



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS - UFAL
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE - ICBS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE - PPGCS

SIMONE BUARQUE TAVARES DIAS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE FÁRMACOS E COMPRIMIDOS DE CLOZAPINA EM
UMA CADEIA DE FABRICAÇÃO FARMACÊUTICA**

Maceió
2013

SIMONE BUARQUE TAVARES DIAS

**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE FÁRMACOS E COMPRIMIDOS DE CLOZAPINA EM
UMA CADEIA DE FABRICAÇÃO FARMACÊUTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Alagoas – UFAL em cumprimento às exigências para a obtenção do Grau de Mestre em Ciências da Saúde com área de concentração em Terapêutica Experimental.

Orientador: Prof. Dr. João Xavier de Araújo Júnior
Co-Orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes Nascimento

Maceió

2013

**Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central**

Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecária Responsável: Fabiana Camargo dos Santos

D541a Dias, Simone Buarque Tavares.
Avaliação da qualidade de fármacos e comprimidos de clozapina em uma cadeia de fabricação farmacêutica / Simone Buarque Tavares Dias. – 2013. 87 f. : il.

Orientador: João Xavier de Araújo Júnior.
Coorientador: Ticiano Gomes Nascimento.
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Maceió, 2013.

Bibliografia: f. 80-87.

1. Clozapina – Análises térmicas. 3. Clozapina – Dissolução intrínseca.
4. Comprimidos – Perfil de dissolução. 5. Análises microscópicas. I. Título.

CDU: 615.214:615.074

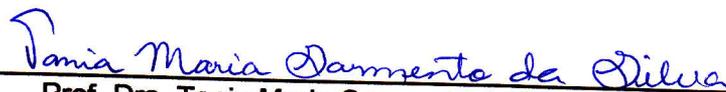
**AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE FÁRMACOS E COMPRIMIDOS DE
CLOZAPINA EM UMA CADEIA DE FABRICAÇÃO FARMACÊUTICA**

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ciências da Saúde,
ICBS, da Universidade Federal de
Alagoas – UFAL em cumprimento às
exigências para a obtenção do Grau de
Mestre em Ciências da Saúde com área
de concentração em Terapêutica
Experimental.

APRESENTAÇÃO EM: 05 de abril de 2013.



Prof. Dra. Magna Suzana Alexandre Moreira – (ICBS/UFAL)



Prof. Dra. Tania Maria Sarmiento da Silva - (DCM/UFRPE)



Prof. Dr. Irinaldo Diniz Basílio Júnior – (ESENFAR/UFAL)

Dedico este trabalho a meus pais (pai *in memoriam*), a meu esposo, a meus filhos e principalmente àquela energia positiva que nos envolve e inspira nos dando a certeza que sem ela, nada seria possível.

AGRADECIMENTOS

- Ao Professor Dr. João Xavier pela credibilidade e sugestões para execução deste trabalho.
- Ao Professor Dr. Ticiano Nascimento pela dedicação e parceria nesta realização.
- A Mauro Lúcio, meu grande companheiro e a meus filhos pelo incentivo nesta jornada.
- Aos professores do curso de pós graduação do ICBS, pelo aprendizado.
- A Diretoria do Laboratório Industrial Farmacêutico de Alagoas (LIFAL) por todo apoio. A equipe do C.Q., em especial, a Denise França e Cícera Cabral pela ajuda nas análises de dissolução. A Clareana pela estética deste trabalho.
- A Iana Mayane, pelo valioso auxílio nas análises microscópicas realizadas no Laboratório de Biologia Celular (UFAL)
- A Ana Flávia, pelas análises térmicas desenvolvidas no Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos (UFPB).
- A Daniel Lira pela colaboração nas análises de Infravermelho feitas no Instituto de Química e Biotecnologia (UFAL).
- Aos membros da Banca de Qualificação Professores Doutores: Irinaldo Basilio Jr. e Magna Suzana Moreira pelas sugestões na etapa de qualificação.
- A Professora Dra. Rusiene Almeida e a técnica Ana Ribeiro, pelas análises de microscopia eletrônica de varredura.

*“Meditai se só as nações fortes podem fazer ciência
ou se é a ciência que as fazem Fortes”.*

Oswaldo Cruz

RESUMO

A dificuldade na aquisição de matérias-primas com qualidade, devido à carência de indústrias farmoquímicas no Brasil, leva a problemas de qualificação de fabricante/fornecedor e de rastreabilidade na qualidade deste processo. A falta de padronização destas matérias primas acarreta variabilidade no produto final, com consequência no efeito terapêutico deste medicamento. A clozapina, fármaco escolhido para este estudo, pertencente à categoria dos agentes antipsicóticos, utilizados principalmente para esquizofrenia refratária ou outras doenças psiquiátricas graves; como medicamento, faz parte do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica do Ministério da Saúde, é considerada de alto custo, necessitando dos laboratórios oficiais para sua fabricação visando o atendimento aos pacientes crônicos e a diminuição dos custos destes tratamentos. O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade deste princípio ativo fornecido por um fabricante oriundo da China e das formas farmacêuticas geradas a partir deste ativo, atestando a reprodutibilidade entre lotes e em toda a cadeia produtiva do medicamento clozapina 100 mg, produzidos por um laboratório oficial do estado de Alagoas. Com o auxílio de técnicas analíticas como: infravermelho, microscópicas, sistemas de análises térmicas e de dissolução, foi realizada a caracterização e avaliada a qualidade destas matérias primas e dos produtos originados. Os resultados das microscopias: óptica e eletrônica de varredura, dissolução intrínseca e calorimetria diferencial exploratória demonstraram que as matérias-primas encontram-se na forma de cristais anidros com dissoluções características de fármacos classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica. Os comprimidos de clozapina apresentaram compatibilidade com os excipientes padronizados da formulação com perfis de dissolução e análise f2 (análise estatística) que confirmaram equivalência ao medicamento referência. A avaliação de clozapina através do perfil de dissolução ratificou os estudos de compatibilidade por análises térmicas, evidenciando que a fórmula padrão deste medicamento, não apresenta excipientes que reduza a estabilidade do produto final.

Palavras-Chave: Clozapina. Análises Térmicas. Dissolução Intrínseca. Perfil de Dissolução. Microscopia.

ABSTRACT

The difficulty in acquiring raw materials quality, due to lack of drug industries in Brazil, leads to problems of classification of manufacturer / supplier quality and traceability in this process. The lack of standardization of these raw materials results in variability in the final product, to result in the therapeutic effect of the drug. Clozapine, a drug chosen for this study, which belongs to the category of antipsychotic agents, mainly used for refractory schizophrenia or other severe psychiatric disorders, like medicine, is part of the Specialized Pharmaceutical Service of the Ministry of Health, is considered costly, requiring of official laboratories to manufacture targeting the chronic patient care and lower costs of these treatments. The aim of this study was thus to evaluate the quality of this active ingredient supplied by a manufacturer originating from China and dosage forms generated from this asset, attesting to the reproducibility between batches and the whole production chain drug clozapine 100 mg, produced by a official laboratory of the state of Alagoas. With the aid of analytical techniques such as infrared microscopy, thermal analysis systems and dissolution was performed to characterize and evaluate the quality of these raw materials and products originated. The results of microscopy: optical and scanning electron intrinsic dissolution and differential scanning calorimetry demonstrated that the raw materials are in the form of anhydrous crystals with dissolution characteristics of the drug class II Biopharmaceutics Classification System. The tablets of clozapine showed compatibility with standard excipients of the formulation with dissolution profiles and f2 analysis (Statistical analysis) confirmed that equivalent to reference drug. The evaluation of clozapine by dissolution profile ratified compatibility studies by thermal analysis, showing that the standard formula of this product shows no excipients that reduces the stability of the final product.

Keywords: Clozapine. Thermal Analysis. Intrinsic Dissolution. Dissolution Profile. Microscopy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula da Clozapina.	17
Figura 2 – Aparato de Dissolução de Wood.	34
Figura 3 – Espectro de infravermelho comparativo entre a matéria-prima de clozapina e SQR	47
Figura 4 – Molécula de clozapina com alguns pontos de identificação do Infravermelho.	47
Figura 5 – Fotografias das amostras de clozapina 4182, 4292, 4303 e 4336.	48
Figura 6 – Fotografias dos cristais anidros de clozapina por microscopia óptica.	49
Figura 7 – Fotografia do cristal anidro de clozapina por microscopia eletrônica de varredura.	50
Figura 8 – Fotografias dos cristais anidros de clozapina obtidas por MEV.	50
Figura 9 – Gráfico dos intervalos de classe das amostras de clozapina, para avaliação do tamanho das partículas.	51
Figura 10 – Curva de calibração de clozapina obtida em tampão pH 4,0 para estudos de dissolução.	52
Figura 11 – Dissolução intrínseca experimental das matérias primas de clozapina em tampão acetato pH 4,0.	53
Figura 12 – Fotografias dos cristais de clozapina obtidas por microscopia óptica após recristalização.	55
Figura 13 – Fotografias dos cristais de clozapina por MEV, após recristalização da clozapina em água.	55
Figura 14 – Dissolução intrínseca das matérias primas de clozapina recristalizadas.	56
Figura 15 – Curva da SQR (USP) de clozapina em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.	57
Figura 16 – Comparativo das curvas de Calorimetria Diferencial Exploratória das Matérias Primas de Clozapina na razão de aquecimento de 10°C/min.	58

Figura 17 – Curvas de DSC após recristalização de Clozapina em água e solução de NaOH 0,1M.	59
Figura 18 – Curvas em DSC dos excipientes usados na composição dos comprimidos de clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/min.	60
Figura 19 – Curvas em DSC das misturas binárias de clozapina na razão de aquecimento de 10°C/min.	61
Figura 20 – Substância Química de Referência de clozapina – Padrão primário USP.	62
Figura 21 – Termograma experimental das clozapinas na razão de aquecimento de 10°C/min.	63
Figura 22 – Termograma experimental das clozapinas recristalizadas em comparação a uma matéria prima sem recristalização.	63
Figura 23 – Curvas por TGA dos excipientes na razão de aquecimento de 10°C/min.	65
Figura 24 – Curvas por TGA dos excipientes na razão de aquecimento de 10°C/min.	66
Figura 25 – Curvas DSC dos comprimidos de clozapina na razão de aquecimento de 10°C/ min	67
Figura 26 – Curvas por TGA dos comprimidos de clozapina na razão de aquecimento de 10°C/min.	69
Figura 27 – Perfil de dissolução comparativo entre o medicamento referência e os lotes de clozapina: 1112101, 1112102, 1112103 e 1112104	72
Figura 28 – Curva comparativa do perfil de dissolução entre os lotes de comprimidos de clozapina.	73
Figura 29 – Avaliação dos lotes de comprimidos por ANOVA em seis tempos de coletas.	74
Figura 30 - Perfil de dissolução comparativo entre os lotes: 0909115, 0909104 e 0908104, 0808114, após prazo de validade estimado do produto.	75
Figura 31 – Gráfico dos lotes de comprimidos 9104 e 9115 por ANOVA	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Avaliação das matérias primas quanto a características físicas e de solubilidade.	48
Tabela 2 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante estudo de dissolução intrínseca.	53
Tabela 3 – Velocidade de dissolução intrínseca para as diferentes matérias-primas de clozapina.	54
Tabela 4 – Velocidade de dissolução intrínseca para a matéria-prima de clozapina recristalizada com diferentes solventes.	56
Tabela 5 – Dados calorimétricos das matérias-primas de clozapina obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.	58
Tabela 6 – Dados calorimétricos experimentais das matérias-primas de clozapina, após recristalização obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.	59
Tabela 7 - Dados calorimétricos das misturas binárias de clozapina obtidos em DSC Shimadzu na razão de aquecimento de 10°C/min.	62
Tabela 8 – Dados de decomposição térmica das matérias-primas de clozapina usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.	64
Tabela 9 – Dados de decomposição térmica das misturas binárias de clozapina usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.	66
Tabela 10 - Dados calorimétricos dos comprimidos de clozapina obtidos em DSC Shimadzu na razão de aquecimento de 10°C/min.	67
Tabela 11 – Comparativo entre os dados calorimétricos das misturas binárias de clozapina e excipientes e das matérias primas puras obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.	68
Tabela 12 – Dados de decomposição térmica dos comprimidos de clozapina usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.	70
Tabela 13 – Comparativo entre os dados termogravimétricos das misturas	

binárias de clozapina e excipientes e matérias primas puras obtidos em TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.	70
Tabela 14 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução.	71
Tabela 15 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução para avaliação de validade.	75
Tabela 16 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução dos lotes com prazo de validade vencido em comparação ao produto referência.	76

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo Geral	21
2.2 Objetivos Específicos	21
3 REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 Garantia de Qualidade	23
3.2 Caracterizações das Matérias primas	29
3.2.1 Identificação por Infravermelho	29
3.2.2 Análise do Tamanho de Partículas e da Forma por Microscopia Óptica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).	30
3.2.3 Dissolução Intrínseca	32
3.2.4 Recristalização da Clozapina	34
3.2.5 Análises Térmicas	35
3.2.5.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	36
3.2.5.2 Análise Termogravimétrica (TGA)	37
3.3 Perfil de Dissolução	37
4 METODOLOGIA	39
4.1 Caracterização das Matérias primas	40
4.1.1 Identificação por Infravermelho da Clozapina	40
4.1.2 Microscopia óptica das amostras de clozapina	41
4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	41
4.1.4 Curva de calibração para Ensaio Quantitativo em UV	42
4.1.5 Dissolução intrínseca das amostras de clozapina	42
4.1.6 Recristalização da clozapina	43
4.1.7 Análises térmicas das clozapinas	43
4.1.7.1 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC	43
4.1.7.2 Análise Termogravimétrica – TGA	44
4.2 Análises das Misturas Binárias	44

4.2.1 Análises das misturas binárias por Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC	44
4.2.2 Análise das misturas binárias por Termo gravimetria – TGA	44
4.3 Análises do Produto Acabado	44
4.3.2 Análises dos comprimidos por DSC	45
4.3.3 Análises dos comprimidos por TGA	45
4.3.4 Perfil de dissolução dos comprimidos	45
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 Caracterização das Matérias primas	47
5.1.1 Identificação da Clozapina em Estudo Por Infravermelho Médio (IR)	48
5.1.2 Descrição das Matérias Primas de Clozapina	48
5.1.3 Análise de Distribuição Granulométrica das Matérias Primas de Clozapina	50
5.1.4 Dissolução Intrínseca	52
5.1.4.1 Dissolução Intrínseca das Matérias Primas com cristais anidros	53
5.1.4.2 Estudos de Recristalização	54
5.1.5 Estudo de Análises de Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)	57
5.1.5.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) das amostras de Clozapina	57
5.1.5.2 - Calorimetria Diferencial Exploratória, das amostras de Clozapina, após recristalização com H ₂ O e NaOH	59
5.1.5.3 Calorimetria Diferencial Exploratória dos excipientes utilizados na formulação e misturas binárias	60
5.1.6 Análises Termogravimétricas (TGA)	62
5.1.6.1 Análises Termogravimétricas (TGA) das amostras de clozapina e após processo de recristalização	63
5.1.6.2 Análises Termogravimétricas (TGA) dos excipientes da fórmula	65
5.1.6.3 Análises Termogravimétricas (TGA) das misturas binárias	65
5.2 Análise do Produto Acabado	67

5.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial dos lotes de comprimidos por (DSC)	67
5.2.2 Análise Termogravimétrica dos comprimidos de clozapina por (TGA)	69
5.2.3 Perfil de Dissolução dos Comprimidos de Clozapina com 5 meses de Fabricação	71
5.2.4 Perfil de Dissolução dos Comprimidos de Clozapina para Avaliação de Cumprimento do Prazo de Validade Estendido	74
6 CONCLUSÃO	78
REFERÊNCIAS	80

Uma das principais atividades industriais responsáveis por garantir o acesso da população brasileira ao arsenal terapêutico, necessário à manutenção da saúde, está representada pela produção industrial de fármacos e medicamentos. Atividade esta, que é indispensável para viabilizar a política de Assistência Farmacêutica desenvolvida pelo Ministério da Saúde.

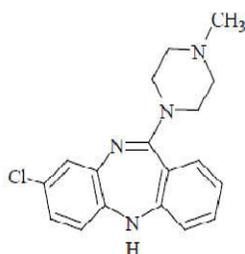
A produção de medicamentos é considerada uma atividade estratégica para o país. O domínio da tecnologia de fabricação de fármacos e medicamentos garante ao país o acesso aos medicamentos necessários a Política de Assistência Farmacêutica destinada à ampliação da acessibilidade pela população a estes medicamentos, no âmbito do Sistema Único de Saúde (SUS). Cerca de 80% dos medicamentos consumidos no Brasil, são fabricados em território nacional por laboratórios farmacêuticos públicos ou privados, no entanto menos de 20% dos mesmos são fabricados com insumos farmacêuticos ativos (IFAs) produzidos no Brasil (COSTA *et al.*, 2008).

Segundo a Política Nacional de Medicamentos, (2001); a capacidade instalada dos laboratórios oficiais, é um patrimônio nacional e estes, deverão atender preferencialmente as necessidades de medicamentos essenciais, prioritariamente os de atenção básica, para que as necessidades das esferas estadual e municipal do SUS sejam supridas. Esses laboratórios têm um papel importante para o domínio tecnológico de processos produtivos de medicamentos voltados à saúde pública; são responsáveis ainda, pelo monitoramento de preços do mercado e a capacitação de recursos humanos. O processo, para garantia de eficácia, segurança e qualidade dos medicamentos são dependentes do cumprimento de regulamentações sanitárias e estas práticas são efetivadas pelo cumprimento das boas práticas de fabricação.

A dependência a importação de insumos farmacêuticos ativos, além de contribuir para o déficit comercial do setor, também pode comprometer a qualidade do medicamento produzido no país. A rastreabilidade deste IFA tem uma importância fundamental nesta qualidade, para melhor controlar estas variáveis; existe uma determinação da (RDC 17/2010), quanto ao desenvolvimento de programas de qualificação de fornecedor, pelas indústrias farmacêuticas, o que é mais viável, quando o fabricante está estabelecido no próprio país (COSTA *et al.*, 2008).

A clozapina, (Figura1) fármaco deste estudo, também conhecida como antipsicótico atípico ou de segunda geração, (termo utilizado para descrever os agentes desta classe que não estão associados a efeitos colaterais extrapiramidais e que tem eficácia nos sintomas negativos e positivos da doença), é o fármaco precursor do grupo e o que estimulou a pesquisa por agentes atípicos adicionais mais seguros e com baixo risco de efeitos colaterais neurológicos (RANG *et al.*, 2011; GOODMAN e GILMAN, 2010). Nos EUA os antipsicóticos atípicos predominam na prescrição clínica, devido à impressão de que são mais toleráveis e aceitáveis. (GOODMAN e GILMAN, 2010).

Figura 1 – Molécula de Clozapina



Fonte: Farmacopeia Brasileira, 5ª Edição.

A clozapina quimicamente definida por 8 cloro – 11 (4 metil – 1 – piperazinil) – 5 H – dibenzo [b, e] [1,4] diazepina; (INDEX, 2009), é um derivado clorado da dibenzodiazepina, de estrutura tricíclica, com anel central de sete membros, cadeia lateral metilpiperazínica, é um fármaco fortemente sedativo, com propriedades relaxantes musculares. Sintetizada em 1960 e introduzida no Brasil a cerca de vinte anos atrás (KOROLKOVAS, 2003). Seu uso é limitado devido aos riscos de agranulocitose (DE LUCIA *et al.*, 2004); a molécula de clozapina existe nas formas anidra e hidratada (DEVI *et al.*, 2011); no presente estudo, são reportados os dois tipos de cristais.

Este fármaco é caracterizado quanto à solubilidade no sistema de classificação biofarmacêutica (SCB) como classe II, (POLLI *et al.*, 2008); baixa solubilidade e alta permeabilidade, com biodisponibilidade entre 27 - 50%, sendo justificada pelo extenso metabolismo de primeira passagem (AGNIHOTRI e AMINABHAVI, 2004).

A clozapina está inscrita nas Farmacopéias: Brasileira 5ª edição, na USP 31, Portuguesa 7ª edição. Possui característica de pó cristalino amarelo, praticamente insolúvel

em água, facilmente solúvel em cloreto de metileno, solúvel em etanol e em ácido acético diluído. A solubilidade de produtos orais é um fator de grande interesse, devido ao impacto desta característica que juntamente com a de permeabilidade são decisivas para a absorção do fármaco no trato gastrointestinal. Amidon e colaboradores em 2004 propuseram uma classificação biofarmacêutica, em função destas características: solubilidade e permeabilidade que foi reconhecida pelo FDA. De acordo com este estudo, fármacos pouco solúveis apresentam-se com dificuldade de absorção; desta forma, tamanho de partículas, estrutura cristalina, assumem grande importância nos estudos de pré-formulação. Brown¹ e colaboradores, (2004); citado por (BARBOSA^a *et al.*, 2009).

Como produto acabado, a clozapina é comercializada em comprimidos de liberação imediata em concentrações de 25 e 100 mg, o fármaco alcança a circulação sistêmica de forma inalterada (AGNIHOTRI e AMINABHAVI, 2004). Este medicamento faz parte do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica – grupo 06, subgrupo 04 do Ministério da Saúde, (BRASIL, 2009); pertence à categoria dos agentes empregados principalmente no controle de pacientes com patologias psicóticas a exemplo da esquizofrenia, uma das formas mais debilitantes de doença mental e que afeta cerca de 1% da população jovem, normalmente de forma crônica e incapacitante; Stahl², (2008); é indicada para pacientes resistentes ao tratamento com outros antipsicóticos, com resultados satisfatórios também na redução da incidência de suicídio; (RANG *et al.*, 2011).

É de responsabilidade da União, estados e Distrito Federal (BRASIL, 2009), assegurar a disponibilidade deste medicamento e o acesso da população ao tratamento; por ser um programa de relevância e de custo elevado, é importante a participação de laboratórios oficiais, visando o atendimento aos pacientes crônicos, à redução dos valores pagos pelo sistema para manutenção desta assistência bem como o aumento a acessibilidade pelo usuário (SAUSEN, 2007).

A Resolução de Diretoria Colegiada 17 DE 2010 de Boas Práticas de Fabricação, orienta a indústria farmacêutica a realizar um controle em toda cadeia de produção: matérias

¹BROWN, C.K *et al.* Acceptable Analytical Practice of Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. **Pharm.Technol.** p.56-65, 2004.

² STAHL, SM; Antipsychotics and mood stabilizer, In: Farmacologia, third ed. New York: **Cambridge University Press.** Farmacologia. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011, cap. 45, 768p.

primas, produto intermediário, produto a granel e produto acabado visando assegurar a qualidade destes insumos, a validação dos processos e a estabilidade de seus produtos.

Varias técnicas são utilizadas para caracterizar e monitorar os insumos farmacêuticos. A escolha deste método depende do tipo e aprofundamento necessários e da informação requerida. Combinações de métodos ou a utilização de métodos complementares é normalmente recomendada. (CHIENGA *et al.*, 2011).

A velocidade de dissolução intrínseca é uma característica própria do fármaco relativa à cinética que depende da molhabilidade e da difusão deste composto. Ela fornece indicativos sobre alterações de biodisponibilidade em função destas particularidades de dissolução (MAXIMIANO, *et al.*, 2010)

As análises térmicas como termogravimetria e calorimetria exploratória diferencial, têm uso significativo em vários tipos de estudos dentre eles: os de investigação de polimorfismo (GHUGAREA, *et al.*, 2010), de caracterização dos fármacos (NASCIMENTO *et al.*, 2010; FULIAS *et al.*, 2013), nos estudos de compatibilidade farmacêutica (SANTOS *et al.*, 2008; FREIRE *et al.*, 2009; LAVOR *et al.*, 2013); na avaliação de estabilidade (MEDEIROS *et al.*, 2007; FILHO *et al.*, 2009). Desta forma, o objetivo deste estudo, é avaliar esta cadeia de fabricação, desde a caracterização do fármaco aos produtos em estabilidade em uma cadeia produtiva por compressão direta do Laboratório Industrial Farmacêutico de Alagoas (LIFAL).

2.1 Objetivo Geral

Caracterização físico-química de diferentes lotes de clozapina e avaliação da reprodutibilidade entre lotes, em toda a cadeia produtiva do medicamento clozapina 100mg.

2.2 Objetivos Específicos

- Identificar a forma dos cristais e o tamanho das partículas de clozapina.
- Avaliar a velocidade de dissolução intrínseca (VDI) dos ativos de clozapina.
- Avaliar e comparar a dissolução intrínseca após recristalização experimental de um lote de clozapina.
- Obter curvas calorimétricas e termogravimétricas dos: fármacos, excipientes, misturas binárias e comprimidos de clozapina.
- Avaliar o perfil de dissolução dos comprimidos de clozapina, com diferentes tempos de fabricação.

3.1 Garantia de Qualidade

O sistema de garantia da qualidade apropriado à fabricação de medicamentos deve assegurar dentre outros fatores, que os medicamentos sejam planejados e desenvolvidos de forma a serem consideradas as exigências de Boas Práticas de Fabricação (BPF), validação de processo e outros requisitos; as operações de produção e controle sejam claramente especificadas em documento formalmente aprovado, as exigências de BPF cumpridas e que sejam realizados todos os controles necessários. (RDC 17 de 16 de abril de 2010).

Um programa de garantia de qualidade pode ser visto de duas maneiras: a primeira como um conjunto de normas e regras ditadas por agência regulatória e governo e a outra, como uma poderosa ferramenta de *marketing*, capaz de diferenciar as empresas. Um sistema é formado por um conjunto de partes que se integram e se interdependem formando uma corrente, com objetivos e propósitos em comum que efetuam determinadas funções. Os sistemas de qualidade são descritos como um conjunto de elementos dinamicamente inter-relacionados, com atividades operacionais de entradas, processamento e saídas que visam assegurar produtos e processos que satisfaçam a necessidade dos clientes externos e internos (BARROCO, 2007).

Estes sistemas de qualidade ou sistema de gestão, para serem eficientes, precisam seguir as normas e legislações locais de Boas Práticas de Fabricação (BPF), existindo ainda as referências internacionais como: FDA (Food and Drug Administration), WHO (World Health Organization) Technical Reports, ICH (International Conference Harmonization), as políticas internas das empresas, bem como normas importantes como: NBR 14919, NBR ISO 9001:2000, ICH Q10, entre outras. Definidas as regras básicas deste sistema, necessita-se organizar a estrutura, política, documentos, treinar as equipes e definir um gestor para sua manutenção (STAVIRIDIS, 2012).

As Boas Práticas de Fabricação correspondem as Good Manufacturing Practices (GMP), da Food & Drugs Administration (FDA) e da Organização Mundial de Saúde (OMS). A primeira edição da GMP foi editada em 1963 e da OMS em 1967. Desde então, as empresas farmacêuticas ocidentais acompanharam as periódicas atualizações e freqüentes aperfeiçoamentos no processo de verificação do cumprimento destes regulamentos. A OMS

que constitui a base para o processo de harmonização da legislação para a área médica, farmacêutica, e de saúde pública esteve nas últimas cinco décadas em um processo acelerado de alinhamento regulatório, junto às indústrias farmacêuticas (MORETTO, 2008).

As perdas econômicas por falta de eficiência da indústria farmacêutica, relacionados aos custos de produção, já ultrapassavam US\$ 50 bilhões anuais, em 2008. No início, as normas de CGMP, davam ênfase ao produto e controle de qualidade, posteriormente o alvo foi o processo e a garantia de qualidade, atualmente um novo modelo, o de sistemas de qualidade.

A previsão do FDA (Food and Drugs Administration), é que a indústria dê relevância à redução de variabilidade por meio da compreensão do processo em todo o ciclo de vida do produto através de uma abordagem sistemática (EDWARDS, 2008). Para eliminar desperdícios no processo o sistema de produção enxuta é uma alternativa, que pode ser realizado por meio de um mapa de fluxo de valor a ser executado, através de um conjunto de todas as atividades envolvidas, desde a aquisição de matérias primas até a entrega do produto ao consumidor. (DIAS *et. al*, 2007).

Esta ineficiência da produção industrial farmacêutica, segundo Femia (2006), é fruto de três fatores: baixa compreensão e controle dos processamentos, o que baixa os rendimentos e provoca retardos ao processo, fluxo de trabalho volumoso e ineficiente, por utilização de documentos em papéis que produz lentidão, além de todos os aspectos e incerteza crônica da demanda mercadológica.

Embora tenha sido pioneira na tecnologia da informação, a indústria farmacêutica não tem conseguido acompanhar as outras indústrias, nas tecnologias de automação e de aperfeiçoamento dos processos de produção tornando-os ineficientes e impedindo que as empresas atinjam as demandas de forma rápida e econômica. Os sistemas com disponibilidade contínua de uma infraestrutura de rede podem gerar economias gritantes; se um único medicamento em uma única área produz um bilhão de dólares uma melhoria de apenas 1 % é bem significativa (FEMIA, 2006).

Em seu guia sobre a PAT, (tecnologias analíticas de processo), o FDA propõe “facilitar o processamento contínuo para melhorar a eficácia e manejar a variabilidade”. PAT é

definido pelo FDA³, como “um sistema para projeto, análise e o controle da produção por meio de medidas realizadas de forma oportuna (durante o processamento), dos atributos críticos de desempenho e da qualidade das matérias primas e do material utilizado durante o processamento, tudo isso com o objetivo de assegurar a qualidade do produto final (FEMIA, 2006).

O conceito de PAT, componente do QbD (quality by design) foi publicado em um guia no ano de 2003, com a abordagem de que os fabricantes usem processos que gerem produtos com qualidade pré determinada, outros impactos positivos deste modelo são: evitar a rejeição de produtos, a geração de resíduos, a liberação de produtos em tempo real, aumentar a automação e facilitar o processo contínuo (SHAH e KHAN, 2007)

Este sistema que engloba o desenho, análise e controle de processos, baseado no entendimento dos princípios científicos e de engenharia envolvidos, identificam as variáveis que afetam a qualidade do produto; a teoria do PAT, é que a qualidade não pode ser testada no produto e sim incorporada. Do ponto de vista de fabricação, a execução do QbD, envolve o desenho baseado no conhecimento científico completo de todos os atributos essenciais de qualidade ao longo do processo e a medição e o controle de todos os parâmetros críticos que integram o amplo espectro das tecnologias analíticas associadas aos controles da planta fabril e incorporadas aos procedimentos padrões (SHAH e KHAN, 2007).

Uma série de padrões de qualidade foram publicados pelo ICH (International Conference on Harmonization), baseados na qualidade desenhada para alcançar o “estado desejado” de produção de medicamentos de forma mais flexível, ágil e eficiente que possibilitem fabricar produtos confiáveis com menos controles por parte das agências reguladoras visando uma atenção voltada para os aspectos mais críticos que afetam a qualidade dos produtos e a segurança dos pacientes.

Fabricantes que demonstrem conhecer bem sobre como o produto é vulnerável a uma modificação e como seu sistema pode detectar e controlar este processo poderá beneficiar-se de uma supervisão menos rigorosa sobre as eventuais mudanças que aconteçam neste processo, após o lançamento do produto no mercado (WECHSLER, 2007).

³ FDA, Guidance for Industry – PAT – A Framework for innovative Pharmaceutical Development, Manufacturing and Quality Assurance (Rockville, MD, 2004). Disponível em: <<http://www.fda.gov/cder/guidance/6419fnl.htm>>.

O departamento de garantia de qualidade de uma indústria farmacêutica tem o compromisso de assegurar a qualidade dos insumos, através de programas de qualificação dos fornecedores, a validação do processo de fabricação bem como a estabilidade de seus produtos. Estes programas são críticos para a fabricação de medicamentos e envolvem um custo elevado com qualificação de pessoal, técnicas analíticas adequadas e específicas para os fármacos e medicamentos, visando atender as Boas Práticas de Fabricação da indústria farmacêutica (NASCIMENTO *et al.*, 2010). Estas indústrias exigem estabilidade no processo de fabricação e a constante troca de fornecedores geram variações nesta cadeia produtiva, provocando vários testes de estabilidade e desempenho do produto acabado. Os pontos críticos de relevância para a qualidade das matérias primas e conseqüentemente do produto a ser desenvolvido devem ser criteriosamente avaliados no fornecimento desta substância sempre com foco no processo de melhoria contínua (ROSSI, 2004).

Qualificar este fornecedor por meio de auditorias de suas instalações e processos, verificando sua capacidade e comprometimento em atender as especificações e o entendimento que qualquer alteração nesta rota de síntese deve ter aprovação do cliente, fazendo com que este fornecedor tenha conhecimento da real utilização de seus produtos é uma medida eficiente para torná-los parceiros e contribuir com o resultado final do produto: a saúde dos pacientes (DIAS *et al.*, 2007).

A seleção destas matérias primas deve ser efetuada quando do desenvolvimento de um novo medicamento, visando caracterizar principalmente o princípio ativo; os ensaios contidos nas monografias dos compêndios oficiais, normalmente apresentam testes qualitativos e quantitativos, baseados na rota de síntese das substâncias e em suas propriedades físico-químicas. Estas especificações podem não contemplar alterações do processo de síntese como o polimorfismo, por exemplo. Esta condição está relacionada à síntese empregada, a sua purificação, o solvente utilizado, bem como a temperatura da reação da rota utilizada pelo fabricante do ativo (MORETTO e ALBUQUERQUE, 2009)

Quando se compara à especificação de determinadas farmacopéias observa-se que granulometria, tipo de cristal, formas polimórficas não fazem parte destas especificações podendo gerar desequilíbrio na formulação do produto e variação entre lotes (CALLIGARIS, 2009).

Os solventes empregados nas sínteses também são fontes de preocupação; (RIOS, 2008). A produção de ingredientes farmacêuticos ativos (APIS) (Active Pharmaceutical Ingredients) necessita de grandes quantidades de reações e, por conseguinte, de solventes. As grandes empresas podem produzir cerca 5000 toneladas métricas de rejeitos ao ano; sendo a maior parte representada por solventes. No entanto muitas delas concentram seus esforços em gerenciar o lixo gerado, ao invés de tornar o processo ambientalmente responsável (CHIARELLO, 2005).

A melhor maneira de controlar estes solventes é controlar os processos, conhecer o fornecedor e usar a menor quantidade possível; os fornecedores precisam compartilhar muito mais informações sobre os seus processos e os níveis residuais destes materiais (RIOS, 2008).

Uma alternativa é a utilização de solventes modificáveis, ou seja, para o desenvolvimento de uma molécula faz-se necessário à utilização de vários solventes distintos, de acordo com a polaridade exigida para cada fase. Alguns cientistas trabalham na utilização destes mesmos solventes por modificação desta polaridade e alterações específicas através de calor, luz e pH; esta alteração possibilita o desempenho de múltiplas reações com um mesmo solvente (CHIARELLO, 2005).

Na interpretação de ensaios como a aparência e outras características, ou seja, critérios subjetivos há uma dependência da observação do analista, neste tipo de ensaio, com uma especificação farmacopeica adequada aliada à experiência, é possível avaliar se uma matéria prima cumpre as características de qualidade necessárias para a fabricação do medicamento. Os técnicos de laboratório têm um papel fundamental no entendimento sobre a importância deste tipo de ensaio, aspecto, pois este é o primeiro parâmetro para indicação de integridade da substância (MORETTO e ALBUQUERQUE, 2009).

Os medicamentos conseqüentemente, também necessitam de vigilância quanto aos aspectos analíticos que assegurem sua eficácia e minimizem os efeitos indesejáveis provenientes de uma matéria prima com impurezas ou produtos de degradação, assim é fundamental a avaliação da pureza destes insumos, atividade esta rotineira no controle de qualidade de fármacos e medicamentos (MOREIRA *et al.*, 2010).

Para a construção da qualidade do medicamento, existem vários fatores que podem influenciar esta condição e cuja necessidade de controle é necessária. Eles são divididos em: material, meio, mão de obra, métodos, matérias. O meio e o material constituem o ambiente da produção e devem ser objeto da construção, designados normalmente de “projetos de instalações” (BOTET, 2006). Toda qualificação enfrenta um risco duplo segundo Botet, (2006) por um lado ela pode ser “insuficiente”, para demonstrar o funcionamento correto da unidade, por outro, pode ser “excessiva” pelo nº de ensaios, não contemplando os aspectos críticos.

A especificação dos materiais que revestirão estes ambientes possui importância fundamental; devendo seguir rígidos padrões de qualidade. Estes ambientes devem possuir algumas exigências básicas para utilização, a exemplo de superfícies sem trincas ou fendas, resistência à abrasão, resistência à deterioração que possa produzir partículas, facilidade de reparação, limpeza facilitada, isolamento térmico, resistência ao fogo, resistência à transmissão de vapor, propriedades acústicas e conformidade, facilidade de mudança de layout do local, entre outros (NASCIMENTO, 2011).

Os termos qualificação e validação são muitas vezes utilizados como sinônimos, no entanto reserva-se o termo validação para um caráter mais geral como em uma unidade farmacêutica e nesta se inserem as qualificações: de instalações, sistemas, equipamentos. Como são elos de uma mesma cadeia, é necessário tratá-los de uma maneira coordenada e global. Apesar da validação e qualificação demandarem muito tempo e recursos precisam ser bem monitorados devido à variabilidade inerente ao próprio processo, como desgaste do equipamento, mudança de pessoal, necessitando de um controle de mudanças, com avaliações periódicas e revalidações (BOTET, 2006).

Os fatores relevantes para motivar os colaboradores em um sistema de qualidade estão relacionados ao bem estar das pessoas; fatores como valorização pessoal, benefícios, clima interno da empresa e condições de trabalho, são fontes que contribuem. A motivação é fator crucial para o sucesso da implantação dos programas de gestão da qualidade, a mente e o coração determinam a vontade de realizar e não as leis, normas e procedimentos; o investimento normalmente é pequeno, sendo dependente muitas vezes, de incentivos verbais e de reconhecimento; é necessário elevar a valorização da vida dentro da

organização, com foco no crescimento do colaborador, a partir de políticas que enriqueçam o seu trabalho e que façam com que se preocupem com o seu próprio desempenho (LIEVORE e CARVALHO, 2006).

Ao se qualificar o colaborador aumentam-se suas possibilidades e horizonte. Torna o indivíduo mais atrativo internamente e para o mercado de trabalho; a ampliação dos conhecimentos e das habilidades múltiplas deve ser gerenciada como dito anteriormente, pelo próprio profissional; embora óbvio muita gente transfere esta responsabilidade para a empresa em que trabalha; apesar de muitas empresas possuírem excelentes programas de desenvolvimento e treinamento, que devem ser aproveitados. Da mesma forma que as empresas, o profissional precisa assimilar novas tecnologias, novos conceitos, para acompanhar as exigências do mercado (DELSIN, 2006).

Os recursos humanos devem ser considerados um dos principais fatores para a melhoria da qualidade nas empresas. Eles precisam estar atentos aos instrumentos disponíveis para captação e interpretação das necessidades de seus funcionários e utilização destas informações como diferencial competitivo; proporcionando boas condições de trabalho, de maneira que seja refletido nos índices de produtividade da empresa (BARROCO 2007).

3.2 Caracterizações das Matérias primas

A caracterização da matéria prima é utilizada na indústria farmacêutica para definir especificação, bem como na etapa de pré-formulação de um medicamento. Ambos os procedimentos se interagem na medida em que certas análises não descritas na monografia da farmacopéia podem ser definidas durante o estágio de pré-formulação como uma maneira de garantir as características adequadas a todo o processo e por consequência ao produto final (BARBOSA, 2009)

3.2.1 Identificação por Infravermelho

A análise por infravermelho (IV) é uma alternativa muito utilizada para identidade e pureza das substâncias. Este método permite fornecer informações sobre grupamentos: carbonila, insaturações, anéis aromáticos, entre outros.

Qualquer alteração na intensidade desta radiação de energia entre ambas: referência e amostra são detectadas em forma de uma banda resultante das vibrações axiais e angulares dos tipos simétricas e assimétricas. Cada grupo funcional, devido a sua simplicidade ou a sua complexidade, apresenta um conjunto de bandas de absorção diferentes e características dos grupos funcionais de cada molécula (ANDREI e FACCIONE, 2003).

3.2.2 Análise do Tamanho de Partículas e da Forma por Microscopia Óptica (MO) e Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As dimensões dos sólidos particulados são importantes quando se trata de melhorar o desempenho de uma forma farmacêutica ou aperfeiçoar esta característica. Para determinação do tamanho das partículas é freqüente se realizar uma média entre no máximo três dimensões distintas. A maioria dos pós é constituída por partículas com um número elevado de diâmetros equivalentes diferentes e esta distribuição de tamanhos pode ser desmembrada em intervalos de classe, gerando um histograma, onde é determinada a frequência, podendo-se comparar intervalos em amostras distintas. Estas amostras necessitam ser dispersas em um meio apropriado e expostas em lâminas, evitando-se aglomerados, para leitura em microscópio. (STANIFORTH, 2005)⁴

Para a elaboração do histograma, devem ser contadas algumas centenas de partículas, onde se calcula o valor médio; o uso de fotos pode facilitar o trabalho, que apesar de ser demorado, por microscopia óptica (MO), tem poucas restrições quanto à forma das partículas. O escoamento do granel, a homogeneidade da formulação e os processos que

⁴STANIFORTH, J. Análise do Tamanho de Partículas *In*: AULTON, M.E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap.10, p. 162-165.

ocorrem à superfície das partículas como a dissolução, são diretamente afetados pelo tamanho e forma destas partículas do ativo. (FIESE e HAGEN, 2001)⁵

A determinação da distribuição de tamanho de partícula pode ser feita de forma manual ou de forma automatizada. A primeira é realizada com o auxílio de um *software* específico para fazer as medições, é bastante demorada e de baixa resolução. A forma automatizada conta com microscópios providos de acessórios para a realização da análise, neste, ao invés de uma lâmina comum, é utilizada uma cela bem maior, na qual é possível a análise de até cerca de um milhão de partículas, que devido à automação torna-se bem mais rápido quando comparado ao manual (BARBOSA *a et al.*, 2009).

O tamanho médio das partículas de um ativo tem influência na compactação. As correlações entre tamanho de partícula e as propriedades dos comprimidos como: densidade, dureza, resistência à tração são importantes, pois estas correlações podem fornecer informações preditivas que podem facilitar a seleção e o desenho das partículas com o tamanho apropriado (LEE e KUO, 2006).

É possível a utilização da microscopia também na identificação de substâncias, a exemplo do amido que apresenta o fenômeno conhecido como cruz negra contra um fundo azulado, quando observado sob luz polarizada ao microscópio óptico. (BARBOSA *a et al.*, 2009).

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) permite a visualização das superfícies de amostras volumosas, com maior aplicação no exame de superfícies rugosas. Esta fácil visualização, com aparência tridimensional, simplifica a interpretação das imagens que foi desde o início determinante para o sucesso deste tipo de análise. Os sinais do MEV não são gerados apenas na superfície da amostra, possuem grande profundidade de campo e alta resolução que é determinada pelo diâmetro da região da amostra que quando excitado pelo feixe emite o sinal considerado.

A imagem do MEV se dá através do mapeamento que acontece das interações que ocorrem entre elétrons e a superfície da amostra; pois as imagens obtidas por este método

⁵FIESE, E.F; HAGE, T.A. Pré- formulação In: LACHMAN, L. *et al.* **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica** Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001. cap.8 p. 295-337.

são indiretas, não existindo um caminho ótico entre a amostra e a imagem, isto é, os sistemas de geração e de visualização da imagem são separados (MANNHEIMER, 2002).

3.2.3 Dissolução Intrínseca

Dissolução intrínseca segundo Abdou⁶, (1989) e Viegas⁷, (2001); pode ser definida como a taxa de dissolução do ingrediente ativo farmacêutico puro, quando as condições de área superficial, temperatura e velocidade de agitação, pH e força iônica do meio de dissolução são mantidas constantes (MAUGER *et al.*, 2003).

A dissolução intrínseca é uma característica específica de cada substância sólida, ela é dependente da molhabilidade do fármaco em relação ao meio e de sua difusão neste meio. É um parâmetro cinético que fornece indícios do comportamento deste fármaco em relação à biodisponibilidade quando na forma farmacêutica e vem sendo bastante utilizada no monitoramento analítico no desenvolvimento de fármacos e no seu controle de qualidade (MAXIMIANO *et al.*, 2010)

Para que um fármaco faça efeito, conforme Brown⁸ e colaboradores, (2004), necessita atender a duas etapas consecutivas: desintegração da forma farmacêutica e solubilização das partículas do fármaco (dissolução propriamente dita). Se esta segunda etapa for limitante para absorção do fármaco, a velocidade de dissolução será controlada pela dissolução intrínseca deste fármaco. (ROSA e VILHENA, 2012) A solubilidade é um conceito estático, por ser um estado de equilíbrio termodinâmico, enquanto que a velocidade de dissolução é um conceito dinâmico que representa a quantidade de fármaco que se dissolve por unidade de tempo Martinez e Navarro⁹, (2001), descrito por (ROSA e VILHENA, 2012).

A avaliação da dissolução intrínseca dos ativos farmacêuticos é uma forma de demonstrar além de sua pureza, semelhança entre as sínteses de amostras de ativos na

⁶ABDOU, H.M. Dissolution, Bioavailability and Bioequivalence: **Mack Publishing**, Easton, PA,1989. p.11-36

⁷VIEGAS,T et al. Measurement of Intrinsic Drug Dissolution Rates Using Two Types of Apparatus, **Pharmaceutical Technology**, 2001.

⁸BROWN, CK et al. Acceptable Analytical Practices of Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. **Pharm.Technol.** p.56-65, 2004.

⁹MARTÍNEZ, PB; NAVARRO, MG. Dissoluciones. In: **Tecnologia Farmacêutica: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacêuticos y Operaciones básicas**. Madri:Síntesis, 2001, p. 6-142.

cristalização final, tamanho de partículas, área superficial, polimorfismo, entre outras (VIEGAS *et al.*, 2001) A velocidade de dissolução intrínseca tem sido utilizada para caracterizar sólidos orais. Existe um debate junto ao FDA, se este método é aconselhável para determinar a classe de solubilidade no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), havendo encorajamento nestas indicações (BERGER *et al.*, 2007).

Em trabalho comparativo de YU¹⁰ *et al.*, (2000) com 14 fármacos, entre o método de dissolução intrínseca e o apresentado pelo sistema de classificação biofarmacêutica, ficou demonstrado haver correlação entre ambos os métodos quanto à solubilidade destes fármacos; concluindo o autor, que este teste é também um instrumento para predizer a solubilidade.

A dissolução intrínseca e a permeabilidade são métodos dinâmicos, ao contrário da solubilidade que é um fenômeno de equilíbrio; desta forma a correlação parece estar mais relacionada entre a dissolução intrínseca e a dissolução in vivo do que esta com a solubilidade. Este teste é muito útil também na avaliação de matérias primas identificando a mais solúvel, tendo este ensaio, particular importância nas classes II e IV do SCB, podendo ser um recurso para desenvolvimento de produtos de liberação imediata, como na rotina analítica (BARBOSA *et al.*, 2009).

No método de Wood¹¹, (1965); conhecido como clássico, o ativo puro é comprimido em orifício de diâmetro de aproximadamente 1 cm que é exposto ao meio (Figura 2). Assume-se neste caso que durante o experimento, a área da superfície permanece constante.

A taxa de dissolução é calculada pela equação

$$\text{IDR} = V/A \, dc/dt$$

Descrito por Yu¹²

Onde a unidade IDR é $\text{mg}/\text{min} \cdot \text{cm}^2$,

V é o volume em (mL),

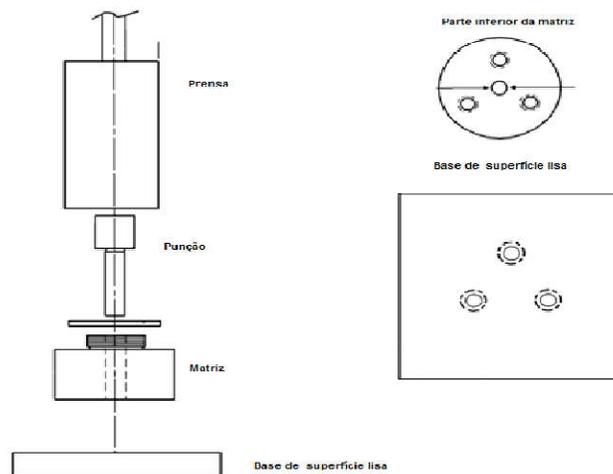
¹⁰YU, LX; CARLIN, AS. Feasibility Studies of Intrinsic Dissolution Rate as an Alternative Method to Determine BCS Solubility Membership. **AAPS annual meeting**, 2000.

¹¹ Wood, J. H.; Syarto, J. E.; Letterman, H. **J. Pharm. Sci.** n. 54, p.1068, 1965 .

¹²YU, L. X. *et al.* **Int. J.Pharm.** n. 270, p. 221–227, 2004.

A é a área do fármaco no disco (cm^2),
 c é a concentração (mg/mL),
 t é o tempo (min).

Figura 2 – Aparato de Dissolução de Wood



Fonte: Rosa e Vilhena, 2012

DISSOLUÇÃO INTRÍNSECA: CONCEITO E APLICAÇÕES NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA
Revista Eletrônica de Farmácia Vol. IX (1), 49 - 61 2012.

3.2.4 Recristalização da Clozapina

O processo de cristalização de substâncias sólidas contaminadas com pequenas quantidades de impureza, normalmente é feita através de purificação, utilizando um solvente apropriado ou mesmo, através de uma mistura de solventes. Este processo baseia-se na diferença de solubilidade deste sólido no solvente quente e frio. A substância a ser purificada, deve ser solúvel neste solvente a quente e ser insolúvel a temperatura ambiente, assim há a recristalização quando a temperatura baixa. As etapas podem ser resumidas em quatro: dissolução do sólido em um solvente ou mistura de solventes; descoloração de impurezas coloridas, com auxílio de carvão ativado, resfriamento da solução que permite a recristalização da substância dissolvida e por fim a etapa de separação dos cristais por filtração (FARIA, 2003)

Outra alternativa para recristalização, é a dissolução do fármaco em solvente de fácil dissolução e posterior adição de um anti-solvente.

3.2.5 Análises Térmicas

São técnicas nas quais uma propriedade física da substância é controlada em função de um aumento regulado da temperatura. Estes métodos podem medir a perda de massa que ocorre quando do aquecimento; os pontos de fusão; o calor e a energia de transição; a mudança de forma entre outras. Encontram-se amplas aplicações na caracterização de materiais, na pureza de substâncias medicinais, nos estudos de estabilidade. A maioria dos testes termodinâmicos se acompanha de perda de calor ou de adição de calor de uma fonte externa. Estes eventos podem ser uma transição de fase, a perda de um componente volátil ou uma reação química. Cada um deles pode ser monitorado verificando-se a mudança da temperatura da amostra ou de energia em função do tempo (LEMOS, 2003).

Desta forma, três critérios devem ser satisfeitos para considerar uma técnica termoanalítica: uma propriedade física deve ser medida, esta medida deve ser relacionada direta ou indiretamente a uma temperatura, a programação de temperatura deve ser controlada.

Algumas características são comuns aos equipamentos termo analíticos: forno, um controle da atmosfera empregada; o que os diferencia é o tipo de transdutor que converte as propriedades físicas analisadas em um sinal elétrico que é repassado para uma unidade de medida; esta unidade além de receber as informações, ela gerencia outras, obedecendo aos dados previamente definidos: razão de aquecimento, tipo de atmosfera, intervalo de temperatura (STORPIRTS *et al.*, 2009).

As análises térmicas são ferramentas de extrema importância para a indústria farmacêutica, contribuindo para avaliação em diversas etapas dentro do processo como: no desenvolvimento de formulações, na verificação de incompatibilidades entre o ativo e os excipientes da formulação, na avaliação de estabilidade de fármacos e medicamentos, na pesquisa de polimorfismo, dentre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2011). Estas técnicas vêm sendo bastante utilizadas na área farmacêutica, principalmente pelo fato de serem rápidas e

seguras para o controle de qualidade de fármacos, produtos acabados, além de serem uma alternativa no desenvolvimento de novas formulações (RODRIGUES *et al.*, 2008).

As análises térmicas combinadas com calorimetria diferencial exploratória, micro calorimetria; termogravimetria com microscopia, espectroscopia, difração de RX ou espectrofotometria de massa são as técnicas do estado da arte; elas oferecem rapidez e interpretações precisas (GIRON, 2001). São atrativas por discriminar também os ingredientes de uma formulação identificando seus excipientes, além de informações sobre polimorfismos (GIRON, 1997); são ainda técnicas básicas na determinação além de polimorfos, de solvatos e formas amorfas, que podem originar obstáculos nas etapas de armazenamento, produção e transporte. (GIRON, 2002).

3.2.5.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

As curvas de aquecimento de Chartelier historicamente acompanhavam a variação na temperatura da amostra em estudo em função do tempo, enquanto esta era aquecida. Na falta da ocorrência do evento, apenas uma reta é definida. Quando existe liberação de calor há a formação de uma inflexão característica do processo exotérmico. Na absorção de calor o inverso é observado, com uma inflexão indicativa de absorção de calor.

A DSC pode ser utilizada para determinações quantitativas, os picos desenvolvidos podem ser relacionados à energia necessária ao processo; padrões são utilizados para a calibração do equipamento sendo de grande importância à definição das condições de análise como razão de aquecimento, para que possa ser observado o máximo de eventos possíveis. Alguns parâmetros podem ser manipulados pelo operador, outros são característicos e devem ser reportados para reprodutibilidade nos resultados (BERNAL *et al.*, 2002).

Outra preocupação é a formação de compostos eutéticos, que são mistura de dois compostos que podem interagir diminuindo o ponto de fusão em relação à substância de origem. Possui ainda como característica a redução da cristalinidade, melhorando, por conseguinte a solubilidade e por sua vez a velocidade de dissolução, mas comprometendo a estabilidade. Este estudo também é de grande aplicabilidade nos estudos de pré-formulação

e no controle do produto acabado segundo Florence,¹³ 2003 descrito em (RODRIGUES, 2008).

A energia necessária para que o cristal de um fármaco fuja da forma cristalina é muito maior que a necessária para que não seja um pó amorfo. Os métodos mais utilizados para determinar o polimorfismo são: infravermelho, análise térmica, difração de RX entre outras (ANSEL *et al.*, 2007).

3.2.5.2 Análise Termogravimétrica (TGA)

A termogravimetria segundo Wendlant¹⁴, reportada por (MATOS¹⁵ *et al.*, 2009), é uma análise termoanalítica, em que uma substância é analisada através de sua variação de massa em função de uma programação de temperatura controlada. Esta técnica permite analisar as alterações que o aquecimento pode provocar na amostra, com acompanhamento das reações de desidratação, oxidação, decomposição entre outras. Da mesma forma, permite estabelecer a faixa de temperatura em que elas adquirem composição química fixa, definida e constante. Existem três modos de TG: a isotérmica que mantém a temperatura constante, quase isotérmica onde há uma razão linear, até haver variação de massa e dinâmica ou convencional, a qual a temperatura varia de maneira definida.

3.3 Perfil de Dissolução

Os testes de perfil de dissolução comparativo são utilizados para se conhecer o comportamento de uma formulação teste frente ao produto referência e também para isentar as menores dosagens do estudo de bioequivalência. Para esta comparação analítica é utilizado o método modelo independente, que avalia o fator 2, chamado de fator de semelhança, cujo critério de aceitação é estar no intervalo de 50 a 100. Os estudos de equivalência farmacêutica onde o perfil de dissolução está inscrito, devem ser realizados em centros habilitados e autorizados junto a ANVISA e serem executados conforme

¹³FLORENCE, AT; ATTWOOD, D. **Princípios Físico-químicos em Farmácia**. Ed. USP: São Paulo, 2003. 63-5.

¹⁴WENDLANT, W.W. **Thermal Analysis**, 3ª ed. New York: Wiley, 1986, p. 814.

¹⁵MATOS, J.R et al. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: G. Koogan, 2009, cap. 4 p. 33-64.

metodologias definidas em compêndios oficiais como Farmacopéia Brasileira e na falta desta, em algum código autorizado por legislação vigente ou ainda por metodologias validadas (MOREIRA, 2007).

Considerando que os medicamentos sólidos orais são os que podem apresentar maiores problemas quanto à biodisponibilidade, é importante avaliar este impacto na dissolução do fármaco a partir de sua forma farmacêutica; realizando os testes *in vitro*. (ARANCIBIA¹⁶ *et al.*, 1992), reportado por Moreira, (2007).

Segundo Rodrigues (2006)¹⁷ a absorção de fármacos veiculados em formas farmacêuticas de administração oral, como os comprimidos, é dependente da liberação do fármaco da forma farmacêutica, da solubilização em condições fisiológicas e da sua permeabilidade em relação às membranas ao longo do trato gastrintestinal. A capacidade deste fármaco estar disponível, para a sua absorção, é prevista a partir dos estudos de dissolução, que permitem deduzir sobre o perfil de liberação de um fármaco de sua forma farmacêutica de origem, por meio da análise em tempos pré-determinados, de forma que a dissolução *in vitro* possa ser relevante para predizer a dissolução *in vivo*. (BRASIL, 2003; BORTOLUZI e LAPORTA, 2008).

A presença de polimorfismo é um dos principais fatores de variação na dissolução de um fármaco e a influência na velocidade desta dissolução, é determinada por mudanças na solubilidade dos distintos polimorfos. Geralmente o polimorfo mais estável é o de maior ponto de fusão, desta forma pode-se estabelecer uma correlação entre ponto de fusão e velocidade de dissolução. O impacto do polimorfismo sobre a taxa de dissolução, portanto, está relacionado à solubilidade entre as formas o que tem impacto diretamente na biodisponibilidade, podendo gerar concentrações plasmáticas diferenciadas (MORETTO e ALBUQUERQUE, 2009)

¹⁶ARANCIBIA A, GAI MN, MELLA F. Biodisponibilidad de medicamentos. Santiago: **Editorial Universitária**; 1992.

¹⁷RODRIGUES, P. O. et al. Equivalência farmacêutica entre comprimidos de propranolol comercializados no mercado nacional. **Infarma**, n. 3/4, v. 18 p. 16-21, 2006.

As amostras de clozapina identificadas pela numeração: 4182, 4292, 4303 e 4336; foram adquiridas de um mesmo fabricante da China através de um fornecedor nacional. Clozapina, SQR-USP Lote GOD315 (Substância Química de Referência da United States Pharmacopeia), também foi adquirida através de seu representante nacional.

As misturas binárias foram submetidas às análises térmicas para estudo de compatibilidade fármaco excipientes a partir de uma composição proporcional entre clozapina e os excipientes que compõem o produto acabado.

Os comprimidos de 100 mg originados de diversos tempos de produção, foram examinados no 5º mês de fabricação através dos lotes: 1121101, 1121102, 1121103 e 1121104. Outros quatro lotes de comprimidos acima do prazo de validade (produto projetado inicialmente para 24 meses), também foram estudados nos tempos de: 36 meses, lotes de nº: 0909115 e 0909104; 37 meses, lote 0908104 e lote 0808114 aos 48 meses. Todas as amostras de comprimidos e de matérias primas foram disponibilizadas pelo Laboratório Industrial Farmacêutico de Alagoas - LIFAL.

4.1 Caracterização das Matérias primas

As matérias primas foram avaliadas quanto a identidade, tamanho de partículas, descrição dos cristais, solubilidade, velocidade de dissolução intrínseca, recristalização e análises térmicas.

4.1.1 Identificação por Infravermelho da Clozapina

Amostra do lote 4336 que deu origem aos lotes de fabricação mais recentes, com terminal: 101, 102, 103 e 104, foi analisada após formação de pastilha em KBr na pressão de 50 KN, com espessura aproximada de 2 mm; usando equipamento Shimadzu IR Prestige 21, na faixa de 4000 - 650 cm^{-1} e confrontada com Clozapina SQR – USP; conforme (Farmacopéia Brasileira, 5ª edição). A análise foi feita no Instituto de Química e Biotecnologia - UFAL;

4.1.2 Microscopia óptica das amostras de clozapina

Foram estudados quatro lotes de matérias primas: 4182, 4292; 4303 e 4336. A análise foi realizada no Laboratório de Biologia Celular – UFAL, observando-se inicialmente o aspecto dos pós segundo a F. Bras. 5ª edição e identificando o tipo de cristal. Através de amostras de (1mg ± 0,1) pesada em lâminas (triplicata) e dispersas em óleo mineral, as leituras foram feitas em microscópio Nikon Eclipse 50i com objetiva de 20X.

As imagens capturadas em câmara DS – Ri1, foram avaliadas pelo diâmetro de Feret, (que determina que as partículas podem ser caracterizadas, calculando-se a média das distâncias de duas linhas paralelas tangenciais ao limite projetado dessas partículas), (AULTON, 2005).

Um total de 150 partículas foram medidas para cada lote, utilizando-se o programa DP2–BSW Versão Olympus Soft Imaging Solution GmbH, com régua de 50µm e distribuídas em intervalos de classe previamente calculados pela fórmula para cálculo de número de classes representada abaixo.

Após a verificação das 150 partículas, foram arranjadas as distribuições granulométricas de cada amostra, obedecendo-se aos intervalos de classes previamente calculados em um total de 8. Foi constatada uma predominância mais representativa em três classes das 8 estudadas, após esta avaliação.

A morfometria do cristal foi identificada, observando-se as características apresentadas e comparando-se as imagens obtidas com estudos anteriormente publicados.

$$K = 1 + 3,3 \times \log N \text{ (BARBOSA}_b\text{, 2009)}$$

Onde, k é o número de classe e N o total de escores.

$$Am = \frac{\text{maior escore da amostra} - \text{menor escore da amostra}}{K}$$

K

Onde, Am é a amplitude dos intervalos de cada classe e k é o número total de classes.

4.1.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Quatro amostras de matérias primas: 4182, 4292, 4303 e 4336 e uma amostra recristalizada em água foram analisadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV) no laboratório Optma do Departamento de Física da UFAL.

Pequenas porções dos fármacos foram colocadas nos porta amostras e submetidas à metalização em equipamento Sanyu eléctron – Quick Coater SC 701, havendo a formação de plasma pelo desprendimento de partículas de ouro.

As imagens foram capturadas através de MEV – Shimadzu SSX-550.

4.1.4 Curva de calibração para Ensaio Quantitativos em UV

Uma curva de calibração foi desenvolvida para ensaios quantitativos em UV dos estudos de dissolução intrínseca e perfil de dissolução. Esta curva foi construída a partir de uma solução estoque de clozapina (Lote: GOD315), retirando-se volumes distintos desta solução, para diluição e obtenção de concentrações; 25,02; 22,22; 28,00; 12,60; 6,30; 3,00 e 1,80 µg/mL. Os dados foram tratados por análise de regressão linear dos mínimos quadrados para obtenção da equação da reta de calibração ($y = ax + b$) e o coeficiente de correlação (R).

4.1.5 Dissolução intrínseca das amostras de clozapina

Utilizando-se Dissolutor Nova Ética, modelo 299 (Brasil), acoplado com aparelho de Wood foi determinada à dissolução em superfície constante a 100 RPM e realizadas análises em triplicata dos 4 lotes em estudo; com massa exatamente pesadas de 0,153 gramas; prensadas com força de 2 Toneladas (2,0 KN) durante 1 minuto; obtendo-se uma pastilha de 1,0 cm² de área. O teste foi executado no Laboratório Industrial Farmacêutico de Alagoas – LIFAL.

Os tempos definidos para o ensaio foram: 10, 20, 30, 45, 60 e 90 minutos, em meio de tampão acetato pH 4,0 a 37° C ± 0,5° no volume de 900 ml (F.Bras. 5ª). Após os tempos determinados, alíquotas foram coletadas, (com reposição do meio), filtradas e diluídas 2:10. As diluições foram lidas em espectrofotômetro Jasco modelo 7800 no comprimento de onda

de 290 nm. As concentrações foram estimadas de acordo com uma curva analítica. A partir dos resultados encontrados foi calculada a velocidade de dissolução intrínseca (VDI), ou seja, velocidade de liberação em $\mu\text{g/ml}$ em função do tempo, utilizando-se a equação da reta para este fim. Cálculo de média e desvio padrão foram estimados para cada lote submetido à dissolução intrínseca.

4.1.6 Recristalização da clozapina

A amostra de clozapina de número 4292 foi testada frente a 4 diferentes processos de recristalização em baixa temperatura, através de uma dissolução em etanol, seguido pela adição do anti-solvente: 1) água; 2) NaOH 0,1 M; 3) tampão fosfato pH 8,0 e, 4) tampão borato pH 8,6. Após a recristalização da clozapina, as amostras passaram pelo processo de secagem por evaporação em dessecador com sílica a temperatura ambiente.

Após recristalização e secagem, as amostras foram analisadas, seguindo-se metodologia descrita nos itens 4.1.2 (morfometria); 4.1.3, 4.1.5 e comparadas com os resultados obtidos inicialmente, sem a etapa de recristalização, visando identificação dos cristais e velocidade de dissolução intrínseca (VDI).

4.1.7 Análises térmicas das clozapinas

As quatro amostras de clozapina puras e duas amostras recristalizadas em água e NaOH, foram analisadas através de análises térmicas de Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) e termogravimétricas (TGA); realizadas no Laboratório de Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – UFPB.

4.1.7.1 Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

As Curvas calorimétricas foram obtidas no equipamento Shimadzu (Tokyo-Japão), modelo DSC 50; com $(2,0 \text{ mg} \pm 10\%)$ de massa, colocadas em cápsulas padronizadas de alumínio e seladas hermeticamente; igualmente uma cápsula do mesmo tipo foi utilizada

como referência. A razão de aquecimento foi de 10° por min. no intervalo de 10 – 400°C, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio e vazão de 50ml por min. A calibração foi feita com padrões de índio e zinco.

4.1.7.2 Análise Termogravimétrica – TGA

Utilizando-se equipamento Shimadzu (Tokyo-Japão), modelo TGA 50H, foram realizadas as análises termogravimétricas experimentais pesando-se analiticamente (5mg ± 10%) em suporte de alumina, com razão de aquecimento de 10° por min., na faixa de temperatura de 10 – 900°C, em ambiente de ar sintético e nitrogênio com vazão de 20 ml por minuto e 50 ml por minuto, respectivamente. O instrumento foi calibrado através de curva termogravimétrica nas mesmas condições com oxalato de cálcio monohidratado.

4.2 Análises das Misturas Binárias

As misturas binárias entre a clozapina e os excipientes: amido, dióxido de silício coloidal, estearato de magnésio, lactose e talco foram feitas por mistura em frasco de 30 ml agitadas por 1 minuto.

4.2.1 Análises das misturas binárias por Calorimetria Exploratória Diferencial – DSC

Os mesmos procedimentos adotados para as análises por DSC da clozapina, itens: 4.1.7.1, também foram realizados nas misturas binárias.

4.2.2 Análise das misturas binárias por Termo gravimetria – TGA

Os mesmos procedimentos adotados para as análises por TGA da clozapina, itens: 4.1.7.2; também foram realizados nas misturas binárias.

4.3 Análises do Produto Acabado

4.3.2 Análises dos comprimidos por DSC.

Os mesmos procedimentos adotados para as análises térmicas por DSC da clozapina e misturas binárias, item: 4.1.7.1; também foram realizados nos comprimidos.

4.3.3 Análises dos comprimidos por TGA.

Os mesmos procedimentos adotados para as análises térmicas por TGA da clozapina e misturas binárias, item: 4.1.7.2; também foram realizados nos comprimidos

4.3.4 Perfil de dissolução dos comprimidos

Quatro amostras de lotes de comprimidos de 100 mg com 5 meses de fabricação, foram pesadas em balança Mettler Toledo AB 204 e avaliadas em sextuplicata utilizando método inscrito na Farmacopéia Brasileira 5, que preconiza 900 ml de tampão acetato pH 4,0 em cesta a 100 RPM.

Duas amostras de comprimidos de 100 mg com 36 meses de fabricados e outros 2 lotes com tempos de fabricação de 37 e 48 meses, também foram avaliados seguindo-se os mesmos critérios acima recomendados; visando avaliar o desempenho da formulação com diversos lotes oriundos de um mesmo fabricante.

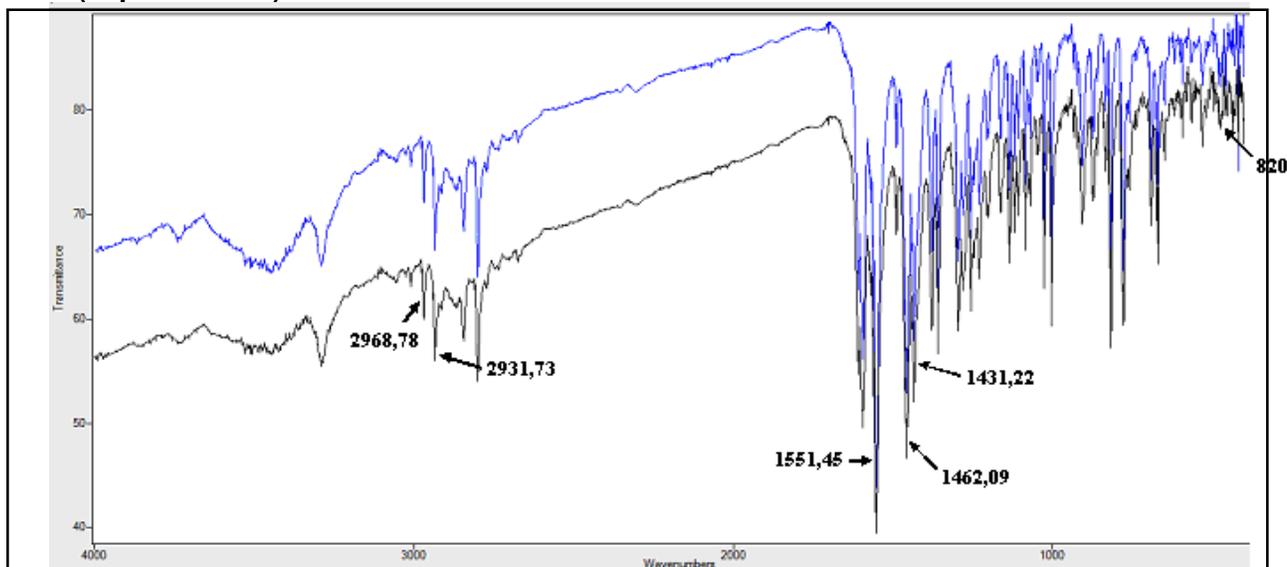
As coletas aconteceram nos tempos 3, 7, 10, 15, 30, 45 minutos, com alíquotas de 5 ml dos meios, havendo reposição do mesmo. Este volume retirado foi filtrado e diluído a 2:10. As diluições foram lidas em espectrofotômetro Jasco modelo 7800 (Japão) no comprimento de onda de 290 nm; as absorbâncias encontradas foram avaliadas através de curva analítica, para estimar as concentrações liberadas.

Para tratamento dos resultados, levou-se em conta, a quantidade de massa retirada nos ensaios, efetuando-se as devidas correções. Os resultados foram sobrepostos em curvas para análise e comparados pelo fator de semelhança F2 e Two Way ANOVA para melhor discriminação dos resultados, o teste de Bonferroni foi utilizado para comparar as variáveis entre grupos.

5.1 Caracterização das Matérias primas

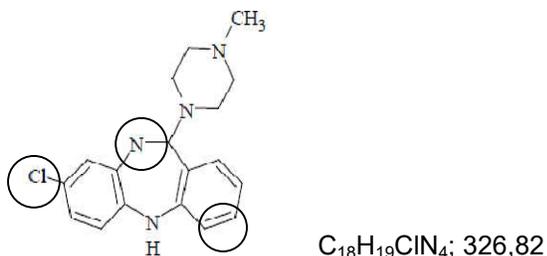
5.1.1 Identificação da Clozapina em Estudo Por Infravermelho Médio (IR)

Figura 3 – Espectro de infravermelho comparativo entre a matéria-prima de clozapina e SQR. Lote 4336 (espectro preto) e a Substância química de referência United States Pharmacopeia USP (espectro azul).



Fonte: Autora, 2013

Figura 4 – Molécula da Clozapina com alguns pontos de identificação por IR



Fonte: Farmacopeia Brasileira 5ª edição.

O espectro de absorção no infravermelho da amostra analisada 4336, apresentou máximos nos mesmos comprimentos de onda, daquelas observadas quando comparadas com uma SQR de clozapina. (F. Bras 5).

A banda em 2968 e 2931, são características do C-H estiramento alifático, a de 1551 corresponde a C=N. A faixa de 1462 e 1431 Cm^{-1} identificam a ligação C=C, 3289,88

identifica a ligação N-H e a de 820 caracteriza o estiramento da ligação com o halogênio C-Cl; algumas identificadas na molécula (Figuras 3 e 4); estes dados estão de acordo com os apresentados por (AGNIHOTRI e AMINABHAVI, 2004; AHAD *et al.*, 2011; GOWDA *et al.*, 2012).

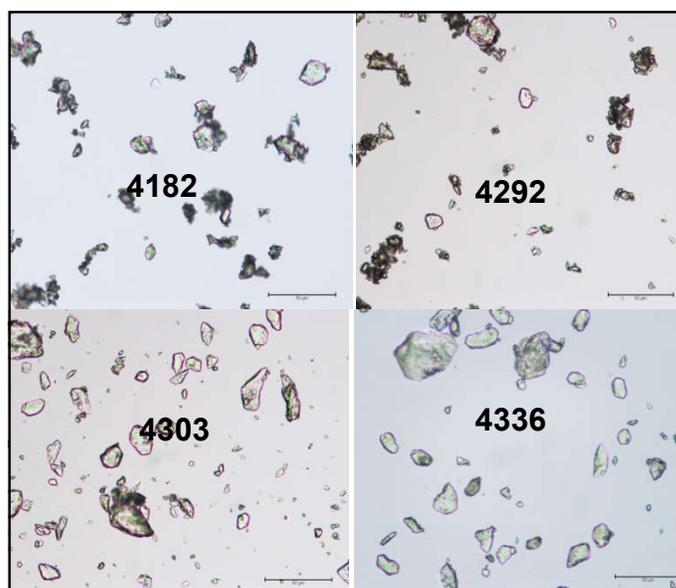
5.1.2 Descrição das Matérias Primas de Clozapina

As matérias Primas foram avaliadas segundo a Farmacopéia Brasileira 5ª edição.

Tabela 1 – Avaliação das matérias primas quanto a características físicas e de solubilidade

TESTE	ESPECIFICAÇÃO	LOTES			
		4336	4182	4292	4303
Características Físicas	Pó cristalino amarelo	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme
Solubilidade	Praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em cloreto de metileno, solúvel em etanol.	Conforme	Conforme	Conforme	Conforme

Figura 5 – Fotografias das amostras de clozapina



Fonte: Autora, 2013. Análises feitas em objetiva de 20X e régua de µm.

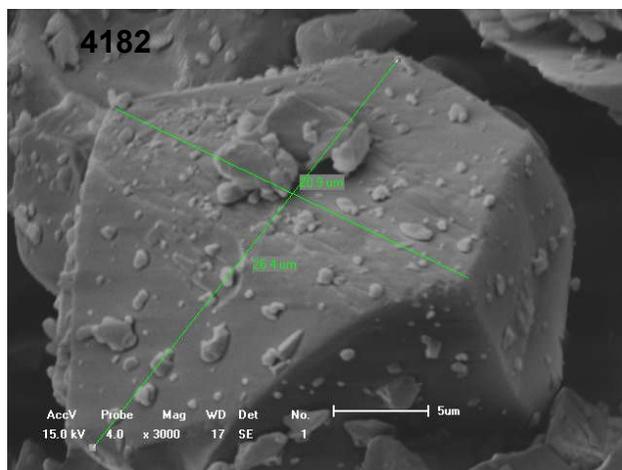
Quando as amostras de matérias primas foram analisadas por microscopia óptica, ficou evidenciado que todas se encontravam micronizadas por processo de redução de tamanho de partículas convencional (processo de moagem) e não tecnológico (sem controle do crescimento e formato do cristal), (Figura 5); os cristais quando íntegros, se apresentavam em microscopia óptica (MO) com característica de cristal hexagonal tipo bloco, marron nas laterais e claro ao centro e compatíveis com os descritos em trabalho publicado por DEVI e colaboradores em (2011). Sempre que a matéria prima passa pelo processo de micronização, torna-se difícil avaliar o hábito cristalino da amostra em análise, bem como a presença de polimorfismo (BARBOSA, *et. al.*, 2009). Em análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV), ficou confirmado materiais de formas semelhantes e tamanhos variados em todos os lotes; um cristal tipo bloco compactado com tamanho de $23,65\mu\text{m}$ foi analisado no lote 4182, confirmando o formato hexagonal visto por microscopia óptica. (Figuras 6, 7 e 8).

Figura 6 – Fotografias dos cristais anidros de clozapina por Microscopia óptica (MO)



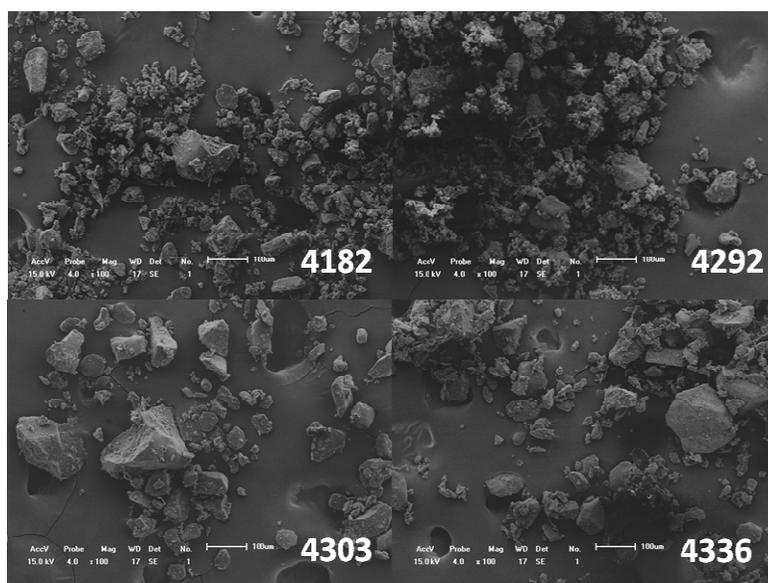
Fonte: Autora, 2013

Figura 7 – Fotografia do cristal anidro de clozapina usando Microscopia eletrônica de varredura (MEV)



Fonte: Autora, 2013

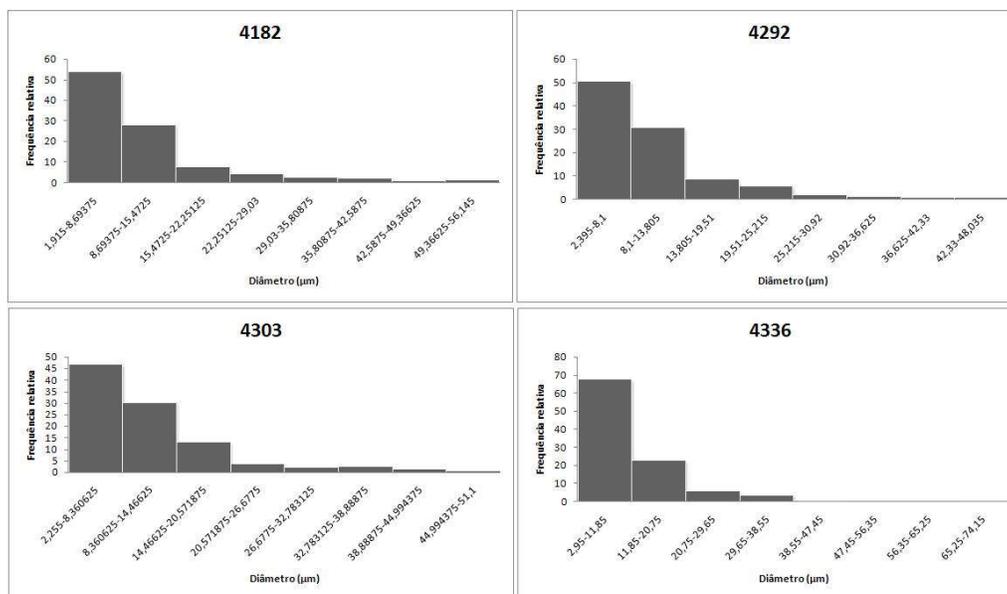
Figura 8 – Fotografias dos cristais anidros de clozapina obtidas por MEV.



Fonte: Autora, 2013

5.1.3 Análise de Distribuição Granulométrica das Matérias Primas de Clozapina

Figura 9 – Gráfico dos Intervalos de classe das amostras de clozapina, para avaliação de tamanho de partículas



Fonte: Autora, 2013

Quando foram comparadas as distribuições de tamanhos nos intervalos de classe previamente calculados em nº de 8, pôde-se observar que o lote 4182 apresentou uma distribuição granulométrica em todos os 8 intervalos (1,91µm – 56,14µm) ; o lote 4292 apresentou resultados em seis intervalos (2,39µm – 48,03µm), o lote 4303 em sete (2,25 – 51,10µm) e o lote 4336 em apenas quatro (2,95 – 74,15 µm) dos oito intervalos definidos (Figura 9).

A frequência maior, aproximadamente 67,50%, foi verificada no intervalo entre 2,95 – 11,85 µm, relativa ao lote 4336, os demais lotes, com os resultados: 4182 = 53,75%; 4292 = 50,62%; 4303 = 46,50%; apresentaram frequência elevada também em intervalos de partículas pequenas, sendo o menor diâmetro encontrado de 1,91 µm, lote 4182 (figura 9). Em estudo realizado por (SAUSEN, 2007), uma frequência de (33,46%) foi obtida com um diâmetro médio de partículas no intervalo de 14 a 21 µm; esta faixa granulométrica diferenciada pode ser devido às especificações distintas entre fabricantes de clozapina do mercado internacional no processo de fabricação do fármaco, principalmente na operação de moagem, ou por divergência de metodologia, tendo em vista que o autor realizou sua

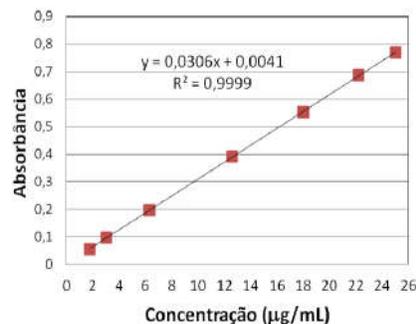
contagem em escala superior, podendo assim ter observado partículas maiores em detrimento das menores.

O processo de diminuição do tamanho das partículas sólidas tende a aumentar a velocidade de dissolução do fármaco; a micronização pode aumentar esta velocidade e sua biodisponibilidade desta forma é de grande importância à caracterização da partícula (ANSEL et al., 2007). As propriedades cristalinas da mesma forma, também podem influenciar na velocidade de dissolução de um fármaco e em sua biodisponibilidade. Do ponto de vista tecnológico, o hábito cristalino pode ter influencia na compressibilidade e nas propriedades de fluidez da matéria-prima conforme Florence e Attwood, (2003). Os fármacos quando dissolvidos nos líquidos do trato gastrointestinal podem ser absorvidos, necessitando para isto, da característica de hidrossolubilidade, no entanto para a travessia das membranas biológicas outra característica é requerida a lipossolubilidade (SHARGEL e YU, 1999).

5.1.4 Dissolução Intrínseca

Para realização dos estudos de dissolução e dissolução intrínseca, foi necessária a construção de curva de calibração (Figura 10) de concentração de clozapina ($\mu\text{g/mL}$) em função da absorbância que apresentou linearidade na faixa de concentração entre 1,80 e 25,02 $\mu\text{g/mL}$ e coeficiente de correlação próximo à unidade ($r^2=0,999$). A curva de calibração foi utilizada tanto para os experimentos de dissolução intrínseca como perfil de dissolução, usando o mesmo fármaco e o mesmo meio de dissolução.

Figura 10 – Curva de calibração de clozapina obtida em tampão pH 4,0 para estudos de dissolução.



Fonte: Autora, 2013

5.1.4.1 Dissolução Intrínseca das Matérias Primas com cristais anidros

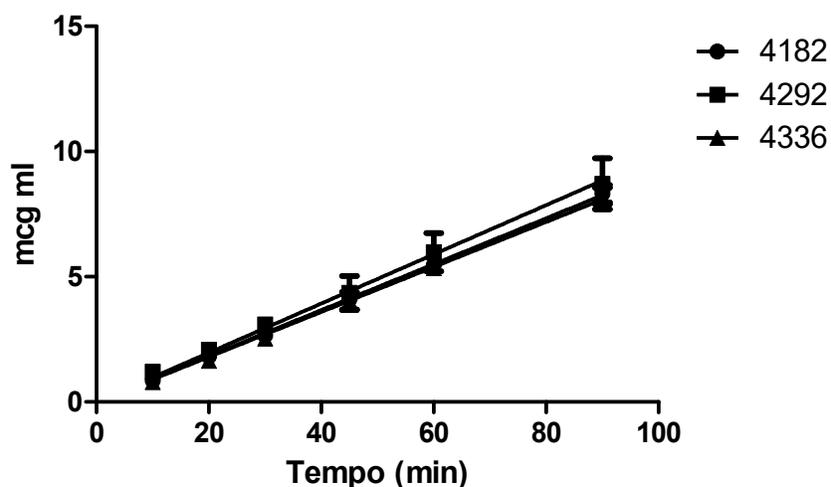
A partir do gráfico da curva de calibração foi possível calcular os valores de concentrações de clozapina em função do tempo durante estudo de dissolução intrínseca. Os valores médios de concentração e seus desvios padrões são apresentados na (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentrações médias de clozapina ($\mu\text{g/mL}$) obtidas durante estudo de dissolução intrínseca

Tempo (minutos)	Cloz 4182 \pm DP	Cloz 4292 \pm DP	Cloz 4336 \pm DP
10,0	0,86 \pm 0,15	1,21 \pm 0,09	0,79 \pm 0,11
20,0	1,82 \pm 0,09	2,08 \pm 0,14	1,65 \pm 0,13
30,0	2,65 \pm 0,21	3,10 \pm 0,25	2,53 \pm 0,16
45,0	4,11 \pm 0,19	4,36 \pm 0,67	4,03 \pm 0,36
60,0	5,47 \pm 0,25	5,98 \pm 0,76	5,35 \pm 0,24
90,0	8,32 \pm 0,34	8,71 \pm 1,01	8,22 \pm 0,33

Fonte: Autora, 2013 (dados em sextuplicata)

Figura 11 – Dissolução intrínseca experimental de clozapina em tampão de acetato pH 4,0.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 3 – Velocidade de dissolução intrínseca para as diferentes matérias-primas de clozapina

Matéria-prima (clozapina)	Velocidade de dissolução intrínseca (J /s)	Coefficiente de correlação (R ²)
4182	0,0917	0,9994
4292	0,0983	0,9969
4336	0,0899	0,9978

Fonte: Autora, 2013 (dados obtidos em sextuplicata)

A velocidade de dissolução intrínseca - VDI obtida na clozapina atendeu a condição SINK (condição adequada entre meio de dissolução, massa de fármaco, temperatura, entre outros), ou seja, apresentou um modelo de velocidade linear com valores de coeficiente de correlação entre 0,9969 a 0,9994 (Figura 11). Quando confrontadas as velocidades de dissolução intrínseca entre os lotes 4182, 4292 e 4336; foi observado que os valores se encontravam com taxas de liberação dos fármacos semelhantes para o meio de dissolução em estudo (Tabela 3).

A velocidade de dissolução intrínseca obtida (0,0899 a 0,0983 mg/cm²/min), foi inferior ao mínimo recomendável de 0,100 mg/cm²/min, segundo Milani,¹⁸ (2009) citado por (MAXIMIANO, 2010). Isto indica que a dissolução deste fármaco poderá ser um fator limitante de sua absorção, resultados que estão em acordo com a classificação biofarmacêutica II para este ativo (POLLI *et al.*, 2008).

5.1.4.2 Estudos de Recristalização

Amostras do lote 4292 foram recristalizadas a partir de vários meios: tampão fosfato pH 8,0; tampão borato pH 8,6; Na OH 0,1M e H₂O.

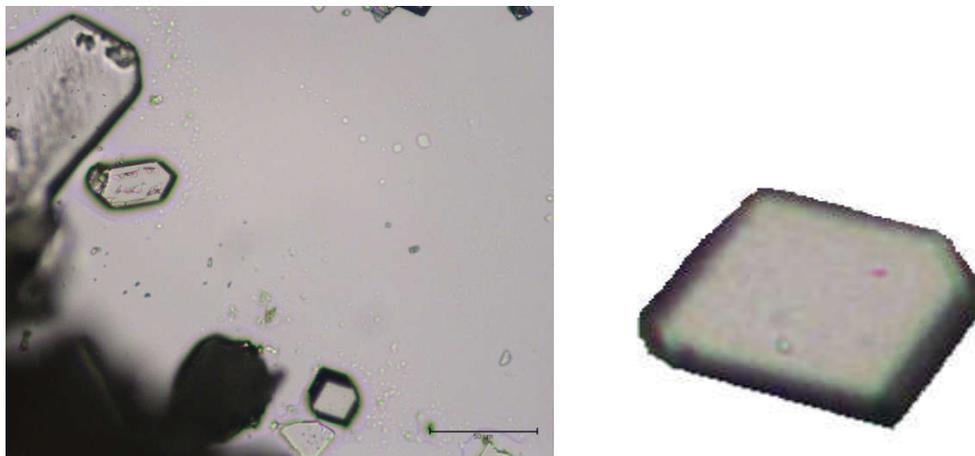
Um cristal tipo placa foi formado a partir da recristalização em tampão fosfato pH 8,0 apresentando aspecto bem distinto do seu precursor e condizente com o tipo de cristal observado no trabalho de Devi (2011) utilizando outros meios de recristalização (Figura 12).

É importante a identificação dos cristais após a recristalização, tendo em vista que as estruturas cristalinas formadas são dependentes dos solventes utilizados. (MORETTO e

¹⁸MILANI, Z; JALALI, B; AZIMI, M; VALIZADEH, H.; **Eur. J. Pharm. Biopharm**, n. 73, p.102, 2009.

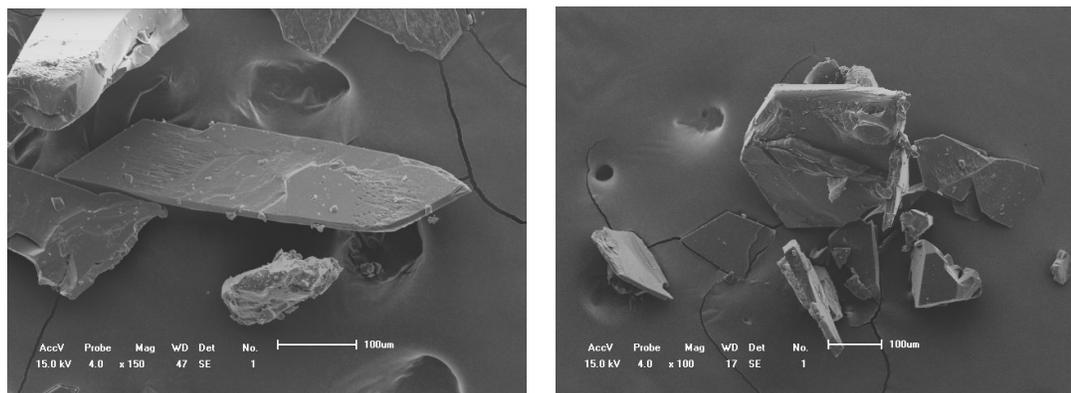
ALBUQUERQUE, 2009). A análise MEV para clozapina recristalizada na presença de água confirmou a presença de cristais com formato de placa (Figura 13).

Figura 12 – Fotografias dos cristais de clozapina obtidas por microscopia óptica (MO), após recristalização em escala de 50 μm .



Fonte: Autora, 2013 (ampliação do cristal após recristalização do fármaco em tampão fosfato pH 8,0).

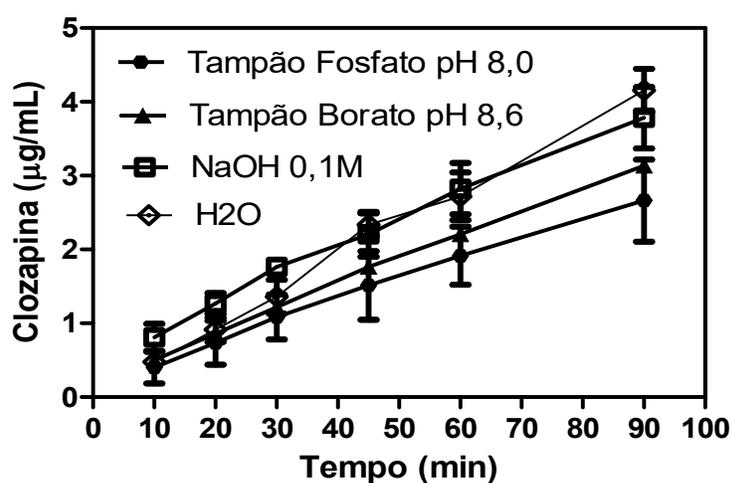
Figura 13 – Fotografias dos cristais de clozapina por MEV após recristalização da clozapina na água.



Fonte: Autora, 2013

Esta propriedade, na qual uma substância ativa cristalina pode formar distintos tipos de cristais a depender dos solventes, temperatura e tempo empregados é denominada polimorfismo, do ponto de vista farmacêutico é de interesse este conhecimento, pois mudança na estrutura cristalina de um ativo tem influência direta na estabilidade e eficácia terapêutica do medicamento (ANSEL *et al.*,2007).

Figura 14 – Dissolução intrínseca das matérias-primas de clozapina recristalizadas.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 4 – Velocidade de dissolução intrínseca para a matéria-prima de clozapina recristalizada com diferentes solventes

Matéria-prima (clozapina) 4292	Velocidade de dissolução intrínseca (J /s)	Coefficiente de correlação (R ²)
Recristalizada em H ₂ O	0,0464	0,9964
Recristalizada em NaOH 0,1M	0,0460	0,9075
Recristalizada em Fosfato pH 8,0	0,0355	0,9586
Recristalizada em Borato pH 8,6	0,0365	0,9806

Fonte: Autora, 2013 (dados obtidos em triplicata)

Quando comparadas as velocidades de dissolução dos fármacos obtidos após processos de recristalização em água e em soluções alcalinas, com as matérias primas que não passaram por este processo (Tabelas 3 e 4), pôde-se observar um decremento na

velocidade de dissolução das recristalizadas, principalmente naquelas oriundas dos tratamentos com fosfato e borato; com resultados inferiores à metade dos valores alcançados com as matérias primas sem essa operação de recristalização: 0,0355 e 0,0365 J/s em tampão fosfato e borato respectivamente.

Estes dados confirmam que os cristais anidros possuem uma velocidade de dissolução superior as formas hidratadas; (AULTON, 2006; ANSEL *et al.*, 2007); o lote 4292 com velocidade de dissolução intrínseca de 0,0983 J/s, (Tabela 3); quando recristalizado em água passou para 0,0464 J/s, (Tabela 4) ou seja, teve um decréscimo de aproximadamente 53% da sua velocidade inicial, conforme visto na (Figura 14).

5.1.5 Estudo de Análises de Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC)

Uma curva padrão foi obtida (Figura 15), através de um padrão primário lote GOD 315 (USP), para avaliar o n° de eventos originados e comparar com as configurações das curvas calorimétricas das amostras em análise (Figuras 16).

5.1.5.1 Calorimetria Diferencial Exploratória (DSC) das amostras de Clozapina.

Figura 15 – Curva da SQR (USP) de clozapina em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.

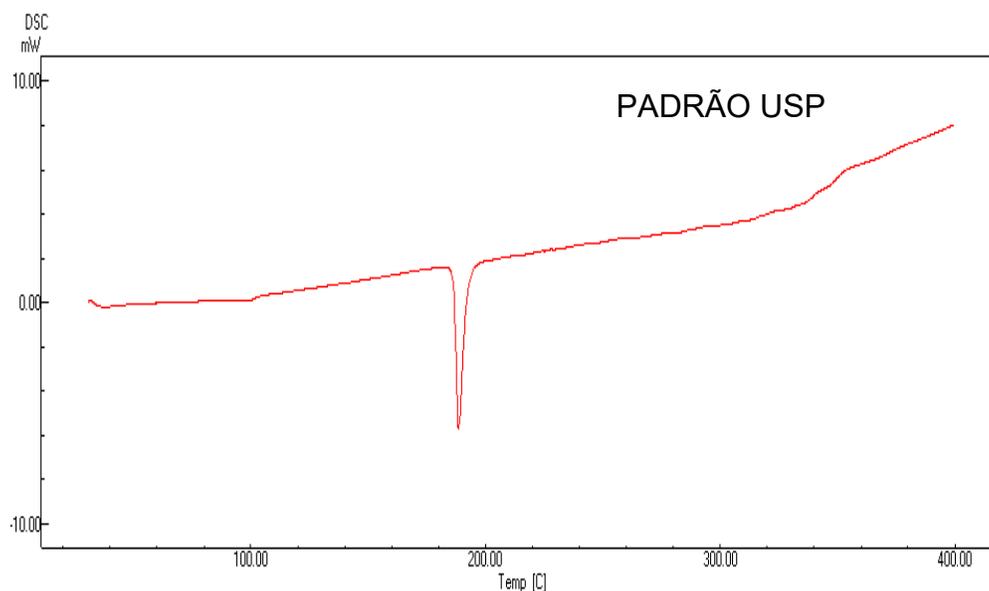
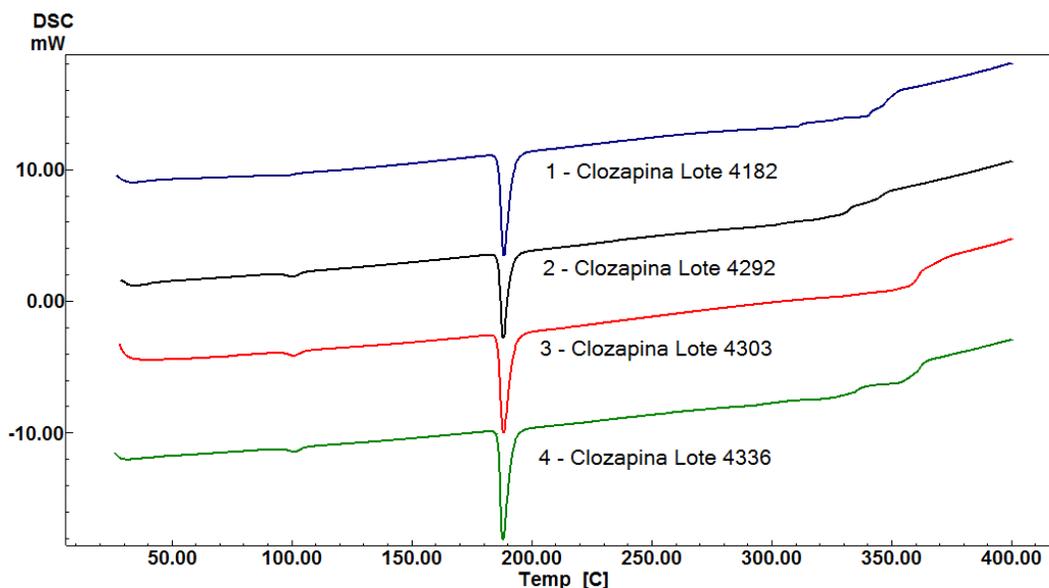


Figura 16 – Comparativo das curvas de Calorimetria Diferencial Exploratória das Matérias Primas de Clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 5 – Dados calorimétricos das matérias-primas de clozapina, obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra	Pico de Desolvatação		T On set de Fusão da Clozapina		Faixa de Decomposição	
	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)
Lote. 4182	97,9	-3,92	185,7	-88,75	259-353	-220,30
Lote. 4292	100,5	-5,25	185,5	-67,43	273-354	-123,30
Lote. 4303	100,8	-5,13	185,3	-92,70	261-374	-274,9
Lote 4336	101,4	-5,43	185,6	-92,39	293-366	-136,4

Fonte: Autora, 2013

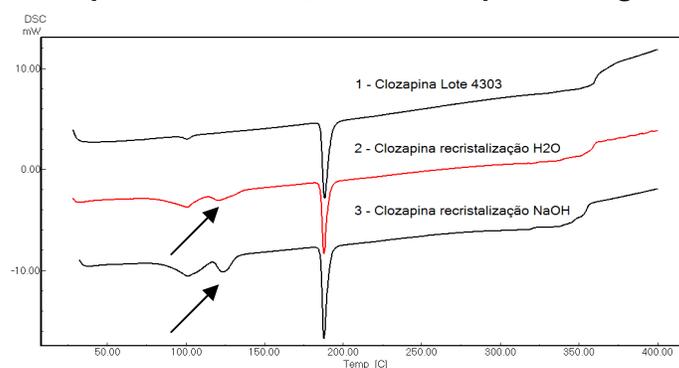
De acordo com as monografias de clozapina inscritas nas Farmacopéias: Brasileira 5, USP 31, Portuguesa VII, a faixa de fusão do fármaco situa-se entre 182 – 186°C. Todas as matérias primas mantiveram um padrão de comportamento similar, evidenciado pelos resultados On set de fusão encontrados (Tabela 5) e conformação semelhante ao padrão

(Figuras 15 e 16). As manutenções do ponto de fusão situada em uma faixa estreita identificam pureza das amostras. (MATOS, JR *et al.*, 2009)

Os picos de desolvatação e as energias envolvidas também mantiveram um padrão de comportamento e as faixas de decomposição de todos os lotes se apresentaram próximas. Estes resultados estão semelhantes aos encontrados por KHAN *et al.*, (2012).

5.1.5.2 - Calorimetria Diferencial Exploratória, das amostras de Clozapina, após recristalização com H₂O e NaOH

Figura 17 - Curvas de DSC após recristalização de Clozapina em água e solução de NaOH 0,1M



Fonte: Autora, 2013

Tabela 6 – Dados calorimétricos experimentais das matérias-primas de clozapina, obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min, após recristalização.

Amostra	Pico de Desolvatação		T On set de Fusão da Clozapina		Faixa de Decomposição	
	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)
Recristalização H ₂ O	100,8 121,2	-46,79 -21,34	185,1	-72,92	260-363	-189,1
Recristalização NaOH	101,5 123,6	-66,34 -32,74	185,0	-96,10	318-360	-68,65

Fonte: Autora, 2013

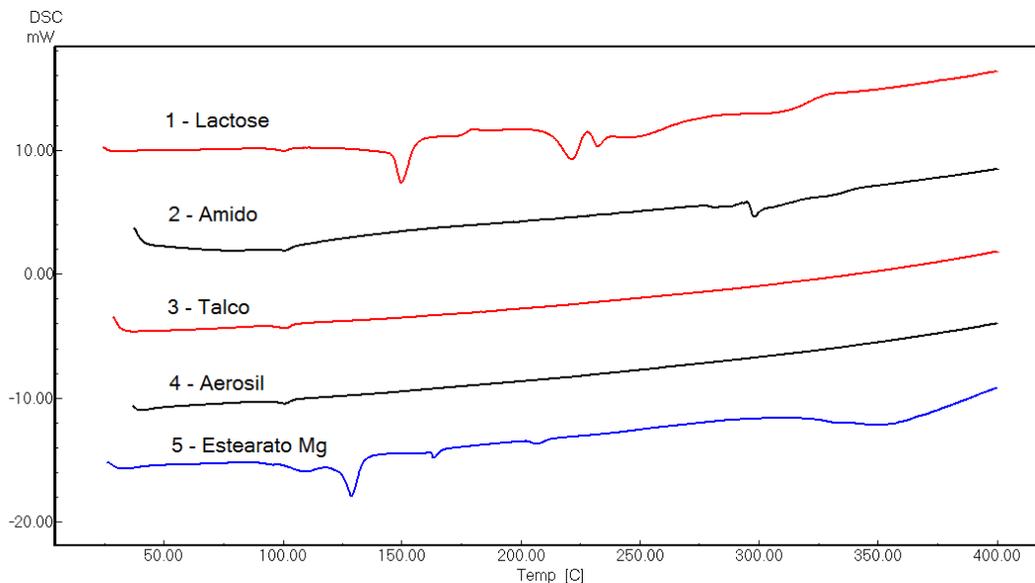
As matérias primas quando recristalizadas e analisadas, apresentaram três picos endotérmicos. O primeiro 100,8°C e 121,2°C quando recristalizadas em água e o segundo em 101,5°C e 123,6°C quando utilizada a solução de hidróxido de sódio.

O terceiro pico de ambas as amostras, mantiveram a temperatura On set de fusão do fármaco em 185°C (Figura 17 e Tabela 6), com intensidade reprodutíveis estando de acordo com a faixa especificada anteriormente 182 - 186°C e compatíveis com os valores do picos anteriormente avaliados em 185°C (Tabela 5). Em trabalho publicado por (DEVI *et. al.*, 2011) os resultados encontrados para clozapina nos picos de desolvatação, quando hidratada com água e acetonitrila foram 121°C e 133°C.

5.1.5.3 Calorimetria Diferencial Exploratória dos excipientes utilizados na formulação e misturas binárias.

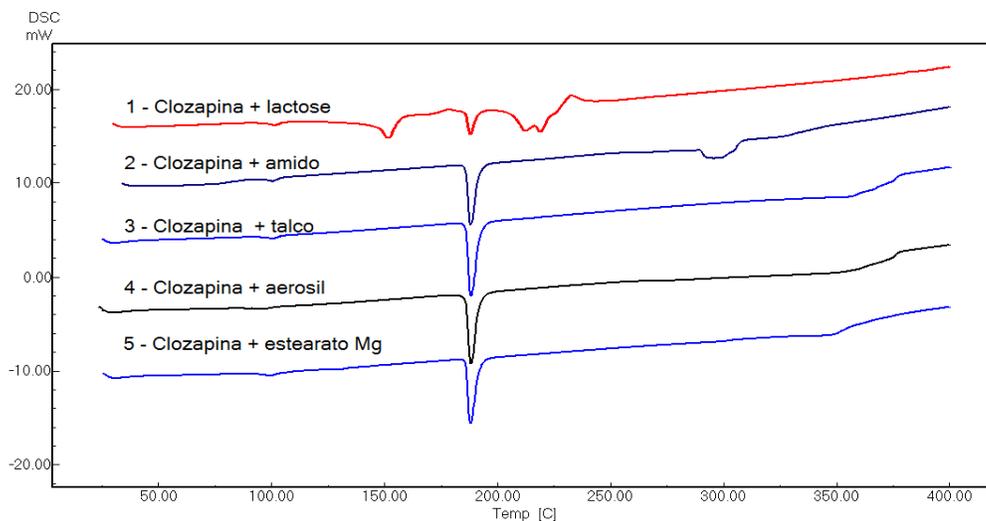
Todos os excipientes foram analisados puros e em mistura com a clozapina, na mesma proporção utilizada no produto acabado, para estudo de compatibilidade farmacêutica.

Figura 18 – Curvas em DSC dos excipientes usados na composição dos comprimidos de clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

Figura 19 – Curvas em DSC das misturas binárias de clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

A curva da lactose obtida está compatível com o trabalho de RAUT, *et. al.*, 2011. O talco e o aerosil (dióxido de silício coloidal), não apresentaram eventos térmicos devido às características minerais destas substâncias.

Nas misturas binárias foram observados três eventos, caracterizados pelo: pico de desolvatção, manutenção da temperatura On set de fusão do fármaco em torno de 185°C e faixa de decomposição (Tabela 7).

Os eventos endotérmicos estão sobreponíveis entre as amostras testadas, mantendo a configuração da clozapina pura e a temperatura de fusão do fármaco; o que sugere compatibilidade entre o fármaco e os excipientes testados (Figura 19).

A alteração dos eventos encontrados na mistura clozapina: lactose, (Figura 19) e (Tabela 7) em relação às demais misturas, provavelmente está relacionada à proporção testada em torno de 1:3, no entanto, a curva da mistura condiz com um somatório das curvas separadas do fármaco (Figura 16) e da lactose (Figura 19), a temperatura On set de fusão, também foi mantida.

Tabela 7 - Dados calorimétricos das misturas binárias de clozapina obtidos em DSC Shimadzu na razão de aquecimento de 10°C/min.

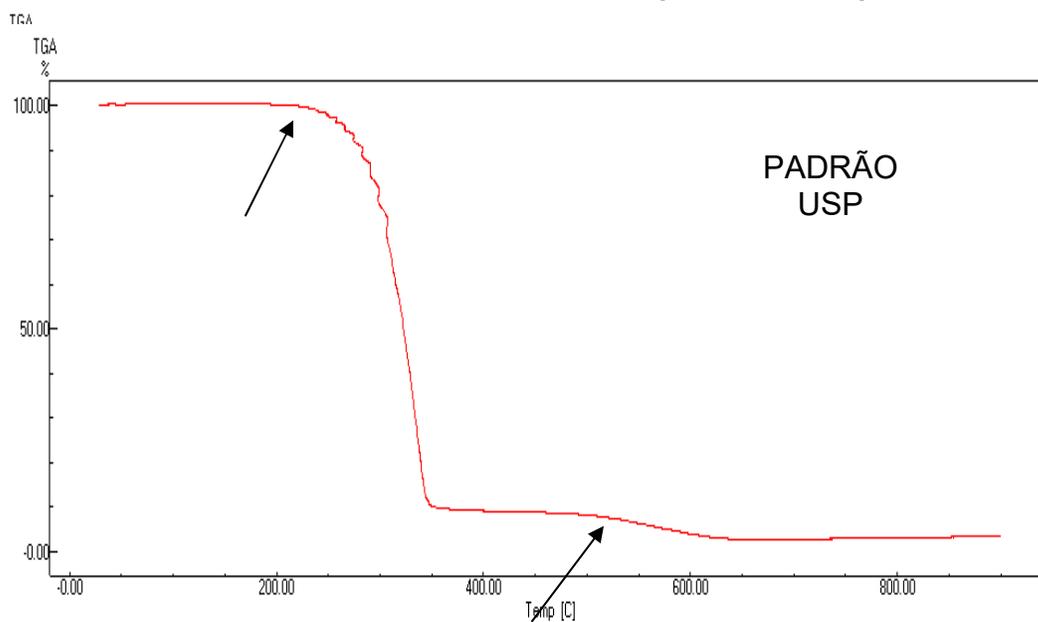
Amostra	Pico de Desolvatação		T On set de Fusão da Clozapina		Faixa de Decomposição	
	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)
Cloz-lactose	101,4	-5,07	185,5	-24,17	205-215	-14,18
	151,4	-69,65			212-224	-9,73
Cloz-amido	100,3	-4,32	185,9	-70,10	250-310	-100,0
Cloz-aerosil	96,4	-4,72	185,7	-82,57	260-378	-284,8
Cloz-talco	100,7	-4,24	185,6	-89,75	260-378	-255,4
Cloz-Estearato Mg	99,5	-4,60	185,6	-74,24	300-378	-98,18

Fonte: Autora, 2013

5.1.6 Análises Termogravimétricas (TGA)

Todas as amostras de clozapina foram comparadas quanto à reprodutibilidade de eventos, frente a uma curva de padrão primário obtida através do lote GOD 315 (USP), (Figura 20); a clozapina após processos de recristalização em dois meios, os excipientes e as misturas binárias, também foram estudados.

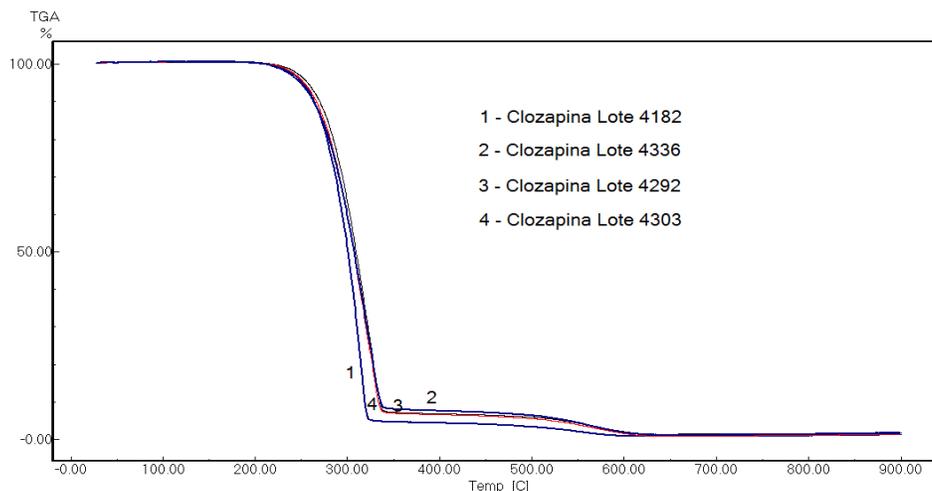
Figura 20 – Substância Química de Referência de clozapina – Padrão primário USP



Fonte: Autora, 2013

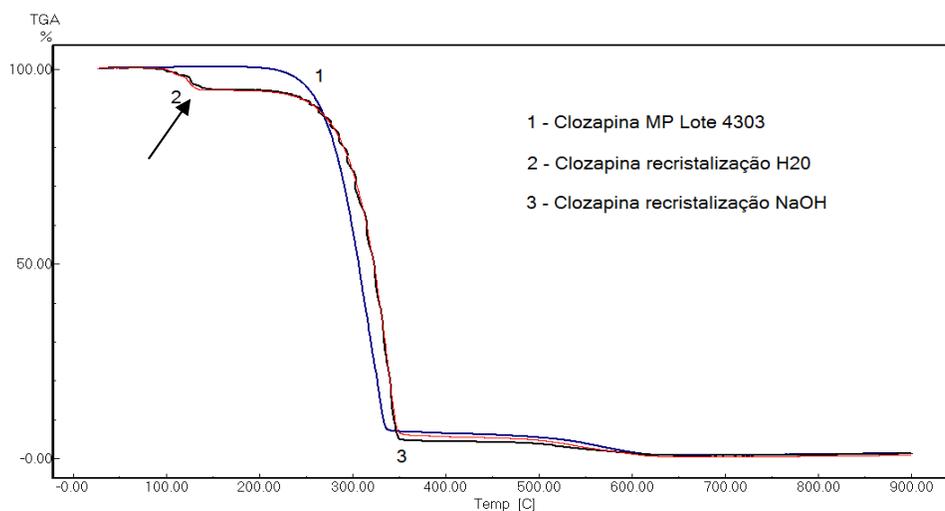
5.1.6.1 Análises Termogravimétricas (TGA) das amostras de clozapina e após processo de recristalização.

Figura 21 – Termograma experimental das clozapinas na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

Figura 22 – Termograma experimental das clozapinas recristalizadas, em comparação a uma matéria prima sem recristalização.



Fonte: Autora, 2013

De acordo com a (Figura 21), todos os lotes analisados apresentaram três eventos semelhantes de decomposição; indicando que são termicamente estáveis até 180°C, quando a primeira decomposição foi iniciada, este valor está compatível com a faixa de fusão do fármaco. Os resultados também reproduziram os três eventos encontrados por DSC (Tabela

7). A primeira etapa possui uma perda mínima de 91,54% e máxima de 94,17%; a segunda etapa de decomposição foi observada a partir de 338°C e a terceira acima de 600°C, conforme (Tabela 8).

Estes dados estão de acordo com os achados por AGNIHOTRI *et al.*, 2004, que analisou matéria prima de procedência indiana e verificou uma expressiva perda de massa em torno de 300°C, com um resíduo final de 0,5%.

Após processo de recristalização com H₂O e solução de NaOH 0,1M, (Figura 22), foram gerados novos eventos oriundos dos meios utilizados. Em trabalho de (DEVI *et al.*, 2011), também foi demonstrado uma perda de água em torno de 5,85% a T On set de 121,88°C, quando o fármaco clozapina foi recristalizado em água e acetonitrila.

Estequiometricamente, um mol de água corresponde a 5,22% de perda de massa em uma molécula de clozapina. Os dados da (Tabela 8), mostram que a clozapina apresentou na faixa de 80-150°C, uma perda de massa de 5,50% (recristalizada em água) e 5,76% (recristalizada em NaOH 0,1M).

Os dados de TGA (Figura 22) e DSC (Figura 17), dos recristalizados de clozapina em água e NaOH 0,1 M, demonstram a formação de uma forma pseudo polimórfica de clozapina (monohidrato de clozapina) (Figuras 12) recristalizada em tampão fosfato. Estes valores estão descritos na (Tabela 8).

Tabela 8 – Dados de decomposição térmica das matérias-primas de clozapina, usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.

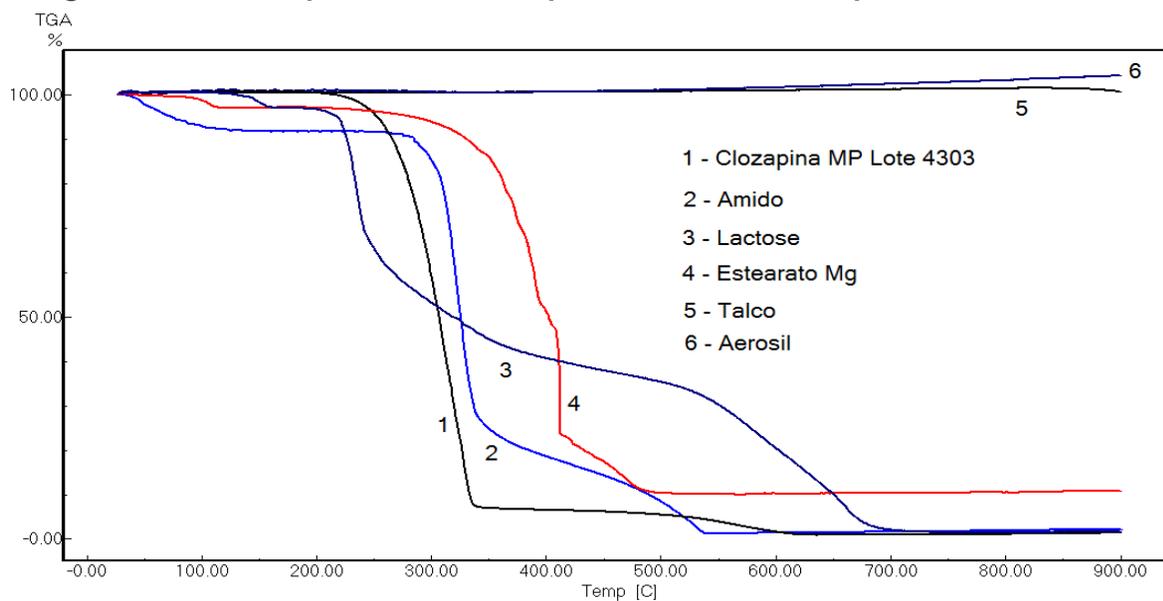
Amostra	1ª Etapa de decomposição		2ª Etapa de decomposição		Resíduo mineral	
	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)
Lote. 4182	180-322	94,17	338-604	5,35	>604	0,48
Lote. 4292	180-338	92,64	338-628	6,44	>628	0,92
Lote. 4303	180-338	93,14	338-628	6,46	>628	0,40
Lote 4336	180-338	91,54	338-628	7,66	>628	0,80
Clozapina após processo de recristalização						
Recristalização H ₂ O	150-350	89,13	350-638	4,80	260-363	0,57
	80-150	5,50				
Recristalização NaOH	150-348	87,47	348-640	6,66	318-360	0,11
	80-150	5,76				

Fonte: Autora, 2013

5.1.6.2 Análises Termogravimétricas (TGA) dos excipientes da fórmula

Todos os excipientes que fazem parte da formulação foram analisados por termo gravimetria para obtenção das curvas individuais, visando estudo comparativo com as misturas binárias a seguir.

Figura 23 – Curvas por TGA dos excipientes na razão de aquecimento de 10°C/min.

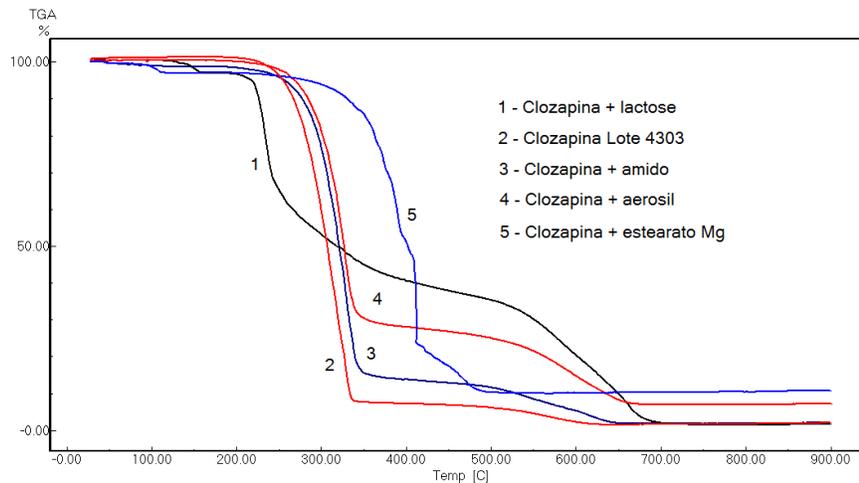


Fonte: Autora, 2013

As matérias primas: 5 e 6 Talco e dióxido de silício coloidal, respectivamente, não apresentaram eventos a exemplo das suas análises em DSC.

5.1.6.3 Análises Termogravimétricas (TGA) das misturas binárias

Figura 24 – Curvas TGA das misturas binárias de clozapina na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 9 – Dados de decomposição térmica das misturas binárias de clozapina usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra	1ª Etapa de decomposição		2ª Etapa de decomposição		3ª Etapa de decomposição	
	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)
Cloz-Lactose	40-160	3,32	160-348	51,75	348-660	43,81
Cloz-Amido	40-160	1,41	160-348	82,55	348-660	14,21
Cloz-Aerosil	40-160	0,14	160-348	67,31	348-660	26,07
Cloz-Talco	40-160	0,26	160-348	85,75	348-660	2,68
Cloz-Est. Mg	40-160	0,02	160-348	84,04	348-660	11,49

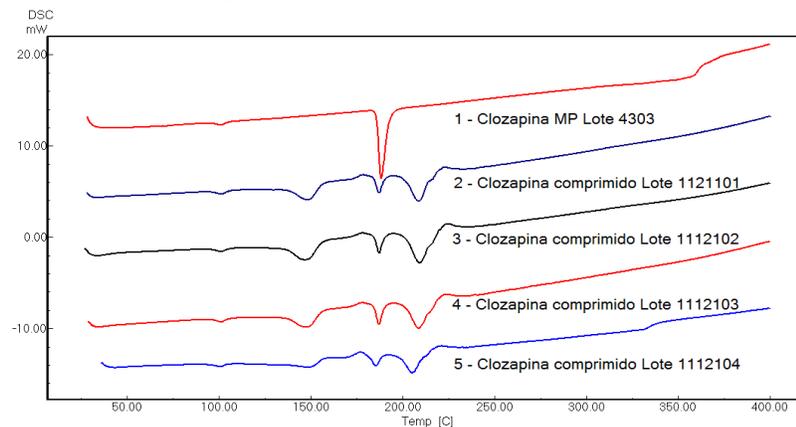
Fonte: Autora, 2013

A curva da lactose está em acordo com o trabalho de (RAUT *et. al.*, 2011). Todas as amostras apresentaram três eventos, que foram avaliadas na mesma faixa de temperatura. O comportamento apresentado neste estágio mistura binária, demonstrou que a lactose possui uma retenção maior de massa 43,81%, que foi deslocada para a terceira etapa do processo, quando comparada com a clozapina:talco que apresentou 2,68%; possivelmente esta preservação da clozapina:lactose seja justificada pela concentração desta substância 1:2,3 nesta mistura (Figura 24 e Tabela 9).

5.2 Análise do Produto Acabado

5.2.1 Calorimetria Exploratória Diferencial dos lotes de comprimidos por (DSC)

Figura 25 – Curvas DSC dos comprimidos de clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/ min



Fonte: Autora, 2013

Tabela 10 - Dados calorimétricos dos comprimidos de clozapina obtidos em DSC na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra	Pico de Desolvatação		T On set de Fusão da Clozapina		Faixa de fusão da lactose	
	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)
Cloz-L1112101	101,3	-5,89	184,3	-20,23	196-215	-58,22
Cloz-L1112102	101,1	-5,51	184,5	-23,54	195-219	-105,21
Cloz-L1112103	100,9	-5,68	184,3	-24,46	194-218	-87,34
Cloz-L1112104	100,6	-4,22	181,0	-20,37	193-212	-39,71

Fonte: Autora, 2013

Foram evidenciados através dos dados da (tabela 10) e observando-se a (Figura 25) uma repetibilidade nos eventos encontrados, em relação ao pico de desolvatação, temperatura On set de fusão da clozapina e faixa de fusão da lactose (ROWE, *et. al.*, 2003); havendo sobreposição do modelo de conformação, característico da lactose em todos os lotes, já observado anteriormente na mistura binária (Figura 19).

Houve um decréscimo na temperatura On set do ponto de fusão dos comprimidos, no entanto esta fusão se manteve dentro da faixa especificada (182 - 186°C), identificando falta de interação química fármaco excipiente.

As intensidades dos picos endotérmicos de fusão dos comprimidos estão alteradas, quando comparadas com os picos da clozapina pura, (Figura 25 lote 4303), sugerindo diminuição da cristalinidade ou que pequenas quantidades do fármaco se mantêm na forma de cristal dentro do comprimido provavelmente devido às operações unitárias durante o processo de fabricação do produto. (ALY, 2003); foi observado ainda decréscimo de temperatura, também visto por (GOWDA *et al.*, 2011; AGNIHOTRI *et al.*, 2004), sugerindo que esta mudança foi proveniente da quantidade de partículas pequenas, que aumenta a área superficial e cria um estado energético diferenciado, que leva a diminuição da temperatura de fusão.

A identificação do tipo de cristal é importante, apesar das alterações que podem ocorrer nas operações unitárias como: aquecimento mistura, além dos requisitos de qualidade: estabilidade, dissolução, biodisponibilidade, dureza entre outras; podendo ser todas influenciadas pela transformação do cristal, devendo ser considerada a probabilidade desta alteração durante a formulação (GASPAROTTO, 2005).

Tabela 11- Comparativo entre os dados calorimétricos das misturas binárias de clozapina e excipientes e das matérias primas puras obtidos em DSC, na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra	Pico de Desolvatação		T On set de Fusão da Clozapina		Faixa de Decomposição	
	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)	T (°C)	Entalpia (J/g)
Cloz-lactose	101,4	-5,07	185,5	-24,17	205-215	-14,18
	151,4	-69,65			212-224	-9,73
Cloz-amido	100,3	-4,32	185,9	-70,10	250-310	-100,0
Cloz-aerosil	96,4	-4,72	185,7	-82,57	260-378	-284,8
Cloz-talco	100,7	-4,24	185,6	-89,75	260-378	-255,4
Cloz-Est. Mg	99,5	-4,60	185,6	-74,24	300-378	-98,18
Lote 4182	97,9	-3,92	185,7	-88,75	259-353	-220,30
Lote 4292	100,5	-5,25	185,5	-67,43	273-354	-123,30
Lote 4303	100,8	-5,13	185,3	-92,70	261-374	-274,9
Lote 4336	101,4	-5,43	185,6	92,39	293-366	-136,4

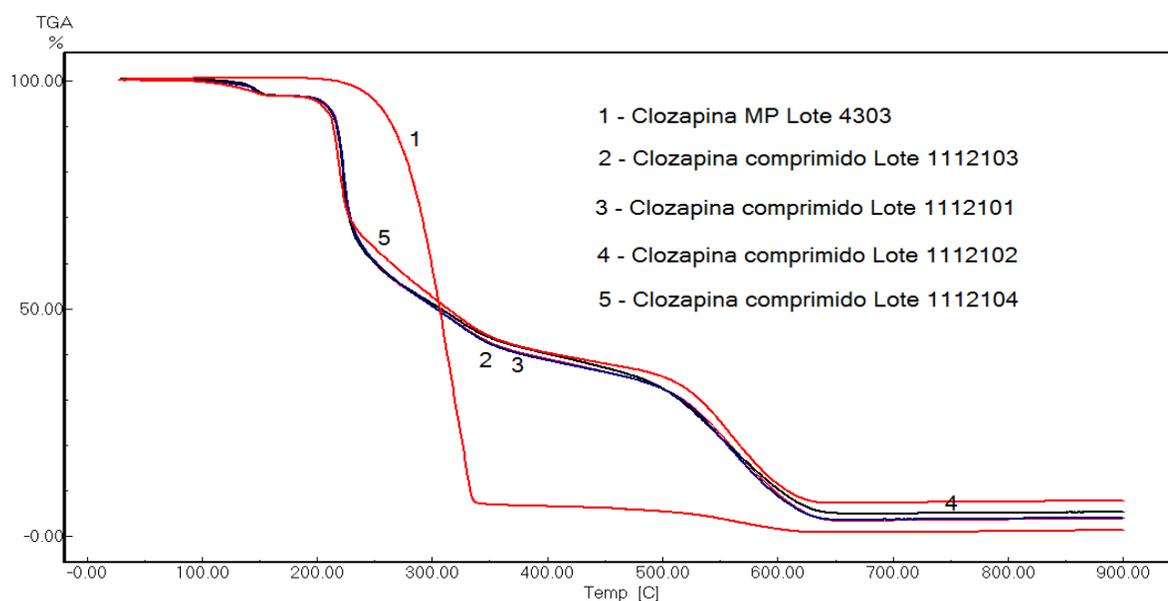
Fonte: Autora, 2013

Quando comparados os resultados dos comprimidos com os resultados das misturas binárias, pode-se inferir que há uma similaridade na execução dos eventos, respeitando-se as características individuais de cada excipiente em relação à faixa de decomposição, nas misturas binárias (Tabela 11).

5.2.2 Análise Termogravimétrica dos comprimidos de clozapina por (TGA)

Quatro lotes de clozapina, com fabricação de 5 meses, foram avaliados por (TGA) para obtenção das curvas termogravimétricas e comparação entre lotes.

Figura 26 – Curvas por TGA dos comprimidos de clozapina, na razão de aquecimento de 10°C/min.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 12 – Dados de decomposição térmica dos comprimidos de clozapina usando TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra	1ª Etapa de decomposição		2ª Etapa de decomposição		3ª Etapa de decomposição	
	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)
Cloz. 1112101	40-160	3,58	160-348	53,86	348-660	39,37
Cloz. 1112102	40-160	3,66	160-348	52,92	348-660	38,83
Cloz. 1112103	40-160	3,38	160-348	54,17	348-660	38,86
Cloz. 1112104	40-160	3,36	160-348	52,49	348-660	36,89

Fonte: Autora, 2013

Todos os lotes de comprimidos apresentaram um mesmo padrão de comportamento com curvas sobreponíveis e eventos dentro de um mesmo intervalo. A curva adotada é semelhante a da mistura binária clozapina:lactose e isto deve estar relacionado à quantidade de lactose presente no produto acabado em relação aos demais excipientes conforme visto anteriormente na mistura binária com esta substância (Figura 26 e Tabela 12).

Tabela 13 – Comparativo entre os dados termogravimétricos das misturas binárias de clozapina e excipientes e matérias primas puras obtidos em TG dinâmica na razão de aquecimento de 10°C/min.

Amostra de misturas binárias	1ª Etapa de decomposição		2ª Etapa de decomposição		3ª Etapa de decomposição	
	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)
Cloz-Lactose	40-160	3,32	160-348	51,75	348-660	43,81
Cloz-Amido	40-160	1,41	160-348	82,55	348-660	14,21
Cloz-Aerosil	40-160	0,14	160-348	67,31	348-660	26,07
Cloz-Talco	40-160	0,26	160-348	85,75	348-660	2,68
Cloz-Est. Mg	40-160	0,02	160-348	84,04	348-660	11,49

Amostra de fármacos	1ª Etapa de decomposição		2ª Etapa de decomposição		Resíduo mineral	
	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)	Faixa T (°C)	Perda de massa (%)
Lote. 4182	180-322	94,17	338-604	5,35	>604	0,48
Lote. 4292	180-338	92,64	338-628	6,44	>628	0,92
Lote. 4303	180-338	93,14	338-628	6,46	>628	0,40
Lote. 4336	180-338	91,54	338-628	7,66	>628	0,80

Fonte: Autora, 2013

A perda de massa no produto acabado foi fracionada havendo um retardo na decomposição dos produtos, aspecto este diferente do encontrado quando das análises dos fármacos isolados; a perda foi acentuada na primeira etapa de decomposição (Tabela 13).

Já em relação às misturas binárias, observou-se um padrão semelhante quanto à manutenção destas massas, na segunda e terceira etapas. Esta semelhança sugere que há uma proteção dos excipientes que são responsáveis por retardar a decomposição do fármaco, podendo resultar em uma melhor estabilidade do produto.

5.2.3 Perfil de Dissolução dos Comprimidos de Clozapina com 5 meses de Fabricação

Tabela 14 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução

Tempo (minutos)	Lote Referência (%)	Lote 101 (%)	Lote 102 (%)	Lote 103 (%)	Lote 104 (%)
3,0	92,51	87,42	80,05	80,18	77,37
7,0	96,52	96,68	96,34	93,65	93,51
10,0	98,08	98,22	98,67	94,16	95,11
15,0	98,62	97,95	97,15	95,46	95,85
45,0	98,22	98,03	99,39	96,41	96,85
F2	-----	92,32	86,41	71,31	71,86

Fonte: Autora, 2013 (dados obtidos em sextuplicata (método adaptado para o estudo))

Quando confrontados os resultados obtidos após perfil de dissolução dos quatro lotes de comprimidos em estudo, frente ao lote referência (Tabela 14 e Figura 27), observou-se atendimento a (RDC de 31 de agosto de 2010) que (“Dispõe sobre a realização de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo”) e que especifica que produtos de liberação imediata, com dissolução média de no mínimo 85% de substância ativa em 15 minutos, são considerados de dissolução muito rápida, ficando isentos da necessidade do cálculo de similaridade entre as fórmulas (F2) (Tabela 14), devendo ser representada esta dissolução, pelo gráfico da curva conforme (Figura 27).

O teste F2 que “corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis” (BRASIL, 2003); é o teste aceito para comprovação de similaridade entre fórmulas. O teste foi executado apenas como estudo, conforme (Fórmula 1); utilizando-se para seu cálculo os cinco pontos da coleta. Os resultados obtidos estão

dentro do especificado 50 - 100 (RDC 31), traduzindo que os produtos dentro desta faixa, são considerados similares entre si.

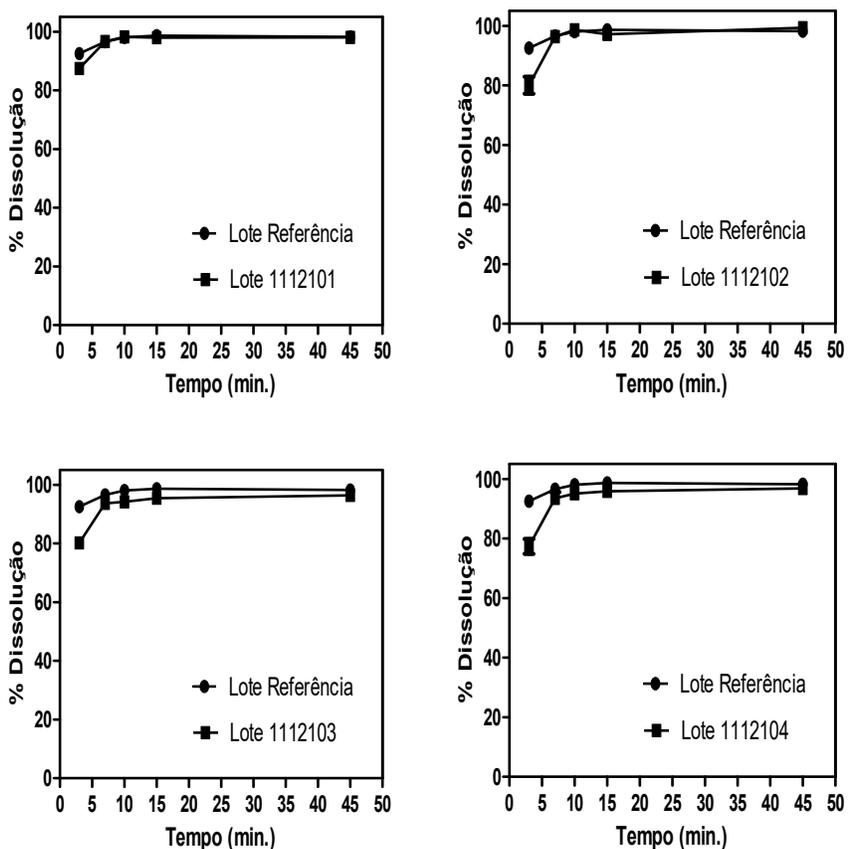
$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \frac{1}{n} \sum (\text{Referência} - \text{Medicamento teste})^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\}$$

$n = 5$ (tempos de coletas)

Fórmula 1 – cálculo para fator de similaridade entre formas farmacêutica sólidas

Fármacos desta categoria, liberação imediata, são considerados de primeira ordem, na qual a quantidade liberada do fármaco, em função do tempo, é dependente da quantidade de fármaco remanescente na formulação, o que é característico para os fármacos de liberação imediata (BORTOLUZI e LAPORTA, 2008).

Figura 27 – Perfil de dissolução comparativo entre o medicamento referência e os lotes de clozapina: 1112101, 1112102, 1112103 e 1112104



Fonte: Autora, 2013

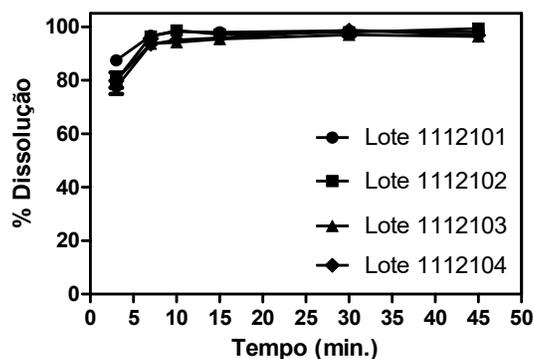
A fórmula estudada responde em menos da metade do tempo definido pela resolução, ou seja, aos 7 minutos, já atende satisfatoriamente em todos os lotes e no lote 101, já a partir dos 3 minutos (Figura 28).

O tempo de dissolução de um ponto, inscrito nas monografias do produto clozapina, representa o tempo máximo, dentro do qual a quantidade mínima do fármaco deve ser libertada da forma farmacêutica e dissolvida no tempo estabelecido para aquele ativo. A clozapina possui especificação de 45 minutos devendo liberar 85%. Para atendimento ao estágio 1 o valor deve ser acrescido de mais 5%; (Q+5%), ou seja, 90% (F. Bras.5 e USP 31). Todos os resultados obtidos estão em acordo com o estágio 1 sugerindo falta de variabilidade entre as fórmulas.

Este teste é de rotina na fabricação de comprimidos, para os fármacos que são caracterizados como altamente solúveis e os estudos comparativos, a exemplo do perfil de dissolução, auxiliam na isenção do estudo de bioequivalência para produtos contendo o mesmo fármaco em menor dosagem (BRASIL, 2010).

Tendo em vista que o processo de absorção de um fármaco pode ser modulado pela dissolução deste nos líquidos do trato gastrointestinal (SHARGEL e Yu, 1999), alguns fatores podem contribuir para alterar a liberação deste, da forma farmacêutica como: processo de obtenção do fármaco e suas propriedades físico-químicas, natureza dos excipientes que compõem a formulação e tecnologia de fabricação (STORPIRTS *et al*, 2004).

Figura 28 – Curva comparativa do perfil de dissolução entre os lotes de comprimidos de clozapina.

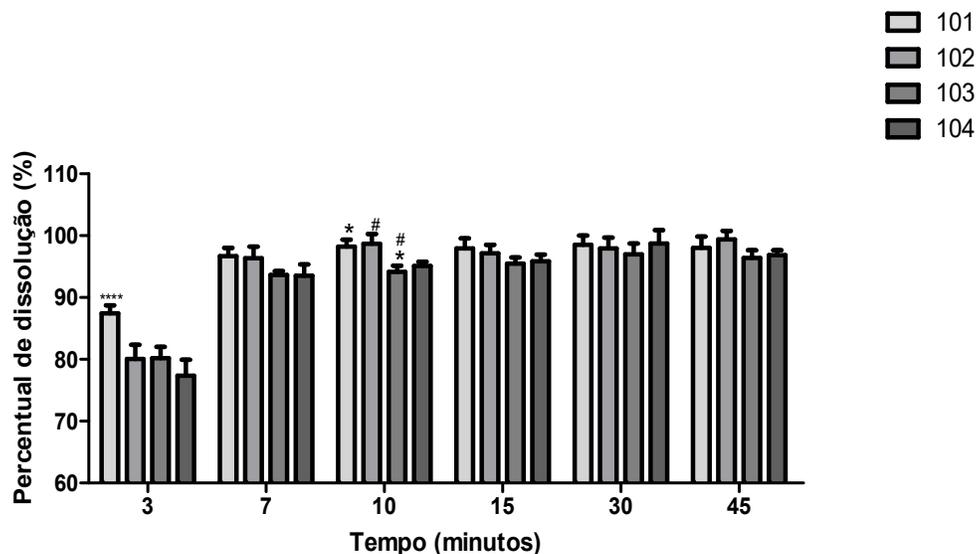


Fonte: Autora, 2013

Para confirmação da similaridade entre estes lotes demonstrada pelo fator 2, foi realizado o tratamento dos dados através de Two Way ANOVA (Figura 29), com o intuito de verificar maior detalhamento nas informações quanto a variabilidade deste processo entre os dados obtidos durante a liberação do ativo nos lotes estudados.

Quando comparados os lotes em todos os intervalos de coletas, foi revelado que no tempo de 3 minutos o lote 101 teve uma diferença acentuada de liberação do fármaco em relação aos demais lotes. No tempo de 10 minutos esta diferença foi novamente observada desta vez com diferenças mais sutis, entre o lote 101 e 103 e na mesma proporção entre o lote 102 e 103 também aos 10 minutos. A partir dos 15 minutos de coleta não foram mais detectadas diferenças significativas, confirmando que nos tempos de 15 minutos previsto na resolução o de 45 minutos pela Farmacopéia o produto responde de maneira satisfatória.

Figura 29 – Avaliação dos lotes de comprimidos por ANOVA em seis tempos de coleta



Fonte: Autora, 2013

5.2.4 Perfil de Dissolução dos Comprimidos de Clozapina para Avaliação de Cumprimento do Prazo de Validade Estendido

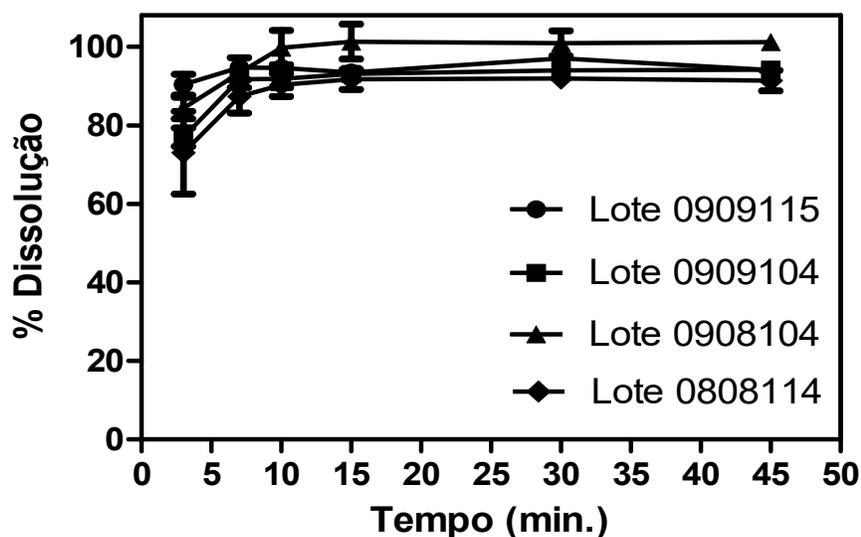
Quatro lotes de clozapina foram submetidos à análise de perfil de dissolução para verificar as concentrações dos produtos após prazo de validade e reprodutibilidade deste eventos durante o teste (Tabela 15) e (Figura 30).

Tabela 15 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução, para avaliação de validade.

Tempo (minutos)	Lote 0909115 (%) 36 meses	Lote 0909104 (%) 36 meses	Lote 0908104 (%) 37 meses	Lote 0808114 (%) 48 meses
3,0	90,36	76,98	84,41	73,01
7,0	94,74	91,77	93,40	87,33
10,0	94,67	91,89	99,80	90,29
15,0	93,49	93,08	101,33	91,72
30,0	97,05	94,00	100,91	91,98
45,0	94,07	94,20	101,16	91,38

Fonte: Autora, 2013

Figura 30 – Perfil de dissolução comparativo entre os lotes: 0909115, 0909104 e 0908104, 0808114, após prazo de validade estimado do produto.



Fonte: Autora, 2013

Tabela 16 – Concentrações médias de clozapina obtidas durante perfil de dissolução dos lotes com prazo de validade vencido, em comparação ao produto referência

Tempo (minutos)	Lote Referência (%)	Lote 0909115 (%)	Lote 0909104 (%)	Lote 0908104 (%)	Lote 0808114 (%)
3,0	92,51	90,36	76,98	84,41	73,01
7,0	96,52	94,74	91,77	93,40	87,33
10,0	98,08	94,67	91,89	99,80	90,29
15,0	98,62	93,49	93,08	101,33	91,72
45,0	98,22	94,07	94,20	101,16	91,38

Fonte: Autora, 2013 (dados obtidos em sextuplicata)

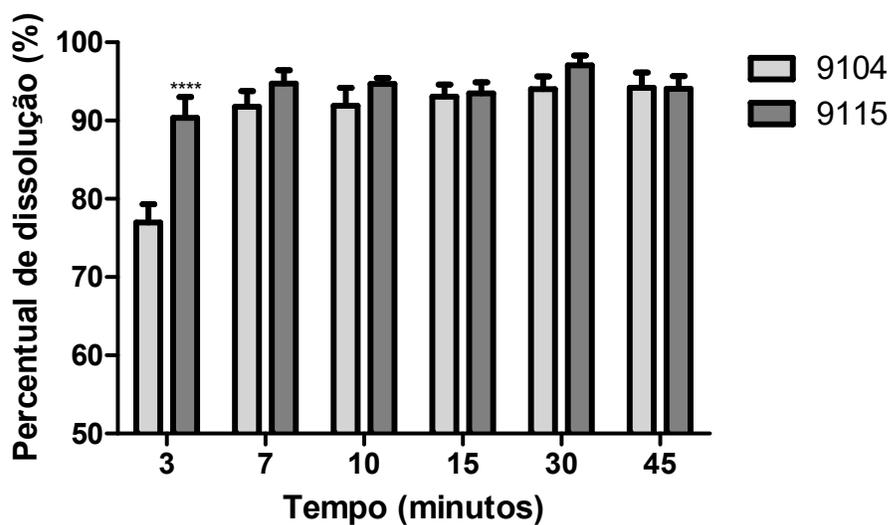
As substâncias podem sofrer transformações durante a moagem, na granulação, os excipientes também podem acelerar transformações durante a mistura na fabricação dos comprimidos. Os métodos têm sido desenvolvidos e validados com base nos estudos de desenvolvimento, das especificações dos fármacos, excipientes e produto acabado. Várias mudanças ocorrem durante o processo de armazenamento, algumas devido ao stress mecânico, a temperatura, mistura entre outros. Um estudo apropriado deve ser desenvolvido e adequado para os métodos a serem usados. (GIRON, 2002).

Quando testados comprimidos de clozapina que cumpriram estabilidade de longa duração, com (36, 37 e 48 meses), estudos estes realizados durante ou opcionalmente após o prazo de validade, (BRASIL, 2005), em comparação com os lotes ainda em validade (Tabela 14), foi observado que os de validade estendida (Tabela 16) ainda estão em acordo com as monografias: (F. Bras.5ª, USP 31), que preconizam que no tempo de 45 minutos (dissolução de um ponto), a forma farmacêutica deve liberar 85%.

O prazo de validade de um produto é o tempo necessário para que a atividade farmacológica de um fármaco decline a níveis inaceitáveis, como este valor depende do próprio fármaco, não existem especificações gerais, sendo aceito uma decomposição de 10% como um limite aceitável desde que os produtos de decomposição não sejam tóxicos (THOMAS, 2003). Estes dados também apoiam os estudos de compatibilidade farmacêutica da fórmula, quanto às concentrações liberadas do fármaco nos vários tempos estudados.

No intuito de uma avaliação mais discriminatória nas informações geradas, quanto a reprodutibilidade dos resultados entre os lotes de terminal 09115 e 09104, que possuíam o mesmo tempo de fabricação, os mesmos foram submetidos a Two Way ANOVA e Bonferroni e interpretados como não tendo diferença significativa entre eles a partir da coleta aos sete minutos (Figura 31).

Figura 31 – Gráfico dos lotes de comprimidos 9104 e 9115 por ANOVA



Fonte: Autora, 2013

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, pode-se concluir que:

- As matérias primas possuem uma qualidade reprodutível e com pouca variabilidade entre os parâmetros de qualidade estudados.
- Os ensaios de dissolução intrínseca responderam de forma satisfatória e serviram para estabelecer especificação de qualidade das matérias-primas de clozapina.
- As análises térmicas indicam que não há polimorfismo/pseudo-polimorfismo nas matérias-primas de clozapina quando comparadas à clozapina submetida a processo de recristalização. Os produtos acabados (Lotes de clozapina) não apresentaram incompatibilidade fármaco-excipientes nas formulações estudadas, podendo ser desenvolvido o produto com a dosagem de 25 mg.
- Os dados de perfil de dissolução e análise f2 dos lotes de comprimido de clozapina demonstram equivalência farmacêutica quando confrontados com o medicamento referência (Leponex 100mg).
- A avaliação da compatibilidade de clozapina através do perfil de dissolução corrobora com os estudos de compatibilidade (TG/DSC) demonstrando que a formulação padronizada de clozapina não apresenta excipientes que diminuam a estabilidade do produto final.

AGNIHOTRI, S.A.; AMINABHAVI, T.M. Controlled Release of Clozapine Through Chitosan Microparticles Prepared by a Novel Method. **Journal of Controlled Release** n. 96, p. 245 – 259, 2004.

AHAD, H.A. et al. Novel Approach in Designing of Mouth Dissolving Tablets for Bitter Drugs: Taking Clozapine as Model Drug. **Der Pharmacia Lettre**, v.1, n. 3, p. 113-120, 2011.

ALY, A.M; QATO, M.K; AHMAD, M.O. Aumento da Taxa de Dissolução e a Biodisponibilidade da Glipzida - Através da formação de complexos de inclusão com ciclodextrinas. **Pharmaceutical Technology**, v.7, n. 5, p. 42-50, 2003.

ANDREI, C.C; FACCIONE, M. **Da Química Medicinal à Química Combinatória e Modelagem Molecular**: um curso prático. São Paulo: Editora Manole Ltda, cap. 4, 2003. 154p.

ANSEL, H.C; POPOVICH, N.G; ALLEN L.V Jr. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. Porto Alegre: Artmed, 2007.

AULTON, M. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Porto Alegre: Artmed, 2005.675p.

BARBOSA^a, J; PEREIRA, B.G.; FIALHO, S.L. Ferramentas para Avaliação da Qualidade das Matérias-primas. **Controle de Contaminação**, p. 56-75, 2009.

BARBOSA^b, F.T. **ABC da Bioestatística**. Maceió: Edufal, 2009.

BARROCO, R. Sistemas de Qualidade: uma oportunidade estratégica. **Fármacos e Medicamentos**, n. 47, p. 26-30, 2007.

BERGER, C.M. et al. Miniaturized Intrinsic Dissolution Rate (Mini-IDR™) Measurement of Griseofulvin and Carbamazepine. **Dissolution Technologies**, p. 39-41, 2007.

BERNAL, C; COUTO, A; BREVIGLIERI, S; CAVALHEIRO, T. Influência de Alguns Parâmetros Experimentais nos Resultados de Análises Calorimétricas Diferenciais-DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BORTOLUZI, P.; LAPORTA, L.V. Equivalência Farmacêutica e Estudo Comparativo dos 2 Perfis de Dissolução de Medicamentos Contendo Cimetidina. **Disc. Scientia**. Série: Ciências da Saúde, Santa Maria, v. 8, n. 1, p. 21-38, 2008.

BOTET, J. **Boas Práticas em Instalações e Projetos Farmacêuticos**. São Paulo: RCN Editora, 2006.

BRASIL, ANVISA, Resolução RE n.1. Autoriza ad referendum, a publicação do Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. **DOU, 01 de agosto de 2005**.

BRASIL, ANVISA, Resolução RDC n. 31. Dispõe sobre a realização dos Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo. p. 36 a 38. **DOU, 12 de agosto de 2010**.

BRASIL, Farmacopéia Brasileira 5ª Edição. Brasília: **DOU, 24 de novembro de 2010**, v.2, 2010

BRASIL, ANVISA, RE n. 901 de 29 de maio de 2003 – Guia para Ensaio de Dissolução de Formas Farmacêuticas Sólidas Orais de Liberação Imediata (FFSOLI), **DOU, 02. de julho de 2003**.

BRASIL_a Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada n. 17 de 16 de abril de 2010. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos, **DOU 19 de abril de 2010**.

BRASIL. Ministério da Saúde, PORTARIA 2981 de 26 de novembro de 2009. Aprova o Componente Especializado da Assistência Farmacêutica, **DOU 30 de novembro de 2009**.

BRASIL_b. Ministério da Saúde, PORTARIA 3128 de 14 de outubro de 2010. Estabelece o Processo de Aquisição Centralizada pelo Ministério da Saúde, do medicamento clozapina de 25 mg e 100 mg, comprimido, do Componente Especializado da Assistência Farmacêutica, **DOU 15 de outubro de 2010**.

BRASIL. Ministério da Saúde, Política Nacional de Medicamentos, série C, Projetos, Programas e Relatórios, n. 25. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

CALLIGARIS, D. Qualificação de Insumos Farmacêuticos. Disponível em: <<http://www.racine.com.br/>>. Acesso em: 27 de outubro de 2012.

CHIARELLO, K.E. A Indústria Avança na Direção da Produção de API Ambientalmente Mais Adequados. **Pharmaceutical Technology**. Edição Brasileira, v. 10, n. 1, 2005.

CHIENGA, N. An overview of recent studies on the analysis of pharmaceutical polymorphs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n. 55, p. 618–644, 2011.

CLOZAPINA . In: INDEX - Mercosul: Abiquif, 28ª edição, p.41, 2009.

CLOZAPINA . In: KOROLKOVAS, A. **Dicionário Terapêutico Guanabara**. Rio de Janeiro: G. Koogan S.A, p. 37, 2003.

COSTA, J. Avaliação do Setor Produtivo Farmoquímico Nacional. **Facto Abifina**, Edição n. 11, 2008.

DE LUCIA, R; ALVES, C.R; SILVA, M.T. **Farmacologia Integrada**: Rio de Janeiro: Revinter, 2004. 678p.

DELSIN, R. O Poder da Qualificação Profissional. **Fármacos e Medicamentos** n. 38, 2006.

DEVI, A.S. et al. Solid States Characterization of Clozapine monohydrate. **Structural Chemistry Communications**, v 2, n. 2, p. 101-104, 2011.

DIAS, F.N; et al. Produção Enxuta e Boas Práticas de Fabricação. **Fármacos e Medicamentos**. n. 48, p. 44-50, 2007.

EDWARDS, A. Sistemas de Qualidade para Medicamentos e Produtos Biológicos. **Pharmaceutical Technology** - Edição Brasileira - v. 12, n. 3, p. 22, 2008.

FARIA, T.J. **Da Química Medicinal à Química Combinatória e Modelagem Molecular: um curso prático**, São Paulo: Editora Manole Ltda, 2003.

Farmacopeia Portuguesa VII: **edição oficial**. 2002. Lisboa: Imprensa Nacional de Lisboa, p. 1298, 2002.

FEMIA, D. Tecnologia Analítica de Processamentos: confiabilidade em tempo real. **Pharmaceutical Technology**, v. 10, n. 1, p. 54-58, 2006.

FILHO, R.O.C et al. Stability studies on nifedipine tablets using thermogravimetry and differential scanning calorimetry. **J Therm Anal Calorim**, n. 97, p. 343–347, 2009.

FREIRE, F.D et al. Compatibility study between chlorpropamide and excipients in their physical mixtures. **J Therm Anal Calorim**, . n.97, p. 355–357, 2009.

FULIAS, A. et al. Physico-chemical solid-state characterization of pharmaceutical pyrazolones: An unexpected thermal behavior. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 81, n. 82, p. 44– 49, 2013.

GASPAROTTO, F.S. **Fatores Relacionados à Síntese de Matérias Primas que podem Alterar a Biodisponibilidade do Medicamento Genérico**. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. RS, 2005.

GHUAREA, P. et al. Solid state investigation and characterization of the polymorphic and pseudopolymorphic forms of indapamide. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, n.51, p. 532–540, 2010.

GIRON, D. Applications of Thermal Analysis and Coupled Techniques in Pharmaceutical Industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, p. 335-357, 2002.

GIRON, D. Investigations of Polymorphism and Pseudo-Polymorphism in Pharmaceuticals by Combined Thermoanalytical Techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 64, p. 37-60, 2001.

GIRON, D.; GOLDBRONN, C. Use of DSC and TG for Identification and Quantification of Form. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 48, p. 478-483, 1997.

GOODMAN, A.; GILMAN **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. Porto Alegre: AMGH, 2010. 1844p.

GOWDA, D.V. et al. Development and Evaluation of Clozapine Pellets for controlled Release. **International Journal of Researching**, jul-au, 2012.

GOWDA, D.V. et al. Encapsulation of Clozapine into Beeswax Microspheres: Preparation, Characterization and Release Kinetics. **International Journal of Pharm Tech Research**, v.3, n. 4 p. 2199-2207, 2011.

KHAN, M.S et al. Preparation and Evaluation of Spray Dried Microparticles Using Chitosan and Novel Chitosan Derivative For Controlled Release of an Antipsychotic Drugs. **International Journal of Biological and Pharmaceutical Research**, v.1, n.3, p.113-121, 2012.

LAVOR, E.P et al. Application of thermal analysis to the study of antituberculosis drugs–excipient compatibility. **J Therm Anal Calorim**, Published online: 19 march 2013.

LEE, T.; KUO, C.S. Efeitos do Tamanho Médio Inicial das Partículas na Compressão. Edição Brasileira – Sólidos **Pharmaceutical Technology**, p. 4-14 2006.

LEMOS, A.L. Generalidade das Análise Térmica. **Cetea Informativo ITAL** v. 15, n. 3, 2003.

LIEVORE, C.; CARVALHO, H.G. Avaliação de Fatores Motivacionais para Facilitar Implantação de Sistemas da Qualidade. **Controle de Contaminação** n. 88 p. 29-32, 2006.

MANNHEIMER, W.A. **Microscopia dos Materiais: uma introdução**. Rio Janeiro: E-papers Serviços Editoriais, 2002.

MATOS, J. et al. **Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos**. In: Biofarmacotécnica Rio De Janeiro: G. Koogan, cap. 4, 2009.

MAUGER, J. et al. D. Intrinsic Dissolution Performance Testing of the USP Dissolution Apparatus 2 (Rotating Paddle) Using Modified Salicylic Acid Calibrator Tablets: proof of principle. **Dissolution Technologies**. p. 6-15, 2003.

MAXIMIANO, F.P et al. Caracterização Físico –química do Fármaco Antichagásico Benzinidazol. **Quim. Nova**, v. 33, n. 8, 1714-1719, 2010.

MEDEIROS, A.F.D et al. Thermal Stability of paracetamol and its pre-formulates obtained by spray drying. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 88, n. 2, 377–382, 2007.

MOREIRA, G.F. et al. Edição Metrologia Aplicação da Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) para Determinação da Pureza de Fármacos. **Produto & Produção**, v. 11, n. 1, p. 22 – 29, 2010.

MOREIRA, R.F. Farmacotécnica de Formas Farmacêuticas Sólidas. **Fármacos e Medicamentos**, n. 47, 2007.

MORETTO, L. GMP Através do Mundo: origem, evolução e agentes promotores de processo de harmonização. **Fármacos e Medicamentos**, n. 52, 2008.

MORETTO, S.; ALBUQUERQUE, C. Controle da Qualidade: Importância do Ensaio Aspecto na Avaliação da Qualidade do Ativo Farmacêutico. **Fármacos e Medicamentos** n. 56, p.44, 2009.

NASCIMENTO, A. Bom acabamento diminui risco de contaminação em salas limpas. **Controle de Contaminação** n. 141, 2011.

NASCIMENTO, T.G et al. Characterization of the Indinavir raw in some Pharmaceutical Processes. **J. Therm Anal Calorim.** n.102, p. 269-275, 2010

OLIVEIRA, M; YOSHIDA, M.I; GOMES, E.C. Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Formulações Farmacêuticas na Indústria Farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

POLLI, J.E; CHUASUWAN, B; ZHANG, H. Surfactant - Mediated Solubility and Dissolution Enhancement of Clozapine, a BCS Class 2 Drug Without Food Effects. **Annual Meeting and Exposition Online Itinerary – Web Conference Charger.** 2008.

RANG, H.P.; DALE, M.M. **Farmacologia.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.

RAUT, D.M. et al. Dehydration of Lactose Monohydrate: Analytical and Physical Characterization. **Der Pharmacia Lettre**, v. 5, n.3, p. 202-212, 2011.

RIOS, M. Requisitos sobre solventes residuais da USP. **Pharmaceutical Technology** . Edição Brasileira – v. 12, n. 3 p. 06-14, 2008.

RODRIGUES, P.O. et al. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 27 n. 4, p. 528-534, 2008.

ROSA, M.F.; VILHENA, R.O. Dissolução Intrínseca: Conceito e Aplicações na Indústria Farmacêutica. **Revista Eletrônica de Farmácia** v. IX , n.1, p. 49-61, 2012.

ROSSI, M.L.S. Qualificação de Fornecedores: que ganho real representa para a indústria farmacêutica? **Fármacos e Medicamentos** n. 27, 2004.

ROWE, R.C; SHESKEY, P.J; WELLEN, P.J. **Handbook of Excipients.** Chicago, USA: Pharmaceutical Press, 2003.

SANTOS A.F et al. Application of thermal analysis of binary mixtures with metformin. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 93, n. 2, p 361–364, 2008.

SAUSEN, T.R. **Desenvolvimento de Comprimidos de Clozapina Obtidos pelo Método de Compressão Direta.** 2007. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul. RS, 2007.

SHAH, R.B; KHAN, M.A. Uma Evolução do Papel do FDA no Asseguramento da Qualidade dos Produtos. **Pharmaceutical Technology**, v. 11, n. 5, 2007.

SHARGEL, L.; YU, A.B.C. **Applied Biopharmaceutical and Pharmacokinetics**. Stamford: Appleton & Lange, 1999. 768p,

STAVIRIDIS, R.P. Sistema da Qualidade e Auditorias. **Controle de Contaminação**, n. 160, p. 24-25, 2012.

STORPIRTS, S.; GONÇALVES, J.E.; CHIAN, C.; GAI, M.N. **Biofarmacotécnica**. Rio de Janeiro: G. Koogan, 2009.

The United States Pharmacopoeia 31th ed. Rockville, USA: **United States Pharmacopeial Convention**, p. 1833-1834, 2008.

THOMAS, G. **Química Medicinal: uma introdução**. Rio de Janeiro: G. Koogan, 2003. 413p.

VIEGAS, T et al. Measurement of Intrinsic Drug Dissolution Rates Using Two Types of Apparatus. **Pharmaceutical Technology**, p. 44-53, 2001.

WECHSLER, J. A Indústria e os Reguladores Decidem Adotar Padrões de Qualidade. **Pharmaceutical Technology**, n. 5, 2007.