

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Aplicação de métodos termo-analíticos e espectroscópicos na avaliação do comportamento do fármaco isoniazida frente a adjuvantes

Dissertação de Mestrado

Cristián Jesús Velásquez Armijo

Porto Alegre, 2003

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Aplicação de métodos termo-analíticos e espectroscópicos na avaliação do comportamento do fármaco isoniazida frente a adjuvantes tecnológicos

Dissertação apresentada por **Cristián Jesús Velásquez Armijo** para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Prof. Tit. Dr. Pedro Ros Petrovick

Co-Orientador: Prof. Dr. César Liberato Petzhold

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 03 de setembro de 2003, perante a Comissão Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares
Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof^ª. Dr^ª. Valquíria Linck Bassani
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CATÁLOGO NA PUBLICAÇÃO

V434a Velásquez Armijo, Cristián Jesús

Aplicação de métodos termo-analíticos e espectroscópicos na avaliação do comportamento do fármaco isoniazida frente a adjuvantes tecnológicos / Cristián Jesús Velásquez Armijo – Porto Alegre: UFRGS, 2003. – 225 p.: 41 tab.: 77 fig.: 30 anexos.

Dissertação (mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Tecnologia Farmacêutica. 2. Isoniazida. 3. Análises Térmicas. 4. Adjuvantes Farmacêuticos. I. Petrovick, Pedro Ros. II. Petzhold, César Liberato. III. Título.

CDU: 615.453.4

Bibliotecárias Responsáveis:

Heloísa do Canto Canabarro – CRB 10/1036

Cláudia da Silva Gonçalves – CRB 10/1012

Trabalho reprografado com o auxílio da PROENS/PROPG/UFRGS
Impressão realizada pela Gráfica da UFRGS

Esta Dissertação foi realizada no Laboratório de Desenvolvimento Galênico, empregando também equipamentos da Central Analítica e do Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia, do Laboratório de Medidas Térmicas e do Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, do Instituto de Química, do Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) e do Laboratório de Polímeros (LAPOL) do Curso de Engenharia de Materiais e do Laboratório de Difração de Raios-X do Instituto de Geociências, da UFRGS, com recursos financeiros advindos do Laboratório de Desenvolvimento Galênico (Projeto FAURGS/FAR/Laboratório Galênico, nº 1357-9) e da FAPERGS (Projeto “Desenvolvimento Científico e Tecnológico em Formas Farmacêuticas Sólidas”, nº 98/1664.2).

AD ASTRA PER ASPERA

(Provérbio Romano)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, o Professor Pedro Ros Petrovick, pela acolhida, estímulo, compreensão e grande exemplo profissional. Ao meu co-orientador, Professor César Liberato Petzhold, pela prestatividade e pelas constantes contribuições durante a realização deste trabalho.

Aos professores George Ortega e Paulo Mayorga pelos grandes momentos de convívio e exemplo profissional.

À professora Vera Eifler Lima, por permitir a minha iniciação científica.

Às professoras Ana Bergold e Grace Gosmann, pela amizade demonstrada e pelas grandes palavras de incentivo nas horas de incerteza.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento Galênico, os que fizeram parte e os que fazem: Alice, Ana Guedes, Angélica, Bárbara, Cabral, Daniel, Eduardo, Elias, Gustavo, Iguatinã, Lali, Letícia, Lula, Maria Aparecida, Maribete, Marília, Marli, Monalisa, Paula, Rafael Cornélio, Rafael Ortiz, Tati, pelos grandes momentos de convívio, pelo café, amizade e companheirismo.

A todos os colegas do curso de Pós-Graduação, pelo convívio gratificante e pelo crescimento intelectual coletivo.

À minha família: aos que estão perto, aos que estão muito longe e aqueles que estão chegando.

À tia Graça, ao Rodrigo e ao Luciano, pelo apoio e pela ajuda incondicionais durante alguns dos momentos mais difíceis da minha vida.

À Carla, Clarissa, Cláudia, Cris Kratz, Fernanda, Hugo, Marcos, Maria, pela grande amizade demonstrada e, em especial, pelas grandes palavras de estímulo na reta final da elaboração deste trabalho.

À Aninha, pelo seu carinho, compreensão, apoio, estímulo e cumplicidade a toda hora demonstrados.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas	xv
Lista de Figuras	xix
Lista de Anexos	xxv
Resumo.....	xxix
Abstract	xxxí
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS	7
2.1 Objetivo geral	9
2.2 Objetivos específicos	9
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	11
3.1 Aspectos Epidemiológicos da Tuberculose.....	13
3.2 Isoniazida.....	16
3.2.1 Considerações Farmacêuticas	12
3.2.2 Considerações Químicas e Farmacológicas	13
3.3 Métodos Termo-analíticos e suas Aplicações nas Ciências Farmacêuticas	15
3.3.1 Métodos termo-analíticos	15
3.3.1.1 Calorimetria Exploratória Diferencial.....	18
3.3.1.1.1 Variações da Calorimetria Exploratória Diferencial.....	21
3.3.1.2 Termogravimetria (TGA)	23
3.3.2 Aplicações nas Ciências Farmacêuticas.....	24
3.3.2.1 Estudos de Pré-formulação	24
3.3.2.1.1 Estudos de compatibilidade fármaco / adjuvantes	25
3.3.2.1.2 Caracterização físico-química e térmica de fármacos.....	31

3.3.2.2 Estudo de sólidos cristalinos.....	32
3.3.2.3 Aplicações na Indústria Farmacêutica	33
3.3.2.4 Outras aplicações	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS	35
4.1 Materiais	36
4.1.1 Equipamentos e utensílios	36
4.1.2 Matérias-primas	38
4.1.2.1 Matéria-prima ativa	38
4.1.2.2 Adjuvantes Tecnológicos	38
4.1.3 Reagentes, soluções e substância-referência	38
4.2 Métodos	40
4.2.1 Caracterização físico-química das matérias-primas	40
4.2.1.1 Matéria-prima ativa	40
4.2.1.1.1 Identificação da isoniazida	40
4.2.1.1.1.1 Reação de coloração	40
4.2.1.1.1.2 Determinação da faixa de fusão	40
4.2.1.1.2 Ensaios de pureza	41
4.2.1.1.2.1 Determinação da pureza da isoniazida por espectrofotometria na região do ultravioleta	41
4.2.1.1.2.2 Determinação do pH.....	41
4.2.1.1.2.3 Perda por dessecação	41
4.2.1.1.2.4 Determinação de hidrazina livre	41
4.2.1.2 Adjuvantes tecnológicos.....	42
4.2.1.2.1 Ácido esteárico.....	42

4.2.1.2.1.2 Índice de acidez.....	42
4.2.1.2.1.3 Índice de saponificação	42
4.2.1.2.2 Amido de milho.....	43
4.2.1.2.2.1 Testes de identificação.....	43
4.2.1.2.2.2 Determinação do pH.....	44
4.2.1.2.2.2 Determinação da perda por dessecação	44
4.2.1.2.3 Hipromelose	45
4.2.1.2.3.1 Identificação.....	45
4.2.1.2.3.2 Determinação da perda por dessecação.....	45
4.2.1.2.3.3 Determinação da viscosidade.....	45
4.2.1.2.4 Talco	46
4.2.1.2.4.1 Reação e substâncias solúveis.....	46
4.2.1.2.4.2 Ferro solúvel	46
4.2.1.2.4.3 Determinação da perda por dessecação.....	46
4.2.1.2.4.4 Determinação do pH.....	46
4.2.1.2.5 Adjuvantes tecnológicos previamente caracterizados.....	46
4.3 Avaliação do comportamento térmico das matérias-primas envolvidas	48
4.3.1 Calorimetria exploratória diferencial	48
4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier	49
4.3.3 Termogravimetria.....	50
4.3.4 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas	50
4.3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear	51
4.3.5.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio	51
4.3.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13.....	52

4.3.6 Difractometria de Raios X	52
4.4 Avaliação da compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas físicas binárias	52
4.4.1 Preparação das misturas físicas binárias	54
4.4.2 Análise por calorimetria exploratória diferencial	55
4.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	55
4.4.4 Termogravimetria.....	55
4.4.5 Difractometria de Raios-X	55
4.5. Estudo da influência da agregação por via úmida na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas com proporções de formulação.....	56
4.5.1 Preparação das misturas	57
4.5.2 Agregação por via úmida	57
4.5.3 Calorimetria exploratória diferencial	57
4.5.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier	57
4.5.5 Termogravimetria.....	58
4.6 Avaliação da influência do processo de compactação na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas com proporções de massa equivalentes	58
4.6.1 Obtenção dos compactos	58
4.6.2 Análise por Calorimetria Exploratória Diferencial.....	60
4.6.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier	60
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	61
5.1 Caracterização das Matérias-primas	62
5.1.1 Isoniazida.....	62
5.1.2 Adjuvantes	63

5.1.2.1 Adjuvantes caracterizados	63
5.1.2.2 Adjuvantes previamente caracterizados	65
5.2 Avaliação do Comportamento Térmico das Matérias-primas	69
5.2.1 Isoniazida.....	69
5.2.2 Adjuvantes	78
5.2.2.1 Ácido esteárico.....	78
5.2.2.2 Amido	83
5.2.2.3 Celulose microcristalina	86
5.2.2.4 Croscarmelose sódica.....	89
5.2.2.5 Crospovidona	92
5.2.2.6 Dióxido de silício coloidal.....	94
5.2.2.7 Estearato de magnésio.....	96
5.2.2.8 Glicolato de amido sódico	100
5.2.2.9 Hipromelose.....	103
5.2.2.10 Lactose.....	105
5.2.2.11 Manitol.....	110
5.2.2.12 Polivinilpirrolidona	112
5.2.2.13 Talco	115
5.3 Avaliação da Compatibilidade entre a Isoniazida e Adjuvantes em Misturas	
Físicas Binárias.....	118
5.3.1 Considerações preliminares.....	118
5.3.2 Isoniazida e ácido esteárico	119
5.3.3 Isoniazida e amido	124
5.3.4 Isoniazida e celulose microcristalina	127

5.3.5 Isoniazida e croscarmelose sódica	130
5.3.6 Isoniazida e crospovidona	133
5.3.7 Isoniazida e dióxido de silício coloidal.....	137
5.3.8 Isoniazida e estearato de magnésio	140
5.3.9 Isoniazida e glicolato de amido sódico	144
5.3.10 Isoniazida e hipromelose	149
5.3.11 Isoniazida e lactose	153
5.3.12 Isoniazida e manitol	158
5.3.13 Isoniazida e povidona.....	168
5.3.14 Isoniazida e talco.....	173
5.4 Estudo da Influência da Agregação por Via Úmida na Compatibilidade entre a Isoniazida e Adjuvantes em Misturas com Proporções de Formulação.....	177
5.5 Avaliação da Influência do Processo de Compactação ns Compatibilidade entre a Isoniazida e Adjuvantes em Misturas com Proporções de Massa Equivalente.....	187
6. CONCLUSÕES	191
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	195
8 ANEXOS.....	213
9 BIOGRAFIA	233

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Alguns dos principais métodos termo-analíticos e suas aplicações.....	17
Tabela 2: Propriedades observadas pela DSC.....	18
Tabela 3: Outras importantes aplicações dos métodos termo-analíticos nas Ciências Farmacêuticas.....	34
Tabela 4: Concentrações das soluções/dispersões dos adjuvantes, para a leitura do pH, de acordo com descrito nas monografias oficiais	47
Tabela 5: Proporções empregadas entre a isoniazida e adjuvantes na preparação das misturas físicas binárias	53
Tabela 6: Faixa de aquecimento empregada para cada tipo de mistura física, para a realização da DSC	54
Tabela 7: Misturas binárias submetidas à agregação por via úmida	56
Tabela 8: Características físico-químicas da isoniazida	62
Tabela 9: Ensaio de identificação do ácido esteárico	63
Tabela 10: Características físico-químicas do amido	64
Tabela 11: Características físico-químicas da hipromelose.....	64
Tabela 12: Características físico-químicas do talco	65
Tabela 13: Resultados obtidos da determinação do pH e da perda por dessecação para as matérias-primas previamente caracterizadas.....	66
Tabela 14: Parâmetros térmicos da isoniazida resultantes dos termogramas obtidos do primeiro experimento.....	71
Tabela 15: Parâmetros térmicos do ácido esteárico em dois experimentos de DSC ...	80
Tabela 16: Parâmetros térmicos das análises por DSC para o amido	84
Tabela 17: Parâmetros térmicos da celulose microcristalina.....	88
Tabela 18: Parâmetros térmicos obtidos pela DSC para a croscarmelose sódica.....	89

Tabela 19: Parâmetros térmicos da crospovidona.....	92
Tabela 20: Parâmetros térmicos resultantes do primeiro experimento de DSC para o estearato de magnésio	97
Tabela 21: Parâmetros térmicos do glicolato de amido sódico.....	101
Tabela 22: Parâmetros térmicos da hipromelose.....	104
Tabela 23: Parâmetros térmicos da lactose	107
Tabela 24: Parâmetros térmicos do manitol.....	111
Tabela 25: Parâmetros térmicos da povidona	114
Tabela 26: Parâmetros térmicos obtidos para as substâncias isoladas e as misturas, em proporções ponderais de isoniazida e ácido esteárico	119
Tabela 27: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e amido, isolados e suas misturas em proporções ponderais	124
Tabela 28: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e celulose microcristalina, isolados e suas misturas em proporções ponderais	129
Tabela 29: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e croscarmelose sódica, isolados e suas misturas em proporções ponderais	132
Tabela 30: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e crospovidona, isolados e suas misturas em proporções ponderais	135
Tabela 31: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e dióxido de silício coloidal e suas misturas em proporções ponderais relativas ao fármaco	139
Tabela 32: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e estearato de magnésio e suas misturas em proporções ponderais	142
Tabela 33: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e glicolato de amido sódico, isolados e suas misturas em proporções ponderais	146
Tabela 34: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e hipromelose, isolados e para suas misturas em proporções ponderais	151

Tabela 35: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e lactose, isolados e para suas misturas em proporções ponderais	155
Tabela 36: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e manitol, isolados e para suas misturas em proporções ponderais	159
Tabela 37: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e povidona, isolados e para suas misturas em proporções ponderais	168
Tabela 38: Parâmetros térmicos obtidos para a isoniazida e talco, isolados e para suas misturas em proporções ponderais	175
Tabela 39: Comparação entre os parâmetros térmicos obtidos para as misturas simples e para as misturas submetidas à granulação	179
Tabela 40: Força média aplicada para cada mistura isoniazida/adjuvante na proporção ponderal de 1:1	182
Tabela 41: Comparação entre os parâmetros térmicos obtidos para as misturas simples e para as misturas submetidas à compressão	183

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fórmula estrutural da isoniazida	14
Figura 2: Representação esquemática do funcionamento da DTA	19
Figura 3: Representação esquemática dos tipos de DSC.....	20
Figura 4: Representação do programa de aquecimento da MDSC	22
Figura 5: Termogramas de DSC da isoniazida resultantes do primeiro experimento..	70
Figura 6: Termogramas de DSC da isoniazida resultantes do segundo experimento ..	72
Figura 7: Cromatograma gasoso da amostra submetida à análise por DSC.....	73
Figura 8: Espectros de massas.....	73
Figura 9: Esquema representativo do padrão de fragmentação da isoniazida	74
Figura 10: Curva termogravimétrica da isoniazida	74
Figura 11: Espectro na região do infravermelho da isoniazida.....	78
Figura 12 : Termogramas do ácido esteárico da primeira análise por DSC	79
Figura 13: Curva termogravimétrica do ácido esteárico.....	81
Figura 14: Espectro na região do infravermelho do ácido esteárico	82
Figura 15: Termogramas do amido	83
Figura 16: Espectro na região do infravermelho do amido	86
Figura 17: Termogramas da celulose microcristalina	87
Figura 18: Espectro na região do infravermelho da celulose microcristalina	89
Figura 19: Termogramas da croscarmelose sódica	90
Figura 20: Espectro na região do infravermelho da croscarmelose sódica	91
Figura 21: Termogramas da crospovidona.....	93
Figura 22 : Espectro na região do infravermelho da crospovidona.....	94

Figura 23: Termogramas do dióxido de silício coloidal.....	95
Figura 24: Termogramas do estearato de magnésio no primeiro experimento de DSC.....	96
Figura 25: Curva termogravimétrica do estearato de magnésio	99
Figura 26: Espectro na região do infravermelho do estearato de magnésio	100
Figura 27: Termogramas do glicolato de amido	101
Figura 28: Espectro na região do infravermelho do glicolato de amido sódico	102
Figura 29: Termogramas da hipromelose	103
Figura 30: Espectro na região do infravermelho da HPMC	105
Figura 31: Termogramas resultantes do segundo experimento de DSC para a lactose.....	106
Figura 32: Curva termogravimétrica da lactose	108
Figura 33: Espectro na região do infravermelho da lactose.....	109
Figura 34: Termogramas do manitol	110
Figura 35: Espectro na região do infravermelho do manitol	112
Figura 36: Termogramas da povidona.....	113
Figura 37: Espectro na região do infravermelho da povidona.....	115
Figura 38: Termogramas do talco.....	116
Figura 39: Espectro na região do infravermelho do talco.....	119
Figura 40: Comparação dos termogramas obtidos para as substâncias isoladas e para as misturas físicas binárias isoniazida e ácido esteárico.....	120
Figura 41: Comparação dos espectros de infravermelho das misturas isoniazida/ácido esteárico	122
Figura 42: Curva termogravimétrica da mistura 1:1	123

Figura 43: Comparação dos termogramas obtidos para as substâncias isoladas isoniazida e amido com as misturas físicas binárias em proporções ponderais	125
Figura 44: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para as misturas isoniazida/amido	127
Figura 45: Comparação dos termogramas obtidos para as substâncias isoladas com as misturas físicas binárias entre a isoniazida e a celulose microcristalina.	128
Figura 46: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para as misturas isoniazida/celulose microcristalina.....	130
Figura 47: Comparação dos termogramas obtidos para a isoniazida e croscarmelose sódica como substâncias isoladas com as misturas físicas binárias nas proporções ponderais	131
Figura 48: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para a isoniazida e croscarmelose sódica com suas misturas físicas binárias nas proporções ponderais	133
Figura 49: Comparação dos termogramas obtidos para isoniazida e crospovidona como substâncias isoladas com as misturas físicas binárias nas proporções ponderais	134
Figura 50: Comparação dos espectros na região do infravermelho para a isoniazida e crospovidona com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas à substância ativa.....	136
Figura 51: Curva termogravimétrica da mistura isoniazida crospovidona na proporção ponderal de 1:1.....	137
Figura 52: Comparação dos termogramas obtidos para a isoniazida e dióxido de silício coloidal com as misturas físicas binárias nas proporções ponderais	138

Figura 53: Comparação dos espectros na região do infravermelho para a isoniazida e para as misturas físicas binárias do fármaco com o dióxido de silício coloidal, em proporções ponderais, relativas à isoniazida.....	140
Figura 54: Comparação dos termogramas obtidos para a isoniazida e estearato de magnésio com suas misturas físicas binárias nas proporções ponderais.....	141
Figura 55: Comparação dos espectros na região do infravermelho para a isoniazida e estearato de magnésio com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais, relativas à substância ativa	143
Figura 56: Curva termogravimétrica da mistura isoniazida/estearato de magnésio 1:1	144
Figura 57: Comparação dos termogramas obtidos para a isoniazida e glicolato de amido sódico com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais	145
Figura 58: Comparação dos espectros na região do infravermelho para a isoniazida e glicolato de amido sódico com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas à substância ativa.....	147
Figura 59: Curva termogravimétrica da mistura física 1:1	148
Figura 60: Comparação dos termogramas obtidos para isoniazida e hipromelose com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas ao fármaco	150
Figura 61: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para as misturas isoniazida/hipromelose	152
Figura 62: Curva termogravimétrica da mistura isoniazida/hipromelose 1:1	153
Figura 63: Comparação dos termogramas obtidos para isoniazida e lactose com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas ao fármaco.....	154

Figura 64: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para a isoniazida e lactose com suas misturas em proporções ponderais em relação ao fármaco.....	157
Figura 65: Curva termogravimétrica da mistura 1:1	158
Figura 66: Comparação dos termogramas obtidos para isoniazida e manitol com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais em relação à substância ativa.....	160
Figura 67: Diagrama montado a partir dos dados de DSC das misturas físicas entre a isoniazida e o manitol, em diversas proporções de massa	161
Figura 68: Relação entre a entalpia de fusão do eutético e a composição das misturas	162
Figura 69: Comparação entre os espectros de FT-IR para a isoniazida, o manitol e a mistura 1:1	163
Figura 70: Difratomogramas da isoniazida e do manitol	166
Figura 71: Difratomogramas comparativos da isoniazida, do manitol e de suas misturas física e fundida em partes ponderais 1:1.....	167
Figura 72: Comparação dos termogramas obtidos para isoniazida e povidona com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas à substância ativa.....	169
Figura 73: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para a isoniazida e povidona com suas misturas em relações ponderais referentes ao fármaco.....	170
Figura 74: Curva termogravimétrica da mistura 1:1 entre a isoniazida e a povidona.....	172
Figura 75: Comparação dos termogramas obtidos para a isoniazida e talco com suas misturas físicas binárias em proporções ponderais relativas à substância ativa.....	174

Figura 76: Comparação dos espectros de infravermelho obtidos para a isoniazida e o talco com suas misturas físicas em proporções ponderais 176

Figura 77: Máquina universal de ensaios utilizada para a obtenção dos compactos ... 181

LISTA DE ANEXOS

Figura A1: Espectro de RMN de ^1H (200 MHz) da amostra submetida ao primeiro experimento de DSC para a isoniazida	205
Figura A2: Espectro de RMN de ^{13}C (200 MHz) da amostra submetida ao primeiro experimento de DSC para a isoniazida	206
Tabela A3: Dados de RMN de ^{13}C (δc) e ^1H (δh) da isoniazida em mistura com seu subproduto de decomposição isonicotinamida	207
Figura A4: Espectro na região do infravermelho obtido da análise da amostra de isoniazida/lactose (1:1), submetida à DSC	208
Figura A5: Termograma resultante do primeiro aquecimento da mistura física isoniazida/manitol 1:1, utilizando velocidade de aquecimento de 5 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$	209
Figura A6: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/amido submetida à granulação	210
Figura A7: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/celulose microcristalina submetida à granulação	210
Figura A8: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/hipromelose submetida à granulação	211
Figura A9: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/lactose submetida à granulação	211
Figura A10: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/manitol submetida à granulação	212
Figura A11: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/povidona submetida à granulação	212
Figura A12: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida /amido submetida à granulação	213

Figura A13: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ celulose microcristalina submetida à granulação	213
Figura A14: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ hipromelose submetida à granulação.....	214
Figura A15: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ lactose submetida à granulação	214
Figura A16: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ manitol submetida à granulação.....	215
Figura A17: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ povidona submetida à granulação.....	215
Figura A18: Curva termogravimétrica obtida para a mistura isoniazida/ lactose submetida à granulação	216
Figura A19: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/amido, após a formação dos compactos.....	216
Figura A20: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/celulose microcristalina, após a obtenção dos compactos	217
Figura A21: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/ hipromelose, após a obtenção dos compactos	217
Figura A22: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/lactose, após a obtenção dos compactos.....	218
Figura A23: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/manitol, após a obtenção dos compactos.....	218
Figura A24: Primeiro ciclo de aquecimento para a mistura isoniazida/talco, após a obtenção dos compactos.....	219
Figura A25: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ amido, após a obtenção dos compactos	219
Figura A26: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ celulose microcristalina, após a obtenção dos compactos	220

Figura A27: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ hipromelose, após a obtenção dos compactos.....	220
Figura A28: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ lactose, após a obtenção dos compactos	221
Figura A29: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ manitol, após a obtenção dos compactos	221
Figura A30: Espectro na região do infravermelho obtido para a mistura isoniazida/ talco, após a obtenção dos compactos.....	222

Resumo

Os métodos termo-analíticos são ferramentas úteis na avaliação da compatibilidade entre fármacos e adjuvantes, com destaque à calorimetria exploratória diferencial. Neste trabalho foram avaliados a compatibilidade e o comportamento térmico entre a isoniazida e adjuvantes tecnológicos primários usualmente empregados em formas farmacêuticas sólidas. A compatibilidade foi examinada por meio da preparação de misturas físicas binárias do tipo fármaco/adjuvante. Foi investigada também a influência da granulação por via úmida e do processo de compactação para as misturas de isoniazida e adjuvantes com função de material de enchimento e carga e deslizante. A isoniazida apresentou um comportamento térmico não encontrado na literatura. Os adjuvantes avaliados foram: ácido esteárico, amido, celulose microcristalina, crospovidona, croscarmelose sódica, dióxido de silício coloidal estearato de magnésio, glicolato de amido sódico, hipromelose, lactose, manitol, polidona e talco. Para as misturas físicas, a maioria dos adjuvantes mostrou-se compatível com o fármaco em questão. Foram verificadas interações com o ácido esteárico, o glicolato de amido sódico, a lactose, o manitol e a povidona. A isoniazida mostrou a formação de uma mistura eutética com o manitol e de interação química com a lactose. A agregação por via úmida e o processo de compactação não mostraram influências adicionais na compatibilidade das misturas avaliadas. Os resultados observados foram confirmados por métodos não-térmicos como difratometria de raios X, espectroscopia de infravermelho e ressonância nuclear magnética.

Palavras-chave: calorimetria exploratória diferencial, métodos termo-analíticos, estudo de compatibilidade fármaco/adjuvante, comportamento térmico, isoniazida, adjuvantes tecnológicos primários, formas farmacêuticas sólidas, agregação por via úmida, processo de compactação

Abstract

APPLICATION OF THERMO-ANALYTICAL AND SPECTROSCOPICAL METHODS ON THE EVALUATION OF THE BEHAVIOR OF ISONIAZID AND PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS.

Thermo-analytical methods, and specially Differential Scanning Calorimetry, are useful support for the evaluation of compatibility between drug substances and pharmaceutical excipients. In this work were studied the compatibility and the thermal behavior of isoniazid and pharmaceutical excipients, commonly used for the formulation of solid dosage forms. Colloidal silicon dioxide, corn starch, crospovidone, hypromellose, lactose, magnesium stearate, mannitol, microcrystalline cellulose, povidone, sodium croscarmellose, sodium starch glycolate, stearic acid and talc were the excipients employed in these experiments. The compatibility was analyzed testing binary physical drug/excipient admixtures. The effect of wet granulation and compression was also investigated, in this case especially between isoniazid, fillers and lubricant. For almost all excipients no incompatibilities with isoniazid were observed. Interactions were detected when the drug substance was added to stearic acid, sodium starch glycolate, lactose, mannitol and povidone. Isoniazid formed a eutectic mixture with mannitol, whereas a possible chemical reaction occurred between isoniazid and lactose. Wet granulation and compaction of the tested admixtures did not affect the results observed above. These observations were confirmed by non-thermal techniques, such as X-Ray diffractometry, infrared spectroscopy and nuclear magnetic resonance.

Keywords: Differential Scanning Calorimetry, Thermo-analytical methods, drug/excipient compatibility study, thermal behavior, isoniazid, pharmaceutical excipients, solid dosage form, wet granulation, compression

1. INTRODUÇÃO

Conhecida como a “Peste Branca”, a tuberculose, causada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, epidemia que por muitos séculos dizimou a população mundial, tem provocado, na última década, grande preocupação junto à Organização Mundial da Saúde e ao Ministério da Saúde do Brasil, devido ao aumento descontrolado do número de casos (BRASIL, 2003a; WORLD, 2003).

Em 2002 foram notificados oficialmente 4 milhões de novos casos em todo o mundo, mas as estimativas são que estes números sejam muito maiores. É possível que o número de novos casos tenha chegado aos 8 milhões. No Brasil a situação não é diferente, já que, em 2001, foram registrados aproximadamente 103.000 novos casos, mas acredita-se que o número real de doentes seja de 130.000. A Organização Mundial da Saúde contabilizou oficialmente, 2,7 milhões de óbitos causados pela tuberculose no ano de 2002 (BRASIL, 2003a; WORLD, 2003).

Diversos são os fatores responsáveis pelo recrudescimento desta doença, entre eles destacam-se: o abrandamento nas últimas décadas dos programas de combate à tuberculose no mundo inteiro, devido à sua teórica erradicação; o aumento dos bolsões urbanos de pobreza, presentes principalmente nos países subdesenvolvidos; a detecção tardia da doença; o não tratamento ou então o tratamento inadequado dos doentes; o surgimento da tuberculose associada à Síndrome da Imunodeficiência Adquirida - SIDA (BRASIL, 2003a; WORLD, 2003).

A falta de adesão ao tratamento farmacoterapêutico por parte dos pacientes é também considerada como um dos fatores responsáveis pelo agravamento deste quadro. Os motivos que podem levar à falta de adesão, são o tratamento de longa duração (usualmente 6 meses, podendo se estender por até 2 anos) e a incidência considerável de efeitos adversos (BRASIL, 2003a; WADA, 1998; WORLD, 2003).

A isoniazida, fármaco de predominante ação bactericida, constitui-se em um dos principais quimioterápicos presentes no arsenal farmacoterapêutico, sendo empregada em todos os estágios do tratamento, utilizada inclusive na profilaxia de

indivíduos que têm contato com tuberculosos (ORGANIZACION, 1997; MITCHISON, 2000). Alguns dos problemas decorrentes da sua utilização estão relacionados com o surgimento de hepatotoxicidade, além de intolerância gástrica, que conduz ao aparecimento de sintomas como náusea, vômitos e irritação epigástrica (GENNARO, 2000; UNITED, 1990).

Estes aspectos motivam a procura por novas abordagens tecnológicas. Estudos de pré-formulação, usualmente associados ao desenvolvimento de formas farmacêuticas de fármacos inovadores, são também empregados em estudos de reformulação de fármacos já existentes. Uma das etapas mais importantes destes estudos está relacionada à verificação de incompatibilidades entre o fármaco e os adjuvantes tecnológicos empregados na formulação (MURA *et al.*, 1998a; WADKE *et al.*, 1990; WELLS, 1988).

A importância em realizar estudos de compatibilidade que verifiquem possíveis interações de ordem química ou física, está nas alterações que os adjuvantes podem ocasionar na natureza química, na solubilidade, na absorção e portanto, na resposta terapêutica de fármacos (MURA *et al.*, 1998b; WADKE *et al.*, 1990; WELLS, 1988).

Por sua vez, a existência de incompatibilidades físico-químicas entre os componentes de uma formulação nem sempre se traduz em incompatibilidades farmacêuticas. Alterações na solubilidade de um fármaco provocadas por interações de natureza física com adjuvantes (incompatibilidade físico-química), poderão ser empregadas de forma benéfica como estratégias em diferentes abordagens tecnológicas, não se constituindo desta forma em uma incompatibilidade farmacêutica (WADKE *et al.*, 1990; WELLS, 1988).

Os métodos termo-analíticos constituem-se em ferramentas de grande utilidade na avaliação da compatibilidade entre um fármaco e adjuvantes farmacêuticos, devido à sua capacidade em fornecer resultados de uma forma relativamente rápida. Entre as técnicas existentes, a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a análise térmica diferencial (DTA) e a termogravimetria (TGA), são três das que encontram maior

aplicação nestes estudos e em outras áreas das Ciências Farmacêuticas (GIRON, 1998a; MURA *et al.*, 1998a; WADKE *et al.*, 1990; WELLS, 1988).

A calorimetria exploratória diferencial, as suas variações, e, quando associada a técnicas como, por exemplo, a espectroscopia na região do Infravermelho e a difratometria de raios-X, destaca-se pelo grande número de informações que é capaz de fornecer. Outras aplicações, fora o seu uso nos estudos de compatibilidade fármaco-adjuvante, incluem a detecção de polimorfismos, de hidratos e de solvatos; a determinação de temperaturas de transição vítrea, além de medidas de reações e de cinéticas de decomposição, fora determinações de purezas de substâncias (CLAS *et al.*, 1999; CRAIG & COLEMAN, 1996; GIRON, 1998a; GIRON, 2002; MURA *et al.*, 1998b).

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Verificar a compatibilidade entre o fármaco isoniazida e alguns adjuvantes tecnológicos primários, usualmente empregados em formas farmacêuticas sólidas.

2.2 Objetivos Específicos

Avaliar o comportamento térmico do fármaco isoniazida e dos adjuvantes utilizados neste estudo.

Verificar a existência de possíveis interações entre a isoniazida e os adjuvantes empregados, em misturas físicas binárias.

Verificar a influência da agregação por via úmida na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes utilizados como material de enchimento e carga, e aglutinante.

Verificar a influência da compressão na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes utilizados como material de enchimento e carga, e lubrificantes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Aspectos Epidemiológicos da Tuberculose

De acordo com Organização Mundial de Saúde, cerca de um terço da população mundial, ou seja, 2 bilhões de pessoas, está infectada pelo agente causador da tuberculose. Estes números, no Brasil, corresponderiam a cerca de 50 milhões de brasileiros infectados. Estima-se que aproximadamente 10 % dos indivíduos infectados venha a desenvolver a doença em alguma etapa de suas vidas (BRASIL, 2003a; WORLD, 2003).

Quanto ao número oficial de casos de tuberculose notificados, o Brasil apresenta uma incidência de 64 para cada 100.000 habitantes, o que o coloca na 15ª posição no ranking dos 22 países responsáveis por 80 % dos casos no mundo (SAN'TANNA *et al.*, 2001; WORLD, 2003).

Talvez o fato de maior relevância em relação ao quadro geral que se encontra esta epidemia no mundo seja o surgimento cada vez mais considerável de cepas do bacilo resistentes aos fármacos utilizados no tratamento da tuberculose. De uma forma geral, estima-se em 10 % a média mundial de resistência primária a qualquer tuberculostático, cabendo salientar que em determinados distritos da Federação Russa existem cepas onde este índice atinge valores próximos a 100 %. Associado a isto, nas últimas décadas, ocorreu o surgimento da chamada resistência multifármaco, onde bacilos da tuberculose não apresentam sensibilidade mesmo quando é empregada na terapêutica a associação de mais de um fármaco tuberculostático (WORLD, 2000). No Brasil, de acordo com dados da OMS, o índice de mono-resistência encontra-se em 8,6 % enquanto que a resistência multifármaco apresenta um índice de aproximadamente 2,5 %, valores similares à média mundial.

Muitos foram os fatores que levaram ao ressurgimento da tuberculose como epidemia mundial e, de uma forma mais específica, no Brasil. Normalmente a

tuberculose está associada a elevados índices de pobreza, onde as precárias condições de higiene juntamente com um sistema de assistência à saúde ineficiente permitem a proliferação do número de casos. A isto soma-se o abrandamento geral das campanhas nacionais de combate à tuberculose (BRASIL, 2003a; WORLD, 2003).

Um outro fator responsável pelo aumento no número de casos é o aparecimento de uma nova epidemia nas últimas décadas, a SIDA. Esta situação contribuiu consideravelmente para o agravamento do quadro, já que a queda da imunidade dos indivíduos portadores deste vírus potencializou o poder de proliferação e de manifestação da tuberculose, contribuindo também para um aumento da resistência aos fármacos tuberculostáticos. Estima-se que um em cada três indivíduos com SIDA irá a desenvolver a tuberculose (BRASIL, 2003b; WORLD, 2000; WORLD, 2002).

O arsenal terapêutico disponível para o combate da tuberculose é, basicamente, composto pelos fármacos isoniazida, rifampicina, pirazinamida, etambutol e estreptomicina e fármacos de reserva, como o ciprofloxacino e o ofloxacino, entre outros, utilizados numa possível ineficácia dos anteriores (GILMAN *et al.*, 1996; WANNMACHER, 1998).

Existem inúmeros protocolos farmacoterapêuticos de combate à tuberculose, porém todos eles empregam basicamente, em mais de uma etapa e normalmente associados, quatro fármacos (isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol), os considerados de primeira escolha (BLOMBERG *et al.*, 2001).

No Brasil, o esquema terapêutico mais utilizado nos últimos anos, tanto nos casos primários de tuberculose pulmonar e como nos casos de tuberculose extrapulmonar, compreende a administração concomitante da isoniazida com a rifampicina e a pirazinamida (fase 1 – dois meses), e, posteriormente, da isoniazida associada à rifampicina (fase 2 – seis meses) (KOROLKOVAS & CARNEIRO DE FRANÇA, 2002).

Em virtude dos esforços mundiais, estes visando reduzir a incidência e mortalidade da tuberculose, no ano de 1995 a Organização Mundial de Saúde sugeriu a

implementação por parte de todos os países do DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course). A estratégia DOTS caracteriza-se não somente pelos protocolos de tratamento de curta duração (primeiros dois meses: isoniazida, rifampicina, pirazinamida e etambutol; quatro meses subsequentes: isoniazida e rifampicina), mas também pela monitoração da administração dos medicamentos e pela agilidade e eficiência na detecção dos casos de tuberculose. No Brasil, esta estratégia está em fase de implementação. De acordo com a classificação da OMS, o Brasil está inserido na categoria 3 (10 a 90 % dos pacientes tratados seguindo estes protocolos). Estima-se que atualmente entre 40 a 60 % dos doentes de tuberculose no Brasil estejam sendo tratados utilizando a estratégia DOTS (WHO, 2003).

A grande dificuldade no tratamento da tuberculose está ligada à longa duração do tratamento, podendo durar de quatro a seis meses inicialmente, ou prolongar-se por até dois anos (MITCHISON, 2000). Talvez este seja um dos fatores mais importantes que tenha contribuído para o ressurgimento desta doença e para o aumento da resistência aos fármacos tuberculostáticos empregados, já que está diretamente relacionado à adesão do tratamento por parte do paciente.

O tempo de tratamento, excessivamente longo, porém necessário, ao qual os pacientes são submetidos, estimula o abandono do mesmo por parte dos pacientes, que no Brasil varia de 12 a 30 %, dependendo da unidade federativa. A isto deve ser agregada a possibilidade do surgimento ou da exacerbação dos efeitos colaterais, devida ao extenso período de tempo em que serão administradas diariamente as associações de tuberculostáticos, fato que irá aumentar ainda mais a possibilidade de abandono do tratamento por parte do paciente (BRASIL, 2003b; WADA, 1998; WORLD, 2000; WORLD, 2003).

Diante deste quadro, torna-se pertinente o desenvolvimento de formas farmacêuticas otimizadas a partir de fármacos tuberculostáticos. A isoniazida, devido à sua ampla utilização na terapêutica da tuberculose, mostra-se um excelente candidato a fármaco de escolha no desenvolvimento tecnológico de uma nova forma farmacêutica,

visando obter um aumento da sua eficiência, mas para tanto, precisa ser conhecido o seu comportamento frente a adjuvantes e operações tecnológicas de transformação.

3.2 Isoniazida

3.2.1 Considerações Farmacêuticas

A isoniazida (INH) constitui-se num fármaco de grande importância no tratamento da tuberculose, já que é amplamente utilizada em todos os regimes farmacoterapêuticos existentes (BLOMBERG *et al.*, 2001; MITCHISON, 2000; WORLD, 2000).

Comercialmente, a isoniazida apresenta-se disponível na forma de comprimidos ou cápsulas de 100 e 300 mg (Laniazid[®], Nidrazid[®]) e ainda na forma injetável ou como xarope (REYNOLD, 1994; ROTE LISTE, 1995).

No Brasil, a isoniazida, é integrante da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME (BRASIL, 2003c). Assim como os demais fármacos tuberculostáticos, a isoniazida é distribuída gratuitamente pelo Ministério da Saúde, dentro Plano Nacional de Mobilização e Intensificação das Ações para a Eliminação da Hanseníase e Controle da Tuberculose (antigo Programa Nacional de Combate à Tuberculose - PNCT), estando disponível na forma de comprimidos de 100 mg (KOROLKOVAS & CARNEIRO DE FRANÇA, 2002).

Existem no mercado também associações de isoniazida com os outros fármacos tuberculostáticos, constituindo assim, os denominados medicamentos de associações fixas. A associação disponível no Brasil, encontra-se no mercado, sob a forma de cápsulas contendo isoniazida e rifampicina, nas dosagens de 100/150 e 200/300 mg respectivamente (KOROLKOVAS & CARNEIRO DE FRANÇA, 2002). Ainda, combinações deste fármaco com rifampicina, etambutol e pirazinamida (Rifater[®], Rifamater[®]), ou ainda com piridoxina (Tebesium[®]) são amplamente empregadas em alguns dos regimes farmacoterapêuticos disponíveis (REYNOLD, 1994; ROTE LISTE, 1995).

Na literatura, são relatados alguns trabalhos visando obter formas farmacêuticas de liberação controlada contendo isoniazida.

Em 1973, Ellard e colaboradores compararam as concentrações plasmáticas de isoniazida, contida em comprimidos matriciais de liberação lenta e em comprimidos de liberação imediata. Os autores notaram diferenças nos picos de concentração das duas formas farmacêuticas, salientando que os comprimidos matriciais apresentaram concentrações plasmáticas menores, pelo que questionam a extensa distribuição do fármaco em questão nos fluidos do organismo.

Jain e colaboradores, em 1992, desenvolveram uma série de formulações de comprimidos com liberação prolongada usando combinações de hipromelose (HPMC), goma guar e goma caraia. A formulação contendo HPMC demonstrou ter o melhor perfil de liberação prolongada, já que 50 % da isoniazida foi liberada em aproximadamente 8 h.

Em 1998, Jain e Khopade desenvolveram um sistema disperso do tipo emulsão múltipla (A/O/A) contendo isoniazida nas fases aquosas interna e externa, constituídas de celulose microcristalina (Avicel RC[®] 591). Os autores obtiveram como resultados, sistemas dispersos relativamente estáveis, com rendimentos acima de 70 %, que permitiram prolongar a liberação do fármaco, tornando-se assim uma promissora alternativa no tratamento da tuberculose.

3.2.2 Considerações Químicas e Farmacológicas

Quimicamente, a isoniazida (INH) é um derivado hidrazídico do ácido 4-piridinocarboxílico (ácido isonicotínico). Sua fórmula molecular é $C_6H_7N_3O$ e sua massa molecular é 137,14 (MERCK, 1996). Na figura 1 está representada sua estrutura química.

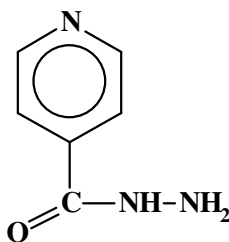


Figura 1: Fórmula estrutural da isoniazida (CAS [54-85-3])

A isoniazida apresenta-se na forma de um pó branco cristalino, inodoro, sendo levemente sensível à exposição à luz ou ao ar. É livremente solúvel em água e apresenta incompatibilidade com açúcares (BREWER, 1977; F. Bras III; HARTKE *et al.*, 2000).

O mecanismo exato de ação deste fármaco ainda não foi elucidado, porém a teoria mais aceita é a de que iniba a biossíntese dos ácidos mucolíticos, que são imprescindíveis à constituição da parede celular bacteriana (ALFORD, 1990; AMERICAN, 1999; GILMAN *et al.*, 1996).

É considerado um fármaco bacteriostático para bacilos em repouso e bactericida para microorganismos em rápida divisão (GILMAN *et al.*, 1996). Apresenta elevada especificidade para bacilos do gênero *Mycobacterium*, podendo, por este motivo, ser empregado em todos os tipos de tuberculose, inclusive na tuberculose meningocócica (AMERICAN, 1999; GILMAN *et al.*, 1996; UNITED, 1990).

A isoniazida é rapidamente absorvida por via oral e intramuscular, sofrendo extensa distribuição em todos os tecidos e fluidos do organismo. De acordo com a velocidade de biotransformação, a população mundial pode ser dividida em dois grupos: os acetiladores rápidos e os acetiladores lentos, portanto, a meia-vida deste fármaco difere de acordo com estes dois grupos. Sua eliminação é predominantemente renal, sendo que ela também é excretada em pequenas quantidades nas fezes (ALFORD, 1990; AMERICAN, 1999; GILMAN *et al.*, 1996; REYNOLD, 1994; UNITED, 1990).

Quando administrada por via oral, a absorção da isoniazida ocorre em todo o trato gastrointestinal, tendo a sua absorção comprometida quando administrada concomitantemente com alimentos e antiácidos que contenham na sua composição sais de alumínio (GILMAN *et al.*, 1996; UNITED, 1990).

A absorção gástrica é considerada pobre, sendo, portanto, majoritariamente intestinal. A absorção da isoniazida ocorre principalmente na região do duodeno (KAKEMI *et al.*, 1965; KLEBER, 1979).

A incidência de efeitos adversos é pronunciadamente maior no grupo dos acetiladores lentos. O principal efeito colateral corresponde ao aparecimento de toxicidade hepática, tendo sua incidência aumentada em esquemas terapêuticos de duração prolongada. Outros efeitos adversos decorrentes do seu uso são neuropatias periféricas, icterícias, além de distúrbios gástricos, como diarreia, náuseas e vômitos, além do aparecimento eventual de irritação epigástrica, (GILMAN *et al.*, 1996; REYNOLD, 1994; UNITED, 1990).

Mitchison (2000) afirma que a isoniazida é responsável por 95 % da atividade bactericida nos primeiros dias da sua administração em associação com a rifampicina, durante a primeira fase do tratamento. Esta atividade cai drasticamente durante as outras fases do tratamento, onde também é empregada a pirazinamida, o que justificaria a redução da dosagem de isoniazida, em favor de uma possível menor incidência de efeitos adversos decorrentes da administração deste fármaco, fato que poderia ser levado em consideração em novas abordagens tecnológicas.

3.3 Métodos Termo-analíticos e suas Aplicações nas Ciências Farmacêuticas

3.3.1 Métodos termo-analíticos

Quando uma substância qualquer é aquecida ou resfriada ocorrem mudanças físicas e/ou químicas, e estas transformações são características do material que está sendo analisado. Baseada nestas propriedades, a análise térmica, ferramenta analítica, encontra uma infinidade de aplicações nas mais diversas áreas, como por exemplo, no estudo de minerais, de substâncias inorgânicas e orgânicas, de metais, de materiais cerâmicos, na eletrônica, em alimentos, nos polímeros e, como é o foco deste estudo, nas Ciências Farmacêuticas (HAINES, 1995; OZAWA, 2000; ROBINSON, 1995).

A difusão das aplicações dos métodos termo-analíticos deve-se ao grande número de informações que podem ser obtidas quando, para uma amostra, lhe é monitorada a temperatura (aquecimento ou resfriamento) em função do tempo de exposição, em condições programadas. Na tabela 1, encontram-se resumidos alguns dos principais métodos existentes e as propriedades por eles avaliadas (HAINES, 1995).

Da avaliação das propriedades físicas e químicas, obtém-se informações a respeito, por exemplo, da identidade de uma amostra, da sua pureza, da estabilidade, da sua reatividade. Sabe-se, porém, que os métodos termo-analíticos fornecem dados indiretos, e por este motivo, a fim de tentar elucidar os comportamentos observados nestas análises, freqüentemente são associados a métodos espectroscópicos, como a ressonância magnética nuclear (RMN), a espectroscopia na região do infravermelho (IR) e a espectrometria de massas (MS), além da difratometria de raios-X (XRD), como alguns exemplos (HATAKEYAMA & QUINN, 1999).

A necessidade em combinar os métodos termo-analíticos entre si e com outras técnicas fez com que surgissem inúmeros aperfeiçoamentos das já existentes, além de outras baseadas no acoplamento de mais de uma técnica, tanto de termo-analíticas (análises térmicas simultâneas - STA), como de métodos não-térmicos, por exemplo,

os espectroscópicos. Alguns exemplos são citados a seguir (GIRON, 1999; HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999):

- DSC – MDSC (calorimetria exploratória diferencial modulada), HS-DSC (calorimetria exploratória diferencial de alta sensibilidade);
- STA – DSC-TGA, TGA-DTA, e
- técnicas acopladas – DSC/FT-IR, DSC-XRD, TGA/FT-IR.

Tabela 2: Alguns dos principais métodos termo-analíticos e suas aplicações (adaptado de HAINES, 1995)

Técnica	Abreviação	Propriedade avaliada	Usos
Termogravimetria	TG ou TGA	Massa	Decomposições, desidrações, oxidações
Análise térmica diferencial	DTA	Diferença de Temperatura	Mudanças de fase, reações
Calorimetria exploratória diferencial	DSC	Entalpia	Capacidade térmica, mudanças de fase, reações, calorimetria
Análise termomecânica	TMA	Deformações	Mudanças mecânicas, transformações
Análise termomecânica dinâmica	DMA	Deformações	Mudanças de fase, cura de polímeros
Análise de gás desprendido	EGA	Gases	Decomposições, catálise, reações
Deteção de gás desprendido	EGD	Gases	Decomposições, catálise, reações
Termoptometria		Ópticas	Mudanças de fase, reações, mudanças de cor

O desenvolvimento destas técnicas fez com que aumentassem significativamente a sensibilidade e os recursos das análises térmicas. Nas Ciências Farmacêuticas, a respeito das técnicas não associadas ou acopladas, pode-se afirmar

que as que encontram maior número de aplicações são a DSC, a TGA e a DTA, além de suas variações, em ordem decrescente de importância (GIRON, 1998a; GIRON, 1998b).

Os métodos termo-analíticos utilizados neste trabalho são descritos a seguir.

3.3.1.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A calorimetria exploratória diferencial baseia-se na determinação do calor envolvido em transições endotérmicas ou exotérmicas. É o método termo-analítico mais frequentemente aplicado, devido a que desta técnica se obtém informações detalhadas a respeito das propriedades físicas e energéticas das substâncias, o que nenhuma outra técnica consegue fornecer, com tanta precisão, facilidade e rapidez (CLAS *et al.*, 1999; ROBINSON, 1995). Na tabela 2, são relacionadas algumas dessas propriedades e o tipo de transição observadas pela DSC.

Tabela 2: Propriedades observadas pela DSC (CLAS *et al.*, 1999)

Endotérmicas	Exotérmicas
Fusão	Cristalização
Vaporização	Condensação
Sublimação	Solidificação
Dessorção	Adsorção, quimiossorção
Dessolvatação	Solvatação
Decomposição	Decomposição
Redução	Oxidação
Degradação	Degradação
-	Cura de resinas
Transição vítrea (modificação linha de base)	-
Relaxação vítrea	-

A DSC surgiu da evolução da análise térmica diferencial (DTA). A DTA baseia-se na determinação da diferença de temperatura entre uma amostra em relação a uma referência, considerando que uma variação de temperatura em função do tempo é um método muito sensível de detecção de mudanças e de transições das substâncias, como mostra a equação 1:

$$T_S - T_R = \Delta T \quad (\text{Eq. 1})$$

onde, T_S = temperatura da amostra; T_R = temperatura de referência; ΔT = variação da temperatura.

Assim, do aquecimento simultâneo da amostra e da referência (figura 2), quando submetidas a programas de aquecimento ou arrefecimento em função do tempo, em atmosfera específica, obtém-se a variação de temperatura, que resulta em uma curva que acusa fenômenos endotérmicos e exotérmicos (CANOTILHO *et al.*, 1992; FLYNN, 1993; HAINES, 1995; ROBINSON, 1995).

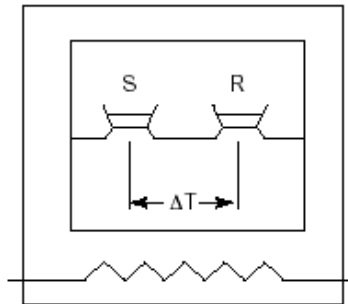


Figura 2: Representação esquemática do funcionamento da DTA. S – amostra; R – referência; ΔT – diferença de temperatura ocasionada pelas transformações em S, quando submetida a programas de temperatura (CLAS *et al.*, 1999).

Como se fazia necessária a determinação do calor envolvido nestas transformações, e nenhuma das técnicas propostas para a DTA era satisfatória, a DSC

foi desenvolvida como decorrência desta. Assim, a diferença de fluxo de calor de uma amostra em relação a uma referência, em função de programas de aquecimento ou arrefecimento, em atmosfera específica, passou a ser determinada (HAINES, 1995; O'NEILL, 1975;).

Basicamente, existem dois tipos de DSC, baseados em distintas conformações das suas células de aquecimento e na forma como é detectada a variação de calor entre a amostra e a referência, com está representado na figura 3 (CANOTILHO *et al.*, 1992; CLAS *et al.*, 1999; DANLEY, 2003; GIRON, 1986; GIRON, 1998a; HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999; O'NEILL, 1975; ROBERTS *et al.*, 2002):

- Compensação de potência: onde a amostra e a referência são aquecidas separadamente, por possuírem células de aquecimento distintas. A temperatura de ambas é mantida em equilíbrio, mediante aumento da potência na célula que apresenta menor aquecimento;
- Fluxo de calor: onde a amostra e a referência são aquecidas em uma mesma célula de aquecimento e a diferença de temperatura é medida por termopares distintos. Este sinal é convertido em uma diferença de potência, usando um calorímetro sensível.

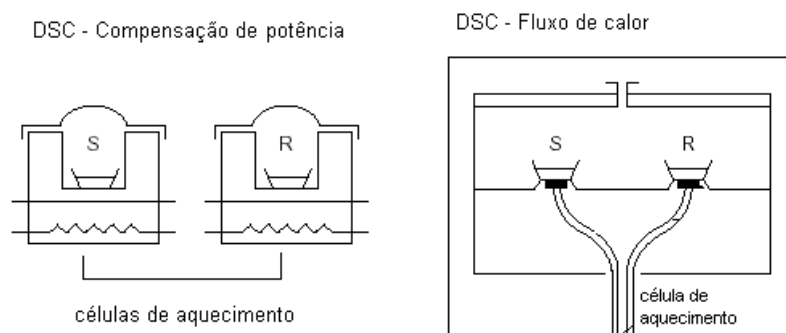


Figura 3: Representação esquemática dos tipos de DSC. S – amostra; R – referência (adaptada de CLAS *et al.*, 1999).

O cálculo do fluxo de calor de uma amostra analisada pode ser realizado de diversas formas, dependendo também do tipo de equipamento. Uma das formas é pela determinação da variação de entalpia (ΔH). O cálculo da variação de entalpia (ΔH) de

uma amostra é dado pela determinação da área do pico (exotérmico ou endotérmico) que por sua vez depende da massa e da condutividade térmica (capacidade calorífica) da amostra, sempre em relação à referência. Este cálculo pode ser obtido pela equação 2 (CANOTILHO *et al.*, 1992):

$$A = -Gm\Delta H/K = -K'm\Delta H \quad (\text{Eq. 2})$$

onde, A= área do pico (resultante do evento endotérmico ou exotérmico); G= fator de calibração; m= massa da amostra; K= constante relativa à condutividade térmica da amostra; ΔH = variação de entalpia; K'= constante obtida da calibração do equipamento.

Em relação aos tipos de DSC, ambos apresentam grande sensibilidade, mas cerca de 80 % dos equipamentos atualmente fabricados são do tipo fluxo de calor, devido provavelmente ao seu custo menor.²

3.3.1.1.1 Variações da Calorimetria Exploratória Diferencial

Assim como mencionado anteriormente, da necessidade em solucionar problemas analíticos e aumentar a sensibilidade destes equipamentos surgiram algumas variações da DSC.

A calorimetria exploratória diferencial modulada (MDSC) é uma técnica onde o programa de aquecimento é modulado ao contrário da DSC convencional, cujo programa de aquecimento é linear. Um programa de aquecimento modulado se traduz em um aquecimento sinoidal (figura 4a) e também em uma velocidade de aquecimento com estas características (figura 4b) (CRAIG & COLEMAN, 1996; GIRON, 1998a; VERDONCK *et al.*, 1999).

² Prof. César Petzhold, comunicação pessoal, 2003.

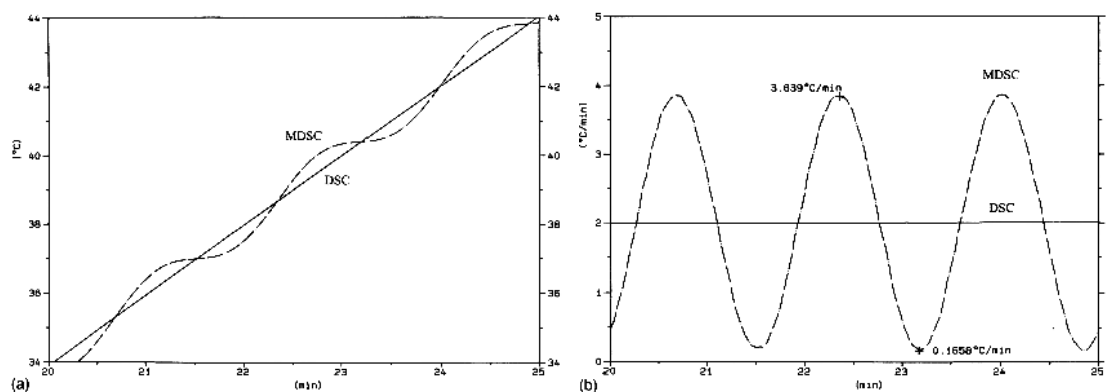


Figura 4: Representação do programa de aquecimento da MDSC: (a) temperatura em função do tempo; (b) velocidade de aquecimento em função do tempo. Nas duas situações, a linha contínua representa o experimento de DSC convencional (VERDONCK *et al.*, 1999).

Baseada no equipamento de DSC de calor de fluxo, a MDSC apresenta algumas vantagens em relação às técnicas convencionais, resultantes do seu programa de aquecimento. A MDSC consegue separar fenômenos reversíveis de fenômenos irreversíveis, desta forma é possível identificar eventos térmicos sobrepostos, o que aumenta a sensibilidade desta técnica. Um exemplo de aplicação é a determinação da temperatura de transição vítrea de polímeros. A transição vítrea é uma transição de segunda ordem, e, por isto, nem sempre é detectada pelos equipamentos de DSC convencionais, o que se torna possível pelos equipamentos de MDSC (CLAS *et al.*, 1999; GIRON, 1998a; GRAIG & COLEMAN, 1996; HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999; VERDONCK *et al.*, 1999).

A calorimetria exploratória diferencial de alta sensibilidade (HS-DSC) foi primordialmente desenvolvida para ser aplicada aos estudos das proteínas. Proteínas são biopolímeros que apresentam temperaturas de transição em valores relativamente baixos (-8 a 107 °C), com entalpias de transição aproximadamente de 6 kJ, o que requer equipamentos muito sensíveis. A HS-DSC apresenta sensibilidade em torno de 1,0 μ W (muito maior que a DSC convencional), resultante da utilização de inúmeros termopares em série para medir a temperatura da amostra e da referência (HATAKEYAMA & QUINN, 1999).

Uma outra variação da DSC convencional é a calorimetria exploratória diferencial sob pressão (PDSC). A PDSC possibilita que uma amostra seja submetida a diferentes pressões, tanto negativas como positivas, o que apresenta inúmeras aplicações. Uma das vantagens desta técnica é que ela permite distinguir picos sobrepostos resultantes da dessolvatação de uma amostra (GIRON, 2002; HAINES, 1995).

3.3.1.2 Termogravimetria (TGA)

A termogravimetria é um método termo-analítico baseado na determinação das variações de massa resultantes de transformações provocadas pelo aquecimento de uma substância, em função do tempo ou temperatura. O equipamento consiste basicamente de uma balança analítica acoplada a um sistema de aquecimento que permite submeter amostras a programas de temperatura (CANOTILHO *et al.*, 1992; HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999; ROBINSON, 1995).

Não são todos os eventos térmicos que resultam na mudança de massa de uma amostra, mas, o que se constitui numa aparente limitação da técnica, encontra importantes aplicações nos eventos onde ocorre perda ou ganho de massa. Os exemplos incluem a vaporização, a sublimação, a absorção, a dessorção e reações como oxidações e reduções, além da decomposição (CANOTILHO *et al.*, 1992; HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999; ROBINSON, 1995).

As aplicações da TGA são inúmeras. É possível fazer a determinação da composição de substâncias e de misturas, além da determinação da presença de água adsorvida (umidade) ou de cristalização. Outros solventes podem ser quantificados, incluindo assim, o estudo de solvatos. Estudos de estabilidade e de decomposição de uma amostra são frequentemente realizados utilizando a TGA, devido à facilidade em obter parâmetros termodinâmicos e cinéticos (GIRON, 1998a, HAINES, 1995; HATAKEYAMA & QUINN, 1999; ROBINSON, 1995).

3.3.2 Aplicações nas Ciências Farmacêuticas

Os métodos termo-analíticos encontram aplicações nas mais diversas áreas das Ciências Farmacêuticas. Da pesquisa de novos fármacos ao controle da produção de medicamentos, as análises térmicas estão presentes, tal como na identificação e caracterização de substâncias, na determinação de diagramas de fase e da pureza de fármacos, na avaliação da compatibilidade entre componentes de formas farmacêuticas, na análise qualitativa e quantitativa de formulações, em testes de estabilidade, na avaliação de parâmetros cinéticos, em estudos de polimorfismos, entre outros (CLAS *et al.*, 1999; GIRON, 2002; ROBERTS *et al.*, 2002; THOMPSON, 2000; WESOLOWSKI, 1992).

Indubitavelmente, os métodos termo-analíticos apresentam maiores aplicações na Tecnologia Farmacêutica e na Indústria Farmacêutica, e, por este motivo, algumas destas aplicações serão mencionadas a seguir (GIRON, 2002; WESOLOWSKI, 1992).

3.3.2.1 Estudos de Pré-formulação

Os estudos de pré-formulação compreendem importantes ensaios aplicados tanto a fármacos inovadores como a substâncias ativas em uso. Na etapa do desenvolvimento das suas formas farmacêuticas, é fundamental que sejam determinadas certas propriedades físicas e químicas da substância em questão, além de outras propriedades derivadas e que são relacionadas, especialmente, ao comportamento do fármaco na forma de partículas primárias sólidas. Estes conhecimentos são fundamentais durante a etapa de formulação (ANSEL *et al.*, 2000; WELLS, 1988).

Alguns destes estudos podem ser realizados com o auxílio de métodos termo-analíticos, como é o caso do estudo do comportamento térmico de substâncias, tais como fármacos e adjuvantes, e do estudo da compatibilidade entre fármacos e adjuvantes (WADKE *et al.*, 1990; WELLS, 1988).

3.3.2.1.1 Estudos de compatibilidade fármaco / adjuvantes

Além de estarem associados ao estudo de substâncias ativas inovadoras, os estudos de compatibilidade entre fármacos e adjuvantes também são empregados em estudos de otimização de formulação para fármacos já existentes (MURA *et al.*, 1998a).

Estes estudos são fundamentais nesta etapa de desenvolvimento, já que há muito tempo abandonou-se a idéia de que adjuvantes são substâncias inertes química e farmacologicamente, devido ao fato de que estas podem ter influência na segurança e na eficácia do produto final (PIFFERI *et al.*, 1999).

A calorimetria exploratória diferencial e suas variações correspondem ao método termo-analítico mais empregado na execução destes estudos, devido à rapidez com que fornece resultados, empregando quantidades de amostra relativamente pequenas (2 a 10 mg). Os métodos convencionais demandam quantidades de amostras maiores e condições de estocagem a elevadas temperaturas, durante meses, sendo que a amostra deve ser analisada sistematicamente utilizando métodos de estabilidade adequados (BOTHA & LÖTTER, 1990; BRUNI *et al.*, 2002; COTTON *et al.*, 1987).

É necessário salientar, porém, que os métodos termo-analíticos não substituem os ensaios usuais, tais como o teste de estresse isotérmico, devendo ser usados para prever o comportamento das amostras avaliadas e para orientar a execução dos ensaios convencionais. Apesar de freqüentemente ocorrer a confirmação, nem todas as interações observadas pela DSC se traduzem em incompatibilidades farmacêuticas relevantes (BROWN *et al.*, 1999; GIRON, 1998b).

Para avaliar o grau de confiabilidade dos testes de compatibilidade realizados por DSC, Fassihi e Dürig, em 1993, realizaram um estudo entre o cloridrato de piridoxal e diversos adjuvantes utilizados em comprimidos. Para isto, misturas binárias de fármaco com os adjuvantes foram preparadas, em diversas proporções, e submetidas à análise por DSC. O teste isotérmico de estresse para estas misturas também foi realizado concomitantemente. Como resultados, foram constatadas

incompatibilidades por DSC que foram confirmadas no outro ensaio. Desta forma, os autores confirmam a utilidade do método termo-analítico, porém advertem sobre a subjetividade do método em detectar agentes estabilizantes e desestabilizantes, confirmando a necessidade de efetuar os testes convencionais.

Quanto ao método termo-analítico empregado para verificar interações químicas e/ou físicas, este consiste na avaliação da compatibilidade de misturas físicas binárias entre o fármaco e diversos adjuvantes, que serão submetidas à análise por DSC (GENNARO, 2000; WELLS, 1988).

Na avaliação das misturas físicas binárias usualmente são utilizadas proporções de massa. Relações molares ou estequiométricas são também utilizadas porém com menor frequência, já que a diferença entre as distintas massas moleculares das substâncias estudadas podem ser bastante acentuadas. Um grande número de polímeros é utilizado como adjuvantes, e, como é sabido, estes não apresentam massa molecular única, o que também dificulta a avaliação por meio de relações molares. Em relação às proporções de massa que devem ser empregadas, a literatura é bastante discordante, o que denota o caráter empírico destes ensaios.

De acordo com Wells (1988), devem ser preparadas misturas físicas em proporções iguais de massa (1:1) entre o fármaco e o adjuvante, pois assim, é maximizada a possibilidade da ocorrência de interações.

Já Wadke e colaboradores (1990) recomendam a avaliação de misturas fármaco/adjuvantes nas proporções 1:3, 1:1 e 3:1 (m/m), pois seria uma forma de evitar falsas interações.

O que se observa nos estudos de uma forma geral, e alguns deles serão relatados a seguir, é que são preparadas misturas físicas binárias nas mais diversas proporções de massa, mas frequentemente está presente a proporção 1:1, pois se trata de fato de uma situação maximizada.

Um dos primeiros estudos de compatibilidade relatados valeu-se do uso da DTA (a DSC era uma técnica relativamente recente) para observar evidências de interações. Jacobson e Reier, em 1969, avaliaram a compatibilidade entre vários tipos de penicilinas e o ácido esteárico, mediante misturas físicas binárias do tipo 95:5 em proporções de massa respectivamente. Os autores relataram evidências de fortes interações com o ácido esteárico, o que foi corroborado pelos testes de estabilidade realizados para as mesmas amostras, durante 8 semanas à temperatura de 50 °C.

Nos estudos de compatibilidade, a DSC é normalmente empregada, associada a outras técnicas, usualmente espectroscópicas, pois assim é possível obter dados mais robustos. Não obstante, há relatos de trabalhos onde somente a DSC é empregada.

Em 1990, Botha e Lötter avaliaram a compatibilidade entre o fármaco naproxeno e diversos adjuvantes utilizados em comprimidos, mediante a preparação de misturas 1:1. Foram observadas diversas interações, baseadas no desaparecimento ou no deslocamento do pico endotérmico referente à fusão do fármaco, com os adjuvantes crospovidona e estearato de magnésio, entre outros. Os autores, porém, afirmam que os estudos não podem ser conclusivos, devido à não elucidação dos tipos de interações entre o fármaco e os adjuvantes.

Outros trabalhos são mais cautelosos e valem-se do uso da DSC somente como técnica de triagem para a realização destes estudos. Segundo os autores, as interações detectadas entre os fármacos e os adjuvantes analisados não podem ser consideradas definitivas, mas demonstram a grande utilidade da técnica, salientando a rapidez e a conveniência deste método termo-analítico (BROWN *et al.*, 1999; MURA *et al.*, 1995).

Na avaliação de possíveis interações entre um fármaco e adjuvantes, o mais adequado é empregar os métodos termo-analíticos sempre associados a uma ou mais técnicas. A calorimetria exploratória diferencial, como técnica mais empregada, freqüentemente é associada a outros métodos térmicos, como a análise termomecânica (TMA), a termogravimetria (TGA), a análise térmica diferencial (DTA), a

termoptometria, a termomicroscopia e a microcalorimetria. Como métodos não-térmicos, costuma-se usar os espectroscópicos como a ressonância magnética nuclear (RMN), a de massas (MS), o infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), o infravermelho de Raman, além da cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e a difratometria de raios-X (XRD), entre outros (BALESTRIERI *et al.*, 1996; GIORDANO *et al.*, 2002; HARTAUER & GUILLORY, 1991; MURA *et al.*, 1998a; MURA *et al.*, 1998b; POKHARKAR *et al.*, 2002; RAMBAUD *et al.*, 1990).

Em um estudo onde foi avaliada a compatibilidade entre os fármacos etasilato e fluconazol frente à lactose, Dharwadkar e colaboradores (2003) utilizaram as técnicas de DSC além da XRD para realização dos ensaios. Foram preparadas misturas físicas binárias nas proporções 1:1 de massa, e, pela análise por DSC, foram constatadas fortes incompatibilidades dos fármacos com o adjuvante, devido ao aparecimento de picos endotérmicos distintos aos picos referentes às fusões dos fármacos e do adjuvante. Pela análise dos difratogramas foi possível concluir que as interações observadas são de natureza química, o que desaconselha o uso deste adjuvante em formulações destes fármacos, salientando ainda que a XRD forneceu evidências adicionais para a elucidação das interações.

A associação de mais de uma técnica nos estudos de compatibilidade, pode trazer algumas adversidades, decorrentes da não confirmação dos resultados, ora por parte dos métodos termo-analíticos, ora por parte dos métodos não-térmicos.

Balestrieri e colaboradores, em 1996, realizaram um estudo de compatibilidade entre os fármacos nefazodona e fosinopril e os adjuvantes lactose e estearato de magnésio, por meio da preparação de misturas físicas binárias fármaco/adjuvante (1:1). Para isso valeram-se da DSC como método termo-analítico e dos métodos espectroscópicos UV e FT-IR, além da CLAE, na avaliação das possíveis interações decorrentes da estocagem à temperatura ambiente. Como resultados foram obtidas curvas de DSC das misturas que revelaram interações, mas que não foram confirmadas pelos outros métodos empregados. Segundo os autores, a DSC não fornece, no caso,

indícios suficientes que comprovem algum tipo de interação, o que os levou a recomendar uma melhor avaliação dos critérios para concluir sobre incompatibilidades pela DSC.

Em 2002, Pokharkar e colaboradores realizaram um estudo para verificar a compatibilidade entre a carbamazepina e uma série de adjuvantes empregados em comprimidos, onde as misturas binárias (1:5 e 5:1) foram submetidas à elevada temperatura (55 °C), durante 3 semanas. Para a avaliação deste estudo foram empregadas as técnicas de DSC, além da FT-IR e da XRD. Como resultados, a carbamazepina, de acordo como a DSC, apresentou interações com o manitol, o amido, o ácido esteárico e a celulose microcristalina, só que estes resultados não foram confirmados pelo FT-IR e pela XRD, levando ao autores a recomendar sempre o uso de métodos não-térmicos associados à DSC, neste tipo de estudo.

No entanto, freqüentemente, os resultados obtidos por DSC não são questionados.

Em 1987, Cotton e colaboradores efetuaram um estudo onde o efeito da compressão foi avaliado para misturas entre o fármaco maleato de enalapril e a celulose microcristalina, utilizando DSC, TGA, MEV e CLAE. Não foram observadas mudanças significativas na temperatura de fusão do fármaco, mas sim na entalpia de fusão do mesmo, que foi acentuadamente reduzida. Como as demais técnicas não revelaram nenhum tipo de interação, os autores sugeriram uma possível modificação no arranjo cristalino do fármaco, o que pode implicar em modificações na sua solubilidade e, portanto, na alteração da sua biodisponibilidade.

Em um estudo de pré-formulação, um novo β -lactâmico tricíclico, o GV118819x (Glaxo-SmithKline), foi avaliado quanto à sua compatibilidade frente aos adjuvantes polivinilpirrolidona, lactose e estearato de magnésio, por meio da preparação de misturas binárias fármaco/adjuvante em proporções de 80:20 e 20:80 (m/m) e submetidas a diferentes condições de umidade e temperatura. Foram utilizadas para este estudo, as técnicas de STA (TGA-DSC), FT-IR, XRD e MEV. Como

resultados foram constatadas incompatibilidades do fármaco com a lactose e com a polivinilpirrolidona, em diversos graus, dependendo das condições em que foram submetidas as misturas. Neste estudo, as técnicas não-térmicas confirmaram os resultados da STA, à exceção do resultado da mistura entre a droga experimental e o estearato de magnésio, submetida à elevada umidade. A STA apontou interações que não foram confirmadas pelas demais técnicas, o que levou aos autores a salientar a maior sensibilidade da técnica em relação aos métodos não-térmicos (ORLANDI *et al.*, 2002).

Apesar de não utilizados com grande frequência, os métodos estatísticos podem auxiliar na execução dos estudos de compatibilidade fármaco/adjuvante, que utilizam os métodos termo-analíticos.

Os diversos parâmetros envolvidos em uma análise por DSC como, a atmosfera empregada, a massa da amostra, o tipo de porta-amostras, a velocidade de aquecimento, entre outros, foram avaliados por Roy e colaboradores (2002). Com a finalidade de estabelecer os parâmetros mais adequados na realização dos estudos de compatibilidade, foram planejados desenhos estatísticos, como o desenho fatorial 2³, na avaliação destes parâmetros. Entre os resultados obtidos, os autores concluíram que a velocidade de aquecimento mais adequada deve ser de 2 °C/min e a massa da amostra empregada deve ser de no máximo 5 mg. Os mesmos salientam, porém, que estes parâmetros dependem de uma série de fatores, como o fármaco analisado e os objetivos do estudo, portanto, os resultados obtidos não podem ser considerados inquestionáveis.

Mura e colaboradores (2002) avaliaram a compatibilidade entre o naproxeno e adjuvantes empregados em comprimidos, mediante a aplicação de um desenho estatístico na preparação de diversas misturas binárias, e na avaliação estatística da correlação entre a entalpia e a temperatura de fusão do fármaco frente aos adjuvantes. A utilidade dos desenhos estatísticos foi comprovada pela ausência de interações entre as substâncias envolvidas neste estudo.

3.3.2.1.2 Caracterização físico-química e térmica de fármacos

Antes mesmo da etapa de formulação é muito importante levantar informações sobre as propriedades físico-químicas dos fármacos e sobre o comportamento térmico dos mesmos, que entre outras coisas, estará relacionado com a decomposição destes. Os dados adquiridos nesta etapa serão extremamente importantes em decisões críticas relacionadas às etapas subseqüentes do desenvolvimento. Dentro deste panorama, os métodos termo-analíticos encontram grande utilidade (LUNER *et al.*, 2001; WELLS, 1988).

Na literatura, encontram-se muitos trabalhos que empregam principalmente a DSC e a TGA, na avaliação destas propriedades, em fármacos inovadores ou não. Alguns dos fármacos estudados são: o ibuprofeno (LERDKANCHANAPORN & DOLLIMORE, 1997), o verapamil e o galopamil (RUSTICHELLI *et al.*, 1999), a nimesulida (FALLAVENA & SCHAPOVAL, 1999), o secnidazol (de ARMAS *et al.*, 2000), a fosfomicina (TOMASSETTI *et al.*, 2001), o captopril (ALEXANDER *et al.*, 2001) e a oxibutidina (LUNER *et al.*, 2001).

O estudo do comportamento térmico também já foi relatado para substâncias de origem natural, como terpenos, visando obter dados a respeito da estabilidade dos mesmos (MACEDO *et al.*, 1999).

Uma aplicação específica do estudo do comportamento térmico está na avaliação da cinética de decomposição de fármacos. Rodante e colaboradores (2002b), utilizando a análise termogravimétrica, realizaram uma avaliação dos parâmetros cinéticos de decomposição de algumas penicilinas (oxacilina, cloxacilina e dicloxacilina), visando determinar as energias de ativação relacionadas com as diversas etapas deste processo. A utilidade deste tipo de estudo está em fornecer importantes informações a respeito da estabilidade destas substâncias, em relação aos mecanismos envolvidos na degradação das mesmas.

3.3.2.2 Estudo de sólidos cristalinos

Muitos fármacos e adjuvantes são encontrados em mais de uma forma de organização cristalina, e, dependendo do tipo de arranjo, apresentam distintas propriedades físico-químicas que afetarão, por exemplo, a cor, a solubilidade, a estabilidade e a reatividade química destas substâncias, fatores extremamente relevantes no desenvolvimento de formas farmacêuticas. Os sólidos cristalinos podem existir na forma de polimorfos, de solvatos e de hidratos (GIRON, 1995; GRANT *et al.*, 2001).

Os métodos termo-analíticos, como a calorimetria exploratória diferencial e a termogravimetria, associados a métodos como os espectroscópicos, apresentam grande utilidade na determinação destes diversos estados cristalinos.

Em relação ao estudo do polimorfismo, muitos são os exemplos de fármacos que apresentam mais de uma forma polimórfica, como é o caso da carbamazepina, da ampicilina do paracetamol e do ácido acetilsalicílico, além de adjuvantes, como certos derivados da celulose, a lactose e o estearato de magnésio (GIRON, 1995). Alguns exemplos que mostram a aplicação da DSC são: os estudos da influência da granulação da carbamazepina (OTSUKA *et al.*, 1999); das formas polimórficas da famotidina (NAJIB *et al.*, 1988); do processo de secagem e arrefecimento no fluconazol (DHARWADKAR *et al.*, 2003).

Os solvatos e os hidratos podem ser formados durante o processo de cristalização de fármacos. Enquanto ocorre a formação do arranjo cristalino, moléculas do solvente podem ficar retidas passando a fazer parte da estrutura cristalina do fármaco, o que afetará as suas propriedades físico-químicas. Hidratos são formados quando o solvente de cristalização é a água (GIRON, 1995; GRANT *et al.*, 1995). Diversos trabalhos mostram a aplicação destes métodos, como: na caracterização de solvatos por meio da técnica acoplada TGA/FT-IR (BUGAY & RODRIGUEZ, 1997); na caracterização da ampicilina triidratada (SURYANARAYANAN *et al.*, 1998) e dos

hidratos da azitromicina (PANCHAGNULA *et al.*, 2002), utilizando DSC, entre outros.

3.3.2.3 Aplicações na Indústria Farmacêutica

Os métodos termo-analíticos, na Indústria Farmacêutica, não se constituem em técnicas alternativas e sim em uma realidade na rotina diária da produção. Isto se deve ao custo das análises por estes métodos, os quais, em relação aos não-térmicos é relativamente menor, mas principalmente ao grande volume de informações que, de forma rápida, é obtido, fato extremamente desejável (GIRON, 2002; WESOLOWSKI, 1992).

Técnicas como a DSC e a TGA e suas variações (STA, MDSC, PDSC, etc.), encontram grande aplicação principalmente nos setores do controle de qualidade (GIRON, 2002; WESOLOWSKI, 1992):

- caracterização de fármacos e adjuvantes;
- avaliação de produtos intermediários e acabados – teor de umidade, análise quantitativa e qualitativa dos componentes da formulação;
- controle de processos - avaliação do efeito de etapas tecnológicas nas características dos produtos (cominuição, micronização, mistura, agregação por via úmida, secagem, compressão, etc.), e
- avaliação da estabilidade de produtos acabados.

É importante salientar que as aplicações descritas nos itens anteriores também são de uso amíúde nos estabelecimentos industriais farmacêuticos. Estudos de compatibilidade fármaco/adjuvante são muito importantes na pesquisa e no desenvolvimento de novos produtos (GIRON, 2002).

São freqüentes os trabalhos que demonstram a aplicação destas técnicas, dentre os quais alguns exemplos são o estudo da homogeneidade de lotes de comprimidos de

atenolol (PYRAMIDES *et al.*, 1995), a avaliação da decomposição do ácido ascórbico em comprimidos (DOLLIMORE *et al.*, 1996), a avaliação do comportamento térmico de comprimidos de probenecida (ELDER & ROSEN, 1996), o estudo da estabilidade de comprimidos de prednisona (MACEDO *et al.*, 2001), estudos de cinética na avaliação da estabilidade e da compatibilidade de medicamentos (RODANTE *et al.*, 2001; RODANTE *et al.*, 2002a), o controle de qualidade de comprimidos de tiobendazol e cimetidina (MACEDO *et al.*, 2002a; MACEDO *et al.*, 2002b).

3.3.2.4 Outras aplicações

Outras aplicações dos métodos termo-analíticos são relatadas, como mostra a tabela 3. Cabe salientar que estas aplicações são encontradas com a mesma frequência em relação às descritas nos itens anteriores, mostrando a importância das análises térmicas nas Ciências Farmacêuticas.

Tabela 3: Outras importantes aplicações dos métodos termo-analíticos nas Ciências Farmacêuticas.

Área	Objetivos	Referências
Desenvolvimento de sistemas dispersos	nanopartículas. Análise das interações fármaco/	GUTERRES <i>et al.</i> , 2001; GUYOT & FAWAZ, 1998.
	ciclodextrinas. Avaliação da formação de complexos de inclusão.	MURA <i>et al.</i> 2002; BROWN <i>et al.</i> 2002; BETTINI <i>et al.</i> 2002.
Tecnologia Farmacêutica	caracterização de pós.	CRAIG <i>et al.</i> 2003
	inclusão de fármacos em materiais porosos.	DANJO <i>et al.</i> , 2001
Sistemas transdérmicos	avaliação e estudos de mecanismos de penetração	BARRY, 1987; GUYOT & FAWAZ, 2000; LI <i>et al.</i> , 2002
Dispersões sólidas	avaliação e caracterização de dispersões sólidas fármaco/fármaco e	AOKI <i>et al.</i> , 1997; MARÍN <i>et al.</i> , 2002; GRANT <i>et al.</i> , 2002.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Equipamentos e utensílios

- Agitador magnético Velp Scientifica ARE2, dotado de sistema de aquecimento;
- Aparelho de determinação de ponto de fusão Reichert, do tipo Kofler, dotado de microscópio e sistema de bloco aquecido;
- Balança analítica Mettler Toledo AB204;
- Balança semi-analítica Mettler PM 200 com sistema de secagem por infravermelho Mettler CP16;
- Calorímetro exploratório diferencial com compensação de potência Perkin-Elmer modelo DSC-4 acoplado a microprocessador de controle Thermal Analysis, System 4 e a estação de dados 3700;
- Câmara fotográfica digital Sony – Mavica modelo FD71 com resolução normal;
- Coluna para cromatografia gasosa Durabond – DB5 (John Wiley & Sons Scientific, U.S.A), com 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro interno preenchida com polidimetildifenilsiloxino contendo 5 % de grupamentos fenila, em filme de 0,25 μm de espessura;
- Cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massas (CG/MS) Shimadzu, modelo QP5000, equipado com quadrupolo cilíndrico, com energia de ionização obtida pela técnica de impacto eletrônico;
- Difratorômetro de raios-X Siemens, modelo D5000, dotado de ânodo de cobre e detector com monocromador, com programa computacional (Diffrac Plus[®] 2001 Evaluation, Bruker Advanced X-Ray Solution);
- Espectrofotômetro de varredura UV-VIS, feixe duplo, Hewlett–Packard 8452A, dotado de sistema de multicélulas, com programa computacional (HP UV-

- Visible Chemstation[®], versão A 02.05), utilizado com cubetas de quartzo com 1 cm de percurso ótico;
- Espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu DR-8001, com transformações de Fourier, Infrared FTIR-8101 dotado de feixe laser de He-Ne a 633 nm (0,5 mW) e prensa hidráulica SSP-10A;
 - Espectrômetro de ressonância magnética nuclear Varian XL-200, 200 MHz, acoplado à estação de dados Varian VXR 200;
 - Estufa de ar circulante Memmert modelo Tv 60uL;
 - Estufa termostatizada Biomatic;
 - Máquina Universal de Ensaio ATS, modelo 1105S acoplada ao sistema transdutor de ensaio aplicado ATS, modelo 1105C;
 - Misturador em “Y” com capacidade nominal de 2 L, acoplado a motor Erweka AR 400;
 - Potenciômetros Digimed DM pH 2 e WTW pH 330;
 - Porta-amostras para DSC, Rheometric Scientific L7199-L7182, de alumínio, com capacidade de 50 µL;
 - Prensa Thermal Science 5140, para fechamento de porta-amostras de DSC;
 - Tamis mesh 32 – ABNT 35 – com abertura de malha metálica correspondente a 1,0 mm;
 - Termobalança TA Instruments, modelo TGA 2050, acoplada à unidade de controle e processamento TA 2100, com sistema computacional (Thermal Advantage[®], versão 1.0) e de porta-amostra de alumina com capacidade de 100 µL;
 - Termo-higrômetro digital TFA;

- Viscosímetro Brookfield DV-II, dotado de spindle LV4.

4.1.2 Matérias-primas

4.1.2.1 Matéria-prima ativa

Isoniazida (grau BP 93; origem: Índia; lote 359INH), adquirida de Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda.

4.1.2.2 Adjuvantes Tecnológicos

Ácido esteárico (Synth, lote 17379); amido de milho (Delaware); celulose microcristalina (Microcel[®] MC 101, Blanver, lote 462/93); croscarmelose sódica (Explocel[®], Blanver, lote 18010/97); crospovidona micronizada (Kollidon[®] CL-M, BASF, lote 63-9129); dióxido de silício coloidal (Aerosil 200[®], Degussa, São Paulo); estearato de magnésio² (doado pela FEPPS/SES-RS); glicolato de amido sódico (Aglusol[®], Blanver, lote 3002/96); hipromelose³ (Methocel[®] K4M Premium, Dow Chemical, lote OI30012N13); lactose² (doado pela FEPPS/SES-RS); manitol (Vetec, lote 900605); povidona (Kollidon[®] K30, BASF, lote G73386PTO); talco² (doado pela FEPPS/SES-RS).

4.1.3 Reagentes, soluções e substância-referência

Todos os reagentes possuíam qualidade pró-análise, exceto quando especificado diferentemente.

- Ácido clorídrico R (F. Bras. IV);
- Ácido clorídrico 1 M (F. Bras. IV);
- Ácido clorídrico 0,5 M SV (F. Bras. IV);
- Amido SR (F. Bras. IV);

² Agradecimentos à Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS/SES-RS) pela doação destas matérias-primas.

³ Agradecimentos à Dow Chemical pela doação deste adjuvante farmacêutico.

- Brometo de potássio (Uvanol[®] Merck, lote 70103180) para espectroscopia na região do infravermelho;
- Cloreto de sódio (Nuclear);
- Clorofórmio (Merck);
- Dicromato de potássio (Reagen);
- Dimetilaminobenzaldeído (Merck);
- Etanol (Synth);
- Éter etílico (Synth);
- Fenofaleína SI (F. Bras. IV);
- Ferrocianeto de potássio TS (USP 26)
- Hidróxido de sódio 1 M (F. Bras. IV);
- Hidróxido de sódio 0,1 M SV (F. Bras. IV);
- Hidróxido de potássio alcoólico 0,5 M SV (F. Bras. IV);
- Iodo SR (F. Bras. IV);
- Metanol (Merck);
- Metanol deuterado (D 99,8%, DLM-24, Cambridge Isotope Laboratories);
- Sulfato de hidrazina (Merck);
- Tartarato de cúprico alcalino SR (F. Bras. III).
- Substância Química de Referência (SQR): isoniazida USP, lote 36H1179, Sigma;

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterização físico-química das matérias-primas

4.2.1.1 Matéria-prima ativa

4.2.1.1.1 Identificação da isoniazida

4.2.1.1.1.1 Reação de coloração (F. Bras. III)

A 0,01 g de isoniazida dissolvida em 0,5 mL de água destilada, foram adicionados 5 mL de tartarato cúprico alcalino SR, aquecendo-se à ebulição. Deve formar-se um precipitado vermelho-tijolo.

4.2.1.1.1.2 Determinação da faixa de fusão (USP 26)

Uma pequena quantidade de isoniazida foi dispersa em lâmina de vidro e sua faixa de fusão foi determinada em microscópio Kofler, em triplicata. A isoniazida deve fundir entre 170 e 173 °C.

Concomitantemente, a faixa de fusão foi determinada por calorimetria exploratória diferencial (DSC), durante a avaliação do comportamento térmico do fármaco.

4.2.1.1.2 Ensaio de pureza

4.2.1.1.2.1 Determinação da pureza da isoniazida por espectrofotometria na região do ultravioleta (BREWER, 1977; MOFFAT, 1988; USP 26).

A pureza da isoniazida, expressa em porcentagem relativa ao padrão, foi determinada mediante a comparação das absorvâncias obtidas das soluções amostra e padrão, de concentrações semelhantes. Assim sendo, foi preparada uma solução da isoniazida padrão (SQR) com concentração de 250 µg/mL corrigida a pH 2, mediante adição de ácido clorídrico 1 M e, da mesma forma, procedeu-se a preparação da solução amostra de isoniazida. A absorvância foi determinada em espectrofotômetro na região do ultravioleta, em 266 nm.

4.2.1.1.2.2 Determinação do pH (USP 26)

Preparou-se solução aquosa de isoniazida a 10 % (m/v), e, mediante prévia calibração do potenciômetro com soluções tampões pH 4,0 e 7,0, procedeu-se a leitura do pH da solução, sendo que seu valor deve estar entre 6,0 e 7,5.

4.2.1.1.2.3 Perda por dessecação (USP 26)

Foi empregada balança semi-analítica com sistema de secagem por infravermelho, com sensibilidade de 120 s e temperatura de 110 °C. Em pesa-filtros previamente dessecados, foram pesados exatamente cerca de 500 mg de amostra, sendo que o resultado obtido foi expresso em porcentagem de umidade, calculado pela média aritmética de três determinações.

O teor de umidade máximo para a isoniazida não pode ser superior a 1,0 %.

4.2.1.1.2.4 Determinação de hidrazina livre (F. Bras. III)

Para a determinação da presença de hidrazina livre, a uma solução diluída de isoniazida, adicionou-se dimetilaminobenzaldeído na presença de cloreto de sódio. Ao adicionar ácido clorídrico R, a solução não deve desenvolver coloração alaranjada

mais intensa do que a produzida por uma solução aquosa de referência contendo isoniazida e sulfato de hidrazina.

A concentração de hidrazina livre na solução de isoniazida não poderá ser superior a 0,1 %.

4.2.1.2 Adjuvantes tecnológicos

4.2.1.2.1 Ácido esteárico

4.2.1.2.1.2 Índice de acidez (F. Bras. IV, 2000)

Foi pesado exatamente cerca de 1,0 g de amostra e dissolvido em 50 mL de mistura de partes iguais de álcool etílico e éter, previamente neutralizada com NaOH 0,1M SV. Como não ocorreu dissolução acoplou-se o frasco a um condensador de refluxo vertical e foi então aquecido lentamente, sob agitação freqüente. Logo após a completa dissolução, para a neutralização dos ácidos graxos livres, adicionou-se 1 mL de fenoftaleína SI e foi titulado com NaOH 0,1M SV até persistência da cor rósea pálida durante 30 segundos sob agitação. Da mesma forma foi preparada uma solução de compensação para a correção do volume do titulante consumido.

O ensaio foi realizado em duplicata e o resultado obtido da média das duas determinações.

O índice de acidez foi expresso em unidades de massa (mg) de hidróxido de potássio necessários para a neutralização dos ácidos graxos livres em 10 g de amostra.

Para o ácido esteárico, o índice de acidez deve estar entre 200 e 212.

4.2.1.2.1.3 Índice de saponificação (F. Bras. IV, 2000)

A 2,0 g de amostra exatamente pesados foram dissolvidos em 25 mL de KOH alcoólico 0,5 M SV. Logo a seguir foi acoplado condensador de refluxo vertical ao recipiente que continha a solução e mantida em banho de água fervente durante 30 min sob rotação freqüente. De depois de arrefecida, à solução adicionou-se 1 mL de

fenoftaleína SI e o excesso de KOH alcoólico 0,5 M SV foi titulado com HCl 0,5 M SV. Em paralelo procedeu-se determinação de um branco, para a correção do volume de titulante consumido para a amostra. Esta análise foi realizada em duplicata. O índice de saponificação foi fornecido pela fórmula

$$IS = \frac{V.f.28,05}{m} \quad (\text{Eq. 3})$$

onde, V = volume corrigido de HCl 0,5 M SV consumido; f = fator de correção, se houver, do HCl SV e m = massa, em g, da tomada de ensaio.

O resultado foi dado pela média das duas determinações.

O índice de saponificação foi expresso em unidades de massa (mg) de hidróxido de potássio necessários para a neutralização dos ácidos graxos livres e saponificação dos ésteres presentes em 1 g de amostra.

Para o ácido esteárico, o índice de saponificação deve estar entre 200 e 220.

4.2.1.2.2 Amido de milho

4.2.1.2.2.1 Testes de identificação

Foram executados os testes A e B, descritos pela F. Bras. IV (2000):

Teste A: Misturou-se 1 g da amostra com 2 mL de água fria, e, logo seguir, a dispersão foi vertida sobre 15 mL de água fervente. Em seguida ferveu-se a solução brandamente por 2 min, sendo logo após resfriada.

Deve-se formar um produto gelatinoso, claro e translúcido.

Teste B: À mistura gelatinosa descrita em A, foi adicionada 1 gota de solução de iodo SR.

Deve desenvolver uma cor azul profunda, que desaparece pela fervura e retorna pelo resfriamento.

4.2.1.2.2.2 Determinação do pH (F. Bras. IV, 2000)

Foi preparada uma dispersão a 20 % (m/V), por agitação constante durante 5 min. Logo a seguir procedeu-se a leitura do pH, de acordo com a técnica descrita em 4.2.1.1.2.1.

Para o amido de milho, o pH deve estar entre 4,5 e 7,0.

4.2.1.2.2.2 Determinação da perda por dessecação

Este ensaio foi executado pelo método da F. Bras. IV:

Foram pesados exatamente cerca de 500 mg de amostra e colocados, de forma homogênea, em pesa-filtro previamente dessecado durante 30 minutos à temperatura de 105 °C, em estufa termostatizada. Depois de transcorridas 2 horas de secagem, a amostra contida no pesa-filtro foi esfriada à temperatura ambiente e o seu peso determinado. A amostra foi colocada novamente na estufa e aquecida durante 1 hora. Novamente foi esfriada à temperatura ambiente e pesada. Este procedimento foi repetido até se obter peso constante.

O resultado obtido foi expresso em porcentagem de perda de massa, calculado pela média aritmética de três determinações.

O teor de umidade máximo para o amido de milho não pode ser superior a 15,0 % (F. Bras. IV, 2000).

4.2.1.2.3 Hipromelose (USP 26)

4.2.1.2.3.1 Identificação

A identificação foi realizada de acordo com o teste A. Em béquer com 100 mL de água destilada foi adicionado 1 g de hipromelose, mantendo o recipiente fechado até sua completa dispersão. Depois de aproximadamente 5 h de repouso, a dispersão de aspecto mucilaginoso e transparente, foi agitada até a dispersão completa do polímero. Após da adição de volume equivalente de NaOH 1 M ou HCl 1 M, a dispersão deve permanecer estável.

4.2.1.2.3.2 Determinação da perda por dessecação (USP 26).

O ensaio de perda por dessecação foi realizado pelo método descrito no item 4.2.1.1.2.3.

O teor de umidade máximo para a hipromelose não pode ser superior a 5,0 %.

4.2.1.2.3.3 Determinação da viscosidade

Para a determinação da viscosidade, foi preparada uma dispersão seguindo a metodologia descrita pela USP 26.

Foram pesados exatamente 2 g da substância em béquer de 250 mL. À amostra foram adicionados 98 g de água destilada em temperatura entre 80 e 90 °C, seguida de agitação por 10 min. Depois de transcorrido o tempo, a dispersão formada foi colocada em banho de gelo e mantida sob agitação por mais 40 min, até a completa dispersão do polímero. A viscosidade foi determinada em viscosímetro Brookfield, utilizando *spindle* LV4, mantido à rotação de 30 rpm, com torque superior a 10 % e inferior a 100 %. A faixa de viscosidade foi calculada a partir dos valores mínimos e máximos obtidos de cinco determinações.

A hipromelose deve apresentar viscosidade nominal de 4000 mPa.s, sendo aceita uma faixa de variação de 3000 a 5600 mPa.s (KIBBE, 2000).

4.2.1.2.4 Talco

4.2.1.2.4.1 Reação e substâncias solúveis (USP 26)

Foram fervidos 10 g da amostra em 50 mL de água por 30 min. A seguir, foi adicionada água para completar o volume original e a suspensão filtrada. O filtrado foi contido em papel filtro e colocado em estufa à temperatura de 105 °C, durante uma hora.

O peso do resíduo resultante não pode exceder 0,1 % da massa total.

4.2.1.2.4.2 Ferro solúvel (USP 26)

O resíduo, obtido no item 4.2.1.2.4.1, foi levemente acidificado com ácido clorídrico e logo a seguir foi adicionada 1 gota de ferrocianeto de potássio TS.

O resíduo acidificado não pode desenvolver coloração azul.

4.2.2.4.3 Determinação da perda por dessecação

Este ensaio foi realizado seguindo o método descrito no item 4.2.1.2.2.2.

O teor de umidade do talco não pode ser superior a 0,2 % (HARTKE *et al.*, 2000).

4.2.1.2.4.4 Determinação do pH

Foi preparada uma dispersão a 20 % (m/V). Procedeu-se a leitura do pH, de acordo com a técnica descrita em 4.2.1.1.2.1.

O pH do talco deve estar entre 6,5 e 10,0 (KIBBE, 2000).

4.2.1.2.5 Adjuvantes tecnológicos previamente caracterizados

Não foram executados ensaios de identificação para os adjuvantes abaixo listados, devido a que os mesmos terem sido caracterizados em trabalhos recentes:

Celulose microcristalina, croscarmelose sódica, crospovidona micronizada; dióxido de silício coloidal; estearato de magnésio; glicolato de amido sódico; lactose; manitol e povidona.

Assim sendo, optou-se pela execução de um protocolo geral composto de dois ensaios para cada um destes adjuvantes, à exceção do manitol, a fim de verificar se os mesmos permaneciam inalterados quanto à suas propriedades físico-químicas e, portanto, tecnológicas.

- Protocolo geral:

Ensaio A - Determinação da perda por dessecação. O teor de umidade dos adjuvantes foi determinado seguindo o método descrito no item 4.2.1.2.2.2.

Ensaio B - Determinação do pH. Foram preparadas soluções/dispersões dos adjuvantes em questão, nas concentrações que constam na tabela 4, de acordo com o preconizado nas monografias oficiais dos mesmos:

Tabela 4: Concentrações das soluções/dispersões dos adjuvantes, para a leitura do pH, de acordo com descrito nas monografias oficiais

Adjuvante	Concentração	Referência
Celulose microcristalina	12,5 % (m/V)	USP 26
Croscarmelose sódica	1 % (m/V)	USP 26
Crospovidona	1 % (m/V)	USP 26
Dióxido de silício coloidal	4 % (m/V)	USP 26
Estearato de magnésio	1 % (m/V)	F. Bras. IV, 2000
Glicolato de amido sódico	3,33 % (m/V)	USP 26
Lactose	10 % (m/V)	F. Bras. IV, 2000
Povidona	5 % (m/V)	USP 26

Logo após a preparação das soluções/dispersões, procedeu-se a determinação dos pH, como descrito no item 4.2.1.1.2.1.

4.3 Avaliação do comportamento térmico das matérias-primas envolvidas

As matérias-primas abaixo listadas foram submetidas à análise por calorimetria exploratória diferencial (DSC), com a finalidade de estabelecer parâmetros de comparação baseados nos perfis térmicos das substâncias referidas, e para definir a faixa de aquecimento em que as misturas envolvidas seriam submetidas:

- Isoniazida;
- Ácido esteárico;
- Amido de milho;
- Celulose microcristalina;
- Croscarmelose sódica;
- Crospovidona;
- Dióxido de silício coloidal;
- Estearato de magnésio;
- Glicolato de amido sódico;
- Hipromelose;
- Lactose;
- Manitol;
- Povidona;
- Talco.

Como método auxiliar à calorimetria exploratória diferencial, foram também realizadas, análises por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), para todas as matérias-primas.

4.3.1 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As análises foram realizadas no Laboratório de Medidas Térmicas do Instituto de Química da UFRGS³, utilizando calorímetro exploratório diferencial com compensação de potência, calibrado com índio (156,6 °C, energia de transição – 6,80 cal/g).

³ Agradecimentos ao Prof. Paulo Brenner pelo auxílio na execução destas análises.

Foram exatamente pesados de 2 a 10 mg de cada amostra, sendo as mesmas acondicionadas em porta-amostras selados de alumínio, com volume nominal de 50 μL . As condições iniciais de análise foram:

- Faixa de aquecimento – 40 a 300 °C;
- Velocidade de aquecimento – 10 °C/min;
- Atmosfera de análise – ar, estático.

De cada amostra foram obtidas, no mínimo, duas curvas de aquecimento. Foi efetuada a calibração da linha de base, a partir do porta-amostra de referência em todos os dias de análise e quando as condições analíticas foram modificadas.

4.3.2 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

As análises foram realizadas no Laboratório de Química Farmacêutica da Faculdade de Farmácia, UFRGS.⁴

Todos os espectros foram obtidos em espectrofotômetro com transformações de Fourier no modo transmitância, com 4 cm^{-1} de resolução e 40 acumulações, cobrindo a faixa de frequência de 4000 a 600 cm^{-1} .

Para a obtenção dos espectros, cerca de 1,5 mg de amostra foram triturados em gral de ágata juntamente com 150 mg de brometo de potássio, e, para a obtenção das pastilhas, submetidas à compressão em prensa hidráulica, utilizando pressão de 6×10^4 N/cm^2 , durante três minutos.

⁴ Agradecimentos à Prof. Dr. Ana Bergold por disponibilizar o equipamento e à Letícia Flores, pelo auxílio na obtenção dos espectros.

4.3.3 Termogravimetria (TGA)

Estas análises foram realizadas no Laboratório de Polímeros (LAPOL) do curso de Engenharia de Materiais, UFRGS⁵, em termobalança, para a obtenção das curvas termogravimétricas.

Foram pesadas exatamente cerca de 5 mg de cada amostra, sendo acondicionadas em porta-amostra de alumina, com volume nominal de 100 µL. As condições experimentais foram as seguintes:

- Faixa de aquecimento: 30 a 1000 °C;
- Velocidade de aquecimento: 20 °C/min;
- Atmosfera: Nitrogênio, com fluxo de 60 mL/min.

Para cada dia de análise, foi efetuada a calibração da balança, de acordo com as especificações do fabricante.

Foram analisadas por termogravimetria as seguintes matérias-primas:

Isoniazida, ácido esteárico, estearato de magnésio e lactose.

Para a isoniazida foi realizada uma análise adicional, tendo sido modificadas a velocidade (10 °C/min) e a faixa de aquecimento (30 a 500 °C), mantendo os demais parâmetros como anteriormente descritos.

4.3.4 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/MS)

Parte da amostra contida no porta-amostras resultante do primeiro experimento de DSC da isoniazida foi analisada utilizando cromatógrafo gasoso acoplado ao

⁵ Agradecimentos ao Prof. Dr. Carlos Ferreira, por possibilitar a realização destas análises.

espectrômetro de massas, operado com energia de ionização de 70 eV, sendo obtido pela técnica de impacto eletrônico.⁶

As condições de análise foram as seguintes (LIMBERGER, 1998):

- Programa de temperatura: 60 a 300 °C (60 °C – 3 min, aquecimento à velocidade de 15 °C/min até 300 °C);
- Tempo de análise: 10 min;
- Temperatura do injetor: 220 °C;
- Detector (DIC) / Interface (EM): 250 °C;
- Razão de divisão de fluxo: 1:50 (CG/DIC);
- Volume de amostra: 3 µL em clorofórmio e metanol (q.s.p. dissolver);
- Intervalo de massa: 40 – 600 u.m.a..

4.3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

Amostra contida no porta-amostra resultante do primeiro experimento de DSC da isoniazida foi submetido à análise pelas técnicas de RMN ¹H e RMN ¹³C, no Laboratório de Ressonância Magnética Nuclear, Instituto de Química da UFRGS.

4.3.5.1 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H)

Para a obtenção deste espectro, foram utilizados aproximadamente 5 mg de amostra, dissolvidos de metanol deuterado.

⁶ Agradecimentos à Prof. Dr. Amélia Henriques por possibilitar esta análise e ao doutorante Rogério Petersen pela execução desta análise.

4.3.5.2 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear de carbono 13 (RMN ¹³C)

Para a obtenção deste espectro, foram utilizados aproximadamente 10 mg de amostra, dissolvidos em metanol deuterado.

4.3.6 Difractometria de Raios X

As análises foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios-X do Instituto de Geociências da UFRGS. Os difratogramas foram obtidos utilizando difratômetro de raios-X, provido de fonte com filamento de cobre e filtro de níquel, voltagem de 40 kV e corrente de 30 mA (potência de 1200 W), fendas de 1° e 1° (divergente e convergente) e cristal monocromador de grafite. As amostras foram analisadas com varredura de 2 a 72° 2θ a 0,02°/s.

Para estas análises foram empregadas amostras de isoniazida e manitol.

4.4 Avaliação da compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas físicas binárias

Neste estudo, foi avaliada a compatibilidade por DSC auxiliada da FT-IR, entre o fármaco isoniazida e adjuvantes tecnológicos empregados em formas farmacêuticas sólidas, mediante a preparação de misturas físicas binárias dos mesmos. Para isto, foram preparadas misturas entre o fármaco e os adjuvantes, utilizando no mínimo duas proporções distintas: 1:1 (m/m) e outra, onde o adjuvante encontra-se presente em porcentagens usualmente empregadas em formulações (KIBBE, 2000; HOEPFNER *et al.*, 2002).

Na tabela 5, encontram-se relacionadas as misturas preparadas:

Tabela 5: Proporções empregadas entre a isoniazida e adjuvantes na preparação das misturas físicas binárias.

Mistura Isoniazida /Adjuvante	Proporções (m/m)
INH: ac. esteárico	1:1; 97:3
INH: amido	1:1; 60:40
INH: celulose microcristalina	1:1; 70:30
INH: croscarmelose sódica	1:1; 98:2
INH: crospovidona	1:1; 95:5
INH: dióxido de silício coloidal	1:1; 97:3
INH: estearato de magnésio	1:1; 95:5
INH: glicolato de amido sódico	1:1; 96:4
INH: hipromelose	1:1; 60:40
INH: lactose	1:1; 60:40
INH: manitol	1:1; 60:40; 90:10; 80:20; 70:30; 40:60; 30:70; 20:80; 10:90
INH: povidona	1:1; 97:3
INH: talco	1:1; 90:10

4.4.1 Preparação das misturas físicas binárias (LANTZ & SCHWARTZ, 1990; PRISTA *et al.*, 1996)

As misturas físicas binárias dos pós para a execução deste estudo, foram preparadas usando gral de porcelana e pistilo, misturadas durante 10 min.

A massa relativa a cada matéria-prima foi pesada em balança semi-analítica, de maneira individual e em quantidade suficiente para se obter lotes de 10 g de cada mistura. A adição das substâncias ao gral foi realizada de duas maneiras: quando as proporções de substâncias eram praticamente equivalentes (m/m), pelo método de

semelhança de massa e quando em proporções distintas (m/m), pelo método de diluição geométrica.

Todas as misturas foram preparadas e mantidas sob condições de temperatura e umidade controladas.

4.4.2 Análise por calorimetria exploratória diferencial

Todas as misturas foram avaliadas por DSC na mesma semana em que foram preparadas. Estas análises foram realizadas seguindo a metodologia descrita no item 4.3.1, à exceção da faixa de aquecimento, que respeitou os parâmetros estabelecidos em 4.3, de acordo como mostrado na tabela 6:

Tabela 6: Faixa de aquecimento empregada para cada tipo de mistura física, para a realização da DSC:

Mistura Isoniazida /Adjuvante	Faixa de aquecimento (°C)
INH: ac. esteárico	40 a 230
INH: amido	40 a 250
INH: celulose microcristalina	40 a 260
INH: croscarmelose sódica	40 a 260
INH: crospovidona	40 a 260
INH: dióxido de silício coloidal	40 a 260
INH: estearato de magnésio	40 a 220
INH: glicolato de amido sódico	40 a 260
INH: hipromelose	40 a 260
INH: lactose	40 a 230
INH: manitol	40 a 260
INH: povidona	40 a 260
INH: talco	40 a 260

A mistura física entre a isoniazida e o manitol (1:1) foi realizada utilizando velocidade de aquecimento de 5 °C/min, devido à semelhança entre as suas temperaturas de fusão (USP 26; KIBBE, 2000)

4.4.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Foram analisadas por esta técnica, todas as misturas físicas binárias, de acordo com a metodologia descrita em 4.3.2.

4.4.4 Termogravimetria (TGA)

Foram submetidas à análise por termogravimetria (TGA), de acordo com a metodologia descrita em 4.3.3, as misturas binárias abaixo relacionadas:

- isoniazida - ac. esteárico (1:1);
- isoniazida – amido (1:1);
- isoniazida – crospovidona (1:1);
- isoniazida - estearato de magnésio (1:1);
- isoniazida - glicolato de amido sódico (1:1);
- isoniazida – hipromelose (1:1);
- isoniazida - lactose (1:1);
- isoniazida - povidona (1:1).

4.4.5 Difractometria de Raios-X

Esta análise foi realizada seguindo metodologia descrita em 4.3.6.

Foi analisada por difratometria de Raios-X, a mistura binária entre a isoniazida e o manitol (1:1) e uma mistura fundida destes adjuvantes, na mesma proporção mencionada, obtida como descrito a seguir.

Inicialmente, foi preparada uma mistura física entre a isoniazida e o manitol, seguindo a técnica descrita no item 4.4.1. Em seguida, aproximadamente 3 g desta

mistura foram colocados em tubo de ensaio com tampa esmerilhada e aquecidos em banho de óleo 5 °C acima da temperatura de fusão da mistura. Depois de completamente fundida, a mistura foi resfriada à temperatura ambiente, durante 3 dias. Posteriormente, aproximadamente 1 g da mistura fundida foi retirada do tubo e triturada para a realização da análise por difratometria de Raios-X.

4.5. Estudo da influência da agregação por via úmida na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas com proporções de formulação

A influência da agregação por via úmida na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes empregados com as funções de material de enchimento e carga e de aglutinante, foram avaliadas. Para isto, as misturas relacionadas na tabela 7 foram submetidas a este estudo:

Tabela 7: Misturas binárias submetidas à agregação por via úmida.

Mistura Isoniazida /Adjuvante	Proporção (m/m)
INH: amido	60:40
INH: celulose microcristalina	70:30
INH: hipromelose	60:40
INH: lactose	60:40
INH: manitol	60:40
INH: povidona	97:3

4.5.1 Preparação das misturas

A massa relativa a cada matéria-prima foi pesada em balança semi-analítica, de maneira individual e em quantidade suficiente para se obter lotes de 50 g de cada mistura. Para a mistura em si, foi empregado misturador em “Y” acoplado a motor multiuso, a 30 rpm, durante 10 minutos.

4.5.2 Agregação por via úmida

As misturas preparadas em 4.5.1 foram umedecidas por espatulação, empregando água destilada como solvente, até se obter uma umidificação adequada da mistura. A seguir, as misturas umectadas foram forçadas em tamis de abertura nominal de 1,0 mm e colocadas em estufa de ar circulante a 40 °C durante 24 horas, para a sua secagem.

Após completar o período de secagem, como controle da umidade residual, realizou-se a perda por dessecação de cada mistura agregada, seguindo o método descrito no item 4.2.1.2.2.2.

4.5.3 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As misturas agregadas obtidas no item 4.5.1 foram trituradas e reduzidas a pó usando gral de porcelana e pistilo, sendo posteriormente analisadas por calorimetria exploratória diferencial, seguindo a técnica descrita em 4.3.1, utilizando as faixas de aquecimento estabelecidas no item 4.4.2, relacionadas na tabela 6.

4.5.4 Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

Foram analisadas por esta técnica, todas as misturas submetidas à agregação por via úmida, de acordo com a metodologia descrita em 4.3.2.

4.5.5 Termogravimetria (TGA)

A mistura isoniazida/lactose (60:40), submetida à agregação por via úmida, foi analisada por termogravimetria (TGA), de acordo com o método descrito em 4.3.3.

4.6 Avaliação da influência do processo de compactação na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes em misturas com proporções de massa equivalente

Com a finalidade de verificar o efeito do processo de compactação na compatibilidade entre a isoniazida e adjuvantes com as funções de material de

enchimento e carga e também de lubrificante, foi realizada uma simulação desta etapa empregando as seguintes misturas (1:1):

- isoniazida – amido;
- isoniazida – celulose microcristalina;
- isoniazida – estearato de magnésio;
- isoniazida – hipromelose;
- isoniazida – lactose;
- isoniazida – manitol;
- isoniazida – talco.

4.6.1 Obtenção dos compactos

Inicialmente foram obtidas misturas binárias das substâncias acima relacionadas, seguindo a técnica descrita no item 4.4.1.

Os compactos foram obtidos no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER) do curso de Engenharia de Materiais, UFRGS.⁷ Para isto foi utilizada máquina universal de ensaios (ATS, modelo 1105), provida de célula de deformação em “S” e dotada de sistema de transdutor de sinal (ATS, modelo 1105C). As peças que simularam a matriz e os punções superior e inferior foram confeccionados em nylon e aço corrido respectivamente, ambos com diâmetro de 8 mm.

O valor do esforço aplicado é obtido a partir do sinal elétrico gerado pela deformação da célula em “S” durante a compressão. Os sinais elétricos gerados pela célula são convertidos a valores absolutos de leitura pelo transdutor de sinal, que por

⁷ Agradecimentos ao Prof. Dr. Carlos Bergmann, por possibilitar a realização destes experimentos

sua vez são transformados em valores de força aplicada (kgf) pela equação de calibração (equação 4):

$$Y = -0,000003 * (X^2) + (0,214677) * (X) + (0,065053) \quad (\text{eq. 4})$$

Onde: Y = valor indicado pelo transdutor e X = força aplicada (kgf).

Os valores de força aplicada, obtidos em kgf, foram convertidos em N (1 kgf = 10 N).

Para a obtenção dos compactos, de cada mistura foram pesados, exatamente e individualmente, cinco amostras com cerca de 250 mg, assim resultando em cinco compactos.

O equipamento foi operado no modo manual, com velocidade de aplicação de carga de 0,51 cm/min. Para cada compacto foi aplicada uma força correspondente a aproximadamente 10 kN. O valor final da força aplicada foi determinado a partir da média das leituras dos cinco compactos obtidos.

4.6.2 Análise por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Para a realização destes ensaios, os compactos obtidos das misturas binárias em 4.6.1 foram primeiramente triturados e reduzidos a pó, em gral de porcelana e pistilo. Todas as misturas foram analisadas, seguindo a técnica descrita em 4.3.1, utilizando as faixas de aquecimento estabelecidas no item 4.4.2, relacionadas na tabela 6.

4.6.3 Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

Foram analisados por esta técnica os compactos triturados em 4.6.1, seguindo o método descrito em 4.3.2.

