

Douglas de Moraes Andrade Jr.

**Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos
simples de maleato de enalapril 20 mg**

Rio de Janeiro

2015

Douglas de Moraes Andrade Jr.

Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos simples de
maleato de enalapril 20 mg

Dissertação apresentada como um dos
requisitos para obtenção do título de Mestre
no 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

2015

A553e

Andrade Jr., Douglas de Moraes

Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos simples de maleato de enalapril 20 mg. / Douglas de Moraes Andrade Jr. – Rio de Janeiro, 2015.

xvii, 120 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, 2015.

Bibliografia: f. 113-120

1. Maleato de Enalapril. 2. Pré-formulação. 3. Estabilidade. 4. Análise térmica. 5. Difração de raios X. 6. Título.

CDD 615.1

Douglas de Moraes Andrade Jr.

Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos simples de maleato de enalapril 20 mg

Dissertação apresentada como um dos requisitos para obtenção do título de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Gestão, Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica, do Instituto de Tecnologia em Fármacos – FIOCRUZ.

Aprovada em ____ de _____ de 2015.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Helvécio Vinícius Antunes Rocha (Presidente da banca)
Farmanguinhos – FIOCRUZ

Prof. Dr. Leonardo Lucchetti Caetano da Silva
FARMANGUINHOS/FIOCRUZ

Prof^a. Dr^a. Deborah Quintanilha Falcão
Faculdade de Farmácia - UFF

Prof^a. Dr^a. Samanta Cardozo Mourão
Faculdade de Farmácia – UFF

Rio de Janeiro

2015

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a minha esposa Naira Pinto de Souza e aos meus pais – Douglas e Amélia. Todo o amor, companheirismo e dedicação durante todos esses anos, me fez o homem que sou.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, em primeiro lugar, a Deus por ter sido meu companheiro incondicional e confidente em todos os momentos da minha vida.

À minha esposa Naira, por seu amor e carinho, permanecendo ao meu lado durante todo esse tempo, sendo incontestavelmente minha companheira, aturando-me e compreendendo meus defeitos, minhas faltas e, de qualquer forma, incondicionalmente acreditando em mim.

À minha mãe, Amélia Augusta, por seu amor absoluto, por sua dedicação e seu carinho. Mulher batalhadora, de fibra e sempre de coração aberto para ajudar. Por mais que eu escreva, não vou conseguir traduzir em palavras tudo que sinto pela senhora. Muito obrigado.

Ao meu pai, Douglas, que me ensinou a correr atrás da vida e procurar ser alguém. Sem dúvida seu exemplo, como homem, cidadão e pai, sempre será ímpar. Como o senhor sempre me disse: “Um homem de verdade nunca poderá morrer sem dizer que ao menos tentou alcançar seus objetivos, mesmo que falhe! Isso é ser homem de verdade!” Pois então, obrigado!

À Duda (Maria Eduarda), minha amada filha que veio ao mundo no meio desta jornada. Não foi fácil deixar de acompanhar seus primeiros passos para me dedicar a este trabalho.

Ao Lucas, meu enteado que incondicionalmente vive no meu coração. Espero que tenha lhe dado exemplos para seguir e construir um futuro maravilhoso.

Ao meu orientador e amigo, Helvécio Rocha, profissional e pessoa que confiou em mim para o desenvolvimento deste trabalho. Suportou minhas ausências, minhas falhas, mas também soube me orientar para o êxito. Sem dúvida tinha que ser o Helvécio.

À Lívia Prado, à Thaís Durli, ao Thiago Bandini pelo apoio e ajuda em todas as análises realizadas. Vocês foram excelentes.

Aos amigos Vitor Luiz e Daniel Lacerda, que me ajudaram no início do trabalho.

À Juliana Medeiros, chefe do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica de Farmanguinhos, onde trabalho e tive a liberação para realizar todo o estudo.

Aos colegas de trabalho do Laboratório de Estudos do Estado Sólido, em especial Janine Boniatti e Rafael Seiceira, pela ajuda dada na caracterização das amostras.

À Dr^a Tereza Santos e Dr^a Katia Menezes, pela compreensão e liberação para as atividades do mestrado.

Aos amigos da turma do mestrado, que me ajudaram, apoiaram e estiveram sempre juntos dividindo todos os trabalhos, angústias e alegrias. Muito obrigado por tudo.

A todos os amigos e colegas de trabalho do Laboratório de Tecnologia Farmacêutica e demais amigos de Farmanguinhos, pelas ajudas, força e pelos ensinamentos.

Aos meus familiares, amigos e todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

“Um homem de verdade nunca poderá morrer sem dizer que ao menos tentou alcançar seus objetivos, mesmo que falhe! Isso é ser homem de verdade!”

Douglas de Moraes Andrade

RESUMO

ANDRADE JR., Douglas de Moraes. *Estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de comprimidos simples de maleato de enalapril 20mg*. 2015 112f. Dissertação de Mestrado Profissional em Gestão Pesquisa e Desenvolvimento na Indústria Farmacêutica – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2015.

A hipertensão arterial é o principal fator de risco para doenças cerebrovasculares e doenças isquêmicas do coração, sendo uma das causas mais importantes para a morbidade e a mortalidade cardiovascular. O maleato de enalapril, fármaco alvo deste estudo, é um pró-fármaco que, após a administração oral, é rapidamente absorvido e hidrolisado em seu metabólito ativo, o enalaprilato, um potente inibidor da enzima conversora da angiotensina. Ao longo do tempo vem sendo dada maior atenção aos fatores que podem influenciar na variabilidade da biodisponibilidade, como a determinação físico-química do insumo farmacêutico ativo (IFA) e excipientes utilizados na formulação, assim como processo de fabricação. O estudo de pré-formulação é de grande importância para o desenvolvimento do medicamento maleato de enalapril 20mg. O insumo farmacêutico ativo (IFA) possui dois polimorfos, que foram aqui caracterizados por difração de raios X de pó (DRXP), também foram aplicadas técnicas de análise térmica como DSC (*differential scanning calorimetry*) e TGA (*thermogravimetric analysis*), porém não demonstraram efetividade na caracterização do IFA. Estas técnicas também foram aplicadas para caracterização dos excipientes utilizados nas duas propostas de formulação inicial e de medicamentos já comercializados no mercado nacional. As análises de caracterização dos medicamentos do mercado foram de grande importância para identificar/propor o processo de fabricação dos medicamentos e observar diferenças no uso de excipientes, dando suporte para a definição preliminar das formulações a serem testadas, além do processo de fabricação. O IFA tem grande sensibilidade à temperatura e umidade, degradando-se em duas substâncias – dicetopiperazina e enalaprilato. Neste estudo foram ainda realizadas análises físico-químicas de duas formulações de maleato de enalapril 20mg comprimidos simples. Cada formulação foi preparada por um processo diferente – granulação via úmida e mistura para compressão direta. Os comprimidos das duas formulações foram acondicionados em dois diferentes materiais de embalagem, por 30 dias, em câmara climática a 30 °C e 40 °C com 75% de umidade relativa. Os resultados demonstraram que o processo de granulação via úmida provê maior estabilidade físico-química aos comprimidos, durante o tempo estudado. Os resultados de DRXP e DSC confirmaram a similaridade do medicamento referência com a formulação 1, proposta por granulação via úmida. Foi possível delinear a formulação preliminar e o processo de fabricação adequado para o desenvolvimento da formulação do maleato de enalapril 20mg comprimidos simples.

Palavras-chave: maleato de enalapril, pré-formulação, estabilidade, análise térmica, difração de raios X.

ABSTRACT

Hypertension is a major risk factor for cerebrovascular disease and ischemic heart disease, one of the most important causes of morbidity and cardiovascular mortality. There are many classes of antihypertensive agents with many effective representatives in reducing blood pressure. The enalapril maleate, drug aim of this study is a prodrug which, after oral administration, is rapidly absorbed and hydrolyzed to its active metabolite, enalaprilat, a potent inhibitor of angiotensin converting enzyme. By the time it has been given greater attention to the factors that may influence the variability of bioavailability, as the physicochemical determination of active pharmaceutical ingredient (API) and excipients used in the formulation, as well as the manufacturing process. The pre-formulation study is of great importance for drug development of enalapril maleate 20 mg tablets. The active pharmaceutical ingredient (API) has two polymorphs, which are here characterized by powder diffraction X-ray (XRPD) were applied also techniques of thermal analysis such as DSC (differential scanning calorimetry) and TGA (thermogravimetric analysis), but not demonstrated effectiveness in characterizing the API. These techniques have also been applied to characterization of the excipients used in the two proposals for initial formulation and drugs already marketed in the Brazilian market. The analytical characterization of the market drugs were of great importance to identify / propose the drug manufacturing process and observe differences in the use of excipients, providing support for the preliminary setting of the formulations to be tested, besides the manufacturing process. The API has great sensitivity to temperature and humidity, degrade into two substances - diketopiperazine and enalaprilat. In this study, physical and chemical analyzes were performed on two enalapril maleate 20 mg tablets. Each formulation was made by a different process - wet granulation and blend for direct compression. Tablets of the two formulations were placed in two different packaging materials, for 30 days in a climatic chamber at 30 °C and 40 °C with 75 % relative humidity. The results showed that the wet granulation process generates higher physical and chemical stability to the tablets during the studied time. The results of XRPD and DSC confirmed the similarity of the reference medicine with the formulation 1, proposed by the wet granulation. It was possible to delineate the preliminary formulation and manufacturing process suitable for the development of the formulation of enalapril maleate 20 mg tablets.

Keywords: enalapril maleate, pre-formulation, stability, thermal analysis, XRPD analysis.

SUMÁRIO

1.	Introdução	18
2.	Revisão da literatura	21
2.1.	Propriedades farmacológicas e farmacocinéticas	21
2.2.	Características físico-químicas	22
2.3.	Cristalinidade	23
2.4.	Degradação físico-química	24
2.5.	Processo de estabilização físico-química do IFA	25
2.6.	Perfil de dissolução e equivalência farmacêutica	27
2.7.	Técnicas de caracterização e pré-formulação	28
2.7.1.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG)	30
2.7.2.	Difração de raios X	31
2.8.	Estabilidade e incompatibilidade	33
2.9.	Processo de fabricação	39
3.	Justificativa	42
4.	Objetivos	43
4.1.	Geral	43
4.2.	Específicos	43
5.	Material e métodos	44
5.1.	Material	44
5.1.1.	Insumos	44
5.1.2.	Equipamentos	45
5.2.	Métodos	46
5.2.1.	Definição de formulação e processo	46
5.2.1.1.	Análise das formulações do mercado farmacêutico nacional	47
5.2.1.2.	Lotes experimentais	48
5.2.2.	Caracterização de pós	49
5.2.2.1.	Determinação de densidade aparente e batida	49
5.2.2.2.	Índice de compressibilidade e razão de Hausner	50
5.2.2.3.	Determinação de tamanho de partícula por ensaio granulométrico de tamises	51
5.2.3.	Análise térmica	53
5.2.3.1.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	54
5.2.3.2.	Termogravimetria (TG)	54
5.2.4.	Análise cristalográfica	54
5.2.5.	Análise de controle em processo	55
5.2.5.1.	Dureza	55
5.2.5.2.	Friabilidade	55
5.2.5.3.	Desintegração	56
5.2.5.4.	Peso médio	56

5.2.6.	Análises físico-químicas	56
5.2.6.1.	Doseamento (teor)	56
5.2.6.2.	Substâncias relacionadas	57
5.2.6.3.	Dissolução	57
5.2.6.4.	Ensaio de pureza dos comprimidos de maleato de enalapril	57
6.	Resultados e discussão	58
6.1.	Formulações do mercado farmacêutico nacional	58
6.2.	Caracterização	65
6.2.1.	Termogravimetria (TG)	65
6.2.2.	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	72
6.2.3.	Difração de raios X de pó (DRXP)	82
6.2.4.	Densidade aparente e batida	91
6.2.5.	Índice de compressibilidade, razão de Hausner e ângulo de repouso	92
6.2.6.	Granulometria	93
6.3.	Análise físico-química	96
6.3.1.	Resultado das análises de médio e individual dos comprimidos	96
6.3.2.	Resultado da análise de dureza dos comprimidos	99
6.3.3.	Resultado da análise de desintegração	103
6.3.4.	Resultado de friabilidade	104
6.3.5.	Resultado de substâncias relacionadas e teor	105
6.3.6.	Resultado de perfil de dissolução	107
7.	Conclusão	110
8.	Perspectivas	112
9.	Referências bibliográficas	113

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura molecular do maleato de enalapril	22
Figura 2	Padrão de difração de raios X de pó do maleato de enalapril. A- forma I e B- forma II.	23
Figura 3	Estrutura química do enalaprilato (A) e dicetopiperazina (B).	24
Figura 4	Medicamento referência Renitec 20mg na embalagem primária (A), embalagem secundária (B) e imagem do comprimido (C).	28
Figura 5	Esquema do processo de degradação do maleato de enalapril em enalaprilato e dicetopiperazina.	35
Figura 6	Curvas de DSC, TG e DTG do maleato de enalapril puro.	38
Figura 7	Curvas de TG do maleato de enalapril puro, bicarbonato de sódio e mistura binária 1:1.	38
Figura 8	Curvas de TG do maleato de enalapril puro r.60998 Fabricante 1 (preto) e I.30111011215 Fabricante 2 (azul).	65
Figura 9	Curvas de TG do maleato de enalapril 20mg – produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional.	66
Figura 10	Curvas de TG dos lotes experimentais de maleato de enalapril 20mg F1, F2, placebo da F1 e produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional.	67
Figura 11	Curvas de TG das formulações F1 e F2 em frasco com sílica em 30°C / 75% UR e 40°C / 75% UR - T0 e T30.	68
Figura 12	Curvas de TG das formulações F1 e F2 em frasco sem tampa em 30°C / 75% UR e 40°C / 75% UR - T0 e T30.	68
Figura 13	Análise de TG do bicarbonato de sódio (verde) e estearato de magnésio (preto).	69
Figura 14	Análise de TG do amido de milho (marrom), amido de milho pré-gelatinizado (roxo) e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (verde).	69
Figura 15	Análise de TG da lactose mono-hidratada (laranja) e lactose anidra (preto).	70
Figura 16	Análise de TG do óxido de ferro amarelo (verde) e óxido de ferro vermelho (vermelho).	70
Figura 17	Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.60998 Fabricante 1 e I.30111011215 Fabricante 2 – razão de aquecimento: 10 °C/minuto.	72
Figura 18	Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.60998 Fabricante 1 – rampas de aquecimento: 5, 10, 20, 40 e 80°C / minuto respectivamente de cima para baixo.	73
Figura 19	Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.30111011215 Fabricante 2 – rampas de aquecimento: 5, 10, 20, 40 e 80°C / minuto respectivamente de cima para baixo.	73
Figura 20	Curvas de DSC dos produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional.	75
Figura 21	Curvas de DSC dos produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional, formulação F1, F2 e placebo de F1.	75
Figura 22	Curvas de DSC das formulações F1 e F2 em frasco com sílica em 30°C / 75% UR e 40°C / 75% UR - T0 e T30.	76
Figura 23	Curvas de DSC das formulações F1 e F2 em frasco sem tampa em 30°C / 75% UR e 40°C / 75% UR - T0 e T30.	77
Figura 24	Análise de DSC do estearato de magnésio (verde) e bicarbonato de sódio (preto).	79

Figura 25	Análise de DSC da lactose mono-hidratada (laranja) e lactose anidra (preto).	79
Figura 26	Análise de DSC do amido de milho (marrom), amido de milho pré-gelatinizado (roxo) e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (verde).	80
Figura 27	Análise de DSC do óxido de ferro amarelo (verde) e óxido de ferro vermelho (vermelho).	80
Figura 28	Padrões de difração de raios X em pó de Maleato de Enalapril – 60.998 – Fabricante 1 e 301110112015 – Fabricante 2.	85
Figura 29	Padrões de difração de raios X em pó dos produtos comerciais e formulações F1 e F2.	85
Figura 30	Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do enalapril IFA (vermelho).	87
Figura 31	Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e da lactose mono-hidratada (vermelho).	87
Figura 32	Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do bicarbonato de sódio (vermelho).	88
Figura 33	Padrões de difração de raios X do medicamento referência (azul) e do amido de milho (vermelho).	88
Figura 34	Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do estearato de magnésio (vermelho).	89
Figura 35	Padrões de difração do medicamento referência (azul), do óxido de ferro amarelo (vermelho) e do óxido de ferro vermelho (verde).	89
Figura 36	Padrões de difração de raios X do amido de milho (azul), amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (vermelho) e amido de milho pré-gelatinizado (verde).	89
Figura 37	Peso médio dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero de estabilidade.	97
Figura 38	Peso médio dos comprimidos da formulação F1 após trinta dias de estabilidade.	98
Figura 39	Peso médio dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero de estabilidade.	98
Figura 40	Peso médio dos comprimidos da formulação F2 após trinta dias de estabilidade.	99
Figura 41	Dureza dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero da estabilidade.	100
Figura 42	Dureza dos comprimidos da formulação F1 após trinta dias de estabilidade.	100
Figura 43	Dureza dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero da estabilidade.	101
Figura 44	Dureza dos comprimidos da formulação F2 após trinta dias de estabilidade.	101
Figura 45	Gráfico do perfil de dissolução das formulações F1 e F2 e do medicamento referência.	108

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Formulação qualitativa do medicamento referência.	47
Tabela 2	Formulação 1 (F1) – utilizada na fabricação pelo processo de granulação via úmida.	48
Tabela 3	Formulação 2 (F2) – utilizada na fabricação pelo processo de compressão direta.	49
Tabela 4	Lista de material analisado por DSC e TG.	53
Tabela 5	Formulações de maleato de enalapril comprimidos do mercado farmacêutico nacional.	59
Tabela 6	Resultados de densidade aparente e compactada do maleato de enalapril IFA e das formulações F1 e F2.	92
Tabela 7	Resultados da avaliação do índice de compressibilidade, razão de Hausner e ângulo de repouso do maleato de enalapril IFA e das formulações F1 e F2.	93
Tabela 8	Peso médio dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.	96
Tabela 9	Peso médio dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.	97
Tabela 10	Desintegração dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.	103
Tabela 11	Desintegração dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.	104
Tabela 12	Resultado da análise de friabilidade em tempo zero das formulações F1 e F2.	104
Tabela 13	Resultado de friabilidade em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.	104
Tabela 14	Resultado da análise de substâncias relacionadas totais em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.	105
Tabela 15	Resultado da análise de teor em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.	106
Tabela 16	Resultados do perfil de dissolução das formulações F1, F2 e do medicamento referência	108

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	Resultados do estudo de estabilização do maleato de enalapril.	26
Quadro 2	Quadro de especificações de pós	51
Quadro 3	Perfil granulométrico do maleato de enalapril IFA – fabricante 1.	94
Quadro 4	Perfil granulométrico do maleato de enalapril IFA – fabricante 2.	94
Quadro 5	Perfil granulométrico da formulação F1.	95
Quadro 6	Perfil granulométrico da formulação F2.	95

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

% RT	Percentual das partículas retidas no tamis
Alu/Alu	Alumínio / Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARAII	Antagonista de receptores de angiotensina II
ASC	Área sob a curva
ATMR	Abertura em micra do tamis com a massa retida
ATS	Abertura em micra do tamis superior ao tamis calculado
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
D_{ap}	Densidade aparente
D_c	Densidade compactada
DCB	Denominação comum brasileira
DPR	Desvio padrão relativo
DRX	Difração de raios X
DRXMC	Difração de raios X de monocristal
DRXP	Difração de raios X de pó
DSC	Calorimetria Diferencial Exploratória (<i>Differential Scanning Calorimetry</i>)
ECA	Enzima conversora da angiotensina
EP	Farmacopeia Europeia (<i>European Pharmacopoeia</i>)
EQUIFAR 40	Centro de Equivalência Farmacêutica da FIOCRUZ
F	Friabilidade
FB5^a ed	Farmacopeia Brasileira 5 ^a Edição
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (<i>Fourier Transform Infrared</i>)
I_c	Índice de Compressibilidade
ICH	Conferência Internacional de Harmonização (<i>International Conference of Harmonization</i>)
IECA	Inibidores da enzima conversora da angiotensina
IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
IPEC	<i>International Pharmaceutical Excipients Council</i>
IR	Infravermelho (<i>Infrared</i>)
LTF	Laboratório de Tecnologia Farmacêutica
MET	Microscópio eletrônico de transmissão
MEV –	Microscópio eletrônico de varredura
MRT	Massa retida no tamis
PEAD -	Polietileno de alta densidade
P_f -	Peso final
P_i -	Peso inicial
PVC/Alu	Policloreto de vinila / alumínio
QSP -	Quantidade suficiente para
RDC -	Resolução de diretoria colegia
RE -	Resolução
RELEXP –	Relatório Experimental
RENAME -	Relação Nacional de Medicamentos Essenciais

R_H –	Razão de Hausner
RPM -	Rotações por minuto
SQR -	Substância química de referência
SR -	Substância relacionada
T₀	Tempo zero
T₃₀	Tempo trinta dias
TG –	Termogravimetria
TGA –	Análise térmica diferencial (<i>Differential Termogravimetric Analysis</i>)
TGA-IR –	Associação entre as técnicas de Termogravimetria e Infravermelho
TMP	Tamanho médio das partículas
TMPR	Tamanho médio das partículas retidas no tamis
TOA –	Termomicroscopia (<i>Thermal-optical Analysis</i>)
UR -	Umidade relativa
USP –	Farmacopeia Americana (<i>United States Pharmacopeia</i>)
V1250	Volume 1250 batidas
V500	Volume 500 batidas
V_f -	Volume final
V_i -	Volume inicial
VIGITEL -	Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico

1. INTRODUÇÃO

Os fármacos são raramente administrados na forma de substâncias químicas puras, sendo mais frequente a sua administração como formulações. Estas podem variar desde soluções relativamente simples até sistemas de liberação complexos, dependendo do uso apropriado de excipientes. Os excipientes podem exercer funções farmacêuticas variadas e especializadas, indo desde melhoria da compressibilidade do material até a promoção da estabilidade do produto final (YORK, 2005; ANSEL *et al.*, 2000).

Ao longo do tempo vem sendo dada maior atenção aos fatores que podem influenciar na variabilidade da biodisponibilidade, como a determinação físico-química do insumo farmacêutico ativo (IFA) e excipientes utilizados na formulação, assim como processo de fabricação (YORK, 2005). A seleção química do IFA e dos adjuvantes de formulação deve contemplar requisitos de solubilidade, estado cristalino, tamanho de partícula, embalagem final e até a via de administração do medicamento final (YORK, 2005).

Para o tratamento adequado de uma doença existem várias formas farmacêuticas para incorporação de um IFA (YORK, 2005). O padrão de absorção de fármacos varia consideravelmente de substância para substância, assim como entre diferentes vias de administração. As formas farmacêuticas são projetadas para liberar o fármaco de um modo que se promova a melhor absorção no organismo, a partir de cada via de administração selecionada (YORK, 2005).

As formas farmacêuticas orais estão entre as mais utilizadas para liberação de fármacos com efeito sistêmico. É provável que 90% dos fármacos sejam administrados por via oral. Dentre estas formas farmacêuticas mais utilizadas estão os comprimidos e cápsulas que permitem a dose unitária e maior confiança ao tratamento (BANKER & ANDERSON, 2001).

Em comparação com outras vias de administração, a oral representa o meio mais simples, conveniente e seguro de administrar um fármaco. Contudo, a via oral apresenta como desvantagens o início relativamente lento do efeito, as possibilidades de absorção irregular e a degradação de certos fármacos pelas enzimas e secreções do trato gastrointestinal (YORK, 2005). Das formas farmacêuticas orais, a de principal escolha, para desenvolvimento de um medicamento, é o comprimido.

Algumas vantagens do uso dos comprimidos como forma farmacêutica, sobre as outras, podem ser exemplificadas abaixo (BANKER & ANDERSON, 2001).

- Apresentam menor custo em comparação a outras formas sólidas.
- Apresenta maior exatidão e segurança para administração, por se tratar de uma forma unitária e sua variação de conteúdo ser mínima.
- A identificação visual do produto é de baixo custo, podendo-se utilizar punções com gravuras ou até formatos diferenciados.
- São compactas, leves e de baixo custo operacional para embalar.
- Normalmente são de fácil deglutição.
- Podem ser revestidos, o que também pode facilitar a deglutição e evitar a flutuação do comprimido no fluido gástrico.
- Possibilitam a modulação do perfil de dissolução, sejam gastrorresistentes ou de liberação prolongada.
- Possibilitam o aumento de escala produtiva com mais facilidade.

Uma grande classe de medicamentos orais administrados, principalmente na forma de comprimidos, são os anti-hipertensivos. Esta classe medicamentosa é de grande interesse público por ocorrer em uma elevada parcela da população nacional e mundial. Os anti-hipertensivos têm como função não somente reduzir a pressão arterial como também fazem parte do processo de prevenção de outros eventos do sistema cardíaco (SCHROETER *et al.*, 2007).

A hipertensão arterial é o principal fator de risco para doenças cerebrovasculares e doenças isquêmicas do coração, sendo uma das causas mais importantes para a morbidade e a mortalidade cardiovascular. A prevalência da hipertensão aumenta com a idade e sua magnitude depende dos atributos biológicos/demográficos das populações, do estilo de vida predominante em cada uma delas, do ambiente físico e psicossocial e das respectivas interações entre esses vários elementos (SCHROETER *et al.*, 2007; FUCHS, 2011).

Em 2012 foi divulgado o relatório de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) de 2011. Os dados

referentes ao diagnóstico de hipertensão arterial demonstram a abrangência nacional do uso de anti-hipertensivos. A frequência de diagnóstico médico de hipertensão arterial variou entre 12,9% em Palmas e 29,8% no Rio de Janeiro. No sexo masculino, a maior frequência foi observada no Rio de Janeiro (23,9%) e a menor, em Porto Velho (12,9%). Entre mulheres, a maior frequência foi observada no Rio de Janeiro (34,7%) e a menor, em Palmas (12,7%) (BRASIL, 2012).

Em suma, na população adulta das 27 cidades pesquisadas, a abrangência da hipertensão arterial alcançou 22,7%. Entre mulheres a abrangência atingiu 25,4% e os homens 19,5% dos acometimentos (BRASIL, 2012).

Existem muitas classes de fármacos anti-hipertensivos com muitos representantes eficazes em reduzir a pressão arterial. A Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME) 2013 inclui diuréticos, bloqueadores adrenérgicos, bloqueadores de canais de cálcio, vasodilatadores diretos, inibidores da enzima conversora da angiotensina – IECA e antagonista de receptores de angiotensina II – ARA2 (FUCHS, 2011; BRASIL, 2013).

O tratamento de hipertensão arterial sistêmica visa a prevenção primária de doenças cardiovasculares e renais, tendo como benefício a redução da incidência de infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, insuficiência cardíaca e outras consequências da hipertensão arterial (FUCHS, 2011).

O maleato de enalapril, fármaco alvo deste estudo, é um pró-fármaco que, após a administração oral, é rapidamente absorvido e hidrolisado em seu metabólito ativo, o enalaprilato, um potente inibidor da ECA (STANISZ, 2003). Vários estudos têm confirmado a eficácia terapêutica do enalapril no tratamento da hipertensão essencial e renovascular, bem como no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva (ESPINEL *et al.*, 1990). No entanto, estudos indicam que a estabilidade do maleato de enalapril pode ser afetada quando submetido a altas temperaturas e umidade (COTTON *et al.*, 1987; AL-OMARI *et al.*, 2001; STANISZ, 2003; EYJOLFSSON, 2001, 2003; SIMONCIC *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2008; REZENDE *et al.*, 2008).

Tendo em vista a demanda de desenvolvimento do medicamento maleato de enalapril para o portfólio de Farmanguinhos e a relevância deste produto, no que tange a necessidade de melhoramento das propriedades físico-químicas do produto acabado, pretende-se com este trabalho desenvolver o estudo de pré-formulação para delineamento de uma formulação aprovada nos critérios de equivalência farmacêutica frente ao medicamento referência e com adequada estabilidade.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Propriedades farmacológicas e farmacocinéticas

O maleato de enalapril é um inibidor da enzima conversora da angiotensina (ECA), sendo um pró-fármaco de baixa atividade que precisa ser hidrolisado por esterases no fígado para produzir o seu metabólito ativo, o enalaprilato, que é um excelente inibidor da ECA (TODD & GOA, 1992; HARDMAN & LIMBIRD, 2006).

O mecanismo de ação do enalapril atua bloqueando o sistema renina-angiotensina-aldosterona através da inibição da ação da enzima que converte a angiotensina I em angiotensina II. Há o aumento no nível de atividade da renina plasmática e diminuição das taxas de angiotensina II, aldosterona (levando a ligeiro aumento do potássio e perda de sódio e fluidos), diminuição da resistência vascular periférica, da pressão arterial, da pré e pós-carga. Como resultado desta ação, há o efeito anti-hipertensivo, de diminuição da atividade proliferativa e cardioprotetor (BRASIL, 2006).

De acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica, o maleato de enalapril classifica-se como classe I: fármaco de alta solubilidade e alta permeabilidade (PRECIGOUX *et al.*, 1986; EYJOLFSSON, 2003; KIANG *et al.*, 2003; TSRL inc., 2014).

O maleato de enalapril é rapidamente absorvido pela via oral, apresentando cerca de 60% de biodisponibilidade. É observado um pico de concentração plasmática em 1 hora após sua administração, porém o enalaprilato só alcança a concentração plasmática máxima em 3 a 4 horas (HARDMAN & LIMBIRD, 2006).

Enquanto o enalaprilato tem uma meia-vida de 11 horas, não se vê o mesmo para o seu precursor enalapril, cuja meia-vida é de apenas 1 hora. O fármaco é eliminado em quase sua totalidade pelos rins, seja na forma de enalapril intacto ou enalaprilato (HARDMAN & LIMBIRD, 2006).

O memento terapêutico de Farmanguinhos (2006) cita que o enalapril é utilizado no controle da hipertensão leve, moderada e grave, tanto como fármaco isolado quanto em associação com outras classes de anti-hipertensivos. A eficácia anti-hipertensiva do enalapril é semelhante à dos demais inibidores da ECA. Além do

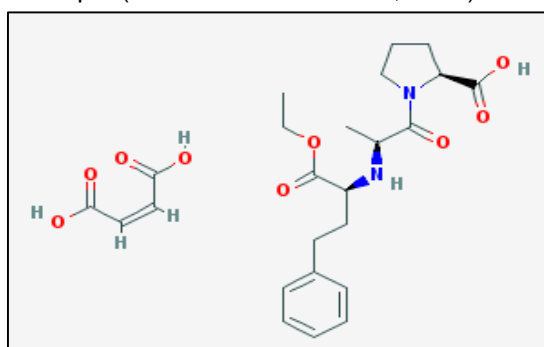
uso para controle da hipertensão arterial, também é indicado para o tratamento do infarto agudo do miocárdio e insuficiência cardíaca aguda.

As recomendações terapêuticas e posológicas do enalapril são amplamente divulgadas pela literatura. Segundo Fuchs (2011) o tratamento para hipertensão arterial utilizando maleato de enalapril tem sua posologia de 10 a 40 mg de 12 em 12 horas. Já Hardman & Limbird (2006) indicam a terapêutica de 2,5 a 40 mg ao dia, em dose única ou fracionada. Também comentam que as dosagens de 2,5 mg e 5 mg são mais indicadas para a fase inicial de tratamento de pacientes diagnosticados com insuficiência cardíaca e hipertensão arterial, respectivamente. O memento terapêutico de Farmanguinhos (2006) é consonante com ambos, Hardman & Limbird (2006) e Fuchs (2011), no que diz respeito à indicação terapêutica e sua posologia.

2.2. Características físico-químicas

O maleato de enalapril é um pó branco a quase branco, de forma cristalina, massa molar de 492.53 g/mol, fórmula molecular $(C_{20}H_{28}N_2O_5) \cdot (C_4H_4O_4)$, moderadamente solúvel em água, solúvel em etanol, livremente solúvel em metanol, ligeiramente solúvel em cloreto de metileno e solúvel em soluções diluídas de hidróxidos alcalinos (BRASIL, 2010a). Possui alta solubilidade e alta permeabilidade, Classe I de acordo com a sistema de classificação biofarmacêutica (PRECIGOUX *et al.*, 1986; EYJOLFSSON, 2001, 2003; KIANG *et al.*, 2003; TSRL inc., 2014). Abaixo, está representada na figura 1 a estrutura molecular do maleato de enalapril.

Figura 1 – Estrutura molecular do maleato de enalapril (Extraído de: Pubchem, 2014)

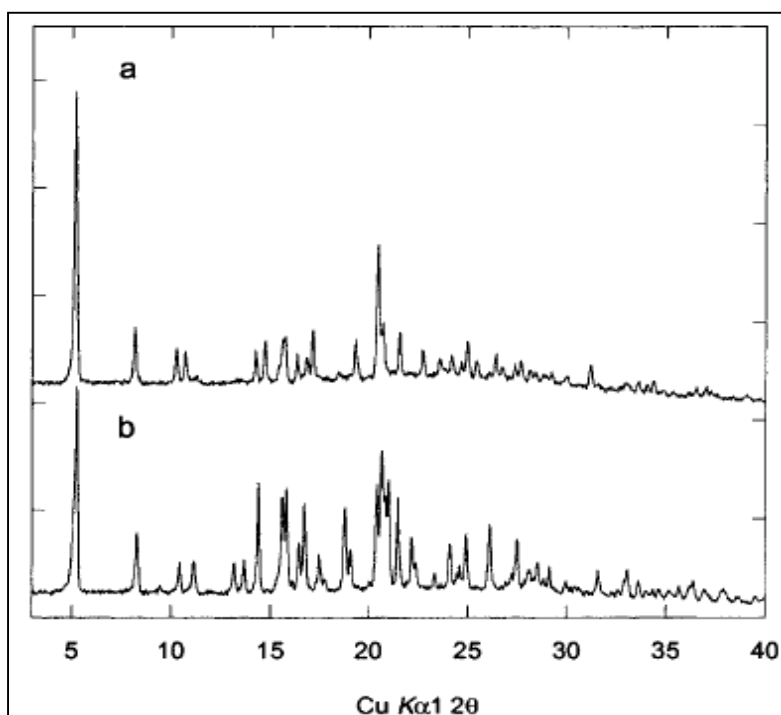


2.3. Cristalinidade

A caracterização de cristalinidade tem grande importância na indústria farmacêutica devido à influência que pode ocorrer sobre as propriedades do pó, a biodisponibilidade, as características físico-químicas e estabilidade. A influência do polimorfismo, por sua vez, também está presente na evidência da incompatibilidade de excipientes e insumos farmacêuticos ativos (IP, 1986; KIANG *et al.*, 2003; REZENDE *et al.*, 2008; CHADHA & BHANDARI, 2014).

Em 1986, os dois polimorfos de maleato de enalapril (formas I e II) foram descritos por Ip e colaboradores (1986), que também consideraram que as estruturas cristalinas dos dois polimorfos eram muito similares. Kiang e colaboradores, em 2003, confirmaram esta consideração e elucidaram mais detalhadamente as estruturas, confirmando que a forma II é termicamente mais estável do que a forma I. Os autores fizeram uso de técnicas analíticas como termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial para chegar a este resultado. Abaixo, na figura 2, seguem os padrões de difração de raios X de pó, das formas I e II do maleato de enalapril.

Figura 2 – Padrão de difração de raios X de pó do maleato de enalapril. A- forma I e B- forma II. (Fonte: KIANG *et al.*, 2003)

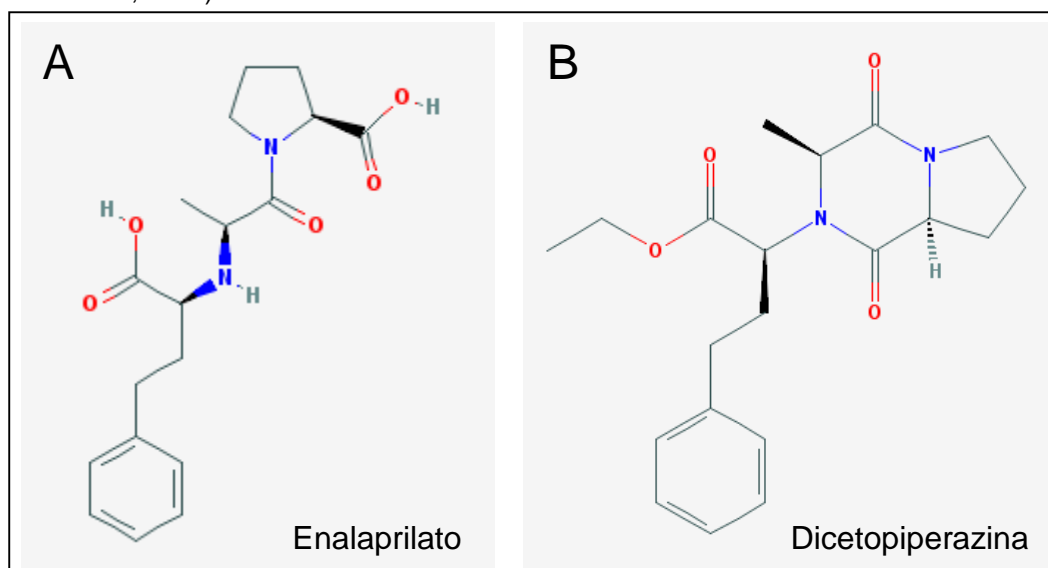


2.4. Degradação físico-química

Além da elucidação das estruturas polimórficas do maleato de enalapril, Ip e colaboradores (1986) também realizaram estudos de dissolução de formulações contendo as formas I e II, forma I isolada e forma II isolada. Concluiu que não havia influência do polimorfo do maleato de enalapril na dissolução do produto acabado.

São evidenciados em estudos o processo de degradação deste fármaco, ocasionado por sua alta sensibilidade à umidade e à temperatura, além da incompatibilidade e/ou interação com excipientes (CHADHA & BHANDARI, 2014). Devido a sua alta sensibilidade, o maleato de enalapril é hidrolisado e/ou degradado, gerando dois produtos de degradação amplamente descritos na literatura: enalaprilato e a dicetopiperazina (COTTON *et al.*, 1987; AL-OMARI *et al.*, 2001; STANISZ, 2003; EYJOLFSSON, 2001, 2003; OLIVEIRA, 2009; SIMONCIC *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2008; REZENDE *et al.*, 2008; BRASIL, 2010a). Na figura 3 encontram-se as estruturas químicas do enalaprilato e da dicetopiperazina.

Figura 3 – Estrutura química do enalaprilato (A) e dicetopiperazina (B). (Fonte: Pubchem, 2014)



2.5. Processo de estabilização físico-química do IFA

Harris e colaboradores (1988) descrevem na patente US 4.743.450 uma formulação de maleato de enalapril utilizando um metal alcalino e um sacarídeo como estabilizantes. Nesta mesma linha, outros pesquisadores também desenvolveram métodos de estabilização como a patente US 5.350.582 de Meršlavic e colaboradores de 1994. Estes últimos desenvolveram um método de estabilização do IFA, realizando uma reação estequiométrica do enalapril com agentes alcalinos em água. Os agentes alcalinos descritos na patente são: hidróxido de sódio, carbonato de sódio e bicarbonato de sódio. A solução ativa, resultante desta reação, é aplicada sobre excipientes durante a etapa de granulação por via úmida.

Sherman (1996) descreve outras duas patentes sugerindo processos e formulações para estabilização do enalapril. A patente US 5.573.780 de 1996 descreve um processo similar ao da patente de Meršlavic e colaboradores (1994), utilizando um agente alcalino para estabilização do IFA. Nela não há solubilização do agente alcalino e do IFA, sendo que a adição de água dá-se diretamente sobre a mistura seca para que a reação ocorra no processo de granulação (SHERMAN, 1996).

A segunda patente de Sherman (1997), US 5.690.962, descreve um processo muito similar ao de sua primeira, diferenciando-se pela aplicação de uma solução alcalina ao invés de água. Em ambos os documentos, verifica-se a possibilidade de formulação com três diferentes agentes alcalinos: hidróxido de sódio, carbonato de sódio e bicarbonato de sódio.

Embora Kiang e colaboradores (2003) tenham comprovado em seu estudo que a forma I é menos estável termicamente do que a forma II, Eyjolfsson (2001) comprovou que na estabilidade físico-química do produto acabado ocorre o inverso. A concentração dos produtos de degradação gerados nos comprimidos que são fabricados com a forma II é maior do que naqueles fabricados com a forma I, concluindo que do ponto de vista físico-químico da formulação final a forma II é menos estável.

Para a garantia da estabilidade físico-química dos comprimidos de maleato de enalapril leva-se em conta o processo de fabricação, os adjuvantes e principalmente a utilização de um agente alcalino para estabilização do IFA, conforme evidenciado nas patentes e nos artigos científicos citados. Este agente alcalino tem a função de

reagir com o maleato de enalapril, em solução ou não, dissociando-se em ácido maleico e enalaprilato. O quantitativo do agente alcalino é determinado estequiometricamente para que a reação ocorra corretamente, ou seja, para cada 1 g de maleato de enalapril é utilizado 0,5 g de bicarbonato de sódio (HARRIS *et al.*, 1988; MERSLAVIC *et al.*, 1994; SHERMAN, 1996 e 1997; EYJOLFSSON, 2001 e 2003).

Eyjolfsson (2003) verificou em seu estudo que a concentração do agente alcalino, no caso bicarbonato de sódio, melhora a estabilidade do produto acabado quando utilizado em excesso. No estudo utilizou-se o maleato de enalapril forma II e foram fabricados lotes com diferentes quantidades de bicarbonato de sódio em excesso, pelo processo de granulação via úmida, e acondicionados em diferentes materiais para realização de estudo de estabilidade.

Análises de quantificação de enalaprilato e dicetopiperazina foram realizadas, em tempo zero e após 30 dias de estabilidade em condição climática de 40°C e 75% de umidade relativa. No quadro 1 estão exibidos os resultados do estudo. Os resultados indicaram que o aumento da concentração de bicarbonato de sódio diminui a degradação do maleato de enalapril, estabilizando o percentual degradado de enalaprilato e diminuindo sensivelmente a dicetopiperazina (EYJOLFSSON, 2003).

Quadro 1: Resultados do estudo de estabilização do maleato de enalapril. (Fonte: EYJOLFSSON, 2003)

Concentração de NaHCO ₃ + Excesso	Dicetopiperazina		Enalaprilato	
	ponto zero	um mês	ponto zero	um mês
5mg NaHCO₃ + 0%				
Alu/Alu	0,31 %	9,31 %	< 0,25 %	0,44 %
PEAD + Sílica	0,31 %	8,83 %	< 0,25 %	0,31 %
7mg NaHCO₃ + 40%				
Alu/Alu	< 0,15 %	1,47 %	< 0,25 %	0,31 %
PEAD + Sílica	< 0,15 %	1,33 %	< 0,25 %	< 0,25
8mg NaHCO₃ + 60%				
Alu/Alu	< 0,15 %	1,16 %	< 0,25 %	0,27 %
PEAD + Sílica	< 0,15 %	0,93 %	< 0,25 %	< 0,25 %
9mg NaHCO₃ + 80%				
Alu/Alu	< 0,15 %	1,07 %	< 0,25 %	0,32 %
PEAD + Sílica	< 0,15 %	0,98 %	< 0,25 %	< 0,25 %
10mg NaHCO₃ + 100%				
Alu/Alu	< 0,15 %	0,17 %	< 0,25 %	0,26 %
PEAD + Sílica	< 0,15 %	< 0,15 %	< 0,25 %	< 0,25 %

Alu/Alu: alumínio/alumínio; PEAD: polietileno de alta densidade.

O aumento dos produtos de degradação do maleato de enalapril pode ser atribuído à umidade residual dos comprimidos e à exposição destes à umidade do ambiente, além da temperatura. Após os comprimidos serem acondicionados, ao longo da estabilidade a umidade residual reage com o maleato de enalapril livre aumentando os produtos de degradação. Esta umidade pode estar atribuída ao processo de granulação úmida, ao qual normalmente é submetido o produto, assim como a absorção de umidade através da permeação de vapores pela barreira da embalagem primária (AL-OMARI *et al.*, 2001; STANISZ, 2003; EYJOLFSSON, 2003; SIMONCIC *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2008; REZENDE *et al.*, 2008).

2.6. Perfil de dissolução e equivalência farmacêutica

As formas farmacêuticas sólidas são as que mais apresentam problemas de biodisponibilidade pois implicam em uma série de processos farmacêuticos que, se não forem adequados, podem afetar a desintegração e dissolução do fármaco, impedindo, assim, a liberação e absorção da substância ativa. A atividade terapêutica não depende apenas da atividade intrínseca do fármaco, mas fundamentalmente da formulação e da forma farmacêutica (STORPIRTIS & CONSIGLIERI, 1995; STORPIRTIS, 1998).

Pode-se definir, simplificarmente, o processo de dissolução como o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e torna-se disponível para ser absorvido pelo organismo. O ensaio de dissolução resume-se a um teste no qual o fármaco passa para a forma solúvel a partir da forma farmacêutica intacta ou de seus fragmentos e partículas formadas durante o teste (MANADAS *et al.*, 2002). Os estudos de dissolução *in vitro* tornaram-se fundamentais para assegurar a qualidade das formulações sólidas orais, bem como para permitir a otimização das mesmas quando em desenvolvimento. Isso porque a velocidade em que a dissolução ocorre determinará a liberação do fármaco e a sua posterior absorção (BANAKAR, 1992; MANADAS *et al.*, 2002).

A Resolução de Diretoria Colegiada - RDC 31/2010 (BRASIL, 2010b) cita que forma farmacêutica de liberação imediata é a aquela na qual a dose total da substância ativa é disponibilizada rapidamente após sua administração. Existem dois conceitos

de dissolução para formas farmacêuticas sólidas: dissolução rápida e muito rápida. O produto é considerado de dissolução muito rápida quando apresenta dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em até 15 minutos e de dissolução rápida quando apresenta dissolução média de no mínimo 85% da substância ativa em até 30 minutos.

A equivalência farmacêutica entre dois medicamentos relaciona-se à comprovação de que ambos são de mesma forma farmacêutica, mesma via de administração e mesma quantidade da mesma substância ativa, podendo ou não conter excipientes idênticos, desde que bem estabelecidos para a função destinada (SHARGEL & YU,1999; BRASIL, 2010b).

Conforme a RDC 31/2010 (BRASIL, 2010b), o perfil de dissolução comparativo deve ser realizado entre o medicamento teste e o medicamento referência. O medicamento referência deste estudo, Renitec® 20 mg da Merck Sharp & Dohme, consta na lista de medicamentos referência da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Na figura 4 está exibida a imagem do medicamento referência em sua embalagem primária e secundária, assim como o comprimido em si.

Figura 4 – Medicamento referência Renitec 20 mg na embalagem primária Alu/Alu (A), embalagem secundária cartucho (B) e imagem do comprimido (C).



2.7. Técnicas de caracterização e pré-formulação

A completa caracterização e compreensão das interações físico-químicas de um IFA é parte indispensável da fase de pré-formulação do desenvolvimento de medicamentos, uma vez que é desejável a garantia da eficácia, segurança e da

estabilidade de um produto farmacêutico. Em uma forma farmacêutica, um IFA entra em contato direto com os outros componentes (excipientes) da formulação que facilitam a administração e liberação de um componente ativo, bem como o protege do ambiente. Embora os excipientes sejam considerados farmacologicamente inertes, estes podem interagir com os fármacos no produto final, afetando a estabilidade nos aspectos físicos, afetando a dissolução ou causando a degradação do fármaco (CHADHA & BHANDARI, 2014).

Pesquisadores têm explorado diversas técnicas para a caracterização inicial de excipientes e IFA adequados à medicamentos, com o objetivo de minimizar ou mitigar eventos indesejáveis (problemas de estabilidade) que surgem a partir da incompatibilidade fármaco/excipiente. Várias pesquisas surgiram na última década destacando o uso de ferramentas analíticas para caracterização de IFAs e excipientes. As técnicas analíticas mais utilizadas para estes estudos são os métodos térmicos, como a calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), análise térmica diferencial (TGA), microcalorimetria isotérmica, microscopia de placa aquecida (*hot stage microscopy*) (GIRON, 1995; BRITAIN *et al.*, 1991; BRITAIN, 1999; BHARATE *et al.*, 2010; CHADHA & BHANDARI, 2014).

Técnicas espectroscópicas, como espectroscopia de ressonância magnética nuclear do estado sólido e espectroscopia no infravermelho próximo, possuem potenciais aplicações na análise de produtos farmacêuticos. Estas técnicas também são utilizadas para caracterização de materiais farmacêuticos (CHADHA & BHANDARI, 2014). Além das técnicas térmicas e espectroscópicas, faz-se uso da difratometria de raios X de pó (DRXP), a qual dá-se muita importância também.

Estas técnicas têm peculiaridades intrínsecas e variam nos seus princípios de funcionamento, como: o estresse mecânico e térmico que é aplicado sobre a amostra, o tempo de análise, a quantidade de amostra requerida, a sensibilidade da técnica para mudanças e a necessidade de padrões internos ou externos. Além disso, alguns dos métodos utilizados para a avaliação da compatibilidade têm pobre valor preditivo. Assim, uma combinação de métodos deve ser aplicada na identificação correta da incompatibilidade e caracterização de materiais (CHADHA & BHANDARI, 2014).

Dentre todas técnicas destacadas acima, serão brevemente detalhadas a seguir as técnicas de DSC, TG e DRXP.

2.7.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG)

Ionashiro (2004) define as técnicas termoanalíticas de caracterização da seguinte forma: “é um grupo de técnicas nas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida como função da temperatura, enquanto a substância é submetida a um programa controlado de temperatura”. Este conceito é aceito pela Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria.

A amostra é submetida a um ambiente com temperatura controlada por um dispositivo e suas alterações monitoradas. Essas alterações produzem sinais elétricos que são amplificados e aplicados a um sistema de leitura. Assim, o analista pode ajustar o equipamento para obter uma análise isotérmica (temperatura constante) ou pode ser ajustado para fazer com que a sua temperatura varie linearmente com o tempo de acordo com as características das transformações das amostras (IONASHIRO, 2004).

Essas técnicas permitem obter informações como: variação de massa, estabilidade térmica, água livre e ligada, pureza, ponto de fusão, ponto de ebulição, calores de transição, calores específicos, diagramas de fase, cinética de reação, entre outras informações de grande importância para uma caracterização completa de um material (IONASHIRO, 2004; CHADHA & BHANDARI, 2014).

Na técnica de DSC mede-se a diferença de energia fornecida a uma amostra e a um material referência, em função da temperatura, enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Existem dois métodos de medição da energia de entalpia: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor (IONASHIRO, 2004). Neste trabalho será utilizada a técnica que promove o fluxo de calor. Na primeira configuração a amostra e o material de referência são aquecidos em compartimentos separados em condições isotérmicas e submetidos à igual variação de potência de entrada no forno. Neste caso, os eventos são apresentados na curva DSC como picos, os ascendentes correspondem a processos endotérmicos e os descendentes a exotérmicos.

No caso da DSC com fluxo de calor, a amostra e o material de referência são colocados em cápsulas idênticas, localizadas sobre o disco termoeletrico e aquecidas por uma única fonte de calor. As curvas DSC obtidas nesse sistema mostram picos

ascendentes que caracterizam eventos exotérmicos, enquanto os descendentes eventos endotérmicos (MACHADO & MATOS, 2004). Por meio destas duas técnicas é possível identificar alterações físicas ou químicas da amostra, como transições de fase ou reações. De modo geral transições de fase, desidratações, reduções e certas reações de decomposição produzem efeitos endotérmicos, enquanto que cristalizações, oxidações, algumas reações de decomposição produzem efeitos exotérmicos (IONASHIRO, 2004).

O equipamento de TG possui um princípio de funcionamento semelhante ao do DSC. Uma termobalança composta de um forno elétrico e uma balança de alta precisão. A amostra é inserida em um porta-amostra sob atmosfera controlada, inicia-se o aquecimento, assim o equipamento registra a massa do analito simultaneamente (IONASHIRO, 2004).

Os componentes fundamentais do TG são: balança registradora, forno, suporte da amostra e sensor de temperatura, programador da temperatura do forno, sistema registrador e controle da atmosfera do forno. A temperatura do forno, que pode operar até 2400 °C, é determinada por um termopar que necessita estar o mais próximo possível do suporte de amostra. A atmosfera de trabalho pode ser controlada, permitindo-se trabalhar com atmosfera estática ou dinâmica, com pressão ambiente ou reduzida (IONASHIRO, 2004).

Segundo Ionashiro (2004), os fatores que podem influenciar as curvas de TG são: fatores instrumentais (razão de aquecimento do forno, atmosfera do forno, geometria do suporte de amostras e do forno) e fatores relacionados às características da amostra analisada (tamanho das partículas, quantidade de amostra, solubilidade dos gases liberados na própria amostra, calor de reação, compactação da amostra, natureza da amostra, condutividade térmica da amostra).

2.7.2. Difração de raios X

A difratometria de raios X tem sido fundamental para o desenvolvimento de muitos campos científicos. Nas suas primeiras décadas de uso, este método foi utilizado para determinar o tamanho de átomos, os comprimentos e tipos de ligações químicas, e as diferenças de escala atômica entre vários materiais. O método revelou

também a estrutura e o funcionamento das diversas moléculas biológicas, incluindo vitaminas, fármacos, proteínas e ácidos nucleicos. A difratometria de raios X ainda é o principal método para a caracterização da estrutura cristalina de materiais (NEWMAN & BYRN, 2003; RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004).

A difração de raios X (DRX) de cristais foi descoberta por M. Von Laue em 1912 que mostrou que o fenômeno podia ser descrito como a difração de uma rede tridimensional. Contudo, William Laurence Bragg foi pioneiro na exploração da semelhança entre a difração e a comum reflexão, demonstrando que a distância angular da radiação dispersa pode ser interpretada considerando que os raios difratados possuem um comportamento semelhante aos refletidos por planos que passam através de pontos da rede cristalina (GEORGE & LYLE, 1989; CLEGG, 1998; DATTA, 2004).

Considerando dois ou mais planos de uma estrutura cristalina, as condições para que ocorra a difração de raios-X depende da diferença de caminho percorrida pelos raios X e o comprimento de onda da radiação incidente. Esta condição é expressa pela equação de Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$) onde λ corresponde ao comprimento de onda da radiação incidente, n a um número inteiro (ordem de difração), d à distância interplanar para o conjunto de planos da estrutura cristalina e θ ao ângulo de incidência dos raios-X (GEORGE & LYLE, 1989; CLEGG, 1998; DATTA, 2004).

Os métodos cristalográficos de raios X refletem as diferenças na estrutura cristalina dos materiais. A difração de raios X (DRX) pode ser dividida em dois métodos: análise de pó e análise de monocristal. A difração de raios X de pó (DRXP) é amplamente usada na identificação qualitativa de fases polimórficas únicas ou de misturas de fases, enquanto que a difração de raios X de monocristal (DRXMC) é utilizada para a determinação detalhada da estrutura cristalina de uma única fase. Dentre as vantagens desta técnica, destacam-se a simplicidade, confiabilidade e o fato de não ser destrutiva (YU *et al.*, 1998; RODRÍGUEZ-SPONG *et al.*, 2004, DATTA, 2004).

Um material cristalino exibe um único conjunto de picos de difração e a ausência de picos pode indicar que o material é amorfo ou que não foi possível detectar usando os parâmetros selecionados. Esta técnica pode ser muito útil na avaliação de alterações de fase ocorridas em função da influência do próprio processo de fabricação do medicamento, como das etapas de compressão e granulação via úmida, dentre outras (NEWMAN & BYRN, 2003; CHADHA & BHANDARI, 2014).

2.8. Estabilidade e incompatibilidade

Testes de estabilidade em produtos farmacêuticos produzem evidências sobre como a qualidade do produto varia com o tempo sob a influência de fatores ambientais, permitindo assim a determinação do tempo de prateleira do produto e a recomendação das condições de armazenamento (ICH, 2003). A instabilidade de formulações farmacêuticas pode ser detectada pela alteração do aspecto do produto como cor, odor e sabor. Entretanto, em outros casos ocorrem alterações químicas que só podem ser detectadas por métodos analíticos (ANSEL *et al.*, 2000).

As impurezas podem resultar de alterações químicas durante a síntese do fármaco ou do armazenamento da forma farmacêutica. A reação com os excipientes ou mesmo o contato com a embalagem primária podem ser motivos de alteração. Os estudos de estabilidade de um fármaco começam com a exposição da matéria-prima às condições de estresse tais como temperatura, umidade, acidez, basicidade, oxidação química, fotoexposição e/ou exposições a metais (ICH, 2003), seguidos dos testes de estabilidade da forma farmacêutica (OLIVEIRA *et al.*, 2009).

Os testes de estresse da substância ativa podem ajudar a detectar os produtos susceptíveis a degradação, que, por sua vez, corroboram para o estabelecimento das vias de degradação e estabilidade intrínseca da molécula, bem como para o desenvolvimento de ensaios analíticos indicativos de estabilidade. A natureza do teste de estresse utilizado poderá depender do fármaco e do tipo de produto envolvido (ICH, 2003).

Órgãos regulatórios de vários países estabelecem guias para a condução dos estudos de estabilidade e em geral estes testes subdividem-se em estudos de estabilidade acelerada e estudos de estabilidade de longa duração. A ANVISA estabelece três diferentes tipos de estudo de estabilidade Resolução nº1 (RE) “Guia para realização de estudos de estabilidade”, de 29 de julho de 2005.

- Estudo de estabilidade acelerado
“Estudo projetado para acelerar a degradação química e/ou mudanças físicas de um produto farmacêutico em condições forçadas de armazenamento.”
(BRASIL, 2005)
- Estudo de estabilidade de acompanhamento

“Estudo realizado para verificar que o produto farmacêutico mantém suas características físicas, químicas, biológicas, e microbiológicas conforme os resultados obtidos nos estudos de estabilidade de longa duração.” (BRASIL, 2005)

- Estudo de estabilidade de longa duração

“Estudo projetado para verificação das características físicas, químicas, biológicas e microbiológicas de um produto farmacêutico durante e, opcionalmente, depois do prazo de validade esperado. Os resultados são usados para estabelecer ou confirmar o prazo de validade e recomendar as condições de armazenamento.” (BRASIL, 2005)

O estudo de estabilidade físico-química do maleato de enalapril em comprimidos com diferentes formulações tem o objetivo de determinar a influência de vários fatores, como aquecimento, umidade, luz e matriz do fármaco no processo de degradação do IFA, assim como determinar o caminho deste processo (AL-OMARI *et al.*, 2001).

Al-Omari e colaboradores, em 2001, realizaram um estudo de estabilidade com dois produtos comerciais do mercado farmacêutico da Jordânia objetivando identificar a influência da matriz de formulação no processo de degradação do maleato de enalapril.

O produto “A” (matriz básica) com bicarbonato de sódio como agente estabilizador do maleato de enalapril, embalado em blíster Alu/Alu, e o produto “B” (matriz ácida) com ácido palmítico como estabilizador, embalado com blíster PVC/Alu, foram adquiridos no mercado farmacêutico da Jordânia e submetidos ao estudo de estabilidade a 40 °C / 75% de umidade relativa (UR), durante 6 meses. Os comprimidos fora do acondicionamento de fábrica e IFA puro também foram submetidos ao mesmo estudo (AL-OMARI *et al.*, 2001).

O maleato de enalapril puro, estocado por 6 meses a 40 °C / 75%UR, mostrou insignificante degradação das duas substâncias relacionadas, demonstrando excelente estabilidade do material (AL-OMARI *et al.*, 2001).

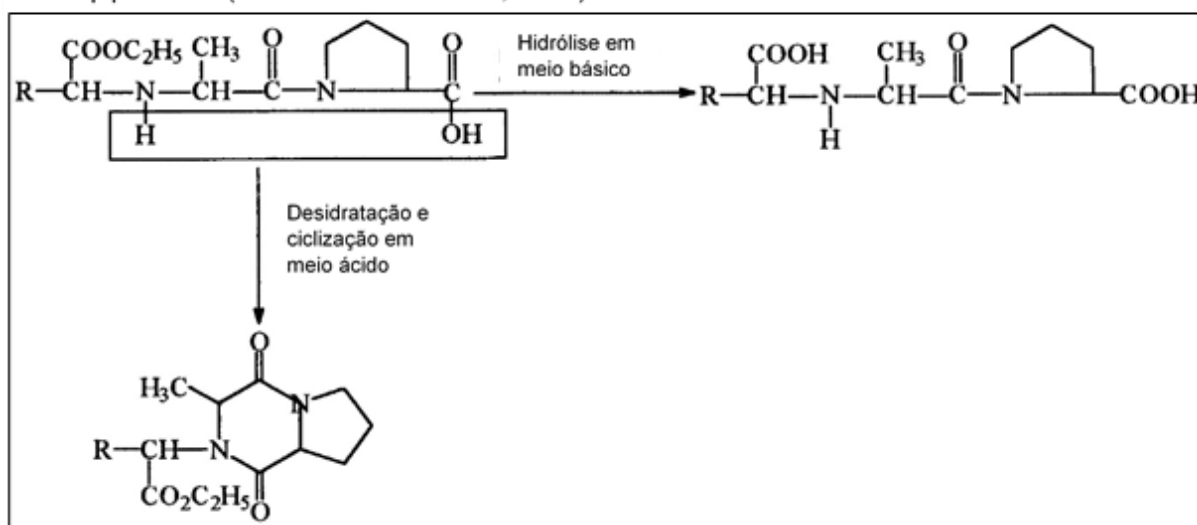
Após 6 meses, os resultados do produto “A” (matriz básica) acondicionado fora do blíster exibiram degradação mais significativa do que o produto “B” (matriz ácida). O percentual de enalapril recuperado na análise de teor foi de 85% (matriz básica – “A”) e 97% (matriz ácida “B”), onde o enalaprilato foi a principal substância relacionada

(SR) do produto “A”, com 11,9%, e a dicetopiperazina foi a principal SR para o produto “B”, com 5,7% (AL-OMARI *et al.*, 2001).

Os comprimidos acondicionados no blíster do produto “B” (matriz ácida) exibiram insignificante degradação após 6 meses de estabilidade. O percentual de enalapril recuperado na análise de teor foi 101,2% e a concentração total de substâncias relacionadas foi de apenas 1,3%. O produto “A” (matriz básica) mostrou maior tendência à degradação nas mesmas condições, recuperando 95% de maleato de enalapril e total de substâncias relacionadas de 4,4% (AL-OMARI *et al.*, 2001).

Al-Omari e colaboradores (2001) concluíram em seu estudo que os produtos com matriz ácida (produto “B”) exibem maior estabilidade físico-química do que os produtos com matriz básica (produto “A”). Também afirmaram que o processo de degradação do maleato de enalapril é dependente de umidade, temperatura de estocagem e material de acondicionamento. Ao fim do estudo, Al-Omari e colaboradores (2001) propõem o caminho de degradação para o maleato de enalapril em cada meio, ácido e básico. Para o processo de degradação em meio ácido ocorre uma desidratação seguida de ciclização, gerando a dicetopiperazina, enquanto que no meio básico ocorre uma hidrólise, originando o enalaprilato. O esquema está exibido na figura 5.

Figura 5 – Esquema do processo de degradação do maleato de enalapril em enalaprilato e dicetopiperazina. (Fonte:AL-OMARI *et al.*, 2001)



De acordo com Kumar e colaboradores (2008) o maleato de enalapril é comercializado na forma cristalina II, a qual é susceptível a degradação pelo efeito da umidade em formulações básicas e fotossensível em formulações de matriz ácida. Estes conceitos corroboram, de certo ponto de vista, o estudo de Al-Omari e colaboradores (2001).

No mercado farmacêutico brasileiro existem vários fabricantes de maleato de enalapril. Lima e colaboradores (2008) realizaram um estudo de estabilidade de produtos já comercializados, similar ao de Al-Omari e colaboradores (2001). Neste estudo, os pesquisadores retiraram do mercado brasileiro 9 produtos (maleato de enalapril 20 mg) para realização do estudo de estabilidade por 6 meses, dentre eles similares, genéricos e o medicamento referência.

Todos os produtos estavam embalados em blíster Alu/Alu e foram acondicionados em estufa 40 °C a 75% UR. O estudo foi conduzido conforme guia de condução de estabilidade do ICH e RE nº1 de 2005 (LIMA *et al.*, 2008).

Foram realizadas análises de teor e dissolução nas amostras em 0, 30, 90 e 180 dias da estabilidade. Constatou-se que apenas 4 dos 9 produtos testados permaneceram dentro das especificações de teor e dissolução. Assim, concluíram que o maleato de enalapril é altamente susceptível a degradação, podendo trazer influência para a biodisponibilidade do fármaco no tratamento da hipertensão (LIMA *et al.*, 2008).

A completa caracterização e compreensão das interações físico-químicas de um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) é uma parte importante da fase de pré-formulação no desenvolvimento de novos produtos, uma vez que é desejável a garantia de eficácia, segurança e estabilidade do produto farmacêutico. Numa forma farmacêutica, o IFA entra em contato direto com os outros componentes (excipientes) da formulação que facilitam a administração e liberação deste, bem como promove a estabilidade (BHARATE *et al.*, 2010; CHADHA & BHANDARI, 2014).

Embora excipientes sejam considerados farmacologicamente inertes, eles podem interagir com fármacos, afetando a estabilidade do produto nos aspectos físico-químicos, tais como propriedades organolépticas, dissolução ou causando a degradação do fármaco. A seleção cuidadosa de excipientes faz-se necessária para uma formulação robusta e eficaz de medicamentos que tornam mais fácil a administração, aumentam a adesão do paciente, promovem a liberação e biodisponibilidade dos fármacos e aumentam a sua vida de prateleira. Assim, o estudo

de compatibilidade de um IFA com excipientes ou outros ingredientes ativos é reconhecido como altamente recomendável durante o desenvolvimento de medicamentos (BHARATE *et al.*, 2010; CHADHA & BHANDARI, 2014).

A utilização de métodos termoanalíticos nas etapas iniciais de estudos de pré-formulação têm contribuído significativamente para a detecção precoce, monitoramento e caracterização da incompatibilidade de IFAs, evitando desperdício de material e reduzindo consideravelmente o tempo necessário para chegar a uma formulação de produto adequada (CHADHA & BHANDARI, 2014).

O primeiro estudo de compatibilidade do maleato de enalapril foi realizado por Cotton e colaboradores, em 1987. Foi estudada a interação da celulose microcristalina com o maleato de enalapril, onde este excipiente reduziu o ponto de fusão do IFA. Com uma taxa de aquecimento de 10 °C/minuto, a curva de DSC para o maleato de enalapril mostrou dois eventos endotérmicos parcialmente sobrepostos. O primeiro, devido à fusão, e o segundo devido à decomposição térmica do maleato de enalapril (COTTON *et al.*, 1987).

Além do estudo de compatibilidade com a celulose microcristalina, Cotton e colaboradores (1987) também observaram que o dióxido de silício coloidal, em mistura binária 1:1 com o maleato de enalapril, diminuiu em 20 °C a temperatura de degradação do IFA. Concluíram que este pode não ser um fato a ser considerado alarmante, pois as concentrações usuais deste excipiente não atingem mais do que 1% normalmente. Rezende e colaboradores (2008) estudaram a incompatibilidade do maleato de enalapril com o dióxido de silício e bicarbonato de sódio. Utilizaram técnicas analíticas como termogravimetria (TG), termogravimetria diferencial (DTG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) em misturas binárias 1:1 e destes materiais isolados.

Figura 6 – Curvas de DSC, TG e DTG do maleato de enalapril puro (Fonte: REZENDE *et al.*, 2008).

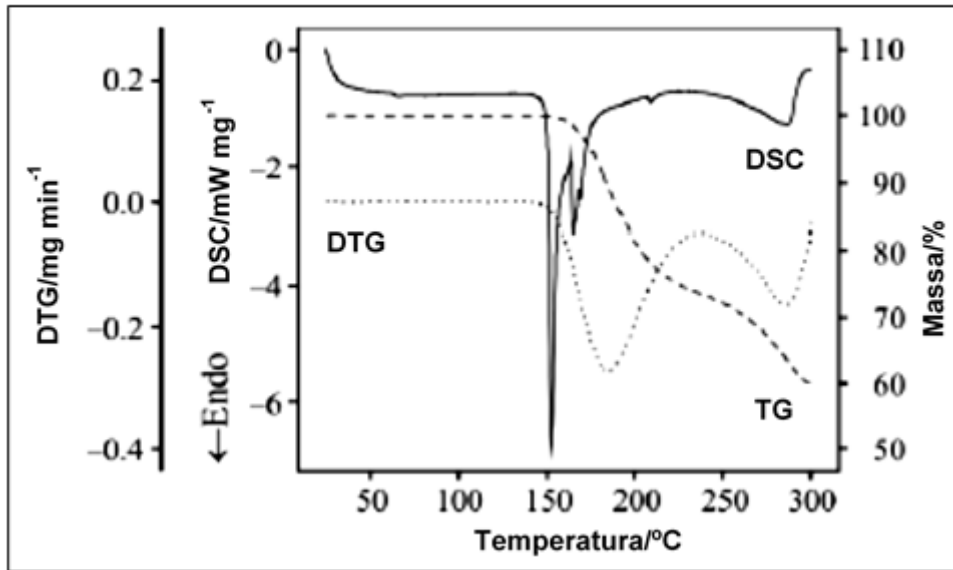
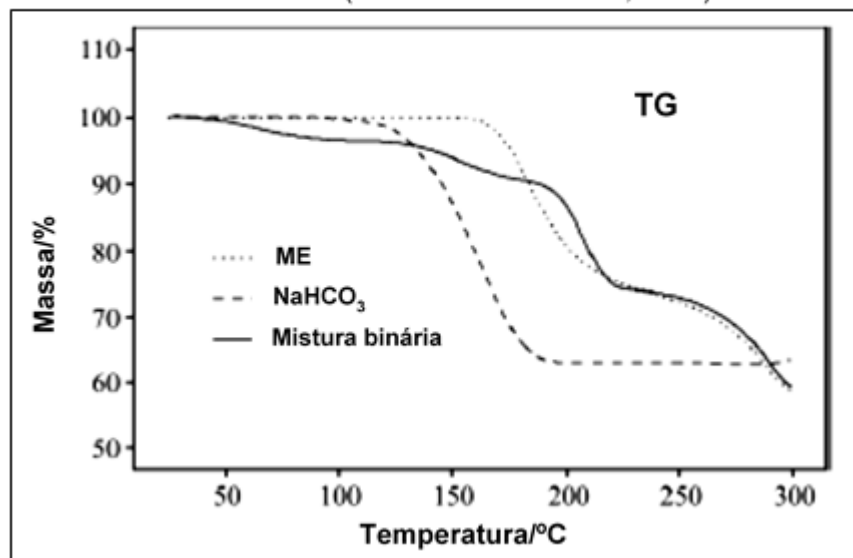


Figura 7 – Curvas de TG do maleato de enalapril puro, bicarbonato de sódio e mistura binária 1:1 (Fonte: REZENDE *et al.*, 2008).



As curvas do estudo de compatibilidade demonstraram que o bicarbonato de sódio é capaz de reagir com o maleato de enalapril em temperaturas abaixo de 30 °C, o que deixa clara a possibilidade de degradação do IFA em condições normais de estocagem do produto final. As curvas de DSC, TG e DTG do IFA puro, do bicarbonato de sódio puro e da mistura binária 1:1, estão representados nas figuras 6 e 7, respectivamente (REZENDE *et al.*, 2008).

Mesmo considerando as possibilidades da utilização de agentes estabilizadores em diferentes concentrações, faz-se necessário a definição exata de cada excipiente a ser utilizado na formulação dos comprimidos de maleato de enalapril 20mg, assim como a rota de fabricação destes, para garantia da estabilidade do produto final. Pode-se observar que mesmo com a utilização destes agentes estabilizadores, os comprimidos de maleato de enalapril ainda geram produtos de degradação e diminuem sua atividade farmacológica.

Atualmente muito se observa a importância e influência dos polimorfos nas características físicas e físico-químicas dos insumos farmacêuticos. Embora idênticos na sua composição química, polimorfos podem diferir na biodisponibilidade, solubilidade, taxa de dissolução, estabilidade química, estabilidade física, no ponto de fusão, na cor, densidade, no comportamento de fluxo e em outras propriedades. A eficácia terapêutica de um medicamento está diretamente relacionada a estas condições, além também da morfologia e do tamanho da partícula. Assim, é importante para a indústria farmacêutica o controle e a identificação de todos os polimorfos em um medicamento (LLINÀS & GOODMAN, 2008).

Apesar dos investimentos significativos em processos para encontrar todos os polimorfos estáveis de inúmeros fármacos, novos polimorfos ainda surgem constantemente. Os polimorfos podem converter-se espontaneamente a partir da forma menos estável para formas mais estáveis, e o polimorfo mais estável será, na maioria dos casos, o menos solúvel. Solubilidade pode ser um fator limitante na eficácia de um IFA e o melhor é tentar descobrir e caracterizar o polimorfo mais estável o mais cedo possível (LLINÀS & GOODMAN, 2008).

2.9. **Processo de fabricação**

A compressão direta é o método preferencial para a produção de comprimidos, devido à economia de tempo e energia, por requerer menor número de etapas no processamento do que os métodos tradicionais de granulação. Porém, nem sempre é possível sua utilização pois, dependendo da formulação empregada, a compressibilidade dos excipientes e do fármaco pode apresentar deficiência na

formação dos comprimidos causando problemas de “capping”, aderência e dureza (BANKER & ANDERSON, 2001; NIAZI, 2004).

No processo de compressão, há necessidade de que os pós preencham as matrizes e as cavidades intra-grânulos. Há dificuldade de que este evento ocorra facilmente, pois os pós devem fluir facilmente e frequentemente observamos a impossibilidade de tal processo. Com o tamanho de partícula pequeno, há aumento da área superficial, atrito interparticular o que impede o fluxo do pó. Portanto, para alguns materiais é necessário o emprego da forma granular, seja ela por via úmida ou por via seca (BANKER & ANDERSON, 2001; NIAZI, 2004).

A granulação tem o objetivo transformar partículas de pós cristalinos ou amorfos em agregados sólidos de resistência e porosidade variadas. Em comparação à mistura para compressão direta pode-se citar algumas vantagens da granulação (COUTO *et al.*, 2000):

- Melhor conservação da homogeneidade da distribuição dos componentes e das fases granulométricas.
- Maior densidade e melhoramento do escoamento.
- Maior reprodutibilidade do ensaio volumétrico.
- Melhoria da compressibilidade.
- Maior resistência mecânica.

Os pós podem ser transformados em forma granular, ao passar por um processo de molhagem, geralmente com um agente ligante, e secagem para que formem as ligações entre as partículas. Com o aumento da adição de líquido e com a malaxagem as partículas se aproximam, há diminuição dos espaços vazios dentro dos grânulos. Para obtenção de um granulado ideal, procura-se atingir o estado capilar, o que coincide com a resistência máxima do material em seu estado úmido. O processo de granulação úmida pode ser otimizado com a instrumentação de equipamentos que verifiquem o aumento da resistência mecânica do material ao passo que são granulados (COUTO *et al.*, 2000; BANKER & ANDERSON, 2001; NIAZI, 2004).

Após a secagem é realizado o processo de calibração ou normalização, onde é adequado um tamanho de partícula ao material granulado e seco. Um passo muito importante para a compressibilidade do material e garantia de estabilidade do produto

final é a determinação do teor de umidade. A umidade nos materiais granulados podem afetar principalmente no processo de compressão, pois esta água presente nos grânulos preenchem os espaços entre o leito de pós e atuam como lubrificante também (COUTO *et al.*, 2000; BANKER & ANDERSON, 2001; NIAZI, 2004).

De acordo com alguns arquivos e patentes, foi evidenciado que o maleato de enalapril é produzido pelo processo de granulação via úmida, por isto, faz-se necessário a utilização deste método para condução do estudo, porém a verificação de outro método (compressão direta) também é útil, de modo a confirmar a escolha ideal para o desenvolvimento do produto. As referências bibliográficas citadas neste trabalho confirmam a necessidade do detalhamento das características físico-químicas do maleato de enalapril, dos excipientes da formulação proposta e dos medicamentos comercializados no mercado nacional, de forma a gerar maior riqueza de informações para o desenvolvimento da formulação de maleato de enalapril 20mg.

3. JUSTIFICATIVA

A hipertensão arterial é o principal fator de risco para doenças cerebrovasculares e doenças isquêmicas do coração, sendo uma das causas mais importantes para a morbidade e a mortalidade cardiovascular. Em 2012 foi divulgado o relatório de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL) de 2011 com dados referentes ao diagnóstico de hipertensão arterial. Os dados demonstraram que, na população adulta das 27 cidades pesquisadas, a abrangência da hipertensão arterial alcançou 22,7%. As mulheres atingiram 25,4% e os homens 19,5% dos acometimentos (BRASIL, 2012).

Notoriamente a eficácia terapêutica do enalapril no tratamento da hipertensão essencial e renovascular está confirmada, bem como no tratamento da insuficiência cardíaca congestiva. No entanto, estudos indicam que a estabilidade do maleato de enalapril pode ser afetada quando submetido a altas temperaturas e umidade, levando à instabilidade do produto final. Há relatos científicos de que o maleato de enalapril é incompatível com alguns excipientes, além de um polimorfo mostrar-se mais estável que o outro, dentre aqueles comercialmente disponíveis.

Tendo em vista a demanda de desenvolvimento do medicamento maleato de enalapril comprimidos simples de 20 mg para o portfólio de Farmanguinhos e sua relevância, no que tange à necessidade de melhoramento das propriedades físico-químicas do produto acabado e à abrangência de seu uso no Sistema Único de Saúde, pretende-se com este trabalho realizar o estudo de pré-formulação, através da proposição de uma formulação preliminar com base no medicamento referência (Renitec®) e um processo de fabricação que propicie a estabilidade físico-química do produto acabado.

4. OBJETIVOS

4.1. Geral

Este trabalho tem como objetivo a caracterização de medicamentos do mercado farmacêutico nacional e realização de estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de uma formulação de maleato de enalapril 20 mg na forma farmacêutica de comprimidos simples.

4.2. Específicos

- Caracterização das propriedades físicas, físico-químicas, térmicas (DSC e TG) e cristalográficas (DRXP) do insumo farmacêutico ativo maleato de enalapril.
- Pesquisa comparativa da composição qualitativa das formulações de maleato de enalapril 20 mg do mercado nacional – referência, genéricos e similares.
- Caracterização térmica e cristalográfica dos excipientes destinados à proposta de formulação de maleato de enalapril 20 mg comprimidos simples.
- Caracterização térmica dos medicamentos comercializados no mercado nacional – referência, genéricos e similares.
- Estudo de estabilidade preliminar com duas propostas de formulação e processo, com posterior caracterização físico-química e por análise térmica.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1. Material

5.1.1. Insumos

- Maleato de enalapril, fabricante 1 – 60998.
- Maleato de enalapril, fabricante 2 – 30111011215.
- Renitec 20mg comprimidos, Merck Sharp & Dohme – Lote MH003.
- Maleato de enalapril 20mg comprimidos – similar 1 – 04/2012.
- Maleato de enalapril 20mg comprimidos – similar 2 – 10121122.
- Maleato de enalapril 20mg comprimidos – similar 3 – 10181S.
- Maleato de enalapril 20mg comprimidos – genérico 1 – 392157.
- Amido de milho, fabricante Cargill – Lote 60999.
- Amido de milho parcialmente pré-gelatinizado, fabricante Colorcon – Lote IN519438.
- Amido de milho pré-gelatinizado, fabricante Cargill – Lote 52714.
- Bicarbonato de sódio, fabricante Química Geral do Nordeste S/A – Lote 07071017.
- Estearato de magnésio, fabricante Magnesia GmbH – Lote 476771.
- Lactose mono-hidratada, fabricante DMV Fonterra – Lote EU230027.
- Lactose anidra, fabricante Foremost – Lote 1320012607.
- Óxido de ferro vermelho, fabricante Eskisa S/A – Lote 99030028.
- Óxido de ferro amarelo, fabricante Eskisa S/A – Lote 50016FI.
- Hidróxido de sódio, fabricante Proquímios – Lote 08/0640.
- Fosfato de potássio, fabricante Vetec Química Fina LTDA – Lote 0902190.
- Acetonitrila, fabricante Merck – Lote I638330.
- Enalaprilato SQR, fabricante USP – Lote J1G349.
- Maleato de enalapril SQR, fabricante FB – Lote 1029.

5.1.2. Equipamentos

- Agitador de peneiras Produtest modelo Granutest.
- Agitador mecânico IKA modelo Eurostar Power ControlVisc.
- Agitador magnético multiposicional IKA modelo RT 15 Power.
- Analisador de umidade por infravermelho Gehaka modelo IV2000.
- Analisador de dureza, espessura e diâmetro Erweka modelo TBH310MD.
- Analisador termogravimétrico (TGA) Mettler Toledo modelo 851^e.
- Balança semi-analítica Mettler Toledo, modelo PB 8001.
- Balança analítica Mettler Toledo modelo AL204.
- Balança semi-analítica Shimadzu modelo UX4200H.
- Bomba peristáltica Watson Marlow modelo 323 UD.
- Banho ultrassônico Unique modelo 8,5L.
- Calorímetro exploratório diferencial (DSC) Mettler Toledo modelo 822^e.
- Compressora rotativa Fette modelo 102i.
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência – Sistema 5 – Shimadzu Class - Modelo LC 10AT.
- Desintegrador de comprimidos e cápsulas Erweka modelo ZT-71.
- Difratorômetro Bruker D8 Focus.
- Dissolutor Distek Evolution 6100.
- Equipamento para determinação do ângulo de repouso e fluxo através de orifícios Erweka, modelo GTB.
- Espectrômetro de infravermelho próximo Perkin Elmer modelo Spectrum One NTS.
- Espectrômetro Shimadzu modelo IR Prestige 21.
- Espectrofotômetro Shimadzu modelo UV-1800.
- Friabilômetro Erweka modelo TAR-200.
- Granulador oscilante Erweka modelo AR-400.
- Leito fluidizado Glatt modelo GPCG-3.
- Medidor de densidade Erweka modelo SVM 22.
- Medidor de pH Marte modelo MB10.
- Medidor de ponto de fusão BUCHI modelo B-545.

- Microscópio óptico Olympus BX50.
- Misturador “V” Lawes modelo 10L.
- Misturador/granulador *high shear*¹ (de alto cisalhamento) Diosna modelo P1/6.
- Mufla Fornitec modelo 1646.
- Titulador automático Metrohm modelo 836.

5.2. Métodos

5.2.1. Definição de formulação e processo

Foram avaliadas duas formulações para se obter os comprimidos de maleato de enalapril na concentração de 20 mg, uma pelo processo de granulação via úmida e outra por mistura para compressão direta. O tamanho do lote experimental foi de 2 kg, o qual possibilitou a utilização de uma compressora rotativa instrumentada com *software* galênico – Fette 102i equipada com seis punções circulares planos, com 8 mm de diâmetro a uma velocidade de 10.000 comprimidos/hora.

Estas duas formulações foram submetidas ao estudo de estabilidade prévio de 30 dias em câmara climática a 30 °C / 75% Umidade Relativa e 40 °C / 75% Umidade Relativa (UR). Os comprimidos foram acondicionados em frascos de polietileno de alta densidade (PEAD) com tampa com sílica e sem tampa (condição de estresse). Foram realizadas análises, conforme Farmacopéia Brasileira 5ª edição (FB5ª ed) e United States Pharmacopeia 36 (USP36), no tempo zero da estabilidade e após 30 dias.

A formulação qualitativa contida na bula do medicamento referência (MSD, 2012), Renitec®, da Merck Sharp & Dohme, foi utilizada como ponto de partida para definição das duas formulações iniciais, assim como a avaliação das formulações qualitativas de medicamentos comercializados no mercado farmacêutico nacional. Os excipientes foram definidos quantitativamente com base na experiência profissional e em bibliografia específica, como o Handbook of Pharmaceutical Excipients 6ª edição.

¹ Como o termo “*high shear*” é comumente usado no meio industrial, sem a tradução para o Português, optou-se aqui por manter sua versão em Inglês para facilidade de compreensão entre os profissionais versados na área de tecnologia farmacêutica.

Na tabela 1 abaixo está discriminada a formulação qualitativa do medicamento referência.

Tabela 1 – Formulação qualitativa do medicamento referência.

RENITEC 20 mg – Merck Sharp & Dohme
Maleato de enalapril
Bicarbonato de sódio
Lactose
Amido de milho
Amido de milho pré-gelatinizado
Estearato de magnésio
Óxido de ferro vermelho
Óxido de ferro amarelo

5.2.1.1. Análise das formulações do mercado farmacêutico nacional

A escolha dos excipientes adequados para a formulação de um determinado medicamento está relacionada à forma farmacêutica, ao processo de fabricação, à necessidade de garantia da estabilidade físico-química do produto acabado e outros fatores. Com este pressuposto, foi realizada a compilação dos excipientes das formulações de comprimidos de maleato de enalapril 20 mg do mercado farmacêutico nacional. Com base na bula dos referidos medicamentos foram descritas as formulações e observada a sistemática utilização de determinados excipientes em produtos de diferentes fabricantes. Estas formulações e seus comentários estão exibidos mais adiante no capítulo de resultados e discussões.

5.2.1.2. Lotes experimentais

O peso médio dos comprimidos foi definido em 200 mg, as formulações de 2 kg foram misturadas em misturador em V de 10 litros e comprimidas em compressora rotativa Fette 102i com punções de 8mm, circulares, planos com vinco. Para a formulação 1 (F1), foram utilizados três equipamentos adicionais devido ao processo de granulação via úmida: granulador *high shear* Diosna (bacia de 6 litros), granulador oscilante Erweka, equipado com malha 1,0 mm de abertura, e o leito fluidizado Glatt (7 litros). Devido ao baixo quantitativo do corante óxido de ferro amarelo, foi priorizada a caracterização deste insumo e por este motivo não entrou na formulação neste momento do estudo. Nas tabelas 2 e 3 encontram-se as duas formulações.

Tabela 2 – Formulação 1 (F1) – utilizada na fabricação pelo processo de granulação via úmida.

Matéria-prima	(mg)	%
Maleato de enalapril	20,0	10,0
Lactose mono-hidratada	---	---
Amido de milho pré-gelatinizado	---	---
Amido de milho	---	---
Bicarbonato de sódio	10,0	5,0
Óxido de ferro vermelho	---	---
Estearato de magnésio	---	---
Água purificada*	qsp	qsp
TOTAL	200,0	100,0

* não está presente no produto final.

Tabela 3 – Formulação 2 (F2) – utilizada na fabricação pelo processo de compressão direta.

Matéria-prima	(mg)	%
Maleato de enalapril	20,0	10,0
Lactose mono-hidratada	---	---
Amido de milho pré-gelatinizado	---	---
Bicarbonato de sódio	10,0	5,0
Óxido de ferro vermelho	---	---
Estearato de magnésio	---	---
TOTAL	200,0	100,0

A formulação 1 (F1) teve o objetivo de reproduzir o processo de fabricação e de estabilização físico-química do maleato de enalapril, proposto por Merslavic e colaboradores (1994). Neste processo foi realizada a solubilização do IFA e do bicarbonato de sódio em água purificada para que, posteriormente, fosse aplicada na mistura de excipientes no granulador *high shear*. O granulado foi seco em leito fluidizado e posteriormente calibrado em granulador oscilante. Não houve adição de outros excipientes após a etapa de calibração, a não ser o estearato de magnésio para realização da lubrificação da mistura final.

A formulação 2 (F2) foi fabricada pelo processo de mistura para compressão direta. O processo consistiu na realização de uma mistura prévia do IFA, do bicarbonato de sódio e dos demais excipientes à exceção do estearato de magnésio (lubrificante). Posteriormente foi realizada a mistura final com o lubrificante.

5.2.2. Caracterização de pós

5.2.2.1. Determinação de densidade aparente e batida

A densidade aparente foi determinada em triplicata utilizando-se a metodologia da USP 36, através da introdução de uma massa conhecida de pó (10 g) em uma

proveta graduada previamente tarada, o volume ocupado pelo pó foi registrado e a densidade calculada através da equação 1, descrita abaixo.

A determinação da densidade compactada é realizada utilizando as mesmas amostras da densidade aparente no aparelho Tap Density Tester. As amostras foram submetidas a 10 batidas e foi registrado o volume após esta compactação; em seguida foram realizadas mais 500 batidas e, então, registrado novamente o volume ocupado pelo pó. Em seguida procedeu-se a mais 1250 batidas, registrando-se o volume e calculando-se a diferença entre V500 e V1250.

A diferença entre os volumes após estas duas etapas anteriores deve ser inferior a 2 mL, assim o teste pode ser concluído e o volume final será o obtido após as 1250 batidas. Caso esta diferença seja superior a 2 mL fazem-se necessárias mais 1250 batidas até que a diferença de volume entre a batida anterior e a final seja inferior a 2 mL. O cálculo da densidade compactada está representado na equação 2.

Fórmula para determinação da densidade aparente.

$$D_{ap} = M / V_i$$

Equação 1

Onde:

D_{ap} = densidade aparente.

M = massa em gramas.

V_i = volume inicial em mL ocupado pela amostra na proveta.

Fórmula para determinação da densidade compactada.

$$D_c = M / V_f$$

Equação 2

Onde:

D_c = densidade compactada.

M = massa em gramas.

V_f = volume final em mL, ocupado pela amostra na proveta, após o teste.

5.2.2.2. Índice de compressibilidade e razão de Hausner

O índice de compressibilidade e a razão de Hausner foram calculados após a determinação da densidade aparente e densidade compactada, para cada uma das

três análises realizadas. Desta forma, de acordo com valores obtidos para cada um, correlacionou-se com uma classificação de fluxo de pós do quadro de especificações da USP 36. Abaixo seguem as equações para o cálculo e o quadro 2 de especificações de pós.

Índice de compressibilidade.

$$I_c = (V_i - V_f) \times 100 / V_i$$

Equação 3

Razão de Hausner.

$$R_H = V_i / V_f$$

Equação 4

Onde:

I_c = índice de compressibilidade.

V_i = volume inicial ocupado na proveta.

V_f = volume final ocupado na proveta.

R_H = razão de Hausner.

Quadro 2 – Quadro de especificações de pós.

Fluxo	Ângulo de repouso (°)	Índice de compressibilidade	Razão de Hausner
Excelente	25 - 30	≤ 10	1,00 - 1,11
Bom	31 - 35	11 - 15	1,12 - 1,18
Justo	36 - 40	16 - 20	1,19 - 1,25
Aceitável	41 - 45	21 - 25	1,26 - 1,34
Pobre	46 - 55	26 - 31	1,35 - 1,45
Muito Pobre	56 - 65	32 - 37	1,46 - 1,59
Péssimo	> 66	> 38	> 1,60

Fonte: USP 36 – NF 31– Bulk Density and Tapped Density of Powders.

5.2.2.3. Determinação de tamanho de partícula por ensaio granulométrico de tamises

O método de determinação da granulometria por tamisação foi desenvolvido no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica de Farmanguinhos e envolveu o uso de um

conjunto de tamises (peneiras) padronizados compreendendo uma dada faixa de tamanho requerida. Uma massa de 25 gramas de pó ou granulado foi colocada na posição superior de um conjunto de 7 tamises, mais o fundo (base de recolhimento). Esse conjunto de tamises foi pré-determinado de acordo com o tamanho de partícula estimado do material. Em seguida, todo o conjunto foi submetido a agitação por 120 minutos. Após os 120 minutos, foi pesada a quantidade de material retido em cada tamis e esses valores utilizados para determinação do tamanho médio de partícula. Devido ao quantitativo de amostras retiradas, não foi possível realizar a análise em triplicata.

O experimento F1 foi analisado com o seguinte conjunto de tamises em *mesh* Tyler: 8, 20, 35, 48, 65, 150 e 270. O experimento F2 foi analisado com o seguinte conjunto de tamises em *mesh* tyler: 8, 60, 80, 100, 150, 250 e 325. Esta diferença de tamises dá-se pela característica básica do processo de fabricação de cada um dos experimentos, ou seja, granulação via úmida x mistura para compressão direta.

Os dois fabricantes do IFA também foram analisados. Tanto o Fabricante 1 quanto o Fabricante 2 foram analisados com o seguinte conjunto de tamises em *mesh* Tyler: 28, 48, 80, 100, 150, 200 e 250. Abaixo estão exibidas as equações 5, 6 e 7 para determinação do tamanho médio das partículas.

$$\% RT = (MRT \times 100) / 25 \text{ g} \quad \text{Equação 5}$$

$$TMPR = \% RT \times [(ATS + ATMR)/2] \quad \text{Equação 6}$$

$$TMP = \text{somatório de TMPR} \quad \text{Equação 7}$$

Onde:

% RT – percentual das partículas retidas no tamis

MRT – massa retida no tamis

TMPR – tamanho médio das partículas retidas no tamis

ATS – abertura em micra do tamis superior ao tamis calculado

ATMR – abertura em micra do tamis com a massa retida

TMP – tamanho médio das partículas

5.2.3. Análise térmica

Foram caracterizadas amostras de IFA e excipientes que compuseram as formulações F1 e F2. Além destes, alguns produtos do mercado farmacêutico brasileiro foram analisados. Na tabela 4 estão listados todos materiais caracterizados por DSC e TG.

Tabela 4 – Lista de material analisado por DSC e TG.

Matéria-Prima / Produto	Lote	Fabricante
Maleato de enalapril	60998	Fabricante 1
Maleato de enalapril	30111011215	Fabricante 2
Renitec 20mg comprimidos	MH003	Merck Sharp & Dohme
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	04/2012	Similar 1
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	10121122	Similar 2
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	10181S	Similar 3
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	392157	Genérico 1
Bicarbonato de sódio	07071017	QGN
Estearato de magnésio	476771	Magnesia
Lactose mono-hidratada	EU230027	DMV Fontera
Lactose anidra	1320012607	Foremost
Amido de milho	60999	Cargill
Amido de milho pré-gelatinizado	52714	Cargill
Amido de milho parcialmente pré-gelatinizado	IN519438	Colorcon
Óxido de ferro amarelo	50016FI	Eskisa
Óxido de ferro vermelho	99030028	Eskisa
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	Formulação 1	Farmanguinhos
Maleato de enalapril 20mg comprimidos	Formulação 2	Farmanguinhos
Placebo de formulação F1	Placebo da F1	Farmanguinhos

5.2.3.1. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Para obtenção das curvas de DSC, amostras com massas entre 3,00 e 3,50 mg foram cuidadosamente pesadas em cadinhos de alumínio, os quais foram posteriormente selados com tampas de alumínio perfuradas no momento do experimento. Os ensaios foram realizados em um calorímetro exploratório diferencial Mettler Toledo modelo 822e, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 80 mL/min e razão de aquecimento de 10 °C/min, no intervalo de temperatura de 25 a 300 °C. Especificamente para as amostras do insumo farmacêutico ativo (IFA) maleato de enalapril, as mesmas também foram analisadas nas razões de aquecimento de 80, 40, 20 e 5 °C/min. O equipamento de DSC foi previamente calibrado com índio e zinco metálicos.

5.2.3.2. Termogravimetria (TG)

Para obtenção das curvas de TG, amostras com massa entre 13,5 e 14,5 mg foram cuidadosamente pesadas em cadinhos de óxido de alumínio de 150 µL. Os ensaios foram realizados em um analisador termogravimétrico Mettler Toledo modelo 851^e, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 50 mL/min e razão de aquecimento de 10 °C/min, no intervalo de temperatura de 25 a 1000 °C. O equipamento de TG foi previamente calibrado com índio e alumínio metálicos.

5.2.4. Análise cristalográfica

Os materiais listados na tabela 4 também foram analisados por DRXP. Os padrões de difração de raios X de pó foram obtidos em um difratômetro Bruker modelo D8-Focus da Universidade Federal do ABC (UFABC), utilizando radiação CuK α (λ por K α 1 = 1.54060 Å; λ por K α 2 = 1.54438 Å), tensão de 40 kV e corrente de 40 mA, com velocidade de varredura de 0,07°/segundo no intervalo 2 θ de 2-50°.

5.2.5. Análise de controle em processo

5.2.5.1. Dureza

O teste de dureza determina a resistência mecânica dos comprimidos ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial. Este ensaio foi realizado no equipamento Durômetro Erweka – Modelo TBH310 MD, de acordo com a FB 5ª ed, que preconiza a utilização de 10 comprimidos individualmente.

5.2.5.2. Friabilidade

O teste de friabilidade é utilizado para determinar a resistência à abrasão de comprimidos não revestidos quando submetidos à ação mecânica de aparelhagem específica. O friabilômetro utilizado está descrito na FB 5ª ed, assim como o método geral de análise. O ensaio de friabilidade foi realizado com 20 comprimidos, previamente pesados, e submetidos a 100 rotações (25 rotações por minuto). Após o processo, são novamente pesados e, então, é calculado o percentual de perda de massa dos comprimidos. De acordo com a FB 5ª ed, consideram-se aceitáveis valores inferiores a 1,5 %.

Cálculo de friabilidade.

$$F = [(P_i - P_f) / P_i] \times 100$$

Equação 8

Onde:

F = friabilidade.

P_i = peso inicial de vinte comprimidos.

P_f = peso final de vinte comprimidos.

5.2.5.3. Desintegração

O teste de desintegração foi realizado de acordo com o método geral da FB 5ª ed e consistiu-se em verificar o tempo que os comprimidos levaram para desintegrar-se, estado que é definido quando nenhum resíduo das unidades testadas permanece na tela metálica do equipamento. Em cada análise foram testados 6 comprimidos e determinado o tempo máximo de desintegração em água purificada (37 ± 1 °C).

5.2.5.4. Peso médio

O ensaio de peso médio foi realizado de acordo com o método geral da FB 5ª ed. Foram pesados 20 comprimidos individualmente e determinado o peso médio. A tabela de “Critérios de avaliação da determinação de peso para formas farmacêuticas sólidas em dose unitária”, da FB 5ª ed, permite tolerar até 2 unidades fora da especificação de 7,5 % em relação ao peso médio (variação aceitável para comprimidos entre 80 e 250 mg), porém nenhuma poderá estar acima ou abaixo do dobro da porcentagem indicada.

5.2.6. Análises físico-químicas

5.2.6.1. Doseamento (teor)

Procedeu-se conforme método específico para o maleato de enalapril, preconizado na FB 5ª ed, por CLAE utilizando detector de ultravioleta a 215 nm; coluna de 250 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada à grupo octilsilano (5 µm), mantida a temperatura de 50 °C; fluxo da fase móvel de 2,0 mL/minuto. Fase móvel: mistura de tampão fosfato pH 2,2 e acetoneitrila (75:25). Especificação: 90 a 110 %.

5.2.6.2. Substâncias relacionadas

Procedeu-se conforme método geral de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) da FB 5ª ed. com detector de ultravioleta a 215 nm (método de doseamento). Calculada a percentagem de cada pico obtido no cromatograma da solução amostra, excluindo-se o pico relativo ao maleato de enalapril, não mais do que 2,0 % de impurezas totais devem ser detectadas.

5.2.6.3. Dissolução

As análises perfil de dissolução foram realizadas conforme Farmacopeia Americana (USP 36) devido ao reconhecido erro na metodologia de preparo do tampão fosfato pH 6,8 da FB 5ª ed. Este erro na metodologia de preparo da solução tampão foi verificado e notificado pelo Centro de Equivalência Farmacêutica da FIOCRUZ – Equifar 40 aos demais laboratórios analíticos de Farmanguinhos. Dado o comunicado oficial deste laboratório com certificação Reblas, todos os demais laboratórios analíticos de Farmanguinhos passaram a utilizar a metodologia de preparo da solução tampão pH 6,8 da USP 36. Foram utilizados 900 mL de tampão fosfato pH 6,8 com o aparato pá com velocidade de 50 rpm e tempo de coleta em 30 minutos com leitura por CLAE (método de doseamento). A especificação de dissolução é de 80 % dissolvido de maleato de enalapril em 30 minutos.

5.2.6.4. Ensaio de pureza dos comprimidos de maleato de enalapril

O ensaio de pureza foi realizado conforme metodologia do item 5.2.6.2 (FB 5ª ed). Não mais que 5 % de impurezas totais devem ser detectados.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1. Formulações do mercado farmacêutico nacional

Para o aprimoramento técnico do desenvolvimento dos comprimidos de maleato de enalapril 20 mg foram analisadas as bulas de dez medicamentos comercializados no mercado farmacêutico nacional. A análise das bulas teve o objetivo de comparar os excipientes utilizados, assim como também realizar a predição do processo de fabricação de cada fabricante. Na tabela 05 estão exibidas as formulações de dez fabricantes, entre eles: o medicamento referência, 3 medicamentos similares e 6 medicamentos genéricos. Foi respeitada a confidencialidade dos nomes de cada fabricante, mesmo considerando-se que estes dados estão abertos à consulta pública em suas bulas. As considerações da análise de excipientes de cada formulação serão discutidas em tópicos específicos.

Tabela 05: Formulações de maleato de enalapril comprimidos do mercado farmacêutico nacional.

Excipientes utilizados	Referência	Similar 1	Similar 2	Similar 3	Genérico 1	Genérico 2	Genérico 3	Genérico 4	Genérico 5	Genérico 6	Utilização por Formulação	Função Farmacotécnica
Amido de Milho	•	•	•			•	•	•	•		7	Diluente
Amido de Milho Pré-gelatinizado	•				•						2	Diluente
Celulose Microcristalina			•	•	•	•		•		•	6	Diluente
Fosfato de Cálcio Dibásico					•	•		•			3	Diluente
Lactose	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	10	Diluente
Bicarbonato de Sódio	•	•		•			•	•		•	6	Agente Alcalinizante
Carbonato de Sódio									•		1	Agente Alcalinizante
Amidoglicolato de sódio			•								1	Superdesintegrante
Croscarmelose Sódica					•	•					2	Superdesintegrante
Crospovidona										•	1	Superdesintegrante
Dióxido de Silício			•	•			•	•		•	5	Melhorador de Fluxo
Estearato de Magnésio	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	10	Lubrificante
Talco			•							•	2	Lubrificante
Corante	•	•	•	•	•	•	•	•	•	•	10	Corante

- Referência x Similar 1 x Genérico 3

Observa-se que o medicamento Referência (MSD, 2012) utiliza dois tipos de amido para composição de sua formulação, o amido de milho e o amido de milho pré-gelatinizado, sendo que o Similar 1 faz uso apenas do amido de milho comum. O Genérico 3 possui a mesma formulação do Similar 1, excetuando-se apenas a adição do melhorador de fluxo, dióxido de silício coloidal. Outro diluente presente na formulação dos três medicamentos é a lactose. As três formulações não utilizam superdesintegrante para auxílio no processo de desintegração dos comprimidos.

A princípio, pode-se prever que o medicamento Referência utiliza dois tipos de amido de milho com dois intuitos: primeiro, promover um processo de granulação por via úmida e, segundo, melhorar o processo de desintegração dos comprimidos com a característica adequada deste excipiente. Conforme as monografias oficiais vigentes, a metodologia analítica para a identificação e caracterização dos tipos de amido é a mesma, ou seja, do ponto de vista físico-químico não se pode observar diferenças entre eles, ainda que elas existam. A denominação comum brasileira (DCB), que é a denominação do fármaco ou insumo farmacologicamente ativo ou inativo aprovada pela ANVISA, traz apenas uma descrição para o amido de milho e não faz diferenciação para os demais (BRASIL, 2013). O amido está presente em 80 % das formulações estudadas.

O medicamento Genérico 3 utiliza o dióxido de silício coloidal na sua formulação. Este excipiente é habitualmente empregado para promover o melhoramento de fluxo de pós, em especial de formulações com o processo de mistura para compressão direta. A lactose é um excipiente diluente comumente utilizado em formulações, porém, também é amplamente citado como o promovedor de incompatibilidade com vários IFAs, gerando produtos de degradação e escurecimento dos comprimidos (ROWE *et al.*, 2009; BHARDWAJ & SINGH, 2008; GAMBLE *et al.*, 2010; JAIN & BASNIWAL, 2013; KUBBINGA *et al.*, 2014). A reação de Maillard é o principal mecanismo de interação entre a lactose e o IFA, a qual ocorre com insumos que também possuam grupamentos amina primária e secundária (WIRTH *et al.*, 1998; BHARATE *et al.*, 2010).

Mesmo considerando que o maleato de enalapril possui uma amina secundária em sua estrutura química e a literatura deixar clara a influência da lactose no processo

de interação e incompatibilidade com insumos farmacêuticos, foi observado na análise de formulações do mercado que a lactose está presente em todos os dez medicamentos. O bicarbonato de sódio está presente nestas três formulações, muito provavelmente como agente alcalinizante e estabilizador do maleato de enalapril. O excipiente lubrificante escolhido pelos três fabricantes foi o estearato de magnésio, o qual Stanisz e colaboradores (2013) estudaram sua influência na formulação contendo maleato de enalapril. Não foi evidenciada incompatibilidade em misturas binárias de 1:1, analisadas por CLAE de fase reversa.

- Similar 3 x Genérico 6

Estes dois medicamentos possuem o mesmo sistema diluente em suas formulações, a lactose e a celulose microcristalina. Assim como a lactose, mencionada anteriormente, a celulose microcristalina também interage com o maleato de enalapril. Cotton e colaboradores (1987) citaram em seu estudo que a celulose promove a diminuição de 50% da temperatura de fusão do maleato de enalapril em misturas binárias de 3:1. Entretanto, os pesquisadores esclarecem que as condições de temperatura em que os estudos foram conduzidos não reproduzem o ambiente de estocagem dos medicamentos e que os estudos de estabilidade de longa duração são indispensáveis. Ambos os medicamentos utilizam o bicarbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizador, sendo que o Genérico 6 lançou mão de um superdesintegrante, a crospovidona. Dadas as características dos excipientes descritos em ambas as formulações, é possível prever com alguma segurança que estes dois fabricantes utilizam o processo de mistura para compressão direta.

- Genérico 1 x Genérico 2 x Genérico 4

Os medicamentos Genérico 1 e Genérico 2 não utilizam o bicarbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizante do maleato de enalapril, diferentemente do Genérico 4, que faz uso deste excipiente. O contrário é observado quanto à

croscarmelose de sódio, os dois primeiros utilizam-na enquanto o último, não. O Genérico 4 possui em sua formulação o dióxido de silício coloidal, excipiente melhorador de fluxo. O sistema diluente destes três medicamentos é o mais complexo das dez formulações estudadas. Envolvem quatro diferentes diluentes: amido, celulose microcristalina, fosfato de cálcio dibásico e lactose. Habitualmente utiliza-se o fosfato de cálcio dibásico como um excipiente diluente de formulações com processo de mistura para compressão direta, a exemplo dos demais mencionados (MORETON, 2009).

- Genérico 5

O medicamento Genérico 5 possui alguma semelhança com os medicamentos Similar 1 e Genérico 3; porém, o que mais chama a atenção é a presença do carbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizador do maleato de enalapril. No estudo bibliográfico realizado neste trabalho, observou-se em algumas patentes a descrição do uso de três possíveis agentes alcalinizantes: o bicarbonato de sódio, o hidróxido de sódio e o carbonato de sódio (MERSLAVIC *et al.*, 1994). Diferentemente de todas as formulações estudadas, a formulação do medicamento Genérico 5 utiliza dois lubrificantes, o estearato de magnésio e o talco (JINJIANG & YONGMEI, 2014). O sistema diluente da formulação é simples, contando apenas com amido e lactose. Pelo fato do fabricante fazer uso de dois lubrificantes diferentes, o amido de milho possuir característica desintegrante e a lactose proporcionar boa fluidez à mistura, pressupõe-se que este medicamento seja fabricado pelo processo de mistura para compressão direta (NYQVIST & NICKLASSON, 1985; BANKER & ANDERSON, 2001; MARSHALL, 2001; NIAZI, 2004).

- Similar 2

O medicamento Similar 2 pode ser tratado à parte pois, apesar de utilizar um sistema diluente simples (amido, celulose e lactose), não conta com a presença de

agente alcalinizante e estabilizador do maleato de enalapril. O superdesintegrante empregado foi o amidoglicolato de sódio e o sistema lubrificante também conta com o talco e o estearato de magnésio. Supõe-se que o medicamento Similar 2 seja fabricado pelo processo de mistura para compressão direta, o que também se justificaria pelo uso de dióxido de silício coloidal, agente melhorador de fluxo (NYQVIST & NICKLASSON, 1985; BANKER & ANDERSON, 2001; MARSHALL, 2001; NIAZI, 2004; HAPGOOD, 2009).

Em uma avaliação mais ampla, não particularizada caso a caso, após a análise das bulas de todos estes medicamentos foi possível observar algumas tendências de utilização de excipientes:

- 100 % das formulações utilizam o diluente lactose, o lubrificante estearato de magnésio e algum corante;
- 80 % das formulações utilizam o amido de milho (comum e/ou pré-gelatinizado) como segundo diluente (Referência, Similar 1, Similar 2, Genérico 2, Genérico 3, Genérico 4 e Genérico 5);
- 60 % das formulações utilizam a celulose microcristalina como diluente, porém está sempre associada a pelo menos um ou mais diluentes (Similar 2, Similar 3, Genérico 1, Genérico 2, Genérico 4 e Genérico 6);
- 60 % das formulações utilizam o bicarbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizador do maleato de enalapril (Referência, Similar 1, Similar 3, Genérico 3, Genérico 4 e Genérico 6);
- 60 % das formulações não utilizam superdesintegrante para auxílio no processo de desintegração e dissolução dos comprimidos (Referência, Similar 1, Similar 3, Genérico 3, Genérico 4 e Genérico 5);
- apenas uma formulação utilizou o carbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizador do maleato de enalapril (Genérico 5);
- nenhuma formulação genérica é qualitativamente idêntica ao medicamento referência.

O processo de desenvolvimento de um medicamento envolve inúmeras etapas antes de efetivamente se fabricar o primeiro lote de bancada, desde a pesquisa bibliográfica aos ensaios de pré-formulação (BRITAIN, 1991; SERAJUDDIN *et al.*,

1999; BRUNI *et al.*, 2002; NIAZI, 2004). Com base nos dados da análise qualitativa das formulações do mercado farmacêutico nacional e com os estudos de pré-formulação foi possível propor com maior segurança as formulações iniciais e seus processos de fabricação.

Sendo assim os excipientes escolhidos para as duas formulações iniciais foram: lactose mono-hidratada, amido de milho pré-gelatinizado, bicarbonato de sódio, corante e estearato de magnésio. Esta escolha foi baseada na avaliação dos medicamentos do mercado, quando também observado a similitude com os excipientes que compõem a formulação do medicamento referência. Após o estudo preliminar de escolha do processo de fabricação (mistura para compressão direta ou granulação via úmida), será necessário a condução de estudos de estabilidade, equivalência farmacêutica e bioequivalência farmacêutica. Este último envolve a administração em pacientes saudáveis ou não, quando utilizados os mesmos excipientes na formulação teste e no medicamento referência, tem-se maior segurança quanto à toxicidade da formulação.

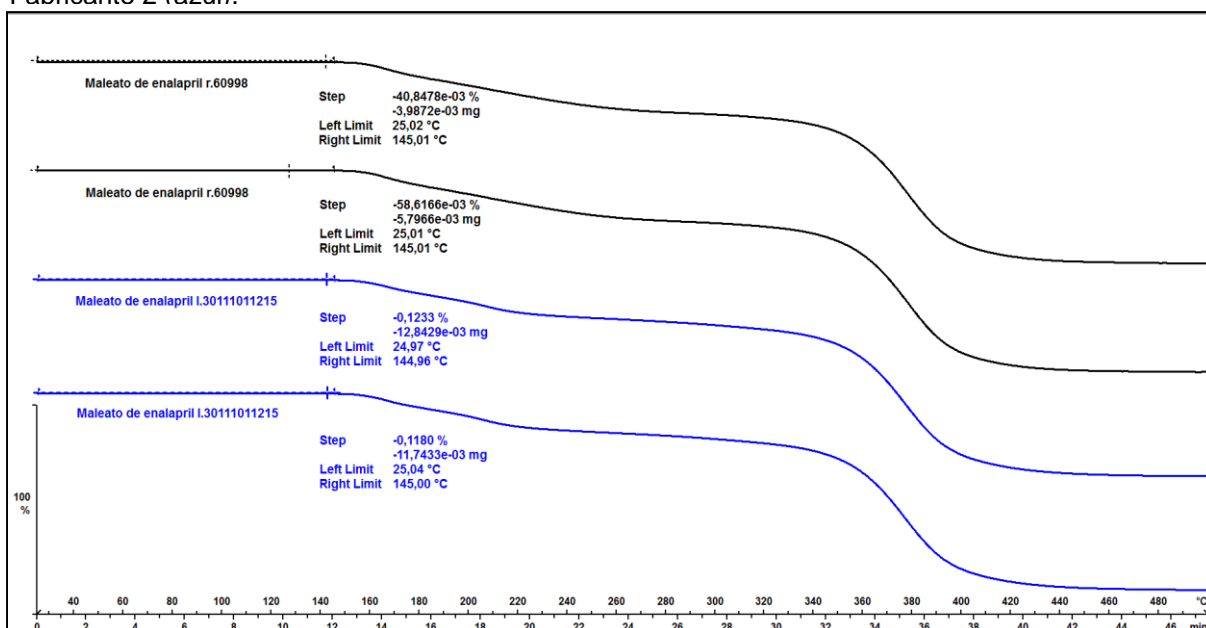
6.2. Caracterização

6.2.1. Termogravimetria (TG)

Os perfis termogravimétricos das duas amostras do IFA maleato de enalapril analisadas (I.60998 – Fabricante 1 e I.30111011215 – Fabricante 2) são similares (Figura 8). A perda de massa entre 25 e 145 °C foi determinada por termogravimetria (TG) e os resultados obtidos para as duas amostras também são similares, a saber:

- maleato de Enalapril I.60998 – Fabricante 1: menor que 0,10% (n = 2);
- maleato de Enalapril I.30111011215 – Fabricante 2: menor que 0,13% (n = 2).

Figura 8 – Curvas de TG do maleato de enalapril puro r.60998 Fabricante 1 (preto) e I.30111011215 Fabricante 2 (azul).

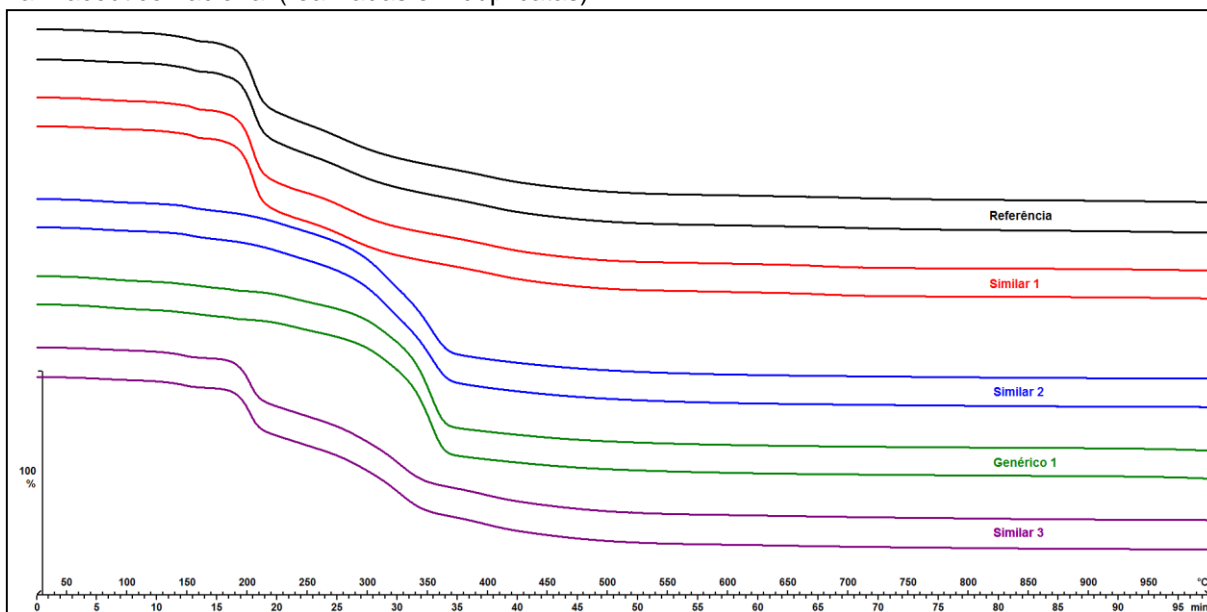


A figura 9 ilustra os perfis termogravimétricos dos cinco produtos comerciais de maleato de enalapril 20 mg analisados: REFERÊNCIA (MH003), SIMILAR 1 (04/2012), SIMILAR 2 (10121122), GENÉRICO 1 (392157) e SIMILAR 3 (101815).

De acordo com as curvas de TG, é possível observar que os perfis das amostras do medicamento REFERÊNCIA e SIMILAR 1 são parecidas, porém são

diferentes dos perfis das amostras SIMILAR 2 e GENÉRICO 1 que, por sua vez, apresentam perfis semelhantes entre si. Já a amostra SIMILAR 3 possui perfil termogravimétrico com maior similitude aos das amostras do REFERÊNCIA e SIMILAR 1.

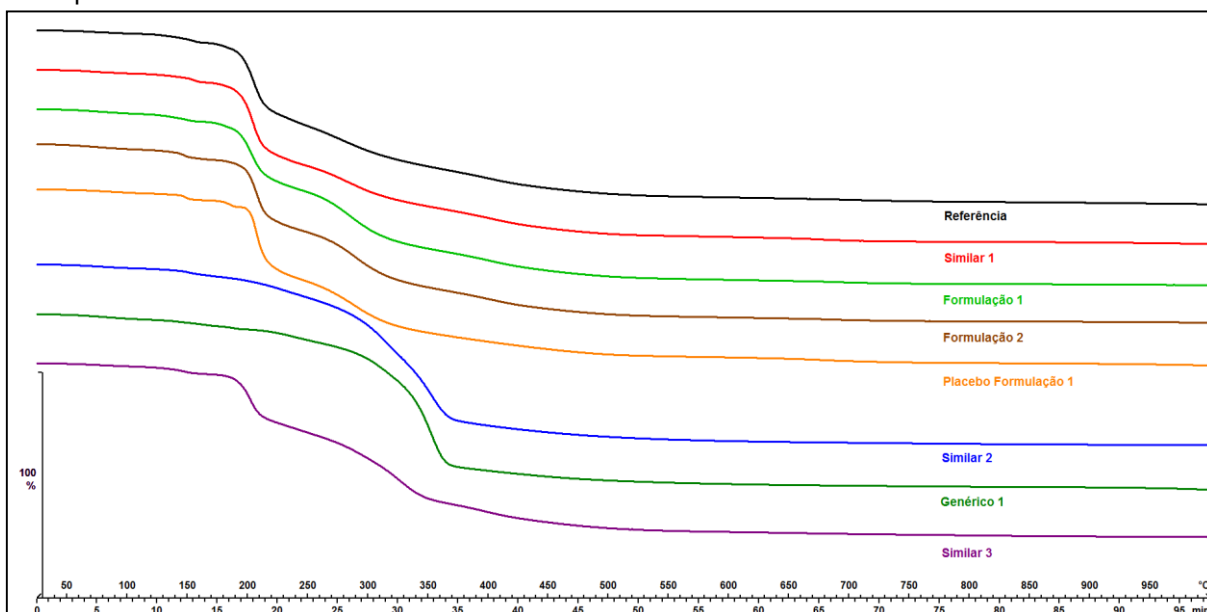
Figura 9 – Curvas de TG do maleato de enalapril 20mg – produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional (realizadas em duplicatas).



Foram analisados por TG os lotes experimentais produzidos no Laboratório de Tecnologia Farmacêutica (LTF) de Farmanguinhos: maleato de enalapril 20 mg Formulação F1, F2 e placebo da Formulação F1. Sendo que F1 foi obtida através do processo de fabricação por via úmida, enquanto que F2 foi produzida por compressão direta. O placebo da formulação F1 foi fabricado para comparação do perfil termogravimétrico com os demais experimentos. Ambas as formulações foram fabricadas com o IFA do fabricante 1.

Na Figura 10, estão correlacionados os lotes experimentais (F1 e F2) com os produtos comerciais REFERÊNCIA (MH003) e SIMILAR 1 (04/2012) e com o placebo da Formulação F1. Entretanto, devido à semelhança do produto SIMILAR 3 (101815), também não se pode deixar de correlacioná-lo com os lotes experimentais (F1 e F2). Observou-se que os perfis termogravimétricos do SIMILAR 2 (10121122) e do GENÉRICO 1 (392157) não exibem qualquer similaridade com os lotes experimentais.

Figura 10 – Curvas de TG dos lotes experimentais de maleato de enalapril 20mg F1, F2, placebo da F1 e produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional.



A semelhança entre os resultados das análises de TG das duas formulações propostas (F1 e F2) e do medicamento REFERÊNCIA e SIMILAR 1 é de grande importância para a conclusão da formulação e do seu aprimoramento em estudos posteriores. A escolha da composição qualitativa dos excipientes, semelhante à do medicamento referência, possibilitou a continuidade dos estudos com esta mesma formulação. Observou-se que o medicamento SIMILAR 3 possui semelhança em menor grau com F1 e F2, possivelmente associada à utilização da celulose microcristalina ao invés do amido de milho. O sistema diluente do SIMILAR 3 é composto por celulose microcristalina e lactose, diferentemente das formulações REFERÊNCIA, SIMILAR 1, F1 e F2, que utilizam amido de milho e lactose, basicamente. Os medicamentos SIMILAR 2 e GENÉRICO 1 demonstraram semelhança entre si na análise de TG, porém não foi observada similaridade de formulações, fato este que chama a atenção.

Na figura 11 estão representadas as curvas de TG de ambas as formulações (F1 e F2) em frasco PEAD com sílica em duas condições de armazenagem (30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR) e na figura 12, as curvas de TG da embalagem frasco PEAD sem tampa.

Figura 11 – Curvas de TG das formulações F1 e F2 em frasco com sílica em 30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR - T0 e T30.

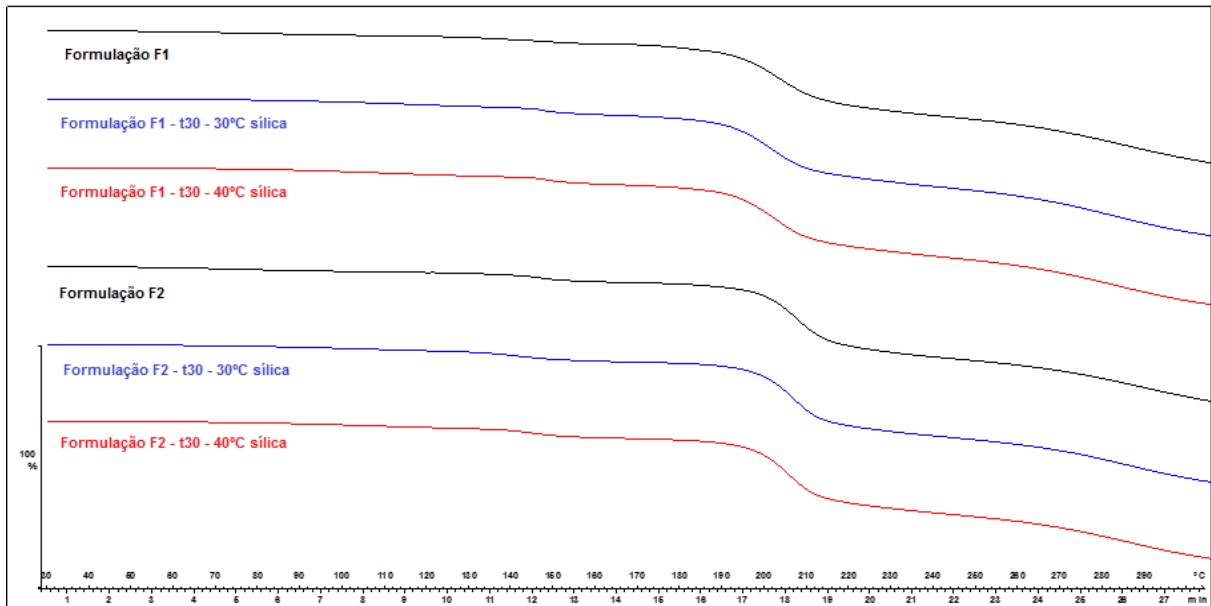
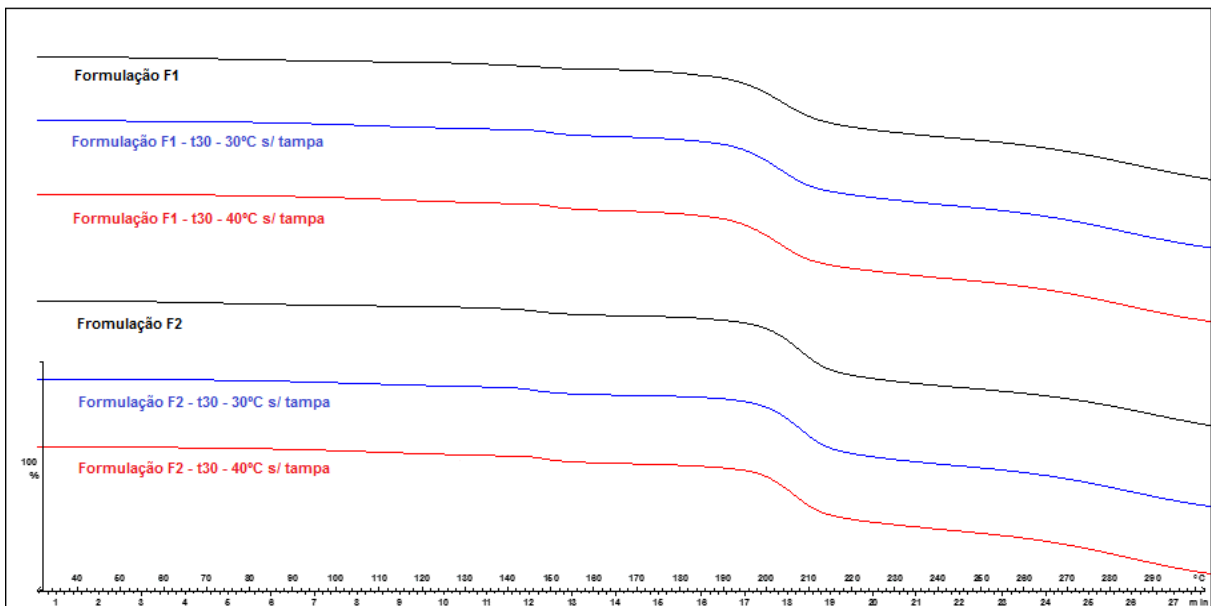


Figura 12 – Curvas de TG das formulações F1 e F2 em frasco sem tampa em 30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR - T0 e T30.



Não foram evidenciadas diferenças significativas com relação ao perfil termogravimétrico das amostras em tempo zero e após 30 dias de estabilidade. Pode ser necessário um tempo maior de exposição das amostras em condição de estresse para que possam ser avaliadas e observadas diferenças entre elas. Nas figuras 13,

14, 15 e 16 a seguir estão exibidos os resultados da análise de TG dos excipientes das formulações F1 e F2.

Figura 13 – Curvas de TG do bicarbonato de sódio (verde) e estearato de magnésio (preto).

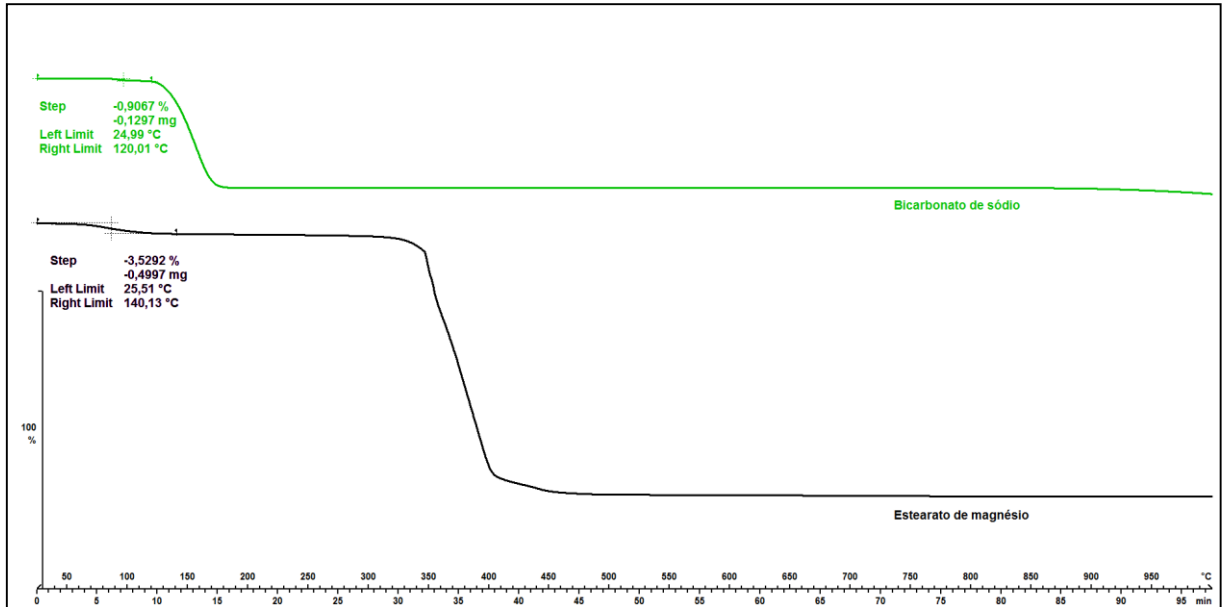


Figura 14 – Curvas de TG do amido de milho (marrom), amido de milho pré-gelatinizado (roxo) e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (verde).

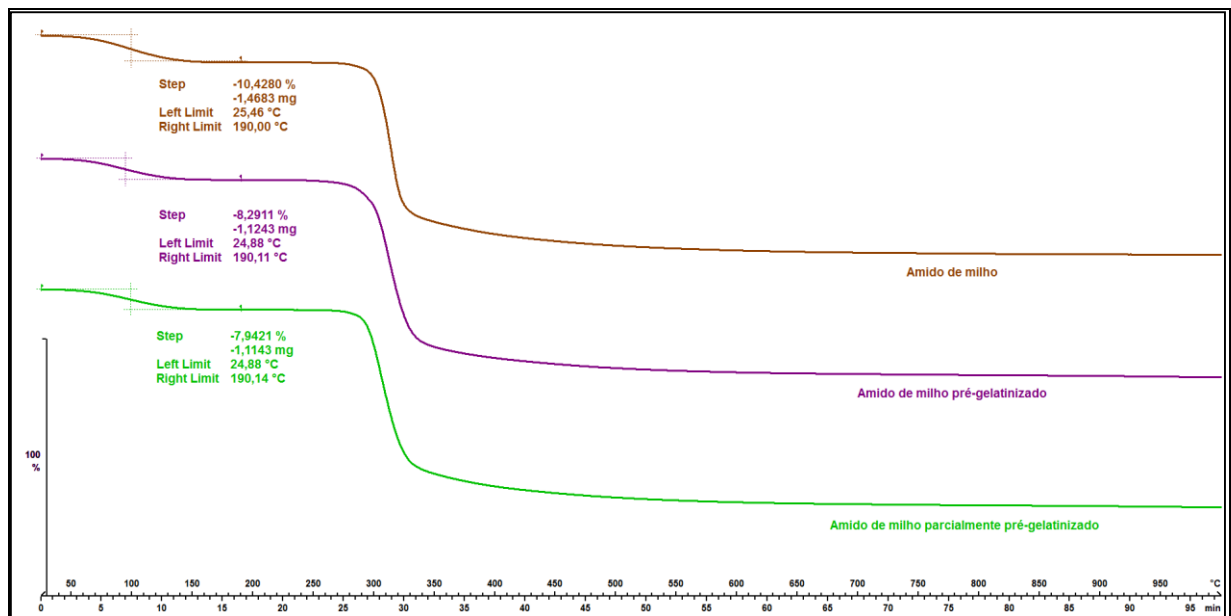


Figura 15 – Curvas de TG da lactose mono-hidratada (laranja) e lactose anidra (preto).

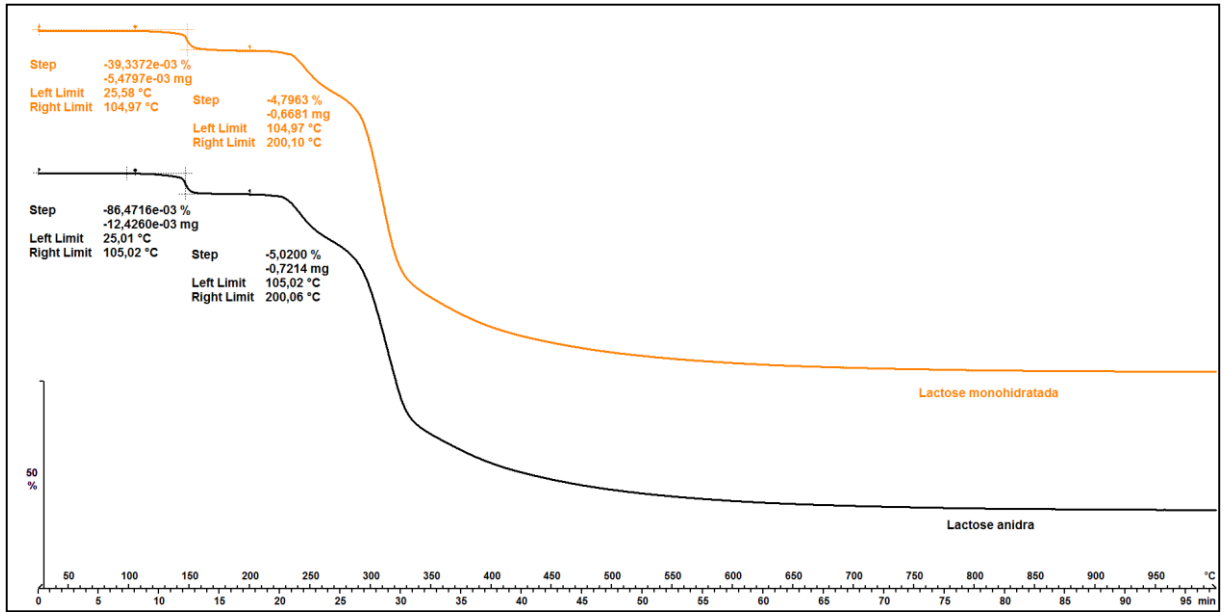
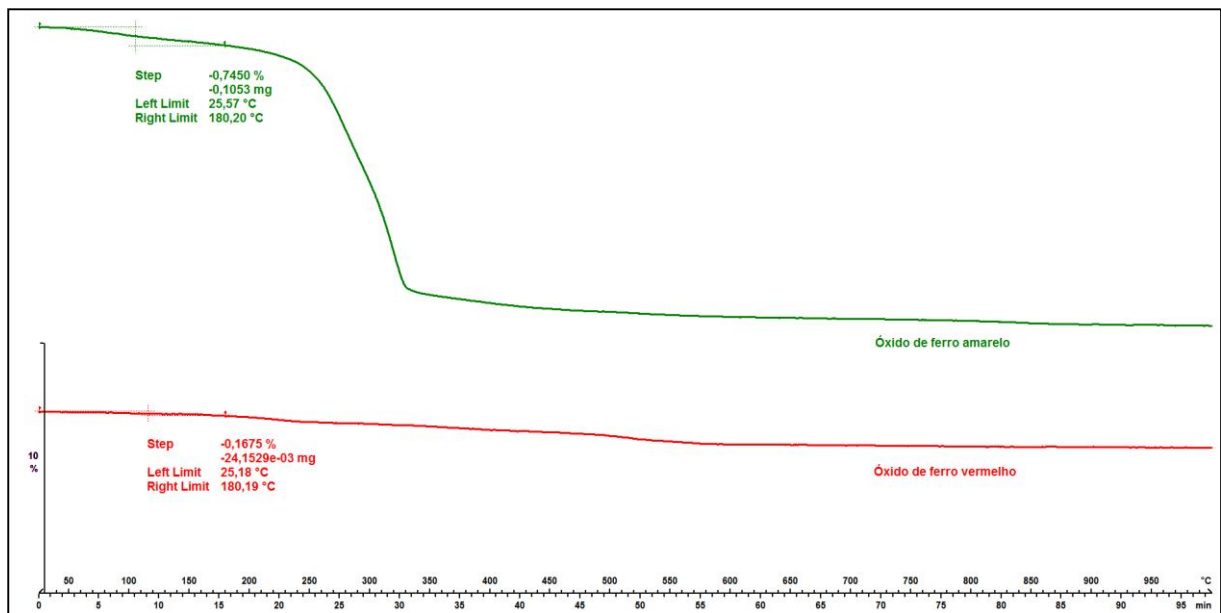


Figura 16 – Curvas de TG do óxido de ferro amarelo (verde) e óxido de ferro vermelho (vermelho).



Adicionalmente foram analisadas amostras de lactose anidra e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado. Os perfis energéticos das três amostras de amido de milho são similares, apesar de suas características físicas serem diferentes. Cada tipo de amido de milho, seja pré-gelatinizado ou parcialmente, possuem características funcionais diferenciadas para a formulação. O amido de milho comum pode ser

utilizado tanto com desintegrante quanto um agente ligante, na forma de pasta de amido para granulação úmida. O amido pré-gelatinizado pode ser utilizado tanto em processo de granulação via úmida quanto em mistura para compressão direta. O amido de milho parcialmente pré-gelatinizado é habitualmente utilizado para mistura para compressão direta, devido à sua melhor compressibilidade e boa desintegração, porém também pode ser utilizado em granulação via úmida (KOTTKE *et al.*, 1992; WAGNER & DRESSLER, 2002).

Apesar dos resultados de termogravimetria não indicarem diferença entre os dois tipos (anidra e mono-hidratada), a lactose anidra pode acarretar um ganho na estabilidade da formulação no que tange à concentração de umidade do diluente, levando-se em consideração que há redução da atividade de água na formulação (WAGNER & DRESSLER, 2002; BHARATE *et al.*, 2010). Tendo uma concentração de umidade residual menor, a probabilidade do maleato de enalapril reagir e gerar produtos de degradação é menor. Segundo Listiohadi e colaboradores (2008) a lactose anidra tende a ser mais instável à absorção de água do ambiente do que a lactose mono-hidratada, fazendo com que esta absorção seja detectada na análise de TG. Como observado na figura 15, os perfis termogravimétricos das lactoses mono-hidratada e anidra são idênticos. Além deste fato, também pode haver a mistura de lactose mono-hidratada com a lactose anidra ou lactose anidra instável, a qual é muito susceptível à absorção de água e mudança de fase cristalina (LISTIOHADI *et al.*, 2008).

Os resultados das análises dos excipientes por TG não foram muito esclarecedores, exceto quando se observa que o perfil energético da lactose é similar aos perfis dos produtos REFERÊNCIA, SIMILAR 1 e SIMILAR 3, além das formulações F1 e F2. Tanto a lactose anidra como a lactose mono-hidratada possuem o perfil energético similar entre si, o que não foi observado na comparação dos óxidos de ferro amarelo e vermelho. Também é evidenciado que todos os excipientes analisados têm o primeiro evento energético observado a partir de 24 °C, possibilitando a ocorrência de reações em temperatura ambiente de estocagem, corroborando, de certa forma, com o exposto por Rezende e colaboradores (2008).

6.2.2. Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

Nas curvas de DSC (figura 17) das duas amostras do IFA maleato de enalapril (I.60998 Fabricante 1 e I.30111011215 Fabricante 2) é possível observar um único evento endotérmico entre 137-158 °C, referente à fusão do material, compatível com a faixa de fusão descrita para o maleato de enalapril na literatura (IP, 1986; COTTON *et al.*, 1987; KIANG *et al.*, 2003; REZENDE *et al.*, 2008).

Pode-se observar nas figuras 18 e 19 as análises do IFA puro em diferentes razões de aquecimento, neste caso: 5, 10, 20, 40 e 80 °C/minuto. A utilização de diferentes razões de aquecimento possibilita a identificação e caracterização de diferentes polimorfos em uma amostra (IMAMURA, 2002; ARAUJO, 2009), o que não foi possível identificar nas amostras aqui analisadas.

Figura 17 – Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.60998 Fabricante 1 e I.30111011215 Fabricante 2 – razão de aquecimento: 10 °C/minuto.

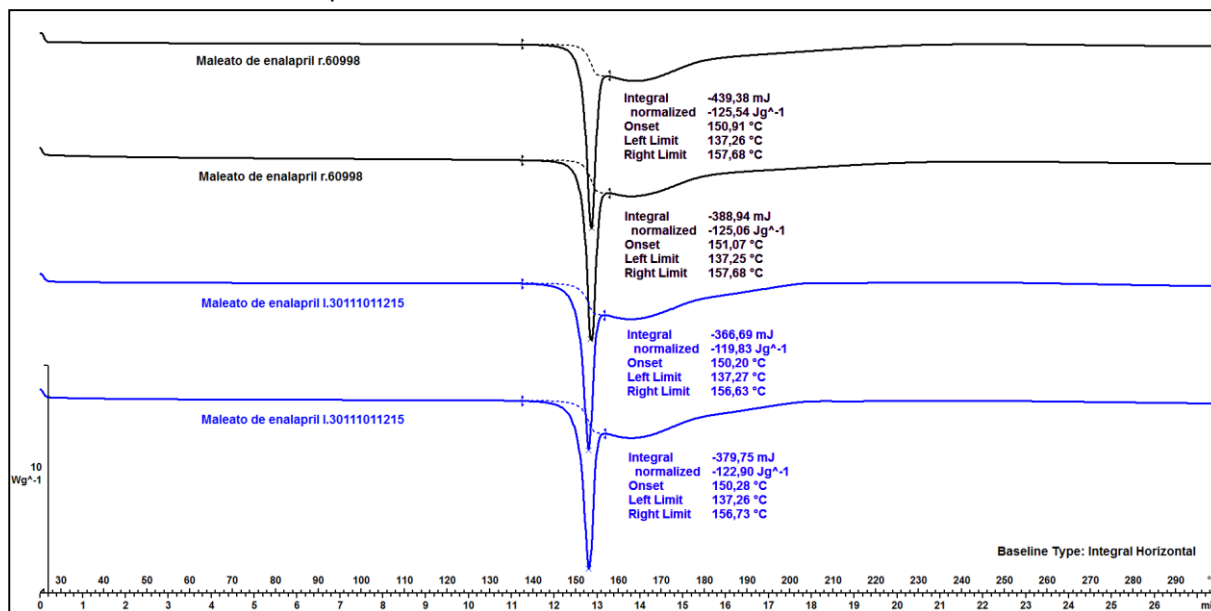


Figura 18 – Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.60998 Fabricante 1 – razões de aquecimento: 5, 10, 20, 40 e 80 °C / minuto respectivamente de cima para baixo.

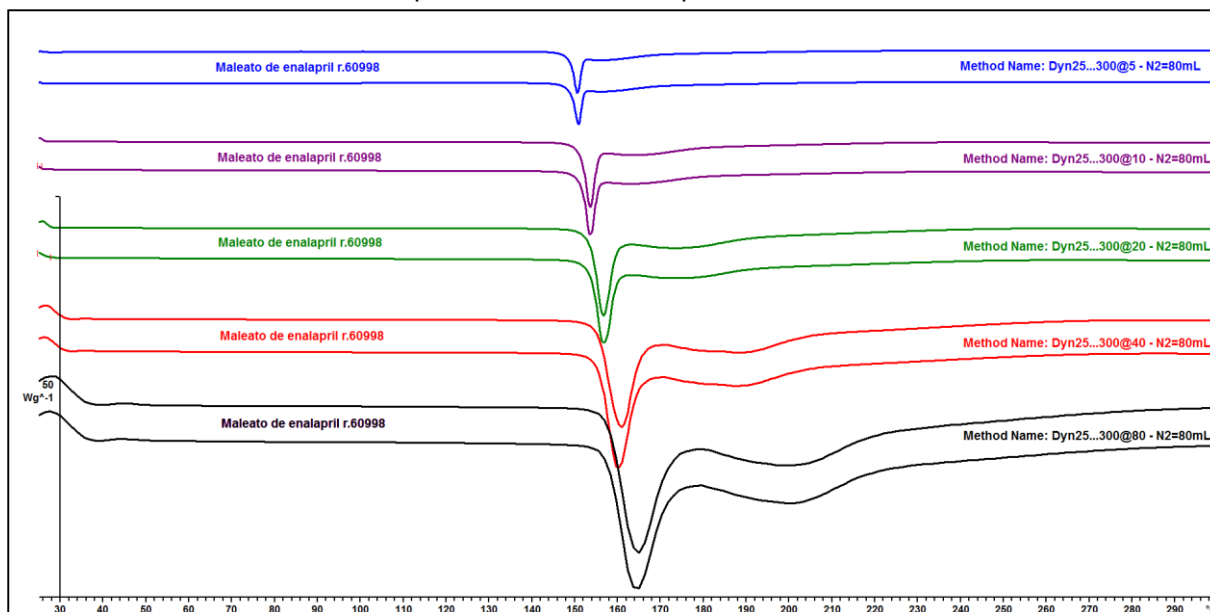
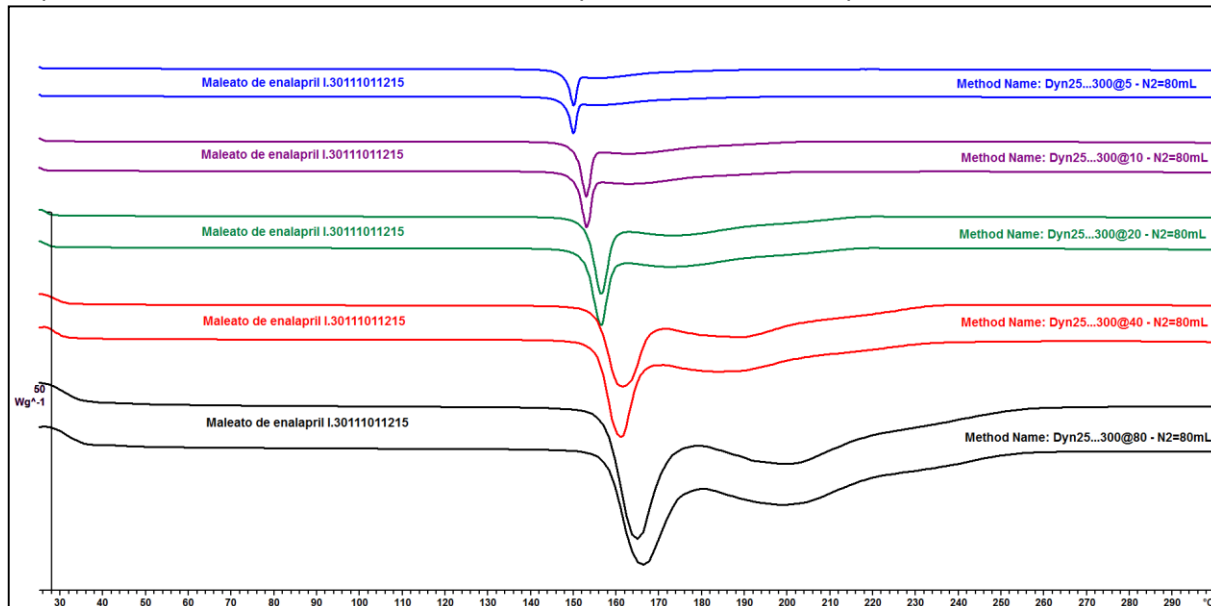


Figura 19 – Curvas de DSC de maleato de enalapril - I.30111011215 Fabricante 2 – razões de aquecimento: 5, 10, 20, 40 e 80 °C / minuto respectivamente de cima para baixo.



Corroborando com a bibliografia pesquisada, a técnica de DSC não é eficaz para a caracterização de diferentes polimorfos do maleato de enalapril, entretanto é uma boa técnica para identificação do IFA em si. Mais especificamente tratando da identificação de formas polimórficas do maleato de enalapril, a técnica de DSC não

distingue com margem de segurança as duas formas. Os valores de entalpia da forma I e da forma II são muito próximos para que se possa identificar com precisão, sendo neste caso mais eficaz a técnica de DRXP, que será abordada posteriormente (IP, 1986; COTTON *et al.*, 1987; KIANG *et al.*, 2003; REZENDE *et al.*, 2008).

A figura 20 exibe os perfis energéticos dos cinco produtos comerciais de maleato de enalapril 20mg: REFERÊNCIA, SIMILAR 1, SIMILAR 2, GENÉRICO 1 e SIMILAR 3. Assim como foi observado nos resultados de termogravimetria, os perfis das amostras do medicamento REFERÊNCIA e SIMILAR 1 são similares entre si, porém diferentes dos perfis dos demais produtos comerciais analisados.

O perfil energético do SIMILAR 2 exibe razoável diferença quando comparado aos perfis dos demais medicamentos do mercado. Diferentemente dos resultados de TG, observa-se que o medicamento SIMILAR 2 não se assemelha a nenhum produto comercial. Os medicamentos GENÉRICO 1 e SIMILAR 3 exibem perfis semelhantes, porém as intensidades dos eventos endotérmicos são diferentes. Outra constatação importante a ser ressaltada é a diferença do resultado analítico entre as técnicas de TG e DSC. Nas análises de TG foram observadas semelhanças entre os perfis de GENÉRICO 1 e SIMILAR 2, onde estas duas formulações não utilizaram o bicarbonato de sódio como agente alcalinizante e estabilizador, e as demais formulações assemelham-se entre si.

Na análise de DSC é possível assegurar a similitude entre as formulações do medicamento REFERÊNCIA e SIMILAR 1, porém nas demais formulações há diferenças evidentes. Este fato pode estar relacionado às características das formulações, tanto na composição qualitativa quanto quantitativa. As três formulações (GENÉRICO 1, SIMILAR 2 e SIMILAR 3) utilizam celulose microcristalina em sua composição, que podem influenciar na mudança da temperatura dos eventos térmicos (IP, 1986; COTTON *et al.*, 1987).

As curvas de DSC dos produtos comerciais e dos lotes experimentais (formulação F1 - via úmida, formulação F2 - via seca e placebo da formulação F1), estão ilustradas na figura 21. Os resultados obtidos evidenciaram que a formulação F1 possui perfil energético similar aos produtos comerciais, REFERÊNCIA e SIMILAR 1. Por sua vez, a formulação F2 possui perfil energético semelhante ao do produto SIMILAR 3. É possível também observar que o produto GENÉRICO 1 assemelha-se à formulação F2, porém os eventos térmicos demonstram menor intensidade.

Figura 20 – Curvas de DSC dos produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional.

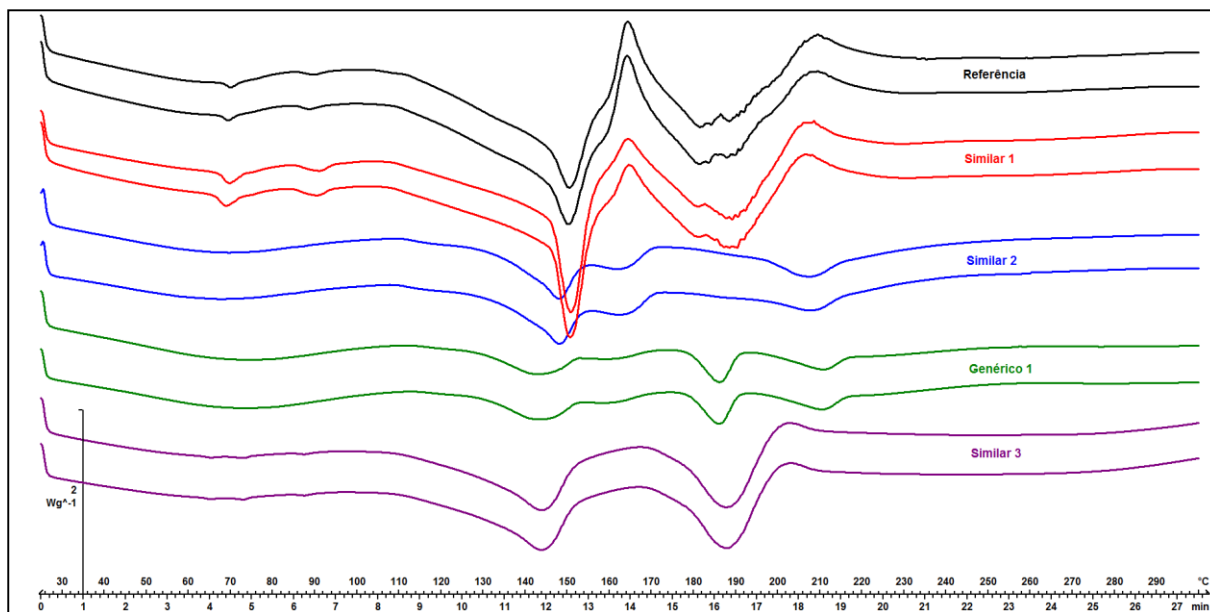
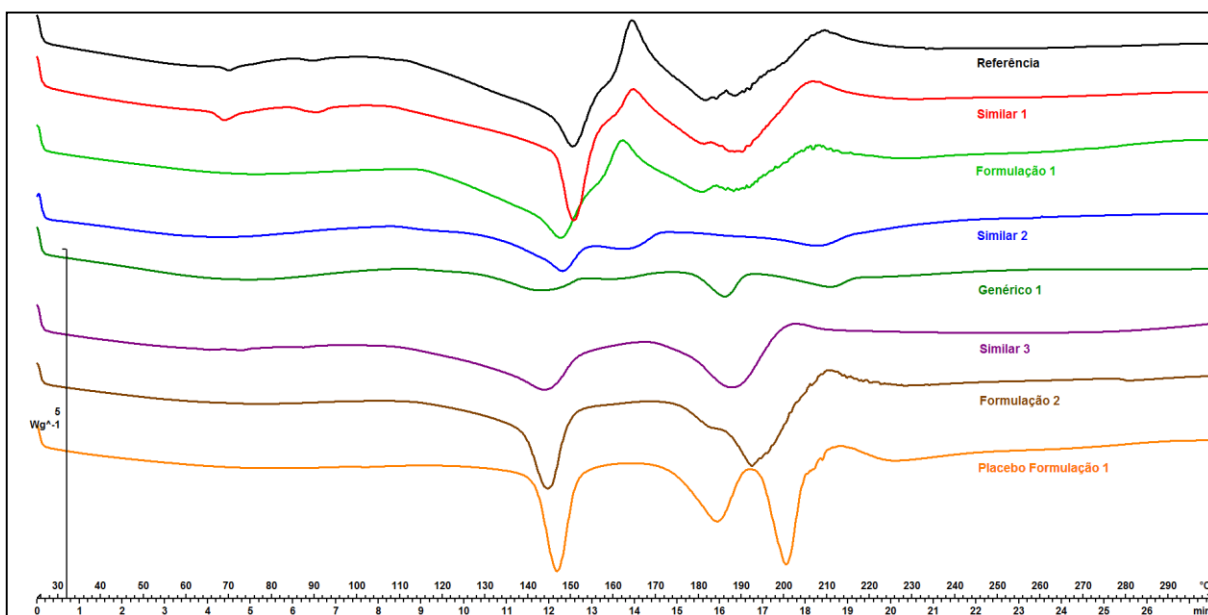


Figura 21 – Curvas de DSC dos produtos comerciais do mercado farmacêutico nacional, formulação F1, F2 e placebo de F1.



A técnica analítica de DSC possibilitou a identificação da similaridade dos perfis energéticos das duas formulações propostas com o medicamento referência e outro similar (SIMILAR 1), assim como ocorrera pela técnica de TG. Algumas semelhanças observadas por TG não são corroboradas quando comparadas com os resultados de DSC. Tendo em vista a disparidade em relação à formulação de alguns produtos e à

diferença de princípio entre as técnicas comparadas (DSC e TG), necessitou-se a aplicação da análise por DRXP para melhor elucidação de qual formulação e processo será escolhido. Como relatado por Cotton e colaboradores (1987) e Kiang e colaboradores (2003), a técnica de DRXP é mais eficiente para determinação das formas polimórficas do maleato de enalapril e identificação do perfil cristalográfico de cada formulação. Assegurando-se que cada excipiente seja caracterizado, assim como o IFA, pode-se realizar a comparação dos padrões de difração e elucidação das formulações.

Após o período de trinta dias de estabilidade, foram realizadas análises de DSC para comparação dos resultados com o tempo zero. Na figura 22 estão representadas as curvas de DSC para ambas as formulações (F1 e F2) em frasco PEAD com sílica em duas condições de armazenagem (30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR) e, na figura 23, as curvas de DSC da embalagem frasco PEAD sem tampa.

Figura 22 – Curvas de DSC das formulações F1 e F2 em frasco com sílica em 30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR - T0 e T30.

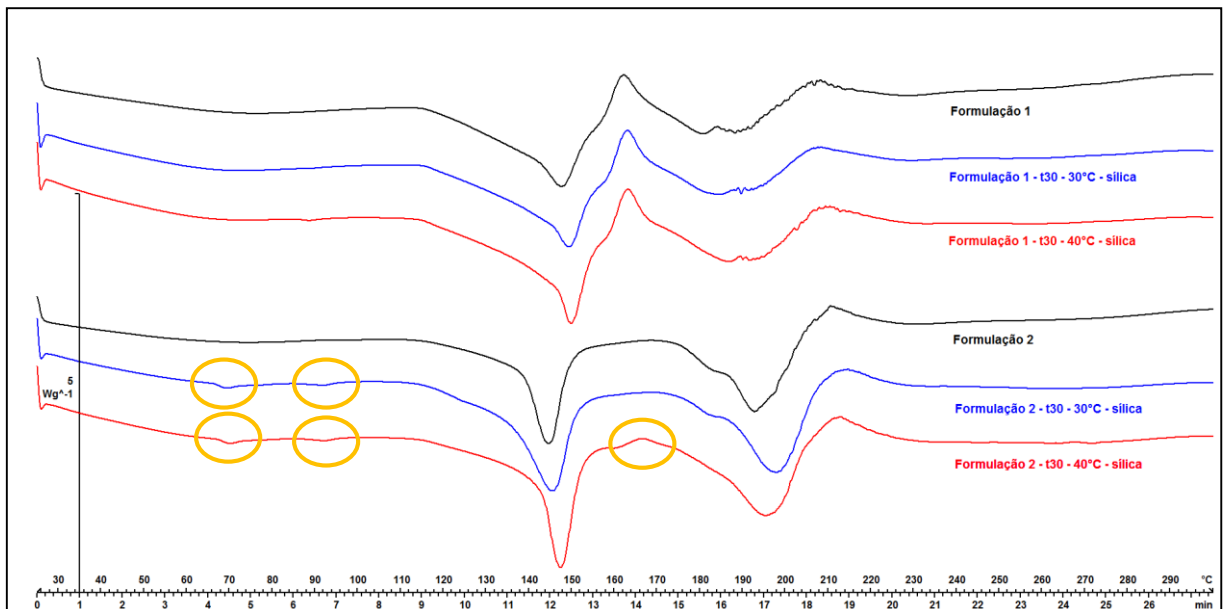
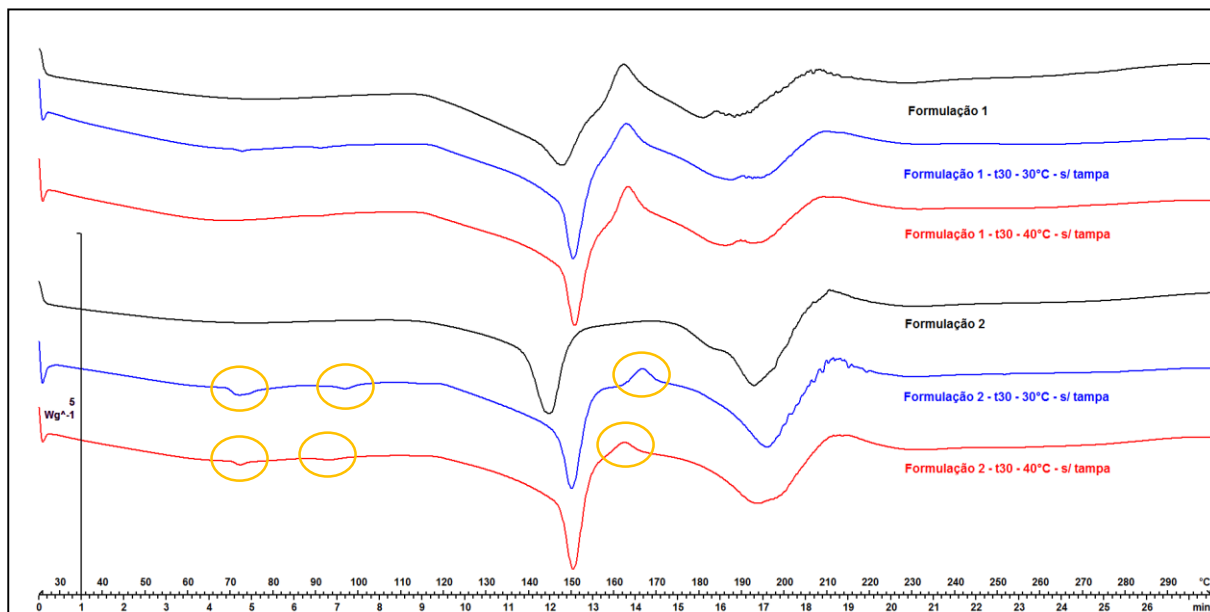


Figura 23 – Curvas de DSC das formulações F1 e F2 em frasco sem tampa em 30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % UR - T0 e T30.



Diferentemente dos resultados das análises de TG, com os resultados de DSC foi possível observar uma alteração dos perfis energéticos antes e após a estabilidade. Nota-se que ambas as formulações em todas as condições de estabilidade e embalagem deslocaram sutilmente o principal evento endotérmico para a direita, ou seja, houve aumento da temperatura de fusão em aproximadamente 5 °C.

Com a análise de DSC foi possível observar que no tempo zero da estabilidade não foram identificados dois pequenos eventos endotérmicos que são observados nas temperaturas de 70 °C e 90 °C (circulados em amarelo). A formulação F1 com a embalagem sem tampa e armazenada a 30 °C / 75 % UR e a formulação F2, em suas duas embalagens e condições de armazenagem, apresentam este mesmo evento. A formulação F2, na embalagem com sílica em 40 °C / 75 % UR e na embalagem sem tampa, em ambas condições climáticas, apresenta um evento exotérmico na faixa de 160 a 165 °C (circulados em amarelo). Na formulação F1 com a embalagem com sílica 30 °C / 75 % UR observa-se um evento endotérmico muito sutil na faixa de temperatura de 90 °C.

Os dois eventos exotérmicos da formulação F2 também são verificados na análise da formulação F1, em tempo zero e após 30 dias de estabilidade. Possivelmente está ocorrendo uma reação ou interação de algum excipiente com o maleato de enalapril, como ocorre em menor valor, a intensidade do evento é

proporcional. Sugere-se que o bicarbonato de sódio esteja interagindo ou, até mesmo reagindo, com o maleato de enalapril. Este fato pode ser verdadeiro quando se admite que a formulação F1 já possui o IFA e o bicarbonato de sódio reagidos e incorporados na formulação no processo de granulação (REZENDE *et al.*, 2008).

Os eventos endotérmicos (70 e 90 °C) possivelmente têm ligação com o processo de degradação da formulação, interação fármaco-excipiente ou incompatibilidade fármaco-excipiente. Este fato pode ser levado em consideração quando se observa o tempo 30 dias da formulação F2 e, comparando-se com os medicamentos REFERÊNCIA e SIMILAR 1, é possível identificar os mesmos eventos endotérmicos, em 70 °C e 90 °C. Como os medicamentos comerciais já haviam sido fabricados há algum tempo, justificam-se os picos endotérmicos, enquanto que a formulação F2, em tempo zero da estabilidade, não apresenta tais eventos. Há possibilidade de que estes eventos sejam dependentes do tempo e da condição de estocagem como observado em outros estudos (AL-OMARI *et al.*, 2001; STANISZ, 2003; YEJOLFSSON, 2003; SIMONCIC *et al.*, 2007; LIMA *et al.*, 2008; REZENDE *et al.*, 2008; SOUZA, 2014;)

Souza (2014) realizou um estudo térmico de 4 formulações de maleato de enalapril, onde também foram evidenciadas alterações dos eventos térmicos após o período de estabilidade, assim como verificado no presente estudo. Em seu trabalho foi possível observar que há interação dos excipientes com o IFA e que a formulação que não utilizou bicarbonato de sódio demonstrou maior degradação, corroborando com os dados de alguns autores (AL-OMARI *et al.*, 2001; STANISZ, 2003; LIMA *et al.*, 2008; REZENDE *et al.*, 2008; BHARATE *et al.*, 2010; SOUZA, 2014;). Nas figuras 24, 25, 26 e 27 a seguir estão os resultados das análises de DSC dos excipientes das formulações F1 e F2.

Figura 24 – Curvas de DSC do estearato de magnésio (verde) e bicarbonato de sódio (preto).

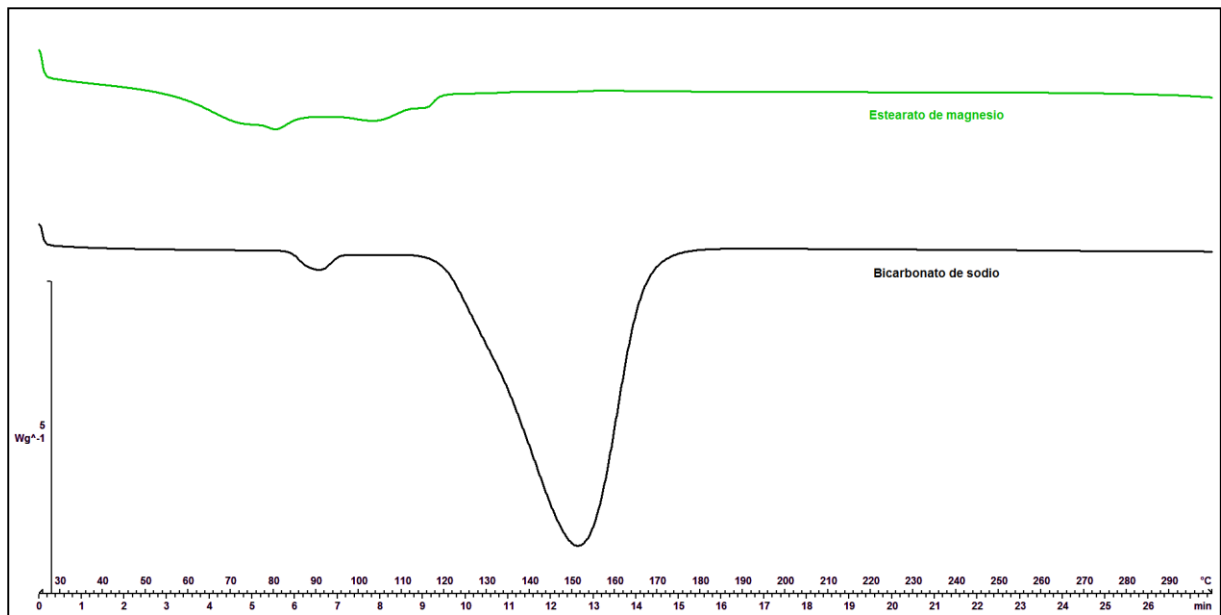


Figura 25 – Curvas de DSC da lactose mono-hidratada (laranja) e lactose anidra (preto).

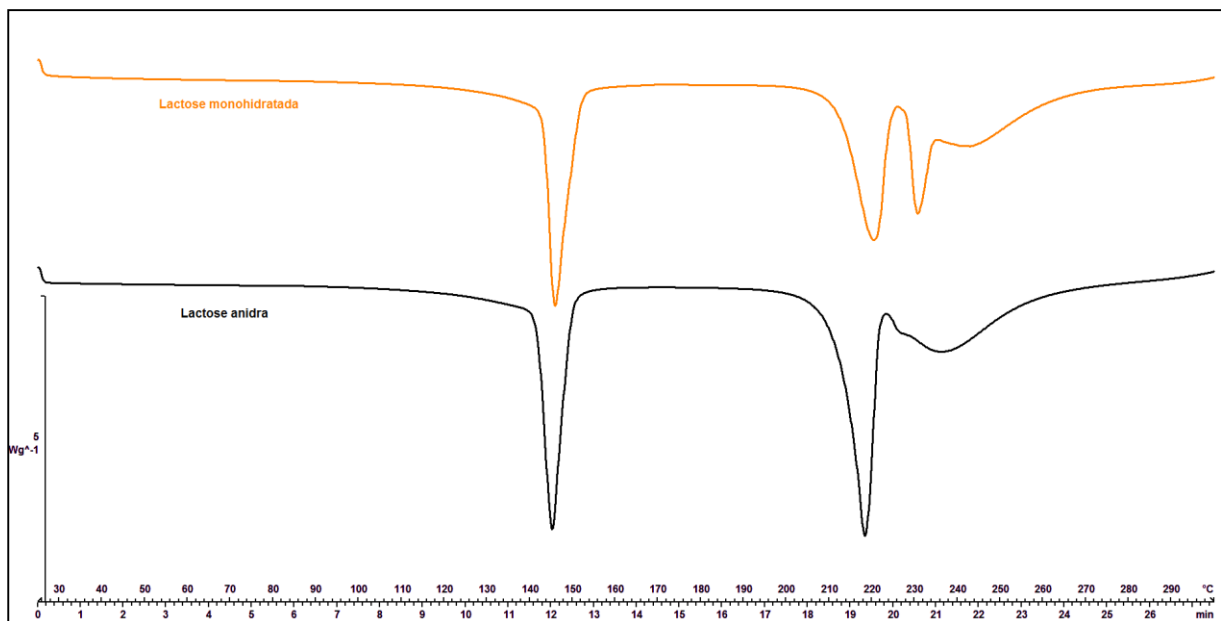


Figura 26 – Curvas de DSC do amido de milho (marrom), amido de milho pré-gelatinizado (roxo) e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (verde).

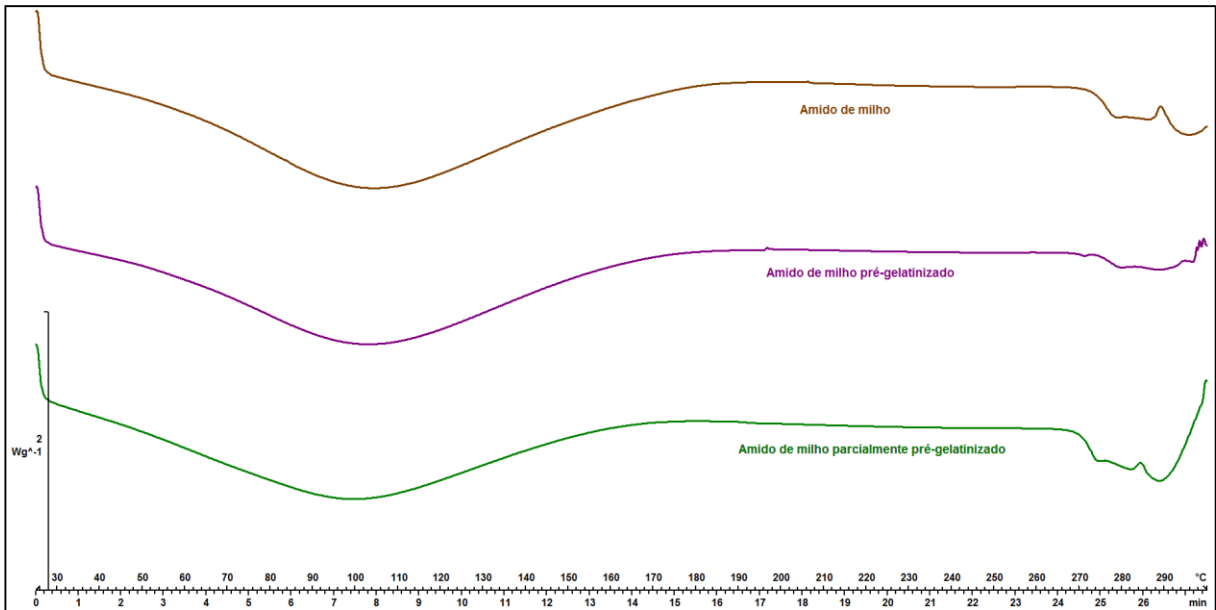
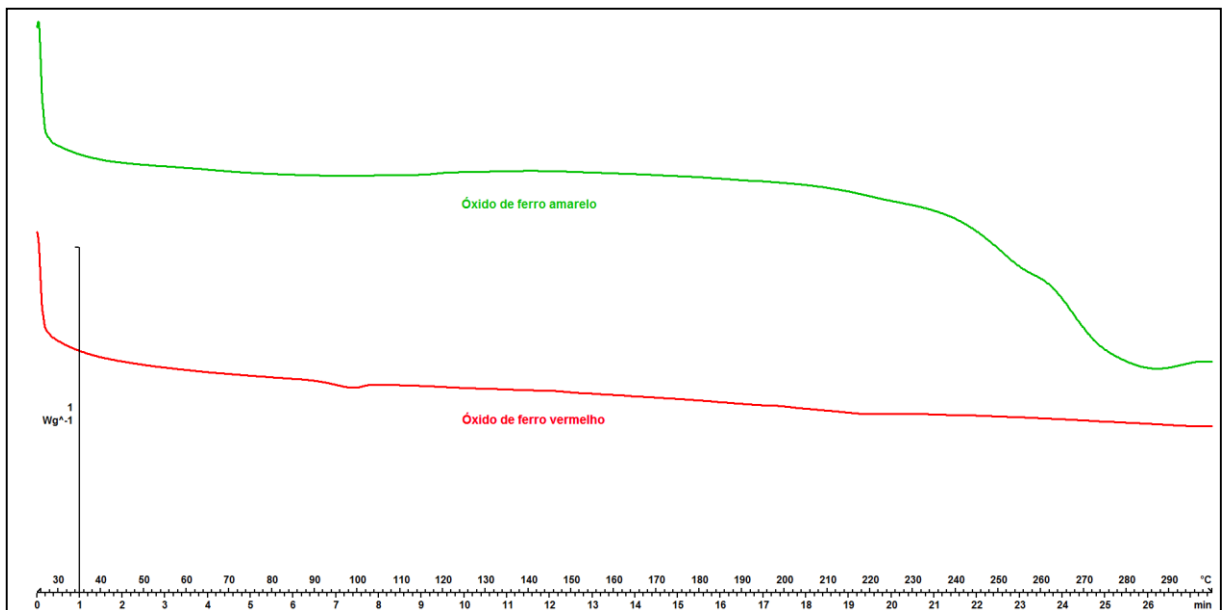


Figura 27 – Curvas de DSC do óxido de ferro amarelo (verde) e óxido de ferro vermelho (vermelho).



Notoriamente observa-se que o bicarbonato de sódio e a lactose exibem eventos endotérmicos na mesma região da fusão do maleato de enalapril, entre 140 e 160 °C. Também se pode verificar que o bicarbonato de sódio exibe um evento endotérmico, de baixa intensidade, na temperatura de 90 °C, o mesmo verificado nas amostras da formulação F2, analisadas após a estabilidade. Este evento endotérmico

do bicarbonato de sódio, na temperatura de 90 °C, não explica por completo o fato verificado na estabilidade dos comprimidos, pois no tempo zero os resultados analíticos não identificaram o mesmo. Será necessário a realização de estudos complementares para a elucidação deste fato analítico, considerando-se em perspectivas futuras.

Assim como nas análises de TG, também foram caracterizadas por DSC as amostras de lactose anidra e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado, por suas características específicas que permitem a utilização em formulações por compressão direta e em formulações com sensibilidade ao teor de água (KOTTKE *et al.*, 1992; WAGNER & DRESSLER, 2002). Observa-se que as amostras de lactose possuem perfis energéticos semelhantes entre si por DSC, o que também pode ser verificado nas amostras de amido de milho.

Em relação aos perfis energéticos das lactoses analisadas deve-se dar atenção aos eventos endotérmicos observados. A lactose mono-hidratada e a lactose anidra possuem um evento endotérmico na temperatura de 144 °C, referente à saída de água de cristalização; sendo assim, o que efetivamente se analisa são duas amostras de lactose mono-hidrata.

Estudos indicam a transição de fase cristalina e alteração de estado físico-químico da lactose anidra para lactose mono-hidratada através da absorção de umidade do ambiente em temperaturas a partir de 25 – 30 °C (FERNANDEZ-MARTIN *et al.* 1980; GOMBÁS *et al.* 2002; MAHLIN *et al.* 2004; KIRK *et al.* 2007; GARNIER *et al.* 2002; LISTIOHADI *et al.* 2008).

Os outros dois picos endotérmicos observados são da decomposição da lactose mono-hidratada em alfa-lactose a partir de 210 °C e beta-lactose a partir de 220 °C (FERNANDEZ-MARTIN *et al.* 1980; GOMBÁS *et al.* 2002; GARNIER *et al.* 2002). Nas amostras estudadas observa-se o mesmo comportamento.

Não há como correlacionar a utilização da lactose e do amido de milho nas formulações F1 e F2 com os medicamentos comerciais, por DSC, uma vez que a Figura 21 contempla todos os perfis energéticos, e observamos diferenças significativas nas formulações. Ou seja, mesmo 100% das formulações utilizando lactose na sua composição, não há como garantir sua presença utilizando a técnica de DSC.

A técnica de DSC foi eficaz para verificar a diferenciação do processo de fabricação das formulações F1 e F2. A formulação F1 (granulação via úmida) possui

o perfil energético similar aos medicamentos REFERÊNCIA e SIMILAR 1, os quais inicialmente indicou-se como medicamentos fabricados por granulação via úmida, no processo proposto por Merslavic e colaboradores (1994). A formulação F2 (mistura para compressão direta) possui perfil similar aos demais medicamentos que, possivelmente, fazem uso desta técnica também.

Adiante será abordada a técnica de DRXP para que se possa identificar os padrões de cristalinidade de cada medicamento do mercado nacional, as formulações F1 e F2, e os seus excipientes, assim possibilitando a comparação destes.

6.2.3. Difração de raios X de pó (DRXP)

As análises de difração de raios X de pó (DRXP) evidenciaram que as duas amostras de maleato de enalapril (I.60998 Fabricante 1 e I.30111011215 Fabricante 2) são cristalinas e, de acordo com a literatura, correspondem à forma II do maleato de enalapril (IP *et al.*, 1986; KIANG *et al.*, 2003).

Na figura 28 é possível observar os perfis cristalográficos de ambos os fabricantes de maleato de enalapril IFA, destacando-se o pico característico da forma II em $13^{\circ} 2\theta$, o qual não é evidenciado na forma I. Ambas as formas cristalinas exibem um pico de maior intensidade em $5^{\circ} 2\theta$, também destacado na figura 28.

As análises de DRXP evidenciaram semelhança entre os produtos comerciais REFERÊNCIA e SIMILAR 1 com a formulação F1, e os produtos SIMILAR 2, GENÉRICO 1 e SIMILAR 3, assemelham-se com a formulação F2.

Na figura 29, foi realizada a comparação dos padrões de difração de raios X de pó dos lotes experimentais F1 e F2, com os produtos comerciais de maleato de enalapril. Pode-se observar que a Formulação F1 é similar aos produtos, REFERÊNCIA e SIMILAR 1, enquanto que a Formulação F2 possui maior semelhança com os produtos SIMILAR 2, GENÉRICO 1 e SIMILAR 3.

Figura 28 – Padrões de difração de raios X em pó de Maleato de Enalapril – 60.998 – Fabricante 1 e 301110112015 – Fabricante 2.

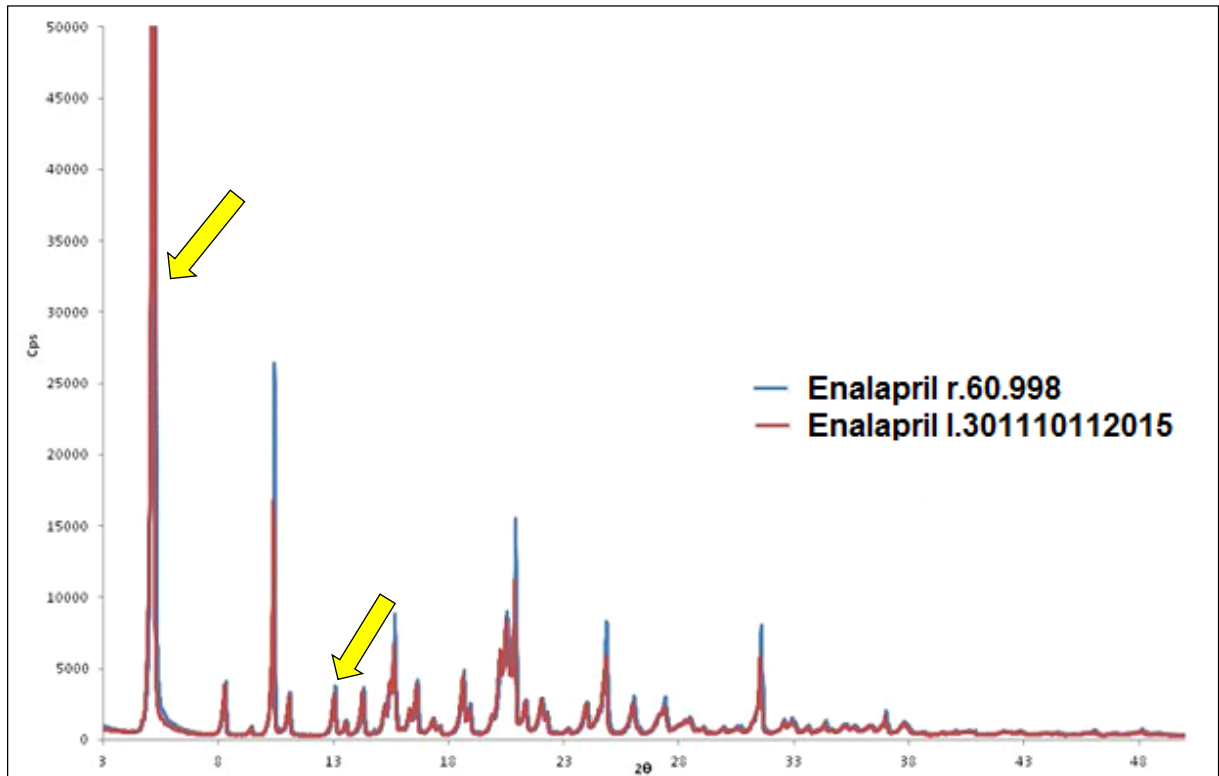
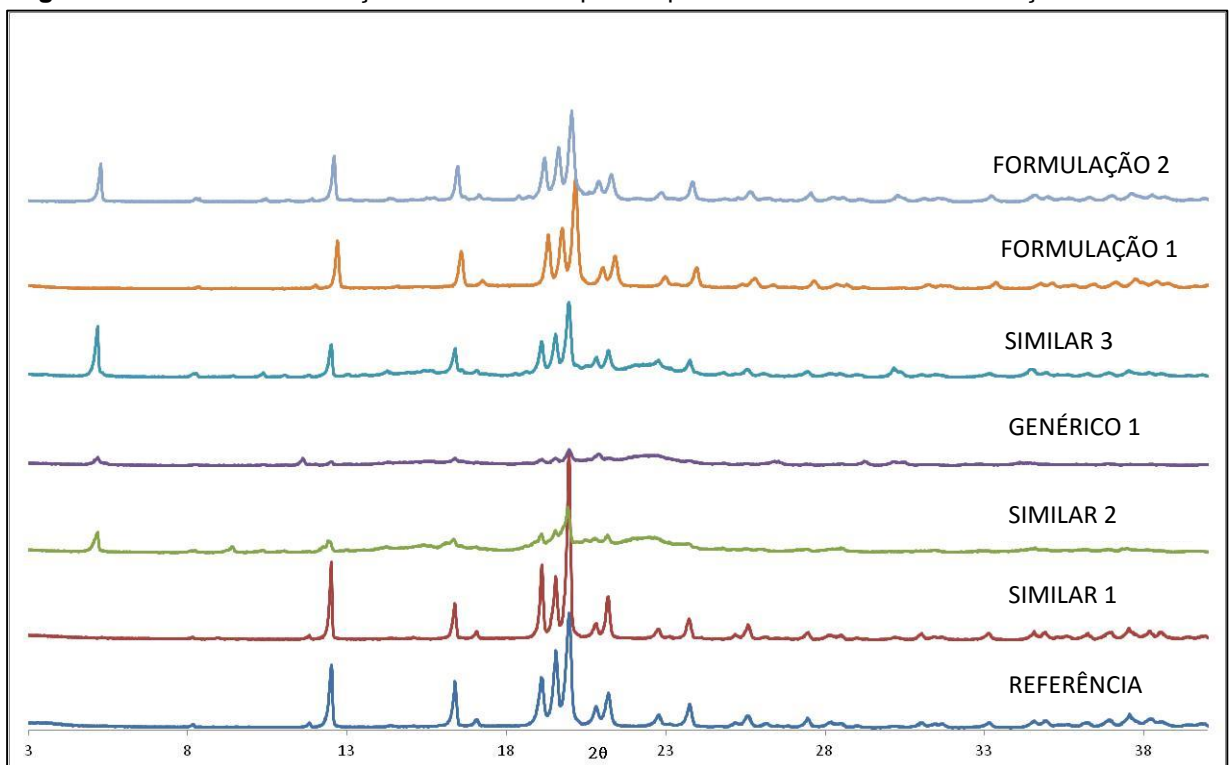


Figura 29 – Padrões de difração de raios X em pó dos produtos comerciais e formulações F1 e F2.



Durante o processo de fabricação da formulação F1, há a possibilidade de formação do enalaprilato de sódio amorfo, o que justificaria a ausência dos picos de DRXP, uma vez que não há mais a presença de material cristalino oriundo do maleato de enalapril.

A amorfização de um fármaco é uma arma eficaz em estudos clínicos quando uma concentração plasmática alta é necessária, tendo em vista que a amorfização pode aumentar a solubilidade e garantir a biodisponibilidade adequada. Existem exemplos em que o objetivo de amorfizar o IFA foi alcançado para uma maior solubilidade. Indometacina (HÉDOUX *et al.*, 2009) e piroxicam (TANTISHAIYAKUL *et al.*, 1999) foram amorfizados com este objetivo. Também se deve mencionar um exemplo de amorfização que não aumentou, mas diminuiu a solubilidade de um IFA, neste caso a rifampicina (PANCHAGNULA & BHARDWAJ, 2008).

Inúmeros IFA's possuem várias formas polimórficas, com diferentes propriedades físicas e/ou físico-químicas. Estas formas podem ser interconvertidas durante o processo de fabricação. Desta forma, o IFA pode exibir mudanças na solubilidade, ponto de fusão, processabilidade e efeitos fisiológicos diferenciados. Tal conversão polimórfica pode ser evitada através da amorfização (SINGHAL & CURATOLO, 2004).

O lote experimental F1 foi produzido pelo processo de granulação via úmida, como está descrito na patente de Merslavic e colaboradores (1994). Neste processo é produzida uma solução de maleato de enalapril com bicarbonato de sódio em água purificada, com o objetivo de formar uma solução de enalaprilato de sódio e ácido maleico. Esta solução foi utilizada na granulação e, posteriormente, o granulado foi seco.

Observa-se, na figura 29, que os medicamentos REFERÊNCIA e SIMILAR 1 possuem o mesmo perfil cristalográfico que a Formulação F1, não apresentando o pico característico do maleato de enalapril em $5^\circ 2\theta$. Enquanto isso, o lote experimental F2 foi produzido por compressão direta e apresenta os picos de difração da forma II do maleato de enalapril, assim como os medicamentos SIMILAR 2, SIMILAR 3 e GENÉRICO 1.

Com o fato constatado da similaridade dos perfis cristalográficos da formulação F1 e do medicamento REFERÊNCIA, fica evidenciada a influência do processo de fabricação do maleato de enalapril 20mg. Corroborando com o exposto o fato de a formulação F2 possuir os mesmos excipientes, diferenciando-se apenas pelo

processo de fabricação, o qual se dá por compressão direta. Assim sugere-se que os fabricantes dos medicamentos REFERÊNCIA e SIMILAR 1 produzam o maleato de enalapril 20mg comprimidos pelo processo de granulação por via úmida, mesmo processo sugerido por Merslavic e colaboradores (1994).

Do ponto de vista da processabilidade (compressibilidade das formulações F1 e F2), é fato que ambas não possibilitaram o aumento da dureza dos comprimidos e a força de compressão para gerar comprimidos com 5kp de dureza foi considerada alta para um comprimido de 8mm de diâmetro. Este fato vai contra alguns autores que indicam que a amorfização do IFA melhora a processabilidade, especialmente no que tange à compressão (BOZIC *et al.*, 2008; TRASI *et al.*, 2011). Por esta constatação se assume que as formulações F1 e F2, com IFA amorfizado ou não, possuem a mesma processabilidade.

A técnica de DRXP pode proporcionar a identificação do processo de fabricação dos medicamentos REFERÊNCIA, SIMILAR 1 e Formulação F1. As análises de DRXP reproduziram resultados que corroboram com os de DSC. Evidencia-se a similaridade das formulações dos mesmos produtos em ambas as técnicas. O uso conjunto destas duas técnicas (DRXP e DSC) também foi realizado por Allais e colaboradores (2003), onde estudaram a transição das fases cristalinas da trilaurina.

Os excipientes utilizados para o desenvolvimento do maleato de enalapril 20mg foram analisados por DRXP e comparados com o perfil cristalográfico do medicamento REFERÊNCIA. Seguem os padrões de difração nas figuras 30 a 36. De acordo com os resultados de DRXP obtidos para o medicamento REFERÊNCIA, a formulação F1 e os excipientes que estão descritos na sua respectiva bula, é possível observar que o padrão de difração é praticamente similar ao padrão da lactose (Figura 31).

De acordo com Kirk e colaboradores (2007) existem 4 tipos de lactose bem definidos, sendo estes: uma forma simples hidratada, alfa-lactose mono-hidratada; três formas anidras, beta-lactose, alfa-lactose anidra (estável) e alfa-lactose anidra (higroscópica instável). Tais autores também citam que há uma tendência de um equilíbrio espontâneo entre as duas formas cristalinas de lactose, sendo 40% de alfa e 60 % de beta-lactose. A beta-lactose vendida no mercado farmacêutico e de alimentos habitualmente contém uma mistura de beta-lactose e alfa-lactose estável.

A alfa-lactose estável tende a dar estabilidade à beta-lactose, diminuindo a possibilidade de alteração de fase cristalina desta última.

Listiohadi e colaboradores (2008) citam em seu estudo que existem outras formas de lactose, como: beta-lactose anidra e misturas de alfa e beta-lactose, além das formas citadas por Kirk e colaboradores (2007).

Na figura 31 está identificado um pico característico da estrutura da beta-lactose ($10,5^{\circ}2\theta$), assim como os dois picos da alfa-lactose ($12,5^{\circ}2\theta$ e $16,4^{\circ}2\theta$) (BARHAM *et al.*, 2015). Fica caracterizado que a lactose mono-hidratada utilizada neste estudo possui uma mistura de formas cristalinas. Contudo, observa-se que os perfis de fase do medicamento referência e da formulação F1 não apresentam a mistura de formas alfa e beta-lactose, devido à ausência do pico característico desta última (BARHAM *et al.*, 2015).

Tendo em vista o exposto por outros autores, a lactose tem a capacidade de mudar sua forma cristalina por influência da temperatura e umidade do ambiente, além de estresse mecânico e processos de aquecimento e resfriamento. Estes dados dão subsídio argumentativo suficientes para sugerir que a lactose mono-hidratada, utilizada no processo de granulação da formulação F1, sofreu alteração de forma cristalina após o processo de secagem em leite fluidizado. Houve uma alteração de uma mistura de formas alfa e beta-lactose para somente alfa-lactose (FERNANDEZ-MARTIN *et al.* 1980; MAHLIN *et al.* 2004; KIRK *et al.* 2007; GARNIER *et al.* 2002; GOMBÁS *et al.* 2002; LISTIOHADI *et al.* 2008; BARHAM *et al.* 2015).

Os demais excipientes caracterizados por DRXP não exibiram picos similares aos do medicamento REFERÊNCIA ou do maleato de enalapril. Pela técnica de DRXP pode-se concluir a proposição inicialmente levantada com os resultados de DSC. Estes dados analíticos reforçaram a iniciativa de se utilizar a formulação dos experimentos F1 e F2, qualitativamente idênticas à do medicamento referência.

Figura 30 – Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do enalapril IFA (vermelho).

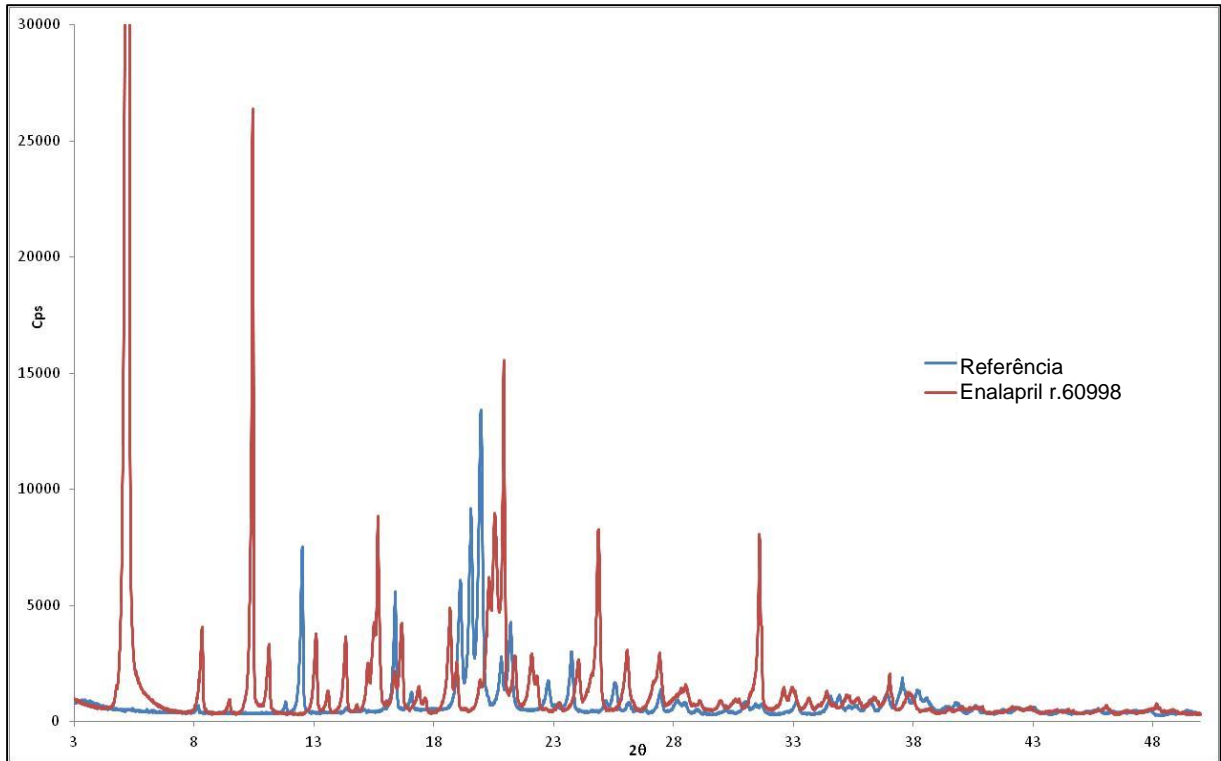


Figura 31 – Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (vermelho), formulação 1 (azul) e da lactose mono-hidratada (verde).

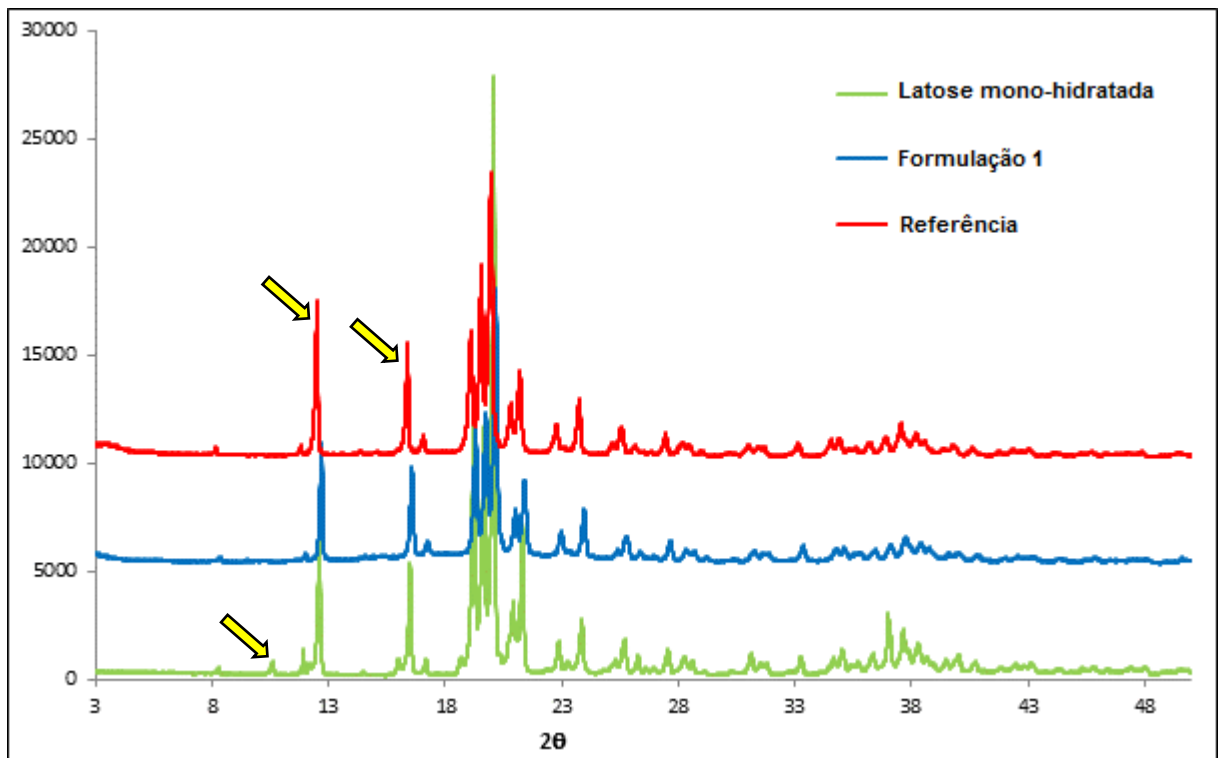


Figura 32 – Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do bicarbonato de sódio (vermelho).

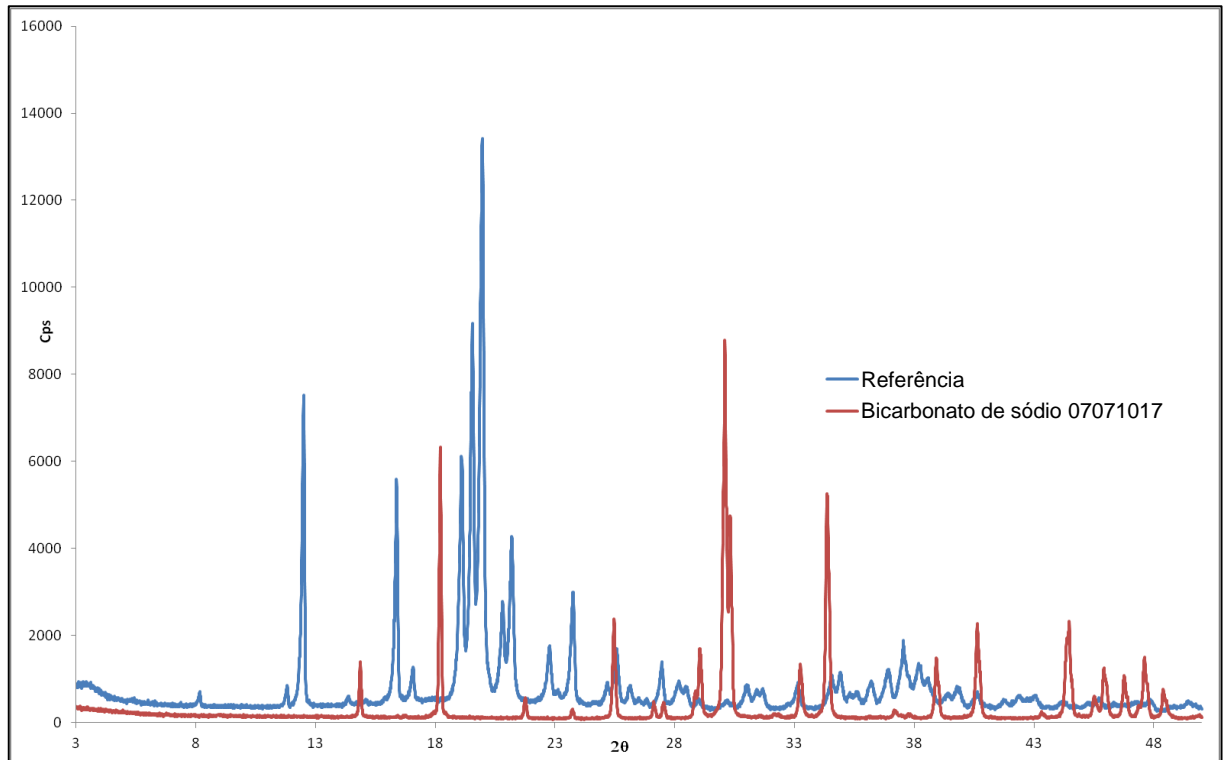


Figura 33 – Padrões de difração de raios X do medicamento referência (azul) e do amido de milho (vermelho).

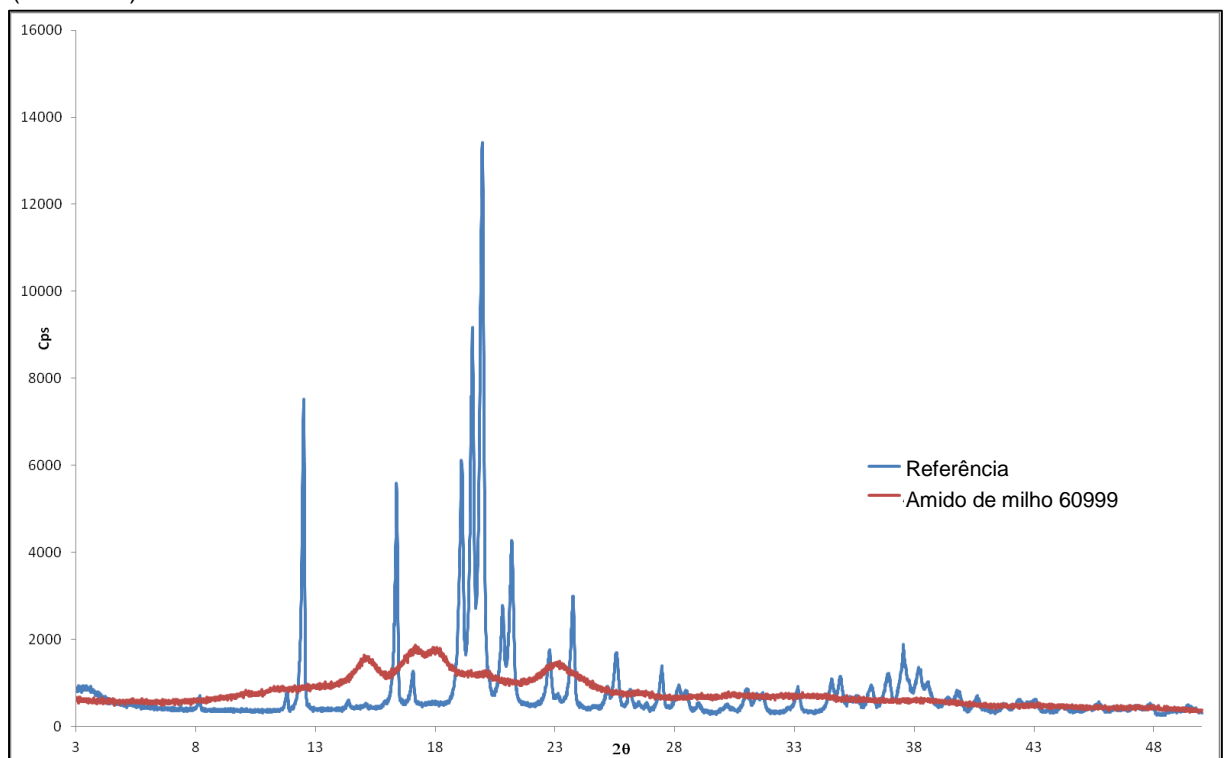


Figura 34 – Padrões de difração de raios X em pó do medicamento referência (azul) e do estearato de magnésio (vermelho).

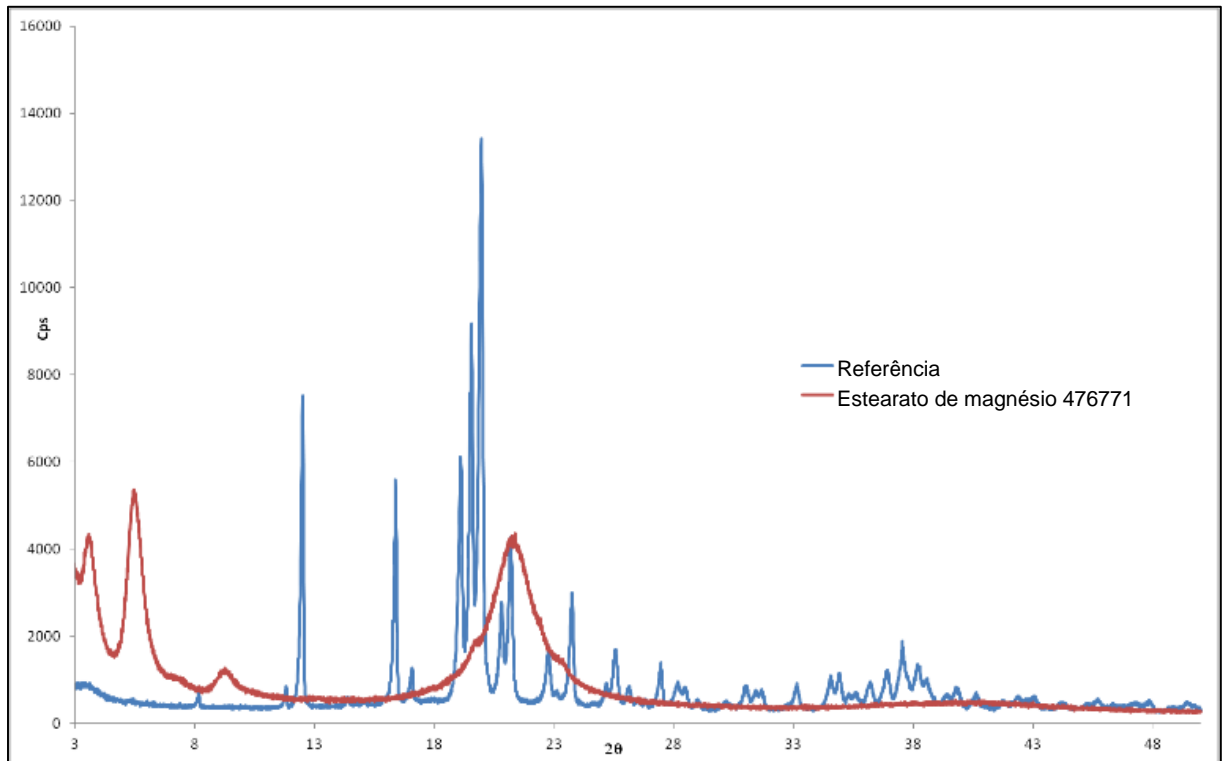


Figura 35 – Padrões de difração do medicamento referência (azul), do óxido de ferro amarelo (vermelho) e do óxido de ferro vermelho (verde).

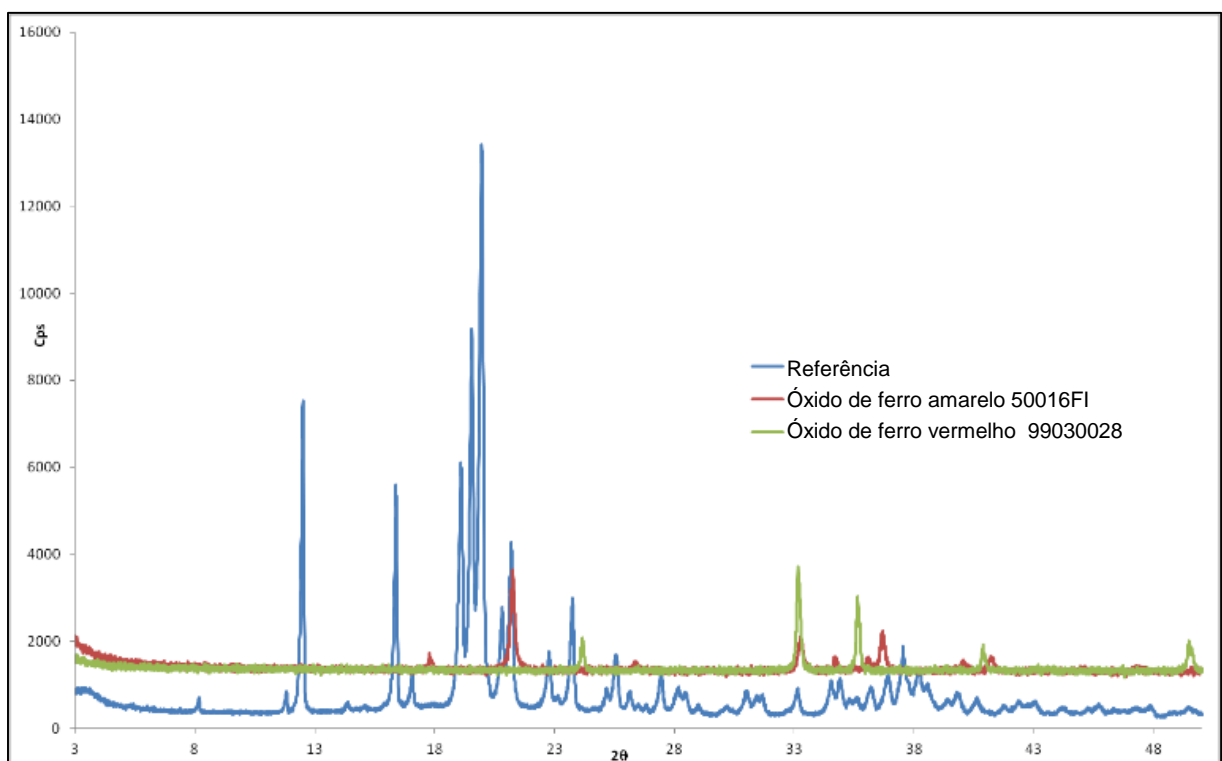
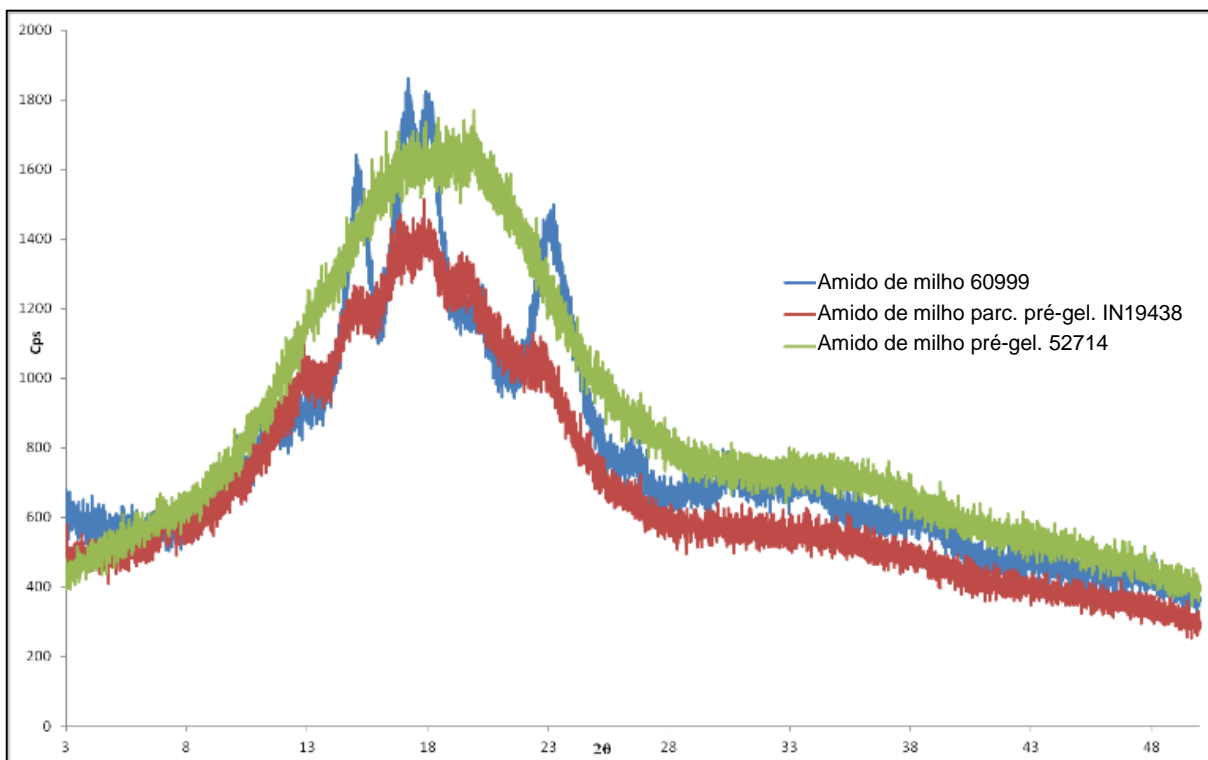


Figura 36 – Padrões de difração de raios X do amido de milho (azul), amido de milho parcialmente pré-gelatinizado (vermelho) e amido de milho pré-gelatinizado (verde).



A figura 36 ilustra a comparação por DRXP entre os três tipos de amido de milho caracterizados. Devido à característica dos padrões de difração obtidos, pode-se afirmar que as três amostras correspondem a materiais (parcialmente) amorfos, sendo que as amostras amido de milho e amido de milho parcialmente pré-gelatinizado apresentam uma pequena ordenação cristalina. Dessa forma pode-se classificá-los em ordem crescente de ordenação cristalina: amido de milho pré-gelatinizado < amido de milho parcialmente pré-gelatinizado < amido de milho.

O amido de milho é parcialmente cristalino. Sua cristalinidade é de 15 a 45 %, como cita Ma e colaboradores (2009), que correspondem à duas formas (A e B) e uma forma intermediária (C). A classificação é baseada no teor de água e no empacotamento das duplas hélices que formam a estrutura molecular do amido (SAJILATA *et al.*, 2006; DENARDIN & DA SILVA, 2009).

O grau de cristalinidade, que pode ser definido como o percentual das regiões cristalinas em relação ao material como um todo, é um dado analítico interessante a ser considerado tendo em vista as influências que são exercidas nas propriedades dos excipientes, tais como: propriedades físico-químicas, fisiológicas e de

processabilidade (RAMIREZ, 2011). A manutenção das moléculas de água no amido, é vital para manutenção da estrutura cristalina. A perda das moléculas de água pode ocorrer em diferentes processos como, moagem (ação mecânica) ou compressão e até mesmo por secagem (em temperaturas elevadas) (JAYAKODY, 2001).

Os processos de fabricação das formulações, F1 e F2, diferem-se muito, como já citado anteriormente. Com base nos dados bibliográficos acima e nos resultados de DRXP dos experimentos, é passível de aceitação a amorfização do amido de milho pelo processo de secagem em leito fluidizado, após a granulação via úmida da formulação F1, assim como a amorfização do amido na formulação F2 no momento da compressão (estresse mecânico, pressão).

Os demais excipientes caracterizados não possuem picos de difração que coincidam com os do medicamento referência. A técnica de análise por DRXP se mostrou muito satisfatória para a escolha adequada dos excipientes e, possivelmente, para a escolha do processo produtivo dos comprimidos de maleato de enalapril 20mg. A granulação via úmida poderá ser utilizada como via de processo produtivo para este medicamento.

A definição do perfil cristalográfico do medicamento referência frente às formulações F1 e F2 e a seus excipientes serão fundamentais para continuidade do projeto de desenvolvimento do medicamento. Não foram realizadas análises por DRXP dos comprimidos após o período de 30 dias de estabilidade por uma limitação institucional.

6.2.4. Densidade aparente e compactada

Na tabela 6 estão compilados os resultados de densidade aparente e densidade compactada (média) dos dois diferentes fabricantes de maleato de enalapril e dos lotes experimentais F1 e F2.

Tabela 6 – Resultados de densidade aparente e compactada do maleato de enalapril IFA e das formulações F1 e F2.

Material	Densidade aparente (g/mL)	Densidade compactada (g/mL)
Fabricante 1 (60998)	0,44	0,50
Fabricante 2 (30111011215)	0,40	0,47
Formulação F1	0,64	0,73
Formulação F2	0,63	0,76

Observa-se que tanto a formulação F1 quanto a F2 possuem alta densidade, o que pode agregar bom escoamento ao material, garantindo homogeneidade do processo de enchimento das matrizes da compressora, melhorando consequentemente o processo de compressão (NIAZI, 2004).

6.2.5. Índice de compressibilidade e razão de Hausner

Na tabela 7 estão exibidos os resultados da avaliação de fluxo dos materiais conforme Quadro 2 do item 5.2.2.2 deste trabalho. Observa-se que o processo de granulação via úmida é capaz de manter e/ou melhorar as características do IFA após seu processamento. O processo de mistura para compressão direta (formulação F2) utiliza-se de excipientes para melhoramento da formulação fazendo com que se agregue fluxo e compressibilidade.

O parecer de fluxo, pela razão de Hausner, foi classificado como “justo”. No processo de compressão da formulação F2 foi possível observar a boa homogeneidade do peso individual, exibindo certa incoerência com o resultado analítico. A formulação F1 demonstrou coerência entre o processo de compressão e o resultado da análise da razão de Hausner e ângulo de repouso.

Tabela 7 – Resultados da avaliação do índice de compressibilidade, razão de Hausner e ângulo de repouso do maleato de enalapril IFA e das formulações F1 e F2.

	Índice de compressibilidade	Parecer de fluxo	Razão de Hausner	Parecer de fluxo
Fabricante 1 (60998)	12,00	Bom	1,14	Bom
Fabricante 2 (30111011215)	14,89	Bom	1,18	Bom
Formulação F1	12,33	Bom	1,14	Bom
Formulação F2	17,11	Justo	1,21	Justo

6.2.6. Granulometria

As análises de granulometria revelam uma grande semelhança no perfil granulométrico dos dois fornecedores, onde o Fabricante 1 teve o tamanho médio das partículas de 106 micra, enquanto que o maleato de enalapril do Fabricante 2 obteve como média 116 micra.

O processo de granulação via úmida cumpre com o papel de agregação das partículas, conforme evidenciado nos perfis granulométricos das duas formulações estudadas. Observa-se a diferença da distribuição das partículas, a média de tamanho das partículas para a formulação F1 foi de 346 micra enquanto que a formulação F2 ficou em 149 micra. Nos quadros de 3 a 5 estão demonstrados os perfis granulométricos (Fabricante 1 e Fabricante 2, Formulação1 e Formulação 2 respectivamente).

Quadro 3 – Perfil granulométrico do maleato de enalapril IFA – fabricante 1.

Tamis (tyler)	Tamis (μm)	Média dos tamises (μm)	% retido	Tamanho da partícula (μm)
28	600	-	-	-
48	300	450	2,37	10,67
80	180	240	10,28	24,66
100	150	165	4,74	7,83
150	106	128	9,49	12,14
200	75	90,5	13,44	12,16
250	63	69	54,15	37,36
fundo	0	31,5	4,74	1,49
Média do tamanho das partículas				106,32

Quadro 4 – Perfil granulométrico do maleato de enalapril IFA – fabricante 2.

Tamis (tyler)	Tamis (μm)	Média dos tamises (μm)	% retido	Tamanho da partícula (μm)
28	600	-	-	-
48	300	450	4,92	22,16
80	180	240	11,36	27,26
100	150	165	4,65	7,67
150	106	128	8,14	10,42
200	75	90,5	11,16	10,10
250	63	69	54,25	37,43
fundo	0	31,5	4,61	1,45
Média do tamanho das partículas				116,49

Quadro 5 – Perfil granulométrico da formulação F1.

Tamis (tyler)	Tamis (μm)	Média dos tamises (μm)	% retido	Tamanho da partícula (μm)
8	2360	-	-	-
20	850	1605	1,72	27,61
35	425	637,5	22,88	145,86
48	300	362,5	15,2	55,10
65	212	256	27,08	69,32
150	106	159	28,8	45,79
270	53	79,5	3,88	3,08
fundo	0	26,5	0,08	0,02
Média do tamanho das partículas				346,79

Quadro 6 – Perfil granulométrico da formulação F2.

Tamis (tyler)	Tamis (μm)	Média dos tamises (μm)	% retido	Tamanho da partícula (μm)
8	2360	-	-	-
60	250	1305	2,72	35,50
80	180	215	16,4	35,26
100	150	165	11,72	19,34
150	106	128	21,8	27,90
250	63	84,5	33,28	28,12
325	45	54	6,56	3,54
fundo	0	22,5	0,68	0,15
Média do tamanho das partículas				149,82

6.3. Análise físico-química

O IFA maleato de enalapril foi analisado e aprovado conforme FB 5ª ed. Abaixo seguem os resultados analíticos das formulações F1 e F2, em tempo zero e após 30 dias de estabilidade.

6.3.1. Resultado das análises de peso médio e individual dos comprimidos

Os resultados do peso individual das duas formulações inicialmente testadas estão detalhados nas figuras 37 a 40. Pode-se observar os resultados dos dois lotes em tempo zero (T0) e após trinta dias (T30) de estabilidade em duas condições, 30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 % em duas embalagens, frasco de PEAD com tampa com sílica e frasco de PEAD sem tampa.

A análise do tempo zero dos comprimidos se deu no processo de compressão, onde foram realizadas 3 amostragens (início, meio e fim) com 20 comprimidos cada amostragem. A especificação dos comprimidos de maleato de enalapril segue a descrição da FB 5ª ed: neste caso não é permitido mais do que duas unidades fora da especificação de 7,5 % em relação ao peso médio dos comprimidos (185,00 – 200,00 – 215,00 mg). Nas tabelas 8 e 9, pode-se verificar os resultados do peso médio dos lotes das formulações F1 e F2, respectivamente.

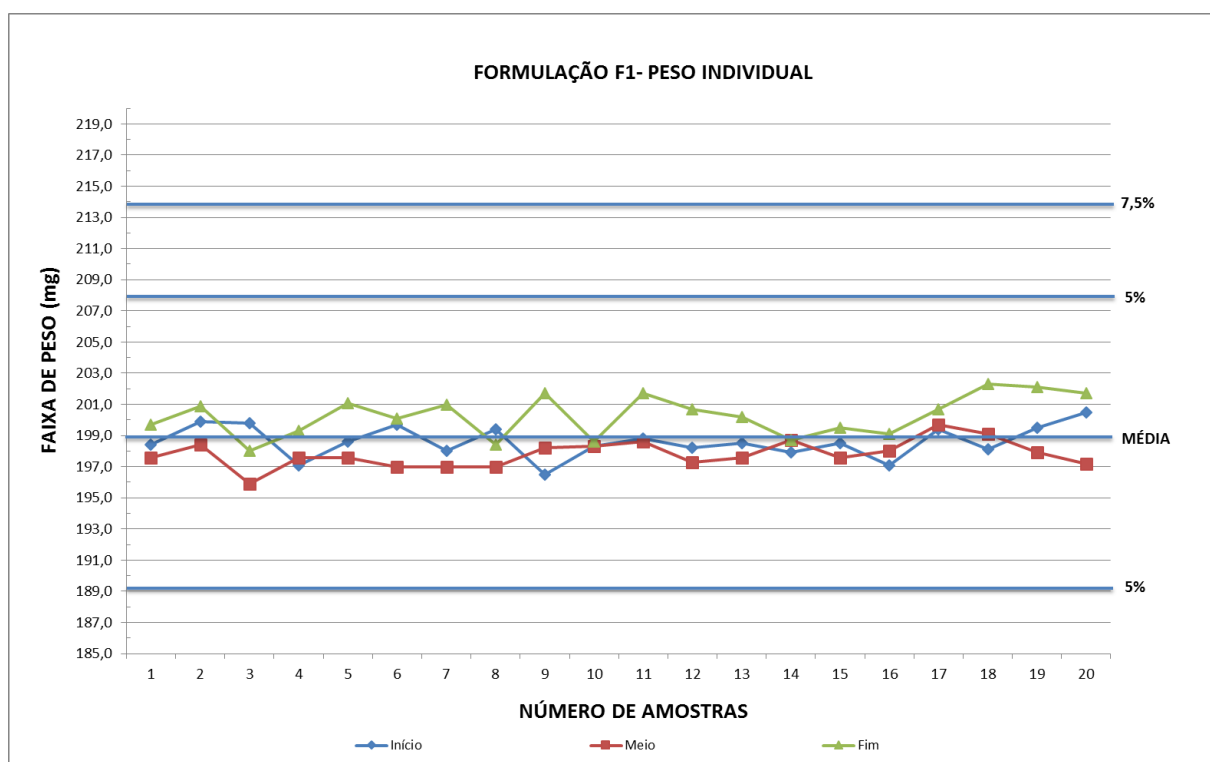
Tabela 8 – Peso médio dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.

	Tempo zero	30°C / 75UR Sílica	30°C / 75UR s/tampa	40°C / 75UR Sílica	40°C / 75UR s/tampa
Média	198,9	202,40	212,50	204,50	213,70
±DPR	±0,54	±0,61	±0,99	±0,55	±0,99
Mínimo (mg)	195,90	200,00	209,70	202,70	209,90
Máximo (mg)	202,3	205,60	216,30	206,60	216,80

Tabela 9 – Peso médio dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.

	Tempo zero	30°C / 75UR Sílica	30°C / 75UR s/tampa	40°C / 75UR Sílica	40°C / 75UR s/tampa
Média	202,3	202,70	203,30	201,50	202,70
±DPR	±0,53	±0,76	±0,70	±0,64	±1,43
Mínimo (mg)	198,10	199,80	200,00	200,00	193,50
Máximo (mg)	205,40	204,80	206,20	204,40	207,00

Figura 37 – Peso médio dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero de estabilidade.



O controle do peso individual da formulação F1 do tempo zero aponta a homogeneidade da compressão, sendo que após os trinta dias de estabilidade no acondicionamento frasco sem tampa (condição de estresse), observa-se o aumento do peso acima de 5 % e em alguns pontos acima de 7,5 % em ambas condições de armazenagem (30 °C / 75 % UR e 40 °C / 75 %). No acondicionamento frasco com sílica nota-se que o peso médio dos comprimidos permanece abaixo de 5 % de variação, mostrando que a embalagem tem um efeito preponderante para manutenção do peso médio dos comprimidos.

Figura 38 – Peso médio dos comprimidos da formulação F1 após trinta dias de estabilidade.

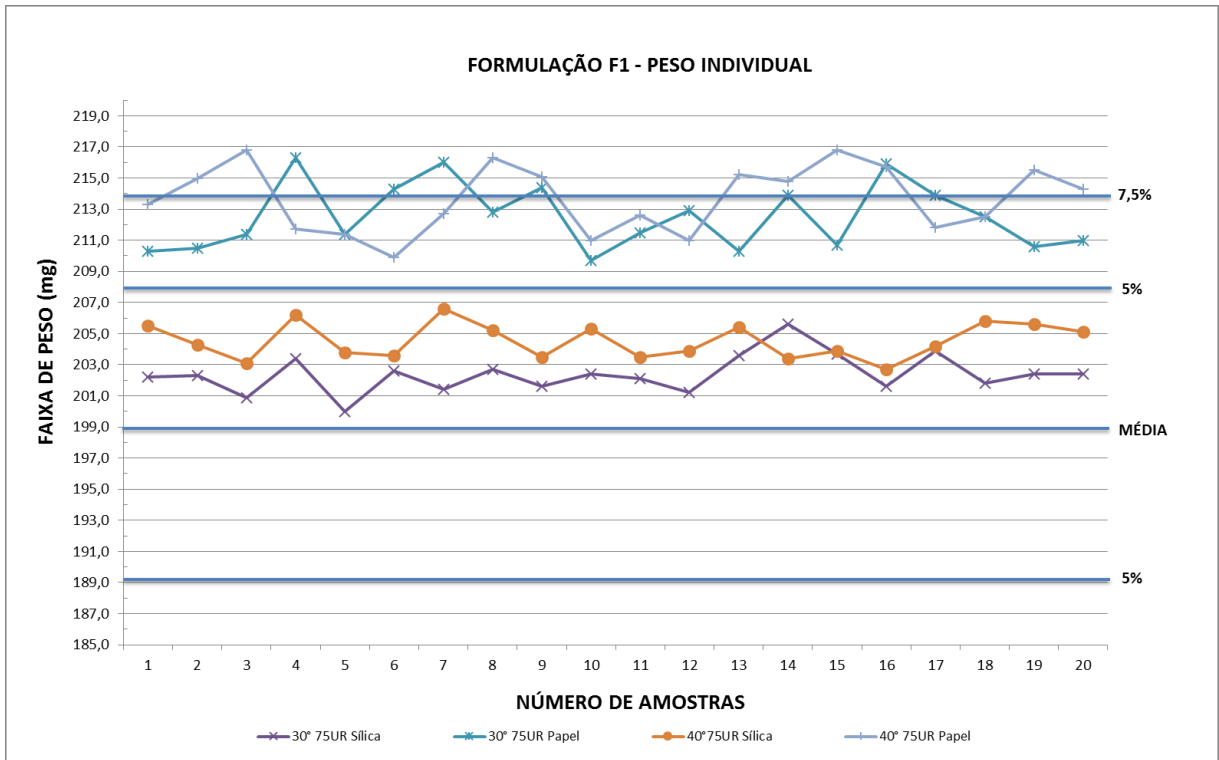
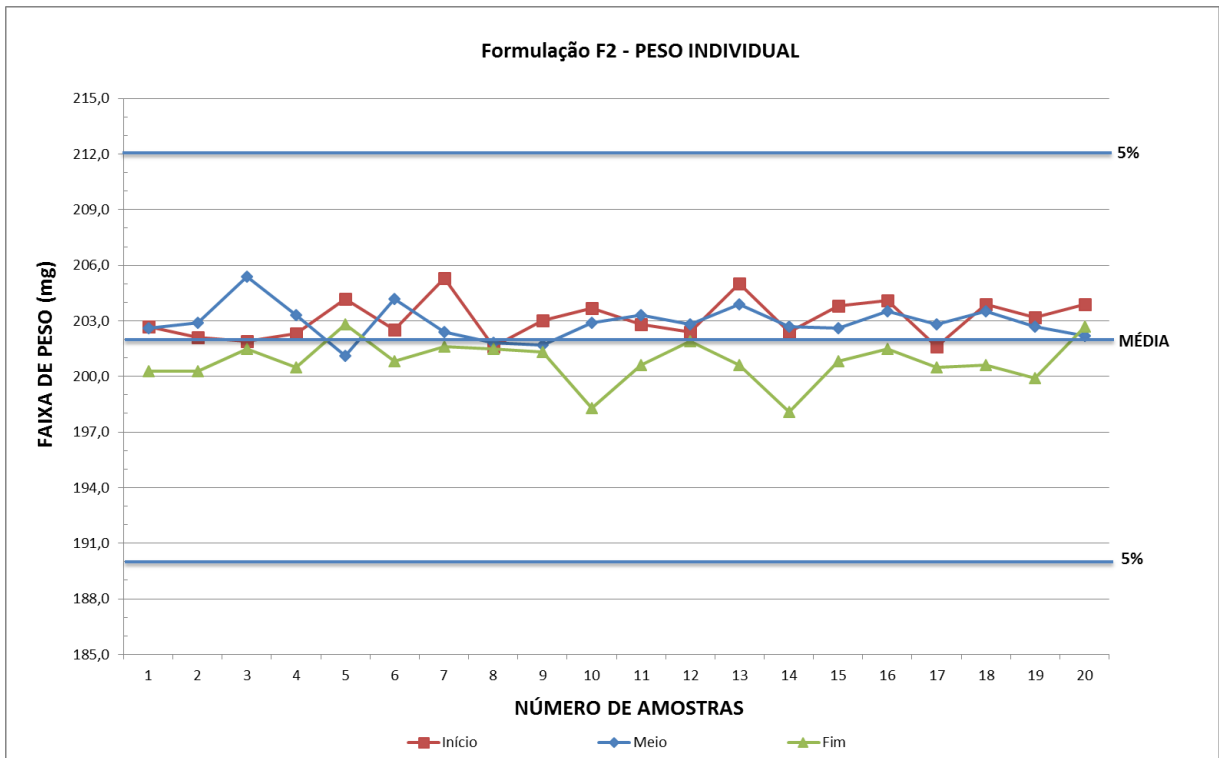
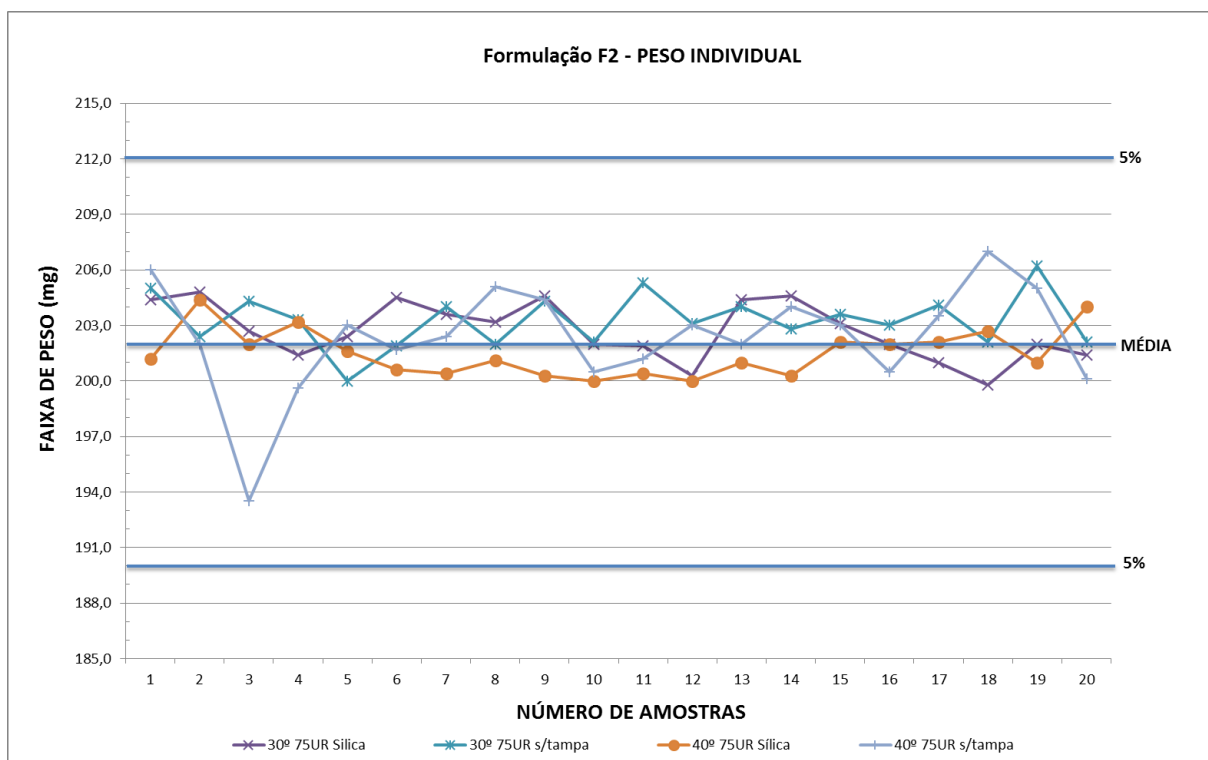


Figura 39 – Peso médio dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero de estabilidade.



A formulação F2 também exibiu excelente homogeneidade do peso durante o processo de compressão (T0) e, além disso, após a estabilidade de 30 dias, em ambas as condições de armazenagem, não se observou alteração no peso dos comprimidos, concluindo-se que a influência da embalagem na formulação (F2) é menor em relação à formulação F1.

Figura 40 – Peso médio dos comprimidos da formulação F2 após trinta dias de estabilidade.



6.3.2. Resultado da análise de dureza dos comprimidos

Nas figuras 41 a 44 estão demonstrados os resultados das análises de dureza dos comprimidos das formulações F1 e F2, no ponto zero e durante a estabilidade em diferentes acondicionamentos. Assim como realizado no estudo do peso individual, a dureza também foi avaliada em três amostras durante o processo de compressão.

Figura 41 – Dureza dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero da estabilidade.

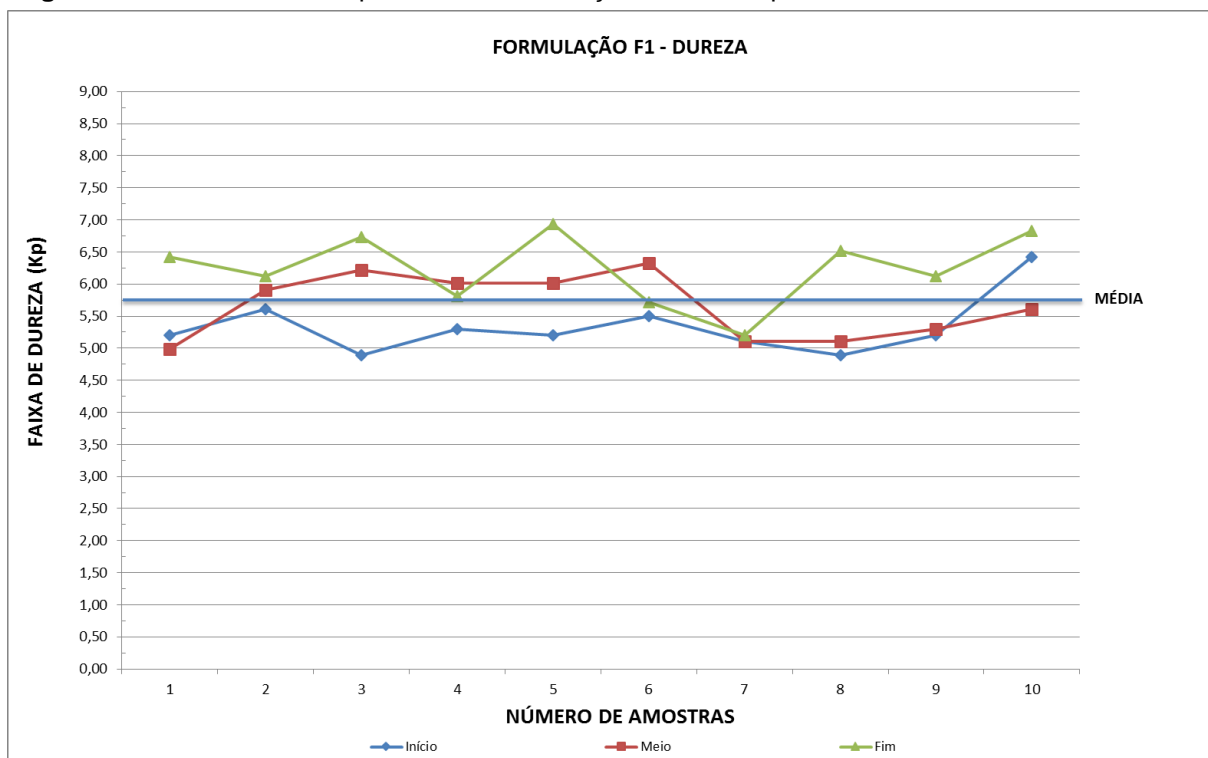


Figura 42 – Dureza dos comprimidos da formulação F1 após trinta dias de estabilidade.

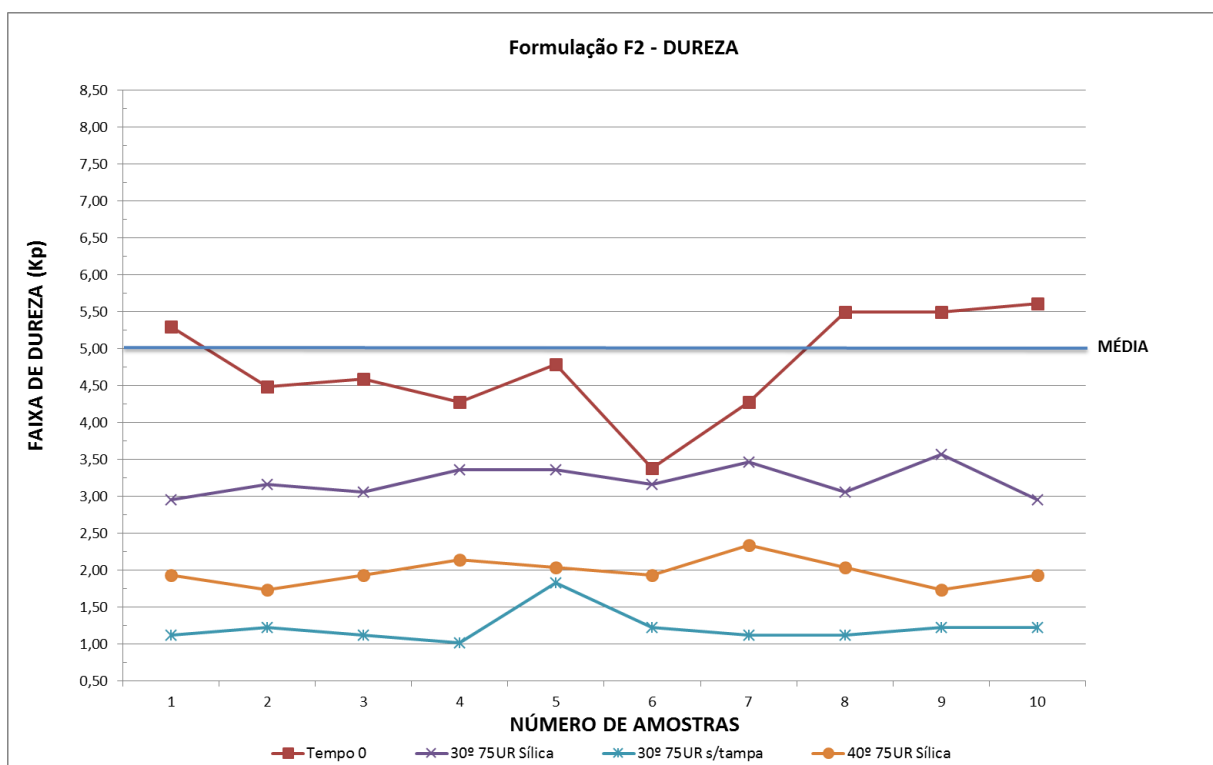


Figura 43 – Dureza dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero da estabilidade.

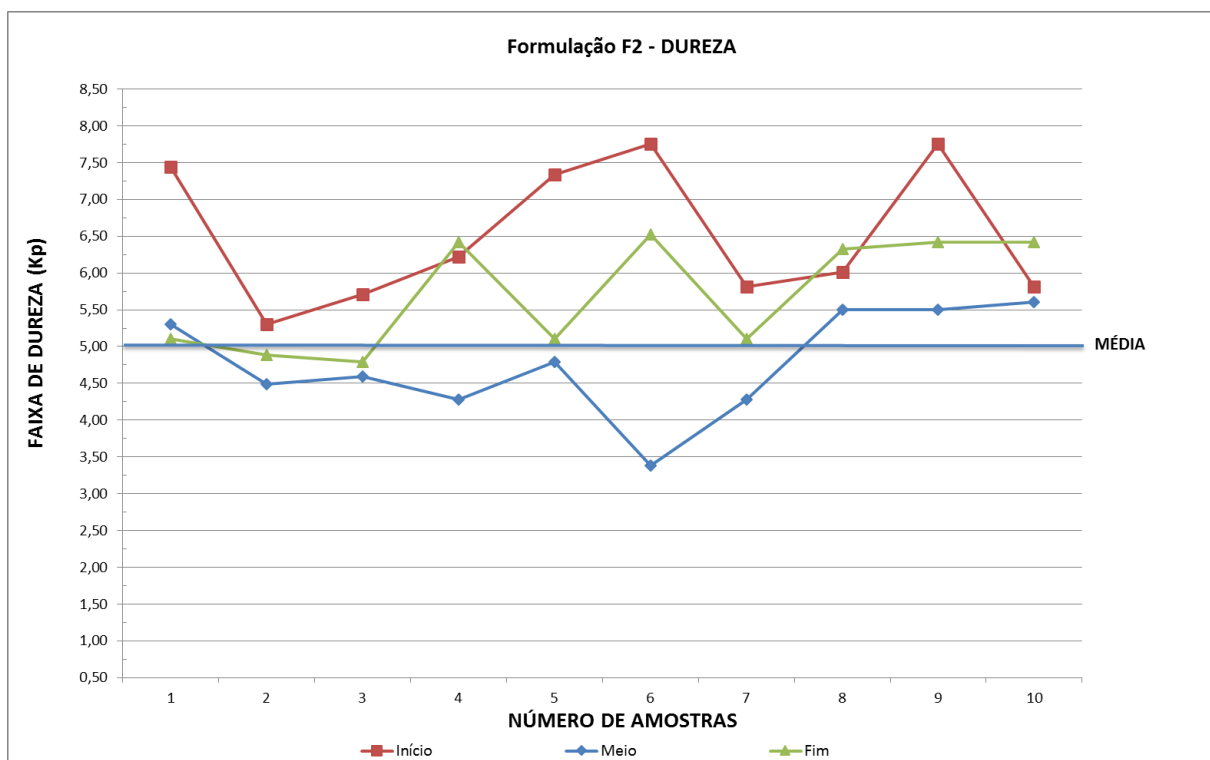
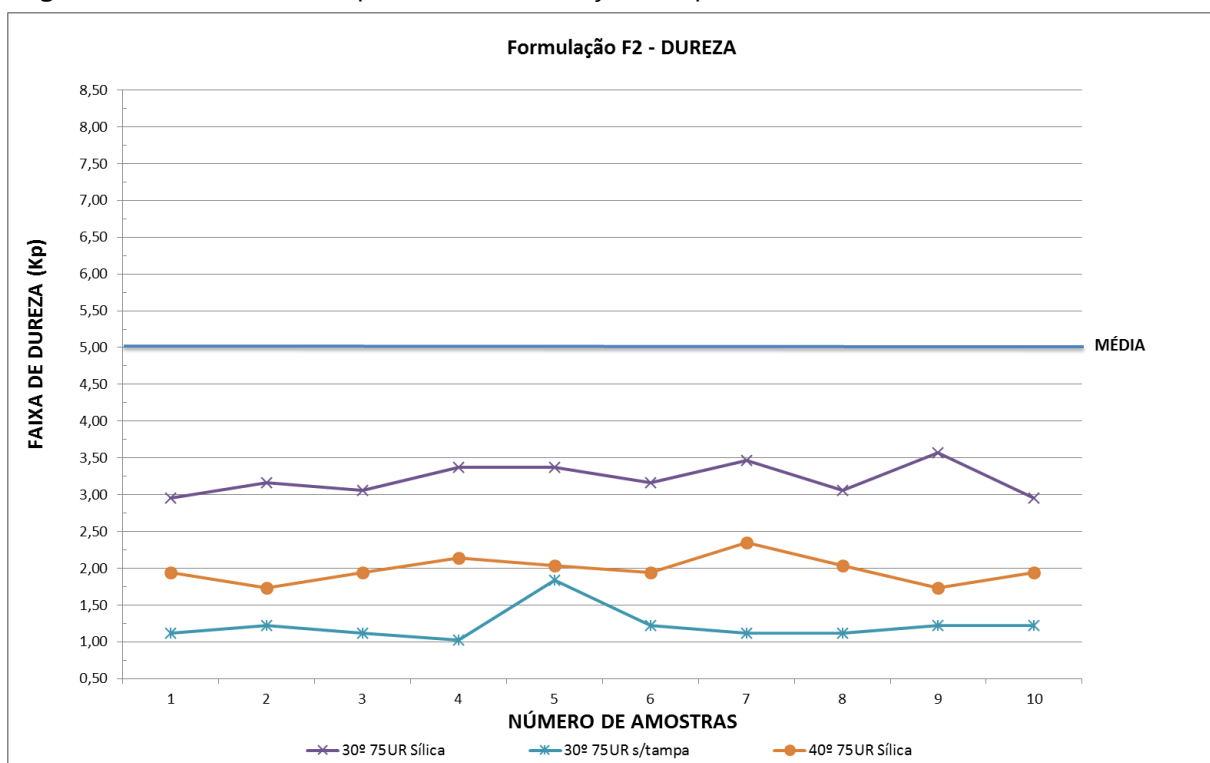


Figura 44 – Dureza dos comprimidos da formulação F2 após trinta dias de estabilidade.



Devido à característica de baixa compressibilidade da formulação F1, devido à presença de amido de milho na formulação, não foi possível atingir um patamar mais alto de dureza, estipulando-se a média de 5,0 kp (SOARES & PETROVICK, 1999; MARSHALL, 2001; BANKER & ANDERSON, 2001; HAUSLER, 2009). Após o período de 30 dias de estabilidade notou-se a brusca queda da dureza dos comprimidos acondicionados em frasco sem tampa em ambas as condições de armazenamento. Os comprimidos acondicionados em frascos com sílica mantiveram-se estáveis após 30 dias de estabilidade, viabilizando o processo de via úmida para fabricação quando acondicionados em material adequado.

De forma similar ao relatado para a formulação F1, quanto à compressibilidade, a formulação F2 também não apresenta boa característica plástica (SOARES & PETROVICK, 1999; MARSHALL, 2001; BANKER & ANDERSON, 2001; HAUSLER, 2009). Já no ponto zero é observada a variabilidade do processo e acentuada perda de dureza após o período de estabilidade, em ambos os acondicionamentos e condições de armazenagem, indicando a inviabilidade deste processo de fabricação sem alteração de formulação ou utilização de material de embalagem mais adequado.

Após o período de estabilidade os comprimidos das formulações F1 e F2 demonstraram intumescimento e esfarelamento, nas condições de maior estresse. Alguns comprimidos ficaram grudados uns aos outros, deixando claro a importância da barreira de proteção que a embalagem deve promover ao produto final. O processo de fabricação via úmida (formulação F1) demonstrou maior capacidade de manutenção da dureza, o que foi observado nos frascos com sílica em ambas as condições de estabilidade. Os comprimidos da formulação F2 após 30 dias de estabilidade, em frasco sem tampa com 40 °C e 75 % UR, não foram analisados devido à acentuada perda de dureza e alteração de forma dos comprimidos.

Dado aos fatos e dados observados, o processo de granulação via úmida promove à formulação F1 maior estabilidade, no que tange à manutenção da dureza dos comprimidos.

6.3.3. Resultado da análise de desintegração

A formulação F1 apresentou uma desintegração entre 5 e 10 minutos, estando de acordo com as especificações da FB 5ª ed (máximo de 30 minutos em água a 37 °C). Após o período de 30 dias de estabilidade, apresentou queda na média do tempo de desintegração em todas condições de armazenagem e embalagens.

Nota-se que a formulação F2 possui desintegração mais rápida do que a formulação F1. Este fato possivelmente se deve à diferença no processo de fabricação dos comprimidos. A desintegração do material granulado da formulação F1 é de certa forma mais dificultada do que o material oriundo por mistura para compressão direta da formulação F2 (BANKER & ANDERSON, 2001; SÁ BARRETO & CUNHA-FILHO, 2009). A desintegração dos comprimidos gerados por granulação via úmida ocorre em duas etapas básicas: na primeira, há a desintegração do comprimido em partículas menores (os grânulos) e, na segunda, há a desintegração destes grânulos menores, que conseqüentemente leva ao maior tempo total de desintegração (BANKER & ANDERSON, 2001).

Após o período de 30 dias de estabilidade há uma queda do tempo de desintegração dos comprimidos armazenados sem tampa, na condição 40 °C / 75 % UR. Na mesma condição de armazenagem, porém em embalagem com tampa com sílica, observou-se a queda de 50 % do tempo médio da desintegração dos comprimidos da formulação F2. Devido ao exposto, pode-se levar em consideração a influência da temperatura no tempo de desintegração dos comprimidos da formulação F2. Os resultados estão nas tabelas 10 e 11.

Tabela 10 – Desintegração dos comprimidos da formulação F1 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.

	Tempo zero	30 °C / 75UR Sílica	30 °C / 75UR s/tampa	40 °C / 75UR Sílica	40 °C / 75UR s/tampa
Média	00:08:52	00:05:41	00:05:14	00:05:58	00:05:10
Mínimo	00:05:52	00:04:22	00:04:57	00:05:24	00:04:56
Máximo	00:10:58	00:07:00	00:05:30	00:06:50	00:05:24

Tabela 11 – Desintegração dos comprimidos da formulação F2 em tempo zero e após trinta dias de estabilidade.

	Tempo zero	30 °C / 75UR Sílica	30 °C / 75UR s/tampa	40 °C / 75UR Sílica	40 °C / 75UR s/tampa
Média	00:02:33	00:02:28	00:02:03	00:01:27	00:00:37
Mínimo	00:02:06	00:01:44	00:01:55	00:01:13	00:00:24
Máximo	00:03:18	00:03:41	00:02:14	00:01:41	00:00:50

6.3.4. Resultado de Friabilidade

Os resultados de friabilidade das formulações F1 e F2 foram determinados conforme metodologia da FB 5ª ed, utilizando 20 comprimidos e submetendo-os a 100 revoluções em 4 minutos. Os resultados das análises de tempo zero da estabilidade estão exibidos nas tabelas 12 e, na tabela 13 estão os resultados após 30 dias de estabilidade. Devido ao baixo quantitativo de comprimidos a análise de friabilidade após a estabilidade não foi realizada em triplicata.

Tabela 12 – Resultado da análise de friabilidade em tempo zero das formulações F1 e F2.

	Início	Meio	Fim
Formulação F1	0,03 %	0,08 %	0,08 %
Formulação F2	0,16 %	0,19 %	0,20 %

Tabela 13 – Resultado de friabilidade em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.

	30 °C / 75UR Sílica	30 °C / 75UR s/tampa	40 °C / 75UR Sílica	40 °C / 75UR s/tampa
Formulação F1	0,09 %	0,27 %	0,05 %	0,27 %
Formulação F2	0,30 %	6,08 %	0,17 %	N/R*

* não foi possível realizar devido à baixa dureza.

Observa-se que o processo de compressão direta e granulação via úmida são consideravelmente diferentes entre si, no que tange à manutenção da estrutura física dos comprimidos após serem submetidos à abrasão. Mesmo no tempo zero de estabilidade a formulação F2 já exibe um resultado de friabilidade até 150 % acima do resultado da formulação F1. Após os 30 dias de estabilidade a friabilidade foi exponencialmente aumentada, na embalagem sem tampa em ambas formulações. Porém, na formulação F2 este resultado foi ainda pior, onde se observou que com a embalagem sem tampa em 40 °C e 75 % UR não foi possível realizar a análise de friabilidade, pois os comprimidos estavam esfarelado devido à baixa dureza.

Na formulação F1, apesar de se identificar um substancial aumento da friabilidade, do tempo zero para 30 dias de estabilidade, ainda se pode dizer que são valores aceitáveis. Mesmo nas condições de maior estresse (sem tampa) ainda se observa que são resultados aceitáveis em relação à especificação farmacopeica – máximo de 1,5 % de friabilidade.

Dado este fato, de que o processo de granulação via úmida promove maior resistência mecânica aos comprimidos, aceita-se que a utilização de uma embalagem de maior barreira contra umidade possa prover estabilidade física por 24 meses pelo menos.

6.3.5. Resultado de substâncias relacionadas e teor

Os comprimidos de maleato de enalapril foram analisados conforme a FB 5ª ed e os resultados de substâncias relacionadas (SR máx. 5,0 %) estão na tabela 14 e de teor (90 a 110 %) na tabela 15.

Tabela 14 – Resultado da análise de substâncias relacionadas totais em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.

	Início	30 °C / 75UR Sílica	30 °C / 75UR s/tampa	40 °C / 75UR Sílica	40 °C / 75UR s/tampa
Formulação F1	0,50 %	0,60 %	2,50 %	2,30 %	7,90 %
Formulação F2	1,7 %	3,10 %	7,10 %	12,80 %	18,40 %

Obs.: Total de Impurezas: Máximo 5% - FB 5ª ed

Tabela 15 – Resultado da análise de teor em tempo zero e após trinta dias de estabilidade das formulações F1 e F2.

	Início	30 °C / 75UR Sílica	30 °C / 75UR s/tampa	40 °C / 75UR Sílica	40 °C / 75UR s/tampa
Formulação F1	103,50 %	104,50 %	103,80 %	103,00 %	100,50 %
Formulação F2	95,80 %	95,80 %	90,50 %	85,30 %	76,80 %

Obs.: Teor - 90-110% - FB 5ª ed

Os resultados das substâncias relacionadas do tempo zero de estabilidade da formulação F1 estão em concordância com a especificação da FB 5ª ed e os resultados após 30 dias, quando armazenados em frasco com sílica em 30 °C / 75 % UR, apresentaram aproximadamente o mesmo quantitativo (0,50% e 0,60%). Observou-se evidente aumento das substâncias relacionadas nas demais condições de armazenagem e embalagem.

Cabe ressaltar que, no frasco sem tampa na condição 40 °C / 75 % UR, os comprimidos de maleato de enalapril seriam reprovados no estudo de estabilidade por apresentarem 7,90 % de substâncias relacionadas totais, onde o máximo permitido são 5 % conforme FB 5ª ed. Pode-se creditar a manutenção dos baixos valores de substâncias relacionadas da formulação F1 à presença de sílica na tampa do frasco de PEAD e ao processo de granulação via úmida descrito na patente de Merzlavic e colaboradores (1994). Quanto aos resultados de teor, não houve queda ou acentuação grave, mantendo-se o valor inicial com a variação normal dentro dos limites da FB5ª ed.

Comparando-se os resultados de substâncias relacionadas dos dois lotes, a formulação F2 apresenta um valor inicial 3 vezes maior. Devido a este ponto de partida, já elevado, fica claro que a barreira de umidade do frasco de PEAD não pôde manter as substâncias relacionadas em baixo nível. Após o período de 30 dias apenas um acondicionamento e em uma condição de armazenagem observou-se valores abaixo da especificação de 5 % da FB 5ª ed, neste caso, frasco com sílica em 30 °C e 75 %UR. Nos demais acondicionamentos e condições os valores ficaram acima do limite. Quanto ao teor é evidenciado o mesmo comportamento, ou seja, apenas o acondicionamento frasco com sílica em 30 °C e 75 %UR foi capaz de manter o valor inicial, os demais apresentaram substancial queda do valor.

É importante ressaltar que a evidente influência da umidade e da temperatura na estabilidade da formulação F2. Estes resultados inviabilizam o processo de fabricação por compressão direta (F2), revelando a instabilidade da formulação e a necessidade de utilizar-se uma embalagem primária com excelente barreira de umidade. A utilização do bicarbonato de sódio para estabilização do maleato de enalapril não foi eficaz quando se lançou mão do processo de mistura para compressão direta, porém o processo de solubilização do IFA com o agente alcalinizante promoveu maior estabilidade.

6.3.6. Resultado de perfil de dissolução

Os resultados do perfil de dissolução das formulações F1 e F2 estão demonstrados na tabela 16 e na figura 45. Devido à alta solubilidade do maleato de enalapril e à funcionalidade dos excipientes utilizados nas formulações, verificou-se uma dissolução muito rápida para ambos os experimentos. Nos primeiros 5 minutos de dissolução, a formulação F1 exibe um percentual de 47 % de maleato de enalapril dissolvido. Em 10 minutos de ensaio verificou-se aproximadamente 90 % da concentração de maleato de enalapril dissolvida e, em 15 minutos, 100 % do IFA já havia sido recuperado. A formulação F2 demonstrou uma dissolução muito mais rápida do que a F1, pois em 5 minutos de ensaio, foi recuperada 100 % da concentração de maleato de enalapril.

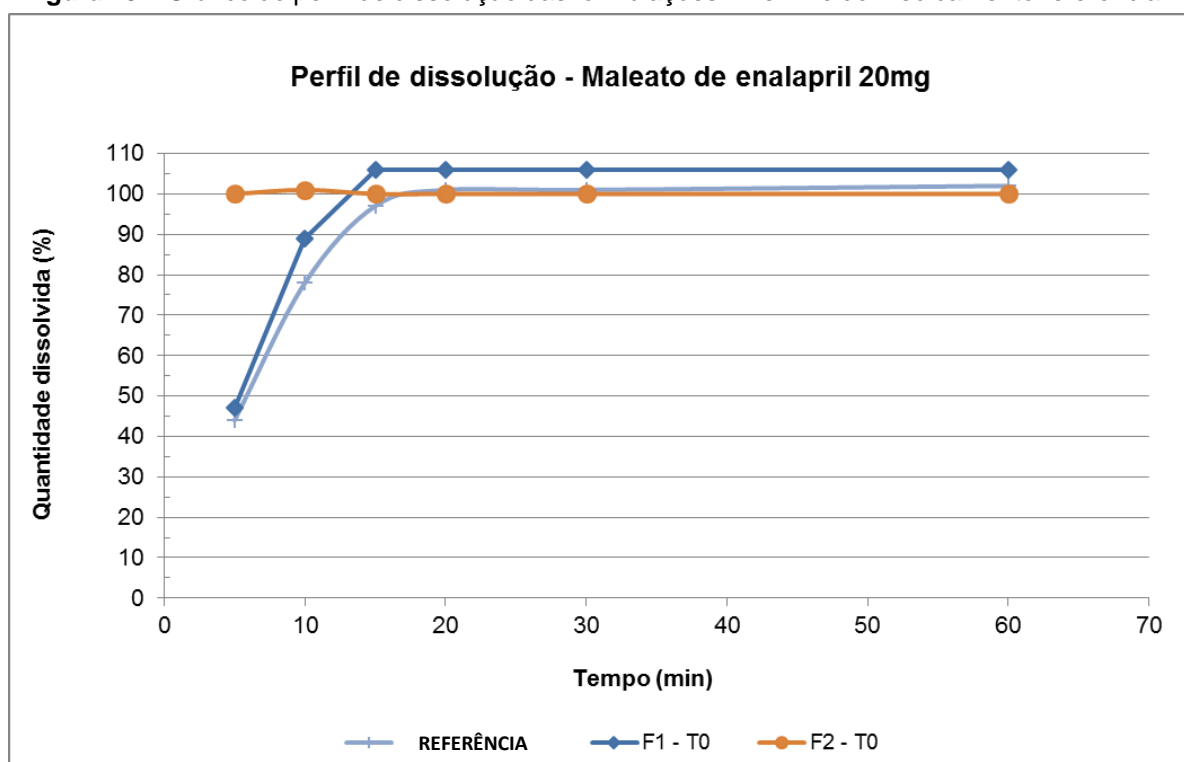
A diferença na velocidade da dissolução dos comprimidos de maleato de enalapril, em ambos experimentos, possivelmente se dá pela diferença das técnicas de fabricação. O processo de granulação via úmida, da formulação F1, provém grânulos rígidos de excipientes e IFA. Quando o comprimido entra em contato com o meio de dissolução sofre intumescimento, e inicia-se um processo de desintegração e dissolução. As partículas finas e solúveis são solubilizadas e os grânulos, provenientes da granulação úmida, precisam de mais tempo para intumescer com o fluido de dissolução e, posteriormente, serem dissolvidos. Como na formulação F2, todos os excipientes e IFA estão em partículas finas e a dureza do comprimido não foi superior a 5 kp há facilitação da penetração do fluido de dissolução e

consequentemente a solubilização do IFA em maior velocidade (LOWENTHAL, 1972; IBRAHIM, 1985; RIIPPI *et al.*, 1998).

Tabela 16 – Resultados do perfil de dissolução das formulações F1, F2 e do medicamento referência.

Tempo (min)	F1 - T0		F2 - T0		RENITEC MH003	
	%	DPR	%	DPR	%	DPR
5	47,0	5,0	100,0	1,0	44,0	9,0
10	89,0	4,0	101,0	1,0	78,0	6,0
15	106,0	2,0	100,0	1,0	97,0	3,0
20	106,0	2,0	100,0	1,0	101,0	0,0
30	106,0	2,0	100,0	1,0	101,0	1,0
60	106,0	2,0	100,0	1,0	102,0	1,0

Figura 45 – Gráfico do perfil de dissolução das formulações F1 e F2 e do medicamento referência.



Devido a uma limitação institucional, não foi possível realizar o perfil de dissolução dos comprimidos após o período de estabilidade. Considerando que a dissolução do medicamento referência e das formulações F1 e F2 foi muito rápida, exclui-se a necessidade de cálculo do fator de diferença (f_1) e fator de semelhança (f_2).

Ao extrapolar os resultados de desintegração dos comprimidos da formulação F1 após o período de estabilidade, possivelmente se observaria um perfil de dissolução mais rápido do que o tempo zero. Houve diminuição do tempo médio de desintegração de 8 para 5 minutos, além de um sutil decaimento da dureza média dos comprimidos. O mesmo comportamento poderia ser observado na formulação F2, pois a diminuição do tempo de desintegração e dureza foi mais acentuada. Sem dúvida alguma, esta teoria não se pode fazer verdade sem os valores reais das análises.

7. CONCLUSÃO

A avaliação das formulações de comprimidos de maleato de enalapril 20 mg do mercado farmacêutico nacional possibilitou a verificação dos excipientes mais utilizados. Foi observado que dentre 10 formulações analisadas nenhuma é idêntica à do medicamento referência, inclusive seis medicamentos genéricos. Isso sugere que a bioequivalência do maleato de enalapril não está associada exclusivamente à composição qualitativa de sua formulação, porém à manutenção da estabilidade físico-química certamente sim.

As técnicas de DSC e DRXP foram eficazes na caracterização dos medicamentos do mercado farmacêutico, assim como na identificação dos constituintes qualitativos da formulação do medicamento referência, mostrando-se ferramentas eficazes no estudo de pré-formulação. Os resultados analíticos de DRXP permitiram a caracterização do perfil cristalográfico do medicamento referência, comparando-os aos excipientes e às formulações F1 e F2. Estes resultados sugeriram que o processo de fabricação do medicamento referência é similar ao utilizado para a formulação F1 (granulação via úmida), devido à ausência do pico característico em $5^\circ 2\theta$. Possivelmente há amorfização do maleato de enalapril quando preparado por este processo, onde identificamos praticamente apenas os picos da estrutura cristalina da lactose.

Além disso, com os experimentos realizados pode-se concluir que o processo de mistura para compressão direta, apesar de ser mais vantajoso economicamente, não gerou adequada estabilidade físico-química para os comprimidos de maleato de enalapril 20 mg. Mesmo considerando que o bicarbonato de sódio está presente na formulação F2, como agente alcalino estabilizador, não foi o suficiente.

Foi demonstrado que o processo de granulação por via úmida descrito por Merlavic e colaboradores (1994), onde há necessidade de solubilização do maleato de enalapril em solução aquosa de bicarbonato de sódio, promoveu maior estabilidade aos comprimidos quando embalados em frasco de PEAD com tampa com sílica em duas condições de armazenagem ($30^\circ\text{C} / 75\% \text{ UR}$ e $40^\circ\text{C} / 75\% \text{ UR}$). Houve manutenção da estabilidade no que tange à concentração de substâncias relacionadas em tempo zero e após 30 dias de estocagem, assim como o teor de maleato de enalapril manteve-se dentro dos limites especificados. O processo de

fabricação dos comprimidos da formulação F1 demonstrou que tanto aspectos físicos, como dureza, friabilidade e desintegração, quanto aspectos físico-químicos, foram satisfatórios dentro dos limites preconizados na FB5^a ed.

Conclui-se que há necessidade de utilização de uma embalagem primária adequada contra umidade e oxigênio, vide a constatação de que a maioria dos medicamentos do mercado nacional utilizam blíster alumínio/alumínio ou *strips* de alumínio. A transmissão de vapor de água através da embalagem propicia a degradação do maleato de enalapril, contribuindo para o aumento de substâncias relacionadas, decaimento do teor, conseqüentemente afetando a eficácia e segurança do medicamento.

Foi possível definir que a via de processo mais adequada para fabricação dos comprimidos de maleato de enalapril 20 mg é a granulação via úmida, corroborando com os estudos de alguns autores citados neste trabalho, em especial o processo proposto por Merslavic e colaboradores (1994). Os excipientes, lactose monohidratada, amido de milho pré-gelatinizado, óxido ferro vermelho e estearato de magnésio, compuseram de forma eficaz as formulações para os estudos de pré-formulação para o desenvolvimento do medicamento maleato de enalapril 20mg comprimidos simples.

Há necessidade de que se desenvolvam novos estudos para verificação da robustez desta formulação e do processo de fabricação, haja visto que o preparo da solução de maleato de enalapril e bicarbonato de sódio em água demanda um longo tempo, mesmo em escala laboratorial. Fazendo-se um escalonamento industrial, naturalmente poderia inviabilizar sua aplicação.

8. PERSPECTIVAS

De acordo com os resultados analíticos dos lotes experimentais das formulações F1 e F2, e com os dados de processabilidade destes, faz-se necessário a complementação do estudo em questão para elucidação e otimização de alguns pontos listados abaixo.

- Determinar qual agente alcalinizante / estabilizador é mais eficaz no processo de fabricação proposto – hidróxido de sódio, carbonato de sódio ou bicarbonato de sódio.
- Estudar um método de preparo mais rápido da reação do maleato de enalapril com o agente alcalinizante/estabilizador.
- Elaborar um estudo com diferentes concentrações de bicarbonato de sódio (em excesso) para verificar a estabilidade dos comprimidos de maleato de enalapril 20mg, conforme método de Eyjolfsson (2003).
- Aprofundar os estudos para elucidação dos eventos térmicos verificados nas análises de DSC dos comprimidos.
- Realizar um estudo de estabilidade da formulação proposta, por no mínimo 6 meses, acondicionada em blister alumínio/alumínio.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAIS, C.; KELLER, G.; LESIEUR, P.; OLLIVON, M.; ARTZNER, F. X-ray diffraction/calorimetry coupling: A tool for polymorphism control. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 74 (2003) 723–728.

AL-OMARI, M.M.; ABDELAH, M.K.; BADWAN, A.A.; JABER, A.M.Y. Effect of the drug-matrix on the stability of enalapril maleate in tablet formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 25 (2001) 893–902.

ANSEL, Howard C.; POPOVICH, Nicholas G.; ALLEN JUNIOR, Loyd V. *Formas Farmacêuticas & Sistema de Liberação de Fármacos*. 5. ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000.

ARAUJO, G.L.B. Caracterização no estado sólido dos polimorfos de tibolona. Tese. Universidade de São Paulo – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - São Paulo 2009 P.202

BANAKAR U.V., *Pharmaceutical dissolution testing*. New York: Marcel Dekker; 1992.

BANKER, Gilbert S.; ANDERSON, Neil R. Comprimidos. In: LACHMAN, Leon; LEBERMAN, Herbert A.; KANIG, Joseph L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. Lisboa: Fundação Calouste Guilbenkian, 2001.

BARHAM, A. S.; TEWES, F.; HEALY, A. M. Moisture Diffusion and Permeability Characteristics of Hydroxypropylmethylcellulose and Hard Gelatin Capsules. *Int J Pharm.* 2015, 30; 478 (2):796-803.

BHARATE, S. S.; BHARATE, S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. *J. Excipients and Food Chem.* 1 (3) 2010

BHARDWAJ S.P.; SINGH S.J., Study of forced degradation behavior of enalapril maleate by LC and LC-MS and development of a validated stability-indicating assay method. *Pharm. Biomed. Anal.* 46 (2008) 113–120.

BOZIC, D. Z.; DREU, R.; VREČER, F. Influence of dry granulation on compactability and capping tendency of macrolide antibiotic formulation. *Int. J. Pharm.*, (2008) 357, 44-54.

BRASIL, 2005 - Resolução RE no 1, de 29/07/2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) que Autoriza ad referendum, a Publicação do Guia para a realização de Estudos de Estabilidade.

BRASIL, 2006 - Memento terapêutico de Farmanguinhos – FIOCRUZ.

BRASIL, 2010 - Farmacopeia Brasileira 5ª ed.

BRASIL, 2010 – RESOLUÇÃO RDC Nº. 31, DE 11 DE AGOSTO DE 2010 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) - Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo.

BRASIL, 2012 - Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para doenças crônicas – VIGITEL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária.

BRASIL, 2013 - Relação Nacional de Medicamentos Essenciais – RENAME. Ministério da Saúde.

BRITAIN, H.G. Polymorphism in pharmaceutical solids. v. 95, New York, USA: Marcel Dekker Inc., 1999. 448 p.

BRITAIN, H.G.; SACHS, C.; FIORELLI, K. Physical characterization of pharmaceutical excipients: practical examples. *Pharmaceutical Technology* 1991, 15 (10), 38, 40, 44, 46, 48, 50, 52.

BRUNI, G.; AMICI, L.; BERBENNI, V.; MARINI, A.; ORLANDI, A. Drug/excipient compatibility studies search of interaction indicators. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry* 2002, 68, 561–573.

CLEGG, W., *Crystal Structure Determination*. ed.; Oxford University Press: United States, 1998.

CHADHA R., BHANDARI S., Drug–excipient compatibility screening — Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 87 (2014) 82– 97

COTTON M.L.; WU D.W.; VADAS E.B., Drug-excipient interaction study of enalapril maleate using thermal analysis and scanning electron microscopy. *Int. J. Pharm.* 40, 129-142, 1987.

COUTO, A. G.; GONZÁLES ORTEGA, G.; PETROVICK, P.R. Granulação. *Caderno de Farmácia*, v.16, n.1, p.1 13-20, 2000.

DATTA, S., Crystal structures of drugs: advances in determination, prediction and engineering. In ed.; Grant, D. J. W., Ed. *Nature Reviews, Drug Discovery*: 2004; Vol. 3, pp 42-57.

DERNARDIN, C. C.; DA SILVA, L. P. Estrutura dos grânulos de amidos e sua relação com propriedades físico-químicas. *Ciência Rural*. 39(3):945-954. 2009.

ESPINEL, C. H.; WILLIAMS, J. L.; COUGHLIN, S. S. Enalapril and lisinopril in the treatment of mild to moderate essential hypertension. *Clinical Therapeutics*. v.12, p.181-190, 1990.

EYJOLFSSON, R. Enalapril maleate form II: stabilization in a tablet formulation. *Pharmazie*, 58 (2003) 357.

EYJOLFSSON, R. Enalapril maleate polymorphs: instability of form II in a tablet formulation. *Pharmazie*, 57 (2001) 347-348.

FERNANDEZ-MARTIN, F.; MORAIS, F.; OLANO, A. Thermal behaviour of lactose. Food Process Engineering. Volume 1. Food Processing Systems, pp.523-529 – 1980.

FUCHS, F. D. Uso racional de medicamentos antihipertensivos. Uso Racional de Medicamentos (URM) do HÓRUS – Sistema Nacional de Gestão da Assistência Farmacêutica. Ministério da Saúde, Brasil, 2011.

GAMBLE, J.F.; CHIU, W.S.; GRAY, V.; TOALE, H.; TOBYN, M.; WU, Y. Investigation into the degree of variability in the solid-state properties of common pharmaceutical excipients-anhydrous lactose. AAPS PharmSciTech. 2010 Dec;11(4):1552-7.

GARNIER, S.; PETIT, S.; COQUEREL, G. Dehydration and Crystallisation Behaviour of α -Lactose Monohydrate: New Unexpected Results. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry 68(2):489-502. 2002

GEORGE, H. S.; LYLE, H. J., X-ray structure determination, practical guide. 2 ed.; Wiley-interscience publication: 1989.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. Thermochemica Acta, v. 248, n. 2, p. 1-59, 1995.

GOMBÁS, A.; SZABÓ-RÉVÉSZ, P.; KATA, M.; REGDON, G. JR.; ERŐS, I. Quantitative Determination of Crystallinity of α -Lactose Monohydrate by DSC. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry. 2002, Volume 68, Issue 2, pp 503-510

HAPGOOD, K.P., 2009 Dióxido de silício coloidal. In: ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6. ed. USA: Apha, 2009.

HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. Goodman & Gilman. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. McGraw Hill, 11^a ed. 2006.

HARRIS; M.; HOKANSON, G.; MURTHY, K.; REISCH, R.; WALDMAN, F. United States Patent nº 4,743,450. 1988.

HAUSLER, O. Amido de milho. In: ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6. ed. USA: Apha, 2009.

HÉDOUX, A.; PACCOU, L.; GUINET, Y.; WILLART, J.F. DESCAMPS, M. Using the low frequency Raman spectroscopy to analyze the crystallization of amorphous indomethacin. Eur. J. Pharm. Sci., 2009, 38, 156-164.

IBRAHIM, H.G. Observations on the dissolution behavior of a tablet formulation: effect of compression forces, J. Pharm. Sci. 74 (1985) 575–577.

ICH – International Conference on Harmonisation - Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2), February 2003.

IMAMURA, Y.Y. Avaliação do efeito da granulometria sobre a transição cristalina de β -HMX por calorimetria exploratória diferencial e microscopia eletrônica de

varredura”, Tese, Instituto Tecnológico de Aeronáutica, São José dos Campos, SP, Brasil, 2002. 141f.

IONASHIRO, M. Princípios Básicos da Termogravimetria e Análise Térmica Diferencial / Calorimetria Exploratória Diferencial. Araraquara, Brasil: Giz Editorial, 2004.

IP D.P.; BRENNER, G. S.; STEVENSON, J.M.; LINDENBAUM, S; DOUGLAS, A.W.; KLEIN, S.D.; MACCAULEY, J.A. High resolution spectroscopic evidence and solution calorimetry studies on the polymorphs of Enalapril maleate. *Int. J. Pharm.* 1986 28:83–191.

JAIN, D.; BASNIWAL, P.K. Forced degradation and impurity profiling: Recent trends in analytical perspectives. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 86 (2013) 11–35.

JINJIANG, L.; YONGMEI, W. Lubricants in Pharmaceutical Solid Dosage Forms. *Lubricants* 2014, 2, 21-43.

JAYAKODY, J.A.L.P. The effect of acid hydrolysis on granular morphology and physicochemical properties of native cereal starch granules. Thesis. Department of Biochemistry. Memorial University of Newfoundland. 141p. 2001.

KIANG Y.H.; HU, Q. A.; STEPHENS, P.W.; XU, W. Structure Determination of Enalapril Maleate Form II from High-Resolution X-Ray Powder Diffraction Data. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 92, 1844–1853 (2003)

KIRK, J.H.; DANN, S.E.; BLATCHFORD, C.G. Lactose: a definitive guide to polymorph determination. *Int J Pharm.* 2007; 334 (1-2):103-14.

KOTTKE, M.K.; CHUEH, H. R.; RHODES, C. T. Comparison of disintegrant and binder activity of three corn starch products. *Drug Dev Ind Pharm* 1992; 18: 2207–2223.

KUBBINGA, M.; MOGHANI, L.; LANGGUTH, P. Novel insights into excipient effects on the biopharmaceutics of APIs from different BCS classes: Lactose in solid oral dosage forms. *Eur J Pharm Sci.* 2014 Sep 30; 61:27-31

KUMAR, L.; AMIN, A.; BANSAL, A.K.; Preparation and Characterization of Salt Forms of Enalapril. *Pharmaceutical Development and Technology*, 13:345–357, 2008

LIMA, D. M.; SANTOS, L. D.; LIMA, E. M. Instability and in vitro release profile of enalapril maleate from different commercially available tablets: Possible therapeutic implications. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 47 (2008) 934–937

LLINÀS, A.; GOODMAN, J.M.; Polymorph control: past, present and future. *Drug Discovery Today*, 13, 198-210 (2008).

LISTIOHADI, Y.; HOURIGAN, J. A.; SLEIGH, R. W.; STEELE, R. J. Thermal analysis of amorphous lactose and α -lactose monohydrate. INRA, EDP Sciences, 2008.

LOWENTHAL, W. Disintegration of tablets, J. Pharm. Sci. 61 (1972) 1695–1711.

MA, X.; CHANG, P.R.; YU, J.; STUMBORG, M. Properties of biodegradable citric-acid-modified granular starch / thermoplastic pea starch composites. Carbohydrate Polymers. 75, 1-8. 2009.

MAHLIN, D.; BERGGREN, J.; ALDERBORN, G. O.; ENGSTROM, S. Moisture-induced surface crystallization of spray-dried amorphous lactose particles studied by atomic force microscopy. JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES, VOL. 93, NO. 1, 2004.

MANADAS R.; PINA M.E.; VEIGA F., A dissolução in vitro na previsão da absorção de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. Rev Bras Ciên Farm. 2002; 38(4):375-99.

MATOS, J.R.; MACHADO, L.D.B. Análise térmica termogravimetria. In: CANEVAROLO JUNIOR., S.V., (Ed.). *Técnicas de caracterização de polímeros*. São Paulo: Artliber, 2004. p.209-228.

MARSHALL, K. Compressão e consolidação de sólidos em pó. In: LACHMAN, Leon; LEBERMAN, Herbert A.; KANIG, Joseph L. Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica. Lisboa: Fundação Calouste Guilbenkian, 2001.

MERSLAVIC, M.; RAZEN, J.; ROTAR, A. United States Patent nº 5,350,582. 1994.

MORETON, R.C. Fosfato de cálcio. In: ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6. ed. USA: Apha, 2009.

MSD - MERCK SHARP & DOHME, Bula Renitec 20mg. Disponível em: <http://www.netfarma.com.br/geraBula.asp?NomeArquivoBula= P02003MSD00.pdf> Acessado em: 06/03/2012.

NEWMAN A.W., BYRN S.R., Solid-state analysis of the active pharmaceutical ingredient in drug products., DDT 8 (2003) 898–905.

NIAZI S.K. Handbook of Pharmaceutical Manufacturing Formulations - Guidance on Formulating Compressed Solids. Vol.1, CRC Press LLC, 2004.

NYQVIST, H.; NICKLASSON, M. Flow properties of compressible lactose containing small quantities of drug substances. Drug Development and Industrial Pharmacy 1985, 11 (4), 745–759.

OLIVEIRA W.J.A.; MEDEIROS F.P.M.; CAVALCANTI A.C.; SILVA R.J.C.L.; DIAS M.E.S. Estudo de degradação forçada do maleato de Enalapril. IV Congresso de Pesquisa e Inovação Tecnológica da Rede Norte e Nordeste de Educação Tecnológica. Belém PA, Brasil. 2009.

PANCHAGNULA, R.; BHARDWAJ, V. Effect of amorphous content on dissolution characteristics of rifampicin. Drug Dev. Ind. Pharm., 34, 642-649 (2008).

PRÉCIGOUX, G.; GEOFFRE, S.; LEROY, F. N-(1-Ethoxycarbonyl-3-phenylpropyl)-L-alanyl-L-prolinium–hydrogen maleate (1/1), enalapril (MK-421). *Acta Crystallogr., Sect. C: Cryst. Struct. Commun.*, v.42, n.8, p.1022-1024, 1986.

RAMIREZ, M.G.L. Desenvolvimento de biocompósitos de amido termoplástico reforçados por fibra de coco verde. Tese. Universidade Federal do Paraná. 2011 168p.

REZENDE, R. L. O.; SANTORO, M. I. R. M.; MATOS, J. R. Stability and compatibility study on enalapril maleate using thermoanalytical techniques. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, Vol. 93 (2008) 3, 881–886

RIIPPI, M.; ANTIKAINEN, O.; NISKANEN, T.; YLIRUUSI, J. The effect of compression force on surface structure, crushing strength, friability and disintegration time of erythromycin acistrate tablets, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 46 (1998) 339–345.

RODRÍGUEZ-SPONG, B.; PRINCE, C.P.; JAYASANKAR, A.; MATZGER, A.J.; RODRÍGUES-HORNEDO, N. General principles of pharmaceutical solid polymorphism: a supramolecular perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, n. 3, p. 241-274, 2004.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 6. ed. USA: Apha, 2009.

SÁ-BARRETO, L. C. L.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Excipientes Coprocessados para compressão direta de comprimidos. *Latin American Journal of Pharmacy*, 28 (2): 304-12, 2009.

SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KULKARNI, P.R. Resistant starch – A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 5, 17. 2006.

SCHROETER, G.; TROMBETTA T.; FAGGIANI F. T.; GOULART P. V.; CREUTZBERG M.; VIEGAS K.; SOUZA A. C. A.; DE CARLI G. A.; MORRONE F. B. Terapia antihipertensiva utilizada por pacientes idosos de Porto Alegre RS, Brasil. *Scientia Medica*, Porto Alegre, v. 17, n. 1, p. 14-19, jan./mar. 2007

SERAJUDDIN, A.T.M.; THAKUR, A.B.; GHOSHAL, R.N.; FAKES, M.G.; RANADIVE, S.A.; MORRIS, K.R.; VARIA, S.A. Selection of solid dosage form composition through drug/excipient compatibility testing. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1999, 88 (7), 696–704.

SHARGEL, L.; YU, A. B. C. *Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics*. 4. ed. Stamford: Appleton & Lange, 1999. p. 768.

SHERMAN, B. C. United States Patent nº 5,573,780. 1996.

SHERMAN, B. C. United States Patent nº 5,690,962. 1997.

SIMONCIC Z.; ZUPANCIC P.; ROSKAR R.; GARTNER A.; KOGEJ K.; KMETEC V. Use of microcalorimetry in determination of stability of Enalapril Maleate and

enalapril maleate tablet formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 342 (2007) 145–151

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, 56, 335-347 (2004).

SOARES, L. A. L.; PETROVICK, P. R.. Física da Compressão. *Caderno de Farmácia*, Porto Alegre, v. 15, n. 2, p.65-79, 1999.

SOUZA, S. M. M. Desenvolvimento, caracterização físico-químicas e estudos de estabilidade de comprimidos de maleato de enalapril. Tese. Universidade Federal de Goiás. Faculdade de Farmácia. Goiânia - 2014 p.139.

STANISZ, B. Evaluation of stability of enalapril maleate in solid phase. *Journal Pharmaceutical Biomedical Analysis*. v. 31, p. 375-380, 2003.

STANISZ, B.; REGULSKA, K.; KANIA, J.; GARBACKI, P. Effect of pharmaceutical excipients on the stability of angiotensin-converting enzyme inhibitors in their solid dosage formulations. *Drug Dev Ind Pharm*. 2013 Jan; 39(1): 51-61.

STORPIRTIS, S. Avaliação biofarmacotécnica de medicamentos, aspectos tecnológicos de garantia de qualidade. *Revista Racine*, São Paulo, v. 47, p. 53-57, 1998.

STORPIRTIS, S.; CONSIGLIERI, V. O. Biodisponibilidade e bioequivalência de medicamentos, aspectos fundamentais para o planejamento e execução de estudos. *Rev. Farm. Bioquim. Univ.*, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 63, 1995.

TANTISHAIYAKUL, V.; KAEWNOPPARAT, N.; INGKATAWORNWONG, S. Properties of solid dispersions of piroxicam in polyvinylpyrrolidone. *Int. J. Pharm.*, (1999) 181, 143-151.

TODD, P. A.; GOA, K. L. Enalapril reappraisal of its pharmacology and therapeutic use in hypertension, *Drugs* 43 (1992) 346–381.

TRASI, N. S.; BOERRIGTER, S. X. M.; BYRN, S. R.; CARVAJAL, T. M. Investigating the effect of dehydration condition on the compactability of glucose. *Int. J. Pharm.*, (2011) 406, 55-61.

TSRL inc. Therapeutic System Research Laboratories. BCS (Biopharmaceutics Classification System). Disponível em: <http://69.20.123.154/services/bcs/search.cfm>. Acessado: 14/10/2014

USP 36–NF 31, United State Pharmacopea, 2013

WAGNER, K. J.; DRESSLER, J.A. A corn starch/ α -lactose monohydrate compound as a new directly compressible excipient. *Pharm Ind* 2002; 64 (9): 992–999.

WIRTH, D.D.; BAERTSCHI, S.W.; JOHNSON, R.A.; MAPLE, S.R.; MILLER, M.S.; HALLENBECK, D.K.; GREGG, S.M. Maillard reaction of lactose and fluoxetine

hydrochloride, a secondary amine. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1998, 87 (1), 31–39.

YORK, Peter. Delineamento de formas farmacêuticas. In: AULTON, M. E. (Comp.) *Delineamento de formas farmacêuticas*. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 1, p. 17-28.

YU, L.; REUTZEL, S.M.; STEPHENSON, G.A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1998.