que esses excipientes reduzem a estabilidade térmica do fármaco. No entanto, o artigo não apresentou as curvas TG dos excipientes isolados. Isso pode gerar dúvida na interpretação dos dados, uma vez que existe a possibilidade de o excipiente apresentar uma temperatura de decomposição menor que a do fármaco.

2.3.2 Difractometria de raios X e Espectroscopia no Infravermelho e Raman

A difratometria de raios X é o espalhamento elástico de fótons de raios X, quando estes incidem sobre a estrutura ordenada de um cristal. (Chatterjee, 2001) Quando os raios X de mesmo comprimento de onda se encontram, em fase, ocorre uma interferência construtiva, a qual constitui um padrão difratométrico específico para cada estrutura cristalina. (Chatterjee, 2001) Em um equipamento de bancada, esses raios X são gerados a partir da desaceleração de elétrons, quando estes, após serem acelerados em um campo de alta voltagem, colidem contra um alvo que pode ser formado por átomos de cobre ou molibdênio. (Dong; Boyd, 2011) A PXRD fornece, então, informações específicas sobre a estrutura cristalina de um determinado composto. Assim, pode ser utilizada para identificação de substâncias cristalinas, além de ser uma importante ferramenta na etapa de caracterização físico-química de fármacos. (Chatterjee, 2001; Ayala et al., 2010; Dong; Boyd, 2011)

Uma propriedade físico-química que tem recebido destaque nos últimos anos é o polimorfismo, ou seja, a capacidade de um determinado composto existir, no estado sólido, em mais de uma forma cristalina, onde as moléculas exibem diferentes conformações ou orientações dentro do retículo do cristal. (Hegeds, 2000;

Li; Kiang; Jona, 2009) Essas características de conformação e orientação são particulares para cada polimorfo e determinam diferentes tipos de interações intermoleculares e intramoleculares. Como consequência disso, as propriedades físico-químicas são distintas entre os polimorfos de um mesmo composto. (Mendelovici et al.; Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007; Li; Kiang; Jona, 2009)

Muitos fármacos, no estado sólido, exibem polimorfismo e a estabilidade termodinâmica de um determinado polimorfo pode afetar a qualidade, eficácia e segurança da formulação final. (Center for Drug; Research; Research, 2003; Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007; Li; Kiang; Jona, 2009) Isso porque diferentes formas polimórficas podem apresentar diferenças na solubilidade, o que altera o perfil de dissolução do fármaco; na biodisponibilidade, que altera a quantidade de fármaco livre disponível para exercer a função biológica no organismo; na estabilidade, pois as interações entre o fármaco e os outros componentes da formulação são diferentes para cada polimorfo. (Mendelovici et al.; Hegeds, 2000; Raw et al., 2004; Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007) Um exemplo desse caso é do antibiótico 5-cloro-8-hidroxiquinolina, que apresenta duas formas polimórficas (Forma I e Forma II). Foi demonstrado que a razão entre a solubilidade das duas formas é Forma II/Forma I = 1,5 (25°C) e, além disso, testes de dissolução mostraram que, para amostras com tamanhos de partícula equivalentes, ambas as formas tem sua solubilidade aumentada com o aumento da temperatura, porém a Forma II dissolve-se mais rapidamente do que a Forma I, independente da temperatura. (Ma; Moulton, 2009)

A existência de polimorfismo é comprovada pela presença de estruturas cristalinas não equivalentes para o mesmo composto, geralmente, pela comparação dos padrões de difração apresentados por cada forma cristalina na análise por PXRD. Além disso, outras técnicas como espectroscopia, microscopia óptica, RMN (do inglês, *Resonance Magnetic Nuclear*) e análise térmica são utilizadas para obtenção de dados complementares que confirmem os resultados obtidos. (Center for Drug; Research; Research, 2003; Raw et al., 2004; Karabas; Orkoula; Kontoyannis, 2007)

A espectroscopia no infravermelho e Raman são técnicas fundamentadas na interação da energia eletromagnética com o movimento vibracional dos núcleos de uma molécula. (Sala, 2008) Somente as vibrações que ocorrem, naturalmente, com variação de momento dipolo podem ser detectadas no infravermelho, pelo efeito de

ressonância que ocorre entre essa vibração e uma radiação eletromagnética incidente de mesma frequência vibracional, cujo comprimento de onda esteja na região do infravermelho. (Siverstein; Webster, 2006) Já na espectroscopia Raman, a radiação incidente na maioria das vezes tem seu comprimento de onda na região do visível, podendo também estar na região do ultravioleta ou do infravermelho próximo. Neste caso, o momento dipolo é induzido pela radiação eletromagnética incidente, a qual interage com a molécula e é espalhada com uma ligeira modificação em sua frequência, correspondente à diferença de energia entre os dois estados vibracionais. (Siverstein; Webster, 2006; Sala, 2008)

Uma vez que cada frequência vibracional está relacionada a um grupo funcional específico, os espectros no infravermelho e Raman oferecem informações sobre a estrutura química de um composto, necessárias na identificação de compostos. (Siverstein; Webster, 2006) Além disso, essas técnicas são importantes para o estudo complementar de polimorfismo, uma vez que os padrões de ligação de hidrogênio e outras interações fracas diferem entre as formas e os grupos funcionais afetados apresentam alterações nos modos de frequência vibracional. (Ayala et al., 2006)

Dessa forma, a caracterização dos fármacos por essas técnicas é importante para fornecer dados complementares durante os estudos de estabilidade e compatibilidade. (Ayala et al., 2010; Pani et al., 2012) Isso porque uma molécula intacta, apresenta um perfil de bandas em seu espectro diretamente relacionado com sua estrutura química e com as interações intermoleculares características de sua estrutura cristalina. (Ayala et al., 2010) Modificações nesse perfil de bandas pode significar uma transição polimórfica, a qual pode levar a modificações das bandas referentes às interações intermoleculares, ou uma degradação química do fármaco, que pode modificar as bandas características dos grupos funcionais. Essas técnicas também apresentam as vantagens de serem não destrutivas e de rápida execução. (Ayala et al., 2006)

No estudo de compatibilidade, do fármaco cetoprofeno com excipientes farmacêuticos, citado no item 2.3.1, além da análise térmica, os autores utilizaram as técnicas de FT-IR e XRPD, a fim de obter dados complementares que confirmassem a incompatibilidade com os excipientes PVP e estearato de magnésio. (Tita et al., 2011) Os resultados mostraram que nos espectros de infravermelho, entre outras alterações citadas pelos autores, foram observadas alterações nas bandas de OH

(3450 cm^{-1}) para as duas misturas. Houve uma diminuição na intensidade dessa banda em 20% na mistura com PVP, enquanto, na mistura com o estearato de magnésio, houve um aumento de 30%. Já nos difratogramas das duas misturas foi visto que algumas linhas de difração apresentadas pela amostra de fármaco puro não foram detectadas nas misturas binárias. Esses resultados corroboraram com os dados de análise térmica sobre a ocorrência de interações químicas entre o fármaco e esses dois excipientes.

Ayala et al (2006) utilizaram, as técnicas de FT-IR e Raman para caracterização de dois polimorfos do fármaco olanzapina. Murakami et al (2009) (Murakami et al., 2009) realizaram a caracterização físico-química do fármaco omeprazol utilizando, entre outras técnicas, FT-IR e PXRD.

A técnica de PXRD foi utilizada como técnica complementar por Yoshida et al (2011). Nesse caso, foi observado o desaparecimento do pico de fusão do fármaco lovastatina na sua mistura com o excipiente BHA. Nos resultados de PXRD não foram identificadas linhas de difração na mistura binária indicando que a presença do excipiente induziu a amorfização do fármaco. Esse resultado justifica o encontrado na DSC, uma vez que substâncias amorfas não apresentam picos de fusão.

2.3.3 Cromatografia líquida

A cromatografia é um método físico-químico de separação dos componentes de uma mistura. (Hegeds, 2000) Como princípio geral da técnica, os componentes da amostra sofrem uma distribuição entre duas fases de um sistema, sendo uma delas fixa (fase estacionária) e a outra em movimento (fase móvel). (United States Pharmacopeial Convention, 2008) Normalmente, a fase estacionária é mais polar do que a fase móvel, quando o inverso ocorre, a técnica é chamada de cromatografia de fase reversa. (Hegeds, 2000) A fase estacionária pode ser sólida ou líquida. Neste último caso, uma camada de líquido pode estar recobrendo uma superfície inerte ou quimicamente ligada à superfície. (United States Pharmacopeial Convention, 2008) A fase móvel, que é um líquido, passa pela fase estacionária a um fluxo constante e transporta a amostra ao longo do sistema. (United States Pharmacopeial Convention, 2008) Durante essa passagem, os componentes da mistura são seletivamente retidos pela fase estacionária, de acordo com suas propriedades

físico-químicas, o que permite a separação desses componentes pelas suas migrações diferenciadas. (Hegeds, 2000) Cada componente separado pode, então, ser analisado e identificado, mediante a comparação com padrões ou utilizando detectores específicos.

A HPLC, sigla do inglês *High-Pressure Liquid Chromatography*, é uma técnica cromatográfica na qual a fase móvel constitui uma coluna recheada com micropartículas. A fase móvel passa através da coluna, sobre as micropartículas, que interagem com os componentes da amostra. Tal configuração da fase estacionária exerce grande resistência à passagem da fase móvel, o que exige que sua passagem seja forçada por meio de uma bomba de alta pressão. (Hegeds, 2000) Com o passar do tempo e a consolidação da técnica, passou-se a utilizar apenas a sigla LC (*Liquid Chromatography*) para se referir a ela, (LANÇAS, 2009) a qual será adotada ao longo deste trabalho.

Na indústria farmacêutica, a LC é a técnica mais utilizada para análise de fármacos, e é considerada uma técnica de referência para os estudos de estabilidade. Algumas das vantagens que justificam tal importância são: rapidez, resolução, exatidão e sensibilidade podendo ser acoplada a diferentes detectores, características não muito comuns a outras técnicas. (Ahuja, 2005) Além disso, a maioria das separações por LC podem ser feitas à temperatura ambiente, o que se constitui em uma vantagem para análise de fármacos, uma vez que a maioria deles são compostos orgânicos não-voláteis e termoinstáveis. (United States Pharmacopeial Convention, 2008)

Para estudo de estabilidade de fármacos, a LC de fase reversa é considerada o método mais eficiente para analisar a maioria dos produtos de degradação de fármacos e as interações fármaco-excipiente. (Ahuja, 2005) Nesse tipo de sistema, o mecanismo de separação é por partição, que constitui um processo de separação líquido-líquido. (Collins; Braga; Bonato, 2006)

Em uma análise cromatográfica, o fármaco apresenta um tempo de retenção específico que é determinado pelas propriedades físico-químicas de sua estrutura e pelas condições de análise do sistema. No cromatograma, a área do pico que aparece nesse tempo de retenção é proporcional à concentração do fármaco na amostra. Alguns produtos de degradação apresentam propriedades físico-químicas muito semelhantes às do fármaco de origem, o que dificulta a distinção entre estes e o fármaco. Isso faz com que seja necessária a otimização das condições de análise,

a fim de se obter, para cada fármaco, um método indicativo de estabilidade, o qual é definido como um método analítico quantitativo, validado, capaz de quantificar o fármaco e separá-lo satisfatoriamente de seus produtos de degradação. (Ahuja, 2005; Holzgrabe et al., 2011)

Alguns fatores são críticos para o desenvolvimento desses métodos como por exemplo: composição e fluxo da fase móvel, tamanho da coluna cromatográfica, tamanho de partícula da coluna, natureza da fase estacionária, temperatura da coluna, volume de injeção da amostra. (Collins; Braga; Bonato, 2006; LANÇAS, 2009)

Atualmente, já estão disponíveis no mercado os sistemas UHPLC (*Ultra High Pressure Liquid Chromatography*), que funcionam de forma semelhante ao sistemas HPLC, porém com uma capacidade de exercer pressões ainda maiores para a passagem da fase móvel, o que permite a utilização de colunas com partículas cada vez menores. Com isso, é possível reduzir o tempo de análise em até dez vezes, obter melhor resolução dos picos e maior sensibilidade na detecção. Essas são características desejáveis para as análises de estudos de compatibilidade, e fazem com que o sistema UHPLC seja mais vantajoso em relação ao sistema HPLC. (Waters, 2005; Nalwade et al., 2012)

A escolha de um detector adequado também é imprescindível para a obtenção de resultados mais precisos. É necessário que se utilize um detector que seja sensível a baixas concentrações do fármaco, mesmo na presença de possíveis interferentes (como os produtos de degradação); apresente uma ampla faixa de linearidade e que seja resistente a variações de temperatura ou solvente. (Gorecki et al., 2006)

Como a maioria das moléculas de fármacos contém cromóforos que apresentam absorvância na região do UV, a utilização de um detector de UV se tornou uma escolha natural para a HPLC de fase reversa. (Ahuja, 2005) Esse detector está acoplado ao final da coluna cromatográfica e por ele passa um feixe de radiação UV. Ao sair da coluna cada composto separado absorve determinado comprimento de onda e, assim, causa alterações na intensidade do feixe as quais são registradas pelo detector. (United States Pharmacopeial Convention, 2008) Esse detector, no entanto, não é capaz de identificar fármacos e produtos de degradação cuja estrutura não absorve radiação UV. Uma outra desvantagem é a necessidade

de padrões para quantificação dos produtos de degradação, que na maioria das vezes não estão disponíveis ou são de alto custo.

Um método alternativo pode ser desenvolvido utilizando um espectrômetro de massa (MS, sigla do inglês *Mass Spectrometry*) como detector.(Ahuja, 2005) Essa combinação HPLC e MS, ou simplesmente LC-MS, é uma poderosa ferramenta para obter informações sobre a estrutura e massa molecular do composto a partir do espectro de massa dos componentes da amostra. Ela tem se tornado cada vez mais popular na indústria farmacêutica, principalmente para monitorar a pureza de fármacos e identificar a estrutura de novos compostos químicos ou intermediários e ainda de produtos derivados da degradação do princípio ativo.(Ahuja, 2005) Apesar do alto grau de importância dessa técnica, ela se limita à detecção de moléculas ionizáveis, além disso, também necessita de padrões para quantificação.

Recentemente, um novo tipo de detector foi introduzido no mercado, o *corona charged-aerosol detector* (corona CAD). Sua resposta é proporcional à massa do analito, e independe de suas propriedades ópticas ou capacidade de ionização. Esse comportamento torna possível a quantificação de produtos de degradação sem a necessidade de padrões de referência, apenas a partir da relação direta com sinal da massa do fármaco. Entre as suas desvantagens pode-se destacar a não detecção de compostos voláteis e baixa resposta para compostos semi-voláteis, o que não se constitui um problema para análise de fármacos, uma vez que a maioria deles é não volátil. Outra desvantagem é que este detector não fornece dados sobre a estrutura química dos compostos analisados.(Gorecki et al., 2006; Hutchinson et al., 2010; Hutchinson et al., 2011)

Um método indicativo de estabilidade foi desenvolvido por Thomas et al (2012) para o fármaco niacinamida. Foi utilizado um equipamento de HPLC com detector de UV do tipo PDA (*Photo Diode Array*), o qual é capaz de detectar vários comprimentos de onda simultaneamente; uma coluna C18 com dimensões 250 x 4,6 mm e 5 µm de partícula. Utilizando uma fase móvel composta por uma mistura, cuja proporção não foi informada, de uma solução de acetato de amônio 20 mM de pH = 5,0 com uma solução de ácido acético-acetonitrila (970:30 v/v). Foi possível separar e quantificar seis impurezas presentes em amostras desse fármaco. A quantificação das impurezas foi possível porque havia disponibilidade dos padrões.

3 OBJETIVOS

Os objetivos deste trabalho foram a caracterização físico-química da risperidona e ziprasidona e a obtenção de dados sobre a estabilidade destes fármacos em suas respectivas formulações, por meio do estudo de compatibilidade com excipientes, com a utilização de diversas técnicas analíticas.

Objetivos específicos

- ✓ Caracterização físico-química da risperidona pelas técnicas de DSC, TG, FT-IR, PXRD e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- ✓ Caracterização da ziprasidona pelas técnicas de FT-IR, PXRD, MEV e Espectroscopia Raman;
- ✓ Estudo de compatibilidade da risperidona com excipientes farmacêuticos utilizando as técnicas de DSC, TG, FT-IR associada ao método quimiométrico Análise de Componente Principal (PCA) e LC;
- ✓ Estudo de compatibilidade da ziprasidona com excipientes farmacêuticos utilizando as técnicas de LC e FT-IR associada à PCA;
- ✓ Determinar quais excipientes apresentam incompatibilidade com estes dois fármacos.

4 MATERIAS E MÉTODOS

A seguir estão descritos todos os materiais, equipamentos e metodologia empregadas neste trabalho.

4.1 INSTRUMENTOS E ACESSÓRIOS

- ✓ Balança analítica AY220 Shimadzu utilizada durante o preparo das amostras para pesagem das matérias-primas;
- ✓ Agitador de tubos tipo vórtex utilizado para homogeneizar as misturas binárias;
- ✓ Câmara de estabilidade, para incubação das amostras a 40°C e 75% de umidade relativa;
- ✓ Célula Calorimétrica DSC7020 (SII Nano Technology, Japão) do Laboratório de Análise e Caracterização de Fármacos – LACFar, da Unifal;
- ✓ Termobalança TG/DTA7300 (SII Nano Technology, Japão) do LACFar, Unifal;
- ✓ Sistema UHPLC Ultimate 3000 LC system (Thermo Scientific, California), que consiste em uma bomba LPG-3400RS com desgaseificador a vácuo integrado, auto amostrador WPS-3000RS com injetor de 100 µL, forno de coluna TCC-3000RS e detector DAD-3000RS, software Chromeleon 6.8 do LACFar, Unifal;
- ✓ Espectrômetro de infravermelho *Affinity-1 Fourier Transform* (Shimadzu TM, Tokyo, Japão) acoplado a *Pike Miracle™ Attenuated Total Reflectance (ATR)* pertencente ao Núcleo Controle de Qualidade da Unifal;
- ✓ Espectrômetro Raman Station 400F–PerkinElmer do Laboratório de Quimiometria em Química Analítica do Instituto de Química da Unicamp-SP coordenado pelo professor Dr. Ronei de Jesus Poppi;
- ✓ Difratorômetro de raio X Ultima IV (Rigaku diffractometer, Japão) do Laboratório de Cristalografia da Unifal-MG;
- ✓ Microscópio eletrônico de varredura JSM-6340F Field Emission–JEOL do Laboratório de Microscopia Óptica e Eletrônica do Instituto de Química da Unicamp-SP;
- ✓ Agitador magnético Marconi MA 085;
- ✓ pHmetro Hanna Instruments;

- ✓ Frascos polietileno para acondicionamento das amostras.

Para realização das análises cromatográficas, foram utilizados os seguintes reagentes:

- ✓ Acetato de amônio P. A. Isofar;
- ✓ Fosfato de potássio monobásico anidro P.A. Vetec Química Fina;
- ✓ Ácido fosfórico (orto) PA Vetec Química Fina;
- ✓ Metanol, CROMASOLV®, grau HPLC, ≥99,9%. Sigma-Aldrich;
- ✓ Água deionizada.

4.2 MATÉRIAS-PRIMAS

Foram utilizadas matérias primas (fármacos e excipientes) de alto grau de pureza (99%) de acordo com laudo emitido pelos fornecedores. Os fármacos utilizados foram: risperidona e ziprasidona, fornecidos pela Eurofarma Laboratórios Ltda (SP, Brasil). Os excipientes utilizados foram: estearato de magnésio (Indukern, Brasil, lote #C216000), amido pregelatinizado (Aché, Brasil, lote 1003000719), celulose microcristalina (Blanver, Brasil, lote #135000020), polivinilpirrolidona (PVP) (Aché, Brasil, lote 1002000002), talco (Aché, Brasil, lote 0904001015), amido de milho (Cargil, Brasil, lote #7858), lactose anidra (M Cassab, Brasil, lote #1320013819), laurilsulfato de sódio (BASF, Brasil, lote #8625338) e manitol (adquirido na Farmácia Escola da Unifal-MG, lote 201007034).

4.3 PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras analisadas foram os fármacos isolados – risperidona e ziprasidona; os onze excipientes isolados, além de treze misturas binárias fármaco-excipiente na proporção 1:1 (m/m) (cinco misturas contendo risperidona e 8 misturas contendo ziprasidona). Para os estudos de compatibilidade envolvendo a risperidona foram utilizados os excipientes: amido de milho, celulose microcristalina, estearato de magnésio, lactose anidra e laurilsulfato de sódio, presentes na formulação comercial de referência. Nas misturas binárias com a ziprasidona foram utilizados os excipientes: amido pré-gelatinizado e estearato de magnésio, componentes da formulação comercial de referência. Além destes, foram selecionados os excipientes

celulose microcristalina, manitol, PVP e talco, por serem excipientes comuns em formulações farmacêuticas em geral e exercerem funções farmacotécnicas análogas às dos excipientes da formulação de referência.

As misturas binárias foram preparadas a partir da pesagem precisa de cada componente, os quais foram adicionados a um frasco de polietileno com tampa e homogeneizadas utilizando um agitador de tubos. O tempo de agitação necessário para uma homogeneização satisfatória foi de 3 minutos para as amostras contendo risperidona, enquanto para as amostras contendo ziprasidona, 1 minuto foi suficiente. Esses tempos foram determinados a partir da avaliação dos resultados preliminares das replicatas de análise das amostras.

4.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FÁRMACOS RISPERIDONA E ZIPRASIDONA

Antes do início dos estudos de compatibilidade, os fármacos risperidona e ziprasidona foram caracterizados físico-quimicamente, de acordo com as técnicas a seguir. As técnicas, os equipamentos e as condições de análise foram as mesmas para ambos os fármacos, com exceção da análise por espectroscopia Raman, a qual, devido à disponibilidade do equipamento, foi empregada apenas para a ziprasidona.

4.4.1 Calorimetria exploratória diferencial

A DSC foi empregada para a obtenção de dados da temperatura e entalpia de fusão. O intervalo de aquecimento de 30°C a 350°C, razão de aquecimento de 10°C.min⁻¹ em atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL.min⁻¹, utilizando e as amostras foram condicionadas em cadinhos de alumínio aberto. A quantidade de amostra utilizada em cada análise foi de aproximadamente 3 mg (n=3). (Bernardi et al., 2009; Yoshida et al., 2010; Soares et al., 2011; Tita et al., 2011; Yoshida et al., 2011; Julio et al., 2013) Nesta análise foi utilizada a Célula Calorimétrica DSC7020 (SII Nano Technology, Japão).

4.4.2 Análise termogravimétrica

A estabilidade térmica dos fármacos foi estudada por análise TG. O intervalo de aquecimento foi de 30°C a 500°C, a uma razão de 10°C.min⁻¹, atmosfera dinâmica de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹ e cadinhos de alumínio abertos contendo aproximadamente 3 mg de amostra.(Bernardi et al., 2009; Yoshida et al., 2010) As análises foram realizadas em uma Termobalança TG/DTA 7300 (SII Nano Technology, Japão).

4.4.3 Espectroscopia no infravermelho

As bandas de absorção características da estrutura química dos fármacos foram obtidas por FT-IR na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹, 32 scans e resolução de 4 cm⁻¹. (Bernardi et al., 2009; Murakami et al., 2009; Yoshida et al., 2010; Liltorp et al., 2011; Pani et al., 2012) As análises foram realizadas em um Espectrômetro de Infravermelho *Affinity-1 Fourier Transform* (Shimadzu TM, Tokyo, Japão) acoplado a *Pike Miracle™ Attenuated Total Reflectance (ATR)* disponível no Núcleo de Controle de Qualidade de Medicamentos da Unifal-MG.

4.4.4 Difratometria de raios X

O padrão difratométrico da estrutura cristalina dos fármacos foi obtido por PXRD com medidas de 2θ entre 5° e 55°, 40kV e 30 mA.(Bernardi et al., 2009; Murakami et al., 2009; Tita et al., 2011) O equipamento utilizado para esse fim foi o Difratomômetro de Raios X Ultima IV (Rigaku diffractometer, Japão) no Laboratório de Cristalografia da Unifal-MG.

4.4.5 Microscopia eletrônica de varredura

Eletromicrografias dos fármacos foram obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) com tensão de aceleração 10 V, em vácuo. Neste caso a amostra foi recoberta com filme de ouro. As imagens foram obtidas no Microscópio Eletrônico de Varredura JSM-6340F Field Emission–JEOL com aumentos de 500x; 5000x e 10000x, no Laboratório de Microscopia Óptica e Eletrônica do Instituto de Química da Unicamp-SP.

4.4.6 Espectroscopia Raman

Os espectros Raman foram obtidos apenas para o fármaco ziprasidona devido à disponibilidade do equipamento. As configurações de análise foram as seguintes: CCD 1024x255, excitação a laser, detector a -50°C , na faixa de 200 a 2000 cm^{-1} , 10 scans. O equipamento utilizado foi o Espectrômetro Raman Station 400F–Perkin Elmer do Laboratório de Quimiometria em Química Analítica do Instituto de Química da Unicamp-SP coordenado pelo professor Dr. Ronei de Jesus Poppi.

4.5 ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE DA RISPERIDONA

A amostra de risperidona, dos excipientes envolvidos no seu estudo e das suas misturas binárias na proporção 1:1 (m/m) foram analisadas imediatamente após seu preparo. Em seguida, estas mesmas amostras foram incubadas em câmara de estabilidade para avaliar a influência da temperatura e da umidade na estabilidade química do fármaco e das misturas. Após o período de 3 meses as amostras foram novamente analisadas. Amostras do mesmo material foram mantidas na câmara de estabilidade e analisadas após 6 meses de incubação. As amostras foram mantidas em frascos abertos sob umidade relativa de $75\%\pm 5\%$ e temperatura de $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$, conforme as recomendações do ICH.(Center for Drug; Research; Research, 2003) Os parâmetros analíticos adotados estão descritos a seguir.

4.5.1 Calorimetria exploratória diferencial

As análises por DSC foram realizadas para obtenção das curvas térmicas dos excipientes isolados a fim de compará-las à curva térmica previamente obtida para o fármaco isolado e avaliar se algum excipiente apresentaria eventos térmicos nas mesmas faixas de temperatura dos eventos térmicos da risperidona. Para as misturas binárias, era esperado que as curvas térmicas resultantes fossem correspondentes à sobreposição das curvas do fármaco e do excipiente isolado. As condições de análise foram as mesmas adotadas na caracterização (item 4.4.1), exceto o parâmetro referente à faixa de aquecimento, que foi de 30°C a 200°C . A

faixa de temperatura foi reduzida porque acima de 200°C não há eventos térmicos de interesse para esse estudo. As amostras foram analisadas no tempo inicial e depois de 3 meses e 6 meses de incubação em câmara de estabilidade para avaliar se, com o passar do tempo, sob essas condições, o excipiente provoca alguma alteração no fármaco (transição polimórfica, degradação) que se reflete em mudanças na curva térmica da mistura, em relação à curva inicial.

4.5.2 Espectroscopia no infravermelho e Análise de Componente Principal

Análises por FT-IR foram realizadas nas amostras no tempo inicial sob as mesmas condições da caracterização descritas no item 4.4.3, porém considerando apenas a faixa de 1800 a 600 cm^{-1} , que corresponde à região de impressão digital. Após o período de incubação 3 meses e 6 meses as amostras foram novamente analisadas utilizando-se as mesmas condições experimentais das amostras iniciais. Isso foi feito para avaliar se houve ou não alterações nas bandas de absorção características da estrutura da risperidona.

As amostras de tempo inicial também foram analisadas por FT-IR após o aquecimento no DSC na faixa de 30°C a 200°C para avaliar a influência da temperatura na estabilidade da risperidona e na sua compatibilidade com os excipientes das misturas. Os espectros obtidos foram comparados com os espectros das amostras iniciais por meio da análise de componente principal (PCA, do inglês *Principal Component Analysis*). A utilização de métodos quimiométricos na análise de dados obtidos de espectroscopia tem sido uma importante ferramenta nos estudos de compatibilidade e estabilidade de fármacos.(Ayala et al., 2010; Haware et al., 2011)

Embora alguns autores(Bernardi et al., 2009; Tita et al., 2011; Pani et al., 2012) utilizem apenas a comparação visual das bandas de absorção para identificar a ocorrência de incompatibilidades químicas ou físicas, é necessário o emprego de procedimentos mais exatos e reprodutíveis, como a utilização de ferramentas quimiométricas.(Ayala et al., 2010; Haware et al., 2011) Neste sentido, para melhor interpretação dos resultados referentes aos espectros das amostras de tempo inicial antes e após o aquecimento, os dados espectrais foram submetidos à análise quimiométrica PCA.

Os espectros dos excipientes isolados, da risperidona e as misturas binárias na proporção 1:1 (m/m) foram obtidos em triplicata de análise, antes e após o aquecimento, utilizando a faixa espectral de 600 a 1800 cm^{-1} . Conforme Tabela 2, os excipientes, a risperidona e as misturas no tempo inicial, além dos excipientes e da risperidona após o aquecimento foram utilizados na construção do conjunto controle (Xc), enquanto as misturas binárias após aquecimento foram utilizadas para a construção do conjunto de avaliação (Xa).

Tabela 2 Seleção das amostras quanto aos conjuntos controle (Xc) e avaliação (Xa):

Amostras ^a	Inicial ^b	Após aquecimento ^b
Risperidona(1)	Xc(3)	Xc(3)
Excipientes (5)	Xc(15)	Xc (15)
Mistura binária (5)	Xc(15)	Xa (15)

^a Número de amostras em parênteses;

^b Número de espectros em parênteses, considerando análise em triplicata.

Fonte: do autor

O conjunto controle Xc foi formado por 51 espectros (17 amostras em triplicata) e 624 pontos espectrais. Já o conjunto de avaliação gerou uma matriz com 15 espectros e 624 pontos. O modelo PCA foi otimizado com os dados em Xc e os dados em Xa foram avaliados após a obtenção do modelo final.

A inserção da amostra de risperidona após aquecimento no conjunto Xc é a chave para que o modelo não considere como relevantes possíveis alterações no seu espectro em relação ao original, proveniente principalmente da mudança no estado-sólido (cristalino para amorfo).

A PCA também foi aplicada aos dados espectrais das amostras após 3 meses e 6 meses de incubação. Para isso, os espectros dos excipientes; da risperidona e das misturas no tempo inicial; excipientes puros e risperidona após a incubação (3 meses e 6 meses, respectivamente) , obtidos em triplicata, foram utilizados na construção dos conjuntos controle (Xc), que caracterizou-se por 51 espectros (17 amostras em triplicata) por 624 pontos espectrais. Enquanto as misturas binárias após incubação foram utilizadas para a construção do conjunto de avaliação (Xa) que gerou uma matriz com 15 espectros e 624 pontos. O modelo PCA foi otimizado com os dados em Xc e os dados em Xa foram avaliados após a obtenção do modelo final.

4.5.3 Análise termogravimétrica

Em paralelo aos estudos de compatibilidade, as amostras de tempo inicial foram ainda analisadas por TG para avaliar a influência imediata dos excipientes na estabilidade térmica da risperidona.(Yoshida et al., 2011) Neste caso, as condições de análise foram as mesmas utilizadas na caracterização da risperidona, descritas no item 4.4.2.

4.5.4 Cromatografia Líquida

As amostras de tempo inicial também foram analisadas por LC antes e após o aquecimento no DSC na faixa de 30°C a 200°C para avaliar a possível formação de produtos de degradação devido ao aquecimento da risperidona tanto isolada quanto na presença dos excipientes. As análises foram realizadas no equipamento Ultimate 3000 LC system (Thermo Scientific, California). As condições cromatográficas foram escolhidas de acordo com a Farmacopéia dos Estados Unidos – USP32.(United States Pharmacopeial Convention, 2008) Para isso, foi utilizada uma coluna Eclipse Plus C18 (Agilent), 4.6 x 100 mm, 3.5 µm de partícula, a 35° C; a fase móvel consistiu-se em um gradiente formado por água:metanol:tampão acetato de amônio pH 6,5 apresentado na Tabela 3. O fluxo da fase móvel foi de 1,5 mL.min⁻¹; o comprimento de onda do detector foi 275 nm e o volume de injeção foi de 20 µL.

Tabela 3 Gradiente da fase móvel para cromatografia da risperidona.

Tempo (min)	% Água	% Metanol	% Tampão	Eluição
0-1	54	36	10	Isocrática
1-20	54 → 8,5	36 → 81,5	10	Gradiente Linear
20-25	8,5	81,5	10	Isocrática
25-27	8,5 → 54	81,5 → 36	10	Gradiente Linear
27-35	54	36	10	Re-equilíbrio

Fonte: United States Pharmacopeial Convention, 2008

Para preparo das soluções estoque, padrão e amostras, uma mistura água:metanol:tampão acetato de amônio pH 6,5 (proporção 9:10:1) foi utilizada como diluente. A concentração da solução estoque de risperidona foi 1,0 mg.mL⁻¹. Para construir a curva de calibração, diferentes alíquotas da solução estoque (100, 250, 500, 750,1000 e 1250 µL) foram transferidas para balões volumétricos de 5 mL, os quais foram completados com diluente. As concentrações dos padrões foram 0,02; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 e 0,25 mg.mL⁻¹, respectivamente. As soluções foram

analisadas sob as condições descritas acima e um gráfico, para representar a curva de calibração, foi construído a partir dos seus resultados, plotando-se a área do pico versus concentração de risperidona. As amostras foram preparadas em uma concentração esperada de $0,20 \text{ mg.mL}^{-1}$.

As amostras incubadas não foram analisadas por cromatografia líquida, pois o foco principal do estudo de estabilidade da risperidona foi a aplicação das técnicas de análise térmica associada à FT-IR e quimiometria. Portanto, foram analisadas por LC apenas as amostras incubadas referentes ao estudo com ziprasidona.

4.6 ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM ZIPRASIDONA

De forma semelhante à procedida com a risperidona, as amostras de ziprasidona (fármaco isolado), dos excipientes envolvidos no seu estudo e das suas misturas binárias foram analisadas imediatamente após seu preparo. Em seguida, foram incubadas em câmara de estabilidade durante 3 meses e 6 meses para estudos da influência da temperatura e da umidade na estabilidade química do fármaco e das misturas. As condições de armazenamento na câmara de estabilidade foram umidade relativa de $75\% \pm 5\%$ e temperatura de $40^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, conforme as recomendações do ICH.(Center for Drug; Research; Research, 2003) Os métodos analíticos utilizados estão descritos a seguir.

Devido à intensa degradação térmica da ziprasidona a partir da temperatura de fusão (297°C), não foi possível determinar com exatidão sua entalpia de fusão. Como este é um dos principais parâmetros utilizados em estudos de compatibilidade por análise térmica, optou-se por não empregar esta técnica analítica para a ziprasidona. Por esse motivo, o foco desse estudo foi a aplicação de LC associada à espectroscopia e quimiometria.

4.6.1 Espectroscopia no Infravermelho

As mesmas condições utilizadas na caracterização do fármaco, descritas no item 4.4.3 foram empregadas para analisar as amostras de tempo inicial e após 6 meses de incubação.

Os espectros dos excipientes, da ziprasidona e as misturas binárias na proporção 1:1 (m/m) foram obtidos em triplicata de análise, no tempo inicial e após 6

meses de incubação, utilizando a faixa espectral de 600 a 1800 cm^{-1} . De acordo com a Tabela 4, os excipientes puros, a ziprasidona e as misturas no tempo inicial e os excipientes e a ziprasidona após incubação foram utilizados na construção do conjunto controle, enquanto as misturas binárias após a incubação foram utilizadas para a construção do conjunto de avaliação.

Tabela 4 Seleção das amostras quanto aos conjuntos controle (Xc) e avaliação (Xa):

Amostras ^a	Inicial ^b	Após incubação ^b
Ziprasidona/(1)	Xc(3)	Xc(3)
Excipientes (6)	Xc(18)	Xc (18)
Mistura binária (6)	Xc(18)	Xa (18)

^a Número de amostras em parênteses;

^b Número de espectros em parênteses, considerando análise em triplicata.

Fonte: do autor

O conjunto controle Xc caracterizou-se por 60 espectros (20 amostras em triplicata) e 624 pontos espectrais. Já o conjunto de avaliação gerou uma matriz com 18 espectros e 624 pontos. O modelo PCA foi otimizado com os dados em Xc e os dados em Xa foram avaliados após a obtenção do modelo final.

4.6.2 Cromatografia líquida

As análises por LC foram realizadas para o fármaco isolado inicial, a fim de determinar seu tempo de retenção, e para os excipientes isolados, para verificar se não haveria sobreposição de algum sinal do excipiente ao sinal da ziprasidona. As condições cromatográficas seguiram as recomendações da Farmacopéia dos Estados Unidos – USP34,(United States Pharmacopeial Convention, 2010) e estão descritas a seguir. Como fase móvel foi utilizada uma solução metanol/tampão fosfato pH 3 na proporção 2:3 (v/v). Este tampão foi preparado a partir da dissolução de 6,8g de fosfato potássico monobásico em 1L de água deionizada, cujo pH foi ajustado com ácido fosfórico 85%. O fluxo da fase móvel foi de 1,5 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$; volume de injeção de 20 μL ; temperatura do forno de 40°C e detecção no comprimento de onda de 229 nm. Como diluente para o preparo das amostras foi utilizada uma solução metanol:água 3:2 (v/v). A curva de calibração foi obtida com soluções padrão de ziprasidona nas concentrações de 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 e 0,40 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$. Como fase estacionária, foi utilizada uma coluna octilcilano (C8) de 4,6 mm

x 15 cm e 5 μm de partícula (ZORBAX SB-C8) . As amostras foram analisadas no tempo inicial e após 3 e 6 meses de incubação. Nos três casos, a concentração de ziprasidona esperada em todas as amostras era $0,23 \text{ mg.mL}^{-1}$. Dessa forma, para as amostras de ziprasidona foram pesados 1,15 mg do fármaco e transferido para um balão volumétrico de 5 mL. Para as misturas binárias, foi necessário pesar uma massa de 2,30 mg para se obter a mesma concentração de ziprasidona, uma vez que a proporção dos componentes da mistura (ziprasidona/excipientes) era de 1:1 (m/m).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir estão apresentados os resultados das análises realizadas e a discussão dos mesmos.

5.1 CARACTERIZAÇÃO DA RISPERIDONA

Primeira mente serão apresentados os resultados referentes à caracterização da risperidona.

5.1.1 Análise térmica

Os resultados da termoanálise estão apresentados na Figura 8. A curva DSC apresentou um pico endotérmico com valor de T_e (temperatura de extrapolação do pico no início da fusão) em $170,52 \pm 0,02^\circ\text{C}$; T_p (temperatura do pico) em $172,6 \pm 0,4^\circ\text{C}$ e T_f (temperatura de extrapolação do pico no final da fusão) em $175,3 \pm 0,1^\circ\text{C}$. Pode-se afirmar que este pico corresponde à fusão da risperidona, pois na curva TG não é observado qualquer evento de perda de massa nesse faixa de temperatura, além disso, os valores encontrados estão de acordo com o apresentado na literatura (169 - 173°C) para este fármaco. (Janssen Pharmaceutica; Janssen Research Foundation, 1994; Rahman; Zidan; Khan, 2010) A entalpia de fusão (ΔH_f) foi de $101,91 \text{ J.g}^{-1}$.

A curva DTG apresenta dois picos, que correspondem aos dois eventos de perda de massa encontrados na curva TG. A primeira perda de massa ($38,01\%$) ocorreu na faixa de temperatura de $230,3^\circ\text{C}$ a $367,3^\circ\text{C}$. A segunda perda de massa foi observada na faixa de $367,3^\circ\text{C}$ a $516,5^\circ\text{C}$ com uma redução de $22,31\%$.

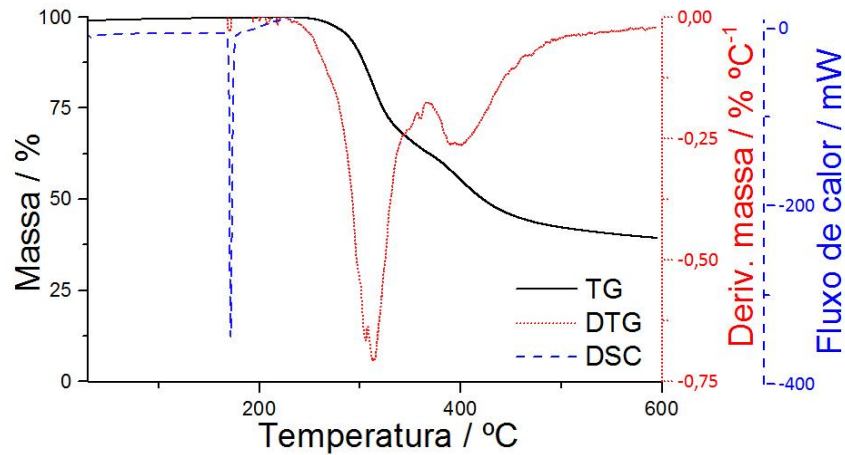


Figura 8 Curvas térmicas para a risperidona. TG e DTG na faixa de temperatura de 30°C a 600°C; e DSC na faixa de temperatura de 30°C a 350°C; ambos com razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (n=1)

Fonte: do autor

5.1.2 Espectroscopia no infravermelho

A Figura 9 apresenta a estrutura da risperidona com os nomes dos grupamentos presentes e o espectro de absorção no infravermelho. As bandas correspondentes a cada parte da estrutura estão descritas na Tabela 5.

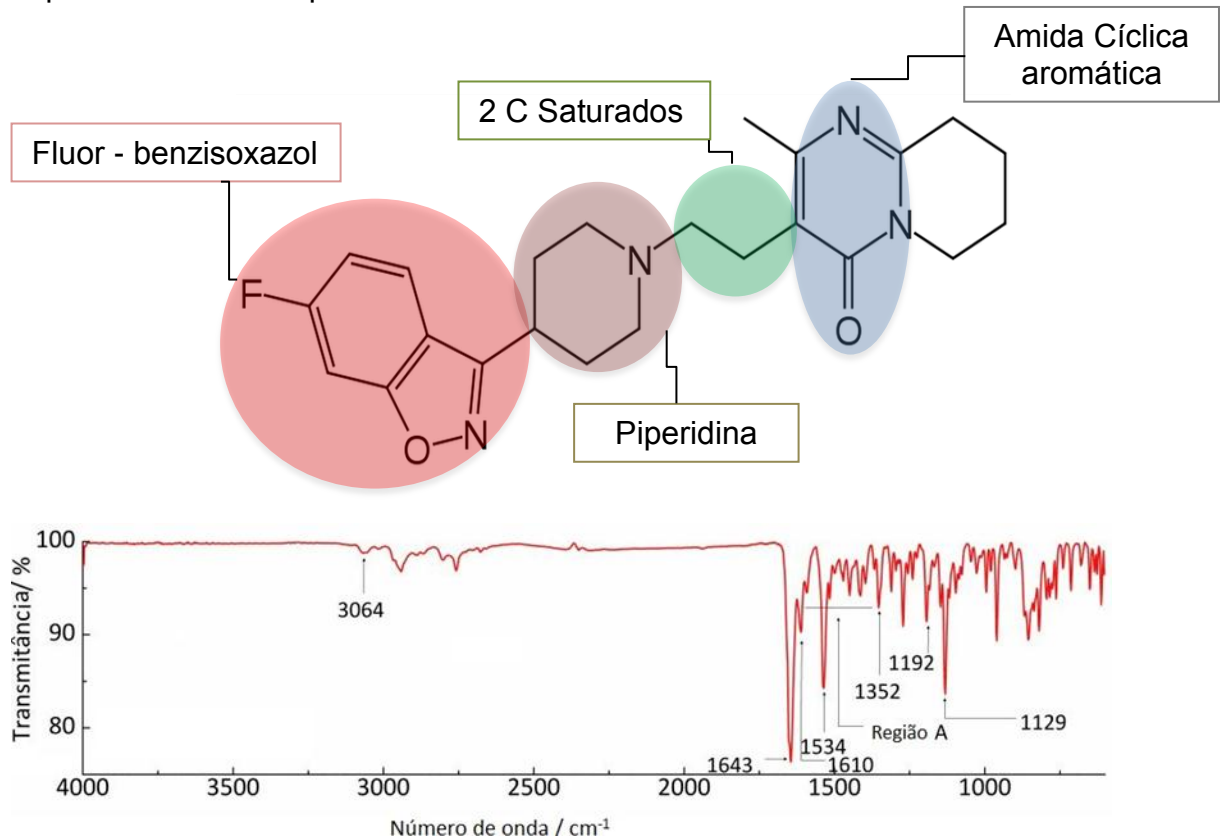


Figura 9 Estrutura da risperidona com grupamentos assinalados e espectro de absorção no infravermelho da risperidona na faixa de 4000 a 600 cm⁻¹ em temperatura ambiente (n=1)

Fonte: do autor

Tabela 5 Atribuições das bandas do espectro infravermelho aos grupos correspondentes na molécula de risperidona. (Muralidhara et al.; Siverstein; Webster, 2006)

Número de onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
3064	fraca	C-H estiramento do anel aromático
1643	forte	C=O estiramento do anel δ -lactama
1610 e 1534	média-forte	C=C estiramento do anel aromático
Região A	media-fraca	C-N e C-O deformação angular do anel oxazol
1352	média	C-N estiramento do anel oxazol
1192	média	C-N estiramento relativa à amina terciária do anel piperidina
1129	forte	Relativo ao flúor ligado ao anel aromático

Fonte: do autor

5.1.3 Difractometria de raios X

A Figura 10 apresenta o difratograma de raios X que apresenta picos em 6,8; 10,5; 11,3; 14,1; 14,7; 15,3; 16,3; 18,4; 18,8; 19,7; 21,2; 22,3; 23,0; 25,2; 28,3 e 28,8 $2^\circ\theta$, que corresponde à forma cristalina C, a qual é estável e não se converte espontaneamente para as formas A e B, que a risperidona pode assumir. (Muralidhara et al.)

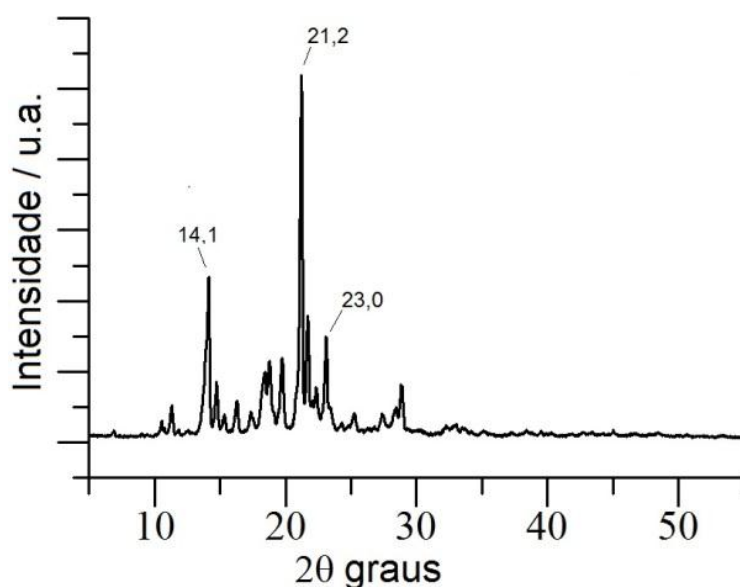


Figura 10 Difratograma de raios X da risperidona. Entre 5° e 55° 2θ , 40kV e 30 mA (n=1)
Fonte: do autor

5.1.4 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens da microscopia eletrônica de varredura estão apresentadas na Figura 11. De acordo com a classificação da USP-32 para morfologia de cristais, pode-se observar um aglomerado de partículas que formam uma morfologia irregular semelhante a flocos. (United States Pharmacopeial Convention, 2008) A mesma estrutura também foi encontrada por Rahman, Z. et al, 2012. (Rahman; Zidan; Khan, 2010)

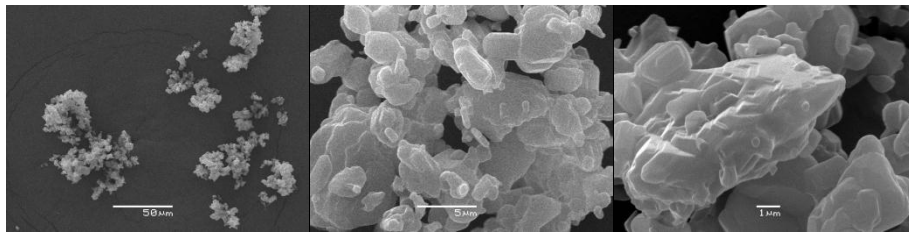


Figura 11 Eletromicrografias da risperidona em aumento de 500x, 5000x e 10000x
Fonte: do autor

5.2 ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM RISPERIDONA

5.2.1 Análises das amostras de tempo inicial

5.2.1.1 Calorimetria exploratória diferencial

A Figura 12 apresenta as curvas DSC obtidas na análise da risperidona e de cada excipiente no tempo inicial.

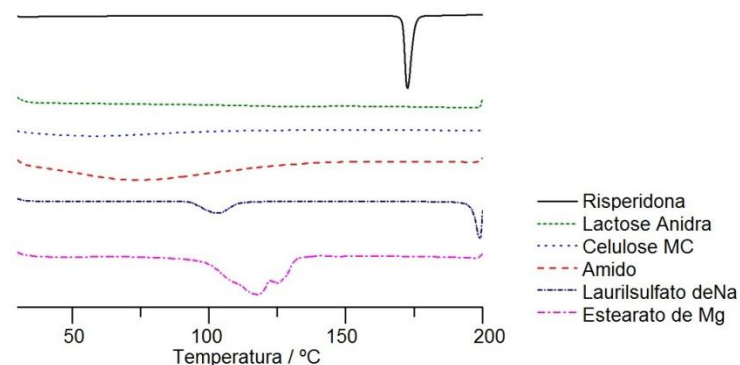


Figura 12 Curvas DSC da risperidona e de cada excipiente isolado no tempo inicial. Faixa de temperatura de 30°C a 200°C; razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (n=1)

Fonte: do autor

Os resultados revelam que a faixa de fusão (170 a 175°C) da risperidona não se sobrepõe a eventos térmicos de qualquer um dos excipientes. Portanto, na análise das misturas, qualquer alteração no pico de fusão do fármaco, seja no valor de T_e ou de ΔH_f , poderá ser atribuída a uma interação entre os componentes da mistura que pode ou não caracterizar uma incompatibilidade.

Os valores esperados para T_e e ΔH_f do fármaco nas misturas são 170,5 °C e 51,0 J g⁻¹, respectivamente. Para ΔH_f o valor esperado corresponde à metade do valor encontrado para o fármaco, uma vez que a mistura contém a proporção 1:1 (m/m) fármaco-excipiente.

As curvas DSC das misturas binárias de tempo inicial estão apresentadas na Figura 13 em comparação com a curva DSC da risperidona. Os valores de T_e e ΔH_f da risperidona e das misturas estão apresentados na Tabela 6 como média \pm intervalo de confiança (IC) a partir das triplicatas de seus respectivos intervalos de confiança. Diferenças entre as amostras foram determinadas utilizando ANOVA, significância $p < 0,05$, de acordo com o teste de Scott Knott.

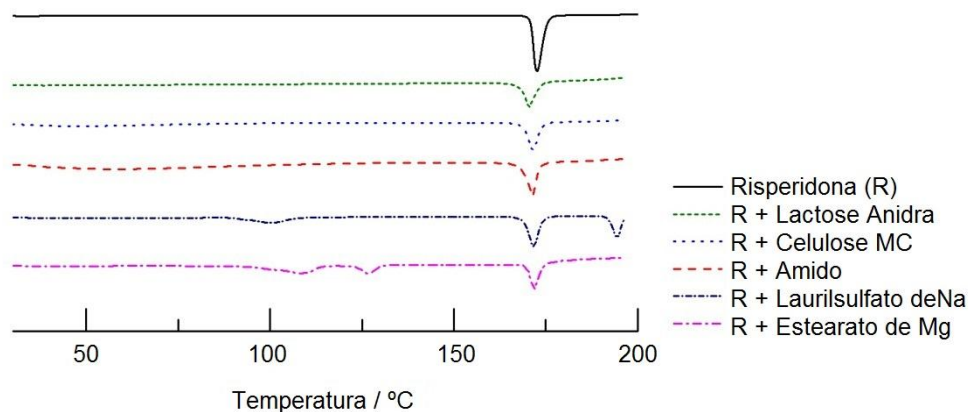


Figura 13 Curvas DSC da risperidona em comparação com as misturas binárias no tempo inicial. Faixa de temperatura de 30°C a 200°C; razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹

Fonte: do autor

Os dados obtidos mostram que não houve alterações significativas nos valores de T_e para todas as misturas. As ligeiras alterações observadas podem ser atribuídas a miscibilidade parcial dos componentes da mistura. Esse comportamento também foi descrito por Pani, et al.(Pani et al., 2012) e Ford, et al.(Ford; Willson, 1999)

Tabela 6 Valores de entalpia e temperatura de fusão da risperidona em comparação com as misturas binárias no tempo inicial (média \pm intervalo de confiança – IC). Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p < 0,05$) de acordo com o teste de Scott Knott.

Amostra	Média \pm IC	
	ΔH_f (J g ⁻¹)	T _e (°C)
Risperidona (R)	102,0 \pm 0,3 (a)	170,52 \pm 0,02
R+ lactose anidra	38 \pm 2 (b)	168,6 \pm 0,3 (b)
R+ celulose microcristalina	37 \pm 8 (b)	169,2 \pm 0,1 (b)
R+ amido	47 \pm 5 (a)	169,13 \pm 0,04
R+ laurilsulfato de sódio	44 \pm 6 (a)	169,6 \pm 0,4 (b)
R+ estearato de magnésio	36 \pm 8 (b)	170,9 \pm 0,3 (c)

Fonte: do autor

As misturas contendo os excipientes amido e laurilsulfato de sódio exibiram valores de ΔH_f estatisticamente iguais ao valor esperado, enquanto as misturas com lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio apresentaram valores de ΔH_f abaixo do esperado. Os excipientes lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio já apresentaram algum tipo de interação com outros fármacos. (Soares et al., 2011; Pani et al., 2012) Ao realizar um estudo de compatibilidade fármaco-excipiente para um novo candidato a fármaco (denominado Lu AA44608), Liltorp et al (2011) (Liltorp et al., 2011) encontrou interações com esses três excipientes citados, que levaram à degradação do fármaco. Bernardi et al (2009) (Bernardi et al., 2009) observou que houve uma interação física entre o fármaco cloridrato de venlafaxina e os excipientes celulose microcristalina e estearato de magnésio. O fármaco citrato de sildenafil apresentou uma interação física com estearato de magnésio e foi degradado em presença de lactose, de acordo com Júlio et al (2013). (Julio et al., 2013) Portanto, a diminuição de ΔH_f observada nas misturas de risperidona com lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio pode ser devido a uma possível incompatibilidade farmacêutica.

5.2.1.2 Espectroscopia no infravermelho

O uso da espectroscopia no infravermelho em associação com as análises de DSC tem sido descrito na literatura como uma ferramenta útil nos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente. (Bernardi et al., 2009; Tita et al., 2011; Pani et al., 2012) Nesse estudo, as amostras de tempo inicial foram analisadas por FT-IR assim que preparadas. Em seguida, foram submetidas ao aquecimento no DSC, na

faixa de aquecimento de 30°C a 200°C. Após o aquecimento, as amostras foram recolhidas e analisadas novamente por FT-IR, em temperatura ambiente. O objetivo foi, além de caracterizar as amostras no tempo inicial, avaliar se a redução de entalpia observada nas análises de DSC estava associada com modificações estruturais na molécula do fármaco, as quais podem ser observadas a partir de alterações nas bandas de absorção características da risperidona.

A Figura 14 compara o espectro no infravermelho da risperidona antes e depois do aquecimento e revela perfil similar das bandas de absorção do fármaco, o que significa que ele é termoestável se submetido ao aquecimento na faixa de temperatura empregada nos experimentos de DSC (30°C a 200°C a 10°C.min⁻¹). O mesmo procedimento foi realizado para os excipientes isolados e, os resultados obtidos foram análogos aos da risperidona.

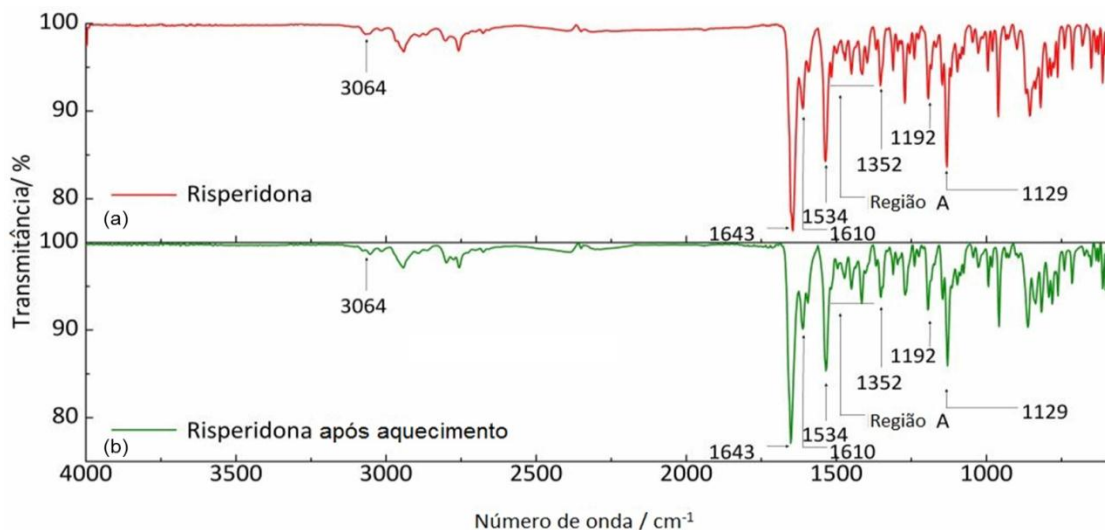


Figura 14 Espectros de absorção no infravermelho da risperidona, à temperatura ambiente (n=3).

(a) amostra inicial de risperidona;

(b) a mesma amostra após aquecimento até 200°C.

Fonte: do autor

A Figura 15 apresenta o espectro no infravermelho das três misturas que apresentaram diferença de entalpia no DSC (risperidona com os excipientes estearato de magnésio, celulose microcristalina e lactose anidra, respectivamente) e de uma mistura que não apresentou variação de entalpia (risperidona com amido).

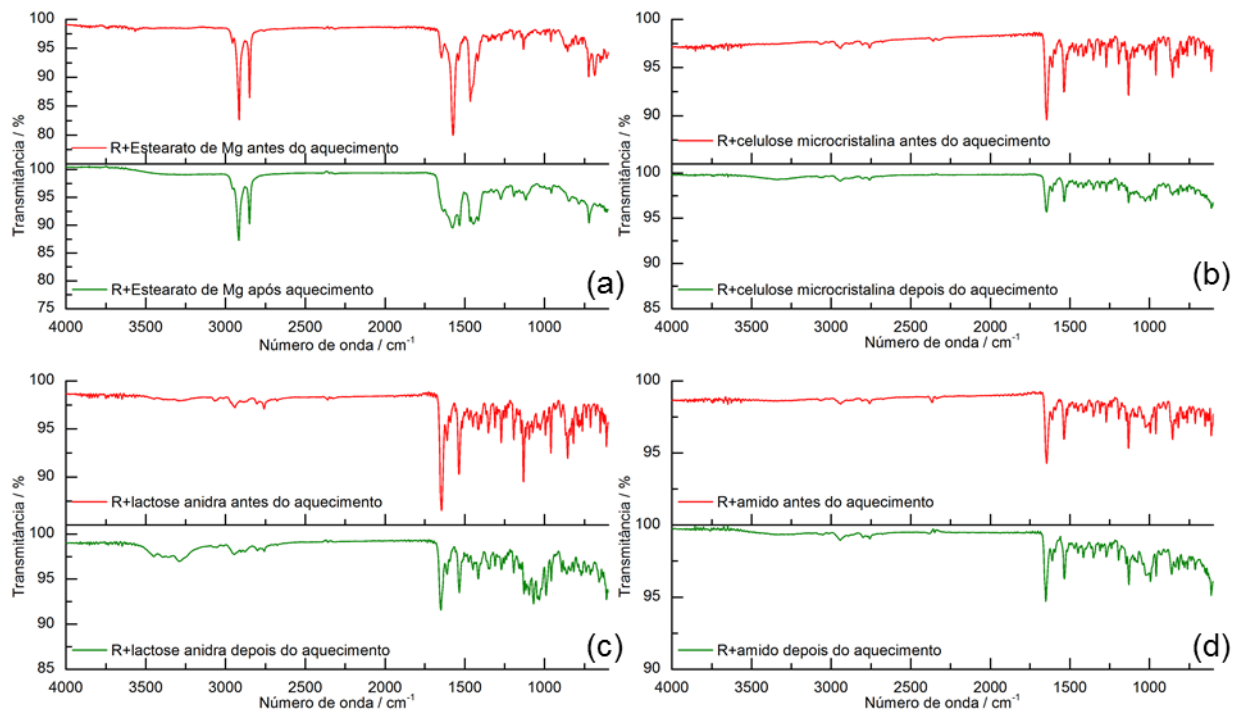


Figura 15 Comparação entre espectros de absorção no infravermelho de quatro misturas antes e após aquecimento até 200°C; amostras foram analisadas à temperatura ambiente (n=3)
 (a) risperidona + estearato de magnésio antes (acima) e depois (abaixo);
 (b) risperidona + celulose microcristalina antes (acima) e depois (abaixo);
 (c) risperidona + lactose anidra antes (acima) e depois (abaixo);
 (d) risperidona + celulose microcristalina antes (acima) e depois (abaixo). Todas as amostras foram analisadas à temperatura ambiente (n=3)

Fonte: do autor

Para as três primeiras, é possível observar modificações no formato de algumas bandas de absorção. Na mistura com estearato as modificações são mais visíveis na região entre 1700 e 1300 cm^{-1} , enquanto nas misturas com celulose microcristalina e lactose anidra houve uma redução na intensidade das bandas, além de alterações no formato das bandas na região de 1300 a 1000 cm^{-1} . Já na mistura com amido, não é possível observar alterações no perfil de banda, e este resultado foi semelhante para as misturas com laurilsulfato de sódio (dado não apresentado).

5.2.1.3 Análise de Componente Principal

O melhor modelo de PCA obtido foi utilizando validação cruzada por *leave-one-out*, pré-processamento com dados centrados na média, 5 componentes principais e variância explicada de 95,4%. Após a construção do modelo, o conjunto Xa foi previsto e os resíduos de cada amostra plotado na forma de gráfico. A Figura

16 apresenta estes resultados, onde a linha horizontal (*threshold* obtido com 99% de intervalo de confiança) classifica as amostras do conjunto Xa. Aquelas localizadas abaixo apresentam seus espectros dentro do perfil esperado àqueles espectros obtidos no conjunto controle. Por outro lado, as amostras localizadas acima da linha apresentam alterações significativas em seus espectros. Os espectros de 1 a 51 incluem as análises em triplicata do fármaco e dos excipientes antes e depois do aquecimento e das misturas binárias antes do aquecimento, (usadas como controle). Já os espectros de 52 a 66 são as triplicatas de análise das misturas binárias após o aquecimento.

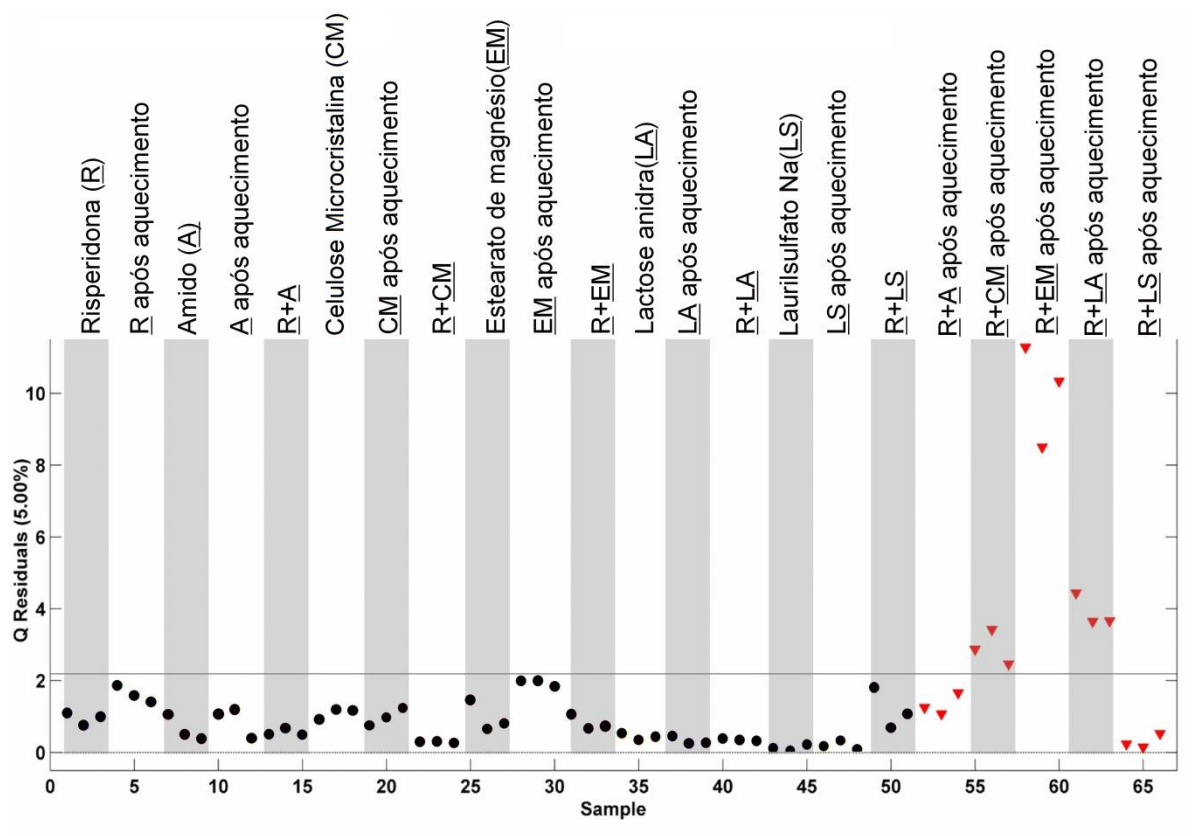


Figura 16 Análise PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias (risperidona /excipiente) 1:1 (m/m) após serem submetidas a aquecimento a 200°C. Os pontos pretos representam as triplicatas das amostras do grupo controle e os triângulos vermelhos representam as triplicatas das amostras do grupo avaliação.

Fonte: do autor

Na figura 16, os pontos que representam as misturas contendo os excipientes celulose microcristalina, estearato de magnésio e lactose anidra ocupam a parte superior da linha horizontal, indicando que alterações significativas ocorreram nesses espectros. Observa-se que os mesmos excipientes isolados, quando

aquecidos, não são classificados no quadrante superior, reforçando que as diferenças espectrais ocorrem somente na presença da risperidona. Em adição, essas amostras são as mesmas que apresentaram valores de entalpia abaixo do esperado na análise por DSC. Essa concordância sugere uma incompatibilidade química entre a risperidona e esses três excipientes, uma vez que a diminuição da entalpia de fusão associada a alterações de bandas nos espectros de infravermelho indica uma degradação do fármaco.(Tita et al., 2011)

Resultados como estes são úteis para uma triagem rápida de excipientes adequados para uma formulação. No entanto, devem ser interpretados com cautela, pois a observância de incompatibilidade pode ter sido induzida pelo aquecimento forçado até 200°C, gerado pela análise por DSC e poderia não ocorrer em condições de rotina.(Tita et al., 2011) Por isso é importante avaliar a estabilidade a longo prazo, sob condições ambientais que simulam as condições de rotina.(Center for Drug; Research; Research, 2003) Apesar disso, trabalhos semelhantes, ou seja, que aplicam aquecimento da amostra até a temperatura de fusão do fármaco são encontrados na literatura.

5.2.1.4 Análise termogravimétrica

Paralelamente ao estudo de compatibilidade, a influência dos excipientes na estabilidade térmica da risperidona foi avaliada por meio de análise TG das misturas binárias iniciais.(Macedo; do Nascimento; Veras, 2002; Rezende; Santoro; Matos, 2008; Yoshida et al., 2011) A Figura 17 apresenta as curvas TG da risperidona, do excipiente celulose microcristalina e da mistura binária. Observa-se que a celulose microcristalina inicia seu primeiro evento de perda de massa à temperatura ambiente e termina em aproximadamente 100°C, o que corresponde a 4,8% de água de umidade. A segunda perda de massa ocorre na faixa de 272°C a 387°C, que corresponde a degradação térmica do excipiente. A curva TG da risperidona foi descrita no início da sessão 4.1. Nota-se que a curva térmica da mistura binária corresponde à sobreposição das curvas dos componentes isolados, e apresenta o primeiro evento na faixa que vai da temperatura ambiente até 100°C correspondente à umidade (perda de 2,7%) e o segundo evento, iniciado a 230°C corresponde à degradação térmica da risperidona, em conformidade com a curva do fármaco isolado. Portanto, pode-se dizer que a celulose microcristalina não interfere na

estabilidade térmica da risperidona. De forma semelhante, os resultados das análises de TG para as misturas com os excipientes estearato de magnésio, laurilsulfato de sódio e amido de milho mostraram que a risperidona não apresentou alterações em sua estabilidade térmica na presença desses excipientes (dados não apresentados).

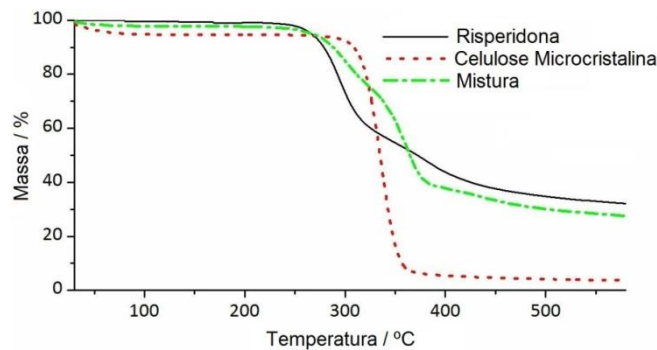


Figura 17 Curvas TG da risperidona, da celulose microcristalina e da mistura binária entre os dois compostos (1:1 m/m): temperatura de 30°C a 600°C; razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (n=1)

Fonte: do autor

Por outro lado, foi observado que a lactose anidra reduz a estabilidade térmica da risperidona. Esse efeito pode ser visualizado na Figura 18. A lactose anidra apresentou a primeira perda de massa em 207°C, seguida por outras duas perdas que foram observadas em 264,5°C e 430°C. A curva da risperidona, descrita no item 5.1.1, mostra que ela é estável até a temperatura de 230°C. A curva da mistura binária mostra que a primeira perda de massa da mistura ocorre a 181°C, uma temperatura menor do que a temperatura de degradação do fármaco e do excipiente isolados.

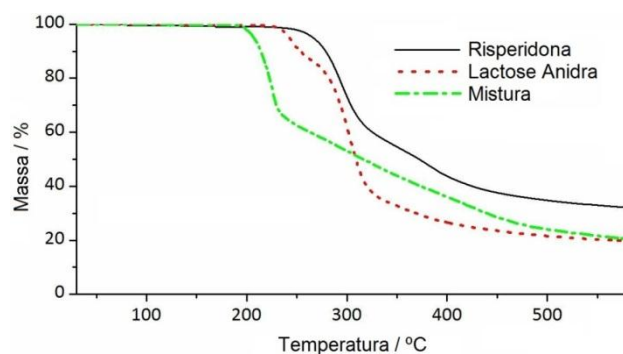


Figura 18 Curvas TG da risperidona isolada, da lactose anidra isolada e da mistura binária entre os dois compostos (1:1 m/m): temperatura de 30°C a 600°C; razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (n=1)

Fonte: do autor

De acordo com Macêdo et al (2002), um comportamento semelhante foi observado em estudo de compatibilidade da lactose anidra com o fármaco cloridrato de propranolol.

5.2.1.5 Cromatografia Líquida

O cromatograma de uma amostra padrão de risperidona está apresentado na Figura 19. Seu tempo de retenção foi de 9,9 minutos e nenhum outro pico foi registrado nessas condições de análise.

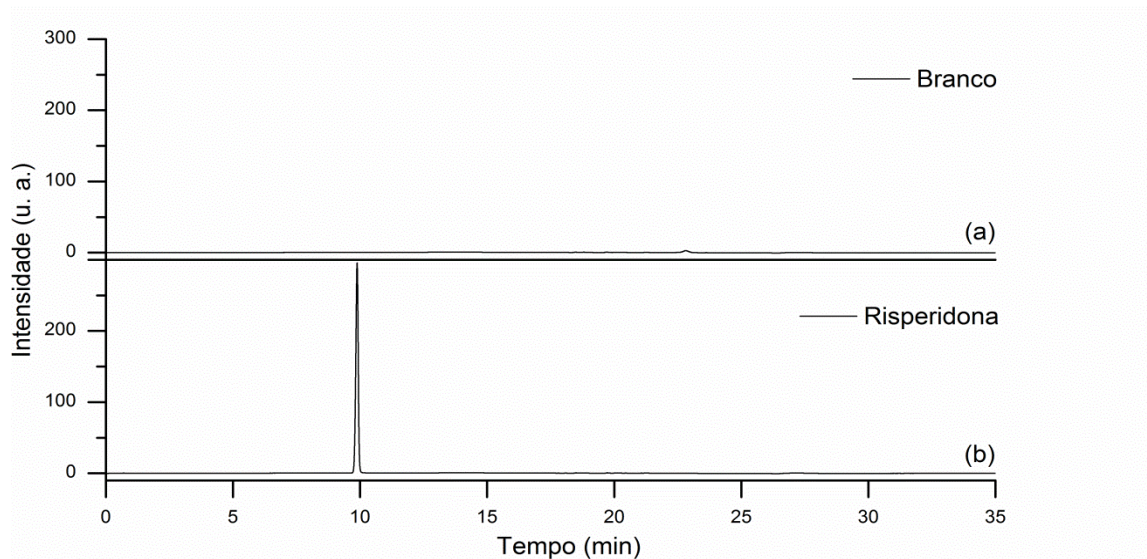


Figura 19 Cromatogramas da risperidona. Condições de análise: coluna C8, 4.6X100mm, 3.5 μm partícula, 35°C; fase móvel gradiente de metanol:água:tampão acetato de amônio pH 6
(a) branco (amostra contendo apenas diluente), com ausência de picos;
(b) risperidona, com um pico no tempo de retenção 9,9 minutos.

Fonte: do autor

O gráfico da curva de calibração está apresentado na Figura 20 e mostra que este método é linear na faixa de trabalho (0,10 a 0,25 mg mL^{-1}). As análises de cada ponto foram realizadas em triplicata.

A Figura 21 mostra os cromatogramas de todas as amostras de risperidona e misturas binárias após aquecimento. A amostra de risperidona isolada apresentou uma concentração de 0,16 mg.mL^{-1} . Seu cromatograma, na Figura 21 (a), revelou um novo pico com tempo de retenção 4,3 minutos, e uma área correspondente a 4% da área do pico de risperidona da amostra antes do aquecimento (preparada nas

mesmas condições). Esse pico, mostrado na Figura 21 (a) corresponde à formação de um produto de degradação, que foi nomeado neste trabalho como PD1. Isso mostra que a risperidona é intrinsecamente suscetível à degradação térmica, e essa porcentagem de degradação deve ser considerado na análise das misturas binárias.

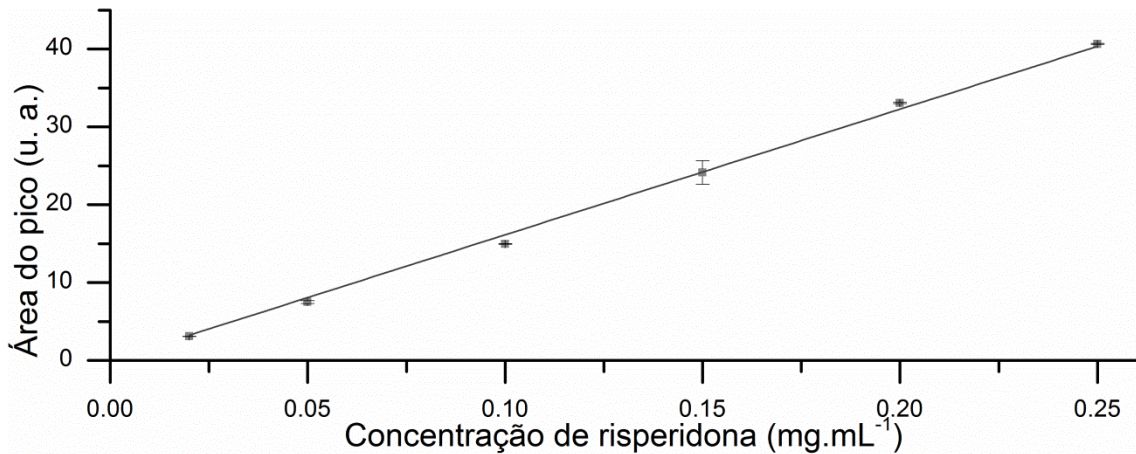


Figura 20 Curva de calibração da risperidona (n=3). As condições de análise estão descritas na Figura 19

Fonte: do autor

A lactose anidra (FIGURA 21 b) intensificou a degradação da risperidona, pois a concentração do fármaco na mistura binária foi consideravelmente menor do que o valor esperado (0,05 mg.mL⁻¹), no entanto, nenhum novo pico foi observado em seu cromatograma. A celulose microcristalina (FIGURA 21 c) apresentou um pico correspondente ao PD1 equivalente a 8% da área do pico de referência, o que é maior do que aquele observado na amostra de risperidona isolada. Além disso, a concentração de fármaco foi menor do que a esperada (0,12 mg.mL⁻¹), o que demonstra que houve um incremento na degradação do fármaco na presença desse excipiente. A mistura com amido, (FIGURA 21 d) apresentou uma concentração dentro do valor esperado (0,15 mg.mL⁻¹) e seu cromatograma foi equivalente ao da risperidona, após o aquecimento.

A mistura com laurilsulfato de sódio (FIGURA 21 e) não apresentou picos de produtos de degradação e sua concentração foi estatisticamente igual ao valor de referência (0,16 mg.mL⁻¹). A mistura com estearato de magnésio (FIGURA 21 f) apresentou, em seu cromatograma, um pico correspondente ao PD1, além de um novo pico em 11,3 minutos, correspondente a um segundo produto de degradação,

que foi denominado, neste trabalho, como PD2. A concentração de risperidona nessa amostra foi muito abaixo do valor esperado ($0,03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$).

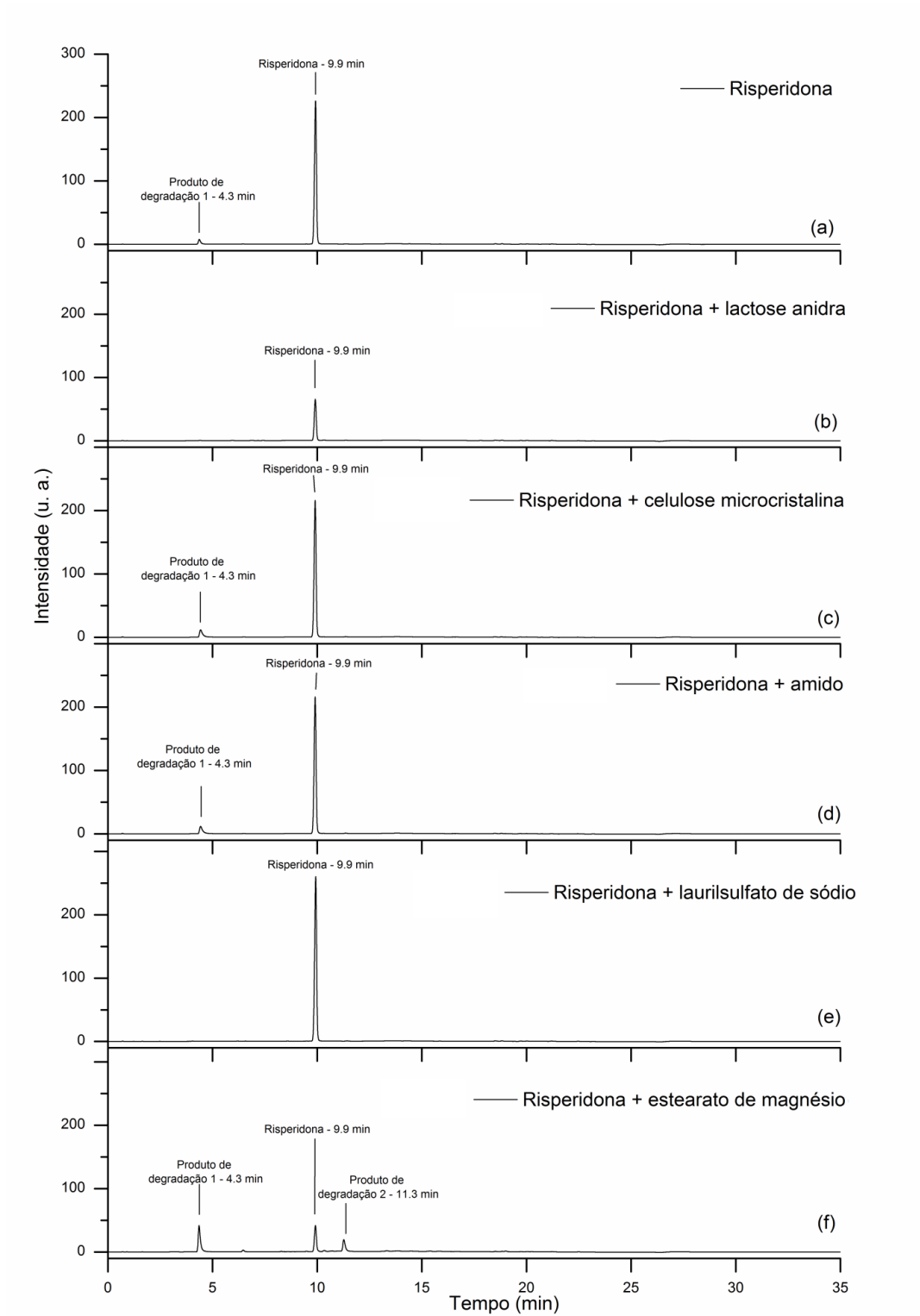


Figura 21 Cromatogramas das amostras de risperidona e misturas binárias 1:1 (m/m), após serem submetidas a aquecimento até 200°C . Condições de análise descritas na Figura 19

Fonte: do autor

Os resultados da cromatografia confirmaram os dados iniciais obtidos por análise térmica e FT-IR associada à PCA.

5.2.2 Análises das amostras de 3 e 6 meses

5.2.2.1 Calorimetria exploratória diferencial

Como observado na Figura 22, os perfis das curvas térmicas das misturas, após 3 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa, mantiveram-se os mesmos em relação ao tempo inicial (FIGURA 13), ou seja, não houve aparecimento, deslocamento ou desaparecimento de qualquer evento térmico. Após 6 meses (dados não apresentados), as amostras apresentaram o mesmo perfil nas análises por DSC, portanto não foi possível observar diferenças visuais em relação à Figura 22.

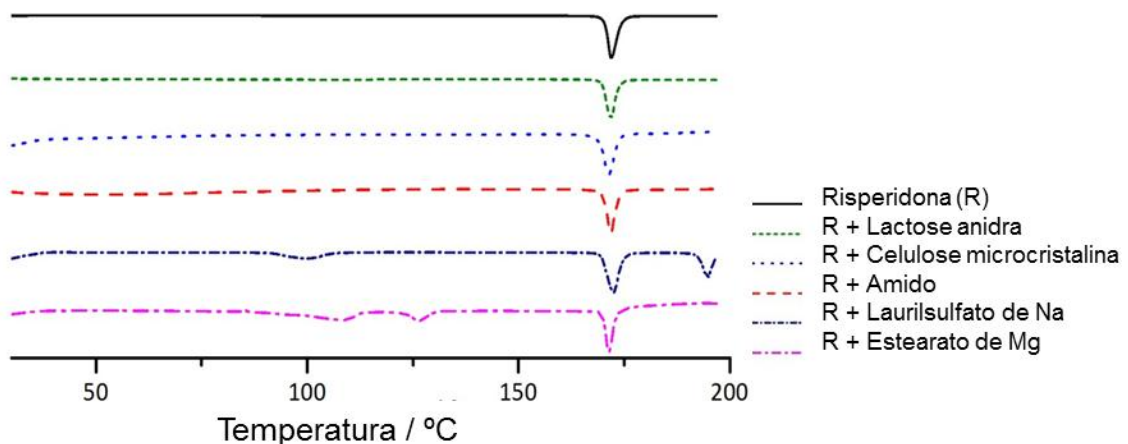


Figura 22 DSC das misturas binárias e da risperidona após 3 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Temperatura de 30°C a 200°C ; razão de aquecimento $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e atmosfera de N_2 com fluxo de $50\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ($n=1$)

Fonte: do autor

Os valores encontrados para temperatura e entalpia de fusão para todas as amostras após 3 e 6 meses de incubação estão apresentadas nas Tabelas 7 e 8, respectivamente. A temperatura de fusão manteve-se constante em todos os casos, tanto para amostras após 3 meses de incubação, quanto para as análises após 6 meses, assim como ocorreu no tempo inicial.

As misturas binárias com lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio após 3 e 6 meses de incubação apresentaram uma redução significativa em relação ao valor de referência (51 J.g^{-1}). Já para as amostras contendo amido e laurilsulfato de sódio, os valores de entalpia foram significativamente iguais e independentes do tempo de incubação. Dessa forma, pode-se dizer que as mesmas interações químicas encontradas nas amostras iniciais foram observadas após o período de incubação em câmara de estabilidade.

Tabela 7 Valores de temperatura de fusão da risperidona nas amostras incubadas a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa em comparação com as misturas binárias no tempo inicial

Amostra	T_e ($^{\circ}\text{C}$)		
	Tempo inicial	3 meses	6 meses
Risperidona (R)	$170,52 \pm 0,02$	$170,1 \pm 0,3$	$170,4 \pm 0,1$
R+ lactose anidra	$168,6 \pm 0,3$	$169,3 \pm 0,4$	$169,5 \pm 0,2$
R+ celulose microcristalina	$169,2 \pm 0,1$	$169,4 \pm 0,0$	$169,6 \pm 0,6$
R+ amido	$169,13 \pm 0,04$	$169,5 \pm 0,7$	$169,5 \pm 0,4$
R+ laurilsulfato de sódio	$169,6 \pm 0,4$	$169,3 \pm 0,2$	$169,6 \pm 0,2$
R+ estearato de magnésio	$170,9 \pm 0,3$	$169,9 \pm 0,2$	$169,9 \pm 0,1$

*Intervalos de confiança ($p > 0,05$)

Fonte: do autor

Tabela 8 Valores de entalpia de fusão da risperidona nas amostras incubadas a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa em comparação com as misturas binárias no tempo inicial.

Amostra	ΔH (J/g)		
	Tempo inicial	3 meses	6 meses
Risperidona (R)	$102,0 \pm 0,3$	103 ± 2	$98,9 \pm 0,1$
R+ lactose anidra	38 ± 2	$42,0 \pm 0,7$	37 ± 2
R+ celulose microcristalina	37 ± 8	46 ± 1	43 ± 2
R+ amido	47 ± 5	49 ± 2	44 ± 8
R+ laurilsulfato de sódio	44 ± 6	50 ± 1	50 ± 2
R+ estearato de magnésio	36 ± 8	$45,0 \pm 0,2$	$41,7 \pm 0,8$

Fonte: do autor

5.2.2.2 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho revelou que, visualmente, não houve alterações nas bandas de absorção da risperidona após 3 meses e 6 meses de incubação em relação à amostra inicial, como mostra a Figura 23. O mesmo comportamento foi observado para os espectros das demais amostras. Para auxiliar

na interpretação desses resultados, foi utilizada a análise quimiométrica por PCA dos dados espectrais das amostras incubadas durante 3 e 6 meses.

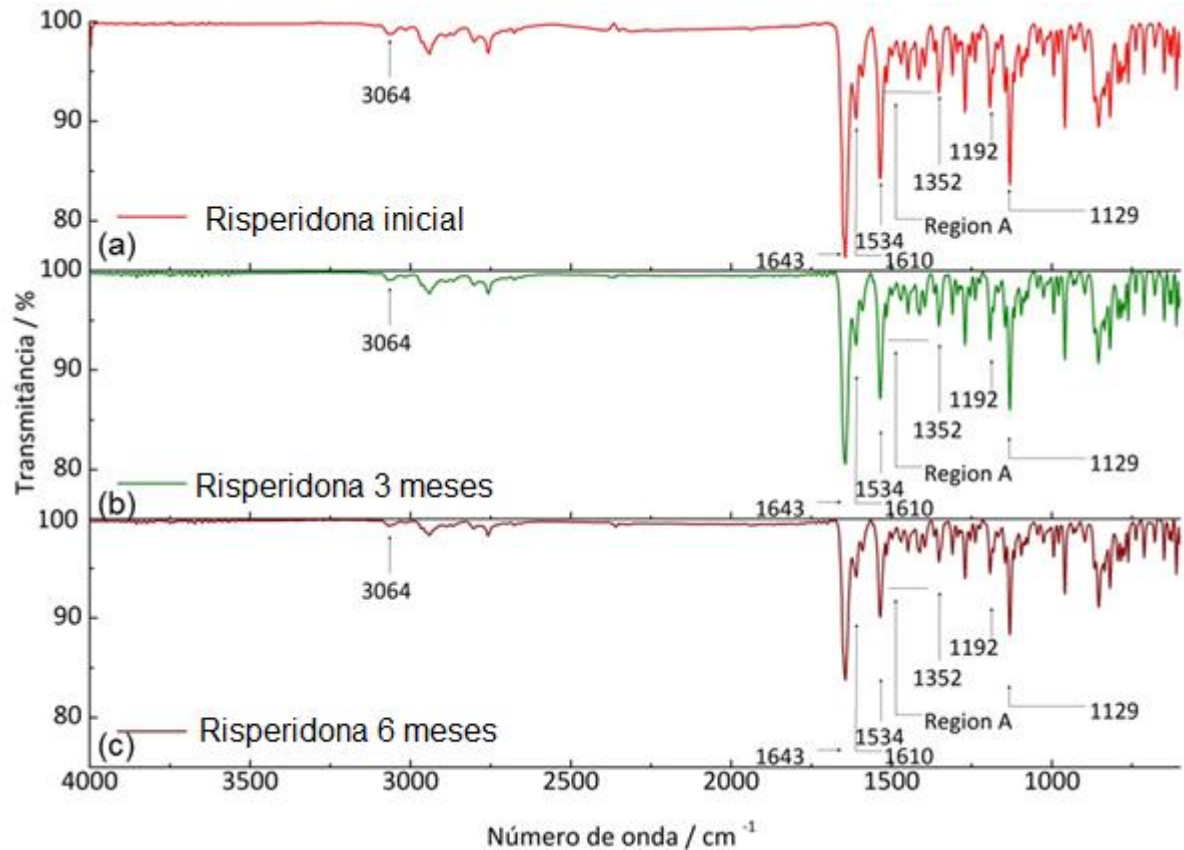


Figura 23 Bandas de absorção no infravermelho para risperidona: (a) tempo inicial; (b) após 3 e (c) após 6 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Ambas analisadas à temperatura ambiente ($n=3$)

Fonte: do autor

A Figura 24 mostra os resultados da análise de PCA dos dados de espectroscopia no infravermelho das amostras após 3 meses de incubação. As amostras que não apresentaram alterações espectrais significativas estão localizadas abaixo da linha horizontal, enquanto as amostras acima da linha apresentam alterações espectrais. De acordo com o resultado, entre as amostras do grupo avaliação, apenas a mistura com laurilsulfato de sódio ficou localizada acima da linha. Porém, as amostras de laurilsulfato de sódio puro, no grupo controle, também ficaram acima da linha. Assim, as alterações espectrais apresentadas pela mistura, podem ser atribuídas a alterações no excipiente puro, e não na risperidona. Dessa forma, pode-se concluir que a incubação por 3 meses a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa não foi suficiente para induzir reações de incompatibilidade entre a risperidona e os excipientes estudados.

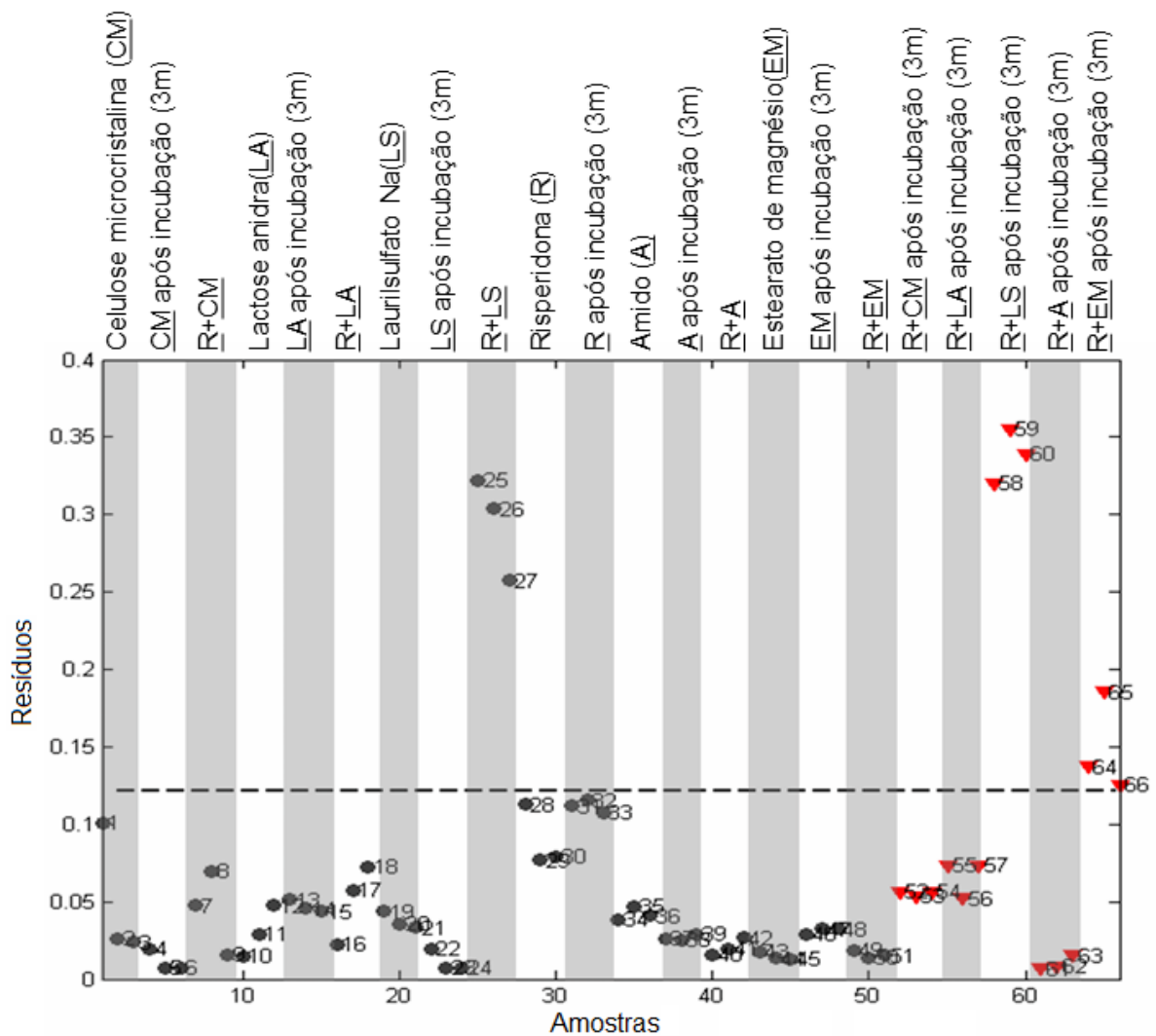


Figura 24 PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias (risperidona /excipiente) 1:1 (m/m) após 3 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Os pontos pretos representam as triplicatas das amostras do grupo controle e os triângulos vermelhos representam as triplicatas das amostras do grupo avaliação.

Fonte: do autor

Os espectros de infravermelho das amostras após 6 meses de incubação também foram analisados por PCA e o resultado está apresentado na figura 25. A mistura com laurilsulfato de sódio do grupo avaliação e a amostra desse excipiente puro do grupo controle apresentaram o mesmo comportamento das amostras incubadas por 3 meses. Nota-se ainda que a mistura com estearato de magnésio do grupo avaliação passou a ocupar a parte superior da figura, acima da linha horizontal. Assim, com o aumento do tempo de incubação, foi possível observar uma

incompatibilidade entre a risperidona e o excipiente estearato de magnésio a partir da análise por FT-IR associada à PCA.

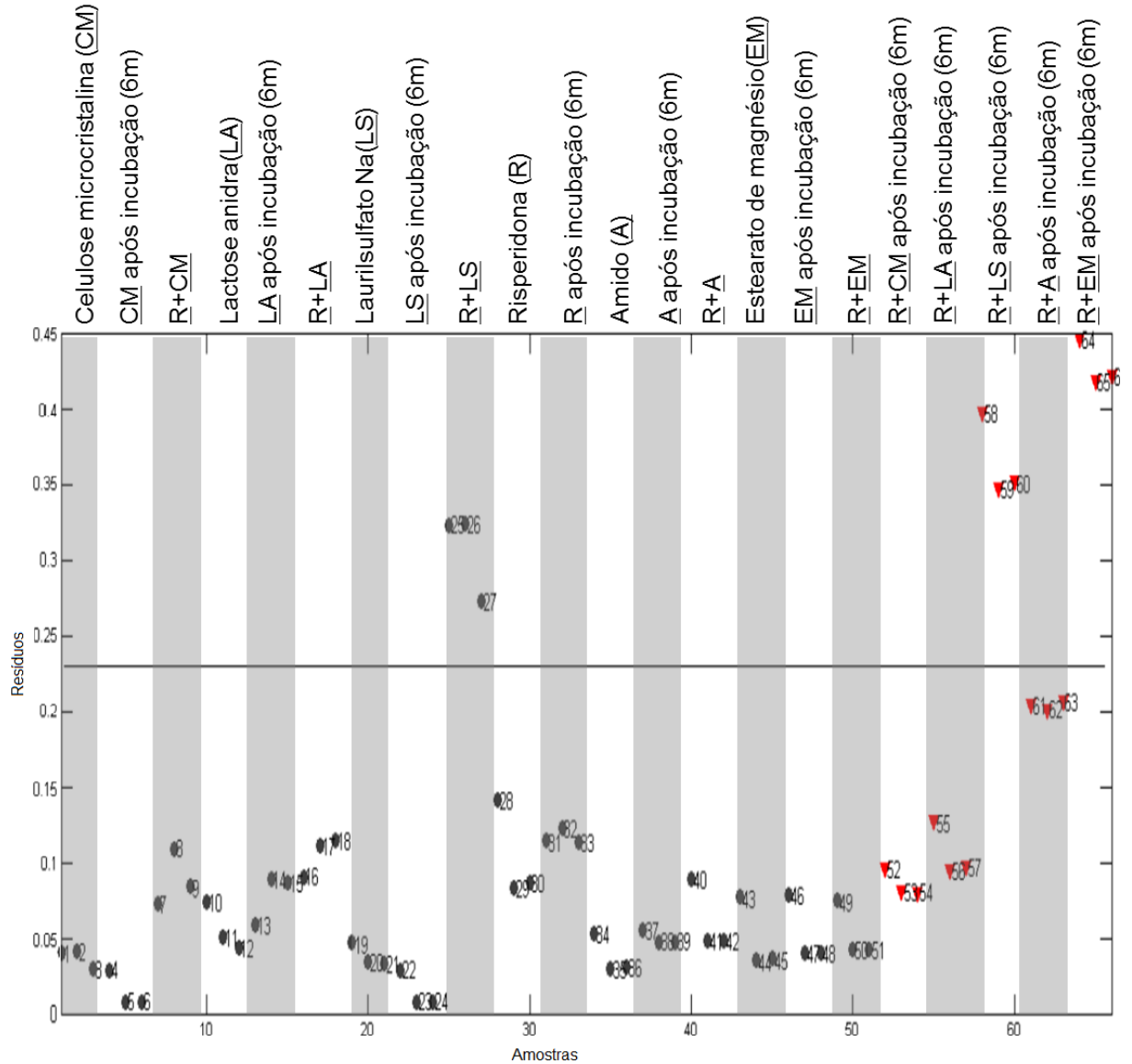


Figura 25 PCA dos dados espectrais das amostras de risperidona e misturas binárias (risperidona /excipiente) 1:1 (m/m) após 6 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Os pontos pretos representam as triplicatas das amostras do grupo controle e os triângulos vermelhos representam as triplicatas das amostras do grupo avaliação.

Fonte: do autor

5.3 CARACTERIZAÇÃO DA ZIPRASIDONA

5.3.1 Análise térmica

As curvas térmicas obtidas para a ziprasidona estão apresentadas na figura 26. A curva DSC apresenta um evento endotérmico na faixa de 40°C a 130°C. Nessa mesma faixa de temperatura, a curva TG apresenta uma perda de massa de aproximadamente 4%. Os dois eventos correspondem à perda de uma molécula de água, uma vez que o fármaco se encontra na forma de mono-hidrato.

O segundo evento endotérmico que aparece na curva DSC inicia-se com um valor de T_e de 297,0°C. Nessa temperatura, observa-se o início de uma intensa perda de massa na curva TG, além de vários picos consecutivos na curva DTG, indicando sucessivas perdas de massa. Esses resultados revelam que a ziprasidona não apresenta temperatura e entalpia de fusão definidas, pois sofre degradação térmica antes de apresentar um pico de fusão no DSC. (Pfizer Canada, 2010) Como T_e e ΔH_f são os principais parâmetros avaliados nos estudos de compatibilidade, esse comportamento constitui uma limitação ao uso das técnicas de análise térmica para os estudos de estabilidade da ziprasidona.

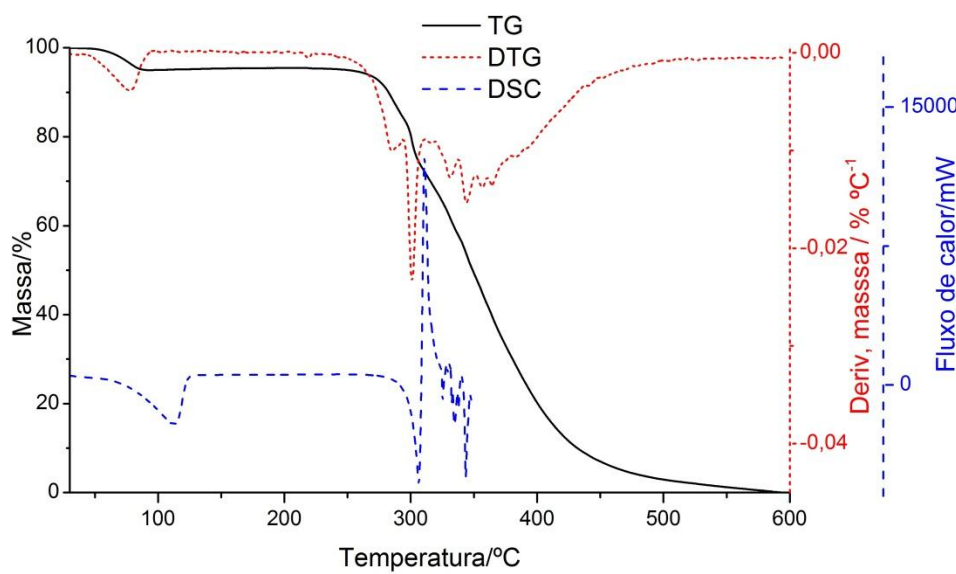


Figura 26 Curvas térmicas para a ziprasidona. TG e DTG na faixa de temperatura de 30°C a 600°C; e DSC na faixa de temperatura de 30°C a 350°C; ambos com razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹ (n=1)

Fonte: do autor

5.3.2 Espectroscopia no infravermelho e Raman

A Figura 27 exhibe os nomes dos grupamentos presentes na molécula de ziprasidona e o espectro de absorção no infravermelho da ziprasidona, que corresponde a forma cristalina F como disponível na literatura. (Hedvati et al.) Essa

forma é um mono-hidrato, que se mantém estável em ambiente com umidade relativa entre 20% e 60% e quando aquecido a 80°C por 12h, ainda mantém sua forma cristalina. (Hedvati et al.)

A Figura 28 mostra o resultado da espectroscopia Raman para a ziprasidona. Os grupos funcionais relativos a cada banda de absorção no infravermelho marcada na Figura 27 estão descritos na Tabela 9.

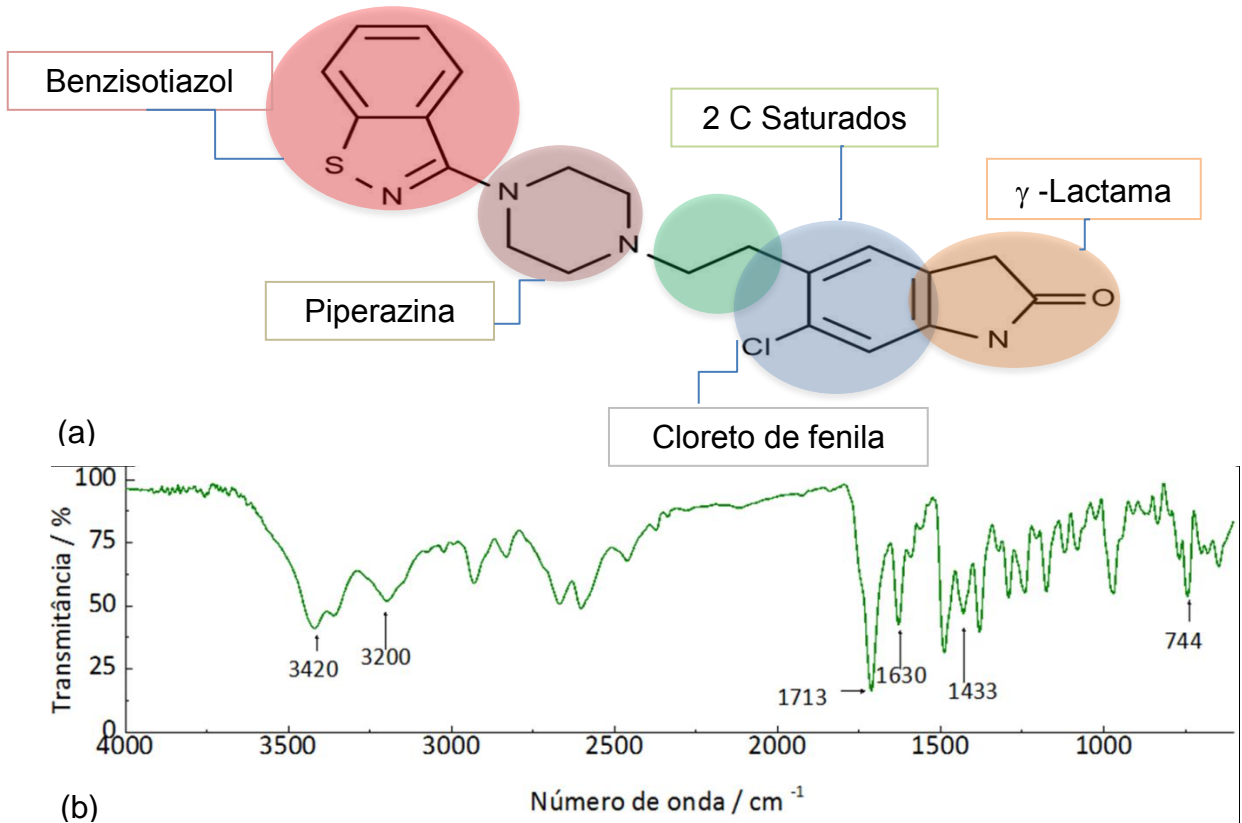


Figura 27 Estrutura da ziprasidona com grupamentos assinalados e espectro de absorção no infravermelho da risperidona na faixa de 4000 a 600 cm^{-1} em temperatura ambiente.

Fonte: do autor

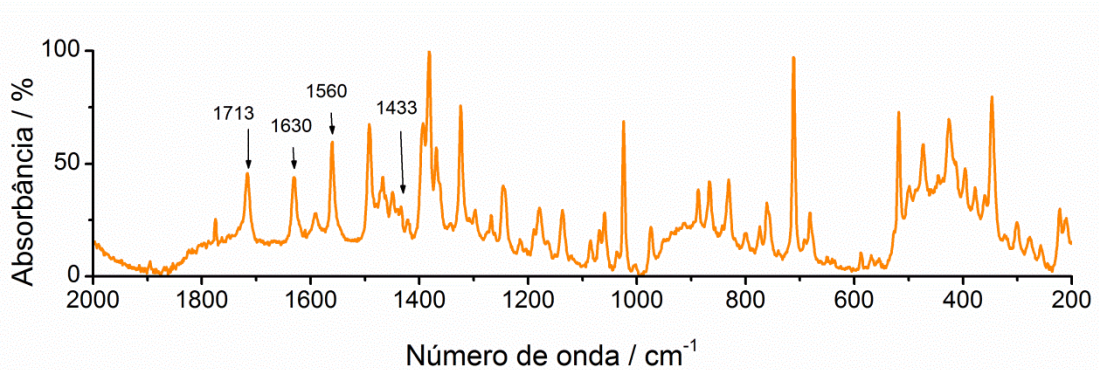


Figura 28 Espectro Raman para ziprasidona na faixa de 2000 a 200 cm^{-1} , detector a -50°C, 10 sacans(n=3)

Fonte: do autor

Tabela 9 Bandas de absorção no infravermelho, características da estrutura da ziprasidona.

Número de onda (cm ⁻¹)	Intensidade	Atribuição
3420	média	N-H estiramento do anel β-lactama
1713	forte	C=O estiramento do anel β-lactama
3200	média	C-N estiramento do anel β-lactama
1630 e 1433	media-forte	C=C estiramento do anel aromático
744	média	C-Cl estiramento do anel aromático

Fonte: (Hedvati et al.; Siverstein; Webster, 2006)

5.3.3 Difratomia de raios X

A análise por difratometria de raios X constatou que a ziprasidona apresenta-se em sua forma cristalina correspondente à forma F, com picos característicos em 10,9; 14,8; 18,06; 19,58; 21,8; 24,88 e 25,9 2°θ. O difratograma obtido está apresentado na Figura 29.(Hedvati et al.)

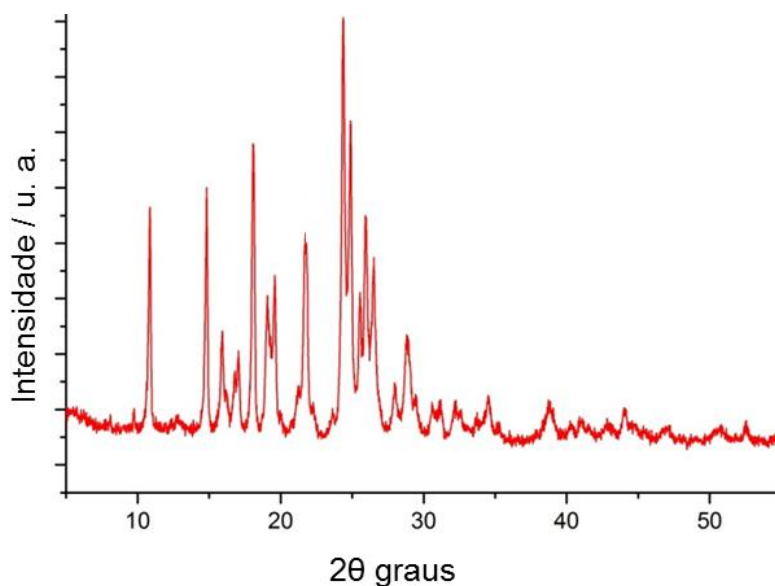


Figura 29 Difratograma da ziprasidona. Entre 5° e 55° 2θ, 40kV e 30 mA (n=1)
Fonte: do autor

5.3.4 Microscopia eletrônica de varredura

De acordo com a definição da farmacopeia dos Estados Unidos, a ziprasidona apresenta cristais de morfologia irregular, formado por conglomerados de partículas arredondadas e em forma de tiras, como observado na Figura 30.(United States Pharmacopeial Convention, 2008)

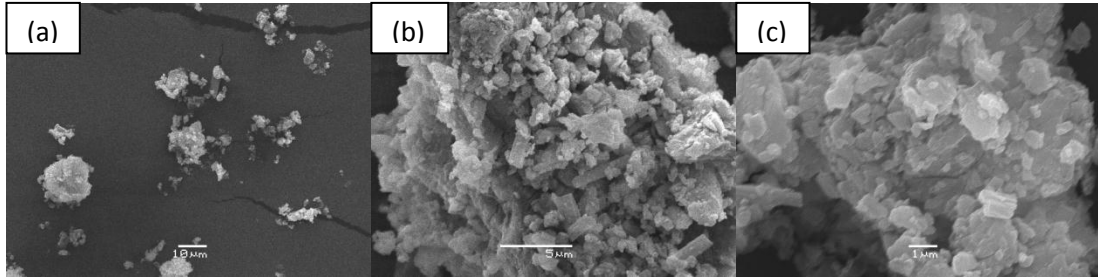


Figura 30 Eletromicrografia da ziprasidona. Tensão de aceleração 10V, em vácuo e amostras cobertas com filme de ouro.

(a) Aumento de 1000x;

(b) Aumento de 5000x;

(c) Aumento de 10000x.

Fonte: do autor

5.4 ESTUDOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE COM ZIPRASIDONA

5.4.1 ANÁLISES DAS AMOSTRAS DE TEMPO INICIAL

5.4.1.1 Cromatografia líquida

A Figura 31 apresenta o cromatograma do fármaco ziprasidona, observa-se que, nas condições de análise empregadas, o fármaco apresentou um tempo de retenção de 5,5 min.

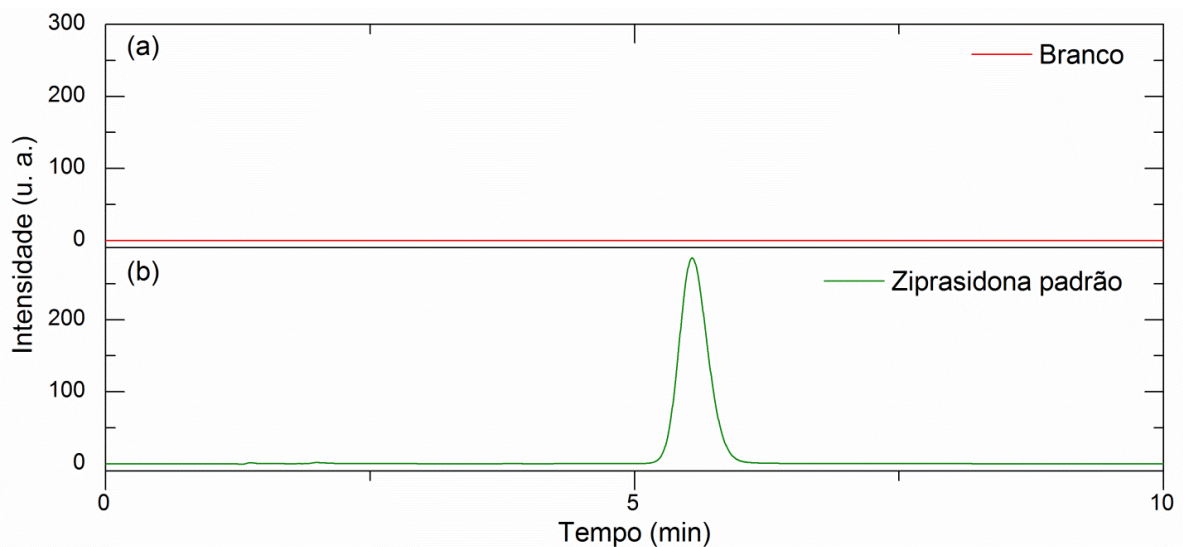


Figura 31 Cromatogramas da ziprasidona. Fase móvel metanol/tampão 2:3 (v/v), coluna C8, fluxo 1, mL.min⁻¹ e detecção em 229 nm. (n=3)

(a) branco (amostra contendo apenas diluente);

(b) amostra contendo ziprasidona.)

Fonte: do autor

Uma curva de calibração com sete pontos foi construída, conforme a Figura 32, a partir da análise, em triplicata, de soluções nas concentrações de 0,10; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 e 0,40 mg.mL⁻¹. O método foi linear dentro da faixa de trabalho, com um valor de $R^2 = 0,9935$.

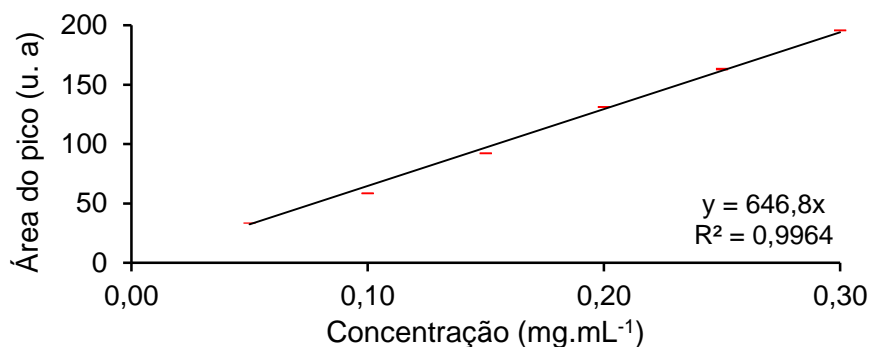


Figura 32 Curva de calibração para ziprasidona, construída com sete pontos, em triplicata. Fase móvel metanol/tampão 2:3 (v/v), coluna C8, fluxo 1, mL.min⁻¹ e detecção em 229 nm
Fonte: do autor

Os excipientes utilizados no estudo de compatibilidade com a ziprasidona foram analisados segundo este mesmo método e observou-se que, nessas condições, nenhum deles apresentou sinal em seus cromatogramas, os quais foram muito semelhantes ao branco (solução de metanol/tampão 2:3 (v/v)).

Este método foi, posteriormente, utilizado para analisar as amostras incubadas referentes ao estudo de compatibilidade com ziprasidona (fármaco e excipiente isolados e misturas binárias), após 3 meses e após 6 meses de incubação a 40°C±1°C e 75%±5% de umidade relativa. Segundo a metodologia, as amostras foram preparadas para uma concentração de fármaco de 0,23 mg.mL⁻¹.

5.4.1.2 Espectroscopia no Infravermelho

A seguir são apresentados os resultados das análises de infravermelho das amostras de misturas binárias no tempo inicial. A Figura 33 mostra os espectros em triplicatas das amostras de ziprasidona, manitol e mistura formada por estes dois componentes. É possível observar que as triplicatas foram bem semelhantes entre si.

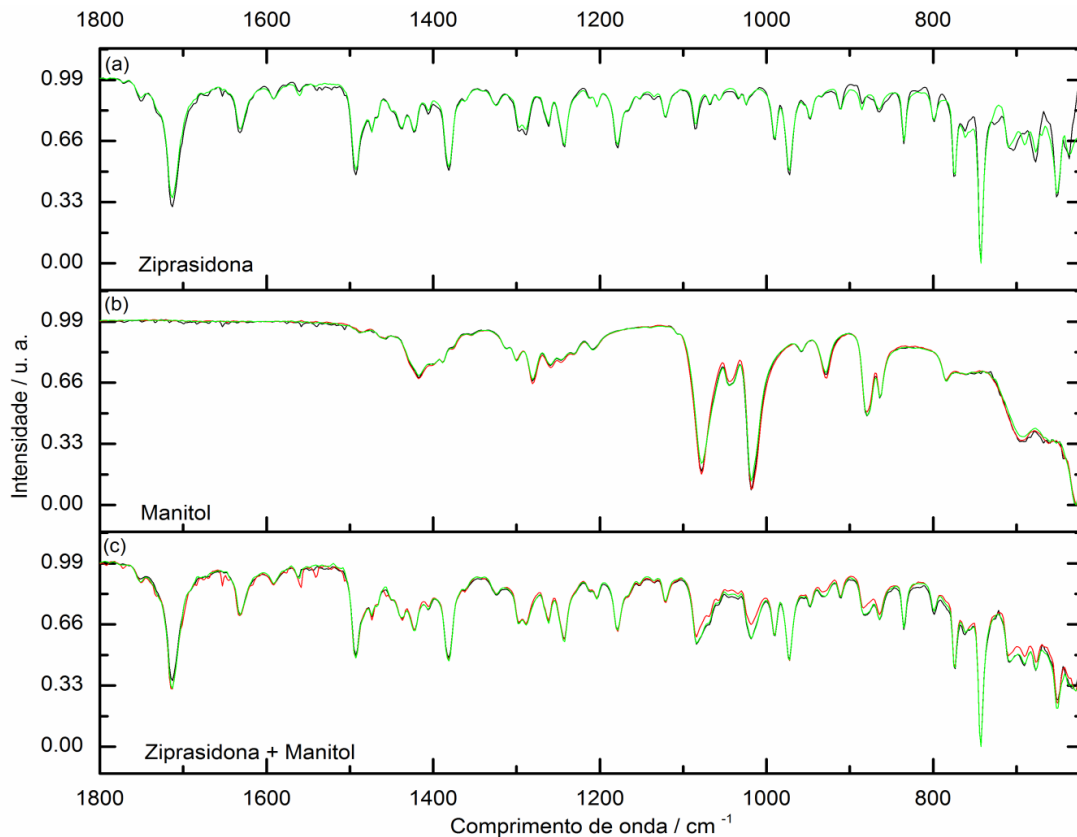


Figura 33 Espectros de absorção no infravermelho para amostras de tempo inicial (a) ziprasidona, (b) manitol e (c) mistura binária 1:1 (m/m) ziprasidona+manitol, na faixa de 1800 a 600 cm^{-1} em temperatura ambiente (n=3)

Fonte: do autor

Figura 34 (a-e), onde se pode observar que os espectros de cada mistura correspondem ao somatório do espectro do fármaco e de seu respectivo excipiente. Esses dados foram usados como controle para avaliar os resultados após 6 meses de incubação.

5.4.2 Análise das amostras de 3 e 6 meses

5.4.2.1 Cromatografia Líquida

Após 3 meses e 6 meses de incubação em câmara de estabilidade a $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\% \pm 5\%$ de umidade relativa, as amostras foram analisadas para verificar o teor de ziprasidona. Conforme descrito na metodologia, as amostras foram preparadas para uma concentração esperada de fármaco de $0,23 \text{ mg.mL}^{-1}$. Este valor corresponde a um teor de 100% de ziprasidona. A obtenção de resultados inferiores a este valor é indicativo de degradação do fármaco, e conseqüentemente,

incompatibilidade química. Este valor encontra-se na faixa de linearidade do método, portanto pode ser utilizado.

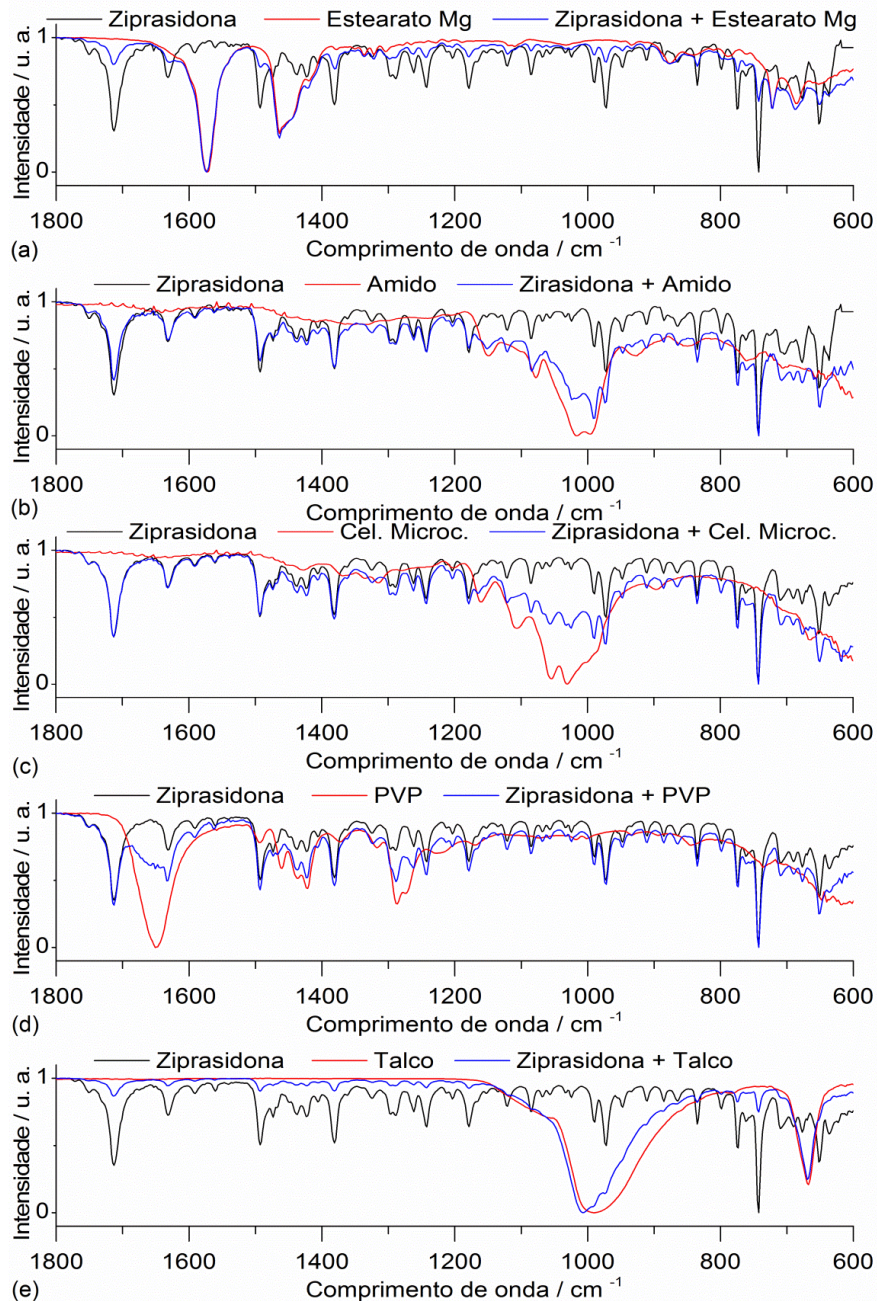


Figura 34 Comparação entre os espectros de absorção no infravermelho para ziprasidona, excipientes e misturas binárias.

- (a) ziprasidona, estearato de magnésio e mistura ziprasidona+estearato de magnésio;
 (b) ziprasidona, amido e mistura ziprasidona+amido;
 (c) ziprasidona, celulose microcristalina e mistura ziprasidona+celulose microcristalina;
 (d) ziprasidona, PVP e mistura ziprasidona+PVP; (e) ziprasidona, talco e mistura ziprasidona+talco. Os espectros foram obtidos na faixa de 1800 a 600 cm^{-1} em temperatura ambiente. Todas as misturas binárias foram preparadas na proporção 1:1 (m/m). Estas amostras foram analisadas após serem preparadas (tempo inicial)

Fonte: do autor

A Figura 35 apresenta os resultados desta análise para as amostras de ziprasidona isolada e suas misturas binárias com os excipientes estearato de magnésio, amido, celulose microcristalina, manitol, PVP e talco, após 3 meses de incubação. Foi possível notar uma redução significativa do teor da ziprasidona nas misturas com estearato de magnésio e com PVP.

A Figura 36 mostra os cromatogramas das amostras de ziprasidona e de suas misturas binárias com os excipientes estearato de magnésio, amido, celulose microcristalina, manitol, PVP e talco, após 6 meses de incubação. Esses resultados mostraram que a redução de teor da ziprasidona causado pelo estearato de magnésio e pelo PVP foi acentuada com o aumento do tempo de incubação.

A partir desses resultados pode-se concluir que houve uma incompatibilidade entre a ziprasidona e os excipientes estearato de magnésio e PVP. No entanto, o método utilizado não foi capaz de detectar produtos de degradação. Uma possível explicação para isso é o fato de que nas farmacopeias não há um método disponível para análise da ziprasidona em formulação, mas somente para matéria prima. Neste caso o usual é empregar o método disponível para matéria prima nas análises de formulação. No entanto, a presença dos excipientes nas amostras pode ter modificado a interação dos produtos de degradação com a coluna e a fase móvel, não sendo possível sua detecção nas condições de análise utilizadas.

O estearato de magnésio tem sido relatado como incompatível em estudos com outros fármacos como, por exemplo, o cetoprofeno,(Tita et al., 2011) desloratadina,(Veronez et al., 2013) ácido acetil salicílico.(Tita et al., 2013) Este excipiente é composto por uma mistura de sais orgânicos formados por cátions de magnésio e ânions provenientes de diferentes ácidos graxos (principalmente esteárico e palmítico). Uma explicação que tem sido encontrada para sua incompatibilidade com fármacos é a ocorrência de uma reação química entre esses dois componentes com formação de ácido graxo e o fármaco na forma de sal de magnésio.(Tita et al., 2011)

Enquanto o PVP também demonstrou incompatibilidade com o cetoprofeno (Tita et al., 2011) e ácido acetil salicílico.(Tita et al., 2013) Além disso, incompatibilidades do PVP com lansoprazol, famotidina e atenolol indicam que o grupo carbonil, presente na molécula do excipiente, seja o responsável pelas reações de degradação.(Crowley; Martini, 2001)

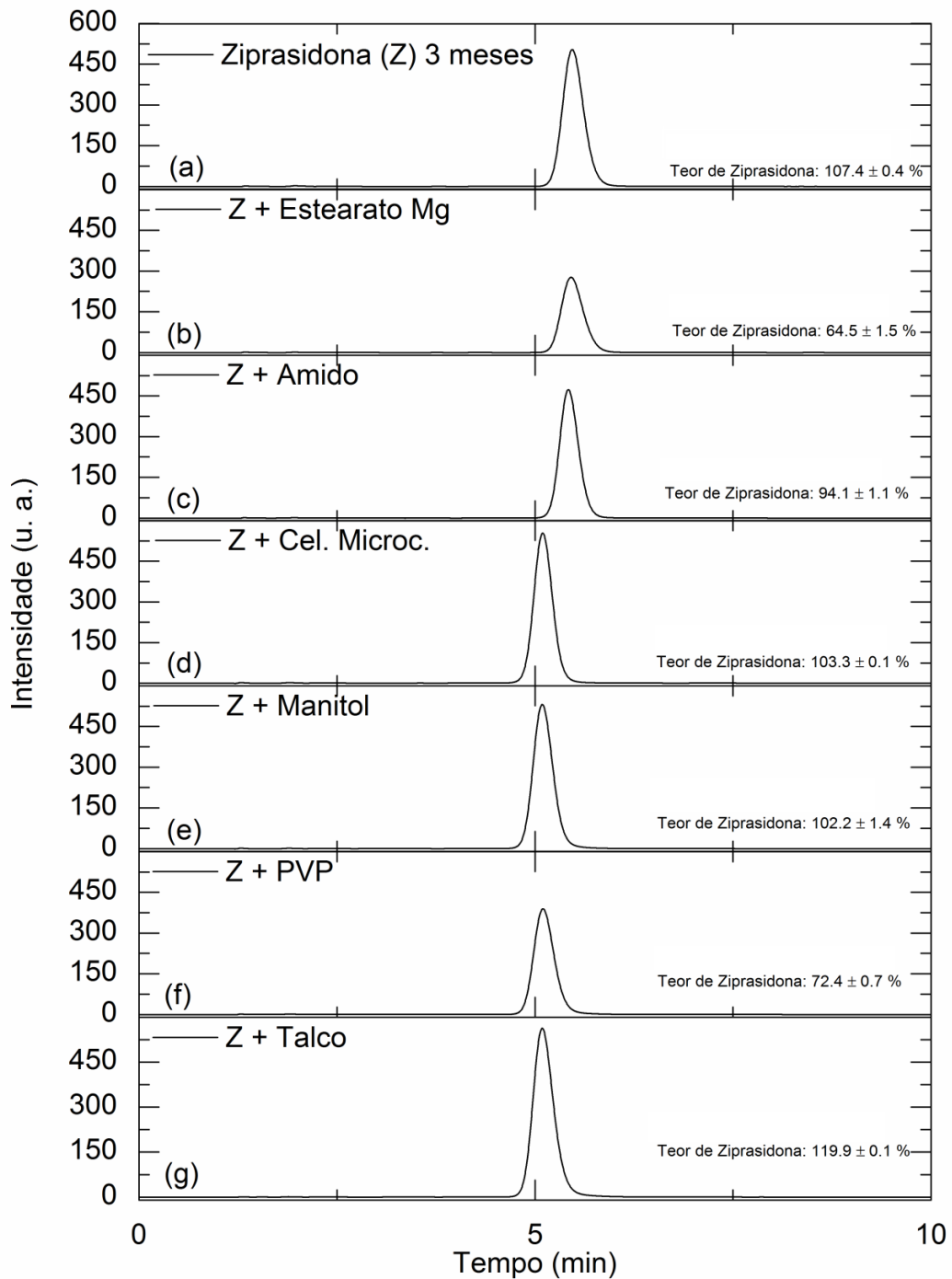


Figura 35 Cromatogramas das amostras após 3 meses de incubação submetidas a $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\% \pm 5\%$ de umidade relativa.

- (a) ziprasidona;
- (b) ziprasidona+estearato de magnésio;
- (c) ziprasidona+amido;
- (d) ziprasidona+celulose microcristalina;
- (e) ziprasidona+manitol;
- (f) ziprasidona+PVP;
- (g) ziprasidona+talco.

Todas as misturas binárias foram preparadas na proporção 1:1 (m/m). Fase móvel metanol/tampão 2:3 (v/v), coluna C8, fluxo de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e detecção em 229 nm ($n=3$).

Fonte: do autor

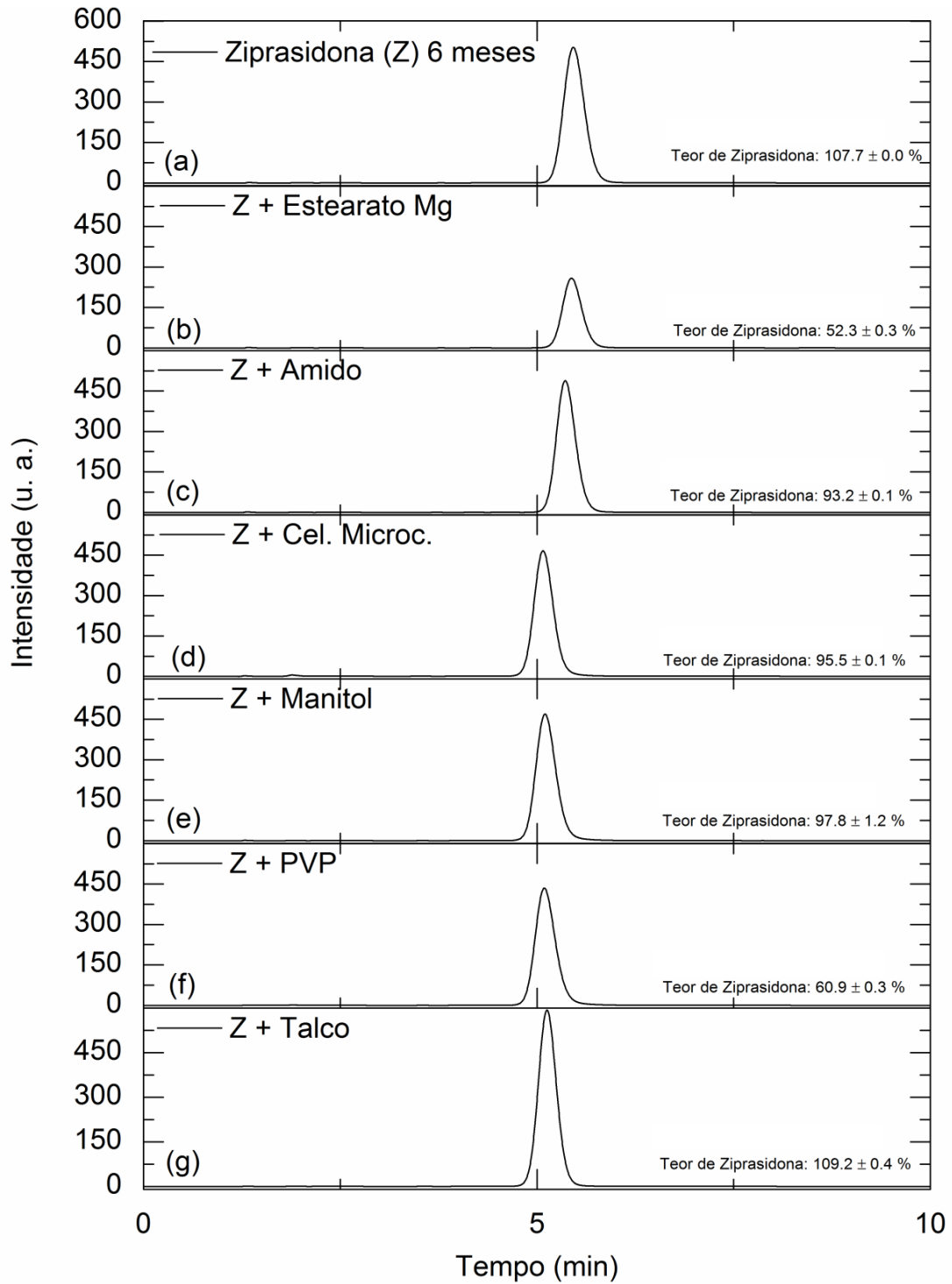


Figura 36 Cromatogramas da amostras após 6 meses de incubação submetidas a $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\% \pm 5\%$ de umidade relativa.

- (a) ziprasidona;
- (b) ziprasidona+estearato de magnésio;
- (c) ziprasidona+amido;
- (d) ziprasidona+celulose microcristalina;
- (e) ziprasidona+manitol;
- (f) ziprasidona+PVP;
- (g) ziprasidona+talco.

Todas as misturas binárias foram preparadas na proporção 1:1 (m/m). Fase móvel metanol/tampão 2:3 (v/v), coluna C8, fluxo de $1 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ e detecção em 229 nm ($n=3$).

Fonte: do autor

5.4.2.2 Espectroscopia no infravermelho

A Figura 37 apresenta uma comparação entre os espectros no infravermelho para as amostras de ziprasidona no tempo inicial e após 6 meses de incubação. As duas amostras apresentaram o mesmo perfil de bandas. Isso indica que o tempo de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa não provocou alterações estruturais na molécula do fármaco, ou seja, a ziprasidona, na ausência de excipientes, é estável a essas condições de armazenamento. Dessa forma, para os espectros das misturas, qualquer alteração nas bandas provenientes da ziprasidona, devem ser atribuídas à interação com o excipiente.

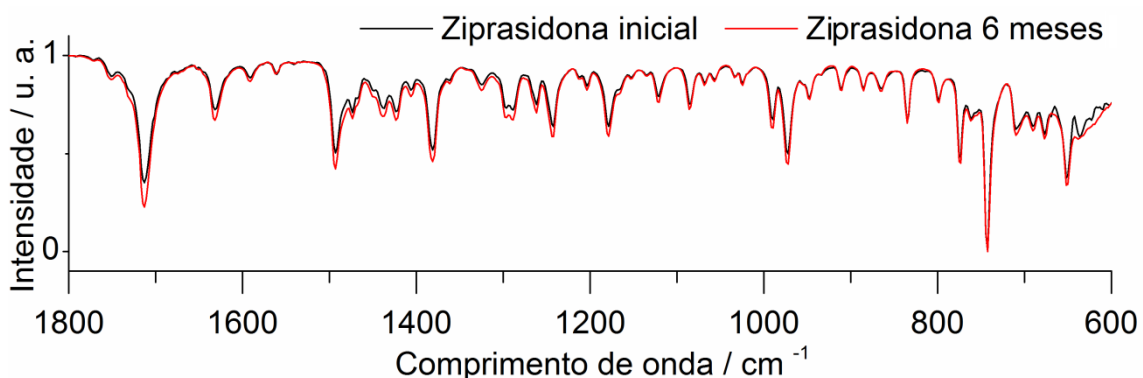


Figura 37 Espectros de absorção no infravermelho para (a) ziprasidona inicial e (b) ziprasidona após 6 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Os espectros foram obtidos na faixa de 1800 a 600 cm^{-1} em temperatura ambiente.

Fonte: do autor

A Figura 37 mostra os espectros em triplicatas das amostras de ziprasidona e manitol isolado e de sua mistura binária após 6 meses de incubação. Assim como nas análises de tempo inicial, é possível observar que as triplicatas foram bem semelhantes entre si e o mesmo foi observado para as triplicatas das outras amostras. Observa-se que o espectro da mistura corresponde ao somatório dos espectros dos componentes isolados, e esse comportamento se repetiu para todas as misturas, conforme apresentado na Figura 39 (a-e).

Somente a comparação visual entre os espectros não foi suficiente para uma conclusão a respeito das interações entre a ziprasidona e os excipientes. Por isso, os dados espectrais foram analisados por PCA, para melhor interpretação dos resultados.

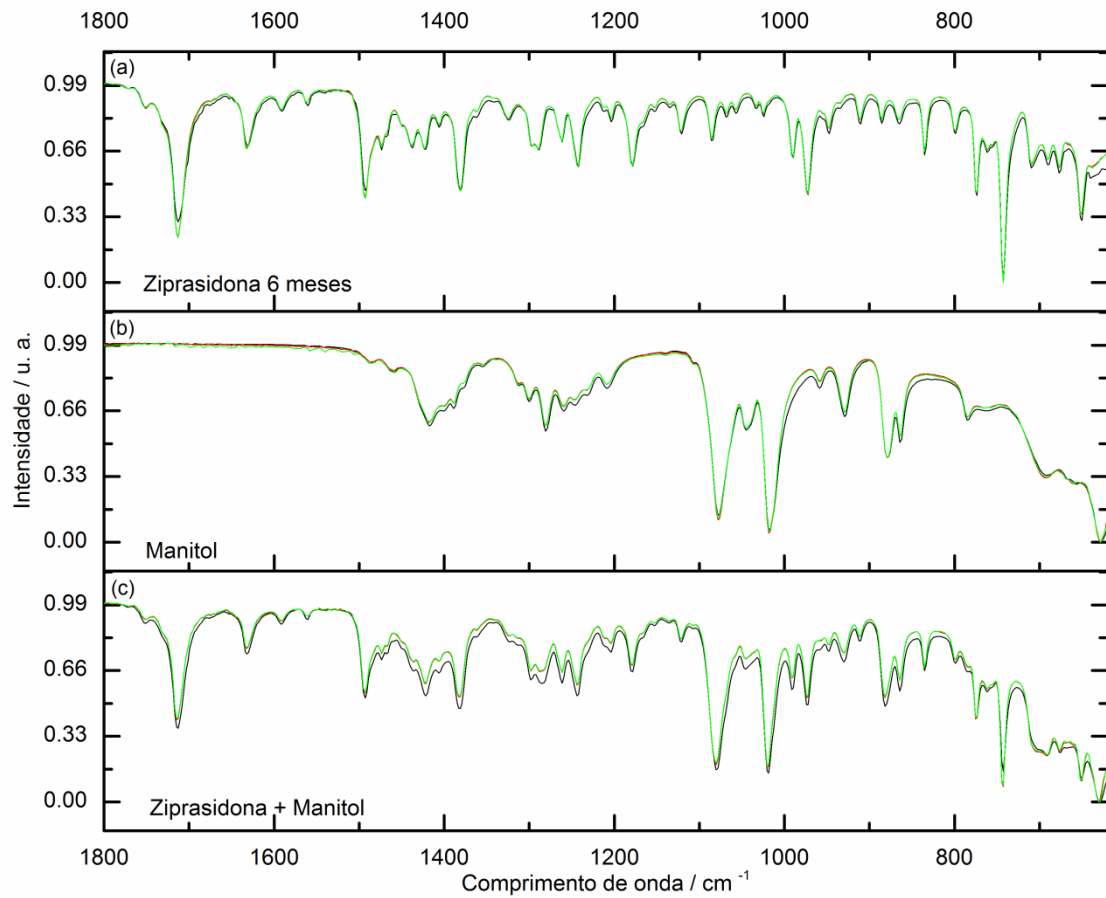


Figura 38 Triplicatas dos espectros de absorção no infravermelho na faixa de 1800 a 600 cm⁻¹ em temperatura ambiente. Amostras após 6 meses de incubação a 40°C±1°C e 75%±5% de umidade relativa.

- (a) ziprasidona,
- (b) manitol;
- (c) ziprasidona+manitol,.

Fonte: do autor

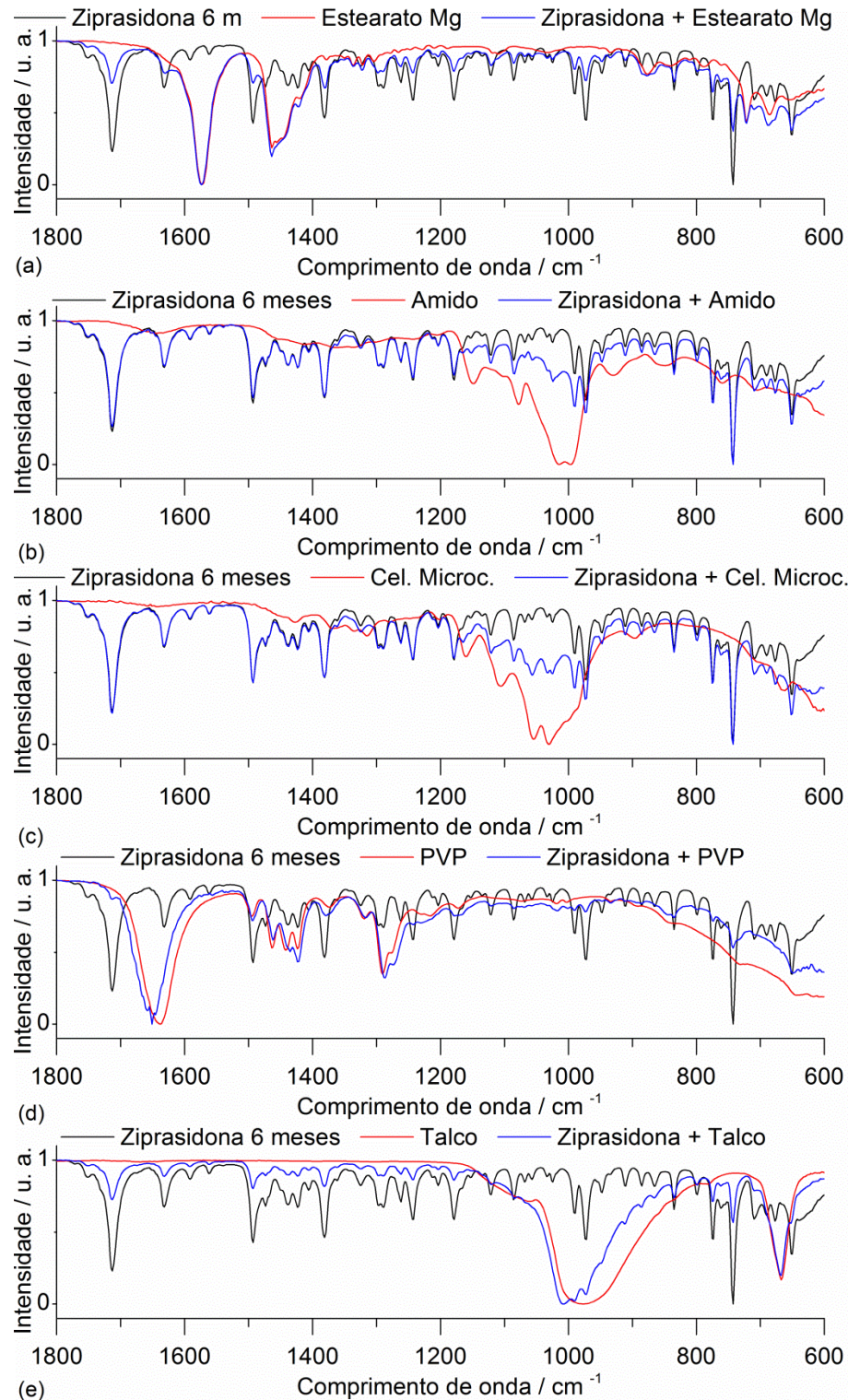


Figura 39 Comparação entre os espectros de absorção no infravermelho obtidos na faixa de 1800 a 600 cm⁻¹ em temperatura ambiente. Todas as misturas binárias foram preparadas na proporção 1:1 (m/m). Amostras após 6 meses de incubação a 40°C±1°C e 75%±5% de umidade relativa.

- (a) ziprasidona, estearato de magnésio e mistura ziprasidona+estearato de magnésio;
 (b) ziprasidona, amido e mistura ziprasidona+amido;
 (c) ziprasidona, celulose microcristalina e mistura ziprasidona+celulose microcristalina;
 (d) ziprasidona, PVP e mistura ziprasidona+PVP;
 (e) ziprasidona, talco e mistura ziprasidona+talco.

Fonte: do autor

5.4.2.3 Análise de Componente Principal

O modelo de PCA mais adequado foi construído utilizando validação cruzada por *leave-one-out*, pré-processamento com *autoscaling*, 5 componentes principais e variância explicada de 92,5%. Após a construção do modelo, o conjunto Xa foi previsto e os resultados plotados na forma de gráfico (FIGURA 40). Diferentemente do gráfico dos resíduos apresentados nas análises da risperidona, o gráfico da Figura 40 descreve amostras anômalas em referência ao primeiro componente principal (PC1), que descreve 35% da variância dos dados espectrais. Neste gráfico, as duas linhas horizontais, em 10 e -10, (*threshold* obtido com 95% de intervalo de confiança) classificam as amostras do conjunto Xa. Aquelas localizadas na região interna a essas duas linhas apresentam seus espectros dentro do perfil esperado àqueles espectros obtidos no conjunto controle. Por outro lado as amostras localizadas acima da linha superior e abaixo da linha inferior apresentam alterações significativas em seus espectros.

Como pode ser visto na Figura 40, a mistura binária entre ziprasidona e estearato de magnésio após 6 meses de incubação (amostras 61 a 63) ultrapassam o *threshold* estabelecido, indicando que essa mistura apresentou alterações significativas em seu perfil de bandas. Esse resultado é concordante com o resultado da LC.

As amostras 73 a 75 representam as triplicatas da mistura binária entre ziprasidona e PVP e estão localizadas *threshold*. No entanto, as amostras 16 a 18 (PVP inicial) e 55 a 57 (mistura ziprasidona com PVP inicial) do conjunto controle também extrapolam o *threshold* estabelecido. Ou seja, o modelo construído não foi capaz de abranger as amostras do grupo controle relativas ao PVP, portanto, as alterações espectrais nessas amostras não puderam ser avaliadas por esse modelo.

Como não foi possível construir um modelo adequado que conseguisse abranger todas as amostras do conjunto Xc dentro do *threshold*, uma estratégia utilizada foi a utilização de um modelo individual para as amostras de PVP, a Figura 41 apresenta este resultado.

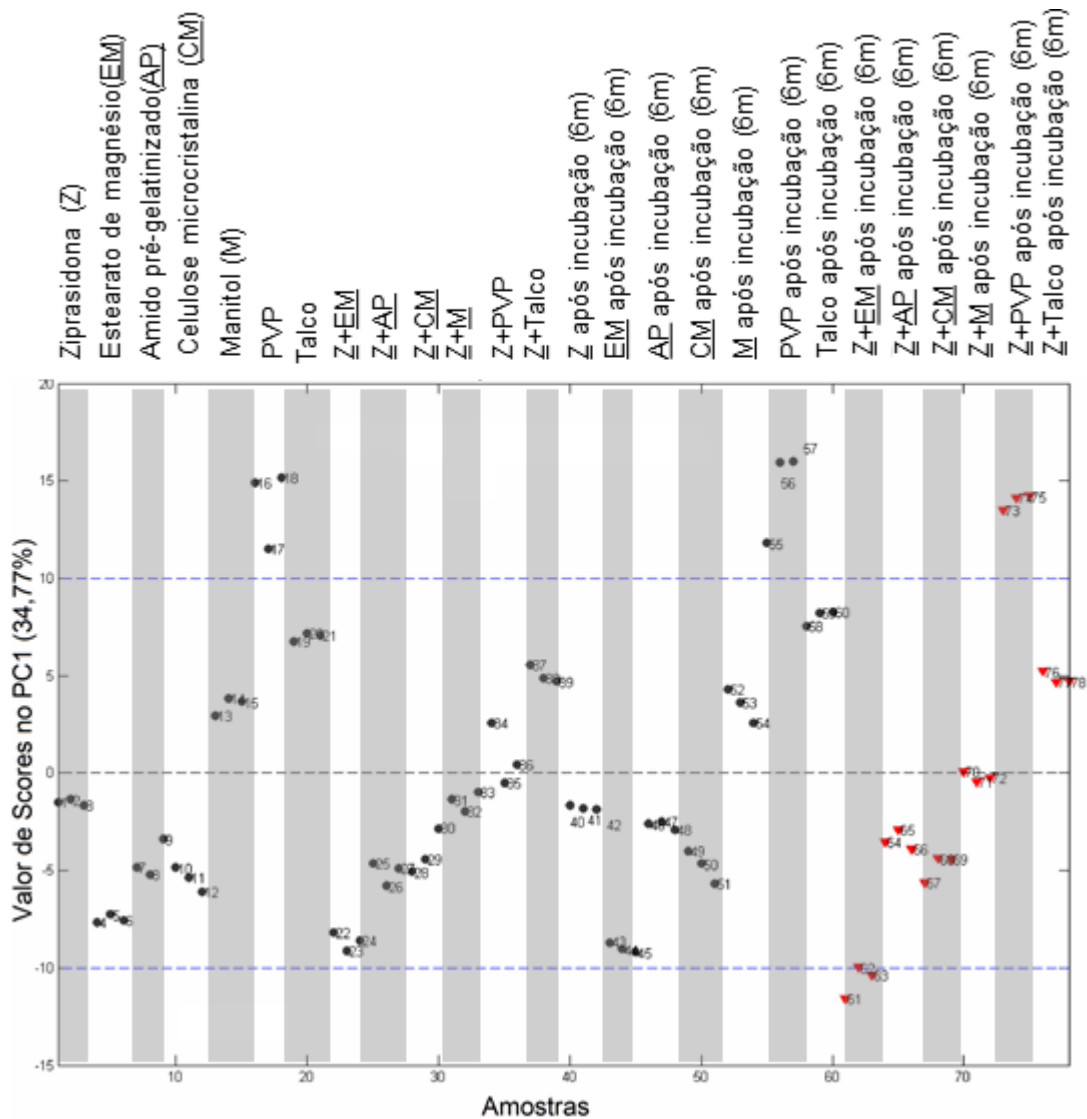


Figura 40 PCA dos dados espectrais das amostras de ziprasidona e misturas binárias (risperidona /excipiente) 1:1 (m/m) após 6 meses de incubação a $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $75\%\pm 5\%$ de umidade relativa. Os pontos pretos representam as triplicatas das amostras do grupo controle e os triângulos vermelhos representam as triplicatas das amostras do grupo avaliação.

Fonte: do autor

As amostras de mistura binária com PVP após 6 meses de incubação ficaram acima da linha horizontal, confirmando, então, que seus espectros apresentaram alterações significativas.

Os resultados de FT-IR associados com a PCA foram concordantes com os resultados da LC, indicando compatibilidade da ziprasidona com os excipientes amido, celulose microcristalina, manitol, e talco; e incompatibilidade com estearato de magnésio e PVP.

Em formulações comerciais de ziprasidona, O PVP não é utilizado e com base no resultado obtido neste trabalho ele deve ser descartado caso haja interesse de se desenvolver uma nova formulação. Por outro lado, o estearato de magnésio

faz parte da formulação de referência de ziprasidona que está no mercado. No entanto, deve-se observar que, no experimento, ele foi utilizado em uma quantidade (50%) muito maior do que usual (0,25 a 5%), (Sweetman, 2009) o que pode ter induzido a ocorrência de reações que não aconteceriam em uma concentração menor.

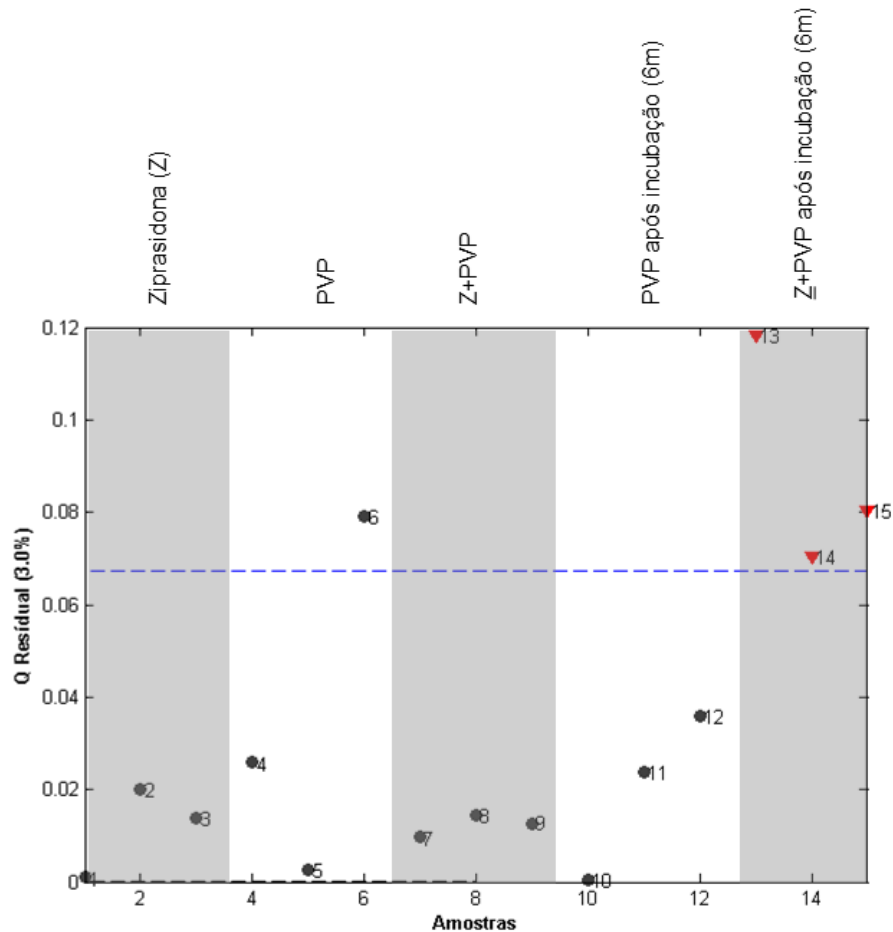


Figura 41 Análise PCA para amostras contendo PVP. Os pontos pretos representam as triplicatas das amostras do grupo controle e os triângulos vermelhos representam as triplicatas das amostras do grupo avaliação.

Fonte: do autor

6 CONCLUSÃO

A risperidona foi devidamente caracterizada e os resultados encontrados para temperatura de fusão, difratometria de raios X e espectroscopia de infravermelho estão de acordo com os dados encontrados na literatura. Trata-se de um composto cristalino correspondente à forma polimórfica C, termicamente estável na faixa de trabalho de 30°C a 200°C, o que permite a realização de estudos de compatibilidade empregando as técnicas termoanalíticas. De acordo com os dados do DSC em combinação com FT-IR e quimiometria, a risperidona apresentou-se quimicamente compatível com os excipientes amido e laurilsulfato de sódio, enquanto incompatibilidade com a lactose anidra, celulose microcristalina e estearato de magnésio. A análise por LC, das amostras de mistura, revelou que trata-se de uma incompatibilidade química, devido à diminuição no teor de risperidona nas amostras, e ainda a formação de produtos de degradação na mistura com estearato de magnésio. Além disso, a análise por TG demonstrou a formação de um produto de degradação volátil, que justifica a diminuição do teor na mistura com lactose anidra. A análise por FT-IR associada à PCA das amostras incubadas foi capaz de detectar a incompatibilidade da risperidona apenas com o estearato de magnésio, após 6 meses de incubação. Dessa forma, Pode-se concluir, que a análise térmica é uma boa alternativa para a obtenção rápida de informações sobre compatibilidade entre fármacos e excipientes.

Os resultados da difratometria de raios X e da espectroscopia no infravermelho para a ziprasidona mostram que trata-se da forma polimórfica F, conforme apresentado na literatura. Apesar de ser cristalino, não foi possível a utilização da técnica de DSC para estudos de compatibilidade, pois o fármaco não apresentou uma temperatura de fusão definida na qual seja termicamente estável. A análise por LC da ziprasidona mostrou que o método empregado é linear dentro da faixa de trabalho. No entanto, o método não foi capaz de detectar os produtos de degradação nas misturas que apresentaram incompatibilidade. As misturas com PVP e estearato de magnésio apresentaram redução de teor de ziprasidona após 3 meses de incubação, e essa redução foi acentuada após 6 meses de incubação. Os resultados de FT-IR associada à PCA revelaram alterações espectrais nas misturas com PVP e estearato de magnésio. Isso revela que houve uma incompatibilidade

química entre a ziprasidona e esses dois excipientes, enquanto ela foi compatível com amido pregelatinizado, celulose microcristalina, manitol e talco.

REFERÊNCIAS

- AHUJA, S. D. M. W. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. Disponível em: <<http://site.ebrary.com/id/10138148>>. Acesso em:
- AL-DIRBASHI, O. Y., ET AL. Rapid liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for quantification of ziprasidone in human plasma. **Biomedical Chromatography**, v. 20, n. 4, p. 365-368, 2006.
- ALLEN, L. V., POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. **Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems**. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
- ARAVAGIRI, M., MARDER, S. R.; POLLOCK, B. Determination of ziprasidone in human plasma by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry and its application to plasma level determination in schizophrenia patients. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 847, n. 2, p. 237-244, 2007.
- AUTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.
- AYALA, A. P., ET AL. Thermal stability of aripiprazole monohydrate investigated by Raman spectroscopy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 54, n. 2, p. 169-173, 2010.
- AYALA, A. P., ET AL. Solid state characterization of olanzapine polymorphs using vibrational spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, n. 1-2, p. 69-79, 2006.
- BALDANIA, S. L., ET AL. RP-HPLC Estimation of Risperidone in Tablet Dosage Forms. **Indian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 70, n. 4, p. 494-497, 2008.
- BERNARDI, L. S., ET AL. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 729-733, 2009.
- BRASIL. Alerta SNVS/Anvisa/Ufarm nº 10, de 29 de abril de 2002. Disponível em: <<http://lisas.anvisa.gov.br/site/mensagem.php?id=321>>. Acesso em: 29 set. 2011.
- BRASIL. Histórico da elaboração da Resolução - RE nº 1, de 29 de julho de 2005: guia para a realização de estudos de estabilidade. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/01_05_re_comentada.pdf>. Acesso em: 03 set. 2011.
- BROWN, M. E. **Introduction to thermal analysis : techniques and applications**. Dordrecht: Kluwer Acad, 2001.
- BRUNTON, L. L. C. B. A. **Goodman & Gilman's The pharmacological basis of therapeutics**. New York: McGraw-Hill Medical, 2011.
- CARPENTER, W. T.; KOENIG, J. I. The evolution of drug development in schizophrenia: Past issues and future opportunities. **Neuropsychopharmacology**, v. 33, n. 9, p. 2061-2079, 2008.
- CENTER FOR DRUG, E., RESEARCH, C. F. B. E.; RESEARCH, I. C. O. H. Guidance for industry Q1A(R2) stability testing of new drug substances and products. Disponível em: <<http://purl.access.gpo.gov/GPO/LPS113798>>. Acesso em: 01 Jul. 2013.

CENTER FOR DRUG, E., RESEARCH, C. F. B. E.; RESEARCH, I. C. O. H. Guidance for industry Q6A: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. Disponível em: <http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q6A/Step4/Q6Astep4.pdf>. Acesso em: 01 Jul. 2013.

CESUR, S.; GOKBEL, S. Crystallization of mefenamic acid and polymorphs. **Crystal Research and Technology**, v. 43, n. 7, p. 720-728, 2008.

CHATTERJEE, A. K. X-Ray Diffraction. In: RAMACHANDRAN, V. S.; JAMES, J. B. (Ed.) **Handbook of Analytical Techniques in Concrete Science and Technology**. Norwich: William Andrew, 2001, p. 275-332.

COLLINS, C. H., BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: UNCAMP, 2006.

CRAIG, D. Q. M. R. M. **Thermal analysis of pharmaceuticals**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2007.

CROWLEY, P.; MARTINI, L. G. Drug-excipient Interaction. **Pharmaceutical Technology Europe**, v. 13, n. 3, p. 26-34, 2001.

DONG, Y. D.; BOYD, B. J. Applications of X-ray scattering in pharmaceutical science. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 417, n. 1-2, p. 101-111, 2011.

EL-SHERIF, Z. A., ET AL. Stability indicating reversed-phase high-performance liquid chromatographic and thin layer densitometric methods for the determination of ziprasidone in bulk powder and in pharmaceutical formulations. **Biomedical Chromatography**, v. 18, n. 3, p. 143-149, 2004.

FORD, J. L.; WILLSON, R. Thermal analysis and calorimetry of pharmaceuticals. In: KEMP, R. B. (Ed.) **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**. Ohio: Elsevier Science B.V., 1999, p. 923-1016.

GALLAGHER, P. K. Thermogravimetry and Thermomagnetometry. In: MICHAEL, E. B. (Ed.) **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**. Ohio: Elsevier, 1998, p. 225-278.

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

GORECKI, T., ET AL. Universal response in liquid chromatography using charged aerosol detection. **Analytical Chemistry**, v. 78, n. 9, p. 3186-3192, 2006.

HAINES, P. J. R. S. O. C. **Principles of thermal analysis and calorimetry**. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2002.

HAWARE, R. V., ET AL. Data fusion of Fourier transform infrared spectra and powder X-ray diffraction patterns for pharmaceutical mixtures. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 5, p. 944-949, 2011.

HEDVATI, L., ET AL. Polymorphic forms of ziprasidone HCl and process for their preparation.

HEGEDS, B. The phenomenon and importance of polymorphism. In: SÁNDOR, G. (Ed.) **Progress in Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. Ohio: Elsevier, 2000, p. 575-579.

HOLZGRABE, U., ET AL. Identification and control of impurities in streptomycin sulfate by high-performance liquid chromatography coupled with mass detection and corona charged-aerosol detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 2, p. 271-279, 2011.

HONG, J. Y., SHAH, J. C.; MCGONAGLE, M. D. Effect of Cyclodextrin Derivation and Amorphous State of Complex on Accelerated Degradation of Ziprasidone. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 7, p. 2703-2716, 2011.

HUANG, M. Z., ET AL. Determination of risperidone in human plasma by HPLC-MS/MS and its application to a pharmacokinetic study in Chinese volunteers. **Journal of Zhejiang University-Science B**, v. 9, n. 2, p. 114-120, 2008.

HUTCHINSON, J. P., ET AL. Universal response model for a corona charged aerosol detector. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, n. 47, p. 7418-7427, 2010.

HUTCHINSON, J. P., ET AL. Comparison of the response of four aerosol detectors used with ultra high pressure liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 12, p. 1646-1655, 2011.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. ICH Official web site. Disponível em: **<Erro! A referência de hiperlink não é válida.>**. Acesso em: 03 set. 2011.

IONASHIRO, M. **Fundamentos da Termogravimetria, Análise Térmica Diferencial e Calorimetria Exploratória Diferencial**. Araraquara: Giz Editorial, 2004.

JANSSEN PHARMACEUTICA; JANSSEN RESEARCH FOUNDATION. **Risperdal : risperidone, clinical monograph**. Titusville, NJ: Janssen Pharmaceutica : Janssen Research Foundation, 1994.

JIBSON, M. D.; TANDON, R. New atypical antipsychotic medications. **Journal of Psychiatric Research**, v. 32, n. 3-4, p. 215-228, 1998.

JULIO, T. A., ET AL. Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC-UV. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, n. 3, p. 2037-2044, 2013.

JUNWAL, M., ET AL. ICH guidance in practice: Degradation behaviour of oseltamivir phosphate under stress conditions. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 62, n. p. 48-60, 2012.

KAPUR, S.; REMINGTON, G. Dopamine D-2 receptors and their role in atypical antipsychotic action: Still necessary and may even be sufficient. **Biological Psychiatry**, v. 50, n. 11, p. 873-883, 2001.

KARABAS, I., ORKOULA, M. G.; KONTOYANNIS, C. G. Analysis and stability of polymorphs in tablets: The case of Risperidone. **Talanta**, v. 71, n. 3, p. 1382-1386, 2007.

KUMAR, V., ET AL. Compatibility of atenolol with excipients: LC-MS/TOF characterization of degradation/interaction products, and mechanisms of their

formation. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 4, p. 880-888, 2009.

L. FORD, J.; WILLSON, R. Thermal analysis and calorimetry of pharmaceuticals. In: KEMP, R. B. (Ed.) **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**. Ohio: Elsevier Science B.V., 1999, p. 923-1016.

LANÇAS, M. F. **Cromatografia Líquida Moderna**. Campinas: Átomo, 2009.

LAVOR, E. P., ET AL. Application of thermal analysis to the study of anti-tuberculosis drug compatibility. Part 1. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 207-212, 2012.

LECOEUR, M., ET AL. Structural elucidation of degradation products of a benzopyridooxathiazepine under stress conditions using electrospray orbitrap mass spectrometry - Study of degradation kinetic. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 5, p. 559-569, 2012.

LEI, Y. Q., ET AL. Determination of Ziprasidone by UPLC-MS-MS and Its Application to a Pharmacokinetic Study of Chinese Schizophrenics. **Chromatographia**, v. 72, n. 9-10, p. 975-979, 2010.

LI, H. T., KIANG, Y. H.; JONA, J. Multiple approaches to pharmaceutical polymorphism investigation-A case study. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 38, n. 5, p. 426-432, 2009.

LILTORP, K., ET AL. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 3, p. 424-428, 2011.

MA, Z. B.; MOULTON, B. A Novel Polymorph of 5-Chloro-8-Hydroxyquinoline with Improved Water Solubility and Faster Dissolution Rate. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 39, n. 12, p. 913-918, 2009.

MACEDO, R. O., DO NASCIMENTO, T. G.; VERAS, J. W. E. Compatibility and stability studies of propranolol hydrochloride binary mixtures and tablets for TG and DSC-photovisual. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 67, n. 2, p. 483-489, 2002.

MARGHADE, S., MUSMADE, P. B.; MOORKOTH, S. High-Performance Liquid Chromatographic Assay for Ziprasidone in Plasma Samples: Application to Pharmacokinetic Studies in Rats. **Journal of Chromatographic Science**, v. 50, n. 10, p. 902-908, 2012.

MEHTA, S., SHAH, R. P.; SINGH, S. Strategy for identification and characterization of small quantities of drug degradation products using LC and LC-MS: Application to valsartan, a model drug. **Drug Testing and Analysis**, v. 2, n. 1-2, p. 82-90, 2010.

MENDELOVICI, M., ET AL. New crystalline ziprasidone hydrogen chloride used for treating schizophrenia and as antipsychotic agent. TEVA PHARM IND LTD (TEVA) TEVA PHARM USA INC (TEVA) KOLTAL T (KOLT-Individual) HEDVATI L (HEDV-Individual) MENDELOVICI M (MEND-Individual) NIDAM T (NIDA-Individual) BALANOV A (BALA-Individual) ARONHIME J (ARON-Individual) GOME B (GOME-Individual) SHENKAR N (SHEN-Individual) AMIR E (AMIR-Individual) ENTIRE INTEREST (ENTI-Non-standard) TEVA PHARM INC (TEVA), p. 1530570-A1530572:.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise Térmica de Materiais**. São Paulo: Artliber, 2009.

MURAKAMI, F. S., ET AL. Physico-chemical solid-state characterization of omeprazole sodium: Thermal, spectroscopic and crystallinity studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 1, p. 72-80, 2009.

MURALIDHARA, R. D., ET AL. A novel crystalline form of risperidone. Hetero Drugs, Parthasaradhi Reddy Bandi, Rathnakar Reddy Kura, Raji Reddy Rapolu, Muralidhara Reddy Dasari, Subash Chander Reddy Kesireddy.

NALWADE, S. U., ET AL. A validated stability indicating ultra performance liquid chromatographic method for determination of impurities in Esomeprazole magnesium gastro resistant tablets. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 57, n. p. 109-114, 2012.

NIKOLIC, K., ET AL. The Chemometric Study and Quantitative Structure Retention Relationship Modeling of Liquid Chromatography Separation of Ziprasidone Components. **Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening**, v. 15, n. 9, p. 730-744, 2012.

PALUCH, K. J., ET AL. Solid-State Characterization of Novel Active Pharmaceutical Ingredients: Cocrystal of a Salbutamol Hemiadipate Salt with Adipic Acid (2:1:1) and Salbutamol Hemisuccinate Salt. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 100, n. 8, p. 3268-3283, 2011.

PANI, N. R., ET AL. Application of DSC, IST, and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 108, n. 1, p. 219-226, 2012.

PFIZER CANADA. ZELDOX: ziprasidone hydrochloride, product monograph. Pfizer Canada Inc, 2010.

RAHMAN, Z., ZIDAN, A. S.; KHAN, M. A. Risperidone solid dispersion for orally disintegrating tablet: Its formulation design and non-destructive methods of evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 400, n. 1-2, p. 49-58, 2010.

RAJ, S., ET AL. DEVELOPMENT OF A STABILITY-INDICATING UPLC METHOD FOR DETERMINING ZIPRASIDONE HYDROCHLORIDE AND ITS ASSOCIATED DEGRADATION PRODUCTS PRESENT IN ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS AND PHARMACEUTICAL DOSAGE FORMS. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 36, n. 7, p. 968-982, 2013.

RAW, A. S., ET AL. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications (ANDAs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 397-414, 2004.

REZENDE, R. L. O., SANTORO, M.; MATOS, J. R. Stability and compatibility study on enalapril maleate using thermoanalytical techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 3, p. 881-886, 2008.

RYU, J. Y.; SOHN, Y. T. Solid state of a new PDE-5 inhibitor DA-8159: Characterization, dissolution, transformation. **Archives of Pharmacal Research**, v. 35, n. 5, p. 861-866, 2012.

SALA, O. **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. São Paulo: Unesp, 2008.

SINGH, A., ET AL. A rapid stability-indicating LC method for ziprasidone hydrochloride. **Chromatographia**, v. 65, n. 3-4, p. 191-196, 2007.

SIVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. Rio de Janeiro: LTC, 2006.

SKIBINSKI, R. PHOTOSTABILITY STUDY AND IDENTIFICATION OF PHOTODEGRADATION PRODUCTS OF ZIPRASIDONE BY UHPLC-DAD/ESI-Q-TOF. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v. 35, n. 15, p. 2097-2112, 2012.

SOARES, M. F. D., ET AL. Thermal characterization of antimicrobial drug ornidazole and its compatibility in a solid pharmaceutical product. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, n. 1, p. 307-313, 2011.

SPENCER, E. P., ET AL. A simple and rapid method for the measurement of ziprasidone in human plasma/serum by HPLC-UV. **Therapeutic Drug Monitoring**, v. 27, n. 2, p. 226-226, 2005.

STIMMEL, G. L., GUTIERREZ, M. A.; LEE, V. Ziprasidone: An atypical antipsychotic drug for the treatment of schizophrenia. **Clinical Therapeutics**, v. 24, n. 1, p. 21-37, 2002.

SWEETMAN, S. C. **Martindale : the complete drug reference**. London; Chicago: Pharmaceutical Press, 2009.

THOMAS, S., ET AL. Quantification of potential impurities by a stability indicating UV-HPLC method in niacinamide active pharmaceutical ingredient. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 60, n. p. 86-90, 2012.

TITA, B., ET AL. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 56, n. 2, p. 221-227, 2011.

TITA, D., ET AL. Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 112, n. 1, p. 407-419, 2013.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **United States Pharmacopeia 32 - National Formulary 27**. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2008.

UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION. **United States Pharmacopeia 34 - National Formulary 29**. Rockville, Md.: United States Pharmacopeial Convention, 2010.

VERMA, R. K.; GARG, S. Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug-excipient compatibility testing. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 38, n. 4, p. 633-644, 2005.

VERONEZ, I., ET AL. Characterization and compatibility study of desloratadine. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, n. p. 1-8, 2013.

WATERS. Ultra Performance LC Separation Science Redefined. Disponível em: <<http://www.waters.com/webassets/cms/library/docs/720001136en.pdf>>. Acesso em: 01 Jul. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION; WHO COLLABORATING CENTRE FOR INTERNATIONAL DRUG MONITORING. **The importance of pharmacovigilance**. Geneva: World Health Organization, 2002.

YOSHIDA, M. I., ET AL. Thermal Analysis Applied to Verapamil Hydrochloride Characterization in Pharmaceutical Formulations. **Molecules**, v. 15, n. 4, p. 2439-2452, 2010.

YOSHIDA, M. I., ET AL. Thermal characterization of lovastatin in pharmaceutical formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 106, n. 3, p. 657-664, 2011.

ZAKOWIECKI, D.; CAL, K. DEVELOPMENT OF RAPID AND ROBUST STABILITY-INDICATING METHOD FOR ANALYSIS OF ZIPRASIDONE (HYDROCHLORIDE AND FREEBASE) AS DRUG SUBSTANCE AND IN MEDICINES BY UPLC. **Acta Poloniae Pharmaceutica**, v. 69, n. 5, p. 809-819, 2012.

ZHANG, G., TERRY, A. V.; BARTLETT, M. G. Sensitive liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for the simultaneous determination of olanzapine, risperidone, 9-hydroxyrisperidone, clozapine, haloperidol and ziprasidone in rat brain tissue. **Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 858, n. 1-2, p. 276-281, 2007.

ZIELINSKA-PISKLAK, M., PISKLAK, D. M.; WAWER, I. Application of C-13 CPMAS NMR for Qualitative and Quantitative Characterization of Carvedilol and its Commercial Formulations. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 5, p. 1763-1772, 2012.