

Carla Giordani Testa

**Desenvolvimento de medicamento similar de olanzapina comprimidos  
revestidos**

Rio de Janeiro

2014

Carla Giordani Testa

**Desenvolvimento de medicamento similar de olanzapina comprimidos revestidos**

Dissertação de Mestrado apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos - FIOCRUZ

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Rio de Janeiro

2014

Carla Giordani Testa

### Ficha catalográfica elaborada pela

Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos/ Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ

T342

Testa, Carla Giordani

Desenvolvimento de medicamento similar de olanzapina comprimidos revestidos. / Carla Giordani Testa. – Rio de Janeiro, 2014.

xx, 167 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha

Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia em Fármacos-Farmanguinhos, Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, 2014.

Bibliografia: f. 175-187

1. Olanzapina. 2. Caracterização da matéria prima. 3. Perfil de dissolução compartivo. I. Título.

CDD 615.1

Carla Giordani Testa

**Desenvolvimento de medicamento similar de olanzapina comprimidos revestidos**

Dissertação de Mestrado apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz

Aprovada em \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2014.

Banca Examinadora:

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha (orientador – presidente da banca)  
(Farmanguinhos – FIOCRUZ)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Erika Martins de Carvalho  
(Farmanguinhos - FIOCRUZ)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. Luiz Cláudio Rodrigues Pereira da Silva  
(Faculdade de Farmácia – Universidade Federal do Rio de Janeiro)

\_\_\_\_\_  
Prof. Dra. Samanta Cardozo Mourão  
(Faculdade de Farmácia – Universidade Federal Fluminense)

Rio de Janeiro

2014

Dedico este trabalho aos meus pais, que me mostram todos os dias que não é preciso estar perto para estar junto. Amo vocês.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha família, pai, mãe, Pati e Di, por todo amor, compreensão e apoio incondicionais em todos os momentos.

Às minhas queridas amigas poderosas Ana, Daniela, Fernanda, Gizela, Kátia, Halliny, Letícia e Vivi pela amizade, pelas risadas e companheirismo todos os dias. Vocês, com certeza, tornaram esta caminhada mais fácil.

Ao Helvécio pela confiança no meu trabalho e disponibilidade, desde o primeiro momento, em me ajudar a concretizar este projeto.

À Livia Prado, pela ajuda inestimável na realização das análises e discussão dos resultados.

Ao Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da Universidade Federal Fluminense, ao Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, ao Laboratório de Estudos do estado Sólido (LEES) de Farmanguinhos, ao Setor de Caracterização Tecnológica da Coordenação de Análise Mineral (SCT/COAM) do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM) e ao Laboratório da Escola de Química (LADEQ/COPPE – UFRJ) pela liberação e colaboração na realização das análises.

Ao CF (S) Paulo e CC (S) Alex pela paciência, pelos conselhos e compreensão nos momentos difíceis, sempre dispostos a me ajudar.

À minha turma de mestrado. Foi um prazer conhecê-los e poder dividir este período com vocês. Em especial, ao Francisco, pelo companheirismo e amizade nestes dois anos.

Aos Funcionários do Departamento de Desenvolvimento por toda a ajuda na realização deste trabalho.

À Direção do LFM pela oportunidade e liberação para as atividades do Mestrado.

Sempre faço o que não consigo fazer para aprender  
o que não sei.

Pablo Picasso

## RESUMO

TESTA, C.G. Desenvolvimento de medicamento similar de olanzapina comprimidos revestidos. 2014. 187f. Dissertação apresentada como um dos requisitos para a obtenção do título de Mestre ao Programa de Pós-graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2014.

A olanzapina é um fármaco antipsicótico de segunda geração indicada no tratamento da esquizofrenia e do transtorno bipolar. O fármaco pode ser cristalizado em mais de 25 formas diferentes: três anidras (I, II e III), três polimorfos diidratados (B, D e E), um hidrato maior, além de inúmeros solvatos. A olanzapina é uma base fraca, com solubilidade dependente de pH, sendo solúvel em soluções ácidas e pouco solúvel em meio básico. O fármaco pertence à classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Em função de suas características de cristalinidade e solubilidade, lotes de olanzapina de três fabricantes diferentes foram caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas, com o objetivo de subsidiar o desenvolvimento de um medicamento similar de comprimidos revestidos de olanzapina. Além dos ensaios previstos na monografia da matéria-prima na Farmacopéia Americana (USP, 2013), as amostras foram analisadas por difração de raios X, espectroscopia no infravermelho, análise térmica, microscopia, difração de LASER e estudos de solubilidade e dissolução. Os resultados obtidos indicam que as amostras avaliadas são compostas de misturas dos polimorfos anidros I e II da olanzapina. Os lotes também apresentaram diferentes distribuições de tamanho de partículas. No entanto, as diferenças na granulometria e cristalinidade não corresponderam a diferenças significativas na solubilidade e dissolução das amostras em diferentes meios com pH na faixa fisiológica. A partir dos resultados dos estudos de pré-formulação, foram propostas formulações por compressão direta para o medicamento olanzapina comprimidos revestidos na concentração de 10 mg. As formulações foram avaliadas quanto à conformidade com os ensaios previstos em compêndios oficiais e quanto à similaridade dos perfis de dissolução *in vitro* com os perfis obtidos para o medicamento referência no mercado nacional. Os resultados obtidos demonstram a equivalência das formulações testadas com as amostras dos diferentes fabricantes em relação ao medicamento referência, nos meios de dissolução com pH entre 1,2 a 6,8.

Palavras-chave: Olanzapina. Polimorfos. Caracterização da matéria-prima. Perfil de dissolução comparativo.

## ABSTRACT

TESTA, C.G. Development of similar drug olanzapine coated tablets. 2014. 187f. Dissertation submitted as a requirement for obtaining the title of Master, Postgraduate Program in Management, Research and Development in Pharmaceutical Industry, The Institute of Pharmaceutical Technology – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2014.

Olanzapine is a second generation antipsychotic drug indicated for the treatment of schizophrenia and bipolar disorder. The drug crystallizes in more than 25 different forms: three anhydrides (I, II and III), three polymorphic dihydrates (B, D, and E), a higher hydrate and numerous solvates. Olanzapine is a weak base with pH dependent solubility and is soluble in acidic solutions and slightly soluble in basic medium. The drug belongs to the class II of the Biopharmaceutical Classification System. Due to its characteristics of crystallinity and solubility, three lots of olanzapine from different manufacturers were evaluated according to their physicochemical properties, with the aim of supporting the development of similar drug olanzapine coated tablets. In addition to the tests described in the monograph of raw material in the United States Pharmacopoeia (USP, 2013), the samples were analyzed by X ray diffraction, infrared spectroscopy, thermal analysis, microscopy, LASER diffraction and solubility and dissolution studies. The results indicate the samples tested are composed of mixtures of the anhydrous polymorphs I and II of olanzapine. The lots also had different particle size distributions. However, differences in crystallinity and particle size does not correspond to differences in the solubility and dissolution of the samples in different media in the physiological pH range. Considering the results of the preformulation studies, direct compression formulation for coated tablets of olanzapine 10 mg were proposed. The formulations were evaluated for compliance with the tests described in official compendia and the similarity of the in vitro dissolution profiles with the profiles obtained for the reference product in the Brazilian Market. The results obtained demonstrate the equivalence of the formulations tested with samples from different manufacturers in relation to the reference drug in dissolution media with pH between 1.2 to 6.8.

Key words: Olanzapine. Polymorphs. Characterization of raw material. Comparative dissolution profile.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química da olanzapina (USP, 2013).....	23
Figura 2. Dois enantiômeros opostos de olanzapina formando uma cela unitária (a) e rede cristalina (b) da forma I (Adaptado de REUTZEL-EDENS <i>et al.</i> , 2003).....	32
Figura 3. Padrões de difração dos polimorfos I e II de olanzapina. “✓” mostram os picos característicos da forma I e “*” da forma II (adaptado de TIWARI <i>et al.</i> , 2007). .....	35
Figura 4. Curvas de DSC das formas I (a) e II (b) de olanzapina (POLLA <i>et al.</i> , 2005) .....	37
Figura 5. Molhabilidade (Adaptado de LAZGHAB <i>et al.</i> , 2005) .....	41
Figura 6. Aparatos de dissolução intrínseca: (a) método estático e (b) método rotacional (Adaptado de ISSA & FERRAZ, 2011).....	45
Figura 7. Espalhamento de luz por partículas grandes e pequenas (MALVERN, 2012) .....	50
Figura 8. Sistema de Classificação Biofarmacêutica proposto por Amidon e colaboradores (1995). .....	59
Figura 9. Esquema do processo de manipulação dos lotes teste de olanzapina 10 mg comprimidos revestidos.....	82
Figura 10. Resumo das atividades do desenvolvimento farmacotécnico de olanzapina comprimidos revestidos.....	88
Figura 11. Cromatograma da solução de adequabilidade do método de compostos relacionados de olanzapina.....	93
Figura 12. Cromatograma da solução padrão de olanzapina para o método de compostos relacionados.....	93
Figura 13. Cromatograma da amostra A de olanzapina para o método de compostos relacionados.....	94
Figura 14. Cromatograma da amostra B de olanzapina para o método de compostos relacionados.....	94
Figura 15. Cromatograma da amostra C de olanzapina para o método de compostos relacionados.....	94
Figura 16. Comparação da distribuição granulométrica dos lotes de olanzapina.....	96
Figura 17. Gráfico comparativo das distribuições de tamanho de partícula das amostras de olanzapina.....	98
Figura 18. Desenho esquemático de diâmetros equivalentes (TINKE <i>et al.</i> , 2008).....	99
Figura 19. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante A .....	105
Figura 20. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante B.....	105
Figura 21. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante C.....	106
Figura 22. MEV de olanzapina do fabricante C em (a) 100x, (b) 250x e (c) 500x.....	109
Figura 23. MEV de olanzapina dos fabricantes A e C em aumento de 1000x.....	109
Figura 24. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 2000x. ....	110
Figura 25. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 4000x. ....	110
Figura 26. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 8000x. ....	110
Figura 27. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....	112
Figura 28. Comparação das curvas de DSC da amostra de olanzapina do fabricante A com taxas de aquecimento de 5°C.min <sup>-1</sup> e 10°C.min <sup>-1</sup> .....	113
Figura 29. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de 20 °C.min <sup>-1</sup> .....	114

Figura 30. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de 40 °C.min <sup>-1</sup> .....	115
Figura 31. Curva de TG de olanzapina do fabricante A .....	116
Figura 32. Curva de TG de olanzapina do fabricante B.....	117
Figura 33. Curva de TG de olanzapina do fabricante C.....	117
Figura 34. Análise termoóptica de olanzapina do fabricante A, em aumento de 200x, com razão de aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....	119
Figura 35. Análise termoóptica de olanzapina do fabricante B, em aumento de 200x, com razão de aquecimento de 10°C.min <sup>-1</sup> .....	120
Figura 36. Análise termoóptica de olanzapina do fabricante C, em aumento de 100x, com razão de aquecimento de 10 °C.min <sup>-1</sup> .....	121
Figura 37. Espectro de absorção no infravermelho médio das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C de olanzapina. ....	122
Figura 38. Espectro no infravermelho médio das amostras de olanzapina na região acima de 2400 cm <sup>-1</sup> .....	122
Figura 39. Espectro de infravermelho dos polimorfos de olanzapina acima de 2500 cm <sup>-1</sup> (Adaptado de AYALA <i>et al.</i> , 2006) .....	123
Figura 40. Espectros de infravermelho médio dos polimorfos de olanzapina na região entre 400 e 1650 cm <sup>-1</sup> (adaptado de AYALA <i>et al.</i> , 2006).....	124
Figura 41. Espectro de infravermelho médio das amostras de olanzapina na região entre 500 e 1700 cm <sup>-1</sup> .....	124
Figura 42. Espectro no infravermelho próximo para as amostras A, B e C de olanzapina....	125
Figura 43. Espectros no infravermelho próximo dos polimorfos de olanzapina (Adaptado de AYALA <i>et al.</i> , 2006) .....	126
Figura 44. Padrões de difração de raios X das amostras de olanzapina.....	127
Figura 45. Resultado de DRXP da amostra do fabricante B comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina.....	128
Figura 46. Resultado de DRXP da amostra do fabricante B comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina. ....	128
Figura 47. Resultado de DRXP da amostra do fabricante C comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina.....	129
Figura 48. Padrões de difração da forma II em função de temperatura. As reflexões características da forma I são indicadas como (1) (POLLA <i>et al.</i> , 2005).....	129
Figura 49. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em água .....	131
Figura 50. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em HCL 0,1N.....	131
Figura 51. Figura 45. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em HCL 0,1N.....	132
Figura 52. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em tampão acetato pH 4,5 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.....	132
Figura 53. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em tampão fosfato pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.....	132
Figura 54. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em tampão fosfato pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.....	132
Figura 55. Perfil de solubilidade das amostras de olanzapina em função do pH. ....	137
Figura 56. Curva de DSC das amostras de olanzapina após 48 horas de estudo de solubilidade em equilíbrio em HCL 0,1N.....	140
Figura 57. Curva de DSC das amostras de olanzapina após 48 horas de estudo de solubilidade em equilíbrio em tampão fosfato pH 6,8.....	140

Figura 58. Perfil de dissolução por dispersão das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C em HCL 0,1N. ....	142
Figura 59. Efeito da concentração de laurilsulfato de sódio na dissolução por dispersão da amostra A de olanzapina em tampão pH 6,8. ....	145
Figura 60. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8 com e sem a adição de laurilsulfato de sódio. ....	146
Figura 61. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão acetato pH 4,5 com e sem a adição de laurilsulfato de sódio. ....	148
Figura 62. Dissolução intrínseca das amostras de olanzapina A, B e C pelo método de disco estacionário, em HCL 0,1N. ....	149
Figura 63. Dissolução intrínseca das amostras de olanzapina A, B e C pelo método de disco rotatório, em HCL 0,1N. ....	149
Figura 64. Gráfico de fluidez do lote teste L <sub>5</sub> . ....	153
Figura 65. Gráfico de fluidez do lote teste L <sub>6</sub> . ....	153
Figura 66. Gráfico de fluidez do lote teste L <sub>7</sub> . ....	154
Figura 67. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução HCL 0,1N. ....	164
Figura 68. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução HCL 0,1N. ....	164
Figura 69. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5. ....	169
Figura 70. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução tampão fosfato pH 6,8. ....	171

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Recursos federais, em milhões de reais, destinados ao pagamento de medicamentos excepcionais em saúde mental (BRASIL, 2012).....	22
Tabela 2. Técnicas para caracterização de fármacos (Adaptado de WELLS, 2005).....	28
Tabela 3. Referências dos polimorfos I e II de olanzapina descritos na literatura .....	31
Tabela 4. Propriedades de fluxo e ângulo de repouso correspondente (USP, 2013).....	57
Tabela 5. Critérios de avaliação da determinação do peso para formas farmacêuticas sólidas. .....	84
Tabela 6. Determinação do conteúdo de água das amostras de olanzapina pelo método de Karl Fischer. ....	89
Tabela 7. Resultados de cinzas sulfatadas determinados para os lotes de olanzapina .....	90
Tabela 8. Resultados de doseamento determinados para os lotes de olanzapina. ....	91
Tabela 9. Resultados de impurezas orgânicas encontrados para os lotes de olanzapina. ....	92
Tabela 10. Resultado da distribuição do tamanho de partícula das amostras de olanzapina (n=3).....	96
Tabela 10. Resultados de densidade aparente e compactada encontrados para os lotes de olanzapina (n=3). ....	100
Tabela 11. Resultados de razão de Hausner e índice de Carr calculados para as amostras de olanzapina e as respectivas classificações quanto ao fluxo (média ± desvio padrão; n=3). ..	101
Tabela 12. Resultados de fluidez por orifício e ângulo de repouso das três amostras de olanzapina.....	104
Tabela 14. Dados obtidos a partir das curvas de DSC para a endoterma de fusão do polimorfo I das amostras de olanzapina: $T_{onset}$ , $T_{pico}$ e Entalpia ( $\Delta H$ ) em diferentes taxas de aquecimento. .....	112
Tabela 15. Valores de ângulos de contato em água obtidos para os lotes de olanzapina (n = 3). .....	131
Tabela 16. Valores de ângulos de contato em diferentes meios obtidos para os lotes de olanzapina (n = 3). ....	133
Tabela 17. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em HCL 0,1N. ....	134
Tabela 18. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em tampão pH 4,5.....	135
Tabela 19. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em tampão pH 6,8.....	135
Tabela 20. Estabilidade em solução de olanzapina em HCL 0,1N.....	136
Tabela 21. Estabilidade em solução de olanzapina em tampão pH 4,5. ....	136
Tabela 22. Estabilidade em solução de olanzapina em tampão pH 6,8. ....	136
Tabela 23. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em 6 horas comparados com a literatura .....	138
Tabela 24. Razão dose/solubilidade calculada para as amostras de olanzapina em função da solubilidade em equilíbrio, considerando uma dose máxima diária de 20 mg.....	139
Tabela 25. Resultados de dissolução por dispersão em HCL 0,1N das amostras A, B e C de olanzapina.....	142
Tabela 26. Resultados de dissolução por dispersão em tampão fosfato pH 6,8 das amostras A, B e C de olanzapina. ....	143
Tabela 27. Efeito da concentração de laurilsulfato de sódio na dissolução por dispersão da amostra A de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8. ....	144
Tabela 28. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio. ....	146
Tabela 29. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão acetato pH 4,5 com e sem adição de laurilsulfato de sódio ao meio. ....	147

Tabela 30. Resultados das taxas de dissolução intrínseca das amostras de olanzapina nos métodos de disco estacionário e rotatório. ....	150
Tabela 31. Valores de densidade aparente e compactada para os lotes teste de olanzapina (n=3).....	150
Tabela 32. Resultados de razão de Hausner e Índice de Carr calculados para os lotes teste de olanzapina.....	152
Tabela 33. Resultados de fluxo por orifício e ângulo de repouso para os lotes teste de olanzapina (n=3). ....	152
Tabela 34. Resultados de peso médio encontrados para os lotes teste e de referência de comprimidos de olanzapina (n=20). ....	156
Tabela 35. Resultados de dureza e friabilidade dos núcleos de olanzapina (n=20).....	157
Tabela 36. Resultados de desintegração de comprimidos de olanzapina (n=6).....	159
Tabela 37. Resultados de doseamento para os lotes de olanzapina comprimidos.....	160
Tabela 38. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em HCL 0,1N.....	162
Tabela 39. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em HCL 0,1N.....	162
Tabela 40. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em tampão acetato pH 4,5. ....	168
Tabela 41. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em Tampão acetato pH 4,5.....	168
Tabela 42. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em tampão fosfato pH 6,8.....	170
Tabela 43. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em Tampão fosfato pH 6,8. ....	170

## LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Equação de Noyes e Whitney .....	45
Equação 2. Razão de Hausner .....	56
Equação 3. Índice de compressibilidade de Carr .....	57
Equação 4. Ângulo de repouso .....	57
Equação 5. Fator de diferença .....	62
Equação 6. Fator de similaridade.....	62
Equação 7. Eficiência de dissolução .....	63
Equação 8. Cinzas sulfatadas.....	69
Equação 9. Densidade aparente .....	75
Equação 10. Densidade compactada.....	75
Equação 11. Índice de Span.....	98

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CAPS	Centro de Atenção Psicossocial
C-C	Carbono-carbono
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
C <sub>max</sub>	Concentração plasmática máxima
C-S	Carbono-enxofre
DRXP	Difração de raios X em pó
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
ED	Eficiência de dissolução
EMA	<i>European Medicines Agency</i>
F <sub>1</sub>	Fator de diferença
F <sub>2</sub>	Fator de similaridade
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonization (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use)</i>
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IVIV	<i>In vivo-in vitro</i>
LASER	<i>Light amplification by stimulated emission radiation</i>
MEV	Microscopia eletrônica de varredura
RDC	Resolução de Diretoria Colegiada
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SUS	Sistema Único de Saúde
TDI	Taxa de dissolução intrínseca
TG	Termogravimetria

$T_{\max}$  Tempo para atingir a concentração plasmática máxima

$T_{\text{onset}}$  Temperatura *onset*

WHO *World Health Organization*

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	20
2	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	23
2.1	<b>Olanzapina</b> .....	23
2.1.1	<u>Farmacodinâmica</u> .....	23
2.1.2	<u>Farmacocinética</u> .....	24
2.1.3	<u>Indicação terapêutica</u> .....	25
2.2	<b>Desenvolvimento de medicamentos</b> .....	25
2.2.1	<u>Pré-formulação</u> .....	26
2.2.1.1	Cristalinidade e amorfismo.....	28
2.2.1.1.1	Difração de raios X.....	33
2.2.1.1.2	Análise térmica.....	35
2.2.1.1.3	Espectroscopia vibracional.....	39
2.2.1.2	Molhabilidade .....	41
2.2.1.3	Solubilidade.....	42
2.2.1.4	Dissolução.....	43
2.2.1.4.1	Dissolução intrínseca.....	45
2.2.1.4.2	Dissolução por dispersão.....	46
2.2.1.5	Tamanho de partícula.....	47
2.2.1.5.1	Tamisação .....	48
2.2.1.5.2	Microscopia.....	49
2.2.1.5.3	Difração por espalhamento de luz (Difração de LASER).....	50
2.2.2	<u>Delineamento e produção de formas farmacêuticas sólidas</u> .....	51
2.2.2.1	Desenvolvimento experimental de formulações.....	52
2.2.2.1.1	Densidade.....	54
2.2.2.1.2	Fluidez.....	54
2.2.3	<u>Avaliação biofarmacêutica</u> .....	57
2.2.3.1	Sistema de Classificação Biofarmacêutica.....	58
2.2.3.2	Comparação entre perfis de dissolução.....	60
3	<b>OBJETIVOS</b> .....	63
3.1	<b>Objetivo geral</b> .....	63
3.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	63

<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>64</b>
<b>4.1</b>	<b>Material .....</b>	<b>64</b>
4.1.1	<u>Equipamentos .....</u>	64
4.1.2	<u>Insumos.....</u>	65
4.1.3	<u>Reagentes.....</u>	66
4.1.4	<u>Acessórios.....</u>	66
<b>4.2</b>	<b>Métodos .....</b>	<b>67</b>
4.2.1	<u>Análise da matéria-prima olanzapina de acordo com critérios farmacopeicos.....</u>	67
4.2.1.1	Identificação.....	67
4.2.1.2	Água .....	68
4.2.1.3	Resíduo por incineração .....	68
4.2.1.4	Metais pesados .....	69
4.2.1.5	Impurezas orgânicas.....	69
4.2.1.5.1	Preparo da fase móvel.....	69
4.2.1.5.2	Preparo do diluente.....	70
4.2.1.5.3	Preparo da solução de adequabilidade.....	70
4.2.1.5.4	Preparo da solução padrão.....	70
4.2.1.5.5	Preparo da solução amostra.....	71
4.2.1.5.6	Condições cromatográficas.....	71
4.2.1.6	Doseamento.....	71
4.2.1.6.1	Preparo da fase móvel.....	72
4.2.1.6.2	Preparo da solução de adequabilidade.....	72
4.2.1.6.3	Preparo da solução padrão.....	72
4.2.1.6.4	Preparo da solução amostra.....	73
4.2.1.6.5	Condições cromatográficas.....	73
4.2.2	<u>Caracterização não-farmacopeica da matéria-prima olanzapina.....</u>	73
4.2.2.1	Densidade aparente e compactada.....	73
4.2.2.2	Razão de Hausner e Índice de Carr.....	74
4.2.2.3	Fluxo por orifício e ângulo de repouso.....	74
4.2.2.4	Difração de raios X em pó (DRXP).....	75
4.2.2.5	Espectroscopia no infravermelho.....	75
4.2.2.5.1	Espectroscopia no infravermelho médio.....	75
4.2.2.5.2	Espectroscopia no infravermelho próximo.....	76

4.2.2.6	Análise térmica.....	76
4.2.2.6.1	Calorimetria exploratória diferencial.....	76
4.2.2.6.2	Termogravimetria.....	76
4.2.2.6.3	Análise termoóptica.....	77
4.2.2.7	Distribuição granulométrica.....	77
4.2.2.7.1	Tamanho de partícula por espalhamento de luz.....	77
4.2.2.7.2	Microscopia eletrônica de varredura.....	77
4.2.2.8	Molhabilidade.....	78
4.2.2.9	Solubilidade em equilíbrio ( <i>Shake Flask</i> ).....	78
4.2.2.10	Dissolução.....	79
4.2.2.10.1	Dissolução intrínseca.....	79
4.2.2.10.2	Dissolução por dispersão.....	80
4.3	<b>Desenvolvimento experimental de formulações.....</b>	80
4.4	<b>Avaliação e seleção das formulações.....</b>	83
4.4.1	<u>Peso médio</u> .....	83
4.4.2	<u>Dureza</u> .....	84
4.4.3	<u>Friabilidade</u> .....	84
4.4.4	<u>Desintegração</u> .....	85
4.4.5	<u>Doseamento</u> .....	85
4.4.5.1	Preparo da fase móvel.....	85
4.4.5.2	Preparo da solução de adequabilidade.....	86
4.4.5.3	Preparo da solução padrão.....	86
4.4.5.4	Preparo da solução amostra.....	86
4.4.5.5	Condições cromatográficas.....	87
4.4.6	<u>Perfil de dissolução comparativo</u> .....	87
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	89
<b>5.1</b>	<b>Análise da matéria-prima olanzapina de acordo com critérios farmacopeicos.....</b>	89
5.1.1	<u>Identificação</u> .....	89
5.1.2	<u>Água</u> .....	89
5.1.3	<u>Resíduo por incineração</u> .....	90
5.1.4	<u>Metais pesados</u> .....	90
5.1.5	<u>Doseamento</u> .....	91
5.1.6	<u>Compostos relacionados</u> .....	91

<b>5.2</b>	<b>Caracterização não-farmacopeica da matéria-prima olanzapina.....</b>	<b>95</b>
5.2.1	Distribuição do Tamanho de partícula.....	95
5.2.2	Fluidez.....	100
5.2.2.1	Densidade aparente e compactada.....	100
5.2.2.2	Índice de Carr e Razão de Hausner.....	101
5.2.2.3	Fluxo por orifício e ângulo de repouso.....	103
5.2.3	Microscopia eletrônica de varredura.....	107
5.2.4	<u>Análise térmica</u> .....	111
5.2.4.1	Calorimetria exploratória diferencial.....	111
5.2.4.2	Termogravimetria.....	116
5.2.4.3	Análise termoóptica.....	118
5.2.5	Espectroscopia no infravermelho.....	121
5.2.5.1	Espectroscopia no infravermelho médio.....	121
5.2.5.2	Espectroscopia no infravermelho próximo.....	125
5.2.6	<u>Difração de raios X</u> .....	127
5.2.7	<u>Molhabilidade</u> .....	130
5.2.8	<u>Solubilidade</u> .....	133
5.2.9	<u>Dissolução</u> .....	141
5.2.9.1	Dissolução por dispersão.....	141
5.2.9.2	Dissolução intrínseca.....	148
<b>5.3</b>	<b>Avaliação e seleção das formulações propostas.....</b>	<b>150</b>
5.3.1	<u>Densidade</u> .....	150
5.3.2	<u>Fluidez</u> .....	151
5.3.3	<u>Peso médio</u> .....	155
5.3.4	<u>Dureza</u> .....	156
5.3.5	<u>Friabilidade</u> .....	158
5.3.6	<u>Desintegração</u> .....	158
5.3.7	<u>Doseamento</u> .....	159
5.3.8	<u>Perfil de dissolução comparativo</u> .....	160
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>172</b>
<b>7</b>	<b>PERSPECTIVAS.....</b>	<b>174</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>175</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A esquizofrenia é um distúrbio mental grave e crônico, sem relação com fatores étnicos ou geográficos, sendo considerado o mais incapacitante dos transtornos psiquiátricos (BRAGA *et al.*, 2005). Caracteriza-se por sintomas positivos (desagregação do pensamento e da percepção, crises agressivas, comportamentos destrutivos) e sintomas negativos (falta de motivação, embotamento afetivo, dificuldade de julgamento e de atenção, depressão). Não há correlação da doença com prejuízo da capacidade intelectual, embora os pacientes possam apresentar déficits cognitivos ao longo tempo (BRASIL, 2002).

O início dos sintomas ocorre na vida adulta, geralmente entre 15 a 35 anos, sendo mais precoce em homens do que em mulheres. Os transtornos esquizofrênicos afetam 1% da população mundial e são responsáveis por cerca de 25% das internações psiquiátricas (BRASIL, 2002). No Brasil, estimam-se taxas de prevalência da doença entre 0,5 a 5,3% da população. Trata-se de um problema de saúde pública que implica enormes custos econômicos e sociais (WANNMACHER, 2004).

Os principais tratamentos para esquizofrenia envolvem recursos medicamentosos: neurolépticos convencionais (como clorpromazina e haloperidol), os chamados antipsicóticos de primeira geração, são alternativas de primeira linha no manejo da doença. Avaliações, como uma meta-análise de 52 estudos randomizados envolvendo 12.649 pacientes realizada por Geddes e colaboradores (2000), demonstram a eficácia dos antipsicóticos tradicionais no tratamento, principalmente dos sintomas positivos, da esquizofrenia.

No entanto, apesar de amplamente estudados e utilizados na clínica, os antipsicóticos de primeira geração estão associados à alta ocorrência de efeitos adversos extrapiramidais, como a discinesia, levando a redução da qualidade de vida do paciente e a não adesão ao tratamento (BAGNALL *et al.*, 2003).

Embora comprovadamente eficazes, um percentual de pacientes esquizofrênicos (aproximadamente 20 a 30%) não responde à terapia com os antipsicóticos convencionais, mesmo em altas doses e associados a outras formas de tratamento psicológico e social. Este grupo de pacientes, denominados “resistentes”, apresenta alta taxa de morbimortalidade, além de elevado custo social e familiar (BRASIL, 2002).

É neste contexto que surgiram, na década de 90, os antipsicóticos de segunda geração ou atípicos. Os representantes desta classe incluem a clozapina, risperidona, olanzapina, quetiapina e ziprasidona. A introdução dos antipsicóticos de segunda geração representou um

avanço terapêutico, uma vez que estes estão associados a um maior espectro de ação: maiores índices de eficácia, principalmente sobre os sintomas negativos da doença, a melhora cognitiva dos pacientes e menor incidência de efeitos adversos extrapiramidais (LEUCHT *et al.*, 2009).

Dentre os antipsicóticos atípicos, destaca-se a olanzapina. A olanzapina é um fármaco pertencente à classe das tienobenzodiazepinas, indicado no tratamento nas fases aguda (surto psicótico) e de manutenção dos transtornos esquizofrênicos e outras psicoses, onde os sintomas positivos e negativos são proeminentes (BHANA *et al.*, 2001).

Apesar de, em vários aspectos, a olanzapina apresentar benefícios clínicos em relação à terapia com os antipsicóticos convencionais, os altos custos associados ao tratamento com este fármaco muitas vezes limitam sua utilização na prática clínica. Atualmente, no Brasil, o Sistema Único de Saúde (SUS) disponibiliza antipsicóticos de segunda geração para pacientes refratários ao tratamento com a terapêutica tradicional, através do Programa de Dispensação de Medicamentos Excepcionais. Dados divulgados pelo Ministério da Saúde, em 2010, demonstram um aumento significativo no custeio federal com medicamentos antipsicóticos atípicos, aproximando-se dos gastos totais do Governo com a rede de Centros de Atenção Psicossocial (CAPS) e alcançando valores de mais de R\$ 263 milhões somente no ano de 2009 (Tabela 1). Os custos com a dispensação de olanzapina são os mais significativos: representam 62% do total de recursos federais destinados ao pagamento de medicamentos excepcionais para saúde mental (BRASIL, 2012).

Tabela 1. Recursos federais, em milhões de reais, destinados ao pagamento de medicamentos excepcionais em saúde mental (BRASIL, 2012).

Medicamentos Excepcionais	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009
<b>Clozapina 100 mg</b>	6.142	7.145	7.855	10.137	11.736	11.289	13.871	14.561
<b>Clozapina 25 mg</b>	0.023	0.018	0.037	0.047	0.067	0.071	0.101	0.113
<b>Olanzapina (G) 10 mg</b>	23.041	33.392	39.573	56.203	73.898	124.058	144.076	147.505
<b>Olanzapina (G) 5mg</b>	2.791	3.820	4.858	6.374	8.308	13.791	15.698	15.967
<b>Quetiapina (G) 100 mg</b>	0.003	0.234	1.417	3.174	5.503	10.954	16.080	18.157
<b>Quetiapina (G) 25 mg</b>	0.000	0.028	0.173	0.480	0.820	1.884	2.737	3.402
<b>Quetiapina (G) 200 mg</b>	0.001	0.143	1.106	3.233	6.114	16.361	29.125	37.389
<b>Risperidona 1 mg</b>	0.271	0.295	0.399	0.692	0.909	0.302	0.410	0.453
<b>Risperidona 2 mg</b>	3.430	3.474	4.115	5.377	6.003	1.175	1.427	1.477
<b>Ziprasidona (G) 80 mg</b>	0.012	1.036	3.941	9.809	16.336	20.711	21.960	17.493
<b>Ziprasidona (G) 40 mg</b>	0.102	1.666	4.632	7.043	8.116	9.521	9.100	6.932

A produção de medicamentos similares e genéricos participa neste contexto no sentido de regular o mercado farmacêutico e ampliar o acesso da população a estes medicamentos. Desta forma, considerando a relevância terapêutica da olanzapina, somando-se aos custos deste medicamento para o SUS, faz-se fundamental desenvolver medicamentos alternativos com menor custo, passíveis de serem produzidos em escala industrial, eficazes, seguros e com qualidade equivalente à do medicamento referência.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 Olanzapina

A olanzapina (Figura 1) é um fármaco antipsicótico de segunda geração, quimicamente denominado como 2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)-10H-tieno [2,3-b][1,5] benzodiazepina. Sua fórmula molecular é  $C_{17}H_{20}N_4S$  e sua massa molar igual a 312,43 g/mol (USP, 2013).

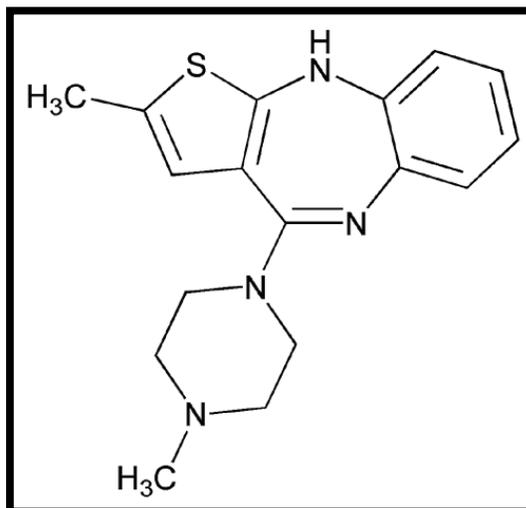


Figura 1. Estrutura química da olanzapina (USP, 2013).

#### 2.1.1 Farmacodinâmica

A olanzapina é um derivado tienobenzodiazepínico com afinidade por inúmeros sistemas receptores. *In vitro*, a olanzapina é um potente antagonista dos receptores de dopamina D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub>, D<sub>4</sub>, D<sub>5</sub>, de serotonina 5HT<sub>2A</sub>, 5HT<sub>2C</sub>, 5HT<sub>3</sub>, 5HT<sub>6</sub>, histamina H<sub>1</sub>,  $\alpha$ 1-adrenérgico e muscarínicos. Sua afinidade é maior pelos receptores 5HT<sub>2</sub> do que pelos receptores de dopamina D<sub>2</sub>. Em estudos eletrofisiológicos, a olanzapina produziu efeitos nos

sistemas nigroestriais e mesolímbico do sistema nervoso central, o que pode justificar o baixo potencial do fármaco na indução de sintomas extrapiramidais (FULTON & GOA, 1997).

A olanzapina aumenta a liberação de noradrenalina e dopamina nas áreas corticais, o que pode contribuir para seu efeito pronunciado nos sintomas negativos dos transtornos esquizofrênicos. O fármaco não é associado com disfunção cognitiva, mas pode levar a uma melhora no déficit cognitivo em pacientes com esquizofrenia (BHANA & PERRY, 2001).

### 2.1.2 Farmacocinética

A farmacocinética da olanzapina é linear e proporcional à dose administrada na faixa de 5 a 20 mg. É um fármaco bem absorvido após a administração oral (85% da dose oral). No entanto, devido ao extenso metabolismo de primeira passagem hepático, a biodisponibilidade oral fica em torno de 60%. A absorção não é afetada pela alimentação. A média da concentração plasmática máxima ( $C_{max}$ ), de 11  $\mu\text{g/L}$ , é atingida em 5 horas ( $T_{max}$ ), após a administração de uma dose oral a indivíduos saudáveis (BHANA & PERRY, 2001).

Com uma dose diária de 10 mg, o estado de equilíbrio da concentração plasmática é atingido em cerca de 7 dias. O tempo de meia-vida do fármaco é de, aproximadamente, 30 horas (variando de 21 a 54 horas) e o *clearance* plasmático de 12 a 47 L/h. A farmacocinética da olanzapina varia em função do tabagismo, da idade e do sexo: foi observado maior *clearance* em homens, em fumantes e idosos. Nenhuma diferença significativa foi observada na farmacocinética de indivíduos saudáveis relacionada a grupos étnicos (africanos, caucasianos, asiáticos, hispânicos, chineses e japoneses) ou em pacientes com comprometimento renal. A olanzapina liga-se extensivamente às proteínas plasmáticas (93%) (CALLAGHAN *et al.*, 1999).

O fármaco é metabolizado no fígado por glucuronidação e oxidação: os principais metabólitos são o 10-N-glucuronida e 42-N-desmetilolanzapina. A atividade farmacológica predominante é do fármaco inalterado. Aproximadamente 60% do fármaco são excretados na urina, principalmente sob a forma de metabólitos (CALLAGHAN *et al.*, 1999).

### 2.1.3 Indicação terapêutica

A olanzapina é indicada no tratamento agudo e de manutenção da esquizofrenia e outras psicoses, nas quais sintomas positivos e/ou negativos são proeminentes. Em monoterapia ou em combinação com lítio ou valproato, é indicada no tratamento e redução da ocorrência de episódios de mania aguda ou mistos do transtorno bipolar. A dose inicial recomendada é de 10 mg, administrada uma vez ao dia (BHANA *et al.*, 2001).

Esta dose, no entanto, deve ser ajustada de acordo com a evolução clínica, dentro da faixa de 5 a 20 mg (FULTON & GOA, 1997).

## 2.2 **Desenvolvimento de medicamentos**

Os fármacos raramente são administrados como substâncias químicas puras. Geralmente, é necessário que estes sejam associados a adjuvantes ou excipientes que permitirão a obtenção de formas farmacêuticas adequadas à via de administração desejada (YORK, 2005). O desenvolvimento de medicamentos tem o objetivo de projetar formas farmacêuticas que promovam a resposta terapêutica esperada para determinado fármaco, passíveis de serem produzidas em escala industrial, de forma reprodutível, segura e eficaz (WHO, 2011).

A eficácia clínica de um medicamento não é atribuída apenas à sua atividade farmacológica intrínseca. Fatores relacionados aos processos envolvidos na sua fabricação, bem como características físico-químicas do fármaco e excipientes que o compõem podem modificar a absorção de um determinado princípio ativo, alterando, conseqüentemente, sua biodisponibilidade. A influência destes fatores é crítica, principalmente, nas formas farmacêuticas sólidas, considerando-se que, nestes casos, é necessária a liberação do fármaco da formulação, para a sua posterior absorção (AMIDON *et al.*, 1995). Assim, durante o desenvolvimento farmacotécnico de um determinado medicamento, os fatores relacionados ao insumo farmacêutico ativo (IFA), aos excipientes, à forma farmacêutica, ao processo produtivo e aos aspectos biofarmacêuticos devem ser considerados e cuidadosamente estudados (WHO, 2011).

Os resultados destes estudos fornecem dados essenciais para (WHO, 2011):

- a definição dos atributos críticos relacionados à qualidade, segurança e eficácia do produto farmacêutico final, levando-se em consideração a via de administração, forma farmacêutica, dosagem, biodisponibilidade e estabilidade. A identificação destes parâmetros permite o controle adequado das características que podem ter impacto na qualidade do produto final;
- a discussão dos critérios para a escolha do processo produtivo e seus parâmetros de controle, necessários para garantir a produção em larga escala dos lotes industriais, de forma reprodutível e consistente; e
- a caracterização das especificações críticas dos insumos utilizados (IFA, excipientes e material de embalagem), incluindo a seleção do tipo, grau e quantidade utilizadas.

O conjunto de informações obtidas durante o desenvolvimento, se consistentes, permitirão a redução de possíveis petições de alterações pós-registro do produto e a identificação de oportunidades de melhorias no processo produtivo, fundamentando futuras decisões regulatórias (ICH, 2009).

Desta forma, o processo de desenvolvimento farmacotécnico, que permite transformar um fármaco em medicamento, envolve a compreensão de inúmeros conceitos, relacionados não somente às propriedades físico-químicas dos insumos como também à tecnologia farmacêutica aplicada ao delineamento e produção de uma forma farmacêutica (tanto em escala de bancada como industrial) e aspectos biofarmacêuticos. Estes fatores definem as principais etapas envolvidas no trabalho de desenvolvimento: os estudos de pré-formulação, produção experimental de formulações e avaliação biofarmacêutica.

### 2.2.1 Pré-formulação

A qualidade de um medicamento está diretamente relacionada às características físico-químicas do fármaco e dos excipientes que o compõem. Estas características devem ser cuidadosamente estudadas e controladas durante todo o processo de desenvolvimento, uma vez que podem modificar a processabilidade, biodisponibilidade e a estabilidade dos medicamentos, potencialmente alterando suas propriedades de eficácia e segurança.

O primeiro passo no desenvolvimento farmacotécnico de um medicamento consiste na etapa de pré-formulação, onde propriedades como solubilidade, densidade, tamanho de

partícula, polimorfismo e compatibilidade serão determinadas. Todas essas informações ditam as ações e abordagens subsequentes no processo de delineamento, agregando princípios científicos e racionais ao desenvolvimento de uma formulação, a fim de minimizar as atividades de tentativa e erro.

Adicionalmente, com o aporte no mercado nacional, nas últimas décadas, de uma crescente quantidade de matérias-primas de diferentes fabricantes com distintos padrões de qualidade, torna-se imprescindível, para o adequado desenvolvimento e produção de medicamentos, o estabelecimento de especificações técnicas bem definidas para aquisição e monitoramento da qualidade dos insumos farmacêuticos. Estas especificações devem contemplar não apenas parâmetros analíticos farmacopeicos, mas também especificações internas para características físicas, que garantam desempenho satisfatório em todo processo produtivo e, principalmente, segurança e eficácia do medicamento produzido.

Na Tabela 2 estão descritos alguns testes utilizados na indústria farmacêutica para a caracterização de fármacos durante a etapa de pré-formulação. Dos ensaios descritos, nem todos são sempre realizados nas etapas iniciais do desenvolvimento. No caso de um fármaco altamente solúvel, por exemplo, uma investigação detalhada sobre sua dissolução pode não apresentar resultados relevantes ao desenvolvimento. No entanto, estudos do tamanho de partícula, área superficial e dissolução são parâmetros importantes na avaliação de uma substância de baixa solubilidade. A avaliação crítica dos resultados obtidos é fundamental para definir quais estudos adicionais ainda são necessários (WADKE *et al.*, 1990).

Algumas das propriedades físico-químicas normalmente estudadas durante o desenvolvimento farmacotécnico serão discutidas a seguir, abordando brevemente as técnicas utilizadas nas atividades de pré-formulação.

Tabela 2. Técnicas para caracterização de fármacos (Adaptado de WELLS, 2005).

<b>Propriedades</b>	<b>Ensaio</b>
<b>Cristalinidade e amorfismo</b>	Difração de raios X (DRXP)
	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)
	Termogravimetria (TG)
	Análise termoóptica (TOA)
	Espectroscopia no infravermelho
	Espectroscopia Raman
<b>Dissolução</b>	Dissolução intrínseca
	Dissolução por dispersão
<b>Tamanho de partícula</b>	Microscopia óptica
	Microscopia eletrônica de varredura
	Difração por espalhamento de luz
	Granulometria por tamisação
<b>Densidade</b>	Densidade aparente
	Densidade compactada
<b>Fluidez</b>	Ângulo de repouso
	Fluxo por orifício
	Razão de Hausner
	Índice de Carr

#### 2.2.1.1 Cristalinidade e amorfismo

Os materiais no estado sólido podem apresentar-se como cristalinos ou amorfos. Os cristais são definidos pela repetição regular e periódica de unidades estruturais moleculares idênticas, denominadas celas unitárias, em três dimensões no espaço (BRITTAIN & BYRN, 1999). Existem ainda estruturas cristalinas denominadas solvatos, que consistem em adutos

sólidos contendo moléculas de solvente dentro de sua rede cristalina. Quando este solvente é a água, estes cristais são chamados hidratos (CHIENG *et al.*, 2011; ICH, 1999). No caso de o aduto conter um segundo cristal dentro de sua estrutura cristalina, estes complexos moleculares passam a ser denominados co-cristais.

Em contraste com os materiais cristalinos, os sólidos amorfos não apresentam um arranjo com padrão de repetição ordenado e extenso. Devido a sua maior energia e mobilidade molecular, apresentam maior solubilidade quando comparados às formas cristalinas, o que pode levar a uma maior velocidade de dissolução e, conseqüentemente, maior biodisponibilidade. No entanto, são fisicamente instáveis, podendo converter-se na forma cristalina estável durante operações produtivas ou no armazenamento (CHIENG *et al.*, 2011).

O polimorfismo é definido como a habilidade de uma substância de cristalizar em diferentes estados cristalinos, com arranjos moleculares distintos (GIRON, 1995). Os polimorfos apresentam composição química idêntica, no entanto, alterações no arranjo estrutural de uma mesma molécula podem implicar diferenças significativas nas propriedades de um sólido (biodisponibilidade, velocidade de dissolução, solubilidade, estabilidade física e química, densidade, comportamentos de fluxo, morfologia, ponto de fusão) (LLINÀS & GOODMAN, 2008).

Na área farmacêutica, onde muitos fármacos e adjuvantes apresentam diferentes arranjos cristalinos, variações em suas propriedades são relevantes, uma vez que podem afetar a qualidade, a eficácia e a segurança do medicamento (FDA, 2007).

Um dos efeitos mais importantes relacionados às variações no arranjo cristalino consiste em possíveis diferenças na solubilidade e velocidade de dissolução de diferentes polimorfos de um mesmo fármaco. Quando estas diferenças na solubilidade são significativas, a escolha de uma determinada forma sólida pode ter influência direta sobre a biodisponibilidade do medicamento (SNIDER, 2004).

Os polimorfos de um mesmo fármaco também podem exibir diferentes propriedades físicas e mecânicas, como higroscopicidade, formato da partícula, densidade e fluidez, o que pode afetar o processamento do IFA durante a produção do medicamento, dependendo da formulação e do processo produtivo. Para um produto fabricado por compressão direta, as características das formas sólidas dos insumos serão críticas para a produção. Por outro lado, para um produto granulado por via úmida, as propriedades dos constituintes poderão ser mascaradas pela granulação, tendo menor impacto nas etapas posteriores (FDA, 2007; RAW *et al.*, 2004).

Adicionalmente, polimorfos podem apresentar diferentes propriedades de reatividade física e química. Assim, a forma termodinamicamente mais estável é geralmente escolhida durante o processo de desenvolvimento, devido ao seu menor potencial de conversão em outra e maior estabilidade química. Em alguns casos, no entanto, as formas metaestáveis podem ser eleitas por diferentes razões, como com o intuito de aumentar a biodisponibilidade. Nestes casos, as transformações de fases devem ser monitoradas (SINGHAL & CURATOLO, 2004).

A identificação e caracterização da forma sólida mais estável ou tecnicamente mais interessante devem ocorrer nas etapas iniciais do desenvolvimento, a fim de garantir que esta seja a utilizada em todo o processo e possa ser monitorada durante as etapas produtivas (AALTONEN *et al.*, 2009; LLINÀS & GOODMAN, 2008). Contudo, mesmo que a identificação de uma forma cristalina ou amorfa apropriada seja determinada durante o desenvolvimento, é fundamental garantir que a mesma permanecerá inalterada no produto final. Durante a produção de um medicamento, certas operações unitárias como secagem, micronização, granulação úmida e compressão podem levar a transformações na forma sólida (MORRIS *et al.*, 2001; ZHANG *et al.*, 2004). O estresse aplicado aos cristais durante o processamento farmacêutico pode causar defeitos em sua estrutura, contribuindo para sua desordem e afetando as propriedades físicas do pó resultante (VIPAGUNTA *et al.*, 2001). A contaminação por estas “impurezas” polimórficas pode comprometer a estabilidade e o desempenho do produto final (TIWARI *et al.*, 2007).

Mais especificamente no caso da olanzapina, o fármaco apresenta-se como um sólido cristalino amarelo que pode ser cristalizado em mais de 25 formas diferentes, das quais cerca de sete possuem interesse farmacêutico. Foram identificados e caracterizados, para o fármaco, três polimorfos anidros (I, II e III), três polimorfos diidratados (B, D e E), um hidrato maior, além de inúmeros solvatos (KOLODZIEJSKI *et al.*, 2011; POLLA *et al.*, 2005; REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003). O hidrato maior é uma forma cristalina metaestável, que contém de 2 a 2,5 mol de água e só foi observado em precipitados úmidos de olanzapina. Quando seco, o material converte-se no diidrato E (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003).

As formas anidras I e II são aquelas comercialmente disponíveis (AYALA *et al.*, 2006). A patente americana US 5,229,382, depositada pela Eli Lilly em 1992, descreve a síntese do polimorfo anidro I de olanzapina. Posteriormente, em 1998, a mesma empresa patenteou a obtenção e utilização de uma nova forma cristalina anidra, denominada, então, forma II. De acordo com a patente US 5,736,541, a forma I mostrou-se metaestável e não adequada para uso comercial em formulações farmacêuticas, uma vez que apresenta alteração

de cor com a exposição ao ar. Alterações de cor aparente do medicamento poderiam ser problemáticas, especialmente para uso por pacientes psicóticos.

Em seu trabalho publicado em 2003, Reutzel-Edens e colaboradores utilizaram a associação de uma série de técnicas para a caracterização dos diferentes polimorfos e hidratos de olanzapina e suas relações estruturais. No entanto, em sua publicação, os autores invertem a nomenclatura das formas I e II em relação ao descrito nas patentes, denominando a forma I como a forma estável. Desde então, inúmeros trabalhos posteriores referenciam os polimorfos I e II do fármaco de formas distintas (Tabela 3).

Tabela 3. Referências dos polimorfos I e II de olanzapina descritos na literatura.

Polimorfo	Patente US5,229,382	Patente US5,736,541	Reutzel-Edens <i>et al.</i> (2003)	Polla <i>et al.</i> (2005)	Ayala <i>et al.</i> (2006)	Tiwari <i>et al.</i> (2007)	Wawrzycka-Gorczyca <i>et al.</i> (2007)
Forma I	Metaestável	Metaestável	Estável	Estável	Estável	Metaestável	Metaestável
Forma II	Estável	Estável	Metaestável	Metaestável	Metaestável	Estável	Estável
DSC				✓		✓	✓
TG			✓	✓		✓	
TOA				✓		✓	
DRXP	✓	✓	✓	✓		✓	✓
Raman				✓	✓		
Infravermelho					✓	✓	
Microscopia						✓	

De modo a evitar confusões, será utilizada, para fins deste trabalho, a mesma notação de Reutzel-Edens e colaboradores (2003), denominando como forma I a forma cristalina anidra mais estável.

As formas II e III são dessolvatadas, em um processo de difícil controle, uma vez que misturas das formas I, II e/ou III são frequentemente encontradas (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003).

As propriedades de solubilidade, velocidade de dissolução e estabilidade física estão relacionadas à forma cristalina da olanzapina. As formas II e III, com menor ponto de fusão em relação à forma I (que funde a 195 °C), mostraram-se menos estáveis, convertendo-se ao polimorfo mais estável a 125 °C e 180 °C, respectivamente. Os diidratos (B, D e E) também são menos estáveis, desidratando e convertendo-se à forma I, sob aquecimento ou exposição a

condições de umidade relativa inferior a 10-15%. Em solventes orgânicos, os polimorfos metaestáveis (II e III) e os diidratos convertem-se na forma estável I em poucas horas, em temperatura ambiente. No entanto, em água, a forma I é a mais solúvel e menos estável, convertendo-se rapidamente no diidrato B, e após muitas horas a dias, no diidrato D (menos solúvel, mas mais estável) (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003).

O fato de os três polimorfos anidros (I, II e III) poderem ser obtidos por dessolvatação de diferentes hidratos, ou que dois deles podem ser convertidos em um terceiro, através de um processo favorecido por temperatura, sugere a presença de um padrão de empacotamento. Assim, as diferentes formas cristalinas observadas provavelmente diferem entre si, de forma pouco significativa, apenas em seu arranjo de empacotamento, independente do solvato (AYALA *et al.*, 2006; POLLA *et al.*, 2005). De fato, Reutzel-Edens e colaboradores (2003) e Wawrzycka-Gorczyca e col. (2007) demonstraram que todas as formas cristalinas da olanzapina são formadas pelo empilhamento de dímeros de enantiômeros opostos do fármaco, propondo que estes agregados centrossimétricos (Figura 2a) seriam as células unitárias das estruturas do estado sólido de olanzapina (Figura 2b) (WAWRZYCKA-GORCZYCA *et al.*, 2007).

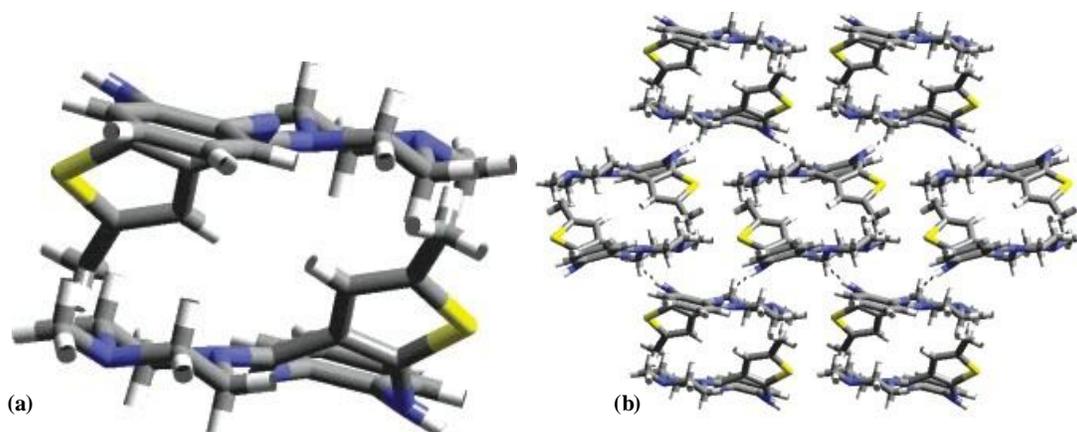


Figura 2. Dois enantiômeros opostos de olanzapina formando uma cela unitária (a) e rede cristalina (b) da forma I (Adaptado de REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003).

Como descrito, a diversidade de formas sólidas existentes para a olanzapina requer um completo entendimento dos fenômenos do estado sólido que podem ocorrer durante seu desenvolvimento e processamento. Este entendimento somente pode ser atingido pela associação dos conhecimentos teóricos a resultados experimentais.

Nas últimas décadas, a capacidade de análise de cristais de fármacos tornou-se significativa devido aos avanços nos equipamentos e programas. Existem, atualmente,

inúmeras técnicas disponíveis para a análise de fase sólida de materiais de interesse farmacêutico. No entanto, alguns destes métodos comumente utilizados falham em diferenciar, isoladamente e com a segurança necessária, polimorfos com estruturas similares. Assim, a associação de métodos deve ser utilizada para evitar erros de interpretação e identificação de diferentes fases cristalinas (VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

Algumas das técnicas mais comumente utilizadas incluem difratometria de raios X em pó e monocristal, calorimetria exploratória diferencial, termogravimetria e técnicas espectroscópicas de uma forma geral, como infravermelho, Raman e ressonância magnética nuclear no estado sólido.

#### 2.2.1.1.1 Difração de raios X

A difratometria de raios X é uma das técnicas mais utilizadas e confiáveis para a diferenciação de polimorfos (RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004). O método parte do princípio de que quando raios X monocromáticos incidem em planos de um sólido cristalino com um ângulo  $\theta$ , estes são espalhados com mesmo ângulo. Como o padrão de espalhamento (ângulo de difração) de cada forma cristalina é característico e específico, esta técnica é particularmente adequada para a identificação de diferentes polimorfos, solvatos e não-solvatos de um composto, uma vez que cada uma destas formas sólidas possui estruturas cristalinas distintas.

A partir da detecção dos raios difratados, são gerados padrões de difração formados por um conjunto de linhas e picos de diferentes intensidades e posições (distâncias interplanares “d” ou ângulos de Bragg “ $2\theta$ ”). Para cada substância, as posições dos picos são essencialmente fixas e características (como uma impressão digital) e correspondem ao espaçamento periódico dos átomos no estado sólido (RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004). As intensidades, no entanto, podem variar em função das condições instrumentais e de preparo da amostra (SURYANARAYANAN, 1995).

Basicamente, a técnica pode ser realizada como difratometria em monocristal e em pó. Apesar de a difração de raios X em monocristal fornecer informações importantes na resolução da estrutura cristalina de um sólido, a necessidade de obtenção de monocristais adequados e o alto grau de complexidade associado à análise dos dados obtidos limita a utilização desta técnica na rotina de caracterização de sólidos farmacêuticos. Na maioria dos

casos, é apenas suficiente estabelecer a identidade polimórfica do material com o qual se está trabalhando e verificar se este se refere à estrutura desejada. Desta forma, a difração de raios X em pó apresenta-se como uma ferramenta mais simples e adequada para o estudo e caracterização de sólidos rotineiramente (BRITAIN, 1999).

Para identificação de polimorfos na difratometria de raios X em pó, avaliam-se principalmente as posições das diversas reflexões, através da demonstração de estrutura cristalina equivalente ou não, por comparação de diferentes padrões de difração (KARABAS *et al.*, 2007).

Essa metodologia é utilizada na identificação de fases cristalinas, avaliação do grau de cristalinidade e determinação da cinética de reações no estado sólido (YU *et al.*, 2003). Uma boa resolução dos picos no padrão de difração permite a análise quantitativa de misturas de polimorfos. Não há, no entanto, informações químicas aparentes nos dados. Ainda assim, com esforço adicional, constantes da rede cristalina podem ser extraídas e o volume da cela pode ser comparado a outras formas, possibilitando inferir a presença de moléculas de solvente na estrutura ou alterações de densidade entre polimorfos (RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004). No entanto, a difratometria de raios X em pó tem aplicação limitada na identificação de materiais amorfos, já que seus padrões de difração consistem em bandas largas e difusas (SURYANARAYANAN, 1995).

Atualmente, os resultados com a utilização desta técnica podem ser obtidos rapidamente, de forma simples e em temperatura ambiente (KAWAKAMI, 2012). Os principais pontos críticos, principalmente quando o objetivo analítico é a quantificação, estão relacionados ao equipamento e ao preparo da amostra (tamanho de partícula, rotação, efeito de orientação preferencial) (TIWARI *et al.*, 2007).

O tamanho de partícula deve ser suficientemente reduzido para que não ocorra extinção ou microabsorção da radiação e o efeito de orientação preferencial deve ser minimizado. Com amostras inorgânicas, uma alternativa é a moagem do material. No entanto, para compostos orgânicos, este procedimento pode levar a transformação de fase, gerando formas amorfas, dessolvatos ou conversão de formas metaestáveis (STEPHENSON *et al.*, 2001). Portanto, o procedimento deve ser realizado com cautela e uma avaliação cuidadosa da influência do método de preparo precisa ser feita.

As formas cristalinas anidras e hidratadas de olanzapina produzem padrões únicos de difração de raios X em pó, que podem ser utilizados para sua identificação. Os anidros I e II, as formas mais comumente utilizadas, apresentam pequenas diferenças em seus padrões de difração (Figura 3) (TIWARI *et al.*, 2007). Os padrões de difração obtidos para o hidrato

maior e seu produto de desidratação (diidrato E) também são semelhantes, indicando que não há alterações estruturais significativas entre eles. A difração de raios X em pó é particularmente útil na identificação da relação estrutural entre os vários solvatos de olanzapina. Padrões de difração obtidos para o diidrato B e solvatos de metanol e etanol foram muito similares, indicando que estas formas cristalinas são isoestruturais (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003).

O padrão de difração observado por Tiwari e colaboradores (2007) foi consistente com o encontrado por Reutzel-Edens *et al.* (2003).

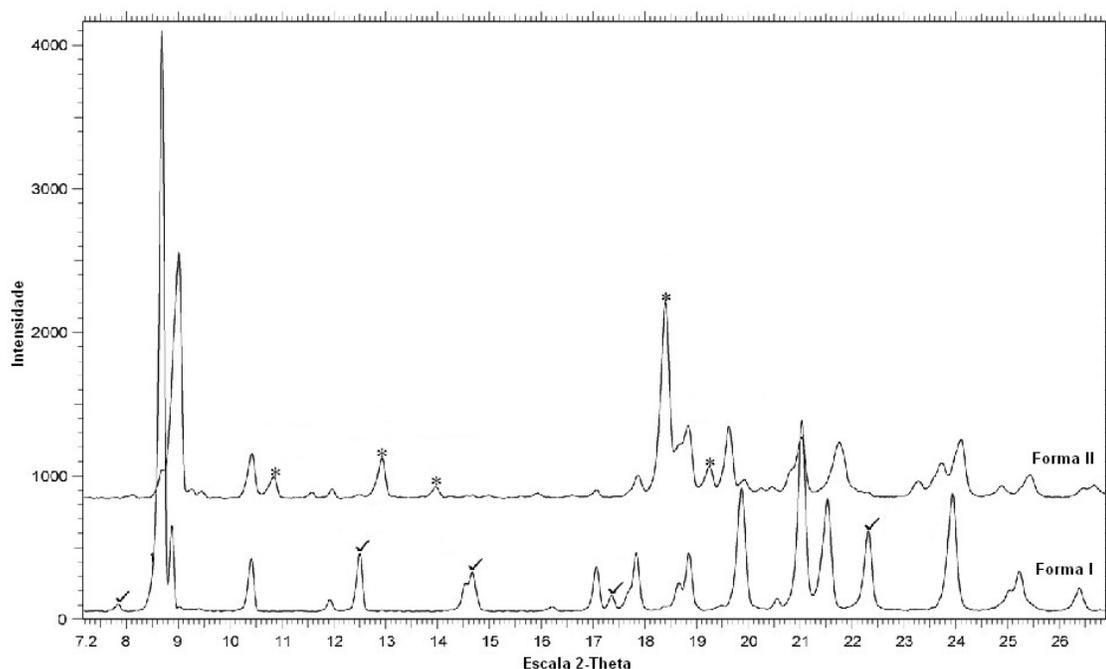


Figura 3. Padrões de difração dos polimorfos I e II de olanzapina. “✓” mostram os picos característicos da forma I e “\*” da forma II (adaptado de TIWARI *et al.*, 2007).

#### 2.2.1.1.2 Análise térmica

A análise térmica inclui métodos sensíveis e precisos para a avaliação de formas sólidas e obtenção de dados termodinâmicos. São utilizados com o objetivo de determinar as mudanças físicas e químicas que ocorrem com o aquecimento de uma determinada amostra. As curvas obtidas são interpretadas considerando-se as reações plausíveis de ocorrerem. Estas reações podem ser endotérmicas (fusão, ebulição, sublimação, vaporização, dessolvatação,

transições de fase sólida, degradação e transição vítrea) ou exotérmicas (cristalização, decomposição oxidativa) (CLAS *et al.*, 1999; MCCAULEY & BRITAIN, 1995).

Os métodos de análise térmica podem ser ferramentas valiosas durante a realização dos estudos de pré-formulação, uma vez que fornecem informações sobre a pureza do composto em análise, polimorfismo, solvatação, degradação e possíveis incompatibilidades entre fármacos e excipientes. Neste processo, é fundamental determinar a estabilidade termodinâmica relativa das várias formas sólidas identificadas, a fim de fundamentar a seleção mais apropriada de cada uma delas na formulação em desenvolvimento (CAIRA, 2008).

A técnica de calorimetria exploratória diferencial (*differential scanning calorimetry*, DSC) é um dos métodos de análise térmica mais difundidos, devido à sua habilidade em fornecer informações sobre as propriedades energéticas das substâncias, de forma rápida e precisa. Mede a quantidade de energia absorvida ou liberada por uma determinada amostra quando esta é aquecida, resfriada ou mantida em temperatura constante (RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004).

Os equipamentos de DSC podem funcionar considerando dois princípios diferentes: DSC por compensação de energia ou por fluxo de calor. No primeiro, a amostra e o material de referência são mantidos em mesma temperatura e o fluxo de calor necessário para manter essa condição é medido. No segundo método, há um único forno e o fluxo de calor para a amostra e referência é proporcional à diferença dos registros de dois termopares (CLAS *et al.*, 1999).

Assim, os gráficos são obtidos como a razão de aquecimento diferencial relacionados à temperatura. A área sob a curva dos picos é diretamente proporcional ao calor absorvido ou liberado pelo evento de interesse. Os dados termodinâmicos que podem ser obtidos incluem ponto de fusão, calor de fusão e transições polimórficas (MCCAULEY & BRITAIN, 1995; RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004).

Quantidades pequenas de amostra (3 a 5 mg) são necessárias para a execução das análises, mas resultados satisfatórios podem ser obtidos com até 1 mg. Em geral, as amostras são analisadas em pequenos cadinhos metálicos (alumínio, platina, prata ou aço inoxidável), ideais para favorecer a condutividade térmica e serem pouco reativos com a amostra (CLAS *et al.*, 1999).

Trabalho realizado por Polla e colaboradores (2005) e confirmado, posteriormente, por Tiwari e col. (2007), procurou caracterizar os polimorfos I e II de olanzapina, dentre outras técnicas, por análise térmica. Estudos de DSC das formas anidras apresentaram

comportamentos térmicos diferentes, conforme observado na Figura 4. Ambas as curvas de DSC apresentam um pico endotérmico a, aproximadamente, 194 °C, não relacionado com perda de peso, conforme confirmado pela análise termogravimétrica. No entanto, a forma cristalina II apresenta um segundo pico endotérmico ( $T_{onset} = 177$  °C) e um sinal exotérmico superposto a este. Através de difração de raios X em pó, o autor confirmou o aparecimento da forma I coexistindo com a forma II, na faixa de 160 °C a 180 °C.

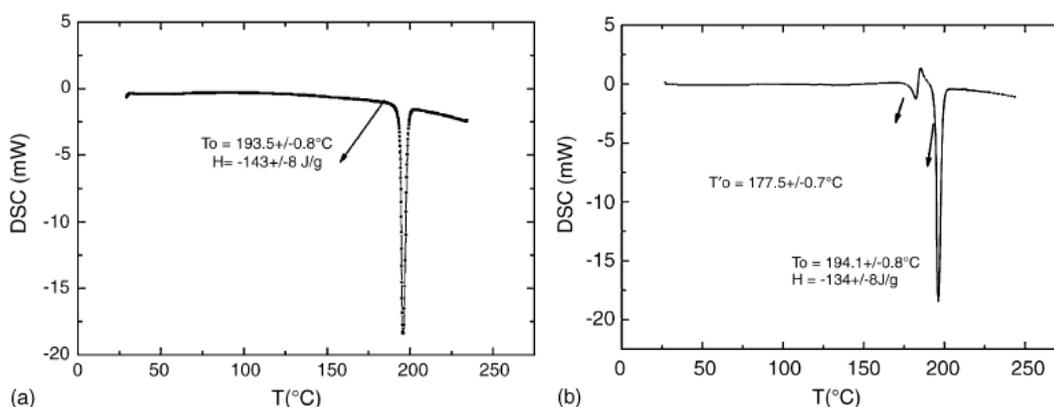


Figura 4. Curvas de DSC das formas I (a) e II (b) de olanzapina (POLLA *et al.*, 2005).

Essas transições foram observadas também no trabalho publicado por Tiwari e colaboradores, em 2007. A curva de DSC obtida para a forma II exibiu uma endoterma de fusão a 180,3-184,3 °C, seguida por uma exoterma de recristalização a 184,2-188,3 °C e, finalmente, uma fusão a 193,6-198,4 °C.

Outra aplicação importante da análise de calorimetria exploratória diferencial é o estudo da compatibilidade entre o fármaco e os excipientes de uma formulação em desenvolvimento. A identificação de possíveis incompatibilidades entre os insumos de uma forma farmacêutica ainda na etapa de pré-formulação é fundamental para evitar problemas de estabilidade do produto posteriormente. Em uma das metodologias deste tipo de estudo, misturas binárias de fármaco e adjuvantes são avaliadas quanto ao aparecimento, desaparecimento ou deslocamento de picos endotérmicos ou exotérmicos, o que indicaria a possibilidade de interações físico-químicas entre seus componentes (MURA *et al.*, 2002). Outra abordagem envolve submeter as misturas binárias a condições drásticas de temperatura e umidade por um curto período de tempo e utilizar análise térmica para monitorar alterações nos picos previstos para os insumos em questão (MCCAULEY & BRITAIN, 1995).

Peres-Filho e colaboradores (2011) investigaram a compatibilidade da olanzapina com diversos excipientes comumente utilizados na prática farmacêutica (celulose microcristalina,

lactose, fosfato de cálcio diidratado, croscarmelose sódica, povidona e estearato de magnésio). Foram realizados estudos de análise térmica e difração de raios X. Os resultados de DSC apresentaram evidências de interações entre o fármaco e lactose, povidona e estearato de magnésio. A análise termogravimétrica apresentou indícios de incompatibilidade apenas com a lactose. No entanto, os padrões de difração de raios X de todas as misturas binárias avaliadas não exibiram modificações na estrutura cristalina da olanzapina.

A análise termogravimétrica ou termogravimetria (TG) é uma medida da perda de massa induzida termicamente como função do aquecimento aplicado. É restrita a processos envolvendo tanto a perda quanto ganho de massa e é mais comumente utilizada nos estudos de dessolvatação, decomposição e determinação quantitativa do conteúdo total de voláteis de uma amostra (RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004).

A técnica é baseada no registro contínuo da massa da amostra em uma microbalança enquanto esta é submetida ao aquecimento. A precisão e exatidão do método estão relacionadas ao equipamento e à preparação da amostra. A atmosfera dentro do forno deve ser controlada, geralmente por fluxo de gás inerte, uma vez que pode influenciar a natureza das reações térmicas. A razão de aquecimento, assim como tamanho da amostra e sua granulometria, a natureza dos gases gerados, calores de reação e condutividade térmica são outros fatores que influenciam a qualidade dos resultados obtidos (MCCAULEY & BRITAIN, 1995).

A principal aplicação da termogravimetria consiste em sua associação a outras técnicas, como DSC, auxiliando na interpretação dos eventos térmicos observados. Processos de dessolvatação e decomposição são acompanhados de alterações de massa e, portanto, poderão ser identificados por curvas de TG nas mesmas faixas de temperaturas. As transformações sólido-sólido ou sólido-líquido, no entanto, não são acompanhadas de perda de massa e, assim, não geram registro em uma curva de TG (MCCAULEY & BRITAIN, 1995).

A microscopia termoóptica é uma técnica analítica complementar a outros métodos de análise térmica, como DSC e TG, que consiste no monitoramento visual do comportamento de determinada amostra em função da temperatura, através da utilização de um microscópio óptico acoplado a uma estação de aquecimento (USP, 2013). É um método muito útil na confirmação visual de transições do estado sólidos, principalmente fusões e recristalizações (VITEZ *et al.*, 1998).

### 2.2.1.1.3 Espectroscopia vibracional

Técnicas como difração em pó de raios X, calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria têm sido amplamente utilizadas na caracterização de formas no estado sólido, do ponto de vista intermolecular. No entanto, métodos espectroscópicos vibracionais, como espectroscopia no infravermelho e espectroscopia Raman, têm se apresentado como alternativas analíticas interessantes para a investigação das diferenças em nível intramolecular de inúmeros sólidos farmacêuticos (HEINZ *et al.*, 2009).

A região mais interessante do espectro eletromagnético, para fins analíticos, está entre 2,5 e 25  $\mu\text{m}$ , isto é, entre 4000 e 400  $\text{cm}^{-1}$ , envolvendo principalmente as regiões do infravermelho próximo e médio. Em comprimentos de onda nestas regiões, a radiação tem energia suficiente para alterar os níveis de energia vibracional e rotacional das moléculas. Para que um modo de vibração absorva a radiação incidente e apareça em um espectro de infravermelho, é necessário que o momento dipolo entre os átomos das ligações químicas mude durante a vibração. Estes modos de vibração são característicos dos grupos químicos das moléculas e dependentes das massas dos átomos, das constantes de força das ligações químicas e dos átomos próximos. Desta forma, o espectro de absorção no infravermelho funciona como uma “impressão digital”, permitindo a elucidação estrutural e identificação dos compostos, além de detecção de impurezas (MENDHAM *et al.*, 2002).

A espectroscopia Raman baseia-se no princípio de que quando moléculas são irradiadas com luz monocromática, uma parte da luz se espalha. A maior parte da luz espalhada (cerca de 99%) possui a mesma frequência da luz incidente. Uma pequena fração, no entanto, é espalhada com frequências diferentes. A diferença entre as novas frequências e a frequência da luz incidente é característica da molécula irradiada e relacionada à sua frequência vibracional (MENDHAM *et al.*, 2002).

Os espectros Raman e de infravermelho fornecem informações semelhantes e complementares, apesar de diferirem quanto à sensibilidade em relação aos grupos funcionais presentes na amostra analisada. A espectroscopia Raman é particularmente mais sensível à detecção de múltiplas ligações C-S e C-C, identificando mais facilmente compostos aromáticos, por exemplo (USP, 2013). Algumas das vantagens da espectroscopia Raman em relação ao infravermelho incluem fácil preparação da amostra, espectros mais simples e com menores sobreposições de bandas e possibilidade de executar análises de sólidos em ambientes aquosos, uma vez que a água é intensamente absorvida nos espectros de

infravermelho, mas não na espectroscopia Raman (HEINZ *et al.*, 2009; MENDHAM *et al.*, 2002).

A espectroscopia vibracional tem aplicação na identificação e caracterização de compostos e seus polimorfos e formas amorfas, nos estudos de interação entre fármacos e excipientes, avaliação do grau de cristalinidade, transformações de fases durante processos produtivos e análises quantitativas (HEINZ *et al.*, 2009).

Estudo realizado por Ayala e colaboradores (2006) utilizou as técnicas de espectroscopia vibracional (infravermelho, infravermelho próximo e Raman) como ferramentas na investigação de diferenças espectroscópicas entre os polimorfos de olanzapina (formas anidras I e II).

Através da comparação dos espectros de Raman e infravermelho entre cada uma das formas, foi possível identificar modos de vibração característicos que podem ser utilizados para distinção e caracterização dos polimorfos.

Adicionalmente, o trabalho reforça o uso da espectroscopia na região do infravermelho próximo (números de onda de 12.500 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ ) na investigação do polimorfismo em compostos farmacêuticos. Os espectros obtidos nesta região são resultado da absorção de luz devido a vibrações moleculares de ligações do hidrogênio como CH, NH e OH. Nos últimos anos, a espectroscopia no infravermelho próximo (NIR) mostrou-se como uma ferramenta de grande aplicação na indústria farmacêutica, principalmente por ser uma técnica rápida e não destrutiva, exigindo quase nenhuma preparação prévia da amostra a ser analisada. A análise de compostos cristalinos fornece bandas estreitas e características, permitindo a identificação através da interpretação direta dos espectros (LUYPAERT *et al.*, 2007).

As desvantagens associadas a este método estão relacionadas ao limite de detecção não adequado para a quantificação de traços e à complexidade dos espectros obtidos. Além disso, as condições físicas da amostra e do ambiente de medição também podem interferir nos resultados, tornando a interpretação dos resultados ainda mais difícil (LUYPAERT *et al.*, 2007).

### 2.2.1.2 Molhabilidade

A molhabilidade é uma propriedade governada diretamente por características de energia de superfície dos pós e, por isso, pode influenciar inúmeros processos relacionados à solubilização, dissolução e dispersão das partículas (PURI *et al.*, 2010). Conseqüentemente, dados de molhabilidade podem ser úteis no controle de qualidade de matérias-primas e na otimização de formulações, uma vez que podem fundamentar escolhas de excipientes e processos produtivos (PRESTIDGE & TSATOUHAS, 2000).

A molhabilidade é geralmente avaliada em função do ângulo de contato entre sólido e líquido, indicando a hidrofobicidade dos pós. Existem inúmeros modelos para determinação da molhabilidade descritos na literatura, sendo o método de gota séssil um dos mais comumente utilizados em materiais farmacêuticos. Este método consiste na deposição de uma gota de líquido na superfície do sólido, compactado na forma de disco. Com a dispersão da gota, o ângulo de repouso ( $\theta$ ) formado na linha de contato entre as três fases (líquido/sólido/vapor) é determinado (BERGSTRÖM *et al.*, 2013). Por princípio, para que a molhabilidade ocorra, as moléculas líquidas situadas próximas à linha de contato devem romper a força coesiva do líquido, deslocar as moléculas de gás ou vapor adsorvidas à superfície e aderir ao sólido através da formação de ligações sólido/líquido (LAZGHAB *et al.*, 2005).

Baixos ângulos de contato ( $\theta < 90^\circ$ ) indicam que o líquido espalhou-se pela superfície e que o sistema, como um todo, é molhável. Em oposição, ângulos de contato altos ( $\theta > 90^\circ$ ) indicam que o líquido não molhou a superfície e tende a permanecer na forma de gota, sugerindo baixa molhabilidade do sólido (Figura 5).

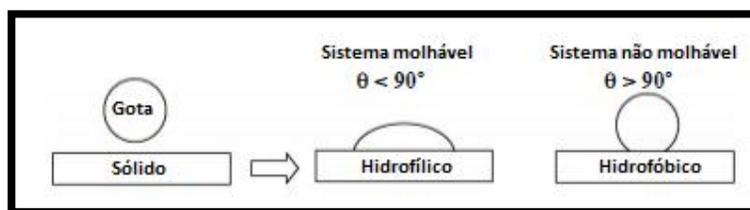


Figura 5. Molhabilidade (Adaptado de LAZGHAB *et al.*, 2005).

Problemas associados a este método estão relacionados à penetração da gota, à dissolução do sólido durante o ensaio e a alteração das características de superfície

(rugosidade) e forma cristalina do sólido durante a compressão para preparo da amostra (MUSTER & PRESTIDGE, 2002; ZHANG *et al.*, 2002).

### 2.2.1.3 Solubilidade

A solubilidade é um dos parâmetros físico-químicos mais importantes a serem determinados durante os estudos de pré-formulação, uma vez que uma solubilidade inadequada de dado fármaco nos fluidos intestinais pode resultar em problemas de absorção, limitando sua biodisponibilidade oral e afetando, conseqüentemente, sua eficácia terapêutica (MOTA *et al.*, 2009). Recursos farmacotécnicos podem auxiliar no desenvolvimento de fármacos pouco solúveis. No entanto, a estabilidade e processabilidade devem ser levadas em conta durante a escolha da composição e dos parâmetros de processo mais adequados (LIPINSKI *et al.*, 2012).

Diferentes metodologias podem ser utilizadas para determinação da solubilidade de um fármaco. Dependendo das condições experimentais escolhidas, valores de solubilidade cinética ou termodinâmica podem ser obtidos. Em medidas de solubilidade cinética, o fármaco geralmente é dissolvido em um pré-solvente como, por exemplo, dimetilsulfóxido, formando uma solução estoque de concentração conhecida. Pequenos volumes de meio aquoso são adicionados até que o limite de solubilidade seja atingido e o fármaco precipite. A precipitação do fármaco é seguida por doseamento turbidimétrico, nefelométrico ou por espectroscopia no UV (HEIKKILÄ *et al.*, 2011). Os métodos de solubilidade cinética são utilizados principalmente para facilitar a caracterização de novos fármacos durante as etapas iniciais do desenvolvimento, uma vez que possibilitam a rápida avaliação de um grande número de produtos (mais de 600 compostos por semana) com quantidades mínimas de amostra (BHATTACHAR *et al.*, 2006). Alguns autores, no entanto, questionam os valores absolutos obtidos através destes métodos. Uma vez que estes estudos iniciam com o fármaco em solução, informações relacionadas à influência da energia para romper a estrutura cristalina e ao efeito dos polimorfos na solubilidade são perdidas. Há um risco de se obter valores de supersaturação significativamente maiores através da precipitação de formas amorfas ou metaestáveis dos compostos e a energia necessária para romper a estrutura cristalina também não é levada em consideração. Adicionalmente, devido aos desenhos experimentais e às metodologias utilizadas para quantificação, não há tempo para equilíbrio

do composto precipitado no meio aquoso, podendo levar a valores diferentes dos obtidos por outras metodologias. Assim, muitos autores enfatizam o uso de informações de solubilidade cinética apenas nos estudos preliminares de desenvolvimento de fármacos, na triagem e avaliação da viabilidade de candidatos em ensaios biológicos (ALSENZ & KANSY, 2007; BHATTACHAR *et al.*, 2006; LIPINSKI *et al.*, 2012).

Em contraste com a solubilidade cinética, a solubilidade em equilíbrio (ou solubilidade termodinâmica) representa a solubilidade de saturação de um composto em equilíbrio com um excesso de sólido não dissolvido no final do processo de dissolução. O método de *shake flask* é um dos mais utilizados para determinação de valores de solubilidade termodinâmica. Na técnica, uma quantidade suficiente da substância é adicionada ao meio de dissolução para que se obtenha uma solução saturada. A agitação é mantida, em temperatura controlada, por 24 a 48 horas, até completo equilíbrio. Alíquotas são retiradas em tempos pré-determinados. As amostras são filtradas e a fração dissolvida na solução saturada é quantificada (KERNS & DI, 2004).

Ao contrário da solubilidade cinética, os métodos de solubilidade termodinâmica geralmente são utilizados em estágios mais avançados do desenvolvimento de novos fármacos, uma vez que demandam mais tempo e quantidades maiores de amostra para sua realização. Os dados de solubilidade obtidos em diferentes solventes são úteis no escalonamento de formulações, no desenvolvimento de métodos analíticos, na composição de estudos de bioisecção e na elaboração de protocolos de validação de limpeza de equipamentos fabris (ALSENZ & KANSY, 2007, BRASIL, 2013).

#### 2.2.1.4 Dissolução

A transferência de moléculas ou íons de um estado sólido para a solução é conhecida como dissolução (AULTON, 2005). A dissolução de um sólido disperso em um determinado líquido ocorre em estágios sequenciais. A primeira etapa consiste no processo de solvatação, ou seja, uma reação interfacial entre a fase sólida e a fase líquida, resultando na liberação de moléculas do soluto da fase sólida. No segundo estágio, as moléculas são transportadas da interface para o solvente por difusão ou convecção. A velocidade de dissolução é sempre controlada pela fase mais lenta, geralmente a difusão, e é dependente tanto das propriedades físico-químicas do solvente (tensão superficial, viscosidade, densidade, temperatura) quanto

das do soluto (tamanho de partícula, porosidade, densidade, composição química) (MARABI *et al.*, 2008).

Noyes e Whitney (1897) e Nernst (1904) descreveram a velocidade de dissolução de uma substância, em um processo limitado pela difusão, de acordo com a seguinte equação:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{A D (C_s - C)}{h v} \quad \text{Equação 1}$$

onde:

$dc/dt$  = velocidade de dissolução;

A = área superficial do sólido;

D = coeficiente de difusão do sólido;

h = espessura da camada de difusão;

v = volume do meio de dissolução;

$C_s$  = concentração do soluto necessária para saturar o meio (solubilidade de equilíbrio); e

C = concentração do soluto no meio.

Se  $C \ll C_s$ , então a velocidade de dissolução será diretamente proporcional à solubilidade da substância no meio de dissolução. Essa situação é normalmente denominada “condição *sink*” e ocorre quando a concentração do soluto não excede 10% da quantidade necessária para a saturação de equilíbrio. Essa condição é normalmente satisfeita quando o soluto é removido do meio mais rapidamente do que passa para a solução ou quando o volume do meio é muito grande (MOSHARRAF & NYSTRÖM, 1995).

O processo de absorção de fármacos sólidos administrados por via oral depende, primeiramente, da dissolução do IFA nos fluidos do trato gastrointestinal, para sua posterior absorção na circulação sistêmica (WADKE *et al.*, 1990). Quando a dissolução ocorre de forma mais lenta que a absorção, condições *sink* são estabelecidas *in vivo*. Além disso, na condição *sink*, a velocidade de dissolução será diretamente proporcional à solubilidade de equilíbrio e a área superficial do soluto. Por estes motivos, condições *sink* são simuladas durante estudos de dissolução de fármacos (MOSHARRAF & NYSTRÖM, 1995).

Faz-se fundamental investigar o comportamento de dissolução dos fármacos, especialmente aqueles com baixa solubilidade, uma vez que, nestes casos, o processo de dissolução será o limitante para sua absorção. O conhecimento comparativo das velocidades de dissolução de diferentes formas sólidas (sais, ésteres, pró-fármacos, polimorfos, solvatos) é

necessário para fundamentar a escolha da forma mais adequada durante o desenvolvimento de um medicamento (TENHO *et al.*, 2007).

#### 2.2.1.4.1 Dissolução intrínseca

A dissolução intrínseca é geralmente definida como a transferência de massa de uma superfície sólida para uma fase líquida, através da manutenção da área superficial constante e conhecida e de condições hidrodinâmicas (velocidade de agitação, pH, temperatura e força iônica do meio de dissolução) controladas (ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009; GROSSJOHANN *et al.*, 2012).

Na técnica, o pó é comprimido por uma prensa em uma matriz, produzindo um disco compacto, fixo a um dispositivo. Apenas uma face do disco é exposta ao meio de dissolução. O disco e o dispositivo podem ser imersos no meio de dissolução e mantidos fixos no fundo da cuba (método estático) ou submetidos à rotação em velocidade determinada (método rotacional) (Figura 6). Alíquotas do meio de dissolução são retiradas em intervalos de tempos pré-determinados, filtradas e submetidas à análise (AULTON, 2005). A inclinação da reta no gráfico de massa dissolvida por unidade de área superficial pelo tempo fornece o valor de dissolução intrínseca do fármaco (GIRON *et al.*, 2004).

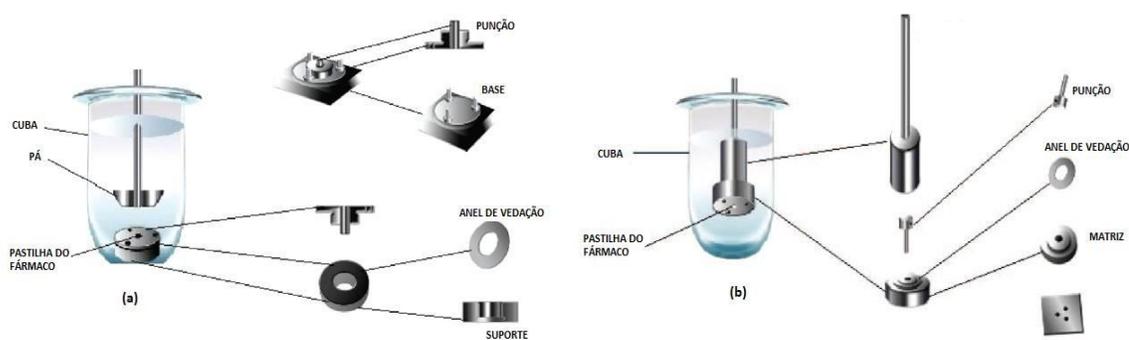


Figura 6. Aparatos de dissolução intrínseca: (a) método estático e (b) método rotacional (Adaptado de ISSA & FERRAZ, 2011).

Os discos comprimidos do material puro são utilizados com o objetivo de avaliar a capacidade intrínseca de o fármaco dissolver-se, sem a interferência do tamanho e forma de partícula e dos excipientes da formulação (TENHO *et al.*, 2007). Uma vez que a área

superficial permanece constante com o tempo, a velocidade de dissolução passa a ser dependente da solubilidade do soluto e dos coeficientes hidrodinâmicos e de difusão deste no meio (GROSSJOHANN *et al.*, 2012; TENHO *et al.*, 2007). É importante ressaltar que, ao estudar o impacto da forma sólida da matéria-prima na dissolução, a influência do tamanho de partícula seja minimizada ou mesmo eliminada (TENHO *et al.*, 2007).

A dissolução intrínseca tem sido utilizada há muitos anos para caracterizar fármacos. Algumas das aplicações incluem a determinação de parâmetros termodinâmicos associados a transformações de fases sólidas, compreensão da relação entre a velocidade de dissolução e a forma cristalina, determinação de perfis de dissolução pH-dependentes e estudos da influência de surfactantes na solubilização de fármacos poucos solúveis (YU *et al.*, 2004; ZAKERI-MILANI *et al.*, 2009).

#### 2.2.1.4.2 Dissolução por dispersão

A dissolução por dispersão é outro método utilizado para o estudo da dissolução de sólidos. Nesta técnica, uma quantidade determinada de pó é introduzida no meio de dissolução e mantida sob agitação constante. Em intervalos de tempo pré-determinados, alíquotas são coletadas e quantificadas, determinando-se o percentual de fármaco dissolvido em função do tempo (WADKE *et al.*, 1990).

Diferentemente da dissolução intrínseca, neste método não é feito nenhum esforço para manter a área superficial constante. Avalia-se a influência de fatores como o tamanho de partícula, área superficial e cristalinidade/amorfismo na cinética de dissolução da substância (WADKE *et al.*, 1990).

Fatores como propriedades coesivas, formação de aglomerados e molhabilidade dos pós podem influenciar na sua área superficial, alterando os valores de dissolução obtidos (VILLIERS, 1996).

### 2.2.1.5 Tamanho de partícula

As dimensões das partículas dos fármacos e excipientes que compõem um determinado medicamento consistem em outro fator importante a ser considerado durante o desenvolvimento farmacotécnico de formas farmacêuticas, principalmente sólidas. O objetivo da análise de tamanho de partícula é obter dados quantitativos sobre o tamanho médio e distribuição granulométrica dos insumos que compõem uma formulação. Estas características podem influenciar uma variedade de propriedades físicas, processos produtivos e atributos de qualidade do produto final (SHEKUNOV *et al.*, 2007).

Um dos principais aspectos relacionados à eficácia de um medicamento consiste na dissolução da forma farmacêutica, uma vez que este parâmetro está diretamente relacionado à sua biodisponibilidade. Conforme discutido anteriormente, a equação de Noyes-Whitney determina que a velocidade de dissolução de um fármaco é diretamente proporcional à sua área superficial. Portanto, alterações do tamanho da partícula e, conseqüentemente, da área superficial podem ter efeito significativo na velocidade de dissolução e na biodisponibilidade do fármaco (MOSHARRAF & NYSTRÖM, 1995).

Com relação aos processos produtivos, uma boa fluidez da mistura de fármaco e adjuvantes é crítica para assegurar a uniformidade de conteúdo e dissolução dos comprimidos. No processo de homogeneização de pós, principalmente no caso de misturas destinadas à compressão direta, a formulação requer um controle rigoroso das características das partículas. A morfologia e a distribuição granulométrica do princípio ativo devem ser semelhantes às dos demais componentes, a fim de garantir a manutenção da uniformidade e evitar segregação nas etapas posteriores. Da mesma forma, a avaliação do formato dos cristais pode contribuir para a interpretação do comportamento dos pós durante o processo de compressão (TINKE *et al.*, 2005b).

Principalmente para fármacos pouco solúveis, os processos de redução do tamanho de partícula, como moagem e micronização, são constantemente utilizados como recurso para aumentar os valores de dissolução e melhorar a biodisponibilidade (KAWAKAMI, 2012). Nestes casos, torna-se importante determinar as características físicas desta matéria-prima após estas operações, com o objetivo de avaliar a faixa de distribuição granulométrica eficaz para atender às especificações de dissolução, sem comprometer o processo produtivo (dificuldade de uniformização de mistura por aglomeração do fármaco devido à carga eletrostática) (ZIMPER *et al.*, 2010) e a estabilidade do produto final (transformação de fases

das formas sólidas, com conseqüente favorecimento de degradação química) (SHARMA *et al.*, 2009).

Existe, atualmente, uma variedade de metodologias disponíveis para determinação de dimensões de partículas. Dentre elas estão a tamisação, microscopia e difração de LASER.

#### 2.2.1.5.1 Tamisação

A tamisação é uma das técnicas mais tradicionais utilizadas na indústria farmacêutica para determinação da distribuição granulométrica de pós.

O princípio do método baseia-se na utilização de uma torre de tamises com malhas de aberturas conhecidas que formam uma barreira física às partículas. A torre é montada de forma que o tamis de menor abertura nominal seja colocado imediatamente acima de um reservatório coletor. Tamises com aberturas progressivamente maiores são empilhados até o topo da série.

Para a realização da análise, uma quantidade pré-determinada de pó ou granulado é colocada na peneira de maior abertura (superior) e a torre é submetida à vibração mecânica por tempo específico. Ao fim da análise, as peneiras são pesadas individualmente e a fração de pó retida em cada malha é calculada por diferença entre as massas final e inicial. As frações de pó retidas em cada uma das peneiras são consideradas com tamanhos de partículas equivalentes ao diâmetro da abertura nominal da malha correspondente (STANIFORTH, 2005).

Fatores relacionados à amostra (quantidade, forma das partículas, umidade e cargas eletrostáticas) e às condições experimentais (tempo de análise, velocidade de agitação e aberturas utilizadas) podem influenciar diretamente nos resultados obtidos. A técnica é mais adequada para a análise de pós e granulados, preferencialmente em estado seco, com distribuições granulométricas mais grosseiras, geralmente acima de 75  $\mu\text{m}$  (RANDALL, 1995). A aplicação do método para amostras mais finas pode ser problemática, uma vez que a baixa densidade destas não é capaz de superar as forças de adesão e coesão entre as partículas, levando à formação de aglomerados que impedem a determinação de valores reais dos diâmetros das partículas envolvidas. Outra limitação da técnica está relacionada à grande quantidade de amostra necessária para sua execução, geralmente superior a 25 g (USP, 2013).

#### 2.2.1.5.2 Microscopia

A observação visual utilizando microscópio óptico tem se mostrado uma análise útil na identificação preliminar de formas do estado sólido, por diferenças na morfologia ou hábito cristalino entre polimorfos (CHIENG *et al.*, 2011). No entanto, é geralmente complicado determinar se as diferenças observadas na morfologia são causadas por polimorfismo ou simplesmente resultados de alterações nas condições do processo de síntese da matéria-prima. Assim, a microscopia óptica pode ser utilizada como uma técnica auxiliar e, em combinação com outros métodos analíticos, favorecer a diferenciação entre formas sólidas (RODRIGUEZ-SPONG *et al.*, 2004). Além de fornecer informações sobre a morfologia das partículas, a microscopia óptica é utilizada para desenvolver estimativas preliminares da distribuição granulométrica de determinada amostra. É o único método no qual partículas individuais podem ser observadas, medidas e sua forma analisada. Ainda, pode ser um método confirmatório para a suspeita de formação de aglomerados de partículas (SHEKUNOV *et al.*, 2007).

Os polimorfos de olanzapina apresentam morfologias diferentes quando observadas em microscópio óptico. A forma I caracteriza-se por apresentar cristais em forma de placas (partículas planas de comprimento e largura semelhantes e espessas), enquanto cristais da forma II possuem forma retangular fina (semelhantes a lâminas) (TIWARI *et al.*, 2007).

Pode-se, ainda, utilizar a microscopia eletrônica de varredura (MEV) para obter maior detalhamento na caracterização morfológica de insumos farmacêuticos.

O microscópio eletrônico de varredura consiste de uma fonte de geração de elétrons, uma coluna com lentes para focalização da iluminação, uma câmara para disposição da amostra e um detector. Considerando que o poder de resolução de um microscópio é uma função linear do comprimento de onda, o uso de elétrons (que possuem comprimentos de onda cerca de 100.000 vezes menores que fótons da luz visível), permite resoluções melhores que 50 pm (KLANG *et al.*, 2013).

Da mesma forma que a microscopia óptica, a microscopia eletrônica tem aplicação no exame da morfologia das partículas, relacionando os dados obtidos a parâmetros de síntese, de processabilidade (fluxo, dispersão, compressibilidade, funcionalidade) e armazenamento, tanto de insumos farmacologicamente ativos como de excipientes (NEWMAN & BRITAIN, 1995).

### 2.2.1.5.3 Tamanho de partícula por espalhamento de luz (Difração de LASER)

A metodologia de determinação de tamanho de partícula por espalhamento de luz, também conhecida como difração de LASER, tem sido muito utilizada para a avaliação de matérias-primas farmacêuticas. As vantagens na sua utilização incluem a grande faixa de trabalho (de nanômetros a milímetros), rapidez, robustez, precisão e reprodutibilidade na obtenção dos resultados (SHEKUNOV *et al.*, 2007).

A técnica baseia-se na determinação da distribuição do tamanho das partículas de determinada amostra pela medida da variação angular na intensidade da luz difratada quando um raio LASER passa através desta amostra. Por princípio, partículas maiores difratam a luz em ângulos menores em relação ao raio LASER e partículas menores difratam a luz em angulações maiores, conforme mostrado na Figura 7 (MALVERN, 2012).

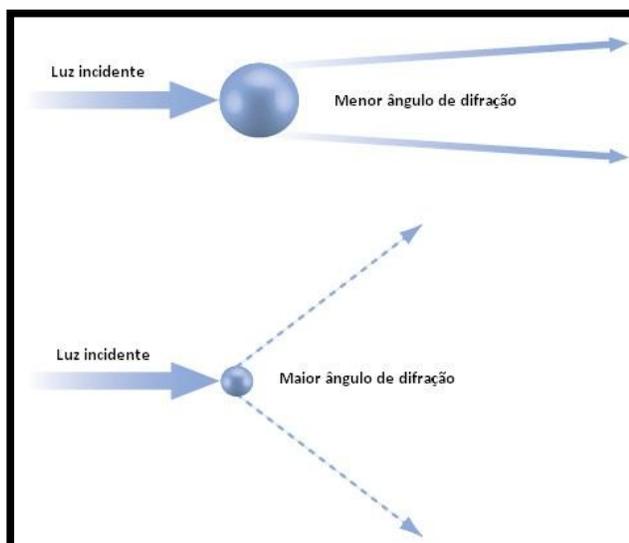


Figura 7. Espalhamento de luz por partículas grandes e pequenas (MALVERN, 2012).

Fotodetectores captam os raios difratados e os convertem em sinal elétrico, que é, então, analisado por microprocessador. Os dados de intensidade resultantes da difração angular são utilizados para calcular o tamanho das partículas responsáveis por determinado padrão de espalhamento da luz, através da aplicação de modelos matemáticos que assumem um modelo esférico. Os tamanhos de partículas são calculados considerando diâmetros de partículas esféricas equivalentes (ASTM, 2010).

É importante ressaltar que os resultados obtidos para os tamanhos de partícula por difração de LASER não são valores absolutos. Esta técnica deve ser utilizada para fins meramente comparativos, uma vez que ela assume, para fins de cálculo, que as partículas são esféricas, o que, na prática farmacêutica, raramente o são. Diferentes equipamentos podem utilizar princípios distintos para estimativa da distribuição granulométrica. Assim, os dados obtidos dependerão muito não somente do equipamento utilizado, como também da faixa granulométrica e do preparo da amostra, além dos parâmetros analíticos utilizados (método de carregamento, pressão de vácuo, obscurecimento, tempo de análise, quantidade de amostra) (TINKE *et al.*, 2005b).

Os resultados são expressos como uma distribuição estatística dos diferentes tamanhos de partículas presentes na amostra, geralmente como uma curva de distribuição cumulativa. Também são expressos o diâmetro médio do volume e o percentual de volume diferencial em função do diâmetro (ASTM, 2010).

### 2.2.2 Delineamento e produção de formas farmacêuticas sólidas

Em uma indústria farmacêutica, o desenvolvimento de novos medicamentos não está apenas relacionado à descoberta de novas moléculas ativas, mas também ao desenvolvimento de compostos estáveis e de uma forma farmacêutica efetiva. Considerando que as formas farmacêuticas podem afetar a velocidade de absorção dos fármacos, estas não devem ser vistas apenas como meros carreadores de princípios ativos e seu delineamento é parte essencial do processo de desenvolvimento de um produto (TINKE *et al.*, 2005a).

Uma vez realizados os estudos de pré-formulação, os dados obtidos para o fármaco fornecem uma base racional para nortear as ações de desenvolvimento e produção de uma forma farmacêutica, a fim de maximizar as chances de sucesso na formulação de um produto seguro e eficaz.

As atividades de formulação incluem desafios técnicos e regulatórios, envolvendo não apenas o desenvolvimento experimental de uma formulação em si, mas também a especificação de métodos analíticos para controle de qualidade de insumos e produto terminado e atendimento às exigências da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para registro de medicamentos (ROCHA *et al.*, 2011).

No Brasil, de acordo com a Lei nº 6.360, de 23 de setembro de 1976, alterada pela Medida Provisória nº 2190-34 de 2001, os medicamentos podem ser registrados como similares, genéricos ou novos.

Medicamento similar é “*aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, e que é equivalente ao medicamento registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículo*” (BRASIL, 2007).

O medicamento de referência é o “*medicamento inovador registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária e comercializado no País, cuja eficácia, segurança e qualidade foram comprovadas cientificamente junto ao órgão federal competente, por ocasião do registro*” (BRASIL, 2007). A eficácia e segurança do medicamento de referência são comprovadas através de apresentação de estudos clínicos.

Os medicamentos genéricos e similares podem ser considerados “cópias” do medicamento de referência. A fim de comprovar esta “similaridade”, a legislação vigente exige que o medicamento proposto apresente equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa/bioequivalência comparáveis a do medicamento referência.

Desta forma, o desenvolvimento farmacotécnico de uma forma farmacêutica sólida consiste em obter uma formulação que atenda não somente aos testes exigidos pelos compêndios oficiais, mas que possua perfil de dissolução *in vitro* e biodisponibilidade semelhantes ao medicamento referência.

#### 2.2.2.1 Desenvolvimento experimental de formulações

Conforme descrito anteriormente, os fármacos raramente são administrados como substâncias puras. Geralmente, é necessário que estes sejam associados a excipientes ou adjuvantes farmacêuticos, capazes de atribuir inúmeras funções à formulação em desenvolvimento: permitir a produção em escala industrial (diluentes, lubrificantes, aglutinantes), garantir a estabilidade do fármaco (quelantes, antioxidantes), promover sua biodisponibilidade (desintegrantes, molhantes, solubilizantes), melhorar propriedades organolépticas (edulcorantes, aromatizantes) (YORK, 2005).

Um trabalho adequado de formulação envolve a escolha cuidadosa e racional de cada um destes componentes, em proporções ótimas, a fim de satisfazer os requisitos de qualidade do produto e processo. Esta escolha deve levar em consideração informações obtidas durante os estudos de pré-formulação, considerando solubilidade, fluxo, densidade e tamanho de partícula do fármaco, além de possíveis incompatibilidades físico-químicas entre as substâncias (PECK *et al.*, 1990).

Uma abordagem interessante para o início do desenvolvimento experimental da formulação de um medicamento genérico ou similar consiste na avaliação crítica do medicamento referência. O levantamento de informações relacionadas à composição qualitativa dos excipientes, processo produtivo (granulação ou compressão direta) e parâmetros de qualidade (formato, dimensões, peso médio, dureza, desintegração) pode fornecer bases importantes para fundamentar as escolhas durante o desenvolvimento farmacotécnico (KANFER *et al.*, 2005).

Além de garantir a estabilidade físico-química e eficácia terapêutica da forma farmacêutica, é também relevante que as formulações desenvolvidas sejam adequadas à produção em escala industrial. Geralmente, os esforços iniciais no desenvolvimento experimental de comprimidos são direcionados para proposição de processos por compressão direta. Este tipo de processo reduz custos e tempo de produção, já que envolve um número menor de etapas produtivas e formulações mais simples (KANFER *et al.*, 2005).

Os testes manipulados em escala laboratorial devem ser avaliados quanto a uma série de parâmetros físico-químicos a fim de determinar sua adequação à produção em escala industrial, reprodutibilidade e garantia de atendimento aos requisitos de qualidade do produto.

Testes de uniformidade de mistura e conteúdo, aspecto, variação de peso médio dos comprimidos, dureza, desintegração, friabilidade e espessura são realizados como controle durante o processo produtivo para avaliação da sua capacidade e reprodutibilidade, além de garantir a manutenção dos requisitos de qualidade do produto durante toda sua produção.

A densidade e fluidez dos pós também são parâmetros importantes a serem avaliados, principalmente em processos de compressão direta, a fim de determinar características das misturas que melhor atenderão aos requisitos das etapas tanto de mistura quanto compressão.

#### 2.2.2.1.1 Densidade

A densidade aparente de um pó é calculada pela razão entre a massa de uma determinada amostra e o volume que esta ocupa, incluindo os espaços vazios interparticulares. Esta medida depende tanto da densidade das partículas do pó (densidade real) como também da disposição espacial destas partículas. Esta afirmação revela que embora uma determinada matéria-prima possua apenas um valor de densidade real, esta pode apresentar diferentes valores de densidade aparente, dependendo da forma como as partículas são acomodadas e da porosidade do leito do pó. Desta forma, um mesmo insumo de diferentes lotes ou fabricantes, pode apresentar valores de densidade aparente distintos entre si (STANIFORTH, 2005).

A densidade aparente é expressa em g/mL ou  $\text{kg/m}^3$  (USP, 2013).

Os valores obtidos para densidade aparente de um pó ou mistura de pós são utilizados para cálculo de capacidade de ocupação de equipamentos no processo industrial, principalmente no que se refere à utilização de misturadores e granuladores. Estes resultados serão a base para a definição dos tamanhos mínimos e máximos dos lotes a serem produzidos para um determinado produto, conforme seu fluxo de produção.

A densidade compactada é obtida através da redução da densidade aparente por uma maior acomodação do pó e diminuição do volume dos espaços vazios interparticulares. Um pó compactado é mais resistente ao fluxo. Desta forma, a densidade compactada é utilizada como uma medida indireta de fluidez (STANIFORTH, 2005).

A densidade compactada é determinada por batidas mecânicas em um cilindro graduado contendo a amostra. Após observar o volume inicial ocupado por certa quantidade da amostra (equivalente à densidade aparente), o cilindro é batido até que o volume ocupado pelo pó permaneça constante. A compactação mecânica pode ser conseguida por quedas sucessivas do cilindro de altura definida (USP, 2013).

#### 2.2.2.1.2 Fluidez

A presença de forças moleculares no leito de um pó produz a tendência das partículas aderirem entre si (fenômeno chamando coesão) ou a outras superfícies (adesão). As forças coesivas observadas entre partículas da maioria dos pós farmacêuticos são compostas,

principalmente, por interações de Van der Waals não específicas, que são dependentes do tamanho das partículas e da umidade relativa. Outras forças atrativas que influenciam a coesão incluem forças de tensão superficial entre camadas líquidas adsorvidas às partículas e forças eletrostáticas geradas pela fricção entre as mesmas (STANIFORTH, 2005). O resultado destas forças irá ser determinante no comportamento de fluxo dos pós: geralmente, para materiais de fluxo ruim, há um grande número de interações interparticulares. Para pós de fluxo livre, estas interações serão menos significativas (USP, 2013).

O fluxo é um dos parâmetros de maior relevância para avaliação de pós, uma vez que muitos dos processos envolvidos na produção de sólidos orais farmacêuticos - mistura, secagem, compactação, compressão - são dependentes da fluidez dos insumos utilizados. A fluidez é determinada pela somatória de vários fatores como a distribuição do tamanho de partícula, forma, morfologia da superfície, cargas eletrostáticas, umidade e composição química dos pós (GUERRIN *et al.*, 1999).

Devido a esta complexidade, vários métodos são utilizados para a determinação das propriedades de fluxo das matérias-primas no controle de qualidade e durante o desenvolvimento farmacotécnico de medicamentos. O estudo do comportamento dos pós, isolados ou associados entre si, permite a escolha de excipientes apropriados à composição da formulação (como agentes de fluxo, por exemplo) e em quantidades adequadas para garantir um bom desempenho produtivo (HAMMAD *et al.*, 2010).

Medidas indiretas de fluxo incluem o cálculo da Razão de Hausner, do Índice de compressibilidade de Carr e determinação do ângulo de repouso.

Hausner definiu que a razão entre as densidades compactada e aparente está relacionada à fricção interparticular e, desta forma, pode ser utilizada como indicativo da fluidez de um pó. A fórmula para cálculo da Razão de Hausner é definida como:

$$\text{Razão de Hausner} = \frac{D_c}{D_a} = \frac{V_o}{V_f} \quad \text{Equação 2}$$

onde:

$D_c$  = Densidade compactada;

$D_a$  = Densidade aparente;

$V_o$  = volume aparente; e

$V_f$  = volume compactado

Ele demonstrou que pós fluidos geralmente apresentam razões em torno de 1,2, enquanto pós mais coesivos e sem fluxo possuem razões superiores a 1,6 (STANIFORTH, 2005).

Já o índice de compressibilidade de Carr é calculado através da fórmula:

$$\% \text{ compressibilidade} = \frac{100(D_c - D_a)}{D_c} = \frac{100(V_0 - V_f)}{V_0} \quad \text{Equação 3}$$

Resultados de 5 a 16% indicam pós de excelente fluidez. Pós com índice de Carr entre 23 a 38% geralmente apresentam fluxo ruim e valores acima de 40% caracterizam pós coesivos.

O ângulo de repouso tem sido utilizado como método indireto para estimar a propriedade de fluxo de um pó e está relacionado à fricção entre partículas e resistência destas ao movimento (USP, 2013).

A técnica baseia-se no princípio de que, quando um material é submetido ao escoamento a partir de um funil com determinada abertura, o pó flui quando a força gravitacional associada ao ângulo de inclinação de escoamento é grande o suficiente para superar as forças de adesão/coesão entre as partículas. O pó que flui deposita-se sobre uma superfície horizontal, formando um cone, cujas faces formam um ângulo com a superfície horizontal, definido como ângulo de repouso (STANIFORTH, 2005). O cálculo é realizado utilizando seguinte equação:

$$\tan(\alpha) = \frac{\text{altura}}{\text{raio da base}} \quad \text{Equação 4}$$

A classificação das propriedades de fluxo de acordo com o ângulo de repouso estão descritas na Tabela 4.

Tabela 4. Propriedades de fluxo e ângulo de repouso correspondente (USP, 2013).

<b>Propriedades de fluxo</b>	<b>Ângulo de repouso (°)</b>
<b>Excelente</b>	25 – 30
<b>Bom</b>	31 – 35
<b>Justo</b>	36 – 40
<b>Aceitável</b>	41 – 45
<b>Pobre</b>	46 – 55
<b>Muito pobre</b>	56 – 65

O ensaio de fluxo por orifício é um método simples, direto e comumente utilizado para determinação das propriedades de fluidez de pós. Neste método, a massa de uma amostra de pó que flui de um recipiente com abertura definida é quantificada em função do tempo de escoamento.

### 2.2.3 Avaliação biofarmacêutica

A absorção sistêmica de uma forma farmacêutica sólida administrada por via oral consiste em uma sequência de inúmeros processos: desintegração do produto, dissolução do fármaco nos fluidos corporais e a absorção através das membranas para a circulação sistêmica, a fim de que o princípio ativo atinja seu local de ação.

A razão e extensão da absorção de um fármaco no trato gastrointestinal são dependentes de inúmeros fatores e podem ser afetados, como descrito anteriormente, por propriedades físico-químicas da substância ativa (solubilidade, estabilidade, coeficiente de partição, formas do cristal, tamanho de partícula), por fatores relacionados à própria forma farmacêutica de administração (composição, processos de fabricação), mas também por fatores fisiológicos (pH do meio, velocidade de esvaziamento gástrico, mecanismos de absorção) (DAHAN *et al.*, 2009). Alguns destes obstáculos podem ser superados através de recursos farmacotécnicos durante o desenvolvimento da formulação.

### 2.2.3.1 Sistema de Classificação Biofarmacêutica

Considerando esta complexidade de processos e fatores, um Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) foi proposto por Amidon e colaboradores (1995), baseando-se em dois eventos fundamentais para a absorção oral de fármacos: solubilidade/dissolução e permeabilidade gastrointestinal das substâncias ativas. De acordo com estes dois parâmetros, os fármacos são divididos em quatro classes (I, II, III e IV).

Esta classificação é uma das ferramentas mais significantes para o estabelecimento de possíveis correlações *in vivo-in vitro* (IVIV). Passou a ser muito utilizada no desenvolvimento de produtos pela indústria farmacêutica e extensivamente adotada por seus órgãos reguladores: *Food and Drug Agency* (FDA), ANVISA, *European Medicines Agency* (EMA) e Organização Mundial de Saúde (OMS) (DAHAN *et al.*, 2009).

Os dados de solubilidade utilizados são baseados na maior dose terapêutica de um medicamento de liberação imediata. O fármaco é considerado altamente solúvel quando sua maior dose é solúvel em 250 mL ou menos de um meio aquoso, a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , na faixa de pH fisiológico (valores de 1,0 a 7,5). O volume de 250 mL foi considerado baseando-se em protocolos de estudos de bioequivalência, que administram a medicação a voluntários, com um copo de água (FDA, 2000).

A permeabilidade é baseada indiretamente na extensão de absorção (fração de dose absorvida, não sistemicamente biodisponível) de um fármaco, em humanos, e medida diretamente pela velocidade de transferência de massa através da membrana intestinal. Quando uma possível instabilidade da substância ativa no trato gastrointestinal é descartada, esta é considerada altamente permeável quando a extensão de absorção em humanos é de 90% ou mais da dose administrada, baseada na determinação de balanço de massa ou em comparação com a dose intravenosa como referência (FDA, 2000).

As classes biofarmacêuticas são definidas como:

<b>Classe II</b> Baixa solubilidade Alta permeabilidade	<b>Classe I</b> Alta solubilidade Alta permeabilidade
<b>Classe IV</b> Baixa solubilidade Baixa permeabilidade	<b>Classe III</b> Alta solubilidade Baixa permeabilidade

Figura 8. Sistema de Classificação Biofarmacêutica proposto por Amidon e colaboradores (1995).

Os fármacos pertencentes à classe I são, em geral, bem absorvidos e o fator limitante para a absorção é a velocidade de dissolução ou o esvaziamento gástrico, no caso da dissolução ser muito rápida. Espera-se, desta forma, que uma especificação de dissolução de, no mínimo, 85% dissolvidos em até 15 minutos possa garantir a bioequivalência (AMIDON *et al.*, 1995).

Para fármacos da classe II, como a olanzapina (TRSL INC, 2012), é fundamental que o perfil de dissolução (com pelo menos 4 a 6 pontos de avaliação, em diferentes pH e meios biorrelevantes) deva ser claramente definido e reproduzível, uma vez que a dissolução *in vivo* é o passo limitante para a sua absorção. Substâncias ativas desta classe podem apresentar absorção variável, uma vez que fatores relacionados a propriedades fisiológicas e de formulação podem afetar consideravelmente a cedência das mesmas.

No caso de fármacos pertencentes à classe III, a permeabilidade é o fator limitante para a absorção do fármaco. Tanto a velocidade como a extensão de absorção podem apresentar grandes variações, mas considera-se que, se a dissolução é rápida o suficiente (85% dissolvidos em até 15 minutos, em meios com pH 1,2, 4,5 e 6,8) e não há uso de excipientes críticos, esta variação estará mais relacionada ao trânsito, conteúdo e permeabilidade da membrana gastrointestinal do que a fatores relacionados à formulação (AMIDON *et al.*, 1995). A dissolução rápida é particularmente desejável para fármacos classe III, de forma a maximizar o tempo de contato entre a substância dissolvida e a mucosa (DRESSMAN *et al.*, 1998).

Por excipientes críticos, entendem-se os adjuvantes que tenham efeito relevante no trânsito gastrointestinal (açúcares como manitol e sorbitol, que aceleram o esvaziamento

gástrico) e na permeação de membranas (surfactantes como laurilsulfato de sódio e polissorbato 80) (BLUME & SCHUG, 1999; FDA, 2000).

Fármacos da classe IV apresentam problemas significativos para efetiva administração por via oral devido à baixa e variável absorção e, portanto, nenhuma correlação é esperada (AMIDON *et al.*, 1995). No entanto, estima-se que, como no caso de fármacos classe II, baixos valores de dissolução a partir de formulações propostas podem ter influência negativa adicional na razão e extensão da crítica absorção destes medicamentos (DRESSMAN *et al.*, 1998).

#### 2.2.3.2 Comparação entre perfis de dissolução

Conforme descrito anteriormente, um dos aspectos importantes no processo de desenvolvimento de um medicamento é estabelecer características da formulação *in vitro* que reflitam seu desempenho farmacocinético *in vivo*. Alguns destes parâmetros são determinados rotineiramente por análises como doseamento e desintegração. No entanto, o perfil de dissolução é o critério experimental mais importante na análise da qualidade biofarmacêutica, principalmente em formas farmacêuticas sólidas orais (TINKE *et al.*, 2005a).

De acordo com a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 31, de 11 de agosto de 2010, estudo de perfil de dissolução comparativo é o “*ensaio analítico com coletas em múltiplos pontos para a avaliação da dissolução de uma determinada substância ativa comparando duas formulações*”.

A comparação de perfis de dissolução é importante para determinar o comportamento de cedência do fármaco a partir de um produto farmacêutico teste frente ao medicamento referência, antes de submetê-lo a testes de bioequivalência/biodisponibilidade relativa. Este recurso é necessário, uma vez que os ensaios de biodisponibilidade são, em geral, estudos onerosos, demorados e que expõem voluntários sadios aos riscos da utilização de medicamentos (FLACH & DALLA COSTA, 1999).

Além de serem utilizados como fator preditivo do comportamento *in vivo* de medicamentos, os ensaios de perfil de dissolução comparativos são ferramentas úteis também na isenção de estudos de bioequivalência/biodisponibilidade relativa para dosagens menores de produtos já estudados, na avaliação do impacto de alterações pós-registro e na orientação do desenvolvimento e otimização de formulações (BRASIL, 2011).

De acordo com a legislação brasileira, as curvas de dissolução obtidas são comparadas empregando-se o Método Modelo Independente Simples, que utiliza o cálculo de dois fatores, fator de diferença ( $F_1$ ) e fator de similaridade ( $F_2$ ), para avaliação. A partir da publicação da RDC nº 31 de 2010, os perfis comparativos passaram a ser avaliados utilizando-se apenas  $F_2$ , que corresponde a uma medida da semelhança entre as porcentagens dissolvidas em ambos os perfis. Apesar de o cálculo do fator  $F_1$  ter sido desconsiderado com a publicação desta RDC, este fator ainda é calculado para fins de desenvolvimento farmacotécnico, uma vez que pode apresentar indícios importantes sobre a formulação avaliada.

Para aprovação, os valores de  $F_1$  e  $F_2$  devem estar compreendidos entre 1 a 15 e 50 a 100, respectivamente. São calculados de acordo com as seguintes fórmulas:

$$F_1 = \{ [\sum |R_t - T_t|] / [\sum R_t] \} \times 100 \quad \text{Equação 5}$$

$$F_2 = 50 \times \log [ 100 / \sqrt{1 + \sum (R_t - T_t)^2 / n} ] \quad \text{Equação 6}$$

onde:

$n$  = número de tempos de coleta considerados para fins de cálculo de  $F_2$ ;

$R_t$  = valor de porcentagem dissolvida no tempo  $t$ , obtido com o Medicamento de Referência ou comparador;

$T_t$  = valor de porcentagem dissolvida do Medicamento Teste ou da formulação alterada, no tempo  $t$ .

O cálculo de  $F_1$  e  $F_2$  somente é pertinente quando as condições do ensaio de dissolução forem as mesmas (método e tempos de coleta) para o medicamento teste e referência (BRASIL, 2010).

Outro parâmetro que pode ser utilizado para comparação entre perfis de dissolução é a eficiência de dissolução (ED), que é definida como a área sob a curva de dissolução calculada até certo tempo ( $t$ ), expressa como um percentual da área do retângulo descrito por 100 % da dissolução no mesmo tempo (COSTA & LOBO, 2001). A ED pode ser calculada através da seguinte fórmula:

$$ED = \frac{f}{\quad}$$

Equação 7

Onde  $y$  é o percentual de fármaco dissolvido no tempo  $t$ .

Assim, as técnicas de caracterização de matérias-primas, associadas aos métodos de produção de formas farmacêutica e de estimativa *in vitro* de parâmetros biofarmacêuticos são as ferramentas necessárias para o desenvolvimento de medicamentos de qualidade que atendam às exigências regulatórias.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Desenvolver medicamento similar de olanzapina na concentração de 10 mg comprimidos revestidos de liberação imediata.

#### **3.2 Objetivos específicos**

- Caracterizar a matéria-prima olanzapina quanto às suas propriedades físico-químicas.
- Estabelecer quais parâmetros de qualidade do IFA (insumo farmacêutico ativo) podem ser relevantes para o desenvolvimento do produto.
- Desenvolver e caracterizar uma formulação similar para os comprimidos revestidos, equivalente ao medicamento referência no mercado nacional (Zyprexa<sup>®</sup> do Laboratório Eli Lilly).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Material

#### 4.1.1 Equipamentos

- Agitador mecânico para líquidos Quimis, modelo 250.2.
- Analisador de partículas por difração de LASER Beckman Coulter, modelo LS 13 320.
- Analisador termogravimétrico Shimadzu, modelo TGA-50.
- Aparelho para determinação de densidade Nova Ética, modelo 303D.
- Aparelho para determinação de fluidez e ângulo de repouso (*Granulate Tester*) Erweka, modelo GTB.
- Balança eletrônica digital analítica Shimadzu, modelo AUX220.
- Balança eletrônica digital analítica Shimadzu, modelo AW220.
- Balança semi-analítica GEHAKA, modelo BG4400.
- Banho de ultrassom Quimis, modelo Q3350.
- Bomba a vácuo Fisatom, modelo 826T.
- Bomba peristáltica Watson Marlow, modelo SCIQ 323.
- Calorímetro exploratório diferencial Shimadzu, modelo DSC 60.
- Célula de aquecimento Mettler Toledo, FP 82 acoplada a controlador de temperatura Mettler Toledo SP 90 e microscópio óptico Olympus BX 50.
- Compressora rotativa com 10 estações Lawes, modelo 2000 10 PSC.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência Shimadzu Nexera X2.
- Desintegrador Nova Ética, modelo 301.
- Difractômetro Bruker, modelo D8.
- Dissolutor Nova Ética, modelo 299/6CLATS.
- Dissolutor Pharma Test, modelo PTWS3CE.
- Drop Shape Analyzer KRÚSS, modelo DSA 100.
- Durômetro Nova Ética, modelo 298-AT.
- Espectrofotômetro UV/VIS Varian, modelo Cary<sup>®</sup>50.

- Espectrofotômetro UV/VIS Thermo Scientific, modelo Genesys<sup>®</sup> 10S.
- Espectrômetro Büchi, modelo NIRFlex N-500.
- Espectrômetro Shimadzu, modelo IR Prestige-21.
- Friabilômetro Sotax F1, modelo Y-600-01.
- Incubadora com agitação orbital (*Shake Flask*) Nova Ética, modelo 430/RSBPE.
- Microscópio eletrônico de varredura FEI, modelo Quanta 400.
- Misturador em V com capacidade de 6 litros Lawes.
- Mufla.
- Placa com agitação magnética Thermolyne, modelo Cimarec<sup>®</sup>2.
- Prensa mecânica para dissolução intrínseca Nova Ética, modelo PH10.
- Prensa mecânica para DSC.
- Sistema de Purificação de água ELGA, modelo Purelab Ultra.
- Titulador potenciométrico Metrohm, modelo Titrand<sup>®</sup>907.
- Unidade de revestimento com capacidade de 3,5 litros WS Usinagem, modelo Hi-coater WG 3,5.

#### 4.1.2 Insumos

- Celulose microcristalina 102 Blanver (Itapevi – SP, Brasil).
- Crospovidona Nanhang Industrial (China).
- Estearato de magnésio Magnesia (Alemanha).
- Hidroxipropilcelulose (Klucel<sup>®</sup> EXF) Ashland (Estados Unidos da América).
- Lactose *spray dried* Foremost Farmus (Estados Unidos da América).
- Olanzapina composto relacionado A USP Lote GOK232.
- Olanzapina composto relacionado B USP Lote GOK318.
- Olanzapina fabricante A (Brasil).
- Olanzapina fabricante B (Portugal).
- Olanzapina fabricante C (Índia).
- Olanzapina substância química de referência USP lote FOH200.
- Opadry<sup>®</sup> II Colorcon (Estados Unidos da América).
- Opadry<sup>®</sup> 03F Colorcon (Estados Unidos da América).
- Zyprexa<sup>®</sup> 10 mg comprimidos revestidos (Eli Lilly) Lote A931468 (R<sub>1</sub>)
- Zyprexa<sup>®</sup> 10 mg comprimidos revestidos (Eli Lilly) Lote C061794 (R<sub>2</sub>)

#### 4.1.3 Reagentes

- Acetato de amônio P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Acetato de sódio anidro P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Acetonitrila grau UV/HPLC Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Ácido acético glacial P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Ácido clorídrico P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Ácido fosfórico P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Edetato dissódico.
- Fosfato de potássio monobásico anidro Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Fosfato de sódio monobásico Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Hidróxido de sódio micropérolas P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Lauril sulfato de sódio Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).
- Metanol UV/HPLC Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).

#### 4.1.4 Acessórios

- Agitadores magnéticos.
- Aparatos para dissolução intrínseca Nova Ética.
- Balões de vidro de 12 litros.
- Balões volumétricos (10, 20, 25, 50, 100, 200, 250 e 1000 mL).
- Béqueres de plástico.
- Béqueres de vidro.
- Cadinho de alumina.
- Cadinho de porcelana.
- Cadinhos de alumínio com tampa.
- Coletores de aço inoxidável para dissolução.
- Coluna cromatográfica L7 4.6 mm x 15 cm; partículas 5 µm.
- Cubetas de quartzo Precision Cells Inc.
- Espátulas de aço inoxidável.
- Filtros para seringa de celulose regenerada 0,45 µm, diâmetro 25 mm Clarinert<sup>TM</sup>.

- Frasco de vidro com tampa Laborglass de 500 mL.
- Gral e pistilo de porcelana.
- Jogo de punções de 10 mm bicôncavos.
- Kitassato e funil.
- Membrana filtrante de acetato de celulose 0,45 µm, diâmetro 47 mm Sorblin Technologie.
- Naveta de pyrex.
- Peneira.
- Pipetas graduadas (10 e 20 mL).
- Pipetas volumétricas Laborglass (2, 3, 4, 5 e 10 mL).
- Provetas.
- Sacos plásticos.
- Seringas plásticas descartáveis de 10 mL.
- Termômetro Incoterm L239/07.

## 4.2 Métodos

### 4.2.1 Análise da matéria-prima olanzapina de acordo com critérios farmacopeicos

Uma vez que a olanzapina não está descrita na Farmacopéia Brasileira, os lotes da matéria-prima foram analisados quanto aos critérios farmacopeicos de acordo com a monografia de olanzapina presente na Farmacopéia Americana 36ª edição (USP, 2013).

#### 4.2.1.1 Identificação

A Farmacopéia Americana prevê a realização de dois testes para identificação da matéria-prima olanzapina: método A, por espectroscopia de absorção na região do infravermelho, e método B, por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A identificação dos três lotes de olanzapina analisados foi feita pela comparação dos tempos de retenção das preparações das amostras em relação à solução do padrão de olanzapina, conforme descrito no método de doseamento (USP, 2013).

#### 4.2.1.2 Água

O conteúdo de água das amostras das matérias-primas de olanzapina foi determinado pelo método de Karl Fischer, conforme método I da Farmacopéia Americana (USP, 2013).

#### 4.2.1.3 Resíduo por incineração

Quantidades de 1 g de cada amostra foram pesadas, com exatidão e em duplicata, em cadinhos de porcelana previamente calcinados, resfriados em dessecador e tarados. As amostras foram submetidas à queima, na presença de 1 mL de ácido sulfúrico, em mufla a  $600 \pm 50$  °C por 3 horas. Após a primeira queima, os cadinhos contendo as amostras foram resfriados e pesados. As amostras foram novamente carbonizadas e incineradas a  $600 \pm 50$  °C. O procedimento foi repetido até que a diferença entre duas pesagens sucessivas não fosse maior que 0,5 mg.

O percentual de resíduo não volátil obtido em relação à massa inicial pesada da substância foi calculado de acordo com a fórmula:

$$\text{Cinzas sulfatadas (\%)} = \frac{P_2 - P_1}{P_3} \times 100 \quad \text{Equação 8}$$

Onde:

$P_1$  = Peso inicial do cadinho (calcinado e esfriado);

$P_2$  = Peso do cadinho com amostra após calcinação e esfriamento; e

$P_3$  = Peso da amostra inicial.

De acordo com a especificação farmacopeica, o percentual do resíduo não deve ser maior que 0,1% (USP, 2013).

#### 4.2.1.4 Metais pesados

As matérias-primas de olanzapina foram analisadas quanto ao conteúdo de impurezas metálicas de acordo com o método II de metais pesados da Farmacopéia Americana (USP, 2013).

#### 4.2.1.5 Impurezas orgânicas

A quantificação dos compostos relacionados A e B de olanzapina foi realizada por CLAE, conforme metodologia descrita na Farmacopéia Americana (USP, 2013).

##### 4.2.1.5.1 Preparo da fase móvel

Tampão: a solução tampão foi preparada dissolvendo-se 26 g de lauril sulfato de sódio em 3000 mL de água purificada. Adicionou-se 10 mL ácido fosfórico e o pH do tampão foi ajustado para 2,5 utilizando solução de hidróxido de sódio.

Solução A: Acetonitrila e Tampão (proporção de 48:52)

Solução B: Acetonitrila e Tampão (proporção de 70:30)

Ambas as soluções A e B foram filtradas, separadamente, em membrana filtrante de acetato de celulose 0,45 µm e degaseificadas em banho ultrassom, previamente à análise.

#### 4.2.1.5.2 Preparo do diluente

Solução de edetato dissódico: Quantidade igual a 37 mg de edetato dissódico foi dissolvida em 1000 mL de tampão.

Diluente: Acetonitrila e Solução de edetato dissódico (proporção de 40:60).

#### 4.2.1.5.3 Preparo da solução de adequabilidade

Foram dissolvidos 20,0 mg de padrão de olanzapina RS em 100 mL de diluente, em balão volumétrico (solução 1).

Quantidades de 4,0 mg de cada um dos padrões dos compostos relacionados A e B de olanzapina foram pesadas com exatidão, transferidas juntas para balão volumétrico de 200 mL e o volume foi completado com diluente (solução 2).

Volumes de 5 mL de cada uma das soluções 1 e 2 foram pipetados para balão volumétrico e diluídos para 50 mL com diluente. A solução final obtida apresenta concentração de 20 µg/mL do padrão de olanzapina RS e 2 µg/mL de cada um dos compostos relacionados A e B.

#### 4.2.1.5.4 Preparo da solução padrão

Foram diluídos 5 mL da solução 1 obtida no item anterior em 200 mL de diluente. Em seguida, uma alíquota de 4 mL desta solução foi diluída para 10 mL com diluente, obtendo-se uma solução padrão de olanzapina RS na concentração de 2 µg/mL.

#### 4.2.1.5.5 Preparo da solução amostra

Foram dissolvidos 20,0 mg de amostra em 50 mL de diluente, em balão volumétrico, obtendo-se uma solução na concentração de 0,4 mg/mL. Cada um dos lotes da matéria-prima olanzapina dos fabricantes A, B e C foi analisado em duplicata.

#### 4.2.1.5.6 Condições cromatográficas

Coluna: 4,6 mm x 25 cm, 5  $\mu$ m, L7;

Detector: UV com comprimento de onda de 220 nm;

Temperatura da coluna: 35°C;

Temperatura da amostra: 5°C;

Fluxo: 1,5 mL.min<sup>-1</sup>;

Volume de injeção: 20  $\mu$ L; e

Fase móvel:

<b>Tempo (min)</b>	<b>Solução A (%)</b>	<b>Solução B (%)</b>
0	100	0
10	100	0
20	0	100
25	0	100
27	100	0
35	100	0

#### 4.2.1.6 Doseamento

O doseamento das matérias-primas foi realizado por Cromatografia líquida de alta eficiência, conforme método descrito na monografia do insumo na Farmacopéia Americana (USP, 2013).

#### 4.2.1.6.1 Preparo da fase móvel

Tampão: a solução tampão foi preparada dissolvendo-se 6,9 g fosfato de sódio monobásico em 1000 mL de água purificada. O pH do tampão foi ajustado para 2,5 com ácido fosfórico. Em seguida, 12 g de lauril sulfato de sódio foram dissolvidos na solução tampão obtida.

Fase móvel: Acetonitrila e Tampão (proporção de 47:53).

A fase móvel foi filtrada em membrana filtrante de acetato de celulose 0,45 µm sob vácuo e degaseificada em banho ultrassom, previamente à análise.

#### 4.2.1.6.2 Preparo da solução de adequabilidade

Foram dissolvidos 20,0 mg de padrão de olanzapina RS em 50 mL de fase móvel, em balão volumétrico (solução 1).

Quantidade igual a 4,0 mg de do compostos relacionados A de olanzapina foi pesada, com exatidão, transferida para balão volumétrico e diluída a 200 mL com fase móvel (solução 2).

Volumes de 5 mL da solução 1 e 10 mL da solução 2 foram pipetados para balão volumétrico e diluídos para 20 mL com fase móvel. A solução final obtida apresenta concentração de 0,1 mg/mL do padrão de olanzapina RS e 0,01 mg/mL do padrão do composto relacionado A.

#### 4.2.1.6.3 Preparo da solução padrão

Foram diluídos 5 mL da solução 1 obtida no item anterior em 20 mL de fase móvel, obtendo-se uma solução de padrão de olanzapina RS na concentração de 0,1 mg/mL.

#### 4.2.1.6.4 Preparo da solução amostra

Foram dissolvidos 20,0 mg de cada amostra de olanzapina dos fabricantes A, B e C em 200 mL de fase móvel, obtendo-se três soluções de concentração igual a 0,1 mg/mL. As amostras foram analisadas em duplicata.

#### 4.2.1.6.5 Condições cromatográficas

Coluna: 4,6 mm x 15 cm, 5  $\mu$ m, L7;

Detector: UV com comprimento de onda de 260 nm;

Fluxo: 1,5 mL.min<sup>-1</sup>; e

Volume de injeção: 20  $\mu$ L.

#### 4.2.2 Caracterização não-farmacopeica da matéria-prima olanzapina

Foram realizados estudos de pré-formulação para caracterização de lotes da matéria-prima olanzapina de três fabricantes diferentes (Fabricantes A, B e C). A metodologia proposta busca caracterizar olanzapina quanto à identificação das formas sólidas presentes, diferenciação de tamanho de partícula e morfologia, densidade, solubilidade e dissolução.

##### 4.2.2.1 Densidade aparente e compactada

As análises para determinação da densidade aparente e compactada de olanzapina dos Fabricantes A, B e C foram realizadas conforme previsto no Método I da Farmacopéia Americana (USP, 2013).

Foram pesadas amostras, em triplicata, de aproximadamente 10 g (para a matéria-prima). As amostras foram cuidadosamente transferidas para proveta graduada de 100 mL,

sem favorecer a compactação do pó. O volume inicialmente ocupado pelo pó é o volume aparente ( $V_0$ ) e os valores obtidos foram utilizados para cálculo da densidade aparente ( $D_a$ ), em g/mL, conforme a fórmula:

$$D_a = \frac{m}{V_0} \quad \text{Equação 9}$$

A densidade compactada foi obtida através da compactação das amostras previamente utilizadas para a determinação da densidade aparente. Após a observação do volume aparente ( $V_0$ ), as amostras foram submetidas à compactação mecânica até volume constante, utilizando Aparelho para determinação de densidade Nova Ética, modelo 303D. Foram conduzidas 10, 500 e 1250 batidas sucessivas na mesma amostra e lidos os volumes  $V_{10}$ ,  $V_{500}$  e  $V_{1250}$ . Nos casos em que a diferença entre os volumes  $V_{500}$  e  $V_{1250}$  excedeu 1 mL, foram realizados incrementos de 1250 batidas, até volume constante ( $V_f$ ).

A densidade compactada ( $D_c$ ) é calculada, em g/mL, utilizando a seguinte fórmula:

$$D_c = \frac{m}{V_f} \quad \text{Equação 10}$$

#### 4.2.2.2 Razão Hausner e Índice de Carr

A razão de Hausner e o Índice de compressibilidade de Carr foram calculados conforme fórmulas descritas no item 1.2.2.1.2, a partir dos valores de densidade aparente e compactada obtidos.

#### 4.2.2.3 Fluxo por orifício e ângulo de repouso

As propriedades de fluidez das amostras foram avaliadas diretamente em equipamento específico (*Granulate Tester*), da marca Erweka, modelo GTB. O princípio de operação do equipamento envolve a passagem das amostras por funil localizado em altura pré-determinada sobre uma plataforma circular, formando um cone gravimétrico. O ângulo formado entre o

prato horizontal e a altura do cone consiste no ângulo de repouso do pó e é determinado opticamente pelo equipamento.

Para o ensaio de fluidez por orifício, a massa de amostra que flui por orifício de abertura determinada é quantificada em função do tempo de escoamento. Para desenvolvimento de metodologia específica para a avaliação dos lotes de olanzapina, foram testadas aberturas de diâmetros diferentes (6, 8, 10, 11.3, 15 e 25 mm) e o uso de aparato para agitação do pó, com velocidade controlável (velocidades 1, 2, 3 e 4).

#### 4.2.2.4 Difração de raios X em pó (DRXP)

As análises de DRXP foram realizadas no Laboratório de Difração de Raios X (LDRX) da Universidade Federal Fluminense, utilizando Difratômetro da marca Bruker, modelo D8. Os padrões de difração de raios X foram coletados de 4 a 50°, com passo de 0,02° e tempo de aquisição de 0,1 segundo, utilizando radiação Cu K $\alpha$  ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ), operando com 40 kV e 40 mA de tensão e corrente de tubo, respectivamente.

#### 4.2.2.5 Espectroscopia no infravermelho

##### 4.2.2.5.1 Espectroscopia no infravermelho médio

As análises de espectroscopia na região do infravermelho médio foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O equipamento utilizado foi um espectrofotômetro Shimadzu, modelo IRPrestige-21.

Pastilhas de brometo de potássio foram preparadas contendo aproximadamente 2% de amostra. Os espectros foram registrados de 4.000 a 400  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.2.5.2 Espectroscopia no infravermelho próximo (NIR)

As análises de espectroscopia na região do infravermelho próximo foram realizadas utilizando espectrofotômetro de infravermelho próximo (FT-NIR) da marca Büchi, modelo NIRFlex N-500. A sonda para leitura foi introduzida diretamente em recipiente contendo as matérias-primas, sem necessidade de preparo prévio da amostra. Os espectros foram registrados de 10.000 a 4.000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.2.6 Análise térmica

##### 4.2.2.6.1 Calorimetria exploratória diferencial

As análises de DSC foram realizadas em calorímetro exploratório diferencial Shimadzu, modelo DSC60, utilizando nitrogênio como gás de purga, com fluxo igual a 50  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . As amostras foram pesadas, em quantidades de 1,5 a 2 mg e seladas em cadinho de alumínio, utilizando prensa mecânica. Os cadinhos foram, então, submetidos a taxas de aquecimento de 5  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , 20  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  e 40  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  até temperatura de 250  $^{\circ}\text{C}$ .

##### 4.2.2.6.2 Termogravimetria

As análises termogravimétricas foram realizadas no Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (LabTIF) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Foi utilizado um analisador termogravimétrico Shimadzu, modelo TGA-50, com nitrogênio como gás de purga, com fluxo de 50  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ . As amostras foram pesadas em massas de, aproximadamente, 5 mg em cadinhos de platina. As curvas de perda de massa em função da temperatura foram obtidas submetendo as amostras à razão de aquecimento de 10  $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , até temperatura de 600  $^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.2.2.6.3 Análise termooptica

As análises foram realizadas no Laboratório de Estudos do Estado Sólido (LEES) em Farmanguinhos, utilizando célula de aquecimento Mettler Toledo, modelo FP82 e um controlador de temperatura Mettler Toledo, SP90 acoplados a um microscópio óptico Olympus, BX50. As análises foram realizadas a uma razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , até temperatura de  $250^{\circ}\text{C}$ .

#### 4.2.2.7 Distribuição granulométrica

##### 4.2.2.7.1 Tamanho de partícula por Espalhamento de luz (Difração de LASER)

As análises de distribuição granulométrica foram realizadas em analisador de tamanho de partículas Beckman Coulter, modelo LS 13 320, utilizando sistema Tornado para pós secos. O nível de obscurecimento foi mantido na faixa de 8% a 12% e pressão de vácuo a  $20''\text{H}_2\text{O}$ . Foram utilizadas quantidades de amostra suficientes para um tempo mínimo de aquisição de 30 segundos. Não houve necessidade de preparação prévia da amostra. Foi utilizado modelo Fraunhofer para deconvolução do padrão de difração. As análises foram realizadas em triplicata.

##### 4.2.2.7.2 Microscopia eletrônica de varredura

As análises foram realizadas em Microscópio FEI, modelo Quanta 400, disponibilizado pelo Setor de Caracterização Tecnológica da Coordenação de Análise Mineral (SCT/COAM) do Centro de Tecnologia Mineral (CETEM).

Pequenas quantidades de amostra foram aderidas a um pedaço de fita adesiva dupla face de carbono apoiada sobre um suporte. As amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro para serem avaliadas.

#### 4.2.2.8 Molhabilidade

Os ensaios de molhabilidade foram realizados no Laboratório da Escola de Química (LADEQ/COPPE – UFRJ) utilizando equipamento *Drop Shape Analyzer* da marca KRÜSS, modelo DSA 100, pelo método de gota séssil.

Aproximadamente 300 mg de olanzapina foram compactados na forma de discos a 800 psi por 1 minuto, com auxílio de uma prensa hidráulica. Uma gota de líquido (água saturada com olanzapina) foi dispensada na superfície da amostra e as imagens capturadas imediatamente após.

O ângulo de contato foi medido pelo equipamento por expressão matemática adequada para o formato da gota. Os testes foram realizados em triplicata, em temperatura ambiente.

#### 4.2.2.9 Solubilidade em equilíbrio (*Shake Flask*)

Quantidades em excesso de olanzapina (aproximadamente 3,5 g) foram adicionadas a 100 mL de meio de dissolução, previamente aquecidos a 37°C, em frascos de vidro de capacidade de 500 mL, com tampa. Os frascos foram levados à incubadora com agitação orbital (*shake flask*), marca Nova Ética, modelo 430/RSBPE e mantidos sob agitação de 150 rpm a 37°C, por 48 horas. Nos tempos de 1h, 6h, 24h e 48h, alíquotas das soluções foram retiradas para determinação da quantidade de olanzapina dissolvida. As amostras foram imediatamente filtradas em filtro de seringa de celulose regenerada 0,45µm, diluídas, em duplicata, e quantificadas por espectrofotometria no ultravioleta em espectrofotômetro Varian, modelo Cary® 50, em comprimento de onda igual a 259 nm.

A solubilidade foi avaliada nos seguintes meios: ácido clorídrico 0,1N, tampão acetato de sódio 0,05M pH 4,5 e tampão fosfato de potássio 0,05M pH 6,8, preparados conforme descrito na Farmacopéia Americana 36ª edição (USP, 2013). Os testes foram realizados em triplicata para cada meio de dissolução.

O pH das soluções foi medido no início e fim de cada análise.

Paralelamente, uma solução estoque do fármaco em cada meio de dissolução, na concentração de 0,10 mg/mL, foi mantida nas mesmas condições das amostras, a fim de se avaliar a estabilidade do fármaco em solução durante o estudo. Em cada um dos tempos pré-

determinados, alíquotas desta solução foram retiradas, em triplicata, filtradas em filtro 0,45 $\mu$ m, adequadamente diluídas e quantificadas por espectrofotometria no ultravioleta em espectrofotômetro, em comprimento de onda igual a 259 nm.

As concentrações do fármaco dissolvidas em cada um dos tempos foram calculadas em função de uma curva padrão de olanzapina.

A solução padrão foi preparada dissolvendo-se cerca de 20,0 mg da substância química de referência olanzapina no meio proposto em balão volumétrico de 200 mL, obtendo-se uma solução estoque com concentração igual a 0,1 mg/mL. A partir desta solução, foram realizadas as diluições para preparo da curva de calibração nas concentrações de 0,0025; 0,0050; 0,0075; 0,010 e 0,012 mg/mL. Os valores das absorvâncias foram determinados espectrofotometricamente em comprimento de onda igual a 259 nm, contra o branco. As equações das retas foram obtidas por regressão linear.

#### 4.2.2.10 Dissolução

##### 4.2.2.10.1 Dissolução intrínseca

Para realização dos estudos de dissolução intrínseca, foram utilizados os métodos de disco estático e disco rotacional. Quantidades de, aproximadamente, 100 mg de olanzapina foram pesadas com exatidão e comprimidas em prensa mecânica com pressão constante. As pressões utilizadas foram iguais a 1300 Psi (disco estático) e 2 toneladas (disco rotacional) por 1 minuto, produzindo discos não desintegráveis de área superficial igual a 0,5 cm<sup>2</sup>. Os aparatos foram imersos em meio de dissolução aquecido a 37°C e mantidos sob rotação (disco rotacional) ou sob agitação constante (disco fixo) a 50 rpm. Alíquotas do meio foram amostradas em intervalos de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 minutos, filtradas em filtro de seringa de celulose regenerada 0,45  $\mu$ m e as absorvâncias lidas em espectrofotômetro em comprimento de onda igual a 259 nm. A quantidade de fármaco dissolvida conforme tempo foi calculada, em função de uma curva padrão, e a dissolução intrínseca determinada a partir da regressão linear dos pontos obtidos. Os resultados foram expresso em mg/min/cm<sup>2</sup> por tempo.

#### 4.2.2.10.2 Dissolução por dispersão

Os estudos de dissolução por dispersão foram realizados em dissolutor Pharma Test PTWS3CE, montado com aparato II (pás). Cerca de 25 mg de olanzapina foram pesados, com exatidão, e transferidos à cuba de dissolução contendo 900 mL de meio de dissolução a 37°C, sob agitação de 50 rpm. Alíquotas de 8 mL foram retiradas em intervalos de tempos pré-determinados (3, 5, 7, 10, 12, 15, 30 e 60 minutos), filtradas em filtro de seringa de celulose regenerada 0,45 µm, diluídas e as absorvâncias lidas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 259 nm, frente a uma curva padrão.

Os meios de dissolução avaliados foram ácido clorídrico 0,1N, tampão acetato de sódio 0,05M pH 4,5, tampão fosfato de potássio 0,05M pH 6,8 e tampão fosfato de sódio 0,01M com 0,5% de laurilsulfato de sódio pH 6,8, preparados conforme descrito na Farmacopéia Americana 36ª edição (USP, 2013).

### 4.3 Desenvolvimento experimental de formulações

Baseando-se nos resultados obtidos nos estudos de pré-formulação e nas características determinadas para cada um dos lotes testados, foram propostas formulações para o produto Olanzapina 10 mg comprimido revestido.

Considerando a baixa dosagem do princípio ativo, a composição qualitativa do medicamento referência e a tentativa de minimizar custos de produção, a proposta inicial foi que as formulações manipuladas fossem obtidas através do processo de compressão direta.

A composição qualitativa das formulações estudadas é apresentada no Quadro 1.

Quadro 1. Composição qualitativa das formulações de comprimidos de olanzapina revestidos.

<b>Matérias-primas</b>	<b>L<sub>1</sub></b>	<b>L<sub>2</sub></b>	<b>L<sub>3</sub></b>	<b>L<sub>4</sub></b>	<b>L<sub>5</sub></b>	<b>L<sub>6</sub></b>	<b>L<sub>7</sub></b>	<b>R</b>
Olanzapina Fabricante A	✓	✓	✓	✓	✓			
Olanzapina Fabricante B						✓		
Olanzapina Fabricante C							✓	
Lactose monoidratada <i>spray dried</i>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Celulose microcristalina 102	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Crospovidona	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Hidroxipropilcelulose	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Estearato de magnésio	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Álcool polivinílico <sup>a</sup>	✓	✓	✓	✓				
Hidroxipropilmetilcelulose <sup>b</sup>					✓	✓	✓	✓
Dióxido de titânio <sup>a,b</sup>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Polietilenoglicol <sup>a,b</sup>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
Propilenoglicol <sup>a,b</sup>	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
Talco <sup>a</sup>	✓	✓	✓	✓				
Polissorbato 80								✓

<sup>a</sup> Opadry<sup>®</sup> II (produto para revestimento) Colorcon (Estados Unidos da América)

<sup>b</sup> Opadry<sup>®</sup> 03F (produto para revestimento) Colorcon (Estados Unidos da América)

Foram produzidos lotes de 600 a 2000 g. As matérias-primas foram pesadas em balança semi-analítica GEHAKA, modelo BG4400. Os insumos foram previamente tamisados em tamis com malha de 1 mm de abertura e misturados em misturador V de capacidade de 6 litros, da marca Lawes, de acordo com o processo de fabricação exposto na Figura 9.

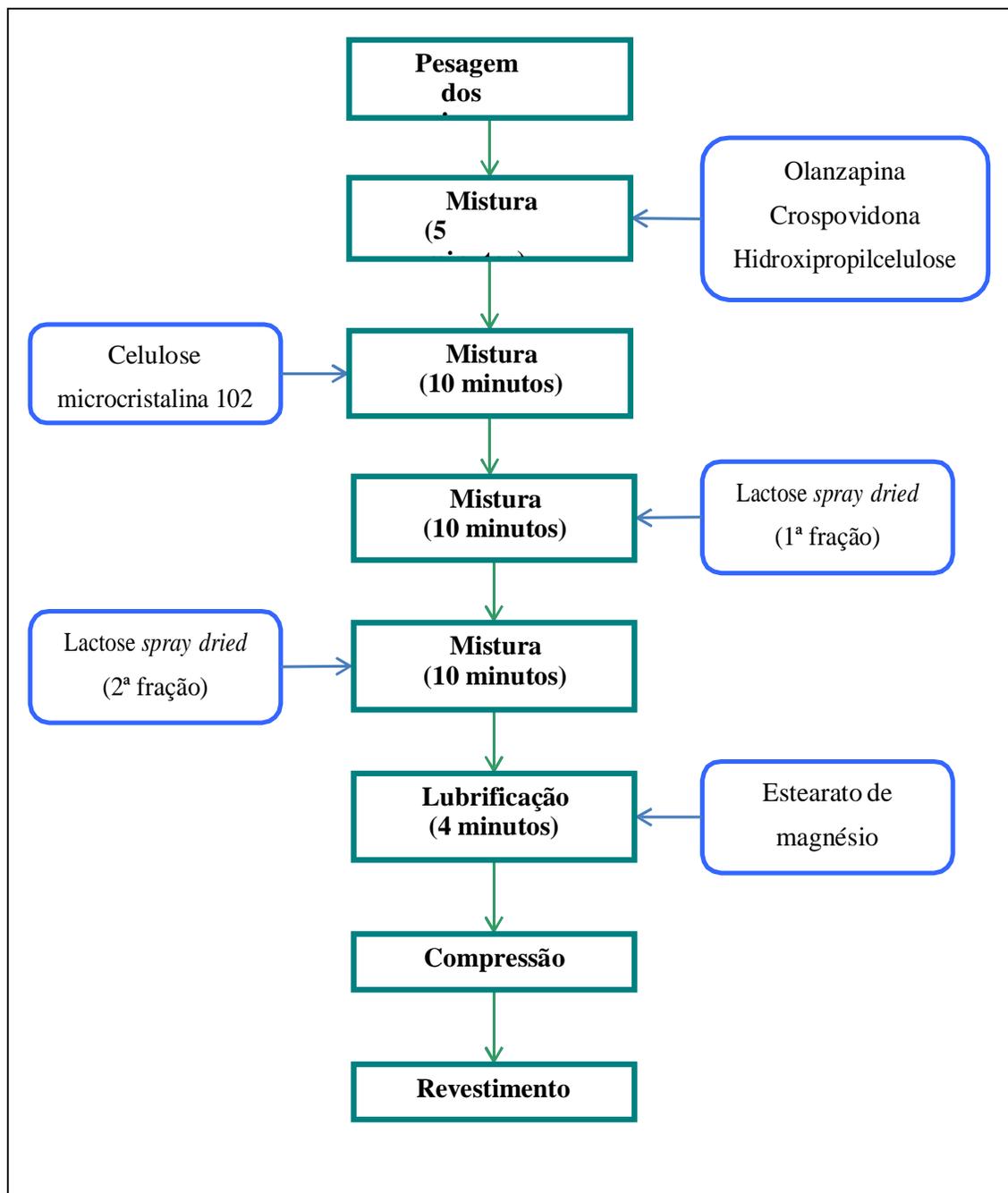


Figura 9. Esquema do processo de manipulação dos lotes teste de olanzapina 10 mg comprimidos revestidos.

Devido à aglomeração observada para os lotes A e B durante a realização dos ensaios de densidade e fluidez, foi proposta uma etapa de mistura das matérias-primas olanzapina, crospovidona e hidroxipropilcelulose antes da tamisação destes insumos, com a finalidade de minimizar perdas ocasionadas pela aderência do fármaco ao tamis.

A ordem da adição das matérias-primas e tempos de mistura foram escolhidos de forma a garantir não somente a uniformidade do princípio ativo, como também de excipientes em menor proporção na formulação, como o desintegrante crospovidona.

Todos os testes foram manipulados com os mesmos lotes de cada um dos adjuvantes, eliminando qualquer variação possível nas características dos mesmos e permitindo considerar que as diferenças nos requisitos de qualidade dos comprimidos obtidos fossem atribuídas apenas às variações quantitativas e qualitativas das formulações propostas.

As misturas foram comprimidas em compressora rotativa Lawes de bancada de 10 estações e os núcleos obtidos foram revestidos em unidade de revestimento de tacho perfurado WS Usinagem, modelo WG3,5.

#### **4.4 Avaliação e seleção das formulações**

A fim de selecionar a melhor formulação para atender aos requisitos regulatórios e de processo, os lotes manipulados em escala laboratorial foram avaliados quanto aos seguintes parâmetros: densidade, fluidez, peso médio, dureza, friabilidade, desintegração, doseamento e perfil de dissolução comparativo.

Os ensaios para determinação de densidade e fluidez das misturas de pós obtidas para compressão foram realizados conforme descrito nos itens 3.1.6 e 3.1.7, respectivamente.

Os testes de peso médio, dureza, friabilidade e desintegração, para avaliação dos comprimidos, foram realizados conforme descrito na Farmacopéia Brasileira 5ª edição (FB, 2011). O ensaio de doseamento foi realizado conforme previsto na monografia da forma farmacêutica olanzapina comprimidos descrita na Farmacopéia Americana (USP, 2013).

##### **4.4.1 Peso médio**

O teste aplica-se a formas farmacêuticas sólidas em dose unitária e tem o objetivo de verificar a uniformidade de peso das unidades de um mesmo lote. Foram pesados, individualmente, 20 comprimidos e determinado peso médio e calculados os desvios individuais relativos. Pode-se tolerar não mais que duas unidades fora dos limites

especificados na Tabela 5, em relação ao peso médio determinado para o lote, porém nenhuma unidade poderá estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas (F. Bras., 2011).

Tabela 5. Critérios de avaliação da determinação do peso para formas farmacêuticas sólidas.

<b>Forma farmacêutica</b>	<b>Peso médio</b>	<b>Limites da variação</b>
<b>Comprimidos não revestidos ou revestidos com filme</b>	80 mg ou menos	± 10,0 %
	Mais que 80 mg e menos que 250 mg	± 7,5 %
	250 mg ou mais	± 5,0 %

#### 4.4.2 Dureza

O teste de dureza permite determinar a resistência de um comprimido ao esmagamento ou ruptura sob pressão radial. É uma propriedade proporcional à força de compressão e inversamente proporcional à sua porosidade.

Os testes foram realizados em durômetro Nova Ética, modelo 298. Foi determinada a dureza média de 20 comprimidos, em cada lote avaliado, com resultados expressos em Kgf/cm<sup>2</sup>.

#### 4.4.3 Friabilidade

O teste de friabilidade avalia a resistência mecânica dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica em friabilômetro. Amostras de 20 comprimidos foram pesadas e submetidas a 25 rotações por minutos durante por 4 minutos, totalizando 100 rotações, em friabilômetro Sotax F1. Após a análise, as amostras foram pesadas novamente. A diferença percentual entre o peso inicial e o final representa a friabilidade, em função do peso de pó perdido.

São considerados aceitáveis valores de friabilidade iguais ou inferiores a 1,5% (FB, 2011).

#### 4.4.4 Desintegração

O teste de desintegração avalia o tempo necessário para que nenhum resíduo dos comprimidos testados permaneça na tela metálica do aparato de desintegração, salvo fragmentos insolúveis de revestimento de comprimidos ou invólucros de cápsulas. São consideradas desintegradas também as unidades que se transformam em massa pastosa, desde que não apresentem núcleo palpável.

Foram utilizados seis comprimidos por teste em água a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  como líquido de imersão, em desintegrador Nova Ética, modelo 301. Ao final do teste, todos os comprimidos devem estar completamente desintegrados. O limite de tempo para desintegração de comprimidos não revestidos e revestidos com filme é de 30 minutos (F. Bras., 2011).

#### 4.4.5 Doseamento

O doseamento dos comprimidos obtidos nos lotes teste foi realizado por CLAE, conforme monografia para olanzapina comprimidos, descrita na Farmacopéia Americana (USP, 2013).

##### 4.4.5.1 Preparo da fase móvel

Tampão: a solução tampão foi preparada dissolvendo-se 20,7 g fosfato de sódio monobásico em 3000 mL de água purificada. O pH do tampão foi ajustado para 2,5 com ácido ortofosfórico. Em seguida, 36 g de lauril sulfato de sódio foram dissolvidos na solução tampão obtida.

Fase móvel: Acetonitrila e Tampão (proporção de 50:50)

A fase móvel foi filtrada em membrana filtrante de acetato de celulose 0,45  $\mu\text{m}$  sob vácuo e degaseificada em banho ultrassom, previamente à análise.

#### 4.4.5.2 Preparo da solução de adequabilidade

Foram dissolvidos 20,0 mg de padrão de olanzapina RS em 50 mL de fase móvel, em balão volumétrico (solução 1).

Quantidade igual a 4,0 mg de do compostos relacionados A de olanzapina foi pesada, com exatidão, transferida para balão volumétrico e diluída a 200 mL com fase móvel (solução 2).

Volumes de 5 mL da solução 1 e 10 mL da solução 2 foram pipetados para balão volumétrico e diluídos para 20 mL com fase móvel. A solução final obtida apresenta concentração de 0,1 mg/mL do padrão de olanzapina RS e 0,01 mg/mL do padrão do composto relacionado A.

#### 4.4.5.3 Preparo da solução padrão

Foram diluídos 5 mL da solução 1 obtida no item anterior em 20 mL de fase móvel, obtendo-se uma solução de padrão de olanzapina RS na concentração de 0,1 mg/mL.

#### 4.4.5.4 Preparo da solução amostra

Quantidade de 5 comprimidos foi transferida para balão volumétrico de 100 mL. Aproximadamente 50 mL de fase móvel foram transferidos ao balão e agitado manualmente até desintegração dos comprimidos. As amostras foram diluídas ao volume de 100 mL com fase móvel e submetidas à sonicação por 10 minutos. Cerca de 50 mL da solução obtida foram centrifugados por 15 minutos a 4000 rpm. Uma alíquota de 5 mL do sobrenadante foi diluída adequadamente para balão de 25 mL com fase móvel, para obter uma solução na concentração de 0,1 mg/mL. Cada lote foi analisado em duplicata.

#### 4.4.5.5 Condições cromatográficas

Coluna: 4,6 mm x 15 cm, 5  $\mu$ m, L7;

Detector: UV com comprimento de onda de 260 nm;

Fluxo: 1,5 mL.min<sup>-1</sup>; e

Volume de injeção: 20  $\mu$ L.

#### 4.4.6 Perfil de dissolução comparativo

Os comprimidos foram submetidos a perfil de dissolução comparativo, em dissolutor Pharma Test PTWS3CE, montado com aparato II (pás), com 900 mL de meio de dissolução, a 37°C. Alíquotas de 10 mL foram retiradas em intervalos de tempos pré-determinados (5, 7, 10, 12, 15 e 30 minutos), filtradas imediatamente em filtro de seringa de celulose regenerada 0,45  $\mu$ m e as absorvâncias lidas em espectrofotômetro em comprimento de onda igual a 259 nm. Os percentuais dissolvidos em função do tempo foram calculados em função da curva de calibração do padrão.

Os meios de dissolução avaliados foram ácido clorídrico 0,1N, tampão acetato de sódio 0,05M pH 4,5 e tampão fosfato de potássio 0,05M pH 6,8, preparados conforme descrito na Farmacopéia Americana 36ª edição (USP, 2013).

As curvas de perfil de dissolução dos lotes teste e do medicamento referência foram comparadas através do cálculo dos fatores  $F_1$  e  $F_2$ . Para fins de cálculo, foram utilizados, no mínimo, os três primeiros pontos, desconsiderando o tempo zero e incluído apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução. Os coeficientes de variação das médias utilizadas para os primeiros pontos de coleta (40% do total) não podem exceder 20%. Para os demais, considera-se o máximo de 10% (BRASIL, 2010).

As atividades de desenvolvimento estão descritas na Figura 10.

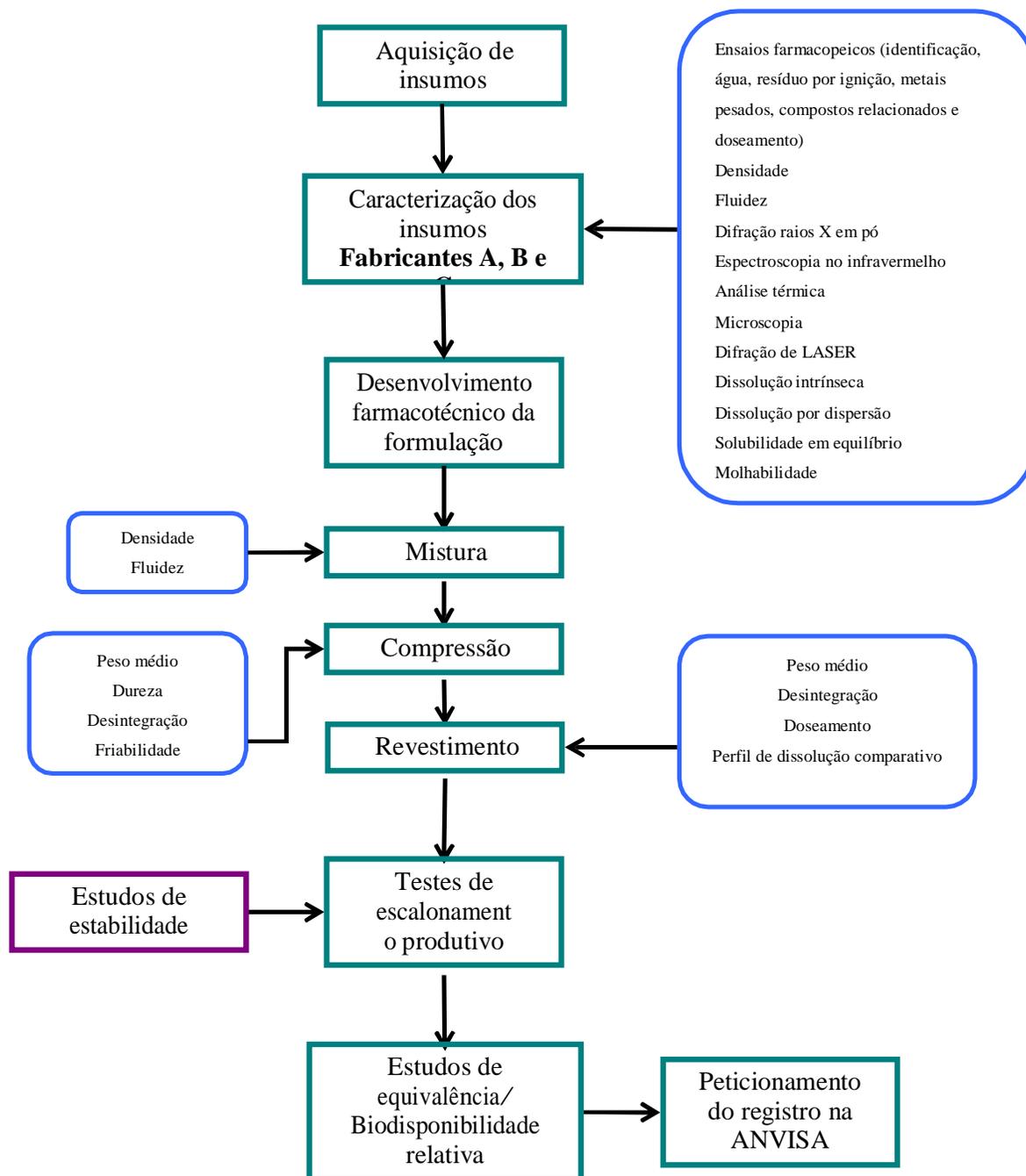


Figura 10. Resumo das atividades do desenvolvimento farmacotécnico de olanzapina comprimidos revestidos.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 Análise da matéria-prima olanzapina de acordo com os critérios farmacopeicos

#### 5.1.1 Identificação

De acordo com a monografia existente na Farmacopéia Americana 36ª edição, a identificação da matéria-prima olanzapina pode ser realizada por dois métodos: espectroscopia na região do infravermelho médio e por cromatografia líquida de alta eficiência.

Por CLAE, no ensaio de doseamento, foram comparados os tempos de retenção dos picos obtidos nos cromatogramas das soluções amostra para os três fabricantes estudados em relação ao pico da solução padrão, confirmando a identidade dos três lotes de olanzapina.

Os espectros obtidos por infravermelho para os três fabricantes correspondem aos resultados descritos na literatura para olanzapina e serão apresentados posteriormente.

#### 5.1.2 Água

Os resultados da determinação do conteúdo de água para as amostras dos três fabricantes de olanzapina estão descritos na Tabela 6.

Tabela 6. Determinação do conteúdo de água das amostras de olanzapina pelo método de Karl Fischer.

Matéria-prima	Fabricante A	Fabricante B	Fabricante C
Água (%)	0,744%	0,990%	0,187%

O critério de aceitação previsto pelo compêndio oficial é de, no máximo, 1,0% de água. De acordo com os resultados obtidos, os três lotes de olanzapina apresentaram resultados dentro do limite especificado. No entanto, as amostras dos fabricantes A e B

apresentaram conteúdo de água significativamente mais alto que o valor encontrado para a amostra do fabricante C. Uma vez que a umidade pode influenciar criticamente em uma série de propriedades, tanto físicas quanto químicas, dos insumos e dos produtos farmacêuticos, como fluxo, compactação, desintegração, dissolução, dureza e estabilidade, a avaliação do impacto destes resultados na processabilidade e estabilidade do produto em desenvolvimento deve ser considerada (KONTNY & ZOGRAFI, 1995).

### 5.1.3 Resíduo por incineração (cinzas sulfatadas)

Este ensaio tem o objetivo de quantificar o teor de constituintes ou impurezas inorgânicas contidas em uma amostra de substâncias orgânicas (F. Bras., 2011).

A Farmacopéia Americana determina um limite máximo de 0,1% de cinzas sulfatadas para cada amostra analisada.

Os percentuais obtidos para os três lotes do insumo olanzapina avaliados são apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Resultados de cinzas sulfatadas determinados para os lotes de olanzapina.

<b>Matéria-prima</b>	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>Cinzas sulfatadas (%)</b>	0,0%	0,05%	0,07%

Os resultados obtidos encontram-se de acordo em relação ao limite preconizado pelo compêndio oficial.

### 5.1.4 Metais pesados

A Farmacopéia Americana (USP, 2013) prevê a realização de ensaio limite semi-quantitativo para avaliação da concentração de metais pesados contaminantes nas amostras da matéria-prima olanzapina. O teste é realizado através da formação de partículas sólidas insolúveis de sulfetos de metais pesados. Estas partículas, em suspensão, promovem

desenvolvimento de cor na solução amostra que é, posteriormente, comparada à intensidade de cor de amostras padrão.

O limite estabelecido na farmacopéia para amostras de olanzapina é de, no máximo, 10 ppm (0,001%) de metais pesados. Os lotes dos fabricantes A, B e C apresentaram resultados de acordo para este parâmetro.

#### 5.1.5 Doseamento

Os resultados de teor encontrados para os três lotes de olanzapina avaliados estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados de doseamento determinados para os lotes de olanzapina.

<b>Matéria-prima</b>	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>Teor (%)</b>	98,98	98,10	99,84

Os resultados obtidos apresentam-se de acordo com a especificação da Farmacopéia Americana 36ª edição, que estabelece limite mínimo de 98,0% e máximo de 102,0% de  $C_{17}H_{20}N_4S$ , em relação à base anidra.

#### 5.1.6 Compostos relacionados

Todo medicamento deve atender a requisitos de qualidade, eficácia e segurança. Para possuir tais atributos, garantir o cumprimento das especificações dos compêndios oficiais em relação ao conteúdo do princípio ativo é essencial, mas não suficiente. É necessário que se avalie a pureza dos insumos e produtos através da investigação e quantificação de compostos relacionados ou impurezas orgânicas, com a finalidade de garantir que os efeitos farmacológicos e toxicológicos sejam os esperados apenas para o fármaco administrado (MAGGIO *et al.*, 2013).

Para olanzapina, existem oito impurezas orgânicas descritas em literatura: imp-1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8. A monografia da Farmacopéia Americana para a matéria-prima olanzapina não consegue separar todas as suas impurezas orgânicas, mas monitora duas delas: imp-4 (composto relacionado B) e imp-7 (composto relacionado A) (KRISHNAIAH *et al.*, 2011). Além disso, o compêndio estabelece limites para qualquer impureza individual não especificada e para impurezas totais (USP, 2013).

Os lotes de olanzapina dos fabricantes A, B e C foram analisados quanto à presença de compostos relacionados, de acordo com a monografia descrita na Farmacopéia Americana 36ª edição. Os resultados são apresentados na Tabela 9 e demonstram que os lotes B e C apresentam-se de acordo com as especificações farmacopeicas. Para o lote A, no entanto, foi constatada a presença de uma impureza não especificada em concentração igual a 0,9%, muito superior ao limite máximo preconizado de 0,1%.

Tabela 9. Resultados de impurezas orgânicas encontrados para os lotes de olanzapina.

<b>Matéria-prima</b>	<b>Limite (%)</b>	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>Olanzapina composto relacionado A</b>	0,10	0,0	0,0	0,0
<b>Olanzapina composto relacionado B</b>	0,10	0,0	0,0	0,0
<b>Qualquer impureza individual</b>	0,10	<b>0,9</b>	0,0	0,0
<b>Total</b>	0,40	0,9	0,0	0,0

Os cromatogramas obtidos para a solução de adequabilidade, solução padrão e soluções amostras A, B e C são apresentados nas Figuras 11 a 15.

A qualidade dos produtos farmacêuticos deve ser monitorada dos insumos utilizados no processo até o produto terminado. Por este motivo, a matéria-prima do fabricante A estaria reprovada para uso. No entanto, optou-se por prosseguir com os estudos de pré-formulação para este lote, com o objetivo de caracterizá-lo quanto aos parâmetros físico-químicos. Estudos posteriores serão necessários para avaliar o impacto do perfil de impurezas desta matéria-prima na estabilidade do produto final.

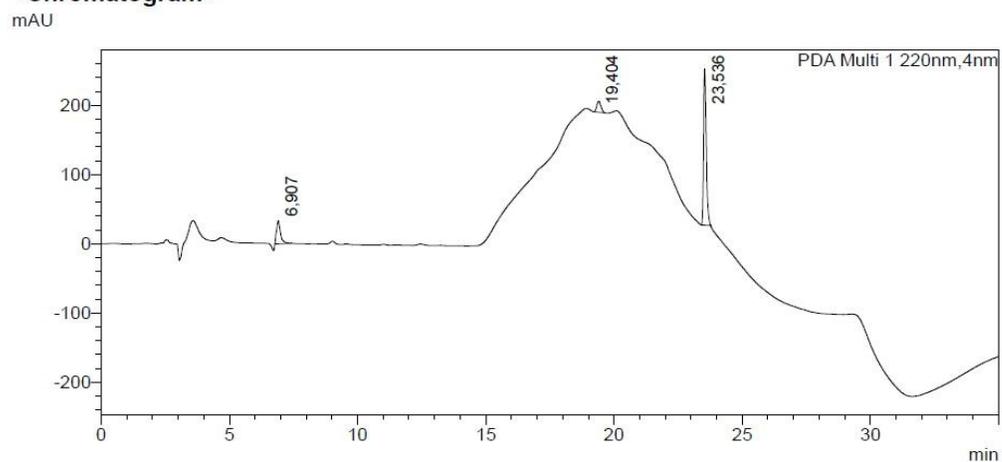
**<Chromatogram>**

Figura 11. Cromatograma da solução de adequabilidade do método de compostos relacionados de olanzapina.

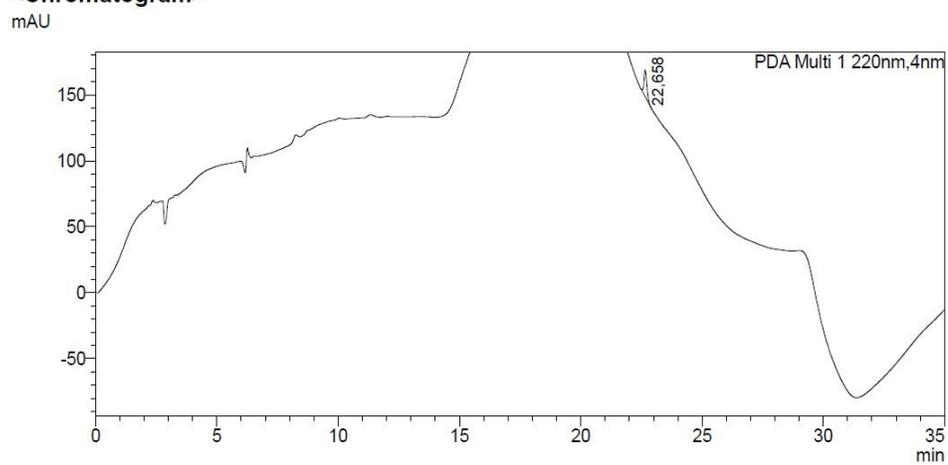
**<Chromatogram>**

Figura 12. Cromatograma da solução padrão de olanzapina para o método de compostos relacionados.

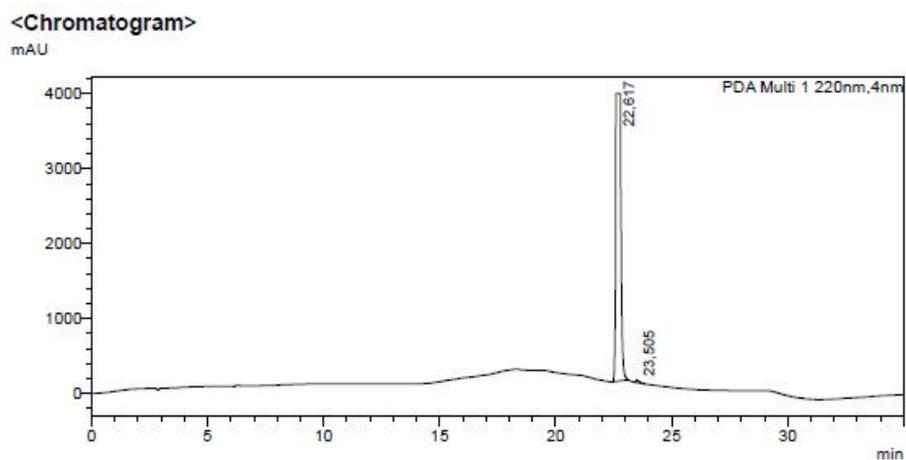


Figura 13. Cromatograma da amostra A de olanzapina para o método de compostos relacionados.

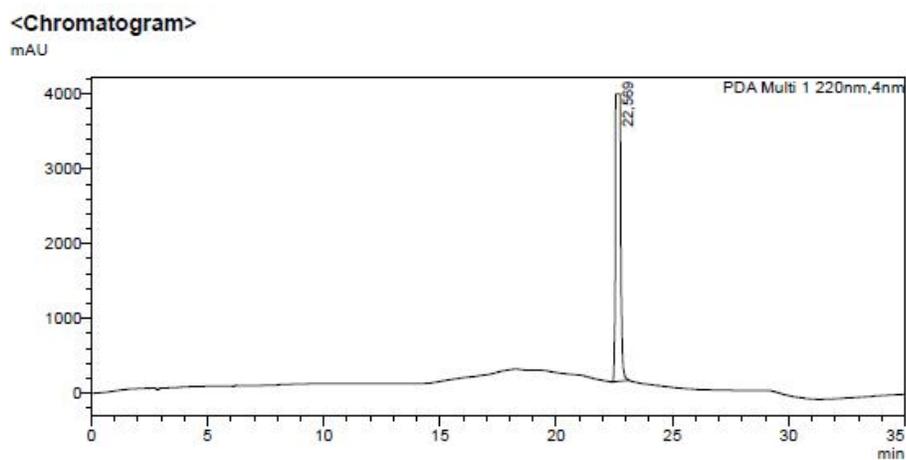


Figura 14. Cromatograma da amostra B de olanzapina para o método de compostos relacionados.

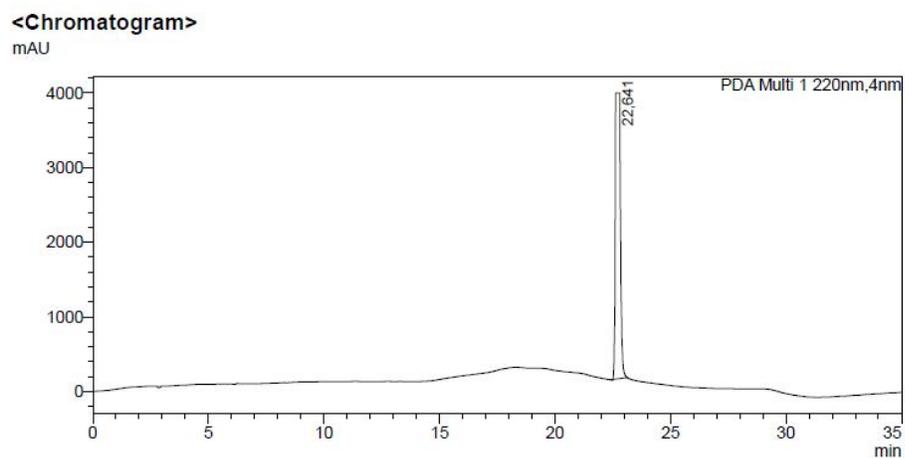


Figura 15. Cromatograma da amostra C de olanzapina para o método de compostos relacionados.

## 5.2 Caracterização não-farmacopeica da matéria-prima olanzapina

Os três lotes de olanzapina foram caracterizados quanto aos parâmetros físico-químicos, a fim de determinar se suas propriedades relacionadas a estado cristalino, morfologia, distribuição de tamanho de partícula, solubilidade e dissolução podem impactar, de alguma forma, na processabilidade, estabilidade e/ou biodisponibilidade do produto em desenvolvimento.

### 5.2.1 Distribuição de tamanho de partícula

Conforme descrito anteriormente, o tamanho de partícula é um dos atributos de qualidade mais críticos de uma matéria-prima, uma vez que impacta diretamente na uniformidade de conteúdo de formas farmacêuticas sólidas, devido à sua influência nos processos de mistura, granulação, compressão e revestimento. Esta influência é ainda mais relevante no caso de formulações com baixa dosagem do fármaco e por compressão direta, que requerem um estreito controle das características das partículas, como tamanho, distribuição e formato, a fim de garantir desempenho satisfatório durante sua produção (HUANG & KU, 2010; TINKE *et al.*, 2005a).

Além de questões de processabilidade, a velocidade de dissolução, que é proporcional à área superficial das partículas, está diretamente relacionada à distribuição granulométrica do fármaco. Isto é particularmente importante para fármacos classe II na classificação biofarmacêutica (baixa solubilidade, alta permeabilidade), como a olanzapina, uma vez que sua absorção oral depende, principalmente, da dissolução (SHEKUNOV *et al.*, 2007).

Assim, balancear as demandas de processabilidade e dissolução, especificando uma distribuição de tamanho de partícula adequada para determinado fármaco, é um desafio constante no desenvolvimento de medicamentos (HUANG & KU, 2010). Para tal, é fundamental a escolha da técnica e metodologia mais apropriadas, que garantam resultados confiáveis e reprodutíveis.

A Tabela 11 e a Figura 16 apresentam os resultados da distribuição granulométrica dos lotes de olanzapina dos fabricantes A, B e C obtidos através da técnica de difração de LASER, utilizando módulo seco para dispersão das amostras. São apresentados os diâmetros

de partículas para volumes cumulativos percentuais de amostras inferiores a 10% ( $d_{10}$ ), 25% ( $d_{25}$ ), 50% ( $d_{50}$ ), 75% ( $d_{75}$ ), 90% ( $d_{90}$ ), média e índice de dispersividade (span).

Tabela 10. Resultado da distribuição do tamanho de partícula das amostras de olanzapina (n=3).

Tamanho de partícula ( $\mu\text{m}$ ) (média $\pm$ DP)							
	$d_{10}$	$d_{25}$	$d_{50}$	$d_{75}$	$d_{90}$	Média	Span
<b>Fabricante A</b>	$0,91 \pm 0,02$	$2,73 \pm 0,12$	$6,53 \pm 0,23$	$11,77 \pm 0,46$	$18,89 \pm 1,13$	$9,18 \pm 0,69$	$2,75 \pm 0,11$
<b>Fabricante B</b>	$0,61 \pm 0,0$	$0,88 \pm 0,0$	$1,94 \pm 0,07$	$4,33 \pm 0,09$	$7,08 \pm 0,18$	$3,42 \pm 0,09$	$3,34 \pm 0,03$
<b>Fabricante C</b>	$1,22 \pm 0,11$	$4,60 \pm 0,68$	$10,35 \pm 0,97$	$18,58 \pm 1,07$	$29,23 \pm 0,36$	$13,39 \pm 1,14$	$2,71 \pm 0,24$

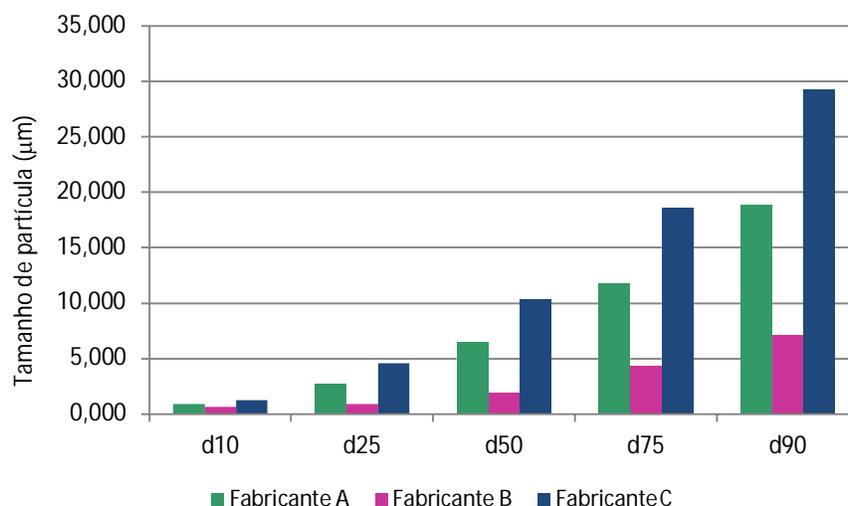


Figura 16. Comparação da distribuição granulométrica dos lotes de olanzapina.

De acordo com os resultados encontrados, o lote do fabricante B é o que apresenta a distribuição granulométrica com menores diâmetros de partícula. As amostras dos fabricantes A e C apresentam tamanhos de partículas mais próximos entre si, sendo que o lote C apresenta partículas com tamanhos maiores.

O índice de dispersividade (span) está relacionado à uniformidade da distribuição granulométrica de uma determinada amostra. Este índice é calculado através da seguinte fórmula (LI *et al.*, 2004):

$$\text{Span} = \frac{d_{90} - d_{10}}{d_{50}}$$

Equação 11

Portanto, quanto mais próximo de 1 for o índice calculado, mais uniforme é a distribuição granulométrica da amostra em questão. Os três lotes avaliados apresentaram altos valores de dispersividade, indicando grande variação no tamanho das partículas destas amostras.

Os resultados experimentais obtidos por Liu e colaboradores (2008) indicam que a fluidez dos pós está relacionada não apenas ao tamanho de suas partículas como também à distribuição granulométrica: para pós com distribuição de partículas estreita, a fluidez aumenta significativamente com o aumento do tamanho das partículas. Para pós com mesmo tamanho médio, quanto mais uniforme for esta distribuição, melhores são as propriedades de fluxo destes pós. Estes dados contradizem os resultados de fluidez obtidos para olanzapina através dos métodos indiretos (razão de Hausner, índice de Carr e ângulo de repouso) apresentados posteriormente. O lote do fabricante B, classificado como de fluxo bom, apresenta o menor tamanho de partícula e o maior índice de dispersividade dentre as três amostras avaliadas. Assim, justificam-se, como observado na prática, os problemas de fluxo encontrados para estas amostras.

O gráfico comparativo das distribuições de tamanhos de partículas para os três lotes de olanzapina são apresentados na Figura 17.

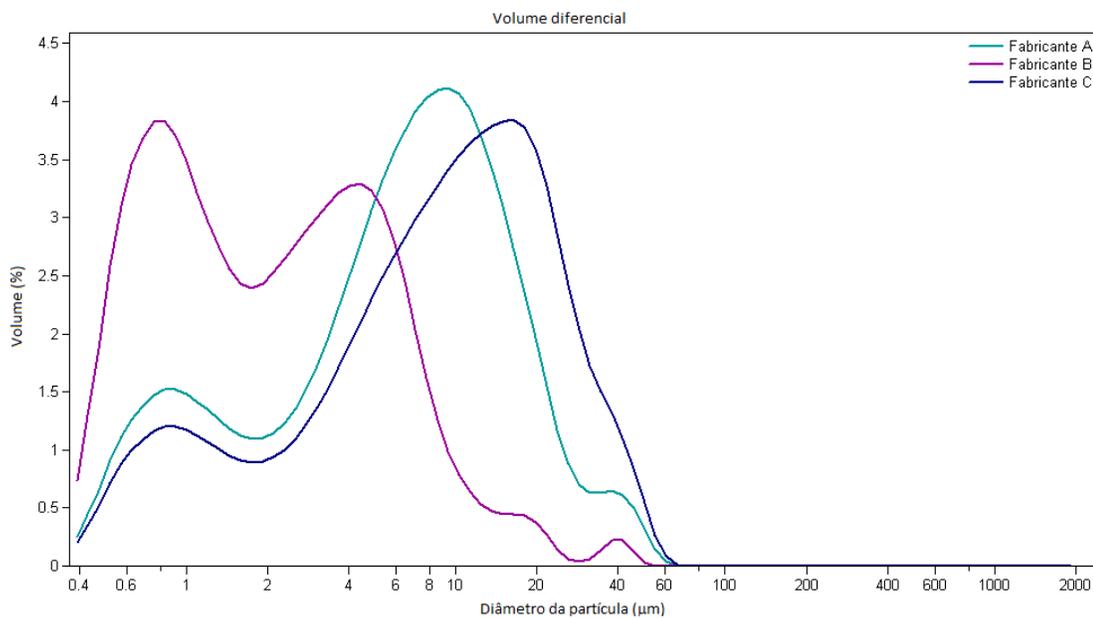


Figura 17. Gráfico comparativo das distribuições de tamanho de partícula das amostras de olanzapina.

Através do gráfico é possível observar que os três lotes apresentam distribuições bimodais (ainda que em padrões diferentes), sugerindo a presença de duas frequências de tamanhos distintas para cada uma das amostras avaliadas. Este tipo de distribuição pode ser atribuído a uma série de características da amostra em análise, relacionadas ao processo de micronização, presença de aglomerados, formato das partículas ou mesmo a questões relacionadas à técnica analítica.

Uma das estratégias mais comumente utilizadas na indústria farmacêutica para melhorar o desempenho de fármacos pouco solúveis, principalmente em relação à velocidade de dissolução, é a micronização (ZIMPER *et al.*, 2010). Pós que foram submetidos à micronização podem apresentar distribuição granulométrica bimodal, atribuída a uma fração da amostra não completamente micronizada durante o processo, o que produz um modo de frequência que aparece em faixas de tamanhos de partículas maiores ao longo do gráfico de distribuição granulométrica (STANIFORTH, 2005).

A redução do tamanho de partícula por micronização ainda pode levar à obtenção de materiais extremamente coesivos e eletrostaticamente carregados, sujeitos à formação de aglomerados particulares de diferentes tamanhos e estruturas. Estes aglomerados comportam-se como partículas primárias maiores, podendo levar tanto à redução da velocidade de dissolução (HÖRTER & DRESSMAN, 2001; ZIMPER *et al.*, 2010) como a erros na determinação analítica da distribuição granulométrica dos pós (SHEKUNOV *et al.*, 2007).

Valores mais elevados de  $d_{50}$  e  $d_{90}$  podem ser explicados por certo grau de aglomeração das partículas, principalmente em pós mais finos (TINKE *et al.*, 2005a), como observado para o lote do fabricante B de olanzapina.

Adicionalmente, na técnica de difração de LASER, o processamento dos dados pressupõe um formato esférico para as partículas, considerando os diâmetros obtidos como de partículas esféricas equivalentes. No entanto, na prática farmacêutica, as partículas dos insumos utilizados podem apresentar distintas formas e características, na maioria das vezes diferentes do formato esférico ideal. Quando submetidas à análise através do feixe de raios LASER, partículas não-esféricas podem ser detectadas em várias orientações, causando um alargamento na distribuição granulométrica obtida. Por exemplo, medidas de uma determinada partícula de comprimento (L) e largura (B) (**Erro! Fonte de referência não encontrada.**) são resultado da superposição das difrações de duas esferas de diâmetros (L) e (B), podendo levar a distribuições bimodais correspondentes a estes diâmetros mínimos e máximos das partículas (SHEKUNOV *et al.*, 2007; TINKE *et al.*, 2008).

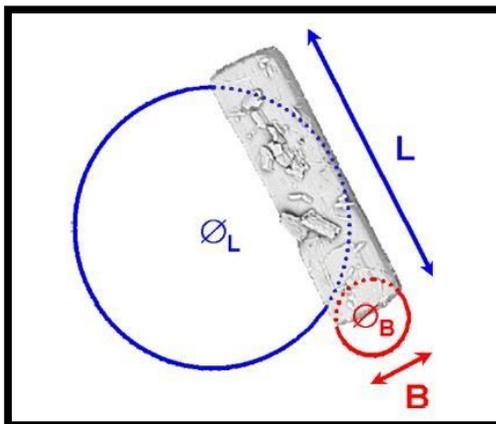


Figura 18. Desenho esquemático de diâmetros equivalentes (TINKE *et al.*, 2008).

Apesar de a técnica de difração de LASER apresentar-se como uma das principais ferramentas para a determinação da distribuição granulométrica de partículas na área farmacêutica, ela não deve ser utilizada de forma isolada para interpretação dos resultados. Conforme demonstrado por Tinke e colaboradores (2008), os dados podem ser correlacionados com as imagens obtidas por técnicas como a microscopia, permitindo avaliar a eficácia dos parâmetros analíticos utilizados e validar a metodologia de difração para posterior utilização na rotina.

Desta forma, o comportamento observado para as três amostras de olanzapina estudadas será melhor explicado através dos resultados de microscopia eletrônica de varredura apresentados, associados aos dados obtidos por difração de LASER.

## 5.2.2 Fluidez

### 5.2.2.1 Densidade aparente e compactada

Os valores de densidade aparente e compactada de pós são utilizados como medidas indiretas para estimativa de propriedades de fluxo das matérias-primas. Os resultados obtidos para as densidades, aparente e compactada, dos três lotes de olanzapina testados estão descritos na Tabela 11.

Tabela 11. Resultados de densidade aparente e compactada encontrados para os lotes de olanzapina (n=3).

<b>Matéria-prima</b>	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>Densidade aparente (g/mL)</b>	0,249 ± 0,007	0,263 ± 0,005	0,325 ± 0,012
<b>Densidade compactada (g/mL)</b>	0,323 ± 0,014	0,308 ± 0,008	0,414 ± 0,009

De acordo com os resultados, a amostra do fabricante C apresenta densidades, tanto aparente quanto compactada, maiores em relação às amostras dos fabricantes A e B. Este fato pode ser explicado em função do maior tamanho de partícula deste lote em relação aos demais. Segundo Abdullah & Geldart (1999), as densidades aparente e compactada estão relacionadas a uma série de fatores, como tamanho, formato e coesão entre as partículas. Como regra geral, um aumento no tamanho das partículas reduz a interação e coesividade entre elas, favorecendo o empacotamento em uma forma mais densa e gerando resultados de densidade mais altos, o que justifica o maior valor encontrado para a amostra do fabricante C.

Conforme os resultados de distribuição granulométrica, a amostra do fabricante B possui tamanho de partículas bem menores em relação aos outros dois fabricantes avaliados. Seriam esperados valores de densidade também menores para este fabricante. No entanto, o fabricante B apresentou resultados de densidade próximos aos do fabricante A, com densidade

aparente ainda maior. Este fato pode ser justificado, uma vez que, durante a manipulação das amostras, observou-se a formação de aglomerados na matéria-prima do fabricante B, provavelmente relacionados à carga eletrostática originada no processo de micronização do lote. Adicionalmente, este lote apresentou, como discutido anteriormente, um valor de umidade próximo ao limite máximo especificado pela farmacopeia americana (USP, 2013). A água adsorvida pode promover o aumento de interações entre partículas (principalmente interações de Van de Waals), aumentando a área de contato e favorecendo a formação de aglomerados (AMIDON, 1999).

Estes aglomerados comportaram-se como partículas maiores, dificultando a realização da técnica e alterando os resultados esperados na determinação da densidade dos insumos.

A Farmacopeia Americana (USP, 2013) prevê, se necessário, a passagem da amostra por peneira com abertura igual ou maior que 1 mm, previamente à realização da análise, a fim de reduzir aglomerados formados durante o armazenamento da amostra. No entanto, este procedimento não foi eficaz em eliminar os aglomerados observados durante análise do lote B e, portanto, não foi adotado.

#### 5.2.2.2 Índice de Carr e Razão de Hausner

Na Tabela 12 são apresentados o índice de Carr e a razão de Hausner calculados em função das densidades obtidas para os três lotes de olanzapina avaliados.

A fluidez de pós está diretamente relacionada às interações entre partículas, causadas por forças intermoleculares, incluindo forças de Van der Waals, ligações químicas localizadas, cargas eletrostáticas e capilaridade (STANIFORTH, 2005).

Tabela 12. Resultados de razão de Hausner e índice de Carr calculados para as amostras de olanzapina e as respectivas classificações quanto ao fluxo (média  $\pm$  desvio padrão; n=3).

	Razão de Hausner		Índice de Carr	
	Resultado	Classificação	Resultado	Classificação
<b>Fabricante A</b>	1,30 $\pm$ 0,033	Aceitável	22,79 $\pm$ 1,929	Aceitável
<b>Fabricante B</b>	1,17 $\pm$ 0,019	Bom	14,78 $\pm$ 1,417	Bom
<b>Fabricante C</b>	1,28 $\pm$ 0,068	Aceitável	21,42 $\pm$ 4,287	Aceitável

O índice de Carr e a razão de Hausner permitem estimar a importância destas interações através da avaliação da habilidade de um determinado pó em se acomodar, quando submetido à compactação. Em um pó de fluxo livre, gravidade e inércia são geralmente maiores que as forças de adesão entre partículas, fazendo com que o volume inicialmente ocupado pelo pó não se altere significativamente em função da compactação. Neste caso, as densidades aparente e compactada apresentam valores próximos entre si. No caso de pós com fluxo pobre, as interações entre partículas são mais relevantes, fazendo com que haja mais espaços vazios interparticulares na determinação da densidade aparente. O processo de compactação permite a ruptura destas forças, promovendo um rearranjo das partículas e redução (significativa ou não) no volume ocupado pelo pó. Conseqüentemente, maiores diferenças entre os valores das densidades aparente e compactada poderão ser observados (LI *et al.*, 2004; USP, 2013).

Da mesma forma como discutido para a densidade, espera-se que pós com tamanhos de partícula maiores apresentem melhores resultados de fluidez. No entanto, diferentemente do esperado, os índices obtidos para os três lotes indicam que a amostra do fabricante B apresenta fluxo bom quando comparado aos lotes A e C, classificados apenas como de fluxo aceitável. Pós com tamanhos de partículas menores que 10  $\mu\text{m}$  geralmente são coesivos e resistem ao fluxo, exceto, possivelmente, como grandes aglomerados (STANIFORTH, 2005). Como mencionado anteriormente, os aglomerados potencialmente resultantes de cargas eletrostáticas geradas na amostra do fabricante B comportam-se como partículas maiores, impedindo a redução do volume de forma significativa com a compactação. A energia fornecida pela compactação seria insuficiente para quebrar a estrutura inicial e permitir o rearranjo adicional das partículas (LI *et al.*, 2004).

Assim, como em estudos realizados por LI e col. (2004) e SCHÜSSELE & BAUER-BRANDL (2003), verificaram-se discrepâncias entre a classificação obtida com o índice de Hausner e, conseqüentemente de Carr, em comparação à fluidez dos lotes observada na prática.

### 5.2.2.3 Fluxo por orifício e ângulo de repouso

Em geral, propriedades de fluxo são determinadas por fatores relacionados não somente a características do material (tamanho de partícula, distribuição, morfologia, densidade), mas também a condições relacionadas ao processo envolvido (KACHRIMANIS *et al.*, 2005).

A determinação do fluxo através de um orifício tem sido descrita como uma das técnicas mais apropriadas para avaliação das propriedades de fluidez de materiais. No entanto, os resultados obtidos através deste método dependem criticamente dos parâmetros utilizados na realização das análises, tornando difícil, muitas vezes, a comparação dos dados obtidos com resultados publicados previamente. Alguns dos fatores a serem avaliados durante a execução deste tipo de estudo incluem diâmetro e formato do orifício, altura, formato e material do suporte, uso de aparato adicional para movimentação do pó e velocidade de agitação (USP, 2013).

Devido à falta de um método padronizado para o ensaio de fluxo por orifício, foram realizados testes para determinação das melhores condições experimentais para avaliação das amostras de olanzapina. Primeiramente, foram testadas diferentes aberturas nominais para o funil: 10, 11,3, 15 e 25 mm. Não foi possível obter fluidez detectável pelo equipamento com nenhuma das aberturas utilizadas.

Assim, foi utilizado um aparato disponível no equipamento para facilitar o fluxo de pós: uma haste de agitação que possibilita a movimentação do pó dentro do funil, a fim de facilitar o fluxo. A haste possui 4 velocidades de agitação. Somente utilizando a última velocidade de agitação, mais rápida, foi possível detectar fluxo mensurável.

Desta forma, foram padronizadas as seguintes condições para determinação da fluidez dos lotes de olanzapina: abertura de 25 mm e uso do agitador com velocidade 4. Os resultados obtidos nestas condições estão expressos na Tabela 13.

Tabela 13. Resultados de fluidez por orifício e ângulo de repouso das três amostras de olanzapina.

	Fluxo (segundos/100 g)	Ângulo de repouso	Classificação (baseada no valor de ângulo de repouso)
<b>Fabricante A</b>	33,2 (14,9 a 42,8)	38,1°	Justo
<b>Fabricante B</b>	20,9 (17,1 a 24,0)	35,3°	Bom
<b>Fabricante C</b>	23,7 (22,2 a 25,8)	33,4°	Bom

Diferentemente dos métodos indiretos para avaliação de fluidez, não há, na literatura, uma escala geral para classificação dos pós em função dos valores de fluxo obtidos, uma vez que estes são extremamente dependentes do método utilizado para cada produto (USP, 2013). O método permite, no entanto, a comparação dos valores relativos obtidos para cada um dos lotes de olanzapina, avaliados de acordo com as mesmas condições experimentais.

Os lotes de olanzapina avaliados pelo fluxo por orifício apresentaram fluidez crescente de acordo com a seguinte ordem:  $B > C > A$ .

Conforme comportamento descrito por Staniforth (2005) e observado durante a realização das análises, os pós que não fluem livremente podem apresentar fluxo tipo funil, no qual as partículas da porção superior da superfície do leito do pó são as primeiras a fluírem, formando o chamado “caminho de rato” no centro da amostra. O restante do pó, no entanto, permanece aderido à parede do funil devido às propriedades de coesão/adesão das partículas. Um problema deste tipo de comportamento de fluxo consiste na possibilidade de esta estrutura “ruir”, provocando momentos de fluxos excessivos de pó alternados a outros de fluxo lento ou nulo e tornando o escoamento do pó errático e desuniforme. Este perfil de fluxo foi percebido para as três amostras, justificando a grande variação entre as replicatas obtidas para cada lote (Figura 19, Figura 20 e Figura 21).

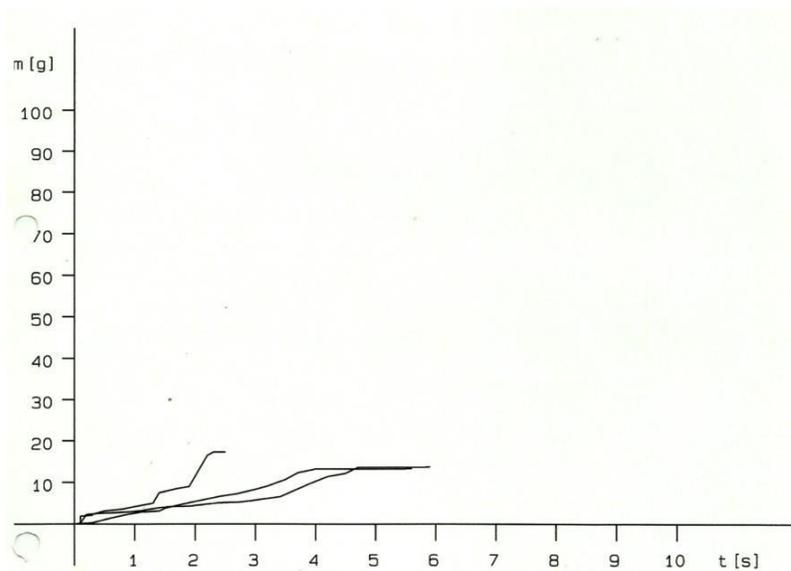


Figura 19. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante A.

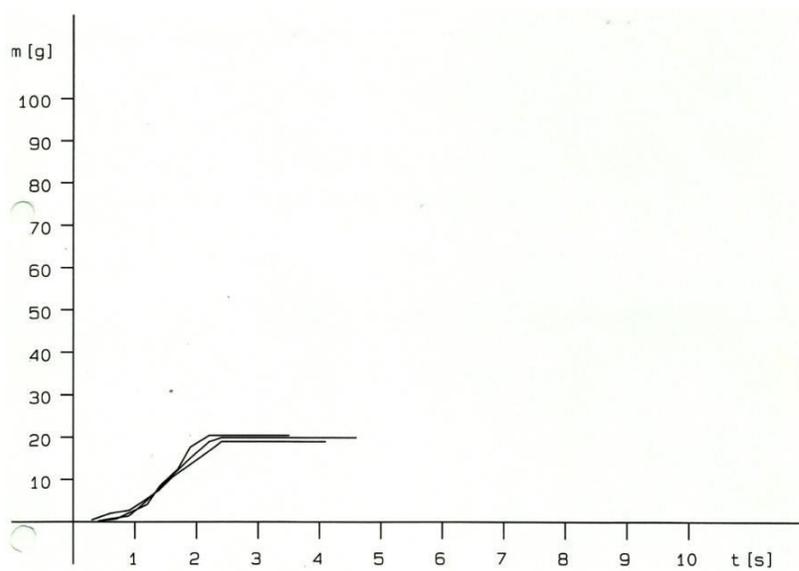


Figura 20. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante B.

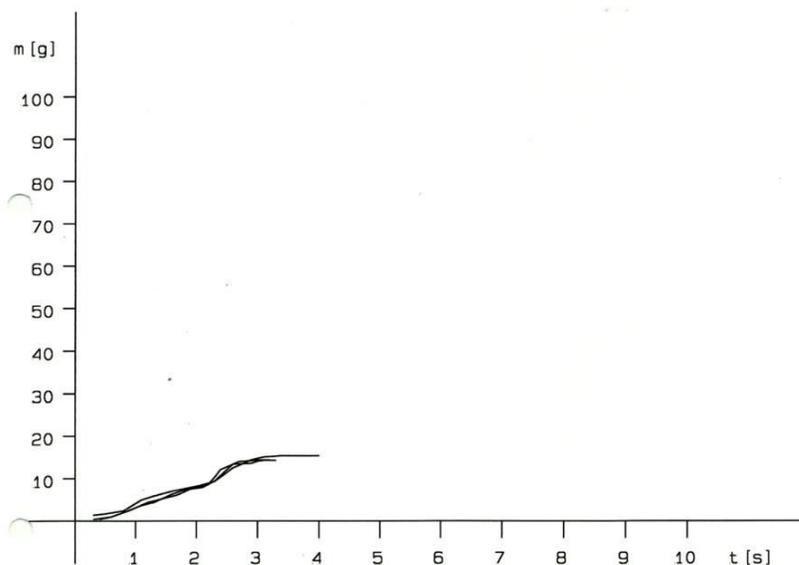


Figura 21. Gráfico de fluidez para a amostra do fabricante C.

Os parâmetros analíticos definidos para o ensaio de fluxo por orifício – 25 mm de abertura com agitador em velocidade 4 – foram utilizados para determinação do ângulo de repouso (Tabela 13).

Os valores de ângulo de repouso obtidos diferem dos resultados de fluidez encontrados nos ensaios realizados anteriormente, sugerindo um melhor desempenho do lote do fabricante C, seguido pelos lotes dos fabricantes B e A, respectivamente. No entanto, como discutido previamente, em todos os testes (densidade, fluxo por orifício e ângulo de repouso) foi observada a formação de aglomerados para as matérias-primas A e, de forma mais relevante, para B, atribuídos, provavelmente, a cargas estáticas e umidade adsorvida.

Desta forma, os resultados e índices obtidos nos estudos de caracterização da fluidez não condizem com o comportamento observado na prática. Assim, os ensaios em questão não se mostraram adequados como critério discriminativo para a escolha do melhor lote.

Apesar de os três lotes de olanzapina estudados não apresentarem, na prática, comportamentos de fluxo bons, decidiu-se prosseguir com a formulação por compressão direta, considerando que, devido à baixa dosagem do fármaco, a fluidez destes insumos não teria influência significativa no comportamento da mistura final. Foi possível observar, durante a manipulação dos lotes em escala de bancada, que a alta proporção de excipientes adequados ao processo de compressão direta, como celulose e lactose, em relação ao conteúdo do fármaco na formulação, corrigiu os problemas de fluxo da olanzapina observados com a realização destas análises.

Os ensaios de densidade e fluidez foram repetidos para a mistura de pós para a compressão, a fim de subsidiar a escolha de excipientes e da formulação com melhor desempenho para a etapa de compressão, como será apresentado e discutido posteriormente.

### 5.2.3 Microscopia eletrônica de varredura

As imagens obtidas para as amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C por microscopia eletrônica de varredura são apresentadas nas Figuras 22, 23, 24, 25 e 26. É possível afirmar que os resultados da microscopia corroboram os dados de distribuição de tamanho de partícula encontrados pela técnica de difração de LASER, confirmando que a amostra B apresenta partículas com os menores tamanhos dentre os três lotes avaliados, seguida pela amostra do fabricante A e, posteriormente, pela amostra do fabricante C, que apresentou maiores tamanhos das partículas (Figura 22).

A Figura 23 apresenta a MEV da amostra do fabricante A em aumento de 1000x. Observa-se uma grande variação na distribuição de tamanho das diferentes partículas para este lote, sem uma uniformidade nos tamanhos encontrados dentro da mesma amostra. Este fato confirma o valor alto de índice de dispersividade calculado para o fabricante A. Além disso, a presença de partículas bem maiores encontradas no campo observado pode ser um indicativo de que a amostra foi submetida a um processo de micronização não adequadamente controlado, resultando em uma distribuição granulométrica bimodal, conforme resultados de difração de LASER apresentados.

Através das microscopias das Figuras 24b e 25b é possível confirmar que as partículas do lote do fabricante B apresentam tendência a formar aglomerados. Este comportamento já havia sido observado em escala macroscópica e poderia justificar o perfil bimodal encontrado para a distribuição por difração de LASER. Neste caso, um estudo adicional com a finalidade de avaliar a melhor forma para dispersão da amostra durante a realização da análise de difração de LASER seria necessário, para que os valores reais dos tamanhos das partículas da amostra pudessem ser determinados.

De acordo com as imagens, pode-se observar que a amostra do fabricante C apresentou partículas de tamanho maiores em relação aos outros dois lotes. No entanto, esse fato não refletiu em uma maior fluidez para esta matéria-prima, o que pode ser explicado pelo formato das partículas observado na microscopia. As partículas da amostra C apresentaram

formas retangulares, longas e finas. Partículas não esféricas apresentam grandes áreas de contato entre si, aumentando as interações interparticulares e dificultando o fluxo.

Ainda, não foi possível observar, através da análise das microscopias para o lote C, formação de aglomerados interparticulares ou distribuição de tamanhos das partículas significativamente desuniforme que justificassem o alto índice de dispersividade e o perfil bimodal obtido para esta amostra. Uma das possíveis explicações para este fato pode estar relacionada ao formato retangular e de espessura fina das partículas, que poderiam assumir diferentes orientações no momento da análise. Os dados de difração das partículas orientadas em relação à espessura (dimensão mais fina) poderiam ser interpretados como uma população de partículas de diâmetros menores, gerando resultados de perfil granulométrico e dispersividade não representativos da distribuição real da amostra.

A literatura descreve que o polimorfo I da olanzapina apresenta partículas planas, em forma de placas de comprimento e largura similares, enquanto o polimorfo II apresenta partículas retangulares, longas, finas e em forma de lâminas (TIWARI *et al.*, 2007). A avaliação microscópica realizada para as matérias-primas A e B não permite a identificação dos polimorfos presentes nas amostras, uma vez que a morfologia das partículas pode ter sido alterada, provavelmente pelo processo de micronização ao qual os insumos foram submetidos. Diferentemente das primeiras, a amostra C apresenta partículas características, de formato mais bem definido, laminar, semelhantes ao descrito para o polimorfo II.

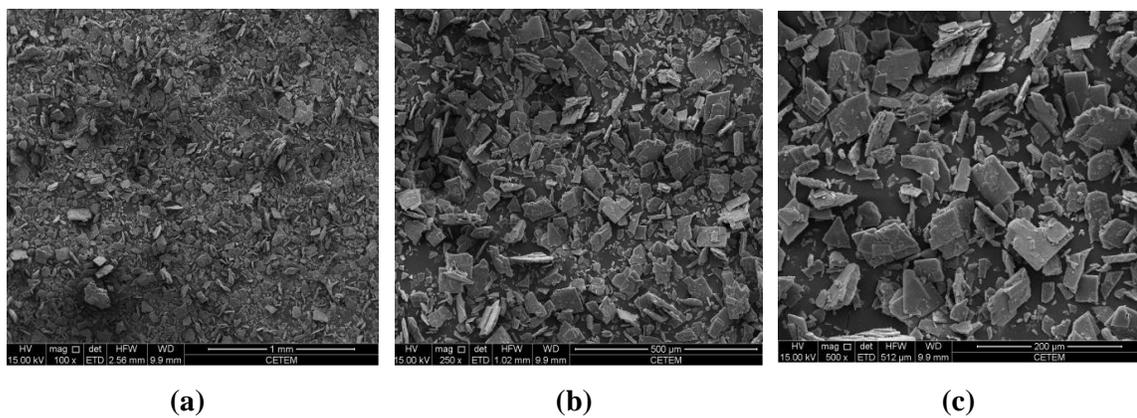


Figura 22. MEV de olanzapina do fabricante C em (a) 100x, (b) 250x e (c) 500x.

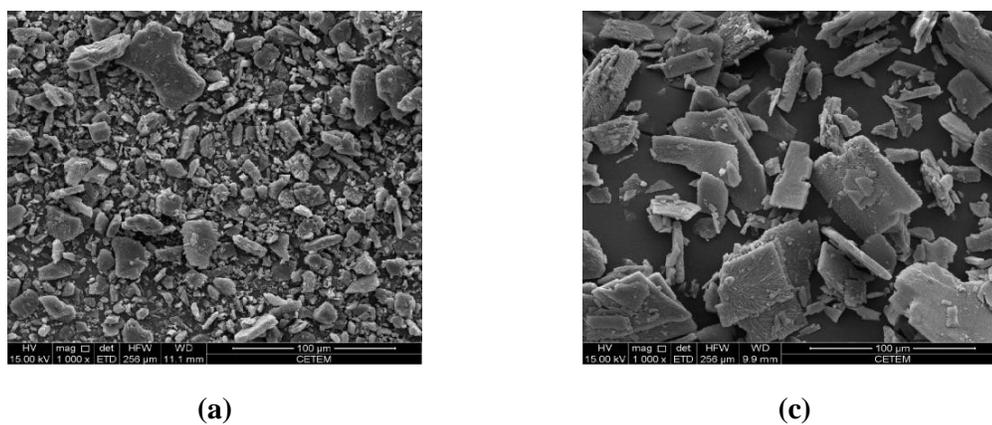


Figura 23. MEV de olanzapina dos fabricantes A e C em aumento de 1000x.

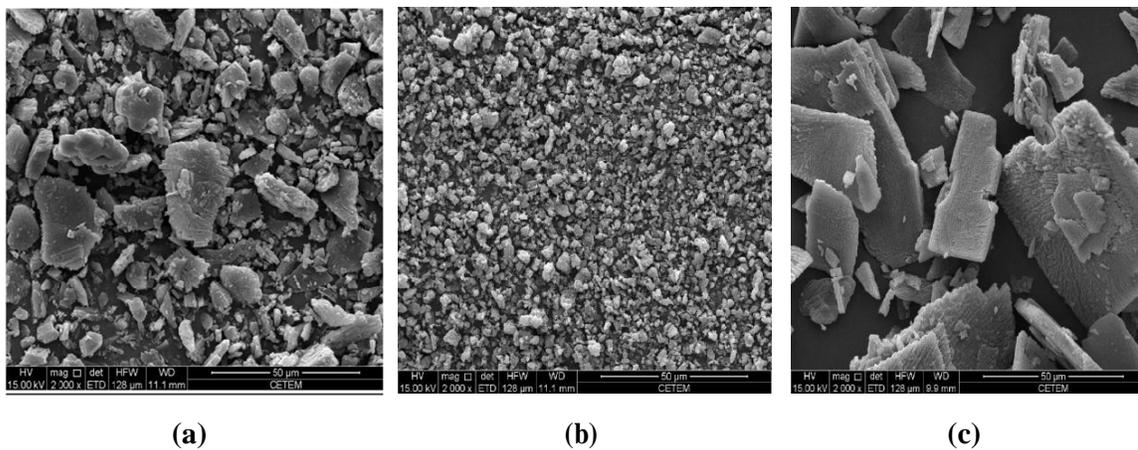


Figura 24. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 2000x.

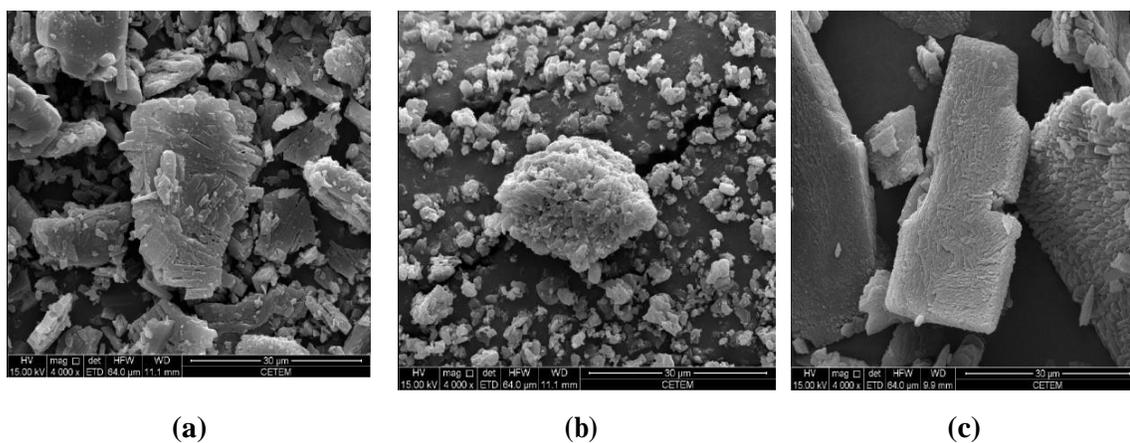


Figura 25. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 4000x.

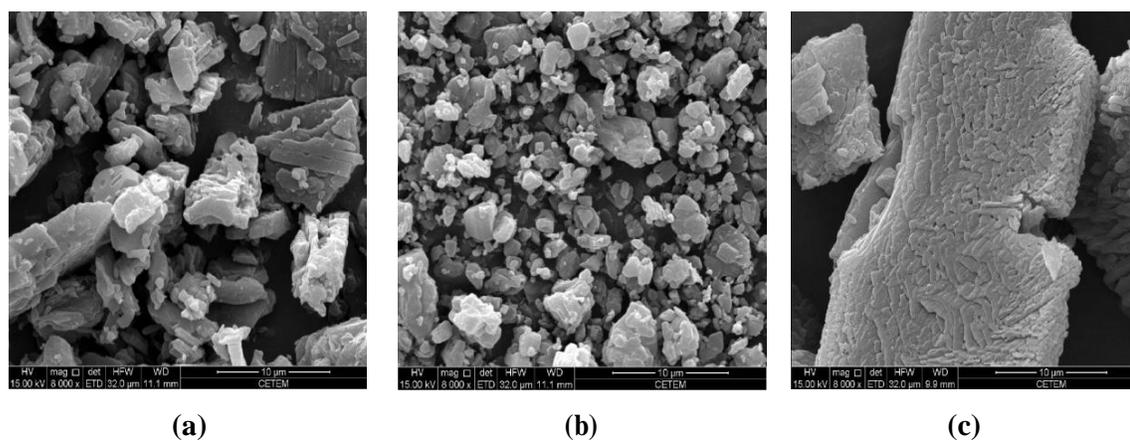


Figura 26. MEV de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em aumento igual a 8000x.

## 5.2.4 Análise térmica

### 5.2.4.1 Calorimetria exploratória diferencial

A Figura 27 apresenta as curvas de DSC para as amostras dos fabricantes A, B e C em razão de aquecimento igual a  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . Os estudos de DSC dos três lotes apresentam comportamentos térmicos distintos. As amostras A, B e C apresentam um evento endotérmico com  $T_{\text{onset}}$  igual a  $190,39\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $193,41\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $193,18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , respectivamente. Para os lotes dos fabricantes A e B, este é o único evento observável. O lote do fabricante C, no entanto, apresenta um segundo pico endotérmico com  $T_{\text{onset}}$  igual a  $179,58\text{ }^{\circ}\text{C}$ , seguido rapidamente por um sinal exotérmico.

Correlacionando-se estes resultados com o estudo publicado por Polla e colaboradores (2005) e confirmado por Tiwari *et al.* (2007), utilizando razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , o comportamento térmico das amostras A e B é condizente com o padrão descrito para o polimorfo I de olanzapina, enquanto a curva da amostra C assemelha-se ao polimorfo II.

Os autores descrevem os polimorfos I e II de olanzapina como um sistema monotrópico dimórfico, com transição irreversível da forma II em I. De acordo com os resultados apresentados na literatura, o primeiro evento endotérmico observado em temperaturas próximas a  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$  refere-se à fusão da forma menos estável da olanzapina (polimorfo II), seguida rapidamente pela recristalização do fármaco em sua forma mais estável (polimorfo I) e representada na curva de DSC pelo evento exotérmico. Através da associação do DSC com outras técnicas, como DRXP, Raman e TOA, Polla e col. (2005) relataram a presença da forma I coexistindo com a forma II, na faixa de temperatura de  $160$  a  $180\text{ }^{\circ}\text{C}$ . O segundo pico endotérmico, em temperaturas próximas a  $194\text{ }^{\circ}\text{C}$ , refere-se à fusão do polimorfo I.

Cavallari e colaboradores (2013) descrevem que, em alguns casos, esta transição polimórfica da olanzapina pode aparecer apenas como um traço fraco na curva de DSC de solvatos da forma II. Uma análise cuidadosa da curva obtida para a amostra A (Figura 27) indicou a presença de um possível evento antes da endoterma de fusão da fase cristalina I. Adicionalmente, esta amostra apresentou temperaturas de  $T_{\text{onset}}$  e  $T_{\text{pico}}$  inferiores às temperaturas obtidas para as amostras B e C (Tabela 14).

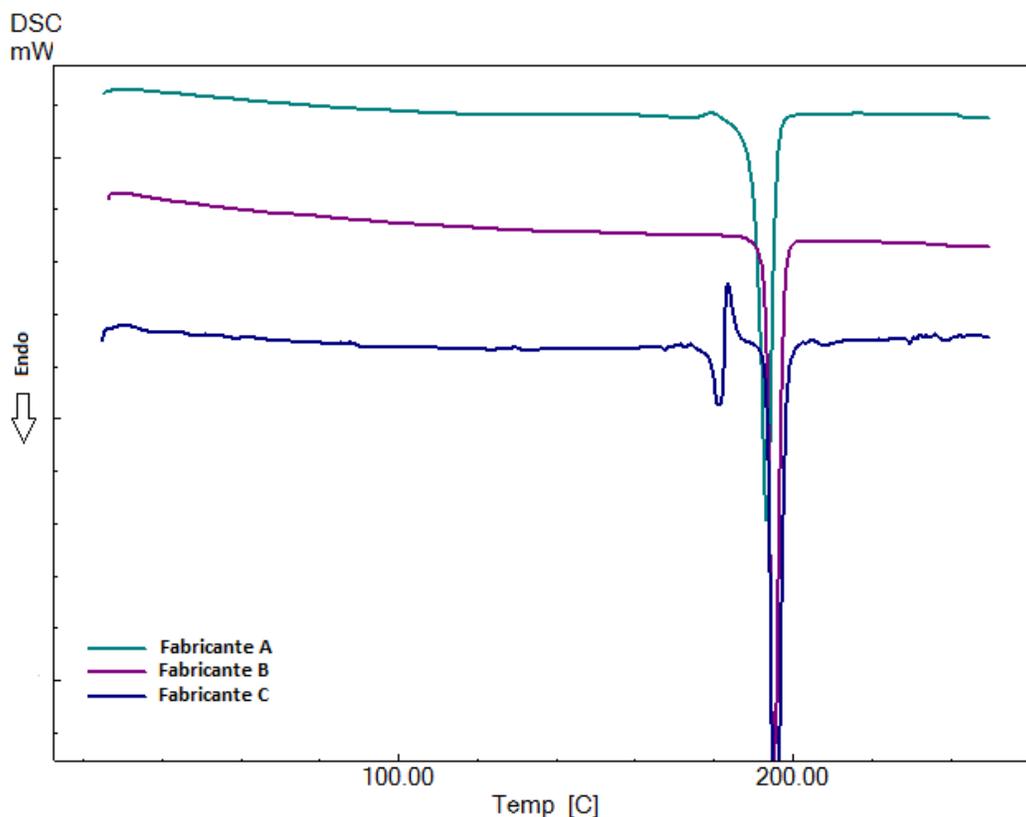


Figura 27. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Tabela 14. Dados obtidos a partir das curvas de DSC para a endoterma de fusão do polimorfo I das amostras de olanzapina:  $T_{\text{onset}}$ ,  $T_{\text{pico}}$  e Entalpia ( $\Delta H$ ) em diferentes taxas de aquecimento.

Taxa de aquecimento	$T_{\text{onset}}\text{ (}^{\circ}\text{C)}$			$T_{\text{pico}}\text{ (}^{\circ}\text{C)}$			$\Delta H\text{ (J}\cdot\text{g}^{-1})$		
	A	B	C	A	B	C	A	B	C
$10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	190,39	193,41	193,18	193,61	195,38	195,72	110,00	110,15	106,62
$20^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	193,20	194,32	194,78	197,72	197,28	198,50	122,90	111,91	86,64
$40^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$	195,12	196,18	194,31	201,43	201,20	200,84	105,19	98,24	44,28

De acordo com GIRON (1995), fatores experimentais, como taxa de aquecimento, preparo e características da amostra (tamanho de partícula, forma, pureza), têm influência direta na cinética e resolução de eventos térmicos.

Baseando-se nesta premissa, os lotes de olanzapina foram analisados utilizando-se diferentes razões de aquecimento, conforme apresentado nas Figura 28, Figura 29 e Figura 30.

Com a finalidade de se investigar melhor os eventos envolvidos na curva de DSC da amostra do fabricante A, esta foi analisada em razão de aquecimento igual a  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , comparando-se com os resultados já obtidos anteriormente em  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ . No entanto, conforme apresentado na Figura 28, não se observou diferenças em ambas as condições.

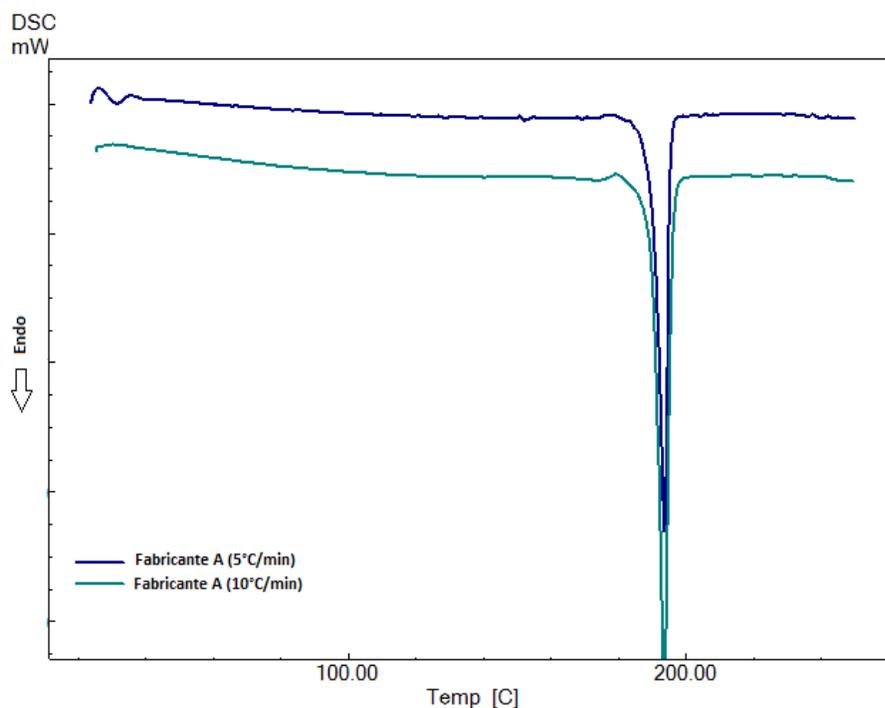


Figura 28. Comparação das curvas de DSC da amostra de olanzapina do fabricante A com taxas de aquecimento de  $5^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  e  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

A análise dos lotes de olanzapina A, B e C, com razão de aquecimento de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  (Figura 29), apresentou resultados semelhantes aos obtidos anteriormente, apenas com alargamento dos picos devido ao aumento na taxa de aquecimento. No entanto, em  $40\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , foi possível visualizar diferenças nas curvas de DSC, principalmente para as amostras A e C.

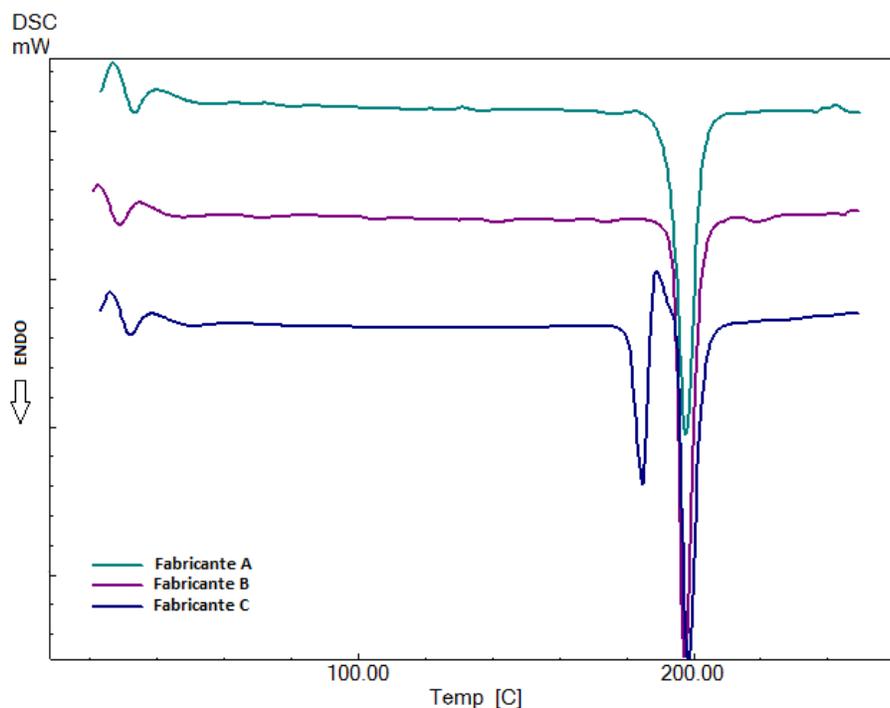


Figura 29. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de  $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

De acordo com a Figura 30 e Tabela 14, em uma razão de aquecimento maior, as endotermas de fusão para as três amostras deslocaram-se para temperaturas mais elevadas. No caso da amostra A, um evento endotérmico ficou aparente antes da endoterma de fusão da forma I a  $195,12^{\circ}\text{C}$ , sugerindo uma transição do polimorfo II para o polimorfo I. De acordo com Giron (1995), é possível que algumas transições sólido-sólido não possam ser visualizadas devido à sua baixa entalpia. Nestes casos, a utilização de razões de aquecimento lentas podem causar mudanças potenciais na amostra durante o processo de aquecimento, levando à completa transformação do polimorfo na forma mais estável sem a detecção de qualquer transição na curva de DSC e tornando os dados obtidos não representativos do material na sua forma prévia à análise. Este fato poderia justificar porque não foi possível visualizar a transição de fase da amostra A com taxas de aquecimento menores, entre  $5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  e  $20\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Para a amostra C, em uma razão de aquecimento de  $40\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , pode-se observar a ocorrência de dois eventos endotérmicos consecutivos, com  $T_{\text{onset}}$  iguais a  $183,40^{\circ}\text{C}$  e  $194,31^{\circ}\text{C}$ . Essas temperaturas correspondem às temperaturas de fusão relatadas para os polimorfos II e I de olanzapina, respectivamente. No entanto, diferentemente das curvas obtidas em razões de aquecimento menores, não se observou a exoterma de recristalização da forma I. Pode-se

supor que, devido ao rápido aquecimento, após a fusão do polimorfo II presente na amostra, não foi possível que as moléculas da massa fundida se reorganizassem e cristalizassem em uma estrutura cristalina definida (forma I), sendo assim o evento exotérmico de recristalização não observado. O segundo pico endotérmico, no entanto, pode ser atribuído a um quantitativo da forma I já presente previamente na amostra. Esta explicação pode ser corroborada pela menor entalpia da endoterma de fusão do polimorfo I em relação às análises anteriores (Tabela 14).

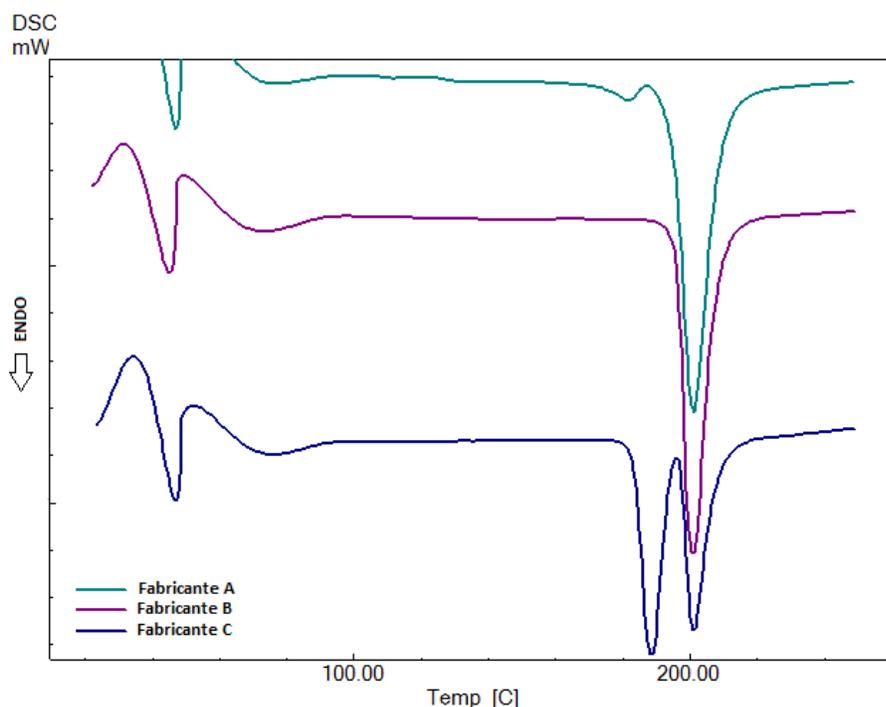


Figura 30. Curvas de DSC das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C, com taxa de aquecimento de  $40\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Conforme pode ser observado pelos gráficos e pela tabela, as amostras de olanzapina avaliadas apresentam comportamentos distintos entre si. Os estudos de DSC realizados indicam que as amostras dos fabricantes A e C consistem em misturas dos polimorfos I e II de olanzapina. Levando em consideração as entalpias envolvidas nas transições, o lote A seria composto, principalmente, da forma I com contaminação da forma II, enquanto o lote C consistiria, predominantemente, da forma II.

A amostra do fabricante B apresentou, em todas as condições avaliadas, o mesmo comportamento, condizente com o polimorfo I da olanzapina.

Estudos posteriores realizados neste trabalho, utilizando-se técnicas de TOA, DRXP e infravermelho, indicam que as três amostras consistem de misturas de polimorfos de olanzapina, provavelmente das formas cristalinas I e II.

#### 5.2.4.2 Termogravimetria

As curvas de TG obtidas para as amostras dos fabricantes A, B e C de olanzapina são apresentadas na Figura 31, Figura 32 e Figura 33, respectivamente.

As amostras dos três lotes apresentam perda de massa em temperaturas superiores a 200°C, ou seja, após os eventos endotérmicos observados nas curvas de DSC, confirmando que estes não se referem a reações de dessolvatação ou decomposição. Estes resultados são concordantes com os dados da literatura para ambos os polimorfos anidros I e II de olanzapina (POLLA *et al.* 2005; TIWARI *et al.*, 2007). Conforme estudos realizados por Silva (2013), estas perdas de massa estão associadas à degradação da olanzapina.

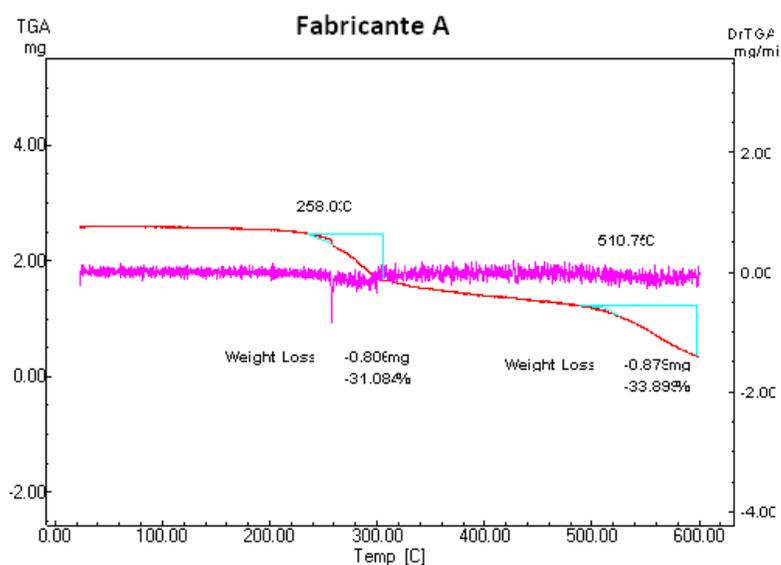


Figura 31. Curva de TG de olanzapina do fabricante A.

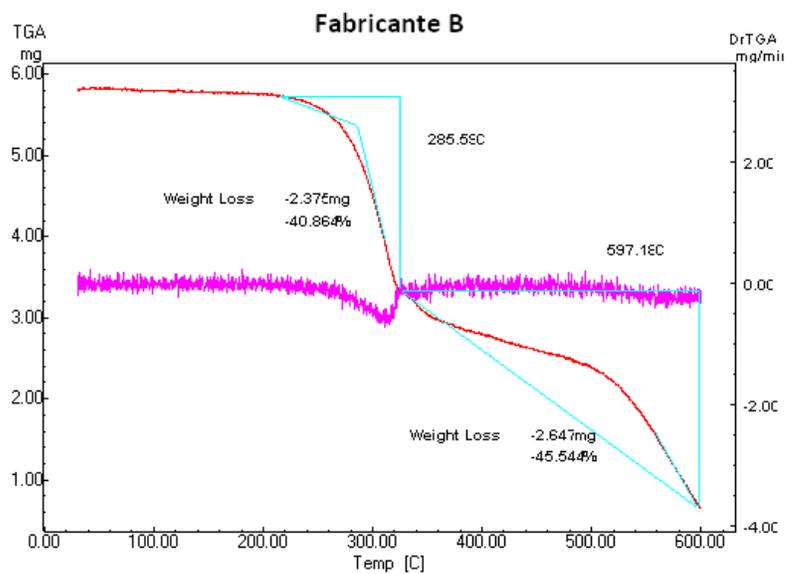


Figura 32. Curva de TG de olanzapina do fabricante B.

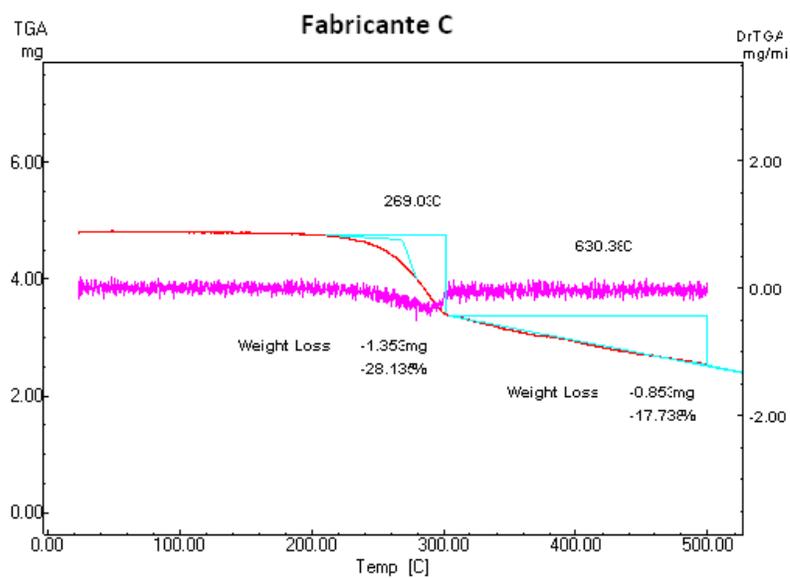


Figura 33. Curva de TG de olanzapina do fabricante C.

#### 5.2.4.3 Análise termooptica

A análise termooptica é utilizada na indústria farmacêutica principalmente como uma técnica complementar para confirmação de informações obtidas por outros métodos (VITEZ *et al.*, 1998).

As análises de DSC realizadas para as três amostras de olanzapina avaliadas sugerem que estas são compostas por diferentes polimorfos. Condições elevadas de razão de aquecimento também indicaram a possibilidade de que as amostras A e C pudessem ser misturas de fases cristalinas, provavelmente dos polimorfos I e II do fármaco em questão. A amostra B, no entanto, em todas as condições experimentais avaliadas, apresentou perfil térmico semelhante ao polimorfo I da olanzapina. Como apresentado posteriormente, estes resultados de DSC não puderam ser correlacionados com o padrão de difração de raios X obtido para esta amostra.

Assim, análises termoopticas foram conduzidas para os três lotes de olanzapina, em faixa de 30 a 250 °C, com razão de aquecimento de 10 °C.min<sup>-1</sup>, com a finalidade de obter dados adicionais que pudessem esclarecer os resultados coletados até então.

As imagens obtidas durante as análises termoopticas das amostras A, B e C são apresentadas na Figura 34, Figura 35 e Figura 36, respectivamente.

Através dos resultados obtidos para o lote A, é possível observar o início da fusão dos cristais em temperatura próxima a 160 °C. Esta fusão ocorre até temperatura de, aproximadamente, 180 °C, no entanto, não de forma completa para toda a amostra. Em temperatura igual a 185 °C (Figura 34) pode-se constatar a presença de inúmeros cristais translúcidos, em forma de placas, que somente fundem em temperaturas de 185 °C a 194 °C. Estes dados corroboram os resultados encontrados nas análises de DSC para a amostra A, confirmando que esta se refere a uma mistura de duas fases cristalinas, provavelmente os polimorfos I e II da olanzapina. As microscopias obtidas também permitem inferir que, para o lote A, a fase cristalina I está em maior proporção, justificando a prevalência deste comportamento nos resultados de DSC obtidos e os maiores valores de entalpia para a endoterma de fusão a 190°C, referente a este polimorfo.

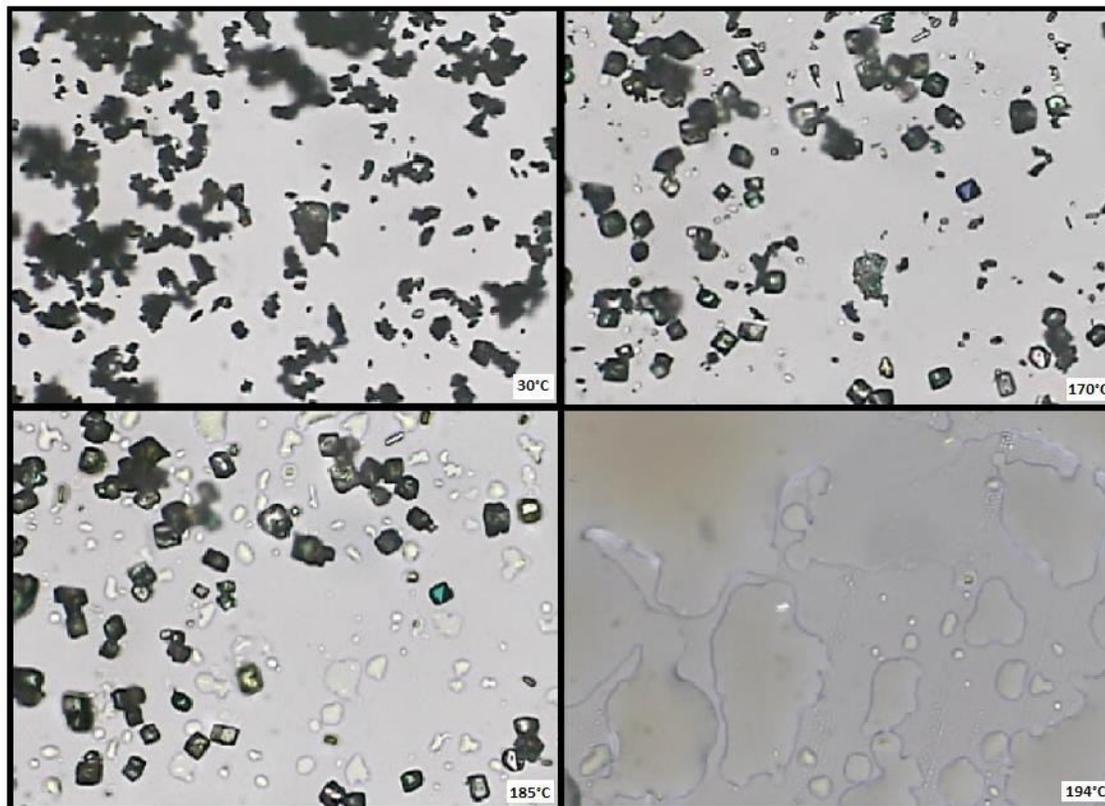


Figura 34. Análise termooptica de olanzapina do fabricante A, em aumento de 200x, com razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

Para a amostra B foi verificado comportamento semelhante ao do lote A, com início da fusão de uma fração da amostra em temperaturas próximas a  $160\text{ }^{\circ}\text{C}$  e a presença de cristais que fundem apenas em temperaturas acima de  $190\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 35).

A amostra C apresentou fusão da primeira fase cristalina em faixa de temperatura entre  $170\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $183,3\text{ }^{\circ}\text{C}$  (Figura 36). Da mesma forma que para os lotes anteriores, apesar de em menor proporção, é possível observar a presença de cristais da forma I que já estavam presentes na amostra e não originados do processo de recristalização. Os cristais da forma I apresentaram início da fusão em  $193^{\circ}\text{C}$ , condizente com  $T_{\text{onset}}$  obtido na análise de DSC. Na amostra C, pode-se constatar uma maior proporção inicial da fase cristalina II, o que poderia explicar o comportamento desta amostra durante a análise de DSC, sendo a única a apresentar eventos definidos de transição de fase cristalina.

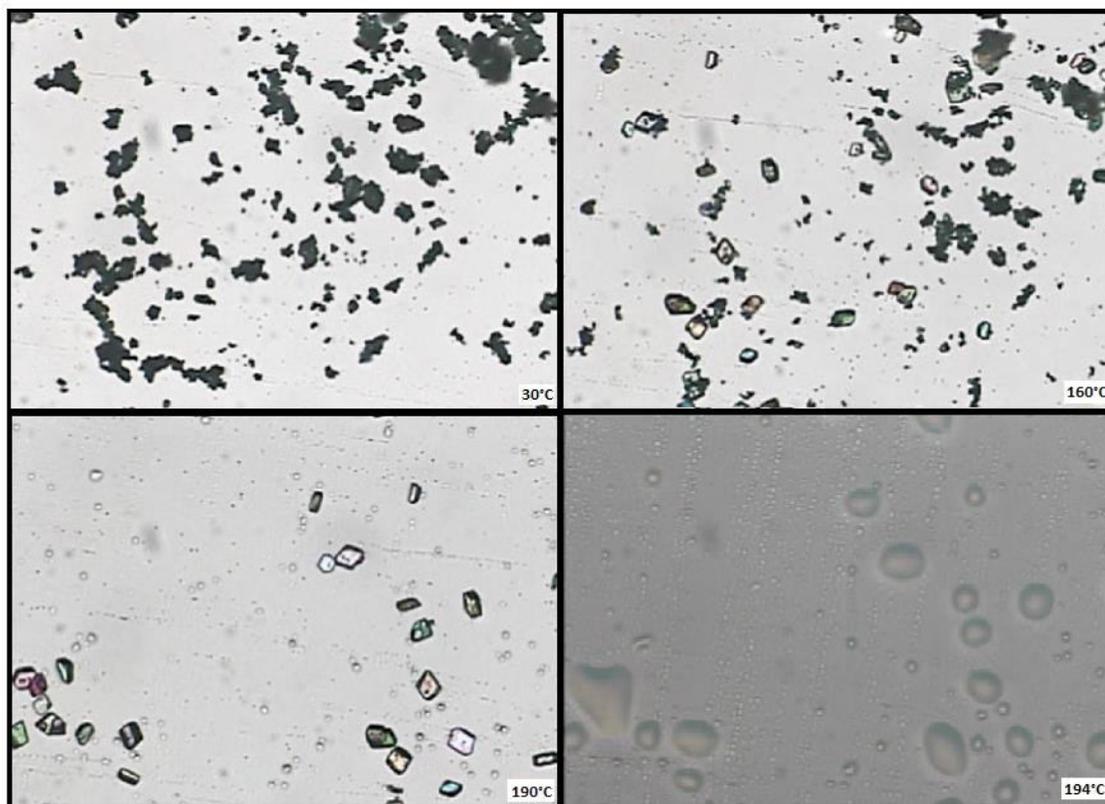


Figura 35. Análise termoóptica de olanzapina do fabricante B, em aumento de 200x, com razão de aquecimento de  $10^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

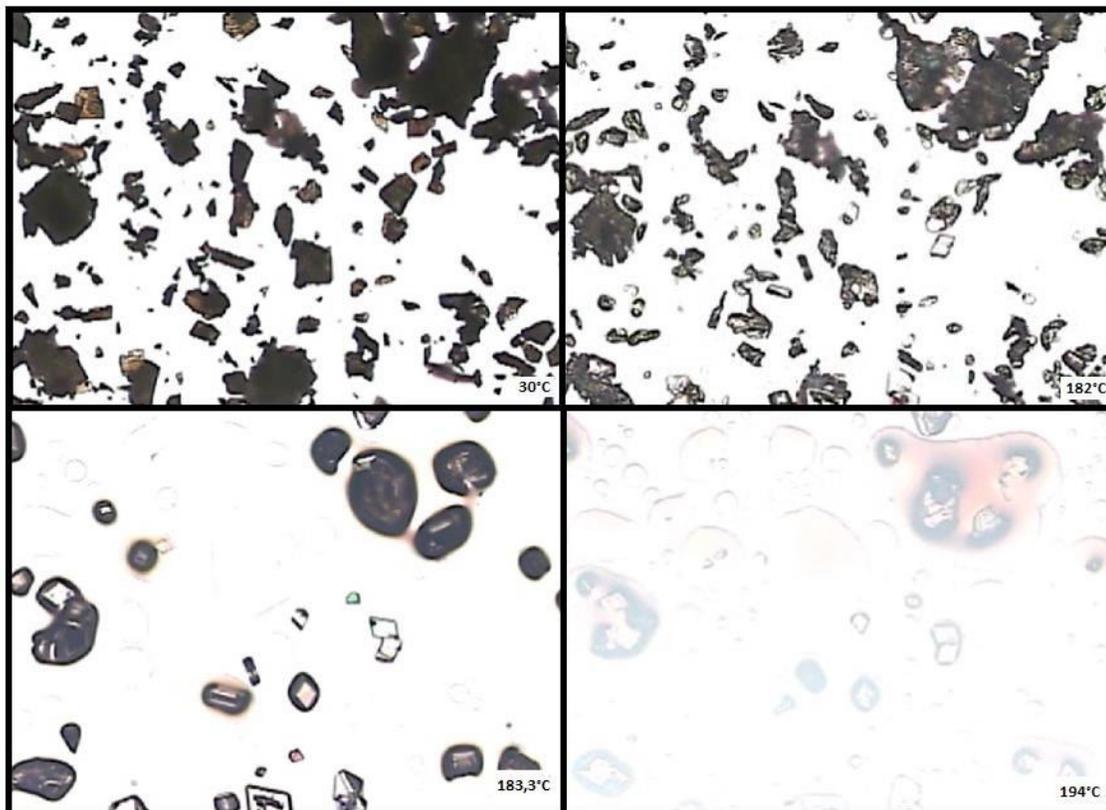


Figura 36. Análise termoóptica de olanzapina do fabricante C, em aumento de 100x, com razão de aquecimento de  $10\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ .

## 5.2.5 Espectroscopia no infravermelho

### 5.2.5.1 Espectroscopia no infravermelho médio

A Figura 37 apresenta os espectros de absorção para olanzapina dos fabricantes A, B e C.

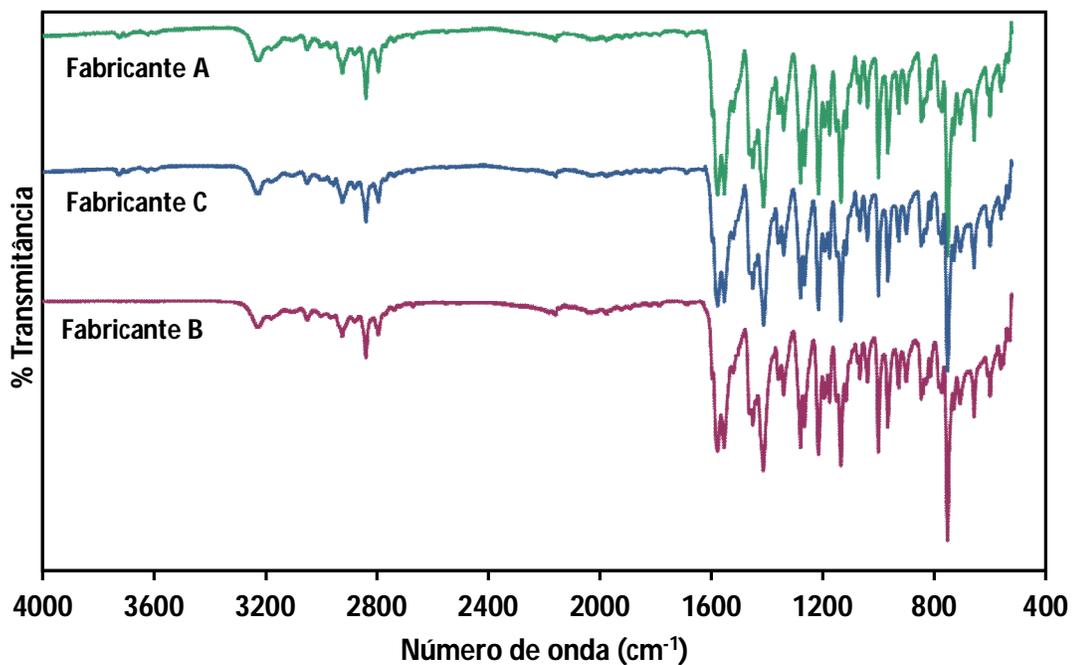


Figura 37. Espectro de absorção no infravermelho médio das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C de olanzapina.

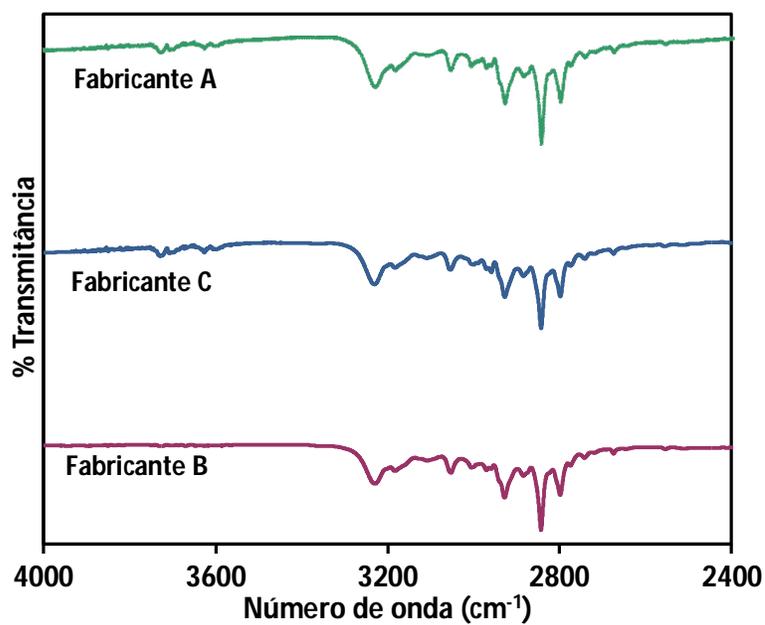


Figura 38. Espectro no infravermelho médio das amostras de olanzapina na região acima de 2400 cm<sup>-1</sup>.

Em regiões de números de ondas mais altos, entre  $3600$  a  $2400\text{ cm}^{-1}$ , pode-se observar a vibração de estiramento do grupo NH presente na molécula de olanzapina, através da presença de uma banda larga e intensa em  $3220\text{ cm}^{-1}$  (Figura 38).

Estudos realizados por Ayala e colaboradores (2006) demonstram a ocorrência de um deslocamento da banda de estiramento de NH para números de ondas maiores e uma redução na sua largura, de  $83\text{ cm}^{-1}$  (forma I) para  $53\text{ cm}^{-1}$  (forma II) quando os espectros de absorção de ambos os polimorfos são comparados. A redução da largura da banda para a forma II revela bandas entre  $3100$  e  $3200\text{ cm}^{-1}$ , que estavam sobrepostas pelo estiramento de NH na forma I (Figura 39).

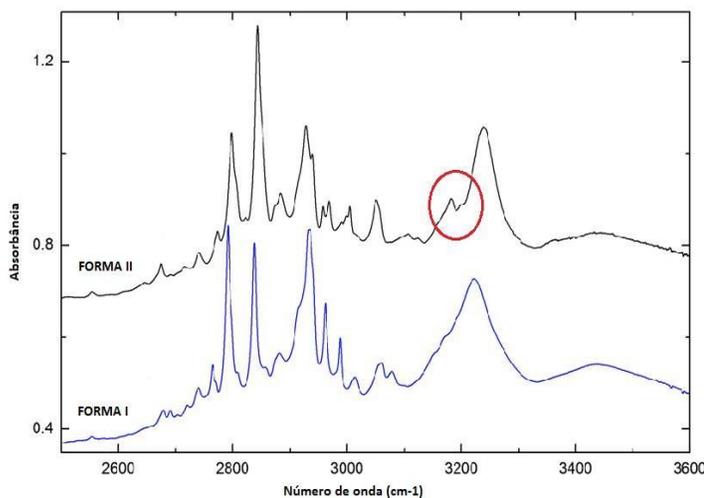


Figura 39. Espectro de infravermelho dos polimorfos de olanzapina acima de  $2500\text{ cm}^{-1}$  (Adaptado de AYALA *et al.*, 2006).

Os espectros de infravermelho das amostras de olanzapina nesta região são semelhantes ao apresentado por Ayala *et al.* (2006) para a forma II.

O alargamento da banda de estiramento de NH e seu deslocamento para número de ondas menores sugerem a participação deste grupamento em ligações de hidrogênio. Bandas mais largas deslocadas para números de ondas menores significam ligações de hidrogênio mais fortes (SILVERSTEIN, 2006). Por consequência, os espectros no infravermelho obtidos indicam ligações de hidrogênio mais fortes para a forma I em relação à forma II, confirmando a maior estabilidade da primeira e corroborando a teoria de um sistema monotrópico entre estes polimorfos (AYALA *et al.*, 2006; POLLA *et al.*, 2005).

Comparando-se os espectros de ambos os polimorfos na região de estiramento das ligações duplas (Figura 40), principalmente entre  $1500$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$ , o espectro de

infravermelho da forma II apresenta o aparecimento de uma nova banda em  $1601\text{ cm}^{-1}$  quando comparado ao espectro da forma I (AYALA *et al.*, 2006).

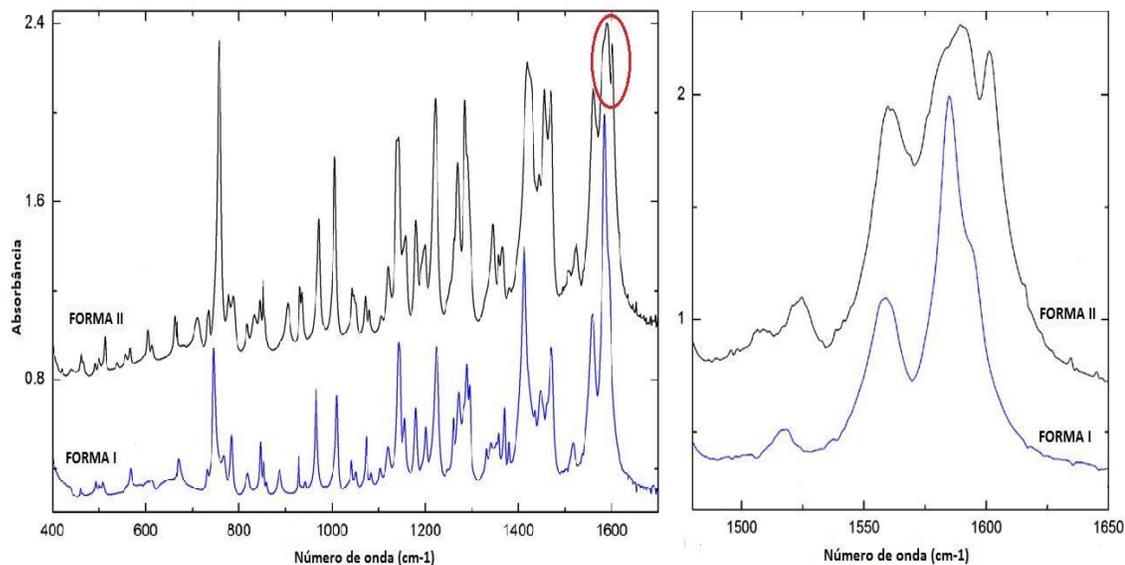


Figura 40. Espectros de infravermelho médio dos polimorfos de olanzapina na região entre  $400$  e  $1650\text{ cm}^{-1}$  (adaptado de AYALA *et al.*, 2006).

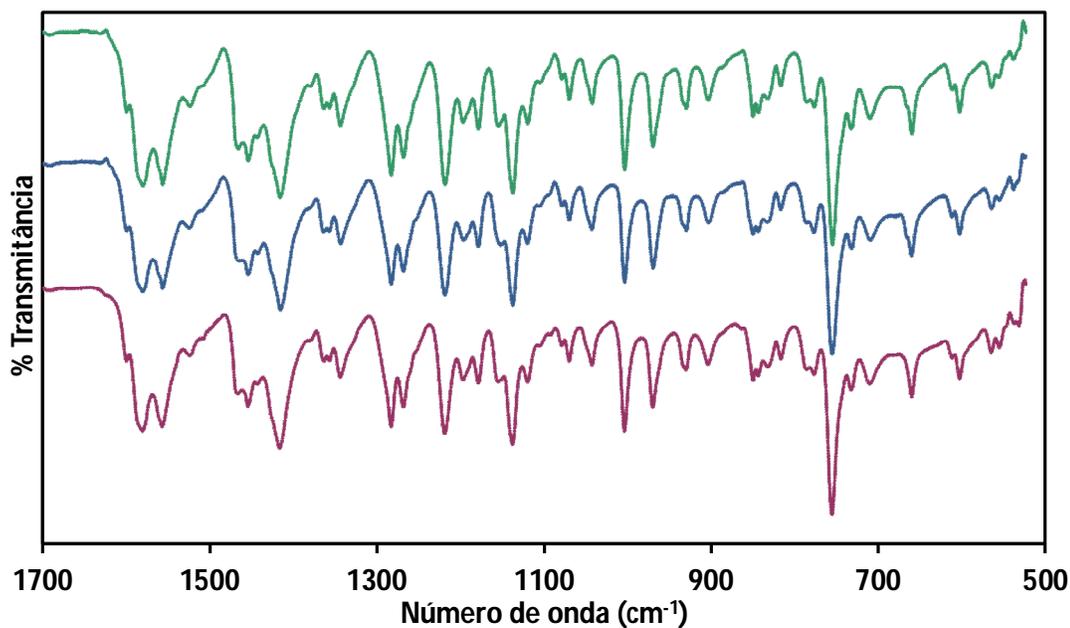


Figura 41. Espectro de infravermelho médio das amostras de olanzapina na região entre  $500$  e  $1700\text{ cm}^{-1}$ .

Nas amostras de olanzapina analisadas, essa banda aparece em  $1594\text{ cm}^{-1}$  (Figura 41). Assim, os resultados de espectroscopia no infravermelho indicam que os lotes de olanzapina dos fabricantes A, B e C consistem em uma mesma forma cristalina. Os espectros obtidos são semelhantes ao do polimorfo II, em concordância com os resultados obtidos para difração de raios X em pó.

#### 5.2.5.2 Espectroscopia no infravermelho próximo

A espectroscopia no infravermelho próximo tem sido utilizada como uma ferramenta útil no controle de inúmeros processos farmacêuticos, dentre eles na identificação e caracterização de polimorfos. Cada polimorfo geralmente apresenta um espectro característico nesta região relacionado às diferentes vibrações atômicas na molécula em função de seu ordenamento na estrutura cristalina, particularmente como resultado da presença de ligações de hidrogênio (BLANCO *et al.* 2000).

A Figura 42 apresenta os espectros de absorção no infravermelho próximo para a olanzapina dos fabricantes A, B e C. Não é possível observar diferenças nos espectros obtidos para as três amostras.

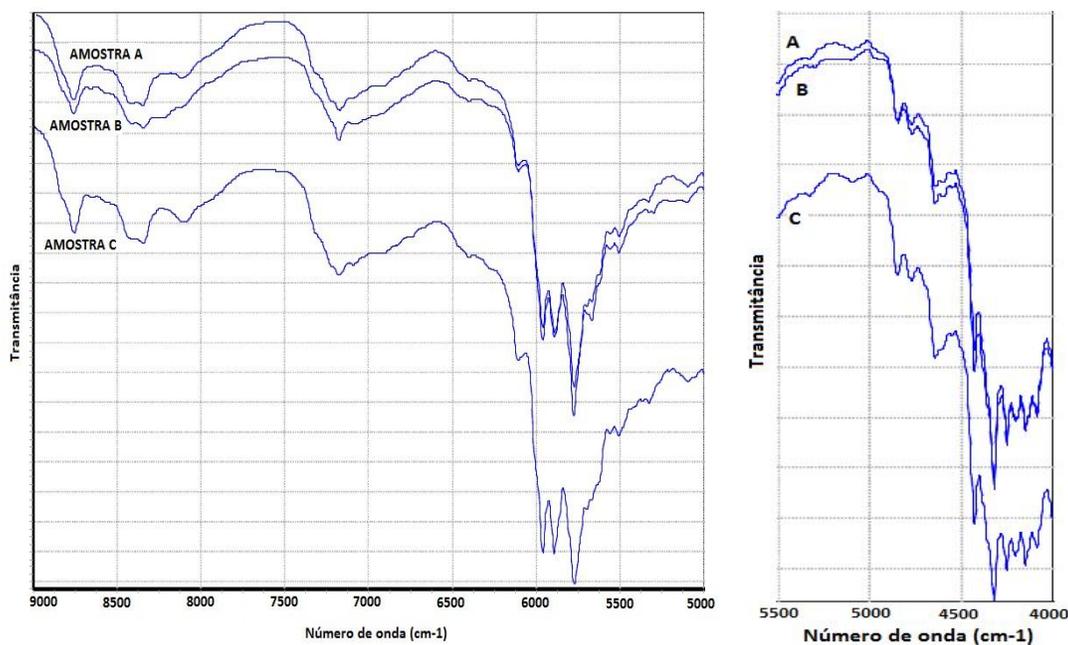


Figura 42. Espectro no infravermelho próximo para as amostras A, B e C de olanzapina.

Ayala e colaboradores (2006) descrevem que a ligação de hidrogênio também influencia o comportamento das bandas nos espectros de infravermelho próximo, sendo útil para distinguir entre os polímeros I e II do fármaco. De acordo com os autores, os modos vibracionais envolvidos com este tipo de interação se tornam mais harmônicos e, conseqüentemente, sua atividade no NIR é reduzida. Para a olanzapina, os modos de estiramento de C-H, que não participam da ligação de hidrogênio, apresentam bandas bem definidas nas regiões entre  $4000$  a  $4400\text{ cm}^{-1}$  e  $5700$  a  $8500\text{ cm}^{-1}$  (Figura 43).

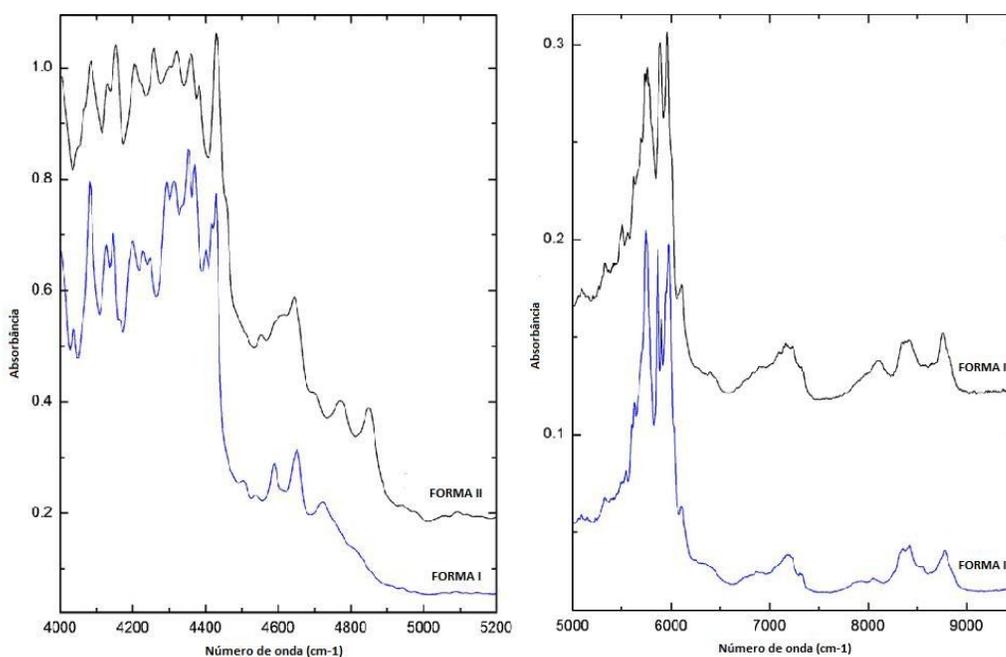


Figura 43. Espectros no infravermelho próximo dos polímeros de olanzapina (Adaptado de AYALA *et al.*, 2006)

A forte ligação de hidrogênio esperada para estrutura da forma I da olanzapina leva à redução na intensidade da banda de estiramento N-H em  $6300\text{ cm}^{-1}$ . O enfraquecimento desta ligação na estrutura do polímero II leva a um deslocamento da banda de estiramento N-H para maiores números de onda, que podem estar associados com mudanças na região do espectro em  $4750\text{ cm}^{-1}$  (AYALA *et al.*, 2006)

Os espectros obtidos para as três amostras de olanzapina avaliadas correlacionam-se com os padrões descritos para o polímero II da olanzapina por Ayala e colaboradores (2006).

5.2.6 Difração de raios X

A Figura 44 apresenta os padrões de difração de raios X em pó obtidos para as amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C. Os resultados foram comparados aos padrões de difração calculados para os polimorfos I e II do fármaco.

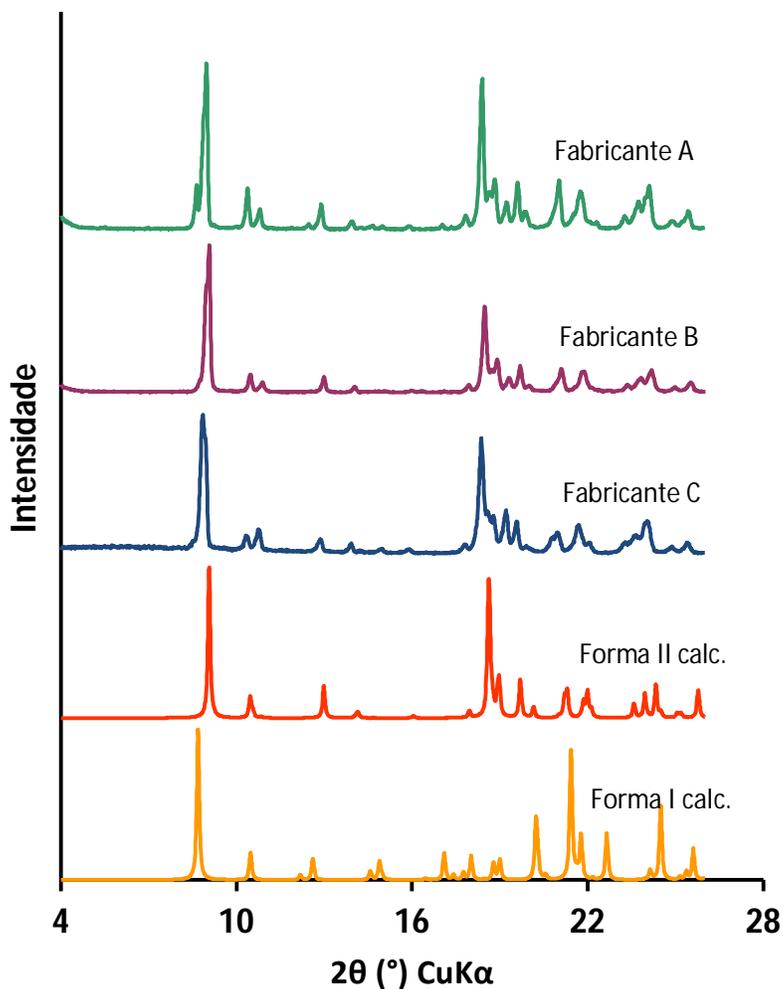


Figura 44. Padrões de difração de raios X das amostras de olanzapina.

Os três lotes analisados apresentaram picos intensos, bem definidos, indicando sua natureza cristalina. Adicionalmente, os padrões apresentam grande correlação entre si e com o padrão calculado para a forma II. Segundo Tiwari e colaboradores (2007), os picos característicos para o polimorfo II da olanzapina estão em  $2\theta$  iguais a  $8,79^\circ$ ;  $10,91^\circ$ ;  $12,99^\circ$ ;  $14,01^\circ$ ;  $18,48^\circ$  e  $19,38^\circ$ . Esses picos podem ser identificados nas amostras A, B e C (Figura 45, Figura 46 e Figura 47, respectivamente). Apesar de as reflexões próximas a  $10,8^\circ$

e  $19,2^\circ$  de  $2\theta$  obtidas para todas as amostras não coincidirem com o padrão cristalográfico calculado para a forma II, estes picos estão bem descritos na literatura como característicos desta fase cristalina (POLLA *et al.*, 2005; TIWARI *et al.*, 2007).

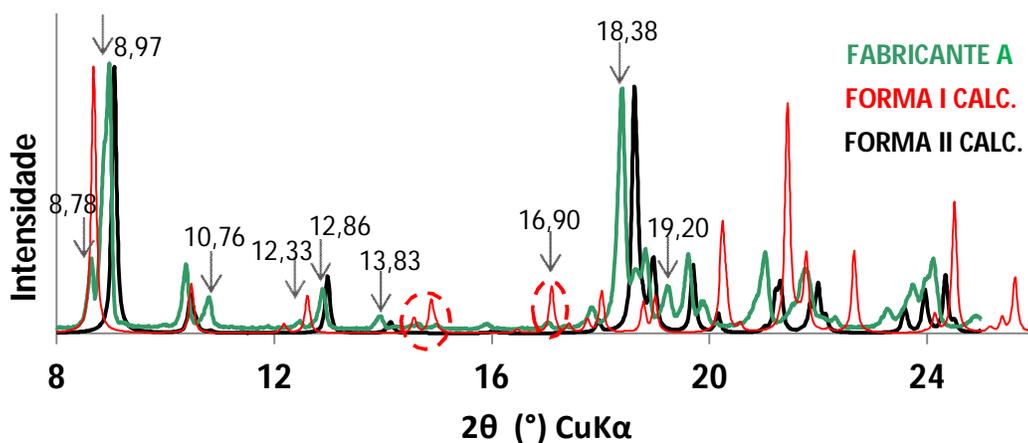


Figura 45. Resultado de DRXP da amostra do fabricante B comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina

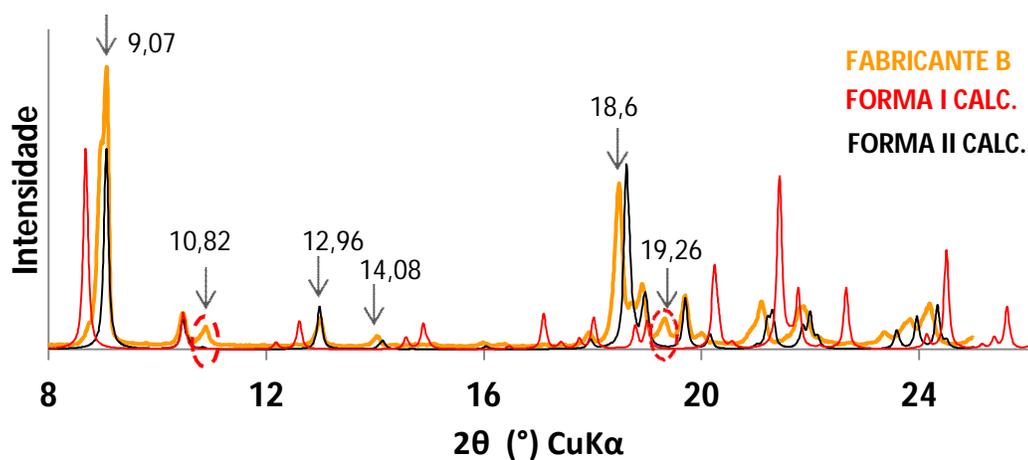


Figura 46. Resultado de DRXP da amostra do fabricante B comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina.

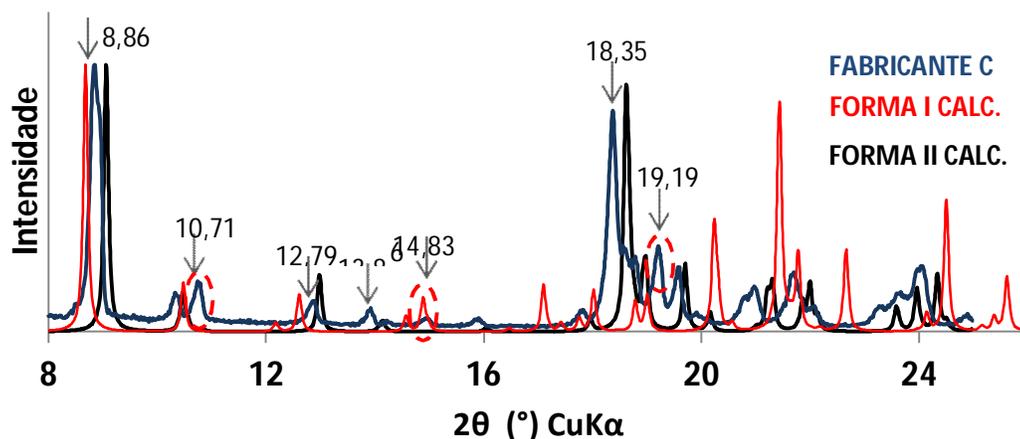


Figura 47. Resultado de DRXP da amostra do fabricante C comparado aos padrões de difração calculados para as forma I e II de olanzapina.

Pela análise dos padrões de difração das três amostras, é possível visualizar um alargamento do pico mais intenso na posição de 9,0°. Especificamente para a amostra A, o padrão de difração também apresenta reflexões em 8,78°, 12,33° e 16,9° não esperadas para a forma II. A amostra C possui um pico em 14,83°, não relacionado à forma II.

Polla e colaboradores (2005) descreveram, em seu estudo, reflexões características para a forma I em 8,6°; 12,4°; 14,4° e 16,9° (Figura 48). Algumas destas reflexões podem ser correlacionadas aos resultados obtidos para as amostras avaliadas, principalmente com relação à presença de um “ombro” no pico de maior intensidade.

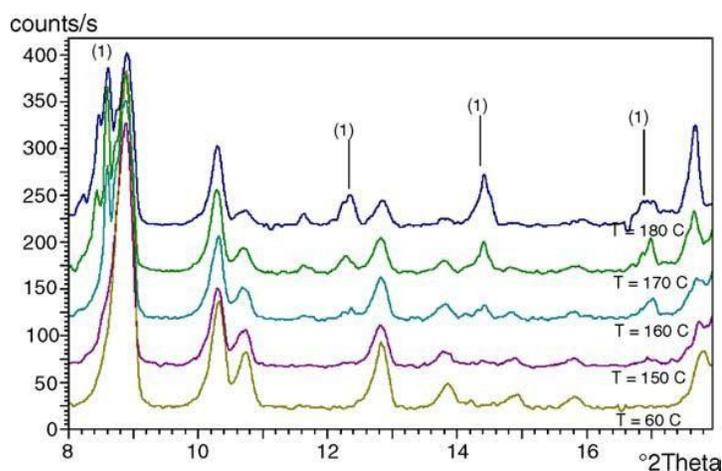


Figura 48. Padrões de difração da forma II em função de temperatura. As reflexões características da forma I são indicadas como (1) (POLLA *et al.*, 2005).

Associando as informações obtidas pelas análises térmicas aos resultados dos espectros de difração de raios X, é possível concluir que as amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C consistem de misturas de fases cristalinas, mais especificamente dos polimorfos I e II.

De acordo com relatos da literatura, a forma I pode ser obtida diretamente da cristalização a partir de solventes orgânicos secos (como acetona e tolueno). As duas outras formas anidras descritas para a olanzapina (polimorfos II e III) são dessolvatos, obtidos unicamente pelo processo de dessolvatação de solvatos de metanol, diclorometano e triclorometano. Condições drásticas requeridas para dessolvatação de solvatos de metanol, por exemplo, frequentemente resultam em material contaminado com as três formas cristalinas. Misturas das formas II e III foram obtidas a partir da dessolvatação, em condições moderadas, de solvatos de dicloro e triclorometano, mas nenhuma das duas formas foi isolada separadamente (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003). Estudos de cristalização realizados por Cavallari e col. (2013), reproduzindo as condições descritas por REUTZEL-EDENS e colaboradores (2003), falharam em obter uma forma III anidra. Os autores, em todas as condições testadas, obtiveram solvatos da forma III, caracterizados pela presença de endotermas de dessolvatação na curva de DSC e perda de massa em temperaturas iguais a 160°C na análise de TG.

Considerando as limitadas referências na literatura com relação a informações sobre a caracterização do polimorfo III, não foi possível concluir se este está presente nas amostras de olanzapina avaliadas. No entanto, nenhuma das técnicas utilizadas em associação com o DRXP (DSC, TG, TOA) apresentou evidências da presença de uma terceira fase cristalina nos lotes A, B e C.

#### 5.2.7 Molhabilidade

Os resultados de molhabilidade em água para os três fabricantes de olanzapina são apresentados na Figura 49 e as médias dos ângulos de contato determinados estão na Tabela 15.

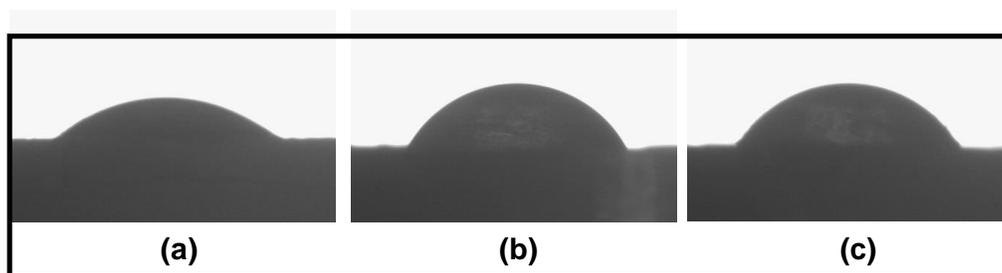


Figura 49. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em água.

Tabela 15. Valores de ângulos de contato em água obtidos para os lotes de olanzapina (n = 3).

<b>Ângulo de contato (média ± desvio padrão)</b>	
<b>Fabricante A</b>	43,1° ± 1,4°
<b>Fabricante B</b>	63,4° ± 1,9°
<b>Fabricante C</b>	63,6° ± 1,9°

No caso dos três lotes de olanzapina avaliados, a amostra do fabricante A apresentou menor ângulo de contato entre o líquido e a amostra, indicando maior molhabilidade em água em relação aos lotes dos fabricantes B e C. Estes últimos apresentaram valores de ângulo de contato muito semelhantes entre si.

A molhabilidade é um importante mecanismo que contribui para a velocidade de dissolução de fármacos. Este parâmetro é mais crítico no caso de fármacos de classificação biofarmacêutica II. Nestes casos, a escolha do meio de dissolução tem influência direta nos resultados obtidos (PURI *et al.*, 2010). Assim, as amostras de olanzapina foram avaliadas quanto à sua molhabilidade em meios de dissolução com pH de 1,2 a 6,8, de acordo com os estudos de dissolução por dispersão realizados e descritos posteriormente.

Os resultados de molhabilidade das amostras de olanzapina nos meios HCL 0,1N, tampão acetato de sódio pH 4,5 com 0,5% de laurilsulfato de sódio e tampão fosfato de sódio pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio são apresentados na Figura 50, Figura 52 e Figura 54 e os valores dos respectivos ângulos de contato são descritos na Tabela 16.

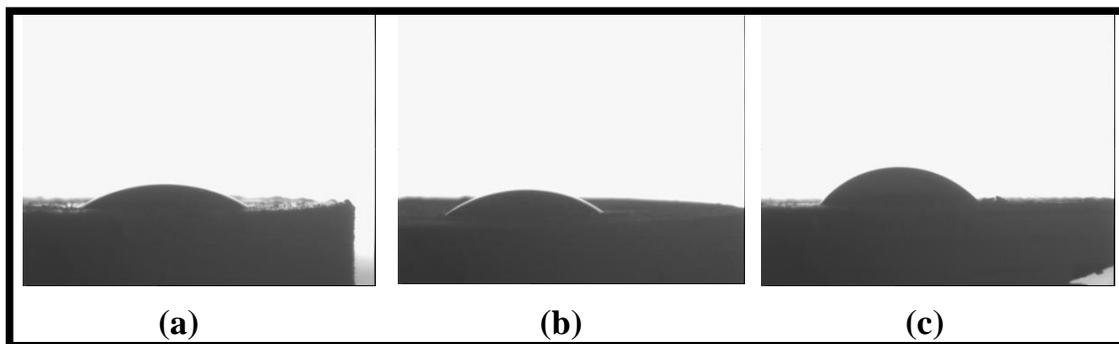


Figura 51. Figura 45. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em HCL 0,1N.

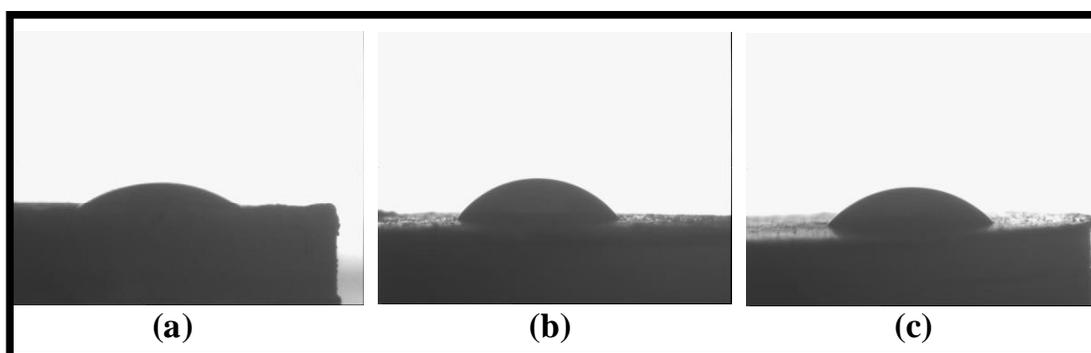


Figura 52. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em tampão acetato pH 4,5 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.

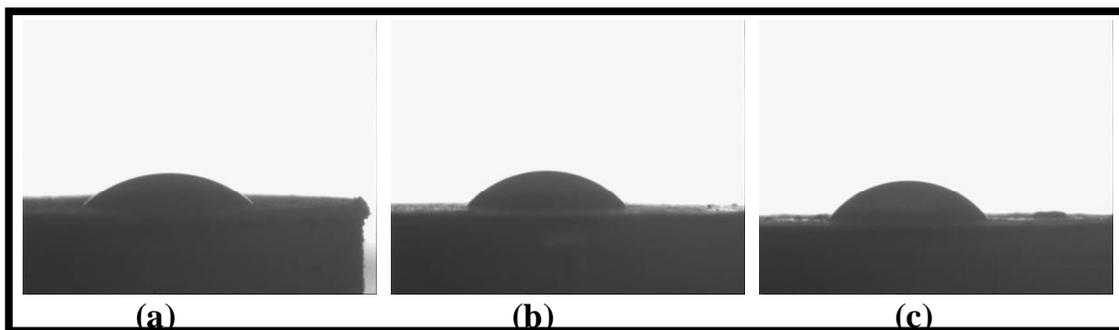


Figura 53. Ângulo de contato para os lotes de olanzapina dos fabricantes A (a), B (b) e C (c) em tampão fosfato pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.

Tabela 16. Valores de ângulos de contato em diferentes meios obtidos para os lotes de olanzapina (n = 3).

<b>Ângulo de contato (média ± desvio padrão)</b>			
<b>Meio</b>	<b>HCL 0,1N</b>	<b>Tampão acetato pH 4,5 + 0,5% de laurilsulfato de sódio</b>	<b>Tampão fosfato pH 6,8 + 0,5% de laurilsulfato de sódio</b>
<b>Fabricante A</b>	4,89 ± 0,91	4,19 ± 0,99	3,69 ± 1,57
<b>Fabricante B</b>	3,22 ± 0,94	5,20 ± 1,02	5,11 ± 1,21
<b>Fabricante C</b>	5,39 ± 0,66	6,20 ± 1,11	5,72 ± 1,09

De acordo com os resultados apresentados na Tabela 16, os ângulos de contato nos meios testados foram muito menores quando comparados aos obtidos em água, indicando uma maior molhabilidade dos insumos destes meios. Em água, a amostra do fabricante A apresentou maior resultado de molhabilidade em relação aos outros dois lotes. Em HCL 0,1N e nos meios tamponados, no entanto, não foi possível observar diferenças significativas entre os ângulos de contato obtidos para as três amostras.

Valores de ângulo de contato em superfícies sólidas não são apenas influenciados por propriedades físicas e químicas dos líquidos, mas também por inúmeros parâmetros relacionados ao sólido como propriedades de superfície e químicas, orientação molecular, etc (LAZGHAB *et al.*, 2005). Estudos realizados por Muster & Prestidge (2002) também comprovaram a influência de parâmetros relacionados a umidade, cristalinidade, tamanho e forma das partículas e homogeneidade da superfície dos discos.

Desta forma, devido ao grande número de fatores que podem interferir nos resultados obtidos, somados às diferenças nas características das amostras de olanzapina avaliadas (tamanho e forma das partículas, composição de fase cristalina), não foi possível estabelecer uma correlação direta entre as características de qualidade das amostras e os ângulos de contato obtidos.

#### 5.2.8 Solubilidade

Se a solubilidade e/ou dissolução do fármaco é dependente de sua forma sólida, a biodisponibilidade pode ser afetada. Na verdade, Snider e colaboradores (2004) definem a

solubilidade de equilíbrio como a propriedade mais crítica de uma substância, relacionada à biodisponibilidade. A solubilidade de equilíbrio é a concentração de fármaco dissolvido quando há equilíbrio entre o sólido e a solução. Apesar de a dissolução ser adequada para a avaliação de uma forma farmacêutica, este parâmetro é influenciado pelo tamanho de partícula e molhabilidade da substância. A solubilidade de equilíbrio, no entanto, é mais confiável para avaliação do impacto de polimorfos e estrutura cristalina no comportamento das substâncias (SNIDER *et al.*, 2004). Estes estudos são particularmente importantes no desenvolvimento de medicamentos a partir de fármacos pouco solúveis, onde a dissolução é o fator limitante para a absorção *in vivo* (AALTONEN *et al.*, 2009).

Na Tabela 17, Tabela 18 e Tabela 19 são apresentados os resultados de solubilidade em equilíbrio, utilizando o método de *shake flask*, para os três lotes de olanzapina, em diferentes meios de dissolução. Os resultados demonstram que, no período avaliado de 48 horas, foi possível obter o equilíbrio da solubilidade, com as concentrações dissolvidas mantendo-se constantes por todo o estudo.

Tabela 17. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em HCL 0,1N.

Solubilidade HCL 0,1N pH 1,2 (mg/mL)												
Replicatas	Fabricante A				Fabricante B				Fabricante C			
	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h
<b>1</b>	22,50	21,41	21,81	21,64	21,26	21,49	21,24	21,21	21,89	21,55	21,36	21,40
<b>2</b>	23,42	21,62	21,91	21,68	21,14	21,59	21,33	21,24	21,98	21,60	21,56	21,49
<b>3</b>	21,33	21,23	21,65	21,84	20,91	21,69	21,11	21,27	22,02	21,59	21,52	21,59
<b>Média</b>	<b>22,42</b>	<b>21,42</b>	<b>21,79</b>	<b>21,72</b>	<b>21,10</b>	<b>21,59</b>	<b>21,23</b>	<b>21,24</b>	<b>21,96</b>	<b>21,58</b>	<b>21,48</b>	<b>21,49</b>
<b>DPR (%)</b>	4,67	0,91	0,59	0,48	0,84	0,46	0,51	0,14	0,32	0,12	0,49	0,44

Tabela 18. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em tampão pH 4,5.

Solubilidade tampão acetato pH 4,5 (mg/mL)												
Replicatas	Fabricante A				Fabricante B				Fabricante C			
	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h
<b>1</b>	5,65	6,01	5,76	5,83	5,18	4,74	4,64	4,66	5,10	5,09	5,12	5,08
<b>2</b>	5,65	5,80	5,77	5,83	5,24	4,72	4,70	4,70	5,11	5,10	5,11	5,09
<b>3</b>	5,63	6,07	5,73	5,89	5,14	4,69	4,69	4,72	5,15	5,06	5,11	5,14
<b>Média</b>	<b>6,65</b>	<b>5,96</b>	<b>5,75</b>	<b>5,85</b>	<b>5,18</b>	<b>4,72</b>	<b>4,68</b>	<b>4,69</b>	<b>5,12</b>	<b>5,08</b>	<b>5,11</b>	<b>5,10</b>
<b>DRP (%)</b>	0,17	2,37	0,43	0,56	0,92	0,60	0,71	0,70	0,61	0,37	0,05	0,60

Tabela 19. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em tampão pH 6,8.

Solubilidade tampão fosfato pH 6,8 (mg/mL)												
Replicatas	Fabricante A				Fabricante B				Fabricante C			
	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h	1h	6h	24h	48h
<b>1</b>	0,44	0,43	0,43	0,43	0,23	0,22	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,20
<b>2</b>	0,45	0,44	0,43	0,44	0,23	0,22	0,22	0,22	0,21	0,21	0,21	0,21
<b>3</b>	0,44	0,44	0,43	0,44	0,23	0,22	0,22	0,23	0,21	0,21	0,21	0,20
<b>Média</b>	<b>0,45</b>	<b>0,44</b>	<b>0,43</b>	<b>0,44</b>	<b>0,23</b>	<b>0,22</b>	<b>0,22</b>	<b>0,22</b>	<b>0,21</b>	<b>0,21</b>	<b>0,21</b>	<b>0,20</b>
<b>DPR (%)</b>	1,67	1,31	0,00	1,37	0,21	0,05	0,82	1,55	0,64	0,50	0,08	1,30

Paralelamente, soluções estoque de concentração conhecida (0,1 mg/mL) de cada um dos lotes de olanzapina foram submetidas às mesmas condições experimentais das amostras, a fim de avaliar a estabilidade do fármaco no meio proposto. Os resultados de doseamento, para os tempos de 24 horas e 48 horas, são apresentados nas Tabela 20, Tabela 21 e Tabela 22. Através da análise das tabelas, é possível observar que as amostras dos fabricantes A e C mantêm-se estáveis durante todo o período do estudo. O lote do fabricante B, no entanto, foi o

que apresentou maior queda de teor em relação aos valores iniciais, com redução de 6% e 5% de olanzapina nos meios HCL 0,1N e tampão acetato pH 4,5, respectivamente.

Tabela 20. Estabilidade em solução de olanzapina em HCL 0,1N.

Estabilidade HCL 0,1N (%)									
	Fabricante A			Fabricante B			Fabricante C		
	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
<b>Média</b>	<b>99,09</b>	<b>98,84</b>	<b>99,27</b>	<b>100,83</b>	<b>95,93</b>	<b>94,83</b>	<b>99,86</b>	<b>97,20</b>	<b>100,19</b>
<b>DPR (%)</b>	0,32	0,09	0,14	0,24	0,06	0,49	0,16	0,51	1,10

Tabela 21. Estabilidade em solução de olanzapina em tampão pH 4,5.

Estabilidade pH 4,5 (%)									
	Fabricante A			Fabricante B			Fabricante C		
	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
<b>Média</b>	<b>97,74</b>	<b>95,71</b>	<b>94,04</b>	<b>99,60</b>	<b>97,68</b>	<b>94,59</b>	<b>100,36</b>	<b>98,77</b>	<b>98,17</b>
<b>DPR (%)</b>	0,23	0,07	0,32	0,57	0,32	0,49	0,18	0,45	0,60

Tabela 22. Estabilidade em solução de olanzapina em tampão pH 6,8.

Estabilidade pH 6,8 (%)									
	Fabricante A			Fabricante B			Fabricante C		
	0h	24h	48h	0h	24h	48h	0h	24h	48h
<b>Média</b>	<b>106,82</b>	<b>106,05</b>	<b>107,10</b>	<b>103,83</b>	<b>102,93</b>	<b>103,69</b>	<b>99,79</b>	<b>99,47</b>	<b>98,39</b>
<b>DPR (%)</b>	0,82	0,34	0,28	0,21	0,17	0,15	0,45	0,20	0,13

A olanzapina é uma base fraca, que apresenta valores de  $pK_a$  iguais a 4,69 e 7,37 (KRISHNAIAH *et al.*, 2011). O fármaco é insolúvel em água, mas solúvel em meio ácido e em solventes como álcoois (RÊGO *et al.*, 2010). Em função dos resultados obtidos, é possível observar que a olanzapina apresenta solubilidade dependente de pH: há redução das

concentrações solubilizadas com incremento do valor de pH do meio de dissolução (Figura 55). Como esperado, por se tratar de uma base fraca, o fármaco apresentou, para os três lotes avaliados, resultados de solubilidade maiores em meio ácido, com concentrações aproximadamente 100 vezes maiores em HCL 0,1N do que os valores obtidos em pH igual a 6,8. Em meios mais ácidos (semelhantes ao pH gástrico), não foi possível observar diferenças significativas entre as solubilidades obtidas para os três fabricantes. No entanto, em tampão fosfato com pH igual a 6,8 (semelhante ao pH intestinal), observou-se uma solubilidade maior para a matéria-prima do fabricante A em relação aos lotes dos outros dois fabricantes. De acordo com Dressman e colaboradores (2007), o estômago, apesar de não ser o principal ponto para absorção, é o primeiro local de liberação do fármaco a partir de medicamentos administrados por via oral. Para compostos como a olanzapina, em que a solubilidade é maior no estômago do que em qualquer outro ponto do trato gastrointestinal, a solubilidade dependente do pH pode resultar em uma supersaturação conforme o fármaco é levado do estômago para a região intestinal. O resultado seria a precipitação do fármaco, reduzindo sua absorção na porção intestinal. No entanto, como os próprios autores descrevem, o processo de precipitação poderia ser contornado pela presença de componentes da bile no intestino delgado. Assim, estudos adicionais utilizando meios de dissolução biorrelevantes poderiam fornecer maiores informações com relação ao impacto dos resultados obtidos na biodisponibilidade oral do medicamento em questão.

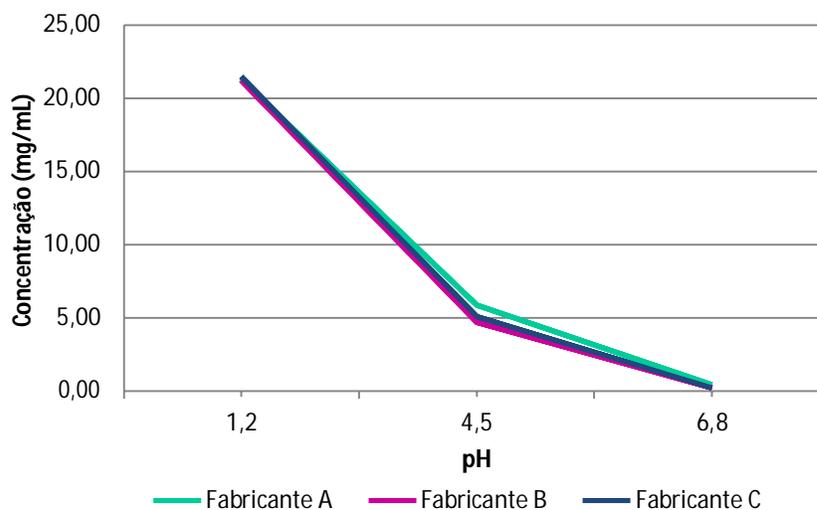


Figura 55. Perfil de solubilidade das amostras de olanzapina em função do pH.

Estudos de solubilidade termodinâmica foram realizados por Peres-Filho (2010) para olanzapina, em diferentes meios de dissolução. Os resultados de solubilidade obtidos pelo autor, após 48 horas de teste, em HCL 0,1N, tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8 estão resumidos na Tabela 23. Para o meio com pH 4,5, o autor descreve que foi necessário manter o estudo por mais 24 horas (totalizando 72 horas) para atingir o equilíbrio de solubilidade, obtendo uma concentração de saturação de 5,194 mg/mL no referido meio. É possível observar (Tabela 23) que os resultados obtidos para os lotes de olanzapina A, B e C avaliados correlacionam-se fortemente com os valores obtidos por Peres-filho (2010).

Alsenz e Kansy (2007) afirmam que resultados de solubilidade termodinâmica não são números absolutos e são dependentes de uma série de fatores, não apenas relacionados à matéria-prima em análise (fase sólida, tamanho de partícula, molhabilidade) como também à metodologia utilizada. Condições experimentais diferentes com relação à temperatura de incubação, composição do meio, tempo de estudo, velocidade de agitação e técnica de separação do fármaco solubilizado (centrifugação, sedimentação, filtração) podem conduzir a diferenças significativas nos resultados de solubilidade de equilíbrio encontrados (BAKA *et al.*, 2008). Uma revisão publicada por MOTA e colaboradores (2009) descreve diferenças de 9 a 145% entre resultados de solubilidade obtidos para um mesmo fármaco por diferentes autores, ressaltando a importância da padronização da metodologia aplicada. Confrontando-se as condições experimentais utilizadas com as descritas por Peres-Filho (2010), foram encontradas diferenças, principalmente, nos métodos de separação e quantificação da fração dissolvida. Parâmetros como a composição dos meios e temperatura de incubação foram similares entre os dois estudos.

Tabela 23. Resultados de solubilidade em equilíbrio de olanzapina em 6 horas comparados com a literatura.

<b>Solubilidade em equilíbrio (mg/mL ± DPR %)</b>				
	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>	<b>Peres-Filho (2010)</b>
<b>HCL 0,1N</b>	21,42 ± 0,20	21,59 ± 0,10	21,58 ± 0,03	20,62 ± 0,46
<b>Tampão pH 4,5</b>	5,96 ± 0,14	4,72 ± 0,03	5,08 ± 0,02	5,19 ± 0,80
<b>Tampão pH 6,8</b>	0,44 ± 0,01	0,22 ± 0,00	0,21 ± 0,00	0,22 ± 0,06

Uma vez definida a solubilidade intrínseca, pode-se calcular a razão Dose-Solubilidade do fármaco (HÖRTER & DRESSMAN, 2001). Os resultados calculados para as amostras de olanzapina em função da maior dose diária administrada do fármaco, equivalente a 20 mg ao dia, estão resumidos na Tabela 24.

Tabela 24. Razão dose/solubilidade calculada para as amostras de olanzapina em função da solubilidade em equilíbrio, considerando uma dose máxima diária de 20 mg.

<b>Razão Dose/Solubilidade (mL)</b>			
	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>HCL 0,1N</b>	0,93	0,93	0,93
<b>Tampão pH 4,5</b>	3,35	4,23	3,94
<b>Tampão pH 6,8</b>	45,45	90,90	95,24

Quando a razão calculada é superior a 250 mL há a indicação de que a solubilidade pode ser problemática no local do trato gastrointestinal com pH correspondente. Nos casos em que a razão obtida é menor que 250 mL nos meios de dissolução de interesse, conforme obtido para as amostras de olanzapina (Tabela 24), pode-se pressupor que a dissolução não será limitante para a absorção do fármaco. Relações Dose/solubilidade entre 250 e 1000 mL devem ser avaliadas, adicionalmente, em meios biorrelevantes. Para fármacos com razões superiores a 1000 mL, os problemas de solubilidade devem ser contornados com o uso de estratégias tecnológicas como micronização, complexação com ciclodextrinas, dispersões sólidas ou modificações químicas como a formação de sais.

Outro fator importante a ser avaliado durante estudos de solubilidade em equilíbrio está relacionado à transição de fase cristalina em suspensão. Durante as medidas de solubilidade, um composto pode transformar-se em um polimorfo mais estável. Assim, é especialmente importante isolar o sólido em suspensão para garantir que a mesma forma do composto inicialmente utilizada esteja presente no final do estudo (AVDEEF, 2007).

As Figura 56 e Figura 57 apresentam as curvas de DSC obtidas para amostras dos lotes A, B e C coletadas após 48 horas de estudo de solubilidade em HCL 0,1N e tampão fosfato pH 6,8. Através da análise dos resultados, é possível observar um perfil térmico diferente para estas amostras em relação às curvas de DSC das amostras em seu estado original.

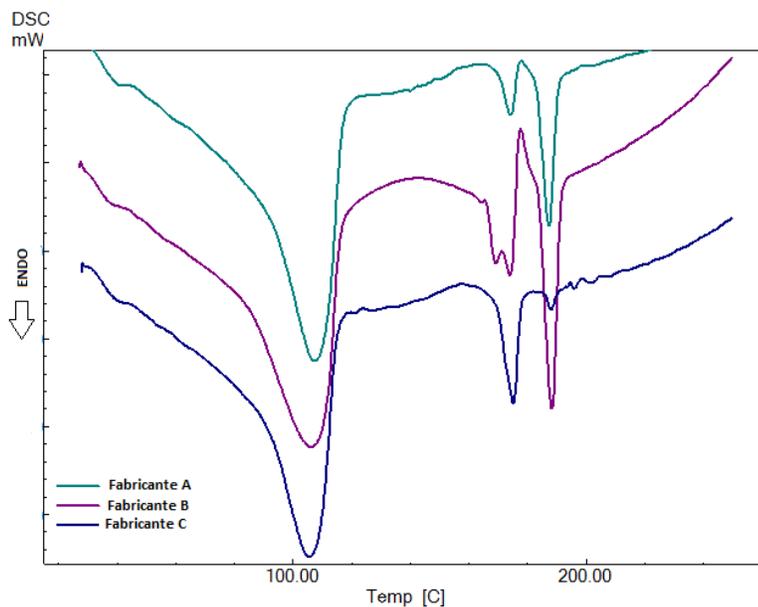


Figura 56. Curva de DSC das amostras de olanzapina após 48 horas de estudo de solubilidade em equilíbrio em HCL 0,1N.

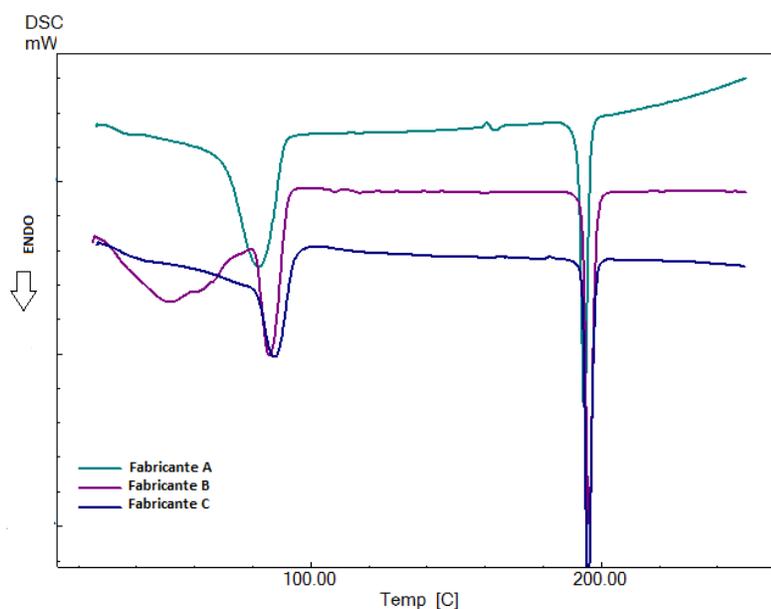


Figura 57. Curva de DSC das amostras de olanzapina após 48 horas de estudo de solubilidade em equilíbrio em tampão fosfato pH 6,8.

Em ambas as condições, todas as amostras apresentaram uma endoterma em temperaturas próximas a 100°C, coerentes com as curvas de DSC apresentadas para formas hidratadas da olanzapina (CAVALLARI *et al.*, 2013). Apesar de a forma I ser a mais estável quando em solventes orgânicos, em água a ordem de estabilidade das formas cristalinas da

olanzapina inverte-se, com a forma I sendo menos estável do que as formas hidratadas. Reutzel-Edens e col. (2003) relatam que os cristais da forma I são convertidos, em poucas horas, para o diidrato B (menos solúvel) e, em alguns dias, a forma diidratada D (mais estável, porém menos solúvel). Estes resultados confirmam que as diferenças nos valores absolutos de solubilidade e dissolução para cada uma das formas anidras e hidratadas da olanzapina não pode ser determinada devido à rápida transformação de fase que ocorre quando o fármaco está suspensão. Assim, as diferenças nos valores de solubilidade e dissolução, quando observadas, não podem ser atribuídas a diferenças na cristalinidade das amostras e estão relacionadas a outros fatores.

Considerando-se os resultados de solubilidade e estabilidade nos meios avaliados, é possível concluir que a metodologia utilizada mostrou-se adequada para o estabelecimento e determinação da solubilidade em equilíbrio para diferentes lotes do insumo farmacêutico olanzapina. As concentrações de fármacos solubilizados mantiveram-se constantes durante todo o período avaliado, indicando que o equilíbrio é atingido já na primeira hora de estudo. Não há diferenças significativas nos resultados obtidos após a agitação por 6 horas ou mais. Este fato sugere que um tempo de 48 horas de agitação não é necessário para determinação da solubilidade da olanzapina e tempos de incubação menores podem ser considerados a fim de reduzir significativamente o tempo total de aplicação desta metodologia. Estes resultados são coerentes com os parâmetros definidos por Baka e colaboradores (2008) no desenvolvimento de um protocolo para determinações de solubilidade em equilíbrio pelo método de *shake flask*, utilizando a hidroclorotiazida como modelo. Os autores propõem a redução no período de agitação de 48 para 6 horas como método geral para início dos estudos. No entanto, ressaltam a importância de se avaliar caso a caso os parâmetros a serem definidos no desenvolvimento do método.

### 5.2.9 Dissolução

#### 5.2.9.1 Dissolução por dispersão

A Tabela 25 apresenta os valores médios percentuais dissolvidos e respectivos das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C no ensaio de dissolução por dispersão em

HCL 0,1N. Os perfis de dissolução obtidos em função do tempo são apresentados na Figura 58. Devido à alta solubilidade da olanzapina no meio estudado, não foi possível observar diferenças significativas nos resultados obtidos para os três fabricantes, que apresentaram perfis de dissolução praticamente sobrepostos e dissolução completa já nos primeiros três minutos de ensaio. Estes resultados são condizentes com dados de solubilidade em equilíbrio obtidos, indicando que a alta solubilidade dos três lotes em meio ácido minimiza o impacto que as diferenças na distribuição granulométrica, molhabilidade e cristalinidade encontradas poderiam ter sobre a dissolução destes insumos.

Tabela 25. Resultados de dissolução por dispersão em HCL 0,1N das amostras A, B e C de olanzapina.

Média da quantidade dissolvida (%) (n=6)						
Tempo (minutos)	Fabricante A		Fabricante B		Fabricante C	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR
3	100,97	0,72	101,92	0,56	100,04	3,33
5	100,99	0,77	102,04	0,38	101,94	1,29
7	101,07	0,67	102,76	0,40	101,84	0,91
10	100,68	0,57	102,29	0,91	101,16	0,08

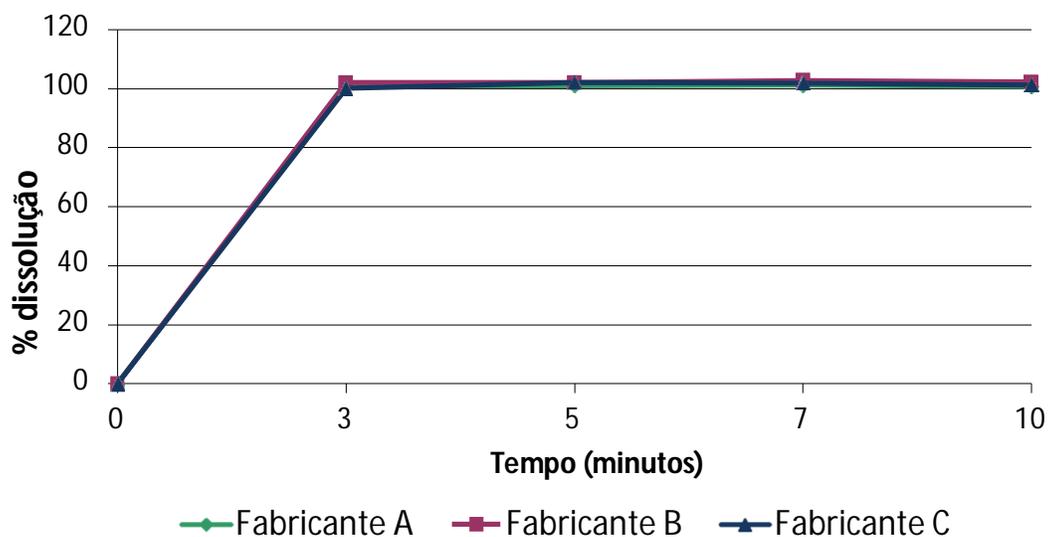


Figura 58. Perfil de dissolução por dispersão das amostras de olanzapina dos fabricantes A, B e C em HCL 0,1N.

Além da dissolução em meio ácido, foram realizados ensaios utilizando soluções tampão com pH igual a 4,5 e 6,8 como meios, a fim de avaliar o comportamento dos lotes em diferentes faixas de pH.

Os resultados dos percentuais dissolvidos médios para as amostras dos fabricantes A, B e C em tampão fosfato de potássio pH 6,8 são apresentados na Tabela 26. Durante a realização do ensaio, foi possível observar uma dificuldade na dispersão das amostras no meio de dissolução, principalmente para os insumos dos fabricantes B e C. Quando transferidas para a cuba com meio de dissolução aquecido, as amostras de pós permaneciam como um sobrenadante na superfície do meio de dissolução, não dispersas. Este comportamento refletiu nos elevados valores de desvio padrão encontrados para as alíquotas quantificadas durante a análise (Tabela 26). Adicionalmente, após 60 minutos de teste, foi possível obter apenas, aproximadamente, 50% de dissolução das amostras B e C em relação à massa inicialmente pesada, em comparação a 90% da massa da amostra A dissolvida.

Tabela 26. Resultados de dissolução por dispersão em tampão fosfato pH 6,8 das amostras A, B e C de olanzapina.

Média da quantidade dissolvida (%) (n=6)						
Tempo (minutos)	Fabricante A		Fabricante B		Fabricante C	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR
3	30,51	<b>30,71</b>	11,38	<b>18,45</b>	10,56	<b>22,88</b>
5	41,12	<b>13,82</b>	17,49	<b>19,98</b>	17,51	<b>15,77</b>
7	62,03	6,74	24,75	<b>27,36</b>	25,32	<b>18,02</b>
10	71,70	4,05	31,04	<b>26,25</b>	32,89	<b>30,68</b>
12	77,72	4,69	40,21	<b>15,09</b>	35,73	<b>31,19</b>
15	83,94	2,31	41,41	<b>12,78</b>	38,80	<b>24,15</b>
30	89,54	2,11	47,71	<b>12,85</b>	41,17	<b>21,72</b>
60	91,63	1,48	53,83	9,75	43,82	<b>23,53</b>

Fármacos pouco solúveis muitas vezes apresentam baixa molhabilidade. Quando adicionados a um tampão, estes compostos frequentemente flutuam na superfície da solução, com mínima superfície de contato (AVDEEF, 2007). Uma vez que a molhabilidade é o precursor da dissolução, esta propriedade pode influenciar na velocidade de dissolução dos sólidos (PRESTIDGE & TSATOUHAS, 2000). De acordo com os resultados de molhabilidade apresentados anteriormente, a amostra de olanzapina do fabricante A apresentou ângulo de contato menor e, conseqüente, melhor molhabilidade em relação aos outros dois lotes. Estes resultados poderiam explicar o melhor desempenho do fabricante A no ensaio de dissolução por dispersão.

Os baixos resultados de dissolução finais obtidos para as amostras B e C e os altos valores de DPR entre as alíquotas indicam que a metodologia utilizada não foi adequada para determinar, comparativamente, a dissolução entre os três lotes de olanzapina. Inúmeros trabalhos na literatura descrevem a influência da utilização de agentes molhantes na solubilidade e dissolução de fármacos pouco solúveis (ANDERBERG *et al.*, 1988; CHAKRABORTY *et al.*, 2009; VILLIERS, 1996). Assim, optou-se por avaliar o impacto da adição de laurilsulfato de sódio (LSS) ao meio de dissolução, para realização das análises de dissolução por dispersão de olanzapina.

Os resultados do efeito da adição de concentrações crescentes de laurilsulfato de sódio ao meio de dissolução, em tampão fosfato pH 6,8, para a amostra do fabricante A estão descritos na Tabela 27.

Tabela 27. Efeito da concentração de laurilsulfato de sódio na dissolução por dispersão da amostra A de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8.

Média da quantidade dissolvida (%) (n=3)												
Tempo (minutos)	0,05% LSS		0,1% LSS		0,2% LSS		0,3% LSS		0,4% LSS		0,5% LSS	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR
3	13,16	<b>25,42</b>	23,53	<b>33,20</b>	18,85	<b>15,87</b>	21,23	5,13	31,06	<b>23,90</b>	58,53	<b>15,26</b>
5	21,31	<b>23,00</b>	28,29	<b>30,24</b>	27,65	<b>13,01</b>	31,64	<b>14,73</b>	41,90	<b>17,35</b>	68,80	9,99
7	26,28	<b>25,93</b>	32,00	<b>28,26</b>	33,05	9,98	38,64	7,34	48,69	<b>14,08</b>	76,93	8,88
10	30,39	<b>22,94</b>	35,23	<b>24,20</b>	40,57	<b>12,61</b>	45,51	9,43	56,28	<b>16,07</b>	86,26	6,98
15	35,00	<b>18,94</b>	38,70	<b>21,67</b>	50,08	7,83	54,28	9,65	66,40	<b>13,24</b>	94,17	4,07
30	41,63	<b>14,21</b>	44,73	<b>15,94</b>	65,92	1,08	70,42	5,61	80,70	8,85	98,08	2,07
60	47,01	8,89	54,70	<b>10,63</b>	79,86	8,44	86,73	2,55	91,90	4,33	99,10	1,96

Pela avaliação dos dados apresentados, pode-se observar um aumento nos valores de dissolução com o incremento da concentração do agente molhante (Figura 59). No entanto, somente com a concentração de 0,5% de laurilsulfato de sódio foi possível obter a completa dissolução do fármaco ao final da análise, com desvios padrão relativos adequados entre as amostras.

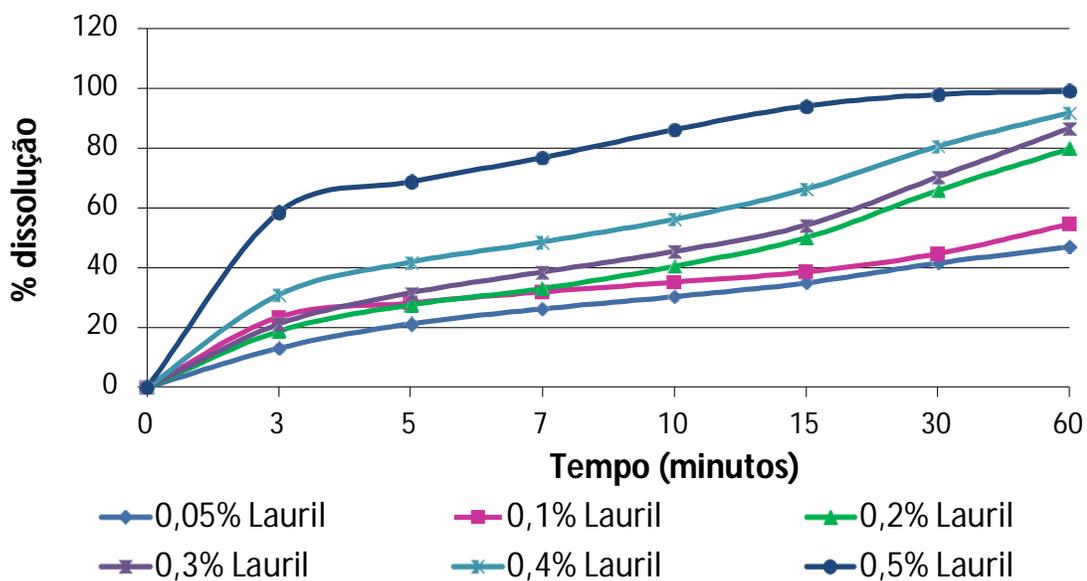


Figura 59. Efeito da concentração de laurilsulfato de sódio na dissolução por dispersão da amostra A de olanzapina em tampão pH 6,8.

Assim, os fabricantes B e C foram avaliados de acordo com as mesmas condições, utilizando meio de dissolução com 0,5% de laurilsulfato de sódio (Tabela 28 e Figura 60).

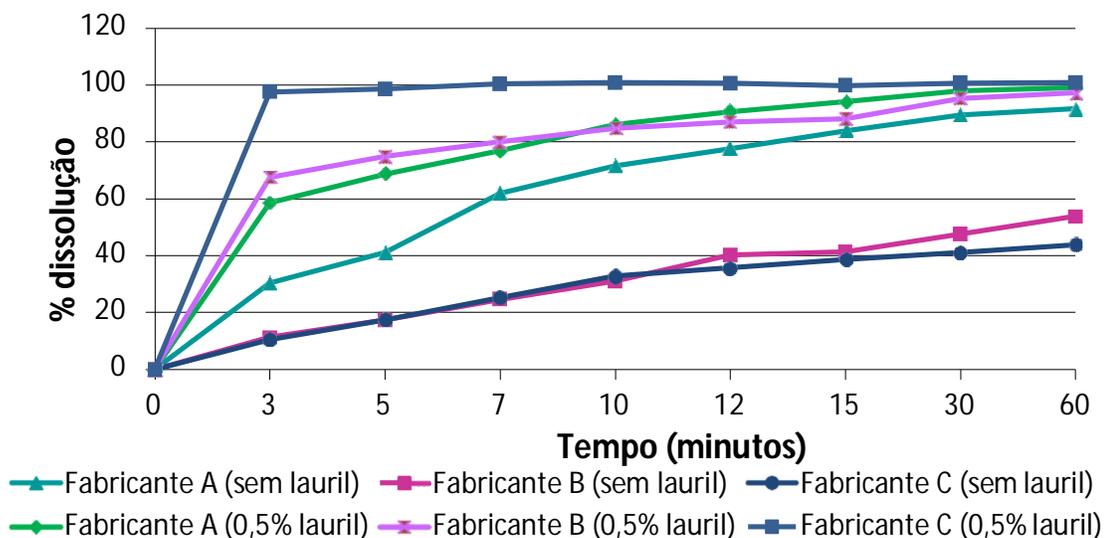


Figura 60. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8 com e sem a adição de laurilsulfato de sódio.

Tabela 28. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8 com 0,5% de laurilsulfato de sódio.

Médias das quantidades dissolvida (%) (n=6)						
Tempo (minutos)	Fabricante A		Fabricante B		Fabricante C	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR
3	58,53	15,26	67,70	7,47	97,68	2,22
5	68,80	9,99	74,93	7,33	98,67	1,74
7	76,93	8,88	79,96	6,92	100,45	1,91
10	86,26	6,98	84,78	6,50	100,86	1,66
12	90,74	4,61	87,17	5,28	100,66	1,86
15	94,17	4,07	88,13	4,85	99,90	2,29
30	98,08	2,07	95,31	3,83	100,71	1,92
60	99,10	1,96	97,21	2,00	100,79	2,27

Diferentemente do padrão de dissolução observado entre os lotes de olanzapina antes da adição de laurilsulfato de sódio ao meio, a presença do agente molhante favoreceu a

dispersão da amostra do lote C, que apresentou valores de dissolução próximos a 100% já nos primeiros minutos de ensaio. Os lotes A e B apresentaram perfis de dissolução muito próximos entre si, mas inferiores ao perfil obtido para o fabricante C.

Em tampão acetato com pH 4,5 (Tabela 29 e Figura 61), o comportamento das amostras foi semelhante ao observado em tampão com pH 6,8. Com a adição de laurilsulfato de sódio ao meio, a amostra C apresentou os maiores valores de dissolução, enquanto as amostras A e B apresentaram resultados de dissolução inferiores, mas com perfis semelhantes entre si.

Tabela 29. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão acetato pH 4,5 com e sem adição de laurilsulfato de sódio ao meio.

<b>Média das quantidades dissolvidas (%) (n=6)</b>												
<b>Tempo (minutos)</b>	<b>Fabricante A (sem lauril)</b>		<b>Fabricante A (0,5% lauril)</b>		<b>Fabricante B (sem lauril)</b>		<b>Fabricante B (0,5% lauril)</b>		<b>Fabricante C (sem lauril)</b>		<b>Fabricante C (0,5% lauril)</b>	
	<b>%</b>	<b>DPR</b>	<b>%</b>	<b>DPR</b>	<b>%</b>	<b>DPR</b>	<b>%</b>	<b>DPR</b>	<b>%</b>	<b>DPR</b>	<b>%</b>	<b>DPR</b>
<b>3</b>	<b>83,62</b>	6,21	<b>55,41</b>	7,82	<b>63,36</b>	<b>23,60</b>	<b>59,32</b>	8,27	<b>56,28</b>	<b>40,61</b>	<b>89,16</b>	4,36
<b>5</b>	<b>96,28</b>	2,98	<b>69,38</b>	6,20	<b>77,17</b>	<b>13,57</b>	<b>68,38</b>	7,16	<b>71,97</b>	<b>28,92</b>	<b>95,82</b>	2,62
<b>7</b>	<b>100,55</b>	1,36	<b>78,34</b>	7,37	<b>92,37</b>	5,71	<b>74,97</b>	6,24	<b>90,43</b>	<b>19,89</b>	<b>98,93</b>	2,59
<b>10</b>	<b>100,09</b>	1,32	<b>83,96</b>	5,01	<b>97,11</b>	2,43	<b>81,01</b>	5,64	<b>95,35</b>	<b>13,01</b>	<b>101,28</b>	1,88
<b>12</b>	<b>99,21</b>	2,09	<b>86,10</b>	4,70	<b>99,62</b>	1,51	<b>83,72</b>	4,88	<b>96,74</b>	8,04	<b>101,47</b>	1,98
<b>15</b>	<b>99,40</b>	1,12	<b>89,10</b>	3,52	<b>100,78</b>	0,65	<b>85,78</b>	4,52	<b>99,66</b>	4,87	<b>100,96</b>	1,93
<b>30</b>	<b>98,80</b>	1,16	<b>95,05</b>	2,87	<b>100,52</b>	0,26	<b>91,06</b>	3,61	<b>102,12</b>	1,53	<b>101,72</b>	1,12
<b>60</b>	<b>98,06</b>	1,88	<b>99,35</b>	1,91	<b>100,61</b>	0,42	<b>95,66</b>	3,75	<b>102,67</b>	3,45	<b>99,52</b>	2,41

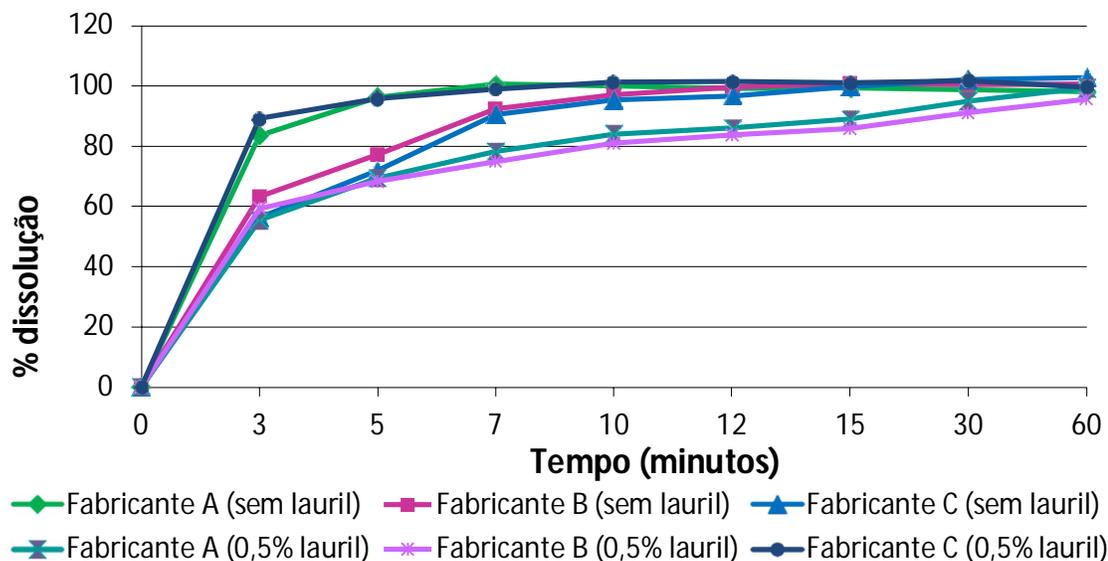


Figura 61. Resultados de dissolução por dispersão das amostras A, B e C de olanzapina em tampão acetato pH 4,5 com e sem a adição de laurilsulfato de sódio.

#### 5.2.9.2 Dissolução intrínseca

De acordo com Yu e colaboradores (2004), a dissolução intrínseca, por ser fenômeno de velocidade e não de equilíbrio, correlaciona-se de forma mais estreita com a dinâmica da dissolução in vivo do que a solubilidade.

Os gráficos de dissolução intrínseca obtidos para as amostras de olanzapina, pelo método de disco estacionário e disco rotatório são apresentados na Figura 62 e Figura 63 e as taxas de dissolução intrínseca (TDI) obtidas estão compiladas na Tabela 30.

De acordo com a literatura, fármacos com taxas de dissolução intrínseca maiores que  $1 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$  não terão sua absorção limitada pela dissolução. Já razões de dissolução menores que  $0,1 \text{ mg/cm}^2/\text{min}$  indicam que a dissolução será a etapa limitante na absorção (WELLS, 2005).

As taxas de dissolução intrínseca calculadas para as amostras de olanzapina corroboram os resultados de solubilidade deste fármaco, indicando que dissolução não é fator limitante em meio ácido. Excluindo-se a influência dos diferentes tamanhos de partículas das amostras de olanzapina avaliadas, estas apresentaram valores de dissolução intrínseca semelhantes entre si.

Os resultados também foram coerentes entre ambas as metodologias avaliadas, com resultados de TDI obtidos muito semelhantes entre os três lotes. No entanto, considerando a alta solubilidade do fármaco neste meio, os resultados obtidos não foram discriminativos. Assim, como perspectiva deste estudo, as matérias-primas poderiam ser avaliadas em meio com pH básico, em que o fármaco é menos solúvel, a fim de verificar possíveis diferenças na dissolução intrínseca dos lotes de olanzapina.

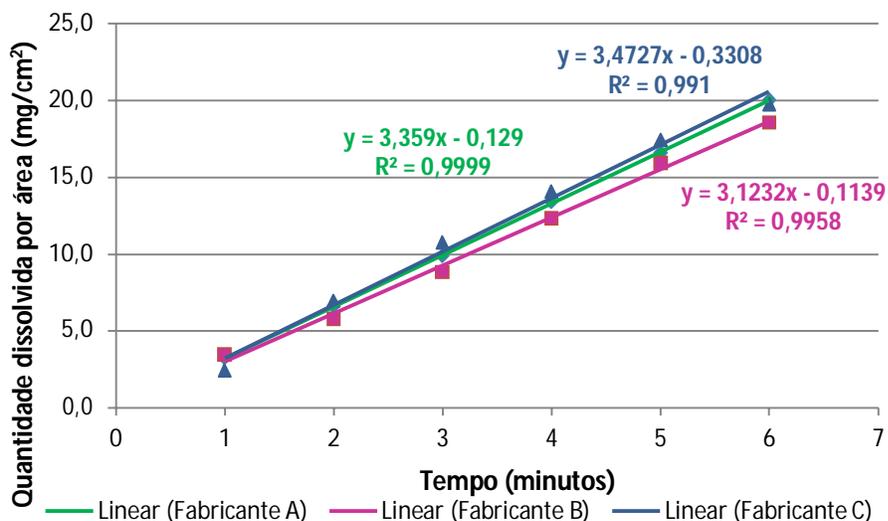


Figura 62. Dissolução intrínseca das amostras de olanzapina A, B e C pelo método de disco estacionário, em HCL 0,1N.

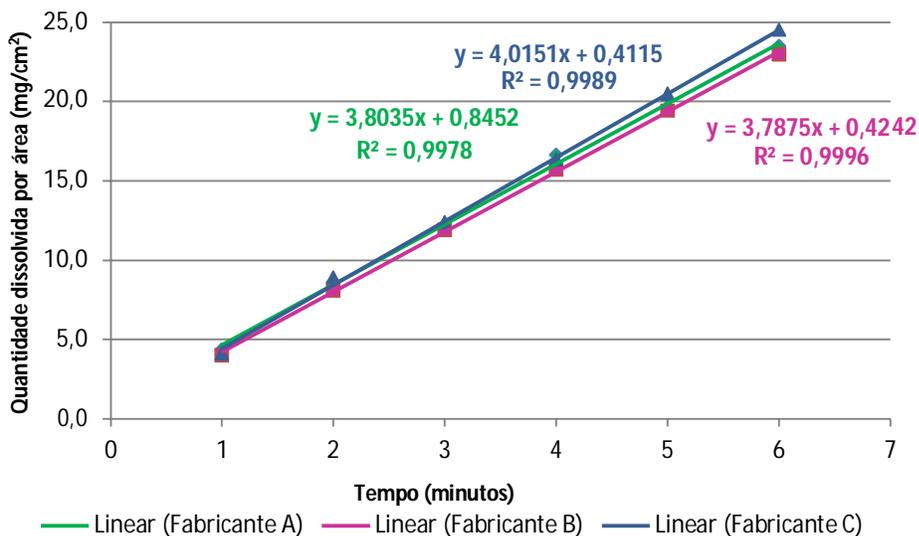


Figura 63. Dissolução intrínseca das amostras de olanzapina A, B e C pelo método de disco rotatório, em HCL 0,1N.

Tabela 30. Resultados das taxas de dissolução intrínseca das amostras de olanzapina nos métodos de disco estacionário e rotatório.

<b>Taxa de dissolução intrínseca (mg/cm<sup>2</sup>/min)</b>			
	<b>Fabricante A</b>	<b>Fabricante B</b>	<b>Fabricante C</b>
<b>Disco estacionário</b>	3,359 ± 0,147	3,123 ± 0,479	3,472 ± 0,098
<b>Disco rotatório</b>	3,084 ± 0,538	3,788 ± 0,338	4,015 ± 0,212

### 5.3 Avaliação e seleção das formulações propostas

#### 5.3.1 Densidade

Os valores de densidade aparente e compactada obtidos para as misturas de pós para compressão dos lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub>, manipulados com as amostras A, B e C de olanzapina, respectivamente, são apresentados na Tabela 31.

Tabela 31. Valores de densidade aparente e compactada para os lotes teste de olanzapina (n=3).

<b>Matéria-prima</b>	<b>Densidade aparente (g/mL)</b>	<b>Densidade compactada (g/mL)</b>
<b>L<sub>5</sub></b>	0,567 ± 0,011	0,733 ± 0,0
<b>L<sub>6</sub></b>	0,539 ± 0,016	0,696 ± 0,011
<b>L<sub>7</sub></b>	0,588 ± 0,01	0,749 ± 0,0

Os resultados de densidade podem ser ordenados de acordo com a seguinte ordem: L<sub>6</sub> < L<sub>5</sub> < L<sub>7</sub>. Conforme explicitado na avaliação das matérias-primas, a densidade aparente e compactada são parâmetros relacionados à distribuição granulométrica e formato das partículas. Uma vez que as três formulações avaliadas contém a mesma composição qualitativa e quantitativa, diferindo apenas no lote de olanzapina utilizado, é possível verificar que estes resultados são coerentes com os valores de tamanho de partícula encontrados para as

amostras do fármaco (amostra B < amostra A < amostra C). Apesar de a olanzapina estar em concentração reduzida na formulação, foi possível observar uma correlação entre a distribuição granulométrica do IFA com a densidade final da mistura de pós para compressão.

Diferentemente do observado para as densidades das matérias-primas puras, o lote L<sub>6</sub>, manipulado com a amostra de olanzapina do fabricante B, apresentou menores valores de densidade tanto aparente como compactada. Como relatado durante a realização das análises de densidades do lote B, observou-se a formação de aglomerados na amostra, dificultado a realização dos testes e a interpretação dos resultados. No entanto, a mistura desta matéria-prima com os excipientes e tamisação dos pós durante o processo de manipulação do lote teste permitiu a dispersão dos aglomerados, tornando a amostra mais uniforme. Como consequência, os resultados das densidades das misturas puderam ser correlacionados ao tamanho de partícula das amostras.

### 5.3.2 Fluidez

Na produção de sólidos orais, os processos de compressão direta são os mais eficientes devido ao menor número de etapas produtivas envolvidas, o que leva redução nos tempos e custos de produção. Nestes processos, a fluidez e compressibilidade dos pós são os fatores mais importantes. Pós de fluxo livre garantem a uniformidade da alimentação nas matrizes durante a etapa de compressão, mantendo estreitas às variações de peso dos comprimidos e, conseqüentemente, da uniformidade de conteúdo. Ainda, pós com fluxo pobre podem levar ao aprisionamento de ar em seu leito, ocasionando problemas de laminação dos comprimidos obtidos (LIU *et al.* 2008). Com a utilização de compressoras rotativas cada vez mais rápidas, a fluidez torna-se um parâmetro essencial, uma vez que problemas no preenchimento das matrizes podem comprometer a qualidade do produto e a produtividade do processo. As características de fluidez das misturas também têm papel importante na uniformidade dos pós, principalmente para produtos com baixa dosagem do princípio ativo (SHANGRAW, 1990).

Como valores indiretos de fluidez, os índices de Carr e Razão de Hausner foram calculados para as misturas de pós dos lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> e os valores e as respectivas classificações obtidas são apresentados na Tabela 32.

Tabela 32. Resultados de razão de Hausner e Índice de Carr calculados para os lotes teste de olanzapina.

	Razão de Hausner		Índice de Carr	
	Resultado	Classificação	Resultado	Classificação
<b>L<sub>5</sub></b>	1,29	Aceitável	22,62	Aceitável
<b>L<sub>6</sub></b>	1,29	Aceitável	22,55	Aceitável
<b>L<sub>7</sub></b>	1,28	Aceitável	21,57	Aceitável

Os índices calculados para os três lotes teste apresentaram valores muito próximos, sem diferenças significativas entre os mesmos. De acordo com Abdullah & Geldart (1999), a importância da razão de Hausner não está necessariamente em seu valor absoluto, mas principalmente nas mudanças na densidade aparente que ocorrem como resposta a mudanças nos constituintes da mistura. Diferenças nos valores de densidade aparente podem ser indicativos de alterações na força estrutural de um pó fracamente compactado e, assim, em suas propriedades de fluxo em muitos processos. Pode-se concluir que as diferenças observadas nas densidades aparentes para os três lotes teste não foram significativas para alterar a classificação de fluidez das misturas.

Os lotes teste também foram avaliados quanto à fluidez através da determinação do fluxo por orifícios e ângulo de repouso (Tabela 33).

Tabela 33. Resultados de fluxo por orifício e ângulo de repouso para os lotes teste de olanzapina (n=3).

	Fluxo (segundos/100 g)	Ângulo de repouso	Classificação (baseada no valor de ângulo de repouso)
<b>L<sub>5</sub></b>	65,6 (63,0 a 69,5)	40,7°	Justo
<b>L<sub>6</sub></b>	67,6 (66,4 a 68,3)	43,0°	Aceitável
<b>L<sub>7</sub></b>	56,3 (55,2 a 58,0)	38,8°	Justo

Da mesma forma como realizado para as matérias-primas, uma vez que não há metodologia padronizada para a avaliação dos produtos, foram feitos testes com aberturas de diferentes diâmetros para definição da melhor condição experimental. Os resultados se mostraram mais reprodutíveis utilizando-se abertura de 6 mm de diâmetro com auxílio do

agitador em velocidade 1. Os perfis de fluxo obtidos nestas condições, para as amostras L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> são apresentados na Figura 64, Figura 65 e Figura 66.

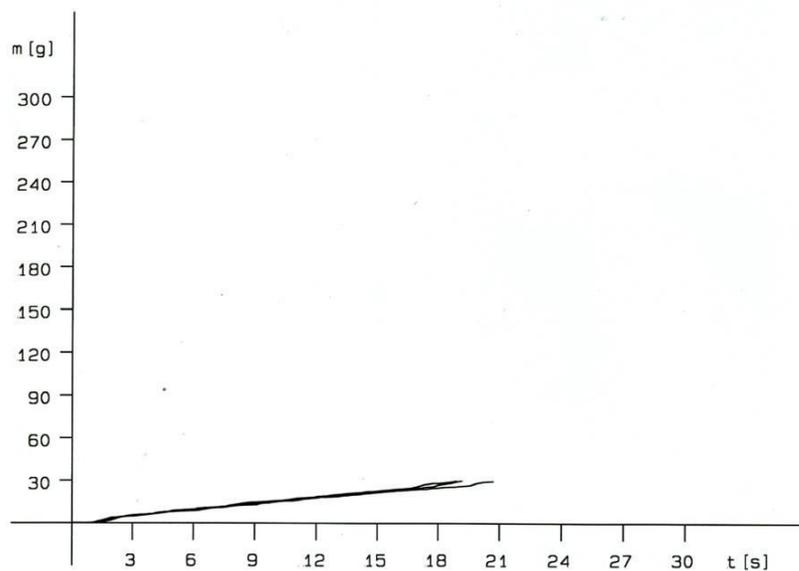


Figura 64. Gráfico de fluidez do lote teste L<sub>5</sub>.

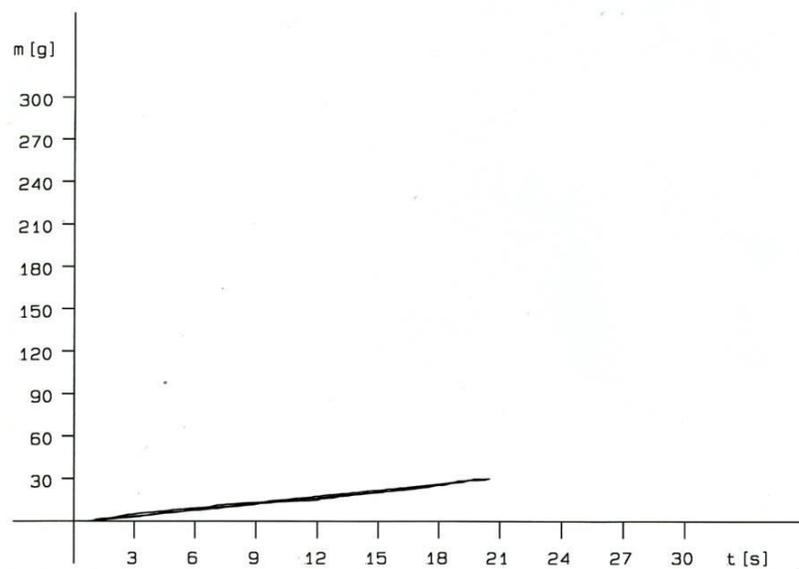


Figura 65. Gráfico de fluidez do lote teste L<sub>6</sub>.

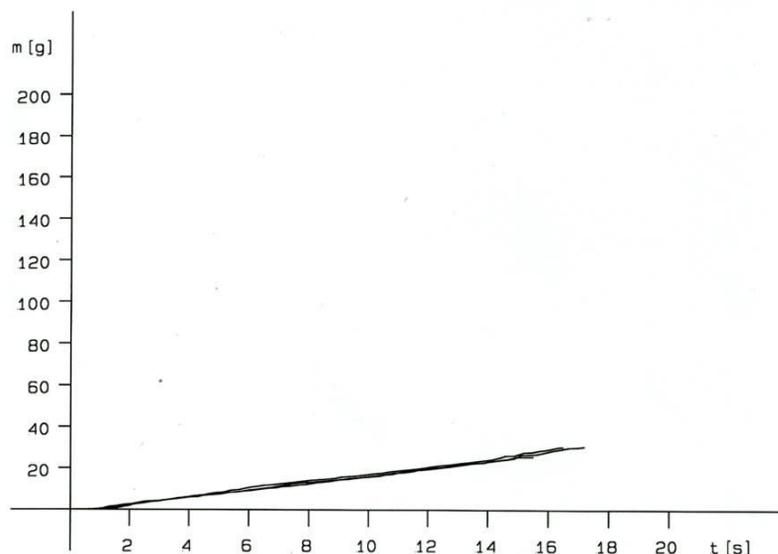


Figura 66. Gráfico de fluidez do lote teste L7.

Através dos resultados da tabela, é possível observar que a amostra do lote L7 apresentou melhor resultado de fluidez, igual a 56 segundos/100 g, em comparação a 65,6 e 67,6 segundos/100 g medidos para os lotes L5 e L6, respectivamente. Os gráficos também demonstram comportamentos de fluxo constantes para os pós avaliados, indicando uniformidade no escoamento das amostras.

Através dos valores de ângulo de repouso determinados, os lotes L5 e L7 foram classificados como de fluxo justo, apesar de apresentarem valores de fluidez diferentes. O lote L6 foi classificado como fluxo aceitável, condizente com a classificação obtida pelos cálculos do Índice de Carr e Razão de Hausner. De acordo com Amidon (1999), medidas de ângulo de repouso geralmente não podem ser consideradas como indicativos confiáveis do comportamento real de fluidez de pós, devido à falta de sensibilidade do método em distinguir entre materiais com comportamentos de fluxo levemente diferentes.

Pela avaliação dos resultados obtidos, não foi possível constatar diferenças significativas na fluidez das misturas de pós contendo lotes diferentes de olanzapina. É importante ressaltar que as propriedades de fluxo de misturas de pós contendo percentuais baixos do princípio ativo são ditadas, primariamente, pelas características dos excipientes que as compõem (AULTON, 1995). Na formulação proposta, a olanzapina representa apenas 2,5% (p/p), o que justificaria as semelhanças encontradas entre os lotes avaliados.

### 5.3.3 Peso médio

Na Tabela 34 são apresentados os resultados de peso médio obtidos para os lotes de bancada e do medicamento referência de comprimidos de olanzapina, nas dosagens de 5 mg e 10 mg. Para os lotes teste, são apresentadas as médias, os pesos máximos e mínimos tanto dos núcleos obtidos após a compressão como dos comprimidos revestidos.

De acordo com o método geral para determinação de peso da Farmacopéia Brasileira (2011), formas farmacêuticas como comprimidos não revestidos ou revestidos com filme que possuem peso médio entre 80 mg e 250 mg podem apresentar variação de  $\pm 7,5\%$  em relação à média. Os comprimidos de olanzapina 5 mg, com pesos médios de aproximadamente 200 mg, enquadram-se nesta categoria e apresentaram percentuais de variação dentro dos limites especificados. Para os comprimidos de olanzapina de 10 mg, com pesos médios em torno de 400 mg, podem-se tolerar variações de  $\pm 5,0\%$  em relação à média calculada. Também neste caso, tanto os comprimidos teste quanto os do medicamento referência apresentaram variações percentuais dentro da faixa especificada.

Tabela 34. Resultados de peso médio encontrados para os lotes teste e de referência de comprimidos de olanzapina (n=20).

Teste/ Medicamento referência		Maior peso (mg)	Peso médio (mg)	Menor peso (mg)	Variação de peso (%)	
					Máxima	Mínima
L <sub>1</sub>	Núcleo	413,8	403,9	392,5	+ 2,45	- 2,82
	Revestido	444,3	430,6	418,6	+ 3,19	- 2,78
L <sub>2</sub>	Núcleo	414,0	406,2	394,4	+ 1,92	- 2,90
	Revestido	443,2	436,0	427,4	+ 1,65	- 1,97
L <sub>3</sub>	Núcleo	413,7	402,2	391,6	+ 2,86	- 2,64
	Revestido	433,8	424,6	415,3	+ 2,17	- 2,19
L <sub>4</sub>	Núcleo	409,0	401,2	389,0	+ 1,94	- 3,04
	Revestido	430,8	422,3	417,5	+ 2,02	- 1,13
L <sub>5</sub>	Núcleo	414,0	404,1	393,0	+ 2,45	- 2,75
	Revestido	432,0	420,7	411,0	+ 2,70	- 2,29
L <sub>6</sub>	Núcleo	410,0	397,0	387,0	+ 3,27	- 2,52
	Revestido	429,0	416,5	409,8	+ 3,00	- 1,61
L <sub>7</sub>	Núcleo	414,0	405,7	396,0	+ 2,05	- 2,39
	Revestido	424,4	414,7	405,4	+ 2,83	- 2,23
R <sub>1</sub>		435,0	435,0	424,4	+ 2,51	- 1,76
R <sub>2</sub>		429,2	429,2	422,2	+ 1,66	- 1,90

#### 5.3.4 Dureza

Durante o processo de compressão, os núcleos de olanzapina foram avaliados quanto à dureza e à friabilidade. Os valores obtidos são apresentados na Tabela 35.

Tabela 35. Resultados de dureza e friabilidade dos núcleos de olanzapina (n=20).

Lote	Dureza (Kgf/cm <sup>2</sup> )			Friabilidade (%)
	Máxima	Média	Mínima	
L <sub>1</sub>	12,0	11,6	11,3	0,06
L <sub>2</sub>	12,5	11,2	10,0	0,04
L <sub>3</sub>	13,6	12,1	10,6	0,06
L <sub>4</sub>	12,0	11,2	10,2	0,08
L <sub>5</sub>	12,0	11,4	10,5	0,07
L <sub>6</sub>	11,2	10,7	10,0	0,13
L <sub>7</sub>	12,0	11,6	10,8	0,08

A resistência mecânica de comprimidos é associada com a resistência dos sólidos à fratura e ao atrito. Um comprimido com requisitos de qualidade adequados deve permanecer intacto durante todas as etapas de sua produção até o momento da administração ao paciente. Propriedades de dureza e friabilidade são ainda mais críticas no caso de núcleos de comprimidos que serão submetidos posteriormente ao processo de revestimento, uma vez que comprimidos com baixa resistência à abrasão podem resultar em revestimentos com aspecto áspero e irregular (ALDERBORN, 2005).

Considerando que a força necessária para fraturar um comprimido depende das dimensões do mesmo, a Farmacopéia Brasileira (2011) não estabelece limites para conformidade deste teste, classificando-o apenas como informativo.

Os lotes teste avaliados apresentaram valores médios próximos entre si, com durezas mínimas e máximas entre 10,0 e 13,6 kgf/cm<sup>2</sup>, respectivamente. Pode-se observar que mesmo os lotes com mesma formulação, mas fabricantes diferentes do princípio ativo (lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub>) apresentaram valores de dureza semelhantes.

### 5.3.5 Friabilidade

A friabilidade é uma importante propriedade de comprimidos e consiste na habilidade destes em resistir ao atrito com a finalidade de garantir que a correta quantidade de fármaco seja administrada e que os comprimidos permaneçam íntegros durante todo o processo produtivo. O ensaio de friabilidade também permite detectar problemas de compressibilidade, como laminação, uma vez que comprimidos sem defeitos visíveis podem laminar ou quebrar quando submetidos ao estresse em friabilômetro (ALDERBORN, 2005).

Os resultados de friabilidade obtidos para os núcleos de olanzapina dos lotes L<sub>1</sub> a L<sub>7</sub> estão na Tabela 35.

Conforme o compêndio oficial, são considerados aceitáveis comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% de seu peso (Farmacopéia Brasileira, 2011). Todos os lotes testados apresentaram resultados satisfatórios em relação a este parâmetro. Ainda, não foram observados, ao final dos ensaios realizados, comprimidos lascados, quebrados, rachados ou partidos, indicando que os núcleos obtidos apresentavam-se adequados para serem submetidos ao processo de revestimento posterior. Também não foram observadas diferenças significativas na friabilidade entre os lotes manipulados com os fabricantes A, B e C de olanzapina (lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub>, respectivamente).

### 5.3.6 Desintegração

O teste de desintegração para sólidos orais não procura estabelecer uma correlação com o comportamento *in vivo* da forma farmacêutica. Assim, o atendimento à especificação do tempo de desintegração não é garantia de uma liberação adequada do fármaco nem de sua absorção *in vivo*. No entanto, considerando que, para comprimidos, é necessário que a forma farmacêutica desintegre primeiramente em fragmentos menores para possibilitar a dissolução posterior, é razoável inferir que uma formulação que falha em atender os requisitos deste teste não será eficaz (ALDERBORN, 2005).

A Tabela 36 apresenta os tempos de desintegração obtidos para os comprimidos de olanzapina dos lotes teste (núcleo e revestido) e referência.

A Farmacopéia Brasileira (2011) estabelece o limite de tempo para desintegração de comprimidos não revestidos (núcleos) e revestidos em 30 minutos. De acordo com este critério, todos os lotes tanto do medicamento teste quanto referência apresentaram resultados de acordo com a especificação.

Os lotes L<sub>1</sub> e L<sub>2</sub> apresentaram maiores tempos de desintegração dos núcleos em relação aos demais lotes, que podem ser atribuídos ao uso de concentrações mais elevadas de aglutinante hidroxipropilcelulose na formulação. Já os resultados de desintegração dos comprimidos revestidos dos lotes L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> e L<sub>3</sub> estão relacionados ao maior ganho de peso de revestimento destes lotes em relação aos demais.

Tabela 36. Resultados de desintegração de comprimidos de olanzapina (n=6).

Teste/ Medicamento referência	Desintegração	
	Núcleo	Revestido
L <sub>1</sub>	4 min	14 min
L <sub>2</sub>	3 min 05 s	16 min
L <sub>3</sub>	1 min 51 s	8 min 6 s
L <sub>4</sub>	2 min 52 s	6 min 49 s
L <sub>5</sub>	2 min 20 s	6 min 10 s
L <sub>6</sub>	2 min 05 s	5 min 43 s
L <sub>7</sub>	2 min 20 s	6 min 38 s
R <sub>1</sub>	---	5 min 15 s
R <sub>2</sub>	---	4 min 40 s

### 5.3.7 Doseamento

De acordo com a monografia da Farmacopéia Americana (USP, 2013) para comprimidos de olanzapina, estes devem conter não menos que 90% e não mais que 110% da quantidade rotulada de fármaco.

Os valores de doseamento obtidos para os lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> em comparação aos lotes do medicamento referência são apresentados na Tabela 37. Estes lotes teste foram escolhidos uma vez que apresentaram perfis de dissolução semelhantes ao medicamento referência e consistem de uma mesma formulação, variando-se apenas o fabricante do princípio ativo.

Tabela 37. Resultados de doseamento para os lotes de olanzapina comprimidos.

<b>Teste/ Medicamento referência</b>	<b>Doseamento (%)</b>
<b>L<sub>5</sub></b>	97,75
<b>L<sub>6</sub></b>	97,28
<b>L<sub>7</sub></b>	96,95
<b>R<sub>1</sub></b>	99,36
<b>R<sub>2</sub></b>	96,29

Todos os lotes avaliados, tanto teste quanto referência, apresentaram valores de teor dentro da faixa especificada na monografia farmacopeica.

Adicionalmente, a resolução RDC n° 31 de 2010 da ANVISA especifica que, no caso de formas farmacêuticas não isentas do estudo de biodisponibilidade relativa/bioequivalência, para que um medicamento teste seja considerado equivalente farmacêutico em relação a um determinado medicamento de referência, recomenda-se que a diferença de teor da substância ativa entre ambos não seja superior a 5%, de forma a garantir que possíveis diferenças na absorção do fármaco observadas durante estudos *in vivo* não estejam relacionadas a diferenças significativas entre o teor dos produtos estudados. Também neste caso, os medicamentos teste avaliados atenderam o preconizado pela norma.

### 5.3.8 Perfil de dissolução comparativo

Estudos de dissolução são utilizados rotineiramente no controle de qualidade de formas farmacêuticas com a finalidade de avaliar a consistência entre lotes e detectar possíveis desvios de produção. A Farmacopéia Americana preconiza a avaliação da

dissolução de comprimidos de olanzapina em solução de ácido clorídrico 0,1N por 30 minutos. De acordo com a especificação farmacopeica, as unidades avaliadas devem apresentar dissolução rápida, com cedência de, no mínimo, 85% da quantidade rotulada do fármaco no tempo estabelecido (USP, 2013).

Assim, esta condição foi utilizada, inicialmente, para comparação entre os perfis de dissolução dos lotes teste e do medicamento de referência, como uma ferramenta na avaliação e seleção das formulações e processos propostos. Os resultados das médias percentuais dissolvidas para os lotes referência e testes em função do tempo estão descritos na Tabela 38. Todos os lotes referência e testes apresentaram resultados de acordo com o critério farmacopeico, com dissolução de mais de 85% do fármaco em 30 minutos.

Tabela 38. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em HCL 0,1N.

Média da quantidade dissolvida (%) (n=6)																		
Tempo (minutos)	R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>		L <sub>1</sub>		L <sub>2</sub>		L <sub>3</sub>		L <sub>4</sub>		L <sub>5</sub>		L <sub>6</sub>		L <sub>7</sub>	
	%	DPR																
5	33,99	26,57	38,17	24,52	3,47	9,31	8,17	76,61	8,77	68,94	15,84	15,37	38,70	15,39	24,83	64,15	40,54	31,18
7	60,45	18,61	60,72	20,35	7,01	33,53	20,10	61,49	30,31	41,53	45,57	10,06	62,36	10,30	53,15	28,34	67,11	15,81
10	82,44	9,33	78,86	19,91	16,32	9,33	45,66	34,13	60,53	20,98	74,63	9,13	80,42	7,82	79,65	9,40	85,56	11,54
12	88,16	8,41	85,65	18,03	24,93	8,41	60,29	22,41	71,83	15,94	83,42	10,29	87,72	6,06	87,66	7,20	92,55	7,93
15	95,61	5,61	90,66	14,68	37,84	5,61	70,40	16,97	82,38	11,35	91,25	8,99	94,01	3,45	93,60	5,00	95,64	7,74
30	100,37	3,69	95,54	7,44	86,37	3,69	91,82	3,13	96,14	2,64	103,51	3,56	101,54	1,88	99,79	1,18	103,35	2,39

Tabela 39. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em HCL 0,1N.

R <sub>1</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>
R <sub>1</sub> x L <sub>1</sub>	61,84	14,56	R <sub>2</sub> x L <sub>1</sub>	60,87	15,37
R <sub>1</sub> x L <sub>2</sub>	35,70	26,68	R <sub>2</sub> x L <sub>2</sub>	34,07	27,59
R <sub>1</sub> x L <sub>3</sub>	24,09	34,55	R <sub>2</sub> x L <sub>3</sub>	22,43	34,99
R <sub>1</sub> x L <sub>4</sub>	11,51	48,81	R <sub>2</sub> x L <sub>4</sub>	11,68	46,59
R <sub>1</sub> x L <sub>5</sub>	2,57	79,39	R <sub>2</sub> x L <sub>5</sub>	3,37	74,49
R <sub>1</sub> x L <sub>6</sub>	4,85	64,64	R <sub>2</sub> x L <sub>6</sub>	6,88	58,55
R <sub>1</sub> x L <sub>7</sub>	5,15	66,51	R <sub>2</sub> x L <sub>7</sub>	7,81	60,39

No entanto, a RDC nº 31 de 2010 estabelece que, para que dois perfis de dissolução sejam considerados semelhantes, os medicamentos teste e referência devem apresentar tipos de dissoluções correspondentes, ou seja, se o medicamento referência apresentar dissolução média de 85% em 30 minutos (dissolução rápida), o medicamento teste deve apresentar também dissolução rápida. No caso dos comprimidos de olanzapina avaliados, como pode ser observado na Tabela 38, o medicamento referência apresentou dissolução muito rápida, com liberação de mais de 85% do fármaco em 15 minutos. Assim, para ser considerado equivalente farmacêutico, o lote teste deve apresentar o mesmo tipo de dissolução. Apenas os lotes L<sub>4</sub>, L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> atenderam a este critério.

A Tabela 39 apresenta os valores dos fatores de diferença (F1) e semelhança (F2) calculados para os lotes teste em função dos dois lotes do medicamento referência testados (R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>). Neste momento, é importante ressaltar que a legislação vigente baseia-se no Método Modelo Independente Simples para comparação entre perfis de dissolução, restringindo-se apenas ao cálculo de F2 (BRASIL, 2010). Como esclarecido anteriormente, será mantido o cálculo de F1 como ferramenta adicional de comparação. A mesma resolução prevê que, para formulações de liberação imediata apresentando dissolução muito rápida para ambos os medicamentos, mesmo o uso do fator F2 perde seu poder discriminativo, não sendo necessário calculá-lo. Nesses casos, deve-se comprovar a dissolução muito rápida dos produtos por meio dos gráficos das curvas. Da mesma forma que para F1, o valor de F2 foi calculado para os perfis de dissolução dos lotes teste em HCL 0,1N como modelo para comparação.

Dos quatro lotes que apresentaram dissolução muito rápida, semelhante ao medicamento referência, apenas os lotes L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> obtiveram valores de F1 e F2 dentro dos limites preconizados, ou seja, F1 inferior a 15 e F2 superior a 50.

Os gráficos das curvas dos perfis de dissolução dos lotes teste frente aos lotes do medicamento referência estão apresentados na Figura 67 e Figura 68. Através da observação dos gráficos é possível constatar que ambos os lotes referência apresentaram, em meio farmacopeicos, grande similaridade entre si, com curvas de dissolução quase sobrepostas.

O lote teste L<sub>1</sub> apresentou resultados de cedência muito inferiores aos lotes referência, liberando apenas 86% do fármaco ao final de 30 minutos de ensaio. Desta forma, uma nova formulação foi proposta reduzindo a concentração de hidroxipropilcelulose (Lote L<sub>2</sub>).

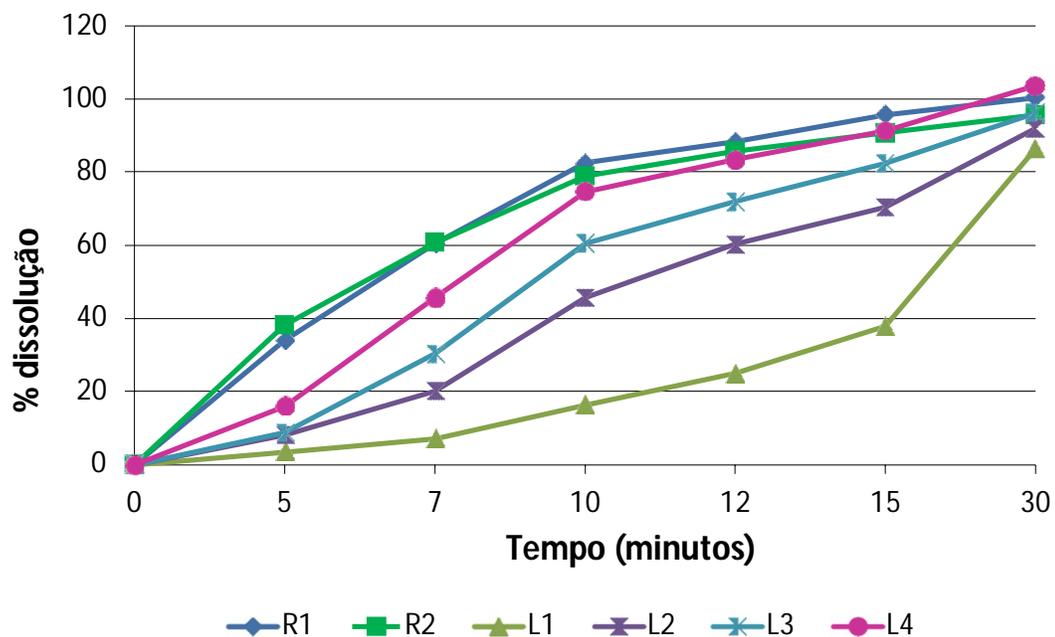


Figura 67. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução HCL 0,1N.

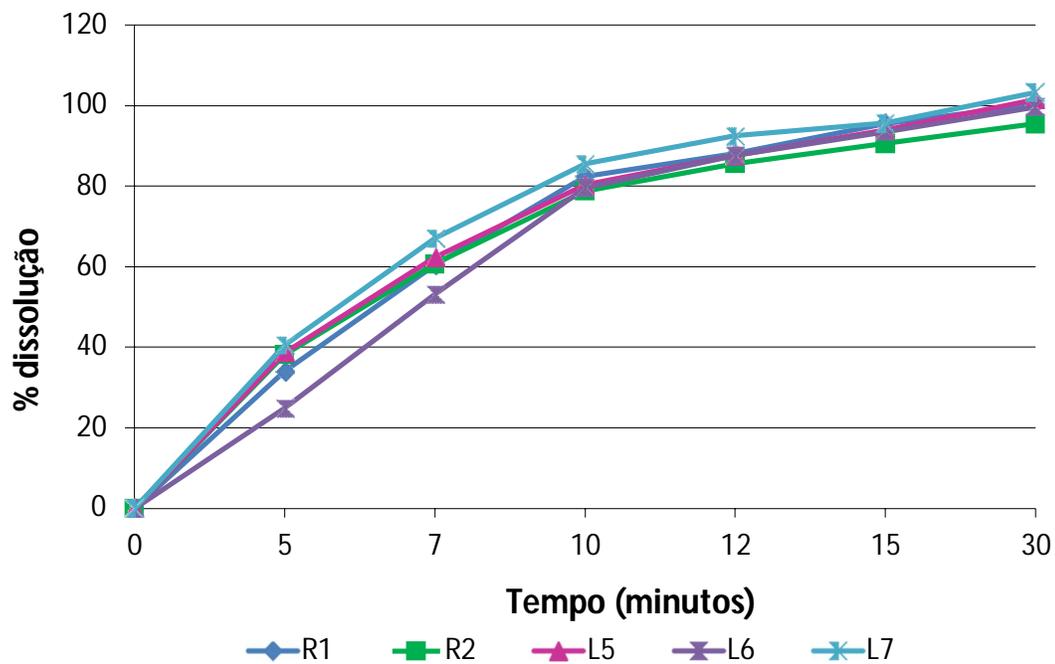


Figura 68. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução HCL 0,1N.

O excipiente hidroxipropilcelulose é um éter de celulose não-iônico hidrossolúvel largamente utilizado na formulação de sólidos orais. Em concentrações de 2 a 6% (p/p) pode ser utilizado como aglutinante tanto em processos de granulação via úmida como compressão direta. O percentual de liberação de fármacos a partir de formulações com hidroxipropilcelulose está diretamente relacionado ao grau de viscosidade do polímero utilizado: a velocidade de dissolução aumenta com a diminuição do grau de viscosidade, sendo que tipos de hidroxipropilcelulose com baixo grau de substituição são frequentemente utilizados como desintegrantes em produtos sólidos (GUO *et al.*, 1998; ROWE *et al.*, 2009).

Uma vez que o tipo de hidroxipropilcelulose (Klucel<sup>®</sup> EXF) utilizado no lote teste L<sub>1</sub> apresenta baixo grau de viscosidade, optou-se por reduzir a concentração deste excipiente na formulação, na tentativa de se obter melhores resultados de dissolução do fármaco. Os resultados obtidos para o lote L<sub>2</sub> indicam um aumento nos valores de liberação da olanzapina em função do tempo. No entanto, a dissolução do teste permaneceu inferior a 85% em 15 minutos e os valores de F1 e F2 calculados não foram satisfatórios.

O mesmo raciocínio foi utilizado para compor a formulação L<sub>3</sub>. No entanto, a alteração proposta ainda não se mostrou suficiente para obter os valores de dissolução desejados. Assim, a formulação L<sub>4</sub> foi manipulada aumentando-se a concentração do desintegrante e reduzindo-se o ganho de peso de revestimento em relação ao lote anterior. A concentração de hidroxipropilcelulose não foi alterada. O perfil de dissolução obtido neste teste apresentou maior similaridade com o perfil do medicamento referência, com fatores F1 e F2 muito próximos aos limites estabelecidos, mas ainda não adequados. No entanto, diferentemente das formulações anteriores, o lote L<sub>4</sub> apresentou dissolução muito rápida, dissolvendo 91,25% da quantidade rotulada do princípio ativo em 15 minutos. Desta forma, mesmo com F1 e F2 em desacordo com o especificado, o perfil de dissolução do produto em questão seria considerado equivalente ao do medicamento referência.

A legislação também recomenda que, nestes casos, o coeficiente de variação no ponto de 15 minutos não exceda 10%. Apesar dos desvios mais altos observados nos primeiros pontos, atribuídos, provavelmente a desuniformidade no processo de revestimento, os coeficientes de variação permaneceram dentro dos limites aceitáveis em 15 minutos para os lotes L<sub>4</sub>, L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub>.

Na tentativa de aproximar ainda mais o perfil de dissolução do medicamento teste em relação ao referência, uma nova formulação foi proposta, mantendo-se a composição do núcleo idêntica a do lote L<sub>4</sub>, mas alterando o polímero de revestimento utilizado. O polímero álcool polivinílico foi substituído por hidroxipropilmetilcelulose, mantendo-se a redução do

ganho de peso realizada no lote anterior (L<sub>4</sub>). Assim, a formulação do lote L<sub>5</sub> corresponde, qualitativamente, à formulação do produto referência (Quadro 1).

Conforme observado na Figura 68, o perfil de dissolução do lote L<sub>5</sub> assemelha-se muito aos perfis obtidos para os lotes do medicamento de referência, o que reflete nos valores de F1 e F2 dentro dos limites previstos na legislação (BRASIL, 2010).

Com o resultado obtido com o lote L<sub>5</sub>, foram manipulados dois outros lotes, mantendo-se a mesma composição, mas variando-se apenas o fabricante do insumo olanzapina utilizado, com o objetivo de avaliar o impacto das características de qualidade dos diferentes insumos no perfil de dissolução.

Os lotes L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> foram produzidos utilizando-se olanzapina dos fabricantes B e C, respectivamente. Ambos os lotes apresentaram curvas de dissolução semelhantes às dos lotes R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub>, com valores de F1 e F2 satisfatórios. Estes resultados são condizentes com os resultados de solubilidade, dissolução por dispersão e dissolução intrínseca apresentados previamente, onde não se observa diferenças significativas na dissolução dos três lotes de olanzapina dos diferentes fabricantes em meio HCL 0,1N.

Como descrito anteriormente, fármacos pertencentes à classificação biofarmacêutica II possuem alta permeabilidade e baixa solubilidade. Assim, sua absorção oral é determinada pela razão e extensão de sua solubilidade e dissolução *in vivo* no trato gastrointestinal. Mais especificamente, a absorção dos fármacos desta classe está relacionada à sua solubilidade na respectiva região de absorção.

Os fármacos classe II com propriedades ácidas fracas apresentam baixa solubilidade em valores baixos de pH, mas alta solubilidade em regiões com pH mais elevados. Espera-se que este tipo de fármaco permaneça dissolvido na região superior do intestino delgado ficando, assim, disponível para pronta absorção. Uma vez que estes fármacos possuem alta permeabilidade, a baixa solubilidade em pH gástrico não representa uma barreira significativa para sua absorção. Por este motivo, a Organização Mundial de Saúde considera estes fármacos como candidatos à bioisenção, desde que uma rápida dissolução seja comprovada em meio de dissolução com pH 6,8 e perfis de dissolução similares ao medicamento referência sejam demonstrados em meios com pH 1,2 e 4,5 (DRESSMAN, 2012).

Em contraste com a dissolução de ácidos fracas, fármacos classe II que apresentam características de bases fracas (como a olanzapina) dissolvem em valores baixos de pH. Assim, o estômago em jejum é o ambiente mais favorável para a dissolução destes medicamentos. Porém, na maioria destes casos, uma pequena mudança no pH gástrico pode alterar significativamente sua solubilidade, ocasionando grande variabilidade intra e

interindividual e absorção errática do medicamento. A razão e extensão da liberação do fármaco também podem ser limitadas por problemas de molhabilidade ou baixo tempo de residência da formulação no estômago (alta velocidade de esvaziamento gástrico). Ainda, poucos fármacos são absorvidos no estômago. Geralmente, é necessário que o fármaco dissolvido passe para o intestino delgado para que a absorção ocorra. No entanto, a exposição do fármaco a valores mais elevados de pH dos fluidos intestinais pode levar a sua precipitação antes que atinja o sítio de absorção, comprometendo sua biodisponibilidade (KLEIN, 2010).

Desta forma, a avaliação do perfil de dissolução de formas farmacêuticas contendo fármacos classe II da classificação biofarmacêutica em meios com diferentes pH que simulem os valores encontrados ao longo do trato gastrointestinal podem ajudar a esclarecer o comportamento do fármaco *in vivo* (DRESSMAN et al., 1998).

Considerando o exposto, os comprimidos teste e referência de olanzapina foram avaliados quanto ao seu perfil de dissolução nos meios propostos pelos guias para dissolução de formas farmacêuticas de liberação imediata: tampão acetato pH 4,5 e tampão fosfato pH 6,8 (BRASIL, 2010; FDA, 2007).

No entanto, é importante esclarecer que a comprovação de rápida dissolução e perfil de dissolução similares ao medicamento referência em meios com diferentes pH não é garantia dissolução semelhante em condições *in vivo*. A solubilidade/dissolução pode ser afetada por inúmeros fatores fisiológicos (velocidade de esvaziamento gástrico, concentração e composição dos sais biliares, influência da alimentação) que dificultam a correlação dos resultados encontrados *in vitro* e predição do comportamento *in vivo* (DRESSMAN, 2012).

Neste contexto, muitos autores (DRESSMAN *et al.*, 2007; JANTRATID et al., 2008) propõem a utilização de meios de dissolução biorrelevantes, com o objetivo de mimetizar ao máximo às condições fisiológicas a que estes produtos serão expostos, aumentando, assim, a confiabilidade na correlação dos resultados. Apesar do uso destes meios biologicamente relevantes representar um progresso na busca pelo estabelecimento de correlações IVIV, principalmente para formulações contendo fármacos classe II, seu alto custo, associado à complexidade na sua preparação e utilização, muitas vezes acabam por limitar sua aplicação na prática industrial (LEHTO *et al.*, 2011).

Os resultados das médias percentuais dissolvidas para os lotes referência e para os lotes teste L<sub>4</sub>, L<sub>5</sub>, L<sub>6</sub> e L<sub>7</sub> em função do tempo estão descritos na Tabela 40 e os valores de F1 e F2 calculados para os respectivos perfis estão na Tabela 41.

Tabela 40. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em tampão acetato pH 4,5.

Tempo (minutos)	Média da quantidade dissolvida (%) (n=6)											
	R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>		L <sub>4</sub>		L <sub>5</sub>		L <sub>6</sub>		L <sub>7</sub>	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR
5	<b>33,82</b>	24,28	<b>31,13</b>	13,19	<b>40,08</b>	57,53	<b>34,92</b>	43,37	<b>11,65</b>	53,76	<b>34,97</b>	49,87
7	<b>56,45</b>	19,48	<b>54,42</b>	11,32	<b>64,78</b>	32,71	<b>55,53</b>	22,23	<b>37,63</b>	38,49	<b>62,07</b>	24,22
10	<b>78,35</b>	12,53	<b>77,83</b>	5,84	<b>81,14</b>	15,42	<b>74,41</b>	17,41	<b>59,54</b>	16,43	<b>81,52</b>	12,15
12	<b>82,54</b>	6,04	<b>85,67</b>	5,73	<b>89,32</b>	10,10	<b>82,14</b>	12,35	<b>76,50</b>	9,98	<b>89,25</b>	8,35
15	<b>93,86</b>	7,26	<b>92,01</b>	7,14	<b>94,15</b>	6,56	<b>87,62</b>	9,58	<b>86,30</b>	7,60	<b>96,16</b>	5,77
30	<b>99,43</b>	2,49	<b>98,24</b>	3,48	<b>98,45</b>	2,65	<b>95,13</b>	4,13	<b>98,98</b>	2,89	<b>102,51</b>	1,37

Tabela 41. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em Tampão acetato pH 4,5.

R <sub>1</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>
R <sub>1</sub> x L <sub>4</sub>	5,72	63,73	R <sub>2</sub> x L <sub>4</sub>	6,52	60,77
R <sub>1</sub> x L <sub>5</sub>	3,81	71,72	R <sub>2</sub> x L <sub>5</sub>	4,40	72,62
R <sub>1</sub> x L <sub>6</sub>	16,62	41,61	R <sub>2</sub> x L <sub>6</sub>	15,97	43,23
R <sub>1</sub> x L <sub>7</sub>	4,96	68,54	R <sub>2</sub> x L <sub>7</sub>	6,19	65,70

De acordo com os resultados, três dos quatro lotes avaliados apresentaram perfis de dissolução semelhantes aos lotes do medicamento referência, com valores de F1 e F2 aceitáveis. Apenas o lote L<sub>6</sub>, manipulado com a olanzapina do fabricante B, apresentou resultados de F1 e F2 não adequados, devido, principalmente, a menor cedência do fármaco a partir da forma farmacêutica nos primeiros minutos do ensaio de perfil de dissolução. Ainda assim, em 15 minutos de teste, o referido lote apresentou percentual dissolvido maior que 85%, semelhante ao observado para ambos os lotes do medicamento referência e os demais lotes teste.

Os percentuais de fármaco dissolvido para os lotes teste foram condizentes com os valores de dissolução obtidos nas análises de dissolução por dispersão, em tampão acetato pH 4,5 com adição de laurilsulfato de sódio (Tabela 29), com dissolução completa do fármaco em 30 minutos de teste. Apesar de o meio de dissolução utilizado para análise dos comprimidos não conter o agente molhante, a composição das formulações possui alta proporção de

excipiente com características hidrossolúveis, como a lactose. Estudos realizados por Allahham & Stewart (2007) mostraram que a mistura interativa de fármacos micronizados com partículas carreadoras como a lactose podem promover o aumento da dissolução através da desaglomeração das partículas do fármaco e maior interação com o meio de dissolução.

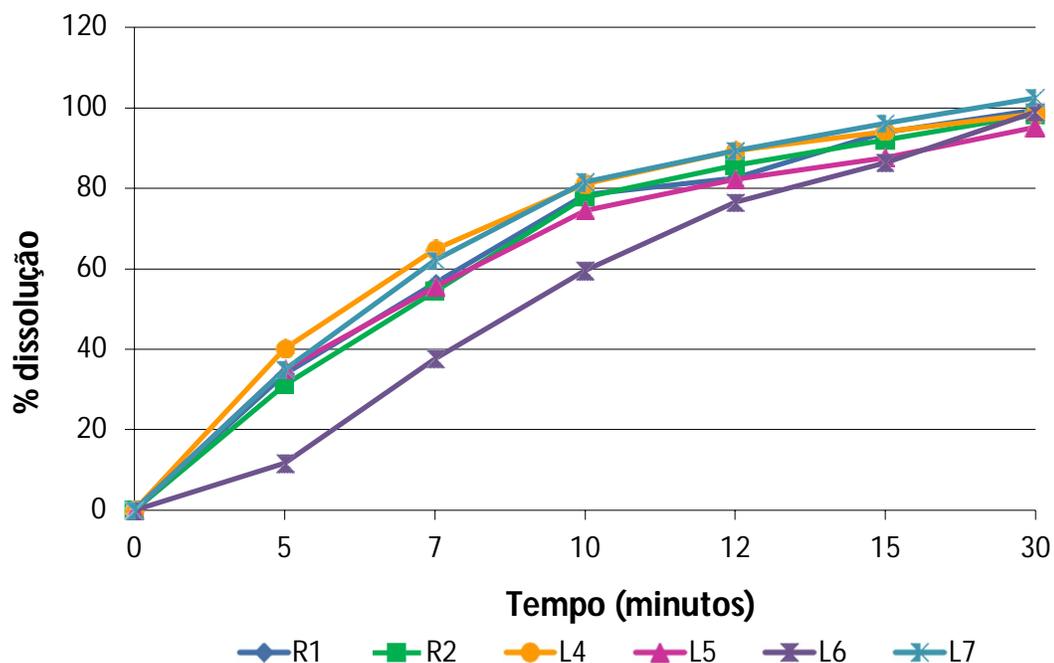


Figura 69. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução tampão acetato pH 4,5.

As médias dos percentuais dissolvidos em função do tempo para os comprimidos revestidos de olanzapina em tampão fosfato pH 6,8 e os valores de F1 e F2 calculados estão apresentados nas Tabela 42 e Tabela 43, respectivamente.

Diferentemente dos comportamentos apresentados em HCL e tampão acetato pH 4,5, os dois lotes do medicamento referência analisados neste estudo apresentaram perfis de dissolução distintos em meio tampão fosfato pH 6,8. Conforme demonstrado na Tabela 42, o lote R<sub>1</sub> apresentou valores de cedência do fármaco cerca de 10% inferiores aos obtidos para o lote R<sub>2</sub>, nos primeiros 15 minutos de análise. Os valores de dissolução equiparam-se apenas no final do estudo.

Como resultado, observaram-se diferenças nos resultados de F1 e F2 calculados para cada um dos lotes teste em função do lote referência considerado. Dos quatro lotes avaliados,

todos apresentaram fatores F1 e F2 adequados em relação ao lote R<sub>2</sub>. No entanto, apenas o lote L<sub>5</sub> apresentou fatores aprovados considerando ambos os lotes de referência.

Tabela 42. Resultados de dissolução para os lotes referência e teste de olanzapina comprimidos revestidos em tampão fosfato pH 6,8.

Tempo (minutos)	Média da quantidade dissolvida (%) (n=6)											
	R <sub>1</sub>		R <sub>2</sub>		L <sub>4</sub>		L <sub>5</sub>		L <sub>6</sub>		L <sub>7</sub>	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR	%	DPR
5	<b>14,50</b>	40,29	<b>22,80</b>	28,89	<b>15,57</b>	67,57	<b>24,51</b>	18,71	<b>29,63</b>	24,23	<b>23,96</b>	23,36
7	<b>29,91</b>	22,51	<b>41,80</b>	19,10	<b>41,60</b>	49,60	<b>40,02</b>	10,25	<b>51,57</b>	18,45	<b>43,13</b>	22,26
10	<b>49,69</b>	17,78	<b>61,96</b>	11,38	<b>65,94</b>	24,05	<b>54,53</b>	13,38	<b>69,41</b>	13,66	<b>69,68</b>	13,42
12	<b>61,18</b>	13,27	<b>71,27</b>	9,16	<b>77,39</b>	18,62	<b>62,44</b>	13,35	<b>76,96</b>	12,51	<b>82,31</b>	9,45
15	<b>71,68</b>	13,11	<b>80,25</b>	6,83	<b>88,68</b>	10,28	<b>71,98</b>	12,89	<b>87,45</b>	10,21	<b>93,29</b>	4,04
30	<b>92,82</b>	6,46	<b>93,08</b>	3,42	<b>99,37</b>	6,11	<b>94,49</b>	5,71	<b>100,98</b>	2,40	<b>101,08</b>	3,51

Tabela 43. Fatores de semelhança e diferença calculados para os lotes teste em comparação ao medicamento referência em Tampão fosfato pH 6,8.

R <sub>1</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	R <sub>2</sub> x Teste	F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>
R <sub>1</sub> x L <sub>4</sub>	21,51	44,42	R <sub>2</sub> x L <sub>4</sub>	8,69	60,78
R <sub>1</sub> x L <sub>5</sub>	8,82	60,11	R <sub>2</sub> x L <sub>5</sub>	7,93	61,11
R <sub>1</sub> x L <sub>6</sub>	30,09	38,97	R <sub>2</sub> x L <sub>6</sub>	12,08	55,84
R <sub>1</sub> x L <sub>7</sub>	29,30	39,00	R <sub>2</sub> x L <sub>7</sub>	11,39	53,76

As curvas dos perfis de dissolução dos medicamentos teste e referência estão ilustradas na Figura 70.

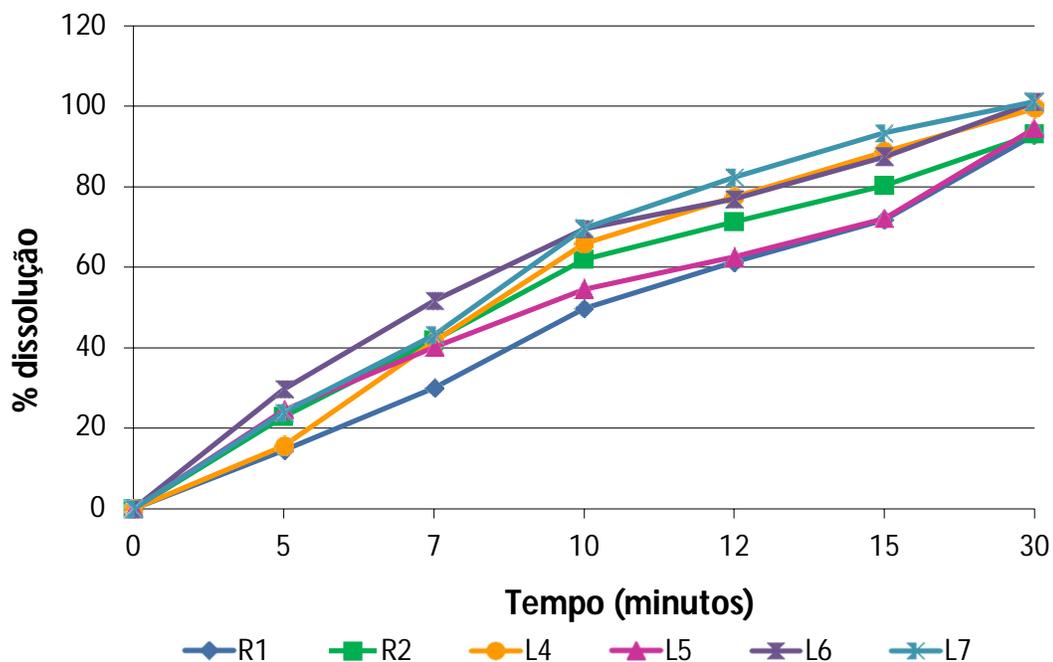


Figura 70. Perfis de dissolução dos comprimidos revestidos de olanzapina em meio de dissolução tampão fosfato pH 6,8.

Os resultados de perfis de dissolução comparativos demonstram que as formulações L4, L5, L6 e L7 apresentam similaridade com os lotes do medicamento referência tanto nos ensaios de qualidade previstos na monografia do produto na Farmacopéia Americana (USP, 2013) como nos perfis de dissolução comparativos com meios com pH na faixa fisiológica. Desta forma, as formulações propostas podem ser consideradas equivalentes ao medicamento referência.

## 6 CONCLUSÃO

Este trabalho tinha por objetivo desenvolver uma formulação de olanzapina 10 mg comprimidos revestidos similar ao medicamento considerado referência no mercado nacional. Para tanto, foram realizados estudos para avaliação de três amostras de diferentes fabricantes do IFA. Avaliados quanto aos ensaios descritos na monografia do fármaco na Farmacopéia Americana, um dos lotes apresentou resultados em desacordo quanto ao perfil de impurezas orgânicas, reforçando a importância de especificações e requisitos de qualidade bem definidos para os insumos, com a finalidade de garantir a produção de medicamentos seguros e eficazes.

Os insumos também foram caracterizados quanto às suas propriedades físico-químicas relacionadas ao estado sólido, solubilidade, dissolução e distribuição granulométrica. Somente com a combinação de técnicas de difração de raios X, espectroscopia no infravermelho e análise térmica foi possível identificar as amostras avaliadas como misturas de duas fases cristalinas anidras do fármaco (polimorfos I e II). A microscopia, associada aos resultados obtidos por difração de LASER, confirmou as diferentes distribuições granulométricas dos lotes. No entanto, as diferenças observadas na cristalinidade e granulometria não corresponderam a diferenças significativas na solubilidade e dissolução das amostras em meios com pH na faixa fisiológica. Estes resultados podem estar relacionados à transição de fase sólida da olanzapina em solução, da forma anidra para uma forma hidratada de menor solubilidade. É importante ressaltar que somente a combinação de diferentes técnicas de caracterização possibilitou a correta identificação dos polimorfos presentes na amostra e dos fenômenos de transição de fases envolvidos com a solubilização e aquecimento do fármaco. A utilização de qualquer uma destas técnicas isoladamente poderia levar a erros de interpretação dos resultados.

Um dado adicional importante é que os três lotes avaliados neste estudo foram fornecidos como polimorfo I da olanzapina pelos respectivos fabricantes. Neste aspecto, os estudos de caracterização são fundamentais para o desenvolvimento de metodologias capazes de garantir a aquisição de insumos com as especificações desejadas.

Uma vez realizados os estudos de pré-formulação, os dados obtidos para o fármaco forneceram uma base racional para nortear as ações de desenvolvimento dos comprimidos revestidos de olanzapina. Foi proposto um processo de compressão direta para produção dos lotes teste. As misturas de pós utilizando cada um dos três fabricantes foram avaliadas quanto à densidade e fluidez. O comportamento de fluxo dos lotes foi muito semelhante, atribuído,

principalmente, ao baixo percentual do IFA nas formulações propostas. Os lotes manipulados em escala laboratorial apresentaram resultados de peso médio, dureza, friabilidade, desintegração e doseamento de acordo com as especificações farmacopeicas.

O estudo comparativo entre os perfis de dissolução das formulações propostas e do medicamento referência foi utilizado como ferramenta para seleção de formulações do ponto de vista da qualidade biofarmacêutica, utilizando-se o Método modelo independente simples para avaliação da similaridade entre as curvas.

Os resultados obtidos demonstram a equivalência de duas formulações propostas em relação ao medicamento referência, nos meios de dissolução com pH entre 1,2 a 6,8. A mesma formulação manipulada como os três fabricantes diferentes também apresentou resultados satisfatórios, corroborando os resultados encontrados nos estudos de solubilidade e dissolução das matérias-primas. Desta forma, no caso da olanzapina, a formulação e processo produtivo escolhidos apresentaram papel determinante no desempenho do produto na avaliação da equivalência farmacêutica.

## 7 PERSPECTIVAS

Com relação à caracterização da olanzapina e desenvolvimento de um medicamento similar, algumas atividades ainda podem ser realizadas para completar os resultados obtidos até o momento.

- A literatura descreve a utilização de técnicas como a espectroscopia de RMN e Raman como metodologias úteis para a identificação e diferenciação dos polimorfos de olanzapina (REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003). Estas técnicas poderiam ser utilizadas para confirmação dos resultados obtidos neste trabalho.

- Avaliação da solubilidade e dissolução, tanto das matérias-primas como das formulações propostas, em meios de dissolução biorrelevantes, principalmente que simulem as condições encontradas nos fluidos intestinais, com a finalidade de investigar possíveis problemas de dissolução nesta faixa de pH não detectados nos estudos com tampões aquosos.

- Desenvolvimento de formulação proporcional para o produto olanzapina comprimidos revestidos na dosagem de 5 mg.

- Comparação dos perfis de dissolução através de diferentes metodologias, como a Eficiência de Dissolução.

- Realização de estudos de estabilidade das formulações propostas.

- Realização de estudos de escalonamento produtivo para avaliação dos parâmetros de mistura, compressão e revestimento e produção dos lotes-piloto para submissão de registro do produto como similar.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

AALTONEN, J.; ALLESØ, M.; MIRZA, S.; KORADIA, V.; GORDON, K.C.; RANTANEN, J. Solid form screening--a review. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, n. 1, p. 23-37, 2009.

ABDULLAH, E.C.; GELDART, D. The use of bulk measurements as flowability indicators. **Powder Technology**, v. 102, p. 151-165, 1999.

ALDERBORN, G. Tables and Compaction. In: AULTON. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 397-440.

ALLAHHAM, A.; STEWART, P.J. Enhancement of the dissolution of indomethacin in interactive mixtures using added fine lactose. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 67, p. 732-742, 2007.

ALSENZ, J.; KANSY, M. High throughput solubility measurement in drug discovery and development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 546-567, 2007.

AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V.P.; CRISON, J.R. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413-20, 1995.

AMIDON, G.L. Physical e Mechanical Property Characterization of Powders. In: BRITAIN, H.G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 281-319.

ANDERBERG, E.K.; BISRAT, M.; NYSTRÖM. Physicochemical aspects of drug release. VII. The effect of surfactant concentration and drug particle size on solubility and dissolution rate of felodipine, a sparingly soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 47, p. 67-77, 1988.

ASTM. **ASTM B822-10**: Standart Test Method for Particle Size Distribution on Metal Powders and Related Compounds by Light Scattering. New York, 2010. 4 p.

AYALA, A. P.; SIESLER, H.W.; BOESE, R.; HOFFMANN, G.G., POLLA, G.I.; VEGA, D.R. Solid state characterization of olanzapine polymorphs using vibrational spectroscopy. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 326, n. 1-2, p. 69-79, 2006.

AULTON, M. Dissolução e solubilidade. In:\_\_\_\_\_. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 31-47.

AVDEEF, A. Solubility of sparingly-soluble ionizable drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 568-590, 2007.

BAGNALL, A.M.; JONES, L.; GINNELLY, L.; LEWIS, R.; GLANVILLE, J.; GILBODY, S.; DAVIES, L.; TORGERSON, D.; KLEIJNEN, J. A systematic review of atypical antipsychotic drugs in schizophrenia. **Health Technology Assessment**, v. 7, n. 13, p. 1-193, 2003.

BAKA, E.; COMER, J.E.A.; TAKÁCS-NOVÁK, K. Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 46, p. 335-341, 2008.

BERGSTRÖM, C.A.; HOLM, R.; JØRGENSEN, S.A.; ANDERSSON, S.B.; ARTURSSON, P.; BEATO, S.; BORDE, A.; BOX, K.; DRESSMAN, J.; FENG, K.I.; HALBERG, G.; KOSTEWICZ, E.; McALLISTER, M.; MUENSTER, U.; THINNES, J.; TAYLOR, R.; MULLERTZ, A. Early pharmaceutical profiling to predict oral drug absorption: Current status and unmet needs. **European Journal of Pharmaceutical Science**, v. 57, p. 173-199, 2014.

BHANA, N.; FOSTER, R.H.; OLNEY, R.; PLOSKER, G.L. Olanzapine: an updated review of its use in the management of schizophrenia. **Drugs**, v. 61, n. 1, p. 111-61, 2001.

BHANA, N.; PERRY, C. M. Olanzapine: a review of its use in the treatment of bipolar I disorder. **CNS Drugs**, v. 15, n. 11, p. 871-904, 2001.

BHATTACHAR, S.N.; DESCHENES, L.A.; WESLEY, J.A. Solubility: it's not just for physical chemists. **Drug Discovery Today**, v. 11, n. 21/22, p. 1012-1018, 2006.

BLANCO, M.; COELLO, J.; ITURRIAGA, H.; MASPOCH, S.; PÉREZ-MASEDA, C. Determination of polymorphic purity by near infrared spectrometry. **Analytical Chimica Acta**, v. 407, p. 247-254, 2000.

BLUME, H.H., SCHUG, B.S. The biopharmaceutics classification system (BCS): Class III drugs – better candidates for BA/BE waiver? **Eur J Pharm Sci**, v. 9, p. 117-121, 1999.

BRAGA, R.J.; MENDLOWICZ, M.V.; MARROCOS, R.P.; FIGUEIRA, I.L. Anxiety disorders in outpatients with schizophrenia: prevalence and impact on the subjective quality of life. **Journal of Psychiatric Research**, v. 39, n. 4, p. 409-14, 2005.

BRASIL. Medida Provisória nº 2190-34, de 23 de agosto de 2001. Altera os dispositivos das leis nº 9.782, de 26 de janeiro de 1999, que define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária e cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e nº 6.437, de 20 de agosto de 1977, que configura infrações à legislação sanitária federal e estabelece as sanções respectivas, e dá

outras providências. **Diário Oficial da União**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 de agosto de 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Portaria nº 846, de 31 de outubro de 2002. Aprova o protocolo clínico e diretrizes terapêuticas – Esquizofrenia refratária – risperidona, clozapina, quetiapina, ziprasidona e olanzapina, conforme anexo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 06 de novembro de 2002.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 17, de 02 de março de 2007. Aprova o regulamento técnico, em anexo, para registro de medicamento similar. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 05 de março de 2007.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutico e de Perfil de Dissolução comparativo. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 12 de agosto de 2010.

BRASIL. Recomendações para realização de ensaios de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais de liberação imediata (FFSOLI). Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/recomenda/recomenda\\_dissolucao2.pdf](http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/recomenda/recomenda_dissolucao2.pdf) Acesso em: 20 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Saúde Mental em dados - 7, ano V, nº 7. Informativo eletrônico. Brasília: junho de 2010. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/bvs/saudemental> Acesso em 20 nov. 2012.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Nota Técnica nº 003/2013/CEFAR/GTFAR/GGMED/ANVISA, de 14 de abril de 2013. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Medicamentos/Publicacao+Medicamentos/Avaliacao+da+solubilidade+de+farmacos+e+o+desenvolvimento+de+metodos+de+dissolucao+para+estudos+de+equivalencia+farmaceutica+e+perfil+de+dissolucao+comparativo+Nota+Tecnica+n+003> acessado em 28 de agosto de 2013.

BRITTAİN, H.G.; BYRN, S.R. Structural Aspects of Polymorphism. In: BRITTAİN, H.G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 73-124

CAIRA, M.R. Polymorphism. In: BROWN, M.E.; GALLAGHER, P.K. **Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 5: Recent Advances, Techniques and Applications, 2008. p. 597-629

CALLAGHAN, J.T.; BERGSTROM, R.F.; PTAK, L.R.; BEASLEY, C.M. Olanzapine. Pharmacokinetic and pharmacodynamic profile. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 37, n. 3, p. 177-93, 1999.

CAVALLARI, C.; FINI, A.; PÉREZ-ARTACHO SANTOS, B. Thermal Study of Anhydrous and Hydrate Forms of Olanzapine. **Pharmaceutica Analytica Acta**, v. 4, n. 5, p 1-7, 2013.

CHAKRABORTY, S.; SHUKLA, D.; JAIN, A.; MISHRA, B.; SINGH, S. Assessment of solubilization characteristics of different surfactants for carvedilol phosphate as a function of pH. **Journal of Colloid Interface Science**, v. 335, p. 242-249, 2009.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, n. 4, p. 618-44, 2011.

CLAS, S. D.; DALTON, C. R.; HANCOCK, B. C. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 2, n. 8, p. 311-320, 1999.

COSTA, P.; LOBO, J.M.S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, p. 123-133, 2001.

DAHAN, A., MILLER, J.M., AMIDON, G.L. Prediction of Solubility and Permeability Class Membership: Provisional BCS of the World's Top Oral Drugs. **The AAPS Journal**, v. II, n. 4, p. 740-746, 2009.

DRESSMAN, J.B.; AMIDON, G.L.; REPPAS, C.; SHAH, V.P. Dissolution Testing as a Prognostic Tool for Oral Drug Absorption: Immediate Release Dosage Forms. **Pharmaceutical Research**, v. 15, n. 1, p. 11-22, 1998.

DRESSMAN, J.B.; VERTZONI, M.; GOUMAS, K.; REPPAS, C. Estimating drug solubility in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 59, p. 591-602, 2007.

DRESSMAN, J.B. Biowaiver monographs 2004-2012. Netherlands: Fédération Internationale Pharmaceutique (FIP), 2012. 112 p. Disponível em [http://www.fip.org/files/fip/publications/FIP\\_centennialbook\\_biowaiver\\_webversion.pdf](http://www.fip.org/files/fip/publications/FIP_centennialbook_biowaiver_webversion.pdf). Acesso em: 02 de abr. de 2014.

FARMACOPEIA brasileira 5 ed. São Paulo: Atheneu, 2011. Vol 1, 545p.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry: Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms based on a Biopharmaceutics Classification System. Rockville: FDA, 2000. 13 p. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Acesso em: 16 de mar. de 2012.

FDA. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. Guidance for Industry: ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing and Controls Information. Rockville: FDA, 2007. 13 p. Disponível em: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm>. Acesso em: 16 de mai. de 2010.

FLACH, A.O.P., DALLA COSTA, T. Avaliação dos critérios de isenção de estudos de bioequivalência in vivo para medicamentos orais em formas farmacêuticas de liberação imediata. **Caderno de Farmácia**, v. 15, n. 2, p. 49-58, 1999.

FULTON, B.; GOA, K. L. Olanzapine. A review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of schizophrenia and related psychoses. **Drugs**, v. 53, n. 2, p. 281-98, 1997.

GEDDES, J.; FREEMANTLE, N.; HARRISON, P.; BEBBINGTON, P. Atypical antipsychotics in the treatment of schizophrenia: systematic overview and meta-regression analysis. **BMJ**, v. 321, n. 7273, p. 1371-6, 2000.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterisation of polymorphs and solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, p. 1-59, 1995.

GIRON, D.; MUTZ, M.; GARNIER, S. Solid-State of Pharmaceutical compounds: Impact of the ICH Q6 guideline on industrial development. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 77, p. 709-747, 2004.

GROSSJOHANN, C.; ECCLES, K.S.; MAGUIRE, A.R.; LAWRENCE, S.E.; TAJBER, L.; CORRIGAN, O.I.; HEALY, A.M. Characterisation, solubility and intrinsic dissolution behaviour of benzamide: dibenzyl sulfoxide cocrystal. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 422, n. 1-2, p. 24-32, 2012.

GUERIN, E.; TCHORELOFF, P.; LECLERC, D. Rheological characterization of pharmaceutical powders using tap testing, shear cell and mercury porosimeter. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 189, p. 91-103, 1999.

GUO, J.H.; SKINNER, G.W.; HARCUM, W.W., BARNUM, P.E. Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, v. 1, n. 6, p. 254-261, 1998.

HAMAD, M.L.; BOWMAN, K.; SMITH, N.; SHENG, X.; MORRIS, K.R. Multi-scale pharmaceutical process understanding: From particle to power to dosage form. **Chemical Engineering Science**, v. 65, p. 5625-5638, 2010.

HEIKKILÄ, T.; KARJALAINEN, M.; OJALA, K.; PARTOLA, K.; LAMMERT, F.; AUGUSTIJNS, P.; URTTI, A.; YLIPERTTULA, M.; PELTONEN, L.; HIRVONEN, J. Equilibrium drug solubility measurements in 96-well plates reveal similar drug solubilities in phosphate buffer pH 6.8 and human intestinal fluid. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, p. 132-136, 2011.

HEINZ, A.; STRACHAN, C.J.; GORDON, K.C.; RADES, T. Analysis of solid-state transformations of pharmaceutical compounds using vibrational spectroscopy. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 61, n. 8, p. 971-988, 2009.

HÖRTER, D.; DRESSMAN, J.B. Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 46, p. 75-87, 2001.

HUANG, C.-Y.; KU, M. S. Prediction of drug particle size and content uniformity in low-dose solid dosage forms. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 383, p. 70-80, 2010.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. **Q6A**: Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances. ICH Harmonised Tripartite Guideline, 1999. 31 p.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. **Q8 (R2)**: Pharmaceutical Development. ICH Harmonised Tripartite Guideline, 2009. 24 p.

ISSA, M.G.; FERRAZ, H.G. Intrinsic Dissolution as a Tool for Evaluating Drug Solubility in Accordance with the Biopharmaceutics Classification System. **Dissolution Technologies**, v. 18, n. 2, p. 17-23, 2011.

JANTRATID, E.; JANSSEN, N.; REPPAS, C.; DRESSMAN, J.B. Dissolution media simulating conditions in the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Pharmaceutical Research**, v. 25, n. 7, p. 1663-1676, 2008.

KACHRIMANIS, K.; PETRIDES, M.; MALAMATARIS, S. Flow rate of some pharmaceutical diluents through die-orifices relevant to mini-tableting. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, p. 72-80, 2005.

KANFER, I. et al. Experimental Formulation Development. In: SHARGEL, L; KANFER, I. **Generic Drug Product Development: Solid Oral Dosage Forms**. New York: Marcel Dekker, 2005.

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

KAWAKAMI, K. Modification of physicochemical characteristics of active pharmaceutical ingredients and application of supersaturatable dosage forms for improving bioavailability of poorly absorbed drugs. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, n. 6, p. 480-95, 2012.

KERNS, E.H.; DI, L. Physicochemical profiling: overview of the screens. **Drug Discovery Today: Technologies**, v. 1, n. 4, p. 343-348, 2004.

KLANG, V.; VALENTA, C., MATSKO, N.B. Electron microscopy of pharmaceutical systems. **Micron**, v. 44, p. 45-74, 2013.

KLEIN, S. The Use of Biorelevant Dissolution Media to Forecast In Vivo Performance of a Drug. **The AAPS Journal**, v. 12, n. 3, p. 397-406, 2010.

KOLODZIEJSKI, W.; HEROLD, J.; KURAS, M.; WAWRZYCKA-GORCZYCA, I.; KOZIOL, A.E. Kinetics of  $1\text{H} \rightarrow 13\text{C}$  NMR cross-polarization in polymorphs and solvates of the antipsychotic drug olanzapine. **Solid State Nuclear Magnetic Resonance**, v. 39, n. 3-4, p. 41-6, 2011.

KONTNY, M.J.; ZOGRAFI, G. Sorption of Water by Solids. In: BRITTAIN, H.G. **Polymorphism in Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1999. p. 387-418.

KRISHNAIAH, C.; MURTHY, M.V.; KUMAR, R.; MUKKANTI, K. Development of a stability-indicating UPLC method for determining olanzapine and its associated degradation products present in active pharmaceutical ingredients and pharmaceutical dosage forms. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 54, p. 667-673, 2011.

LAZGHAB, M.; SALEH, K.; PEZRON, I.; GUIGON, P.; KOMUNJER, L. Wettability assessment of finely divided solids. **Powder Technology**, v. 157, p. 79-91, 2005.

LEUCHT, S.; CORVES, C.; ARBTER, D.; ENGEL, R.R., LI, C.; DAVIS, J.M. Second-generation versus first-generation antipsychotic drugs for schizophrenia: a meta-analysis. **Lancet**, v. 373, n. 9657, p. 31-41, 2009.

LI, Q.; RUDOLPH, V.; WEIGL, B.; EARL, A. Interparticle van der Waals force in powder flowability and compactibility. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, p. 77-93, 2004.

LEHTO, P.; KORTEJARVI, H.; LIIMATAINEN, A.; OJALA, K.; KANGAS, H.; HIRVONEN, J.; TANNINEN, V.P.; PELTONEN, L. Use of conventional surfactant media as surrogates form FASSIF in simulating in vivo dissolution of BCS class II drugs. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 78, p. 531-538, 2011.

LIPINSKI, C.A.; LOMBARDO, F.; DOMINY, B.W.; FEENEY, P.J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 4-17, 2012.

LIU, L.X.; MARZIANO, I.; BENTHAM, A.C.; LITSTER, J.D.; WHITE, E.T., HOWES, T. Effect of particle properties on the flowability of ibuprofen powders. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 362, p. 109-117, 2008.

LLINÀS, A.; GOODMAN, J. M. Polymorph control: past, present and future. **Drug Discov Today**, v. 13, n. 5-6, p. 198-210, 2008.

LUYPAERT, J.; MASSART, D.L.; VANDER HEYDEN, Y. Near-infrared spectroscopy applications in pharmaceutical analysis. **Talanta**, v. 72, p. 865-883, 2007.

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

MALVERN INSTRUMENTS LIMITED. **A Basic Guide to Particle Characterization**. Inform White Paper. Worcestershire, 2012. 26 p.

MARABI, A.; MAYORA, G., BURBIDGE, A.; WALLACH, R.; SAGUY, I.S. Assessing dissolution kinetics of powder by a single particle approach. **Chemical Engineering Journal**, v. 139, p. 118-127, 2008.

MCCAULEY, J.A.; BRITTAIN, H.G. Thermal Methods of Analysis. In: BRITTAIN, H.G. **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**, v. 70. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 223-251.

MENDHAM, J. et al. **Análise Química Quantitativa**, 6<sup>a</sup> ed. Rio de Janeiro: LCT Livros Técnicos e Científicos Editora S.A., 2002.

MORRIS, K.R.; GRIESSER, U.J.; ECKHARDT, C.J.; STOWELL, J.G. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 91-114, 2001.

MOSHARRAF, M.; NYSTRÖM, C. The effect of particle size and shape on the surface specific dissolution rate of micro-sized practically insoluble drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 122, p. 35-47, 1995.

MOTA, F.L.; CARNEIRO, A.P.; QUEIMADA, A.J.; PINHO, S.P.; MACEDO, E.A. Temperature and solvent effects in the solubility of some pharmaceutical compounds: Measurements and modeling. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, p. 499-507, 2009.

MURA, P.; GRATTEI, P.; FAUCCI, M.T. Compatibility Studies of multicomponent tablet formulations: DSC and experimental mixture design. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 541-551, 2002.

MUSTER, T.H.; PRESTIDGE, C.A. Application of time-dependent sessile drop contact angles on compacts to characterise the surface energetics of sulphathiazole crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 234, p. 43-54, 2002.

NEWMAN, A.W.; BRITTAIN, H.G. Particle Morphology: Optical and Electron Microscopies. In: BRITTAIN, H.G. **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1995.

PECK, G.E. et al. Tablet Formulation and Design. In: LIEBERMAN, H.A. et al. **Pharmaceutical Dosage forms: Tablets**, v. 1, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 75-130.

PERES-FILHO, Marco Júnio. **Estudo de pré-formulação, desenvolvimento farmacotécnico e caracterização de formas farmacêuticas sólidas da olanzapina**. 2010. 138 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal de Goiás, 2010.

PERES-FILHO, M.J.; GAETI, M.P.N; OLIVEIRA, S.R.; MARRETO, R.N.; LIMA, E.M. Thermoanalytical investigation of olanzapine compatibility with excipients used in solid oral dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 104, p. 255-260, 2011.

PRESTIDGE, C.A.; TSATOUHAS, G. Wettability studies of morphine sulfate powders. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 198, p. 201-212, 2000.

PURI, V.; DANTULURI, A.K.; KUMAR, M.; KARAR, N.; BANSAL, A.K. Wettability and surface chemistry of crystalline and amorphous forms of a poorly water soluble drug. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 40, p. 84-93, 2010.

POLLA, G.I.; VEGA, D.R.; LANZA, H.; TOMBARI, D.G.; BAGGIO, R.; AYALA, A.P.; FILHO, J.M.; FERNANDEZ, D.; LEYVA, G.; DARTAYET, G. Thermal behaviour and stability in Olanzapine. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 301, n. 1-2, p. 33-40, 2005.

RANDALL, C.S. Particle Size Distribution. In: BRITAIN, H.G. **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**. New York: Marcel Dekker, 1995.

RAW, A.S.; FURNESS, M.S.; GILL, D.S.; ADAMS, R.C.; HOLCOMBE, F.O.; YU, L.X. Regulatory considerations of pharmaceutical solid polymorphism in Abbreviated New Drug Applications (ANDAs). **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 397-414, 2004.

REUTZEL-EDENS, S.M.; BUSH, J.K.; MAGEE, P.A.; STEPHENSON, G.A.; BYM, S.R. Anhydrates and Hydrates of Olanzapine: Crystallization, Solid-State Characterization and Structural Relationships. **Crystal Growth & Design**, v. 3, n. 6, p. 897-907, 2003.

REGÔ, J.F.; MOURA, J.I.; MOITA, G.C. Determinação de olanzapina em formulações farmacêuticas por espectrofotometria: desenvolvimento e validação. **Química Nova**, v. 33, n. 2, p. 471-477, 2010.

ROCHA, H.V.A.; FERREIRA, V.L.O.; OLIVEIRA, D.L. O impacto regulatório no desenvolvimento de formulações farmacêuticas - estudo de caso de um medicamento pediátrico. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 32, n. 1, p. 181-191, 2011.

RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRICE, C.P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A.J.; RODRÍGUEZ-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 241-74, 2004.

ROWE, R.C., SHESKEY, P.J.; QUINN, M.E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Londres: Pharmaceutical Press, 6ª ed, 2009. 888 p.

SCHÜSSELE, A.; BAUER-BRANDL, A. Note on the measurement of flowability according to the European Pharmacopoeia. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 257, p. 301-304, 2003.

SHANGRAW, R.F. Compressed Tablets in Direct Compression. In: LIEBERMAN, H.A. et al. **Pharmaceutical Dosage forms: Tablets**, v. 1, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 195-246.

SHARMA, P.; DENNY, W.A.; GARG, S. Effect of wet milling process on the solid state of indomethacin and simvastatin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 380, n. 1-2, p.40-48, 2009.

SHEKUNOV, B.Y.; CHATTOPADHYAY, P.; TONG, H.H.; CHOW, A.H. Particle size analysis in pharmaceutics: principles, methods and applications. **Pharmaceutical Research**, v. 24, n. 2, p. 203-27, 2007.

SILVA, Sara Alexandra Marques Gonçalves Botto. A Study on the Stability of olanzapine polymorphs. 2013. 33p. Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas. Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa, 2013.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Spectrometric Identification of organic compound**, 7 ed. New York: & Sons, 502 p., 2006.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 335-47, 2004.

SNIDER, D. A.; ADDICKS, W.; OWENS, W. Polymorphism in generic drug product development. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 391-5, 2004.

STANIFORTH, J. Powder Flow. In: AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 197-210.

STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. M. Characterization of the solid state: quantitative issues. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 67-90, 2001.

SURYANARAYANAN, R. X-Ray Powder Diffractometry. In: BRITAIN, H.G. **Physical Characterization of Pharmaceutical Solids**, v. 70. New York: Marcel Dekker, 1995. p. 187-221.

TENHO, M.; HEINÄNEN, P.; TANNINEN, V.P.; LEHTO, V.P. Does the preferred orientation of crystallites in tablets affect the intrinsic dissolution? **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 4, p. 1315-23, 2007.

TINKE, A.P.; VANHOUTTE, K.; DE MAESSCHALCK, R.; VERHEYEN, S.; DE WINTER, H. A new approach in the prediction of the dissolution behavior of suspended particles by means of their particle size distribution. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, n. 5, p. 900-7, 2005a.

\_\_\_\_\_. LASER diffraction and image analysis as a supportive analytical tool in the pharmaceutical development of immediate release direct compression formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 297, n. 1-2, p. 80-8, 2005b.

TINKE, A.P.; CARNICER, A.; GOVOREANU, R.; SCHELTJENS, G.; LAUWERYSEN, L.; MERTENS, N.; VANHOUTTE, K.; BREWSTER, M.E. Particle shape and orientation in diffraction and static image analysis size distribution analysis of micrometer sized rectangular particles. **Powder Technology**, v. 186, p. 154-167, 2008.

TIWARI, M.; CHAWLA, G.; BANSAL, A. K. Quantification of olanzapine polymorphs using powder X-ray diffraction technique. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 43, n. 3, p. 865-72, 2007.

TSRL INC. Therapeutic Systems Research Laboratories. Biopharmaceutics Classification System. Disponível em <<http://69.20.123.154/services/bcs/search.cfm>>. Acesso em: 05 mai. 2012.

UNITED STATES PHARMACOPEIA. 36 ed. Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2013.

VILLIERS, M.M. Influence of agglomeration of cohesive particles on the dissolution behavior of furosemid powder. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 136, p. 175-179, 1996.

VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, n. 1, p. 3-26, 2001.

VITEZ, I.M., NEWMAN, A.W.; DAVIDOVICH, M.; KIESNOWSKI, C. The evolution of hot-stage microscopy to aid solid-state characterizations of pharmaceutical solids. **Thermochimica Acta**, v. 324, p. 187-196, 1998.

WADKE, D.A. et al. Preformulation Testing. In: LIEBERMAN, H.A. et al. **Pharmaceutical Dosage forms: Tablets**, v. 1, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 1-69.

WAWRZYCKA-GORCZYCA, I.; BOROWSKI, P.; OSYPIUK-TOMASIK, J.; MAZUR, L.; KOZIOL, A.E. Crystal structure of olanzapine and its solvates. Part3. Two and three-component solvates with water, ethanol, butan-2-ol and dichloromethane. **Journal of Molecular Structure**, v. 830, p. 188-197, 2007.

WANNMACHER, L. Antipsicóticos atípicos: mais eficazes, mais seguros? **Uso racional de medicamentos: temas selecionados**, v. 1, n. 12, p. 1-6, 2004.

WELLS, J. Pré-formulação farmacêutica: as propriedades físico-químicas dos fármacos. In: AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 124-148.

WHO. Pharmaceutical Development of Multisource (Generic) Finished Pharmaceutical Products – Points to consider, rev. 3, 29 p., 2011.

YORK, P. Delineamento de formas farmacêuticas. In: AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 17-28.

YU, L.X.; CARLIN, A.S.; AMIDON, G.L.; HUSSAIN, A.S. Feasibility studies of utilizing disk intrinsic dissolution rate to classify drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 270, n. 1-2, p. 221-7, 2004.

YU, L. X. et al. Scientific considerations of pharmaceutical solid polymorphism in abbreviated new drug applications. **Pharmaceutics Research**, v. 20, n. 4, p. 531-6, 2003.

ZAKERI-MILANI, P. et al. Biopharmaceutical classification of drugs using intrinsic dissolution rate (IDR) and rat intestinal permeability. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 73, n. 1, p. 102-6, 2009.

ZHANG, G.G.Z.; LAW, D.; SCHMITT, E.A.; OIU, Y. Phase transformation considerations during process development and manufacture of solid oral dosage forms. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, n. 3, p. 371-90, 2004.

ZHANG, D.; FLORY, J.H.; PANMAI, S.; BATRA, U.; KAUFMAN, M.J. Wettability of Pharmaceutical Solids: its measurement and influence on wet granulation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 206, p. 547-554, 2002.

ZIMPER, U. et al. The Influence of Milling on the Dissolution Performance of Simvastatin. **Pharmaceutics**, v. 2, p.419-431, 2010.