

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

MONALISA BITENCOURT DA SILVA

**ESTUDO ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICO DE FORMAS SÓLIDAS DA
BUCLIZINA**

Alfenas/MG

2019

MONALISA BITENCOURT DA SILVA

ESTUDO ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICO DE FORMAS SÓLIDAS DA BUCLIZINA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas como requisito para obtenção do título de mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Área de Concentração: Ciências Farmacêuticas.
Linha de Pesquisa: Desenvolvimento e avaliação de fármacos, medicamentos e cosméticos.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Carlos Doriguetto

Co-orientadora: Dra Olímpia Maria M. S. Viana

Alfenas/MG

2019

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central – Campus Sede

Silva, Monalisa Bitencourt da.

S586e Estudo estrutural e físico-químico de formas sólidas da buclizina /
Monalisa Bitencourt da Silva. -- Alfenas/MG, 2019.
101 f. : il. –

Orientador: Antonio Carlos Doriguetto.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal
de Alfenas, 2019.

Bibliografia.

1. Antagonistas dos Receptores Histamínicos - química. 2. Dissolução -
métodos. 3. Solubilidade - efeitos dos fármacos. 4. Estabilidade de
Medicamentos. I. Doriguetto, Antonio Carlos. II. Título.

CDD 615.19

Ficha Catalográfica elaborada por Ronan Lázaro Gondim

Bibliotecário-Documentalista CRB-6/2504

MONALISA BITENCOURT DA SILVA

**“ESTUDO ESTRUTURAL E FÍSICO-QUÍMICO DE FORMAS SÓLIDAS DA
BUCLIZINA”**

A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 03/05/2019

Prof. Dr. Antonio Carlos Doriguetto
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Prof. Dr. Felipe Terra Martins
Instituição: UFG

Assinatura: Felipe Terra Martins

Prof. Dr. Rudy Bonfilio
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Dedico ao Leandro, meu grande amor e porto seguro. Seu amor, carinho e compreensão são o que me motiva a seguir em frente.

Dedico também ao meu pai, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando incondicionalmente. Você sempre será meu maior mestre e exemplo de vida. Sinto a sua falta todos os dias.

AGRADECIMENTOS

À Deus, pelo dom da vida, por me fornecer saúde, força e paciência para superar todos os obstáculos e também pela oportunidade de conviver com tantas pessoas especiais.

Ao Leandro, pela amizade, companheirismo, amor e pelo apoio incondicional. Sem você, a realização desse projeto jamais teria sido possível. Amo você!

Aos meus pais Rosa e Osvaldo que nunca mediram esforços para me propiciar uma vida melhor. Muito obrigada pela dedicação, carinho e incentivo aos estudos. Mãe e pai, vocês sempre estarão no meu coração, sinto muito orgulho de vocês e desejo que estejam bem e em paz.

Ao meu irmão Rosivaldo, a todos os meus tios, primos e amigos pela convivência, amizade e por compreenderem a minha ausência.

Gratidão em especial aos meus amigos de longa data André e Olímpia Viana, pais da mocinha mais bonita e inteligente de Alfenas: Maria Luiza. Vocês estiveram presentes durante toda essa etapa, sempre me incentivando e me amparando com palavras e atitudes de amizade, carinho e respeito.

Agradeço em especial, à Nicole, pela sua amizade verdadeira, carinho, lealdade e pelos momentos de descontração e alegria.

Aos meus eternos professores e amigos, que não são só exemplos de sabedoria, mas também de amizade, integridade e que também me apoiaram muito, desde a graduação, a realizar esse sonho: Hêber Sebastião de Carvalho e a professora mais especial de cosmetologia de todo o mundo: Helenice Aparecida de Carvalho.

As minhas amigas e companheiras de república: Maya e Mari, muito obrigada pela convivência agradável e por dividirem tantos momentos de angústia, alegria e de companheirismo durante o período da pós-graduação.

Aos amigos que o mestrado me deu: Jennifer Jacon, Marcia Paranho, Cristiane Cabral e André Victor por me propiciarem momentos de alegria regados a cafés, cervejas e rock in roll, mas acima de tudo, de muito aprendizado

Ao meu orientador Dr. Antônio Carlos Doriguetto, um profissional exemplar e admirável. Muito obrigada pela sua confiança, dedicação e por ter aceitado me orientar. Meu aprendizado com você sempre foi constante. Você sempre me motivou a buscar a excelência no meu trabalho, mas sempre respeitando meus limites como ser humano.

À UNIFAL e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade oferecida. Sinto uma satisfação imensa por ser aluna dessa Instituição.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - financiamento 001 - pelo apoio financeiro e pela possibilidade de realizar esse mestrado.

Aos Laboratórios: LABIQ, LACFar, NCQ, Tecnologia Farmacêutica da UNIFAL e Cristalografia da UFJF pelas análises realizadas e preparo das formulações.

Aos professores Dr. Rudy Bonfilio e Dra. Gislaíne Ribeiro Pereira pelas considerações e discussões realizadas durante o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos do laboratório Núcleo Controle de Qualidade da Universidade Federal de Alfenas pelo suporte oferecido e inúmeras tardes prazerosas.

Aos meus amigos da Sanofi-Suzano-SP, por toda ajuda e companheirismo.

Aos funcionários da Novartis Pharmanalytica, em especial ao Erik Respini, Simona Beretta, Leandro Checchinato, Emanuela Piga, Marco Trucco e toda equipe do AS&T pelo suporte oferecido e por permitir que eu executasse parte dos meus experimentos no site de Locarno – Suíça.

RESUMO

A busca por Ingredientes Farmaceuticamente Ativos (IFA), de maior solubilidade, tem motivado vários estudos envolvendo Engenharia de Cristais de moléculas de fármacos. Aproximadamente, metade das formulações sólidas possui o IFA em forma de sal devido à baixa solubilidade normalmente apresentada pelos seus ácidos e bases livres. Nesse contexto, o fármaco de estudo dessa dissertação é a Buclizina (BCZ), detentor de atividades anti-histamínicas, antimuscarínicas, antieméticas e orexígenas. A presença do anel piperazínico em sua estrutura química possibilita à BCZ apresentar-se em solução ou no estado sólido como espécie neutra (BCZ base livre), monoácida (BCZH⁺) ou diácida (BCZH₂²⁺). Apesar de ter sido lançada no mercado há mais de 60 anos como o sal cloreto de sua espécie diácida (BCZH₂Cl₂), não há até o momento estrutura determinada para nenhuma forma sólida da BCZ; e nem classificação no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), sendo apenas referido como um IFA de baixa solubilidade. Portanto, o objetivo deste trabalho consistiu em elucidar a estrutura cristalina do BCZH₂Cl₂, bem como de outras variações cristalinas da BCZ, incluindo sua forma monocomponente (base livre anidra) e outras formas multicomponentes (sais, cocrists, hidratos/solvatos) e seus polimorfos; e correlacionar as estruturas das formas obtidas com propriedades de interesse farmacêutico, como solubilidade, perfil de dissolução e estabilidade. Como resultados, conseguiu-se obter três variações sólidas pH-dependente da BCZ: a BCZ base livre (BCZ-BL), o monocloridrato de BCZ (BCZHCl) e o dicloridrato de BCZ (BCZH₂Cl₂). As três formas foram sistematicamente caracterizadas por meio das técnicas de difração de raios X por policristais, espectrofotometria na região do infravermelho e análises térmicas (calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria). Além disso, as estruturas do BCZHCl e do BCZH₂Cl₂ foram determinadas utilizando a técnica de difração de raios X por monocristais. Os resultados da determinação cristalográfica permitiram concluir que os dois sais obtidos cristalizam-se como mistura física de seus isômeros óticos R e S e não como cristais racêmicos. Comprimidos contendo a BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂ foram produzidos individualmente e sua qualidade foi verificada pelos testes de dureza, friabilidade, peso médio, doseamento e uniformidade. Para a quantificação da BCZ nos ensaios de pureza, estabilidade, solubilidade e perfil de dissolução, utilizou-se um método de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), previamente desenvolvido e que foi validado parcialmente nessa dissertação. Os ensaios de solubilidade em equilíbrio em água ultrapura e tampão pH 4,5 demonstraram que o BCZH₂Cl₂ é mais solúvel do que o BCZHCl, seguidos pela BCZ-BL. Um ordem inversa foi observada nos meios HCl 0,1 e 0,01 mol.L⁻¹. Acima de pH 4,5 todas as formas são insolúveis. Os perfis de dissolução realizados em tampão pH 4,5 + 1,0 % lauril sulfato de sódio demonstraram diferenças entre as formulações. O estudo de estabilidade realizada a 40 °C e 75% de umidade relativa demonstrou que o teor de BCZ nos comprimidos contendo as diferentes formas cristalinas preparadas nesse trabalho se mantiveram estáveis.

Palavras-chave: Buclizina. Determinação estrutural. Caracterização. Solubilidade. Estabilidade. Perfil de dissolução.

ABSTRACT

The search for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs) with greater solubility has motivated several studies involving Crystal Engineering of drug molecules. Approximately half of the solid formulations have the API in salt form due to the low solubility that their free acids and bases normally exhibits. In this context, the studied drug in this dissertation is Buclizine (BCZ), which has antihistaminic, antimuscarinic, antiemetic and orexigenic activities. The presence of the piperazine ring in its chemical structure allows the BCZ to be present in solution or in the solid state as neutral species (BCZ free base), monoacid (BCZH⁺) or diacid (BCZH₂²⁺). Although it has been marketed for more than 60 years as the chloride salt of its diacid species (BCZH₂Cl₂). There is so far no determined structure for any solid form of BCZ; and neither classification in the Biopharmaceutical Classification System (BCS), being the BCZ only referred as a low solubility API. Therefore, the objective of this work was to elucidate the crystalline structure of BCZH₂Cl₂, as well as other crystalline variations of BCZ, including its monocomponent form (anhydrous free base), multicomponent forms (salts, cocrystals, hydrates / solvates) and polymorphs. Additionally, we aimed to correlate the structures of the forms obtained with properties of pharmaceutical interest, such as solubility, dissolution profile and stability. Three solid pH-dependent variations of BCZ were obtained: the free base BCZ (BCZ-FB), the BCZ monohydrochloride (BCZHCl) and the BCZ dihydrochloride (BCZH₂Cl₂). The three forms were systematically characterized by Powder X-ray diffraction (PXRD), Infrared spectroscopy (IR), Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA) techniques. Moreover, the structures of BCZHCl and BCZH₂Cl₂ were determined using the Single crystal X-ray diffraction technique (SCXRD). The results of the crystallographic determination allowed to conclude that the two salts obtained crystallize as a physical mixture of their optical isomers R and S and not as racemic crystals. Tablets containing BCZ-BL, BCZHCl and BCZH₂Cl₂ were individually produced and their quality was evaluated according the hardness, friability, average weight, assay and uniformity. For the quantification of BCZ in the assays of uniformity, stability, solubility and dissolution profile, were used a previously developed high performance liquid chromatography (HPLC) method partially validated in this dissertation. The solubility equilibrium in ultrapure water and pH 4.5 buffer showed that BCZH₂Cl₂ is more soluble than BCZHCl, followed by BCZ-FB, reversing the trend observed in the media HCl 0.1 and 0.01 mol L⁻¹. Above pH 4.5, all the forms were insoluble. Dissolution profiles performed in acetate buffer pH 4.5 + 1.0% sodium lauryl sulfate showed differences between the formulations. The stability study carried out at 40 ° C and 75% relative humidity showed that the content of BCZ in the tablets, with the different crystalline forms prepared in this work, remained stable.

Key-words: Buclizine. Structural determination. Characterization. Solubility. Stability. Dissolution profile.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Esquema químico das espécies catiônica e base livre da Buclizina.....	16
Figura 2	- Estrutura química dos isômeros R e S da BCZ.O carbono assimétrico é destacado por um asterisco.....	51
Figura 3	- Representação esquemática das possibilidades de cristalização de uma solução contendo uma mistura racêmica.....	51
Figura 4	- Representação ORTEP criada pelo programa Mercury das unidades assimétricas das estruturas com elipsoides a 50% de probabilidade. O esquema de identificação de átomos (não-hidrogenoides) também é fornecido. A ligação de hidrogênio entre nitrogênios piperazínicos e o ânion cloreto é representada por linhas pontilhadas ciano.....	54
Figura 5	- Representação do empacotamento da forma (S)-BCZH ₂ Cl ₂ vista normal ao plano ab. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da figura. Os contra-íon Cl ⁻ estão representados como esferas de cor verde. As cores das moléculas de BCZ representam, arbitrariamente, as quatro moléculas geradas pelas operações de simetria (incluindo as transladadas) do grupo de espaço da estrutura.....	54
Figura 6	- Representação do empacotamento da forma (S)-BCZHCl vista normal ao plano bc. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da figura. Os contra-íon Cl ⁻ estão representados por esferas de cor verde. As cores das moléculas de BCZ representam arbitrariamente, as quatro moléculas geradas pelas operações de simetria (incluindo as transladadas) do grupo de espaço da estrutura.....	55
Figura 7	- Vista da cadeia 1D ao longo da direção [100] da estrutura do BCZHCl. As moléculas relacionadas à simetria são representadas nas cores branco e magenta. As esferas vermelhas são os centróides dos anéis fenólicos da molécula. As ligações de hidrogênio são representadas por linhas ciano tracejadas. Os átomos de H não participantes nas interações foram omitidos para maior clareza.....	56
Figura 8	- Visualização das interações inter-cadeias (linhas ciano tracejadas que atuam no agrupamento ao longo da direção [010]. As esferas vermelhas são centróides dos anéis fenólicos da droga. Para maior clareza, apenas os átomos de H envolvendo interações são mostrados.....	56
Figura 9	- Fragmento da rede 2D mostrando as ligações de hidrogênio não clássicas C-H ... π (linhas ciano tracejadas) em BCZHCl. Ct é	

	o centróide dos anéis fenólicos da molécula. Para maior clareza, apenas os átomos de H envolvendo interações são mostrados.....	57
Figura 10	- Vista parcial do empacotamento cristalino do BCZHCl. As ligações de hidrogênio C10-H10 ••• C11 (linhas cianas tracejadas) são responsáveis por ligar as cadeias ao longo da direção [001].....	57
Figura 11	- Sobreposição dos esqueletos dos isômeros BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ . As estruturas foram sobrepostas considerando todos os átomos de hidrogênio piperazínicos não homólogos, usando o cálculo de sobreposição de estrutura do Mercury (RMS = 0,0337). Para maior clareza, os átomos de hidrogênio foram omitidos.....	58
Figura 12	- Cadeia iônica ao longo de [001] estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas, representadas em linhas ciano tracejadas.....	59
Figura 13	- Vista do empacotamento de cristal em planos ac (direita) e ab (esquerda) mostrando a cadeia dupla formada ao longo da direção [001], estabilizada por ligações H não clássicas e relacionada pelo eixo de parafusos paralelo ao eixo c. Átomos de hidrogênio não envolvidos nas ligações H foram omitidos para maior clareza.....	61
Figura 14	- Empacotamento do cristal ao longo da direção [001]. As ligações de hidrogênio C-H... π (linhas cianas tracejadas) são responsáveis por ligar as mesmas cadeias ao longo da direção [010].....	61
Figura 15	- Difratogramas de raios X por policristais que demonstram a influência do tempo de envelhecimento na cristalinidade das formas BCZ-BL e BCZHCl.....	63
Figura 16	- Difratogramas de raios X por policristais, experimentais (Exp.) e calculados (Calc.) do BCZH ₂ Cl ₂ e da BCZHCl. O difratograma experimental da BCZ-BL também foi incluído.....	63
Figura 17	- Espectros de absorção no infravermelho na região de 4000 - 500 cm ⁻¹	64
Figura 18	- Curvas TG e DSC para as formas BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂	66
Figura 19	- Demonstração da pureza de pico e espectro da BCZ entre 200 a 400 nm.....	67
Figura 20	- Curva analítica para quantificação da BCZ em análises de doseamento.....	68
Figura 21	- Gráfico de Resíduo para quantificação da BCZ em análises de doseamento.....	68

Figura 22	- Diagrama de distribuição das diferentes espécies da BCZ em função do pH calculadas a partir de seus p _{ka} s.....	71
Figura 23	- Ensaio de solubilidade das formas salinas e BCZ-BL em diferentes meios.....	73
Figura 24	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em HCl 0,01 mol.L ⁻¹ , após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	74
Figura 25	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em HCl 0,1 mol.L ⁻¹ , após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	74
Figura 26	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em água, após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	75
Figura 27	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão acetato de sódio pH 4,5, após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	75
Figura 28	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão fosfato de sódio pH 6,8, após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	76
Figura 29	- DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão fosfato de sódio pH 7,5, após o teste de solubilidade em equilíbrio.....	76
Figura 30	- Curva analítica para quantificação da BCZ em análises de dissolução.....	80
Figura 31	- Gráfico de Resíduo para quantificação da BCZ em análises de dissolução.....	80
Figura 32	- Perfil de dissolução comparativo, para a determinação da menor quantidade de LSS para a dissolução da BCZH ₂ Cl ₂	83
Figura 33	- Perfil de dissolução comparativo entre BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ . Meio de dissolução: pH 4,5 + 1.0 % lauril sulfato de sódio.....	83
Figura 34	- Perfil de dissolução comparativo entre a BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ utilizando água como meio de dissolução.....	84

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Informações do IFA adquirido para o desenvolvimento do trabalho.....	34
Tabela 2	- Preparo das soluções da linearidade.....	43
Tabela 3	- Ingredientes utilizados na formulação dos comprimidos de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂	45
Tabela 4	- Preparo das soluções da linearidade (dissolução)	47
Tabela 5	- Preparo das soluções da exatidão (dissolução)	48
Tabela 6	- Principais dados cristalinos e parâmetros de refinamento das estruturas da BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂	53
Tabela 7	- Ângulos de torção selecionados nos sais do BCZ.....	55
Tabela 8	- Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do BCZHCl	58
Tabela 9	- Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do BCZH ₂ Cl ₂	60
Tabela 10	- Atribuições das bandas do espectro infravermelho aos grupos correspondentes nas formas BCZH ₂ Cl ₂ , BCZHCl e BCZ-BL.....	64
Tabela 11	- Doseamento de BCZ nos materiais policristalinos de BCZ-BL, BCZH ₂ Cl ₂ e BCZHCl.....	67
Tabela 12	- Resultados da precisão para o doseamento de BCZH ₂ Cl ₂	69
Tabela 13	- Resultados da exatidão para o doseamento.....	69
Tabela 14	- Estabilidade da solução padrão (% recuperação em relação à hora zero (HO)	70
Tabela 15	- Solubilidade em equilíbrio ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) para BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ ; pH inicial (pHi) e pH final (pHf) no equilíbrio de cada solução.....	71
Tabela 16	- Friabilidade dos comprimidos (%)	77
Tabela 17	- Determinação do peso médio (mg) dos comprimidos produzidos com BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂	78
Tabela 18	- Doseamento de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ comprimidos..	78
Tabela 19	- Uniformidade de conteúdo de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH ₂ Cl ₂ comprimidos.....	79
Tabela 20	- Resultados da exatidão para o doseamento.....	81
Tabela 21	- Solubilidade, sink condition, para as soluções em equilíbrio, após 72 horas.....	82
Tabela 22	- Média e DPR (%) para 0,5 e 1,0 LSS, nos tempos: 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos.....	82
Tabela 23	- Estabilidade dos comprimidos, durante 21 dias, 40 °C - 75 % UR.....	85

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA-	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCZ-BL-	Base Livre de Buclizina
BCZH ₂ Cl ₂ -	Dicloridrato de Buclizina
BCZHCl-	Monocloridrato de Buclizina
CLAE-	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMD-	Concentração Média Calculada
CIVIV-	Correlação in vitro- in vivo
DP-	Desvio Padrão
DPR-	Desvio Padrão Relativo
DRXM-	Difração de Raios X por Monocristal
DRXP-	Difração de Raios X por Policristais (Pó)
DSC-	Calorimetria Exploratória Diferencial
FDA-	Food and Drug Administration
ICH-	International Conference on Harmonization
IFA	Ingrediente farmacêutico ativo
IV	Infravermelho por transformada de Fourier
nm-	Nanômetro
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SF	Shake-Flask
TDI-	Taxa de Dissolução Intrínseca
TG-	Análise Termogravimétrica ou termogravimetria
UV-	Ultravioleta
VA-	Valor de Aceitação

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
2.1	Formas sólidas	18
2.2	Caracterização e controle de qualidade de IFA e medicamentos	20
2.2.1	Difração de raios X.....	21
2.2.2	Espectroscopia na região do infravermelho.....	23
2.2.3	Análise Térmica.....	24
2.2.4	Solubilidade.....	26
2.2.5	Teste de dissolução.....	27
2.3	Buclizina	29
3	OBJETIVOS	33
4	MATERIAIS E MÉTODOS	34
4.1	Amostras, reagentes, vidrarias e equipamentos	34
4.1.1	Amostras – Matéria Prima.....	34
4.1.2	Reagentes e Vidrarias.....	35
4.1.3	Equipamentos.....	35
4.2	Obtenção de monocristais e material policristalino	37
4.2.1	Obtenção da base livre de buclizina.....	37
4.2.2	Obtenção de policristais do monoclórato de buclizina.....	38
4.2.3	Obtenção de monocristais de buclizina: BCZH ₂ Cl ₂ , BCZHCl.....	38
4.3	Determinação estrutural por difração de raios x por monocristal	39
4.4	Caracterização das formas obtidas	40
4.4.1	Análises por difração de raios X por policristais (DRXP).....	40
4.4.2	Infravermelho.....	40
4.4.3	Análise térmica.....	40
4.4.4	Teor das formas de BCZ obtidas.....	41
4.4.4.1	<i>Método de quantificação da buclizina</i>	41
4.4.4.2	<i>Parâmetros cromatográficos</i>	41
4.5	Validação parcial do método de doseamento	42
4.5.1	Seletividade.....	42
4.5.2	Linearidade.....	42
4.5.3	Precisão.....	43
4.5.4	Exatidão.....	43
4.5.5	Estabilidade da Solução Padrão.....	44
4.6	Solubilidade	44
4.7	Obtenção e Caracterização dos Comprimidos	45
4.8	Perfil de dissolução	46
4.9	Validação parcial do método de dissolução	47
4.9.1	Seletividade.....	47
4.9.2	Linearidade.....	47
4.9.3	Exatidão.....	48

4.10	Estudo de estabilidade.....	49
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	50
5.1.1	Cristalização.....	50
5.1.2	Determinação estrutural das formas BCZHCl e BCZH₂Cl₂.....	50
5.2	Caracterização das formas obtidas.....	61
5.2.1	Análises por difração de raios X por policristais (DRXP).....	62
5.2.2	Infravermelho.....	63
5.2.3	Análise Térmica.....	65
5.2.4	Teor das formas de BCZ obtidas.....	67
5.3	Validação parcial do método de doseamento.....	67
5.3.1	Seletividade.....	67
5.3.2	Linearidade.....	68
5.3.3	Precisão.....	69
5.3.4	Exatidão.....	69
5.3.5	Estabilidade da Solução Padrão.....	70
5.4	Estudo de solubilidade.....	70
5.5	Obtenção e caracterização dos comprimidos.....	77
5.5.1	Friabilidade dos Comprimidos.....	77
5.5.2	Determinação do Peso Médio.....	77
5.5.3	Doseamento dos Comprimidos.....	78
5.5.4	Uniformidade de Conteúdo.....	79
5.6	Validação parcial do método de dissolução.....	79
5.6.1	Seletividade.....	79
5.6.2	Linearidade.....	79
5.6.3	Exatidão.....	81
5.7	Perfil de dissolução.....	81
5.8	Estudo de estabilidade dos comprimidos.....	84
6	CONCLUSÕES.....	86
7	PERPECTIVAS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	87
	REFERÊNCIAS.....	88

1 INTRODUÇÃO

Os medicamentos são geralmente comercializados no estado sólido, predominantemente como comprimidos ou cápsulas. Esse tipo de formulação, em relação à líquida, apresenta um formato conveniente, compacto e geralmente estável para armazenar um IFA (Insumos Farmacêutico Ativo, derivado do inglês API = *Active Pharmaceutical Ingredients*) (MORISSETE et al., 2004). Outra vantagem de se trabalhar com sólidos em relação à outra formulação, é uma menor problemática no processo de manufatura (LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011).

Outra característica predominante no universo farmacêutico é que 40% dos 200 medicamentos orais mais comercializados nos EUA e 90% das novas entidades químicas são de baixa solubilidade (PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017; RODRIGUEZ-ALLER et al., 2015). A solubilidade é uma propriedade de amplo interesse, pois para que um IFA consiga chegar até o local de ação e ter efeito farmacológico, é necessário que este possua velocidade de dissolução e solubilidade adequadas nos fluidos gastrointestinais (AUTON, 2005).

A indústria farmacêutica apresenta uma redução na descoberta de novas moléculas de fármacos, fazendo com que cientistas de universidades e dos departamentos de pesquisa das companhias, realizem modificações em IFAS já conhecidos, com a finalidade de melhorar suas propriedades físico-químicas (FDA, 2016; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017).

Mediante estratégias oferecidas pela cristalografia, a técnica de formação de sal de um IFA é muito utilizada, e apesar da estrutura cristalina do sal ser completamente diferente da sua base ou ácido conjugado, é possível alterar a solubilidade aquosa e taxa de dissolução do fármaco, sem que ocorram mudanças de caráter farmacológico na molécula (PAULEKUNHN; DRESSMAN; SAAL, 2007; DOMINGOS et al., 2015).

O dicloridrato da espécie catiônica diprotonada da Buclizina é a forma cristalina presente nas formulações sólidas comerciais da buclizina (BCZ), fármaco detentor de propriedades anti-histamínicas, antimuscarínicas, orexígenas e antieméticas. A BCZ pode apresentar as espécies neutra (BCZ base livre), monoácida (BCZH⁺) ou diácida (BCZH₂²⁺) tanto em solução como no estado sólido, devido a possibilidade de protonação do anel piperazínico de sua estrutura química (FIGURA 1).

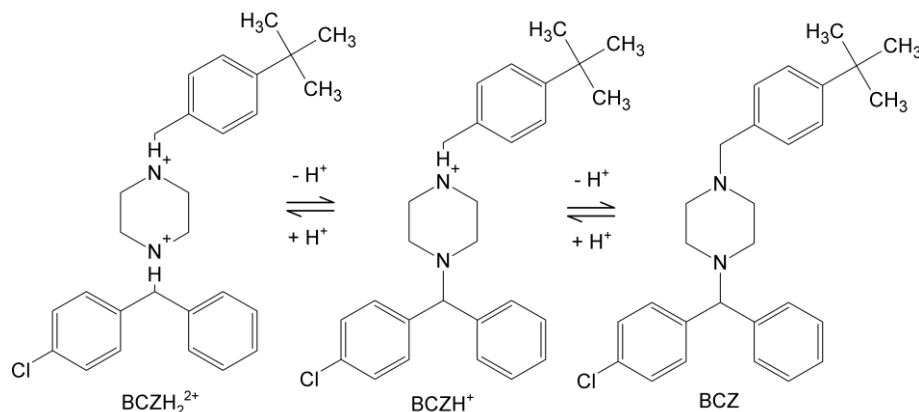


Figura 1 - Esquema químico das espécies catiônica e base livre da Buclizina
 Fonte: Do autor usando o ACD/ChemSketch (Freeware).

Sabe-se que as características físico-químicas de uma forma cristalina são fortemente correlacionadas tanto com a composição, quanto com o empacotamento cristalino das moléculas/ions. Sendo assim, o conhecimento do retículo cristalino permite o completo domínio e manipulação dessas propriedades, tão importantes no âmbito farmacêutico (DUGGIRALA et al., 2016).

A motivação inicial para escolha do BCZH_2Cl_2 foi o fato das indústrias relatarem problemas de queda de estabilidade e dissolução deste IFA em comprimidos. Além disso, não foi encontrada nenhuma estrutura cristalina da buclizina em artigos, patentes ou bases de dados cristalográficos. E, apesar de ter um valor de solubilidade reportado ($0,246 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) (DRUGBANK, 2019), não foi encontrada sua classificação no Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB). Portanto, um dos objetivos dessa dissertação consiste na obtenção de monocristais do BCZH_2Cl_2 (forma comercial) e de outras formas cristalinas inéditas, mono- (a da base livre) ou multicomponente (outros sais ou cocrystalis e hidratos/solvatos) para a elucidação estrutural por difração de raios X por monocristal (DRXM) ou por policristais DRXP. Considerando que a protonação de dois, um ou nenhum dos nitrogênios piperazínico da molécula possibilita a obtenção de espécies di-, mono-catiônica e neutra (tanto em solução como no estado sólido), priorizou-se nesse estudo a comparação das propriedades físico-químicas (solubilidade, velocidade de dissolução e estabilidade a 40°C e a 75% de umidade relativa) das formas salinas BCZH_2Cl_2 e BCZHCl bem como de sua base livre (BCZ-BL). Essas três formas foram obtidas por procedimentos de síntese/crescimento de cristal e caracterizadas pelas técnicas de espectrofotometria na região do infravermelho (IV), difração de raios X por policristais (DRXP) e análise térmica (termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC)). Teve-se êxito também na obtenção de monocristais do BCZH_2Cl_2 e do BCZHCl o que permitiu determinar suas estruturas cristalinas por DRXM. Nos estudos físico-

químicos, a BCZ foi quantificada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) utilizando-se um método parcialmente validado nesse trabalho de mestrado.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A Revisão Bibliográfica foi dividida em subitens conforme abaixo.

2.1 Formas sólidas

Aproximadamente 65 - 70 % dos IFAS se encontram no estado sólido e apresentam a dosagem oral sólida como forma de administração predominante (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017; WRIGHT, 2015). Esse tipo de formulação apresenta uma maior estabilidade química, visto que, os eventos de degradação ocorrem com uma menor facilidade, velocidade e intensidade (LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011). Além disso, existe uma preferência para se trabalhar com sólidos no estado cristalino ao invés do material amorfo, devido a diversas características, tais como: síntese relativamente fácil e eliminação de impurezas (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017; SAAL; BECKER, 2013; COLLMAN et al., 2013).

Apesar das vantagens descritas acima, o estado sólido apresenta particularidades, como polimorfismo, que é a possibilidade de uma mesma substância se arranjar de diferentes maneiras no cristal formado, podendo ter diferentes características físico-químicas (HIGASHI; UEDA; MORIBE, 2017; BERNSTEIN, 2002).

Na área de Ciências Farmacêuticas, pelo menos pela ótica da agencia reguladora Estadunidense FDA (do Inglês *Food and Drug Administration*), o termo polimorfos contempla também as formas amorfas, solvato e hidrato, apesar de as duas últimas possuírem composições químicas distintas (MILLER et al., 2005; AITIPAMULA et al., 2012).

Independente da divergência em relação à nomenclatura utilizada, há o consenso de que o estudo das formas sólidas (tanto do IFA quanto para excipientes) e as suas implicações nas Indústrias Farmacêuticas, são importantíssimas. Sua avaliação deve ser feita no estudo de pré-formulação e durante todo o ciclo de vida do produto, a fim de evitar o desenvolvimento ou comercialização de uma forma sólida com características indesejáveis (DESIRAJU; NANGIA, 2016).

A carbamazepina e o ritonavir são exemplos emblemáticos de impacto negativo do fenômeno do polimorfismo na área farmacêutica. Estudos conduzidos por Sehic e

colaboradores (2010), demonstraram a existência de pelo menos quatro polimorfos anidros da carbamazepina e uma forma di-hidratada. Os medicamentos com dosagem oral sólida contendo a carbamazepina são comercializados com a sua forma III anidra, que em temperatura ambiente apresenta uma maior estabilidade termodinâmica. No entanto, em solução aquosa, a forma di-hidratada é a mais estável. Em estudos de dissolução intrínseca e perfil de dissolução em diversas marcas comerciais, observou-se a ocorrência de transição da forma III para a forma di-hidratada, menos solúvel (SEHIC et al., 2010).

No lançamento do medicamento Norvir®, era conhecida apenas uma forma cristalina do seu IFA, considerada a forma estável. Contudo, alguns anos depois, uma forma mais estável e menos solúvel (polimorfo ou forma II) do que a forma até então conhecida surgiu durante o processo de fabricação do medicamento levando a um grande prejuízo para o fabricante do medicamento (CHEMBURKAR et al., 2002).

Portanto, com o propósito de assegurar que as atividades farmacocinéticas e farmacodinâmicas de um medicamento sejam eficazes para o paciente, é importantíssimo assegurar que a estrutura cristalina selecionada na etapa de desenvolvimento permaneça inalterada durante todo o seu processo de fabricação e estocagem (RODRIGUEZ-ALLER et al., 2015).

Sabe-se que para um fármaco possuir atividades terapêuticas, ele precisa se distribuir de maneira eficiente nos meios fisiológicos. A baixa solubilidade aquosa faz necessário o uso de doses elevadas do IFA para torná-lo eficaz, podendo impactar diretamente na sua biodisponibilidade e no acréscimo da sua exposição biológica (KALEPU; NEKKANTI, 2015).

Mediante o Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB), desenvolvido por Amidon e colaboradores em 1995, é possível aplicar o conceito de solubilidade para os fármacos, ao mesmo tempo em que correlaciona a dissolução *in vitro* com a absorção *in vivo*. Nesse contexto, os fármacos podem ser divididos em quatro classes: classe I - alta solubilidade e alta permeabilidade; classe II - baixa solubilidade e alta permeabilidade; classe III - alta solubilidade e baixa permeabilidade e classe IV - baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON et al., 1995). Dentre esses, os que oferecem os maiores desafios quando a eficácia terapêutica e custo de produção para as companhias farmacêuticas são os de baixa solubilidade (classe II e IV) (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017). Dentro das formas cristalinas de um sólido para acréscimo de solubilidade, a formação de sal de um IFA é o recurso mais utilizado (SERAJUDDIN, 2007) seguido da formação de co-cristais e por último, da utilização de polimorfos (SAINI et al., 2016; PORTELL et al., 2009).

Sais são produtos oriundos de fortes ligações iônicas de um IFA ionizável, com um contra-íon de carga oposta, podendo este último ser orgânico ou inorgânico. Essas interações são mantidas, com a cristalização, fornecendo moléculas sólidas carregadas. Um requisito, é que deve ser mantida a estequiometria dos íons envolvidos para a manutenção do equilíbrio de cargas (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017; BHATTACHAR; DESCHENES; WESLEY, 2006; BLAGDEN et al., 2007).

A escolha de se trabalhar com a forma salina, não se limita somente a melhorias na solubilidade e dissolução do IFA de origem (SERAJUDDIN, 2007; TAN; LOOTS; FRISCIC, 2016; SAAL; BECKER, 2013; COLLMAN et al., 2013). O sucesso da obtenção de sais é extensivo também para outros aspectos farmacológicos e tecnológicos, tais como: melhor estabilidade térmica, compressibilidade e fluidez do pó (HALEBLIAN; MCCRONE, 1969; TALACZYNSKA; DZITKO; CIELECKA-PIONTEK, 2016).

Engenharia de cristais é a área responsável pelo estudo das interações intermoleculares no retículo cristalino, sua correlação com as propriedades físico-química e o domínio desse conhecimento para concepção de novas formas sólidas com características melhoradas (DESIRAJU; NANGIA, 2016). Para a seleção de uma forma sólida de um fármaco, deve ser levado em consideração a solubilidade, a estabilidade, viabilidade e a segurança no processo químico, o custo-benefício e a aceitação clínica e regulatória (HE; ORTON; YANG, 2018).

Como exemplo de aperfeiçoamento das propriedades farmacêuticas, temos o antiepilético lamotrigina. Foram desenvolvidas dez novas formas sólidas (sais e cocrists) e suas propriedades foram comparadas com a base livre em relação à solubilidade, taxa de dissolução e comportamento farmacocinético. O sal sacarinato de lamotrigina foi o que apresentou a maior solubilidade aquosa e o maior nível sérico após uma dose oral única em relação às demais avaliadas (CHENEY et al., 2010).

2.2 Caracterização e controle de qualidade de IFA e medicamentos

A caracterização físico-química no estudo de novas formas é essencial para as indústrias economizarem tempo e dinheiro no lançamento de produtos (VAN DE WATERBEEMD; LENNERNÃS; ARTURSSON, 2003; VAN DE WATERBEEMD, 2008). Além disso, nos últimos anos, os órgãos reguladores, como o Food and Drug Administration (FDA) e International Conference on Harmonization (ICH), preocupados com o impacto das

formas sólidas, têm pressionado a indústria farmacêutica a utilizar técnicas analíticas inovadoras e metodologias, que gerenciem desde a etapa de desenvolvimento até o ciclo final do medicamento, bem como se poderá ocorrer ou não transição de fases (QIU et al., 2015).

As técnicas mais utilizadas na caracterização dos IFA são: DRXM, DRXP, espectroscopia (vibracional e magnética) e análise térmica (DTA, DSC e TG) que podem ser utilizadas isoladamente ou em conjunto (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

Além disso, existem algumas metodologias de rotina, tais como: solubilidade, dissolução e estabilidade, que possibilitam a diferenciação e comparação das propriedades físico químicas de diferentes formas sólidas (BONFILIO et al., 2014; LEE; ERDEMIR; MYERSON, 2011; BERNSTEIN, 2008).

Portanto, o gerenciamento qualitativo e quantitativo da forma cristalina adequada tem se fortalecido na rotina dos laboratórios de Controle de Qualidade, com o principal propósito de garantir a qualidade e segurança do medicamento que é disponibilizado para a população (CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011; ATICI; KARLIGA, 2015; CENSI; DI MARTINO, 2015; QIU et al., 2015; NEWMAN; WENSLOW, 2016).

2.2.1 Difração de raios X

Difração é o fenômeno de espalhamento que ocorre quando uma onda encontra obstáculos a sua propagação, tais como, orifícios ou fendas. Raios X são radiações eletromagnéticas de natureza ondulatória, com características semelhantes à luz que possuem energia intermediária entre os raios gama e ultravioletas (CULLITY; STOCK, 2001).

Os cristais funcionam como anteparos com fendas, e os raios X incidentes nesse cristal, podem ser reemitidos em qualquer direção. Porém, quando estes se encontram em fases, acontece uma interferência construtiva, e nesse caso, eles são espalhados pelos elétrons dos átomos da rede cristalina, gerando um padrão de difração característico para cada forma sólida (CULLITY; STOCK, 2001; TILLEY, 2014).

Em cristalografia, existem duas técnicas que utilizam raios X: difração de raios X por monocristal (DRXM) e por policristais ou pó (DRXP). A DRXM é a técnica mais abrangente para determinar a estrutura cristalina tanto de pequenas moléculas, como os fármacos, quanto de macromoléculas biológicas, como as proteínas. A posição e a intensidade relativa dos feixes

difratados dependem da distância e do número atômico dos átomos da rede cristalina (TILLEY, 2014). Com o registro dessas informações, é possível deduzir a natureza dos átomos no cristal, além de obter informações como: comprimentos, ângulos de ligação e de torção, detalhamento sobre as distâncias interplanares e interações intermoleculares. No caso das formas salinas e coocristais, o conhecimento exato da estrutura cristalina contendo o IFA como íon (em sais) ou coformador (em coocristais), auxilia no delineamento de medicamentos terapêuticamente mais eficazes (PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017).

Um dos fatores limitantes para a aplicação da DRXM é a obtenção de monocristais com qualidade adequada (sem defeitos, não geminados, tamanho entre 0,02 a 0,5 mm e estáveis durante o experimento) para o experimento de difração. Porém, nas últimas três décadas, o desenvolvimento tecnológico de novos detectores e fontes de raios X, juntamente com o lançamento de hardwares e softwares de computadores mais potentes, têm possibilitado a utilização de cristais que não preencham todos os requisitos citados acima, além da redução do tempo necessário para a aquisição de dados e a interpretação dos resultados obtidos (DESCHAMPS, 2010).

Um difratômetro de DRXP normalmente é um instrumento mais simples e conseqüentemente mais barato do que um difratômetro de DRXM. O experimento consiste em dar condições para que a amostra cristalina espalhe a radiação X quando a Lei de Bragg ($n\lambda = 2d \sin\theta$) for obedecida, onde λ é o comprimento de onda da radiação, d é o espaço entre planos cristalinos no cristal descrito por índices de Miller e θ é o ângulo de espalhamento). Isso é feito medindo-se a intensidade da radiação espalhada em função do ângulo de espalhamento (PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017).

Cada forma sólida apresenta celas unitárias (tipos e dimensões) e grupos de espaço distintos acarretando em diferentes padrões de difração de pó considerados suas “impressões digitais” (BONFILIO et al., 2014; JACON et al., 2017). Sendo assim, a técnica é muito utilizada nas análises de rotina de um determinado IFA, para identificar e quantificar (quando mais de uma fase estiver presente) polimorfos, solvatos, sais e coocristais e monitorar a ocorrência de transição de fase (AITIPAMULA; CHOW; TAN, 2011; SANPHUI et al., 2016; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017).

A DRXP permite ainda verificar se um material sólido é cristalino ou amorfo. A cristalinidade da fase sólida é inversamente proporcional à largura dos picos. Em amostras amorfas é observado um halo largo numa ampla faixa angular (WIEDMANN; NAQWI, 2016).

Finalmente, desde o final do século XX a utilização da técnica de DRXP para elucidar a estrutura cristalina das moléculas tem se tornado cada vez mais constante para o caso de

amostras que a obtenção de monocristal é difícil ou impossível (BOULTIF, LOUER, 1991; WERNER; ERIKSSON; WESTDAHL, 1985; SCARDI et al., 1999; RIETVELD, 1969).

2.2.2 Espectroscopia na região do infravermelho

Espectroscopia de infravermelho se baseia na influência mútua entre a energia eletromagnética e as vibrações existentes nos átomos em uma molécula. As moléculas absorvem na região do infravermelho somente se seus momentos de dipolos forem alterados por meio de vibrações. Quando isso acontece, as cargas em movimento podem absorver um fóton e se deslocar do estado fundamental para níveis vibracionais mais excitados. A radiação eletromagnética só será absorvida pela molécula se a frequência de radiação no infravermelho recebida for energeticamente equivalente a uma dessas vibrações inerentes da molécula (PAJANDER et al., 2013; PAVIA et al., 2013; SILVERSTEIN, WEBSTER, KIEMLE, 2005).

A espectroscopia é vastamente utilizada na caracterização de substâncias químicas, visto que diferentes grupos funcionais apresentam frequências de absorção específicas. Além disso, como a estrutura cristalina varia de uma forma para a outra, mesmo que elas apresentem o mesmo grupo funcional, seu espectro pode ser distinto em relação ao número e posições de bandas, o que permite caracterizar inclusive diferentes polimorfos de uma mesma molécula (PAVIA et al., 2013; PAJANDER et al., 2013; AYALA et al., 2006 ; ZIMMERMANN; BARANOVIĆ, 2011).

Além disso, essa técnica também pode ser aplicada no monitoramento da ocorrência de transição de fases, processos de hidratação, desidratação ou amorfização, em que as ligações de hidrogênio desses sólidos serão susceptíveis à radiação, caso ocorra efeitos nas vibrações intramoleculares (AALTONEN et al., 2009). Também existem relatos que a espectroscopia pode ser utilizada para avaliar se ocorreu ou não a troca de cargas entre um IFA e seu contra-íon, na formação de sais, ou entre o coformador em cocristais, devido as interações entre os átomos dos produtos obtidos serem diferentes do material de partida (CHILDS; STAHL; PARK, 2007; CHAKRABORTY; GANGULY; DESIRAJU, 2014; DORIGUETTO et al., 2007; MARTINS et al., 2015).

A região do espectro eletromagnético correspondente à região do infravermelho pode ser dividida em três partes: o infravermelho próximo (NIR), o infravermelho médio (MID) e o infravermelho distante. No caso de identificação de compostos orgânicos, a região de maior

aplicabilidade é a região média (4.000 e 400 cm^{-1}), visto que as bandas que aparecem nessa área são consideradas como a impressão digital para cada substância (AYALA; SIESLER; CUFFINI, 2008).

As amostras podem ser analisadas mediante a produção de pastilhas com brometo de potássio (KBr) ou através um dispositivo de refletância total atenuada (ATR). A grande dificuldade de se trabalhar com pastilhas de KBr é sua higroscopicidade, podendo interferir no resultado (PAVIA et al., 2013). A grande vantagem da utilização do ATR, é que as amostras não requerem um preparo inicial, e não ocorre nenhuma pressão na preparação dessas amostras. Essa é a metodologia ideal para análises de polimorfos, pois a pressão necessária para o preparo das pastilhas de KBr pode induzir a ocorrência de transições de fase. (CHIENG; RADES; AALTONEN, 2011; BONFILIO et al., 2014).

2.2.3 Análise Térmica

De acordo com a Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria, análise térmica é um conjunto de técnicas em que se monitora uma propriedade física de uma substância em função da temperatura (CERREIA VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017). Sabe-se que cada substância apresenta propriedades termodinâmicas individuais, tais como: capacidade calorífica, entalpia e entropia. Sendo assim, esse grupo de técnicas é considerado uma poderosa ferramenta, utilizada na caracterização de fármacos e medicamentos (COLMAN et al., 2016; HAINES, 2002). Dentre essas técnicas, as que possuem maior aplicação em Ciências Farmacêuticas na caracterização dos IFAs são: Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), a Termogravimetria (TG ou TGA) e a Análise Térmica Diferencial (DTA).

A utilização de DSC apresenta algumas vantagens, tais como: gerar resultados rápidos, apresentar baixo custo, pouca utilização de amostra, versatilidade, além de ser uma técnica ecologicamente adequada (VERMA; GARG, 2004; VERMA; GARG, 2005; LILTORP; LARSEN; WILLUMSEN, 2011; LAVOR et al., 2012; JÚLIO et al., 2013). Sua aplicação contempla o monitoramento e avaliação de transição de fase, ponto de fusão, transição vítrea, cristalinidade, estudos cinéticos e estabilidade física de fármacos. Como cada sólido possui uma curva termo analítica característica, a técnica também é considerada como impressão digital do material além de poder ser parâmetro para o controle de pureza da substância (HAINES, 1995). Seu princípio de funcionamento é baseado em um programa de temperatura já definido, em que

ocorre o aquecimento ou resfriamento da amostra de interesse e a substância referência. Essa diferença de calor entre a amostra e o material de referência é monitorada em função da temperatura. Em eventos exotérmicos ocorre perda de calor da amostra. Já nos processos endotérmicos, uma quantidade extra de energia é fornecida para a amostra de interesse (BERNAL et al., 2002; VIOGLIO; CHIEROTTI; GOBETTO, 2017).

Existem dois tipos de equipamento disponíveis no mercado: DSC por compensação de potência ou por fluxo de calor. Apesar de ambos possuírem a mesma sensibilidade, o requisito para a sua escolha se baseia no objetivo pretendido. Os que utilizam compensação por potência propiciam a aplicação de fluxos de aquecimento ou resfriamento mais elevados e tanto a amostra quanto a referência possuem a mesma temperatura mantida por aquecedores elétricos individuais. Os equipamentos que envolvem fluxo de calor, possuem uma linha de base mais estável e tanto amostra como a referência, armazenadas em suportes individuais, são colocadas sobre um disco de metal, que é o responsável pela troca de calor entre o forno e a amostra (CRAIG, 2006; BERNAL et al., 2002).

Em relação à TG, a técnica quantifica alterações da massa inicial da amostra utilizando uma termobalança em função da temperatura ou tempo. Essa alteração da massa pode ser o resultado de uma transformação física, por exemplo: sublimação, evaporação ou condensação, ou química, tais como: degradação e oxidação (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002). Mediante a um programa de temperatura controlado, são avaliados se ocorreu perda ou acréscimo de massa da amostra devido, respectivamente, à decomposição térmica, ou à incorporação de átomos ou moléculas de algum componente do ambiente (CAVALHEIRO et al., 1995).

Em caracterização de fármacos, suas principais aplicações são: avaliação da presença de água na estrutura; observação se ocorre decomposição, oxidação e redução; monitoramento da estabilidade térmica da amostra; estimação sobre a sua vida útil; e o estabelecimento de condições adequadas de fabricação e armazenamento (GIRON, 2002; PINDELSKA; SOKAL; KOLODZIEJSKI, 2017). Atualmente, a TG vem sendo muito utilizada em estudos de pré-formulação para avaliar a compatibilidade de fármacos e excipientes, visto que interações químicas e físicas podem impactar estabilidade de cada constituinte, e a segurança e a eficácia terapêutica do IFA (DING et al., 2017; ROSASCO et al., 2018; LEITE et al., 2017).

Para a obtenção de resultados reprodutíveis, tanto no DSC, quanto no TG, alguns fatores devem ser monitorados durante o experimento, tais como: razão de aquecimento, quantidade e método de preparo da amostra, vazão e tipo de gás de controle da atmosfera do forno de DSC (BERNAL et al., 2002; CAVALHEIRO et al., 1995).

2.2.4 Solubilidade

Diferentes formas sólidas de um IFA, por possuírem distintas interações intermoleculares, podem apresentar grande diferença na energia interna e entalpia do seu hábito cristalino (HEALY et al., 2017). Essas particularidades no seu empacotamento, geralmente acarretam em propriedades farmacocinéticas muito distintas (AGUIAR; ZELMER, 1969; SINGHAL; CURATOLO, 2004).

A solubilidade tem sido uns dos parâmetros mais estudados nos últimos 20 anos, pois acopladas com outras propriedades, como lipofilicidade, ionização e permeabilidade, desempenham um papel de destaque na seleção de novas moléculas com potencial farmacológico semelhante ao de determinados medicamentos (VÖLGYI et al., 2010). Também se fazem essenciais para a otimização de formulações via oral, seleção de sais e a classificação no sistema biofarmacêutico (BOX et al., 2006; LIPINSK et al., 2001).

Existem três definições para solubilidade: cinética, termodinâmica e intrínseca. Os dois primeiros diferem quanto o momento em que ocorre a determinação da concentração do IFA. Na cinética, ela é determinada imediatamente após a formação de precipitado induzido. Na termodinâmica ou de equilíbrio, a concentração só é avaliada em solução saturada após agitação por um tempo determinado. A intrínseca se refere à solubilidade em equilíbrio de um ácido fraco em meio ácido ou em meio básico para uma base fraca em um valor de pH em que ela estará completamente não ionizada (BOX et al., 2006; LIPINSK et al., 2001; AULTON, 2005).

Apesar de hoje em dia existir diversas técnicas para se determinar a solubilidade em equilíbrio, a mais utilizada no mundo inteiro com propósitos regulatórios e científicos é a do *shake-flask* (BRASIL, 2013; BAKA; COMER; TAKÁCS-NOVÁK, 2008). Essa técnica consiste em adicionar um excesso de IFA, em um volume fixo de diferentes meios aquosos, na faixa de pH fisiológico, sob temperatura e agitação constante (BAKA; COMER; TAKÁCS-NOVÁK, 2008). O limitante dessa técnica, é que dependendo do composto, o tempo para que a solução atinja o equilíbrio é demasiadamente longo (SHOGHI et al., 2013).

Existe uma opção mais ágil para determinação de solubilidade de sais, por uma técnica potenciométrica desenvolvida por Sirius Analytical Ltd (AVDEEF, 1998; AVDEEF, BERGER, BROWNELL, 2000). Seu princípio é baseado em sucessivas etapas de supersaturação e subsaturação do fármaco, moduladas por adições de pequena quantidade de base ou ácido no IFA. A solubilidade das substâncias ionizáveis depende do pH do meio e do seu pKa. Portanto, para prever e simular a biodisponibilidade desses compostos, é necessário

traçar perfil de solubilidade em diferentes valores de pH (AVDEEF, 1998; AVDEEF, BERGER, BROWNELL, 2000).

É comum encontrar dados de solubilidade discrepantes para um IFA. Observa-se que variações na temperatura do experimento, tempo de sedimentação, tipo de tampão e técnica de separação de fases, podem afetar drasticamente os resultados (BAKA; COMER; TAKÁCS-NOVÁK, 2008).

Finalmente, uma das grandes aplicações atuais do estudo de solubilidade é na diferenciação entre polimorfos, tanto no contexto das oportunidades de melhoria de performance quando no desafio da expectativa de regulamentação por partes das agências reguladoras como FDA e ANVISA (VIANA et al., 2018; JACON et al., 2017; BONFILIO et al., 2012; BONFILIO et al., 2017; BONFILIO et al., 2014; SANTOS et al., 2014).

2.2.5 Teste de dissolução

Dissolução é a transferência de moléculas ou íons de um estado sólido para a solução, sendo que o seu principal mecanismo de controle é a afinidade que o sólido possui com o meio (BANAKAR, 1992; AULTON, 2005). Desintegração, desagregação e dissolução são os processos envolvidos na liberação de um fármaco da sua formulação. Quanto mais rápidos esses eventos acontecem, maior será a taxa de dissolução apresentada por esse fármaco (MOURAO et al., 2010; SERRA; STORPIRTIS, 2007).

No caso de medicamentos que são de liberação imediata, existem três tipos de ensaio de dissolução que podem ser empregados para a comparação da eficiência de dissolução dos produtos farmacêuticos: dissolução pontual; teste de dissolução envolvendo dois pontos e perfis de dissolução. Os ensaios que envolvem um e dois pontos de coleta são basicamente aplicados na rotina de controle de qualidade de um medicamento (SERRA; STORPIRTIS, 2007; PASA et al., 2008).

Com o perfil de dissolução obtém-se informações bastante relevantes como: quantidade máxima dissolvida, tempo médio de dissolução, pontos em que ocorrem mudanças significativas, eficiência de dissolução e velocidade de dissolução, que pode ser rápida ou muito rápida. De acordo com a RDC 31, para ser considerado de dissolução rápida deve haver a dissolução de mínimo 85% do IFA da formulação em 30 minutos; e para ser considerado de

dissolução muito rápida os 85% deve ser atingido em 15 minutos (BRASIL, 2010; EMAMI, 2006).

A Curva de perfil de dissolução serve como ferramenta no desenvolvimento da formulação ideal e na detecção de alterações oriundas da etapa de fabricação que poderiam comprometer a performance do medicamento. Além disso, fornece informações relevantes para os estudos de bioequivalência de medicamentos genéricos ou similares e de biodisponibilidade tanto para novos produtos, quanto para polimorfos (VIANA et al., 2018).

Sabe-se que diferentes formas sólidas podem possuir biodisponibilidade diferentes, sendo que a não concordância entre a eficiência das formulações podem ser atribuídas à ocorrência de polimorfismo (DE RESENDE et al., 2016). Portanto, o desenvolvimento de um método de dissolução deve também ser eficiente para a avaliação da ocorrência de transição de fases, principalmente para os fármacos de baixa solubilidade (SERRA; STORPIRTIS, 2007; PASA et al., 2008; BONFILIO et al., 2014).

Um ensaio de perfil de dissolução considerado ideal é aquele em que ele é discriminativo, sendo possível prever o comportamento de uma formulação no organismo humano, com dados obtidos *in vitro* (PORTA; YAMAMICHI; STORPIRTIS, 2002).

Dependendo das características da formulação e do IFA, das condições de dissolução empregadas, tais como velocidade de rotação, tipo de aparato, tempo de análise e meio de escolha, pode-se obter curvas de dissolução bastante diferentes (EMAMI, 2006).

Para a escolha do meio de dissolução ideal, primeiramente deve-se levar em consideração o pKa, a solubilidade, e a estabilidade do IFA e sua classificação biofarmacêutica. Dependendo do valor de pH, poderá ocorrer degradação do IFA. Além disso, o fármaco poderá estar protonado ou desprotonado dependendo do pH do meio e de seu pKa, afetando na sua absorção (MARCOLONGO, 2003). O FDA preconiza trabalhar com valor de pH que esteja contemplado na faixa de pH fisiológico (1,2-7,5). Se for necessário trabalhar com condições fora dessa faixa, necessita-se de comprovação, baseado em dados experimentais e científicos (BRASIL, 2013; FDA, 1997).

Ainda em relação à seleção do meio, é desejável que se mantenha a condição *sink*, que representa o volume de meio necessário para se distanciar da saturação do meio. Geralmente, o volume de dissolução que se costuma trabalhar é de 500 mL, 900 mL e 1000 mL. Seu principal objetivo é assegurar que a velocidade de dissolução de um fármaco não será afetada pela concentração de saturação do meio (FDA, 1997).

Se o IFA for de classe II ou IV, o pH do meio impactará profundamente na sua solubilidade, o que requer otimizar essa variável. Em muitas situações, os meios aquosos não

correspondem à condição sink (*sink condition*), sendo necessária a utilização de surfactantes para melhorar a dissolução de fármacos pouco solúveis ou insolúveis. Basicamente, seu mecanismo de ação é vinculado com a redução da tensão superficial entre as partículas dissolvidas do fármaco e o meio de dissolução, promovendo um acréscimo na umectação (molhabilidade) do IFA (FONSECA, 2006).

Para a avaliação do ensaio de dissolução das formas de uso oral sólidas, utiliza-se com mais frequência o aparato do tipo I (cesta) com velocidade de rotação de 50, 75 e 100 rpm ou do tipo II (pá) com velocidade de rotação de 50 ou 75 rpm. O conteúdo do meio de cada cuba é agitado por um desses dois aparatos (MARCOLONGO, 2003). São descritos em literatura, outros aparatos, como o aparelho de cilindro recíproco e célula de fluxo, porém, o de cesta e o de pá são os mais utilizados devido à simplicidade da sua utilização, robustez e aplicação em uma ampla faixa de produtos (MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

O fator limitante da utilização dos aparatos do tipo I e II é quando ocorre a necessidade de avaliação da dissolução em meios com diferentes valores de pH. No caso do aparato I, é a ocorrência de bloqueio parcial dos orifícios da cesta, devido à deposição de uma película de revestimento. Já no caso do aparato II, cápsulas podem flutuar na superfície (MARCOLONGO, 2003).

Portanto, a dissolução serve como ferramenta para controlar a qualidade dos produtos de linha, direcionar o desenvolvimento das formulações e a comprovar que a eficácia é mantida quando o medicamento sofre determinadas modificações (ABUZARUR-ALOUL et al., 1997; ADAMS et al., 2001; BRASIL, 2010).

2.3 Buclizina

Diversos fatores fisiológicos, comportamentais e emocionais, além de algumas crenças, estão interligados entre si e influenciam na alimentação do indivíduo e no seu bom estado nutricional (NASR; DRURY, 2008). Um estudo realizado nos Estados Unidos aponta que aproximadamente 1% dos adultos norte-americanos poderão desenvolver quadros de anorexia nervosa em algum momento das suas vidas (UDO; GRILO, 2018).

Especial atenção tem sido dada a anorexia infantil, que na maioria dos casos, mesmo não envolvendo nenhuma patologia, é preocupante, pois se o quadro de redução da vontade de

comer não for revertido, o desenvolvimento físico será comprometido por causa da ingestão inadequada de nutrientes (SASTRY et al., 2017).

Existem algumas enfermidades que promovem a falta ou diminuição de apetite: fibrose cística, câncer, AIDS e algumas doenças neurodegenerativas (HOMNICK et al., 2005; GARCIA et al., 2013; ROENM, 1996). Além disso, estima-se que em torno de 35 % a 65 % dos idosos hospitalizados nos EUA desenvolvam quadros de redução de apetite ou de desnutrição (REUBEN et al., 2005).

Em todas as situações descritas acima, a utilização de substâncias orexígenas é utilizada para estimular o consumo alimentar (HOMNICK et al., 2005). O mecanismo de ação dos estimulantes de apetite não é muito conhecido e podem ser oriundos de efeitos secundários de diversas classes de medicamentos, tais como: a) derivados do hormônio progesterona; b) canabíoides; c) hormônios do crescimento; d) hormônios anabólicos; e) antagonistas da histamina e serotonina (NASR, 2008).

A buclizina foi lançada no mercado farmacêutico em 1955 como medicamento anti-histamínico considerado de elevada eficácia em uma ampla faixa de aplicação em doenças alérgicas, baixa incidência de efeitos colaterais e efeito prolongado (MORREN et al., 1951). Suas formulações sólidas continham o seu sal dicloridrato com o nome de Vibazine (EVERETT GAILLARD; WHITE PLAINS; IT, 1955). No entanto, após cinco anos do seu lançamento, médicos que prescreviam a buclizina como anti-histamínico e, ou anti-serotonínico, perceberam um aumento notável de apetite e considerável ganho de peso de seus usuários (HIGA; MICELLI; ASTOLFI, 1969). Sendo assim, a buclizina começou a ser utilizada também para essa finalidade.

O dicloridrato de buclizina ou 1-[(4-clorofenil)fenilmetil]-4-[[4-(1,1-dimetiletil)fenil]-metil]piperazina ($\text{BCZH}_2 \cdot \text{Cl}_2$), que contém a espécie dicatiônica (BCZH_2^{2+}) mostrada na Figura 1, é um pó cristalino branco ou levemente amarelado, praticamente insolúvel em água, fracamente solúvel em propano-1,2-diol, muito ligeiramente solúvel em etanol 96 % (BRITISH, 2017).

A fração correspondente ao grupamento terc-butilbenzil é encontrado em drogas com propriedades anti-eméticas, anti-histamínicas e contra a enxaqueca. O substrato clorobenzidril é o esqueleto de fármacos pertencentes à família dos derivados piperazínicos, tais como ciclizina, cinizarina, meclizina, cetirizina, hidroxizina, dotarizina e buclizina (SVETLANA; TIMOTHY; HESSEL, 2016). Sua faixa de aplicação é muito ampla, sendo utilizada em casos de náusea, vômito, enxaqueca, doenças alérgicas e como estimulante do apetite (MARTINDALE, 1997).

Em relação ao seu mecanismo de ação para o controle de vômito, sabe-se que a área do cérebro que controla essa atividade é chamada de centro do vômito. Essa região é vastamente rica em neurônios muscarínicos colinérgicos e em receptores histamínicos, que estão envolvidos na transmissão de impulsos do centro vestibular para esse local do cérebro. A cinetose, ou doença do movimento, está relacionada com excessivos estímulos sensoriais nessa via, acarretando em enjoos, tonturas e vômitos. Portanto, a BCZ por possuir ação anticolinérgica, bloqueia os receptores muscarínicos. Além disso, impede a ligação da histamina no seu local de ação, inibindo dessa maneira, sua atividade emética (KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014). Possui também correlação no tratamento de vertigem, associado as desordens do sistema vestibular, porém, seu mecanismo de ação nesse caso, ainda não está bem estabelecido (MARTINDALE, 1997; COURA; SOLI; BEZERRA, 1968).

Como anti-histamínico, sabe-se que seu mecanismo de ação é devido ao bloqueio por meio da ligação competitiva reversível com receptores H1 e a aplicação desse fármaco em doenças alérgicas é bem antiga (EVERETT GAILLARD, 1955; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Além disso, possui elevado efeito orexígeno e devido a essa ação é atualmente comercializado na forma de comprimidos, como estimulante de apetite. Porém, nessa situação, seu efeito farmacológico ainda não foi bem elucidado (EVERETT GAILLARD, 1955; KATZUNG; MASTERS; TREVOR, 2014).

Algumas hipóteses foram levantadas para tentar elucidar o mecanismo de ação do fármaco. E de acordo com o fabricante do medicamento comercial Buclina®, seu efeito é mediante uma ação hipoglicemiante que estimula o centro do apetite existente na região do hipotálamo. Efeitos hipoglicemiantes em crianças foram observados após duas horas e meia da sua ingestão (BETTIN; RAFFAGHELLI, 1961).

Considerando a relevância farmacêutica da BCZ destacada acima, chama atenção o fato de não ter sido publicado até o momento nenhuma estrutura cristalina constituída por essa molécula, seja como base livre (forma monocomponente ou formas multicomponentes do tipo hidrato/solvato ou cocrystal) seja como espécies catiônicas pH-dependente (o monoácido (BCZH⁺) ou o diácido (BCZH₂²⁺) na forma de sais (FIGURA 1). Ou seja, a estrutura no próprio API (BCZH₂Cl₂) é desconhecida. Isso por si só já poderia ser considerado uma motivação para seu estudo estrutural. Contudo, além disso, o fato de não existir na literatura sua classificação no Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB) a despeito de o BCZH₂Cl₂ ser considerada de baixa solubilidade (0,246 µg.mL⁻¹) (DRUGBANK; 2018) oferece outra motivação para o seu estudo, agora sob o ponto de vista farmacêutico. A relevância do estudo é elevada a um

patamar com viés de aplicação tecnológica, tendo em vista os relatos de problemas de queda de estabilidade e dissolução deste IFA em comprimidos por parte da indústria. Finalmente, o fato de a BCZ poder gerar três espécies pH-dependente em solução, BCZ-BL , BCZH⁺ e BCZH₂²⁺, motivou tentar-se cristalizar sua base livre e diferentes sais mono e diácidos, principalmente par monoácido/diácido tendo o contraíon cloreto (Cl⁻), BCZHCl e BCZH₂Cl₂, por ser o anion constituinte da forma comercial da BCZ.

3 OBJETIVOS

Este trabalho teve como objetivos gerais a determinação estrutural de formas sólidas da BCZ e a avaliação de algumas propriedades físico-químicas de interesse farmacêutico.

Os objetivos específicos foram:

- a) determinar a estrutura do $BCZH_2Cl_2$, forma presente nas formulações sólidas desse medicamento;
- b) obter novas formas sólidas incluindo a base livre e outros sais;
- c) determinar a estrutura cristalina das novas formas cristalinas obtidas;
- d) caracterizar as formas sólidas obtidas por PXRD, IR-ATR, DSC, TG e CLAE;
- e) estudar a estabilidade química dos comprimidos contendo a forma $BCZH_2Cl_2$ (sal cloreto diácido), em comparação com os comprimidos das formas $BCZHCl$ (sal cloreto monoácido) e BCZ-BL (base livre);
- f) validar parcialmente as metodologias de análise para determinação da solubilidade, perfil de dissolução e estabilidade das formas sólidas da BCZ;
- g) determinar a solubilidade do $BCZH_2Cl_2$ em comparação com as formas $BCZHCl$ e BCZ-BL em diferentes pHs fisiológicos;
- h) estabelecer o perfil de dissolução dos comprimidos de $BCZH_2Cl_2$ em comparação com as formas $BCZHCl$ e BCZ-BL.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

As metodologias empregadas incluíram: i) modificações químicas e de cristalização (Engenharia de cristais) para obtenção de diferentes formas da BCZ; ii) determinação estrutural das formas obtidas por difração de raios X de monocristal (DRXM); iii) caracterização das fases obtidas por meio de difração de raios X de pó (DRXP), espectroscopia na região do infravermelho (IV) e análises térmicas (calorimetria exploratória diferencial - DSC e termogravimetria - TG).

Posteriormente, foram realizados ensaios de teor, estabilidade, solubilidade e perfil de dissolução comparando material policristalino puro ou comprimidos de três diferentes formas da BCZ: a BCZ-BL, o BCZHCl e o BCZH₂Cl₂.

4.1 Amostras, reagentes, vidrarias e equipamentos

4.1.1 Amostras – Matéria Prima

Os testes em laboratório iniciaram-se em setembro de 2017 e para isso, foi utilizada a matéria prima de BCZH₂Cl₂ (TABELA 1).

Tabela 1- Informações do IFA adquirido para o desenvolvimento do trabalho

Matéria Prima	Fornecedor	Lote	Quantidade	Validade
BCZH ₂ Cl ₂	D.K.Pharmachem PVT	629657	2,5 g	30/01/2021
BCZH ₂ Cl ₂	D.K.Pharmachem PVT	629658	2,5 g	30/01/2021
BCZH ₂ Cl ₂	D.K.Pharmachem PVT	757612	270 g	30/04/2022

Fonte: Da autora.

Para a produção dos comprimidos da BCZ-BL, do BCZHCl e do BCZH₂Cl₂, foram utilizados os seguintes excipientes: celulose microcristalina, lactose monohidratada, amido de milho, polividona K30, estearato de magnésio vegetal.

4.1.2 Reagentes e Vidrarias

Hidróxido de sódio, p.a., (NaOH), Fluka®;
Acetato de sódio anidro, Merck®;
Ácido acético, Merck®;
Ácido cítrico monohidratado, Merck®;
Ácido fosfórico, Merck®;
Ácido clorídrico (HCl) 1N, Merck®;
Ácido bromídrico (HBR) p.a. Dinâmica®;
Ácido nítrico (HNO₃) p.a, Dinâmica®;
Acetato de etila, Dinâmica®;
Acetato de sódio triidratado, Merck®;
Lauril sulfato de sódio (LSS), Merck®;
Hidrogenofosfato de potássio, Merck®;
Metanol, Merck®;
Acetonitrila, Merck®;
Clorofórmio, Synth®;
Etanol, Dinâmica®;
Acetona, Sigma Aldrich®;
Água ultrapura (Milli-Q- Merck-Millipore®),
Coluna: Waters®, X bridge C18 (150 x 4,6 mm-5 µm);
Filtro PALL life sciences®, Valuprep-25 mm com 0,45 µm-membrana Nylon;
Filtro PALL corporation®, acrodisc PSF-25 mm com 0,45 µm -membrana GHP;
Papel de filtro Whatman®;
Vidrarias grau analítico.

4.1.3 Equipamentos

Os equipamentos utilizados no projeto estão elencados de acordo com as estruturas laboratoriais disponíveis para a execução das atividades.

a) equipamentos disponíveis no laboratório Núcleo Controle de Qualidade (UNIFAL-MG):

- calorimetria Exploratória Diferencial, marca NEZSTCH®, modelo DSC Syrius 3500 (Alemanha);
- durômetro de bancada autônomo, marca Nova Ética®, modelo 298 ATTS (São Paulo, SP, Brasil);
- espectrofotômetro na região do infravermelho por transformada de Fourier IV FT Shimadzu®, modelo Prestige-21- (Tóquio, Japão);
- friabilômetro, marca Nova Ética® (São Paulo, SP, Brasil);
- aparelho para medida de fusão, marca Gehaka®, modelo PF 1500 (São Paulo, SP, Brasil);
- balança analítica, marca Marte®, modelo AY 220 (São Paulo, SP, Brasil);
- balança analítica, marca Acculab®, modelo ALC 210.4 (São Paulo, SP, Brasil);
- balança de topo Acculab®, modelo VIC 303 (São Paulo, SP, Brasil);
- sistema purificador de água Gehaka®, modelo osmose reversa 10 LTH (São Paulo, SP, Brasil);
- sistema purificador de água—água ultrapura Milli-Q, Millipore®;
- medidor de pH Marconi®, modelo PA 200 (Piracicaba, SP, Brasil);
- aparelho de banho de ultrassom Unique®, modelo USC 2800A (Indaiatuba, SP, Brasil).

b) equipamentos disponíveis no laboratório de Cristalografia (UNIFAL-MG):

- difratômetro de raios X de pó Rigaku®, modelo Ultima IV (tipo II) (Tóquio, Japão).

c) equipamentos disponíveis no laboratório de Caracterização de Fármacos(UNIFAL-MG):

- termobalança SII Nano Technology®, modelo TG/DTA-7300 (Tóquio, Japão).

d) equipamentos disponíveis no laboratório Tecnologia de Fermentações (UNIFAL-MG):

- peneiras para análise granulométrica BerTel®, com aberturas de 106 mm/μm; 75 mm/μm; 53 mm/μm e 45 mm/μm (Caieiras, SP, Brasil).

e) equipamento disponível no laboratório Tecnologia Farmacêutica (UNIFAL-MG):

- compressora rotativa Lemaq® modelo LM08B (Diadema, SP, Brasil);

f) equipamento disponível no Laboratório de Cristalografia (UFJF):

- difratômetro de monocristal, Oxford®, Modelo Gemini A-Ultra, equipado com detector Atlas CCD usando raios X ($K\alpha$ do Molibdênio ou Cobre) monocromatizado por cristal de grafite.

g) equipamento disponível no Laboratório de AS&T (PHARMANALYTICA;

-NOVARTIS-LOCARNO- Switzerland):

- Sistema CLAE FAST AGILENT® HP1200 equipado com bomba binária SL, degaseificador a vácuo integrado, auto amostrador com injetor de 100 μ L, forno de coluna, detector DAD-SL-Software Chromeleon 6.8 (USA);
- balança analítica Metler toledo®, XP205 (Switzerland);
- dissolutor Sotax® (n=8) aparato II, AT 7smart (Switzerland);
- agitador magnético, 2 mag magnetic e motion®, mix 15 eco (Switzerland);
- agitador orbital, Ks 501 digital (Switzerland);
- agitador do tipo vórtex, marca: Labnet®, modelo: VX-200- Ultrassom Branson; 8510 R MT- (Switzerland);
- pH-metro – Metrohm®; 780 pH meter (Switzerland);
- pipetador automático, Eppendorf Reference® 100 μ L-1000 μ L (Switzerland);
- pipetador automático, Eppendorf Researcher® plus 10 μ L-100 μ L (Switzerland);
- câmara climática Mecalor® – 40 °C e 75 % UR-(Switzerland).

4.2 Obtenção de monocristais e material policristalino

São descritos abaixo os procedimentos para obtenção dos materiais policristalinos usados na caracterização e estudos físico-químicos e dos monocristais usados para se determinar as estruturas por DRXM.

4.2.1 Obtenção da base livre de buclizina

A obtenção da base livre (BCZ-BL) consistiu em uma etapa importante desse projeto para a comparação de suas propriedades físico-químicas com a forma comercializada (BCZH₂Cl₂), além de servir de material de partida para a obtenção de outros sais. A BCZ-BL

foi obtida, a partir da solubilização de 1,0 g de BCZH_2Cl_2 comercial, solubilizado em 500 mL de etanol:água (1:1 v:v) sob a adição de NaOH 1 mol.L^{-1} , até que ocorresse a turvação da solução, que ocorreu em pH 5,8. O material obtido foi deixado em repouso durante 13 dias, até ser coletado e armazenado para posterior análise. O precipitado obtido foi peneirado, para obter um tamanho de partícula homogêneo, através de uma tela de aço inoxidável, e a fração entre as malhas de 200 (75 μm) e 270 (53 μm) mesh foi separada para as análises posteriores.

4.2.2 Obtenção de policristais do monoclórato de buclizina

O BCZHCl também foi obtido a partir do BCZH_2Cl_2 comercial, solubilizado em uma mistura de metanol: água (1:1 v: v) após adição de NaOH 1 mol.L^{-1} até pH 4,8. Após 13 dias de repouso, o sólido formado foi separado da solução sobrenadante, seco em dessecador por 24 horas, tamisado (200-270 mesh) e armazenado para posterior análise.

4.2.3 Obtenção de monocristais de buclizina: BCZH_2Cl_2 , BCZHCl

Monocristais de BCZHCl foram obtidos pela técnica de difusão de vapor. Para tanto, 2,0 mg de policristais de BCZHCl foram dissolvidos em 0,5 mL de acetona dentro de um béquer de 10 mL, o qual foi colocado dentro de um frasco maior contendo 2,5 mL de clorofórmio. O sistema foi fechado e deixado em repouso até surgirem os primeiros monocristais, que ocorreu em aproximadamente 15 dias.

Monocristais de BCZH_2Cl_2 foram obtidos pela técnica de evaporação lenta de solvente, sendo que 3,0 mg do BCZH_2Cl_2 matéria prima foi solubilizada em mistura de solventes etanol:água (1:1 v:v) e aquecida em banho-maria até a temperatura de 75 °C (temperatura próxima da ebulição do etanol). Deixou-se a solução resfriar até a temperatura do ambiente e na sequência, foi transferida para uma geladeira a uma temperatura de 8 °C. Monocristais adequados para experimentos de difração de raios X formaram-se após 21 dias.

4.3 Determinação estrutural por difração de raios X por monocristal

A seleção dos cristais apropriados para o experimento de DRXM foi feita utilizando um microscópio ótico com luz polarizada. As medidas de DRXM foram realizadas no Departamento de Química da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os dados foram coletados a 293 K usando a radiação $\text{MoK}\alpha$ ou $\text{CuK}\alpha$. As estruturas foram resolvidas com o software Sir2014 (CRISTINA et al., 2014) e refinadas com o software SHELXL2013 (SHELDRICK, 2008).

Todos os átomos, exceto os de hidrogênio, foram identificados e refinados por mínimos quadrados de matriz completa em F^2 , com os parâmetros térmicos anisotrópicos. As tabelas cristalográficas foram geradas pelo WinGX (FARRUGIA, 2012) e os softwares Mercury (MACRAE, 2008) e ORTEP (FARRUGIA, 1997) foram usados para gerar as representações gráficas dos dados cristalinos.

Os átomos de hidrogênio foram posicionados estereoquimicamente com comprimentos fixos de ligação C-H (ou N-H) de 0,98, 0,93, 0,96, 0,97 e 0,98 Å para os grupos amino, aromático, metílico, metileno e metino, respectivamente. Além disso, os parâmetros térmicos isotrópicos de todos os hidrogênios foram correlacionados com os deslocamentos térmicos isotrópicos equivalentes dos átomos ligados a eles [$U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2U_{\text{eq}}(\text{N-amino, C-aromático, C-metileno, C-metino})$ ou $1,5U_{\text{eq}}(\text{C - metílico})$]. O parâmetro de Flack do BCZHCl foi refinado de forma confiável para 0,02(2) (dados medidos usando o $\text{CuK}\alpha$) com boa convergência de Friedel (FLACK, 2003; CIANCI et al., 2005; FLACK, 1983; PARSONS; FLACK, 2004). A configuração absoluta do enantiômero (R) foi utilizado para representar sua unidade assimétrica. O parâmetro Flack refinado para o BCZH_2Cl_2 (dados medidos usando o $\text{MoK}\alpha$) utilizando o enantiômero (R) como modelo de estrutura é de 0,00(17). Portanto, tem um valor de desvio padrão maior que o aceitável (deve ser menor que 0,10) para se determinar a configuração absoluta.

Como anteriormente observado para estruturas análogas da BCZ, o átomo de cloro das moléculas BCZH_2Cl_2 e BCZHCl apresenta desordem, em relação aos dois átomos de carbono simétrico do anel benzênico (C1 e C11). Enquanto para a estrutura BCZH_2Cl_2 , a desordem não foi pronunciada o suficiente para justificar um refinamento de desordem, para o BCZHCl, o refinamento de desordem foi necessário. O átomo de cloro na porção 1 - [(4-clorofenil (fenil) metil] piperazinediium está desordenado nas posições C11-C1 e C11-C11, com fatores de ocupação refinados de 0,835 (4) e 0,165 (4), respectivamente. Os fatores de ocupação foram

atribuídos utilizando esquemas de variáveis livres e restringindo-se a soma dos dois sítios a uma ocupação de 1.000 (instrução FVAR SHELXL-2018/3) (SHELDRICK, 2015). Os parâmetros de deslocamento do átomo de cloro na posição com menor fator de ocupação foram refinados usando o modelo isotrópico. Os dados cristalográficos das duas estruturas foram depositadas no Cambridge Crystallographic Data Center (CCDC) sob os números CCDC 1912183 e 1912184 sendo acessíveis em www.ccdc.cam.ac.uk/getstructures (ALLEN, 2002).

4.4 Caracterização das formas obtidas

4.4.1 Análises por difração de raios X por policristais (DRXP)

As análises de DRXP foram realizadas em um difratômetro de raios X por policristais da marca *Rigaku*, modelo Ultima IV. A radiação utilizada foi $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) gerada em tubo selado energizado a 40 kV e 30 mA e monocromatizada por meio de cristal de grafite. Os dados foram coletados à 25 °C, no modo reflexão sob varredura contínua com passo angular em 2θ de $0,02^\circ$ e tempo de contagem de $1^\circ 20.\text{min}^{-1}$ no intervalo angular de 3 a $35^\circ 2\theta$.

4.4.2 Infravermelho

As análises foram realizadas, utilizando-se pastilhas de KBr, em um Espectrofotômetro IV-TF-RTA, Shimadzu, modelo Prestige-21. Os dados no modo transmitância foram coletados à temperatura ambiente entre $4000\text{-}400 \text{ cm}^{-1}$ totalizando varreduras por análise com resolução de $4,0 \text{ cm}^{-1}$, 64 scans.

4.4.3. Análise térmica

As análises de termogravimetria (TG) foram realizadas em uma Termobalança TG/DTA 7300 (SII *Nano Technology*, Japão) utilizando-se cerca de 3 mg de amostra em cadinho de alumina. As curvas foram obtidas entre 30 a 500 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em atmosfera dinâmica de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹.

As curvas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) foram obtidas no equipamento NEZSTCH DSC®, modelo DSC Syrius 3500 utilizando-se cerca de 3 mg de amostra em cadinhos de alumínio abertos. As curvas foram obtidas entre 30 a 260 °C a uma razão de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ em atmosfera dinâmica de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹.

4.4.4 Teor das formas de BCZ obtidas

4.4.4.1 Método de quantificação da buclizina

A metodologia por CLAE desenvolvida por (KUMINEK et al., 2012) foi utilizada para quantificar a BCZ nos ensaios de doseamento (IFA e comprimidos) e na solubilidade. Por ter sofrido algumas adequações, tais como, comprimento da coluna, fluxo da fase móvel, volume de injeção e concentração de trabalho, metodologia foi validada parcialmente de acordo com a Resolução RDC n° 166 de 2017 (BRASIL, 2017).

4.4.4.2 Parâmetros cromatográficos

As amostras foram injetadas em uma coluna de fase reversa (X-Bridge C18 da Waters Corporation), com as seguintes dimensões: 150 mm x 4,6 mm e tamanho de partícula de 5 µm. O preparo da fase móvel consistiu em uma mistura de metanol:água (80:20, v:v) pH 2,6, ajustado com ácido fosfórico concentrado.

As condições cromatográficas foram as seguintes: comprimento de onda de 230 nm, temperatura do forno da coluna de 25 ± 1 °C, fluxo de análise de 0,5 mL.min⁻¹, modo de eluição isocrático e tempo de retenção de cerca de 5 min. O volume de injeção foi de 10 µL para as amostras de solubilidade, doseamento dos IFA e dos comprimidos e uniformidade dos

comprimidos e 2 μL para a análise de dissolução. Utilizou-se a fase móvel como diluição para as amostras de doseamento, uniformidade e solubilidade. Para as amostras de dissolução não realizou-se diluição.

4.5. Validação parcial do método de doseamento

Os seguintes parâmetros foram avaliados: seletividade, linearidade, exatidão e precisão.

4.5.1 Seletividade

Na seletividade, mediante detector de arranjo de diodos, foi realizada avaliação da pureza de pico e da inexistência de outros compostos que coeluem no mesmo tempo de retenção do analito de interesse. Para isso, na faixa de comprimento de onda de 200 a 500 nm, foram injetadas as seguintes soluções: fase móvel (branco), soluções tampões utilizadas no ensaio da solubilidade (brancos) e dissolução (branco), solução placebo, soluções amostras oriundas do ensaio de doseamento e produto de degradação de matéria prima ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e de comprimidos ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e de dissolução ($28 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

4.5.2 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada, na faixa de 20 a 130% da concentração teórica do composto avaliado. Foram preparadas três soluções estoques individuais da seguinte maneira: pesou-se 37,99 mg, 37,82 mg e 37,91 mg respectivamente para 3 balões diferentes de 100 mL. Na sequência, foram realizadas diluições para balões de 25 mL, utilizando-se como diluente a fase móvel, para a obtenção da concentração desejada (TABELA 2).

Tabela 2- Preparo das soluções da linearidade

Conc. %	Volume (mL)	Solução1 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Solução 2 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Solução 3 ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
20 %	0,2	3,03312	3,01955	3,02673
50 %	0,5	7,5828	7,54887	7,56684
70 %	0,7	10,61593	10,56842	10,59357
80 %	0,8	12,13249	12,07820	12,10694
90 %	0,9	13,64905	13,58797	13,62030
100 %	1,0	15,16561	15,09774	15,13367
110 %	1,1	16,68217	16,60752	16,64704
120 %	1,2	18,19873	18,11729	18,16041
130 %	1,3	19,71529	19,62707	19,67377

43

Fonte: Da autora.

Verificou-se a representação gráfica das respostas (áreas) em função da concentração do analito e os coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2). Além disso, foram analisados a homocedasticidade dos dados, mediante teste de Cochran. Os gráficos de dispersão dos resíduos e sua avaliação estatística, calculada através do teste de Shapiro-Wilk, em que o valor calculado (p) deve ser maior que 0,05 (nível de confiança de 95 %). Foi calculada também, a análise da significância do coeficiente angular.

4.5.3 Precisão

A precisão foi analisada pela repetibilidade do método. Seis réplicas na concentração a 100 % de BCZH₂Cl₂ em fase móvel ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) foram injetadas no cromatógrafo. Foram calculadas a média (CMD) e o desvio padrão relativo DPR (%) para cada meio utilizado no teste de solubilidade de acordo com a fórmula abaixo. O critério de aceitação foi de DPR (%) menor ou igual a 2,0%.

$$\text{DPR} = (\text{DP}/\text{CMD}) \times 100$$

Sendo que:

DPR = desvio padrão relativo;

DP = desvio padrão;

CMD = concentração média calculada.

4.5.4 Exatidão

A exatidão do método foi avaliada pela proximidade entre os valores obtidos e os reais. Em outras palavras, avaliou-se a recuperação do método. Para isso, foram preparadas nove soluções independentes, em três concentrações diferentes: baixa ($7,5 \mu\text{g.mL}^{-1}$), média ($15 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e alta ($18 \mu\text{g.mL}^{-1}$), que estão contempladas na faixa de trabalho da metodologia. Os Critérios de aceitação adotados foram os seguintes:

- a) $\text{DPR} \leq 2 \%$ ($n=3$);
- b) recuperação média de $100 \pm 2\%$ ($n = 3$).

4.5.5 Estabilidade da Solução Padrão

Com a finalidade de verificar se as amostras da solubilidade permaneceriam estáveis até 72 horas, a solução padrão após o seu preparo foi mantida à temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$ e analisadas por CLAE imediatamente (tempo zero) e após 24 horas, 48 horas, 72 horas e 96 horas de seu preparo. Os resultados obtidos foram comparados com resultados iniciais (hora zero) através da porcentagem de recuperação da substância alvo em questão. O critério de aceitação adotado foi de:

Recuperação média de $100 \pm 2 \%$.

4.6 Solubilidade

Os ensaios de solubilidade foram conduzidos, utilizando o método do equilíbrio, empregando a técnica *Shake-Flask*. Em frascos de 15 mL foram adicionados 4 mL dos seguintes meios: HCl $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 2,1), HCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ (pH 1,2), tampão acetato de sódio pH 4,5 ($0,050 \text{ mol.L}^{-1}$), tampão fosfato de potássio pH 6,8 ($0,072 \text{ mol.L}^{-1}$), tampão fosfato de potássio pH 7,5 ($0,085 \text{ mol.L}^{-1}$) e água ultrapura. As soluções tampões foram preparadas conforme Farmacopeia Americana (USP 2018). Em cada meio (em triplicata) foram adicionadas as formas sólidas da BCZ até a formação de corpo de fundo seguido de agitação em *vortex* durante 1 minuto. Posteriormente, os frascos foram mantidos sob agitação contínua a 150 rpm em mesa

agitadora do tipo orbital, protegida da luz por 72 horas. Os pHs das soluções saturadas foram medidos antes e depois do período de agitação.

O líquido sobrenadante foi filtrado em filtro de seringa de nylon com porosidade de 0,45 µm e diluídas adequadamente em cada meio. O teor de BCZ foi determinado por CLAE.

As solubilidades das três formas da BCZ em cada meio foram comparadas estatisticamente, aplicando-se o teste ANOVA, mediante software Minitab, em que as amostras são consideradas diferentes, quando o P – Valor é menor que 0,05.

Já o corpo de fundo remanescente foi seco em dessecador contendo sílica por 7 dias e analisado por DRXP para verificar se a forma sólida inicial manteve-se durante o experimento.

Mediante os valores obtidos de solubilidade, calculou-se a razão dose/solubilidade do fármaco (D:S), que é o produto final da divisão da maior dosagem comercial do fármaco (mg) pelo valor obtido da solubilidade (mg.mL⁻¹).

Os valores obtidos dessa relação foram o ponto de partida para a determinação do meio de dissolução ideal para realização do perfil de dissolução discriminativo entre as formulações.

4.7 Obtenção e caracterização dos comprimidos

Tabela 3- Ingredientes utilizados na formulação dos comprimidos de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂

	BCZ-BL	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
Buclizina* (mg)	21,48	23,24	25,00
Celulose Microcristalina (mg)	103,52	101,76	100,00
Lactose Monohidratada (mg)	100,00	100,00	100,00
Amido do milho (mg)	88,00	88,00	88,00
Polividona K30 (mg)	4,00	4,00	4,00
Estearato Magnésio Vegetal (mg)	3,00	3,00	3,00
Peso médio (mg)	320	320	320

* Considerou a massa da BCL neutra (C₂₈H₃₃Cl₁N₂, m.m. = 433,0 g) em cada forma cristalina
Fonte: Da autora.

A caracterização dos comprimidos (avaliação da qualidade) foi realizada com os seguintes ensaios: determinação de peso em formas farmacêuticas sólidas, dureza, friabilidade, teor e uniformidade de doses unitárias.

A determinação de peso em formas farmacêuticas sólidas (ou peso médio) dos comprimidos foi realizado com vinte comprimidos de cada formulação individualmente

pesados em balança analítica devidamente calibrada. O critério de aceitação adotado foi uma variação máxima de 5 % de peso (Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010).

A dureza foi determinada sob uma amostragem de 10 comprimidos de cada formulação. O valor de referência adotado foi de 4,0 a 4,5 Kgf. Ele foi adotado, em relação ao apresentado pelo medicamento comercializado (4,0 Kgf).

A friabilidade foi estabelecida avaliando-se a resistência ao atrito e ao choque de 15 comprimidos de cada formulação. O critério de aceitação adotado foi de 1,5% de perda máxima do peso (Farmacopeia Brasileira 5ª edição, 2010).

O teor do IFA na matéria-prima e nos comprimidos foram determinados por CLAE de acordo com a seção 4.5. A especificação de doseamento para o IFA é de 98,0 a 102,0% e dos comprimidos de 90,0% a 110,0% do teor declarado. Também foi calculado a uniformidade de conteúdo para os comprimidos, sendo que seu critério é que o valor de aceitação (VA) deve ser $\leq 15,0$.

4.8 Perfil de dissolução

Seis comprimidos de cada formulação foram submetidos ao ensaio de perfil de dissolução com reposição de meio em dissolutor Sotax, devidamente calibrado de acordo com as especificações do fabricante, nas seguintes condições: aparato II, 900 mL dos seguintes meios: água, tampão acetato de sódio pH 4,5 + 1,0 % lauril sulfato de sódio, tampão acetato de sódio pH 4,5 + 0,5% lauril sulfato de sódio, 100 e 75 rpm, respectivamente. Alíquotas foram coletadas e filtradas diretamente para frascos do tipo “vials”, com o auxílio de filtro de seringa de nylon de 0,45 μm . A quantidade de buclizina dissolvida foi determinada por CLAE, em comprimento de onda de 230 nm. O método de quantificação das alíquotas de dissolução foi desenvolvido por KUMINEK (2012) e parcialmente validado, de acordo com o item 4.8.1.

A comparação dos perfis de dissolução foram determinados mediante cálculo do fator de semelhança F2 executado no programa Microsoft Excel®.

$$F2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right]^{-0.5} \times 100 \right\}$$

4.9 Validação parcial do método de dissolução

O método descrito na seção 4.5 foi validado parcialmente para a aplicação no perfil de dissolução.

4.9.1 Seletividade

Na seletividade, mediante detector de arranjo de diodos, foi avaliada a pureza de pico e a inexistência de outros compostos que coeluem no mesmo tempo de retenção do analito de interesse, na faixa de comprimento de onda de 200 a 500 nm. Para isso, foram injetados água, tampão acetato de sódio pH 4,5 + 1,0 % lauril sulfato de sódio como branco, solução placebo e as amostras do ensaio de dissolução (60 minutos).

4.9.2 Linearidade

Foram preparadas três soluções estoques individuais da seguinte maneira: pesou-se 28,42 mg, 28,49 mg e 28,68 mg respectivamente para 3 balões diferentes de 100 mL. Na sequência, foi realizada diluições para balões de 50 mL para a obtenção da concentração desejada (TABELA 4).

Tabela 4 - Preparo das soluções da linearidade (dissolução)

Conc %	Volume (mL)	Solução 1($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Solução 2($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Solução 3($\mu\text{g.mL}^{-1}$)
20 %	1,0	5,6686	5,6886	5,7086
30 %	1,5	8,5030	8,5329	8,5628
50 %	2,5	14,1716	14,2215	14,2714
70 %	3,5	19,8402	19,9101	19,9800
80 %	4,0	22,6746	22,7544	22,8342
90 %	4,5	25,5089	25,5987	25,6885
100 %	5,0	28,3432	28,4430	28,5428
120 %	6,0	34,1316	34,2514	34,0118

Fonte: Da autora.

A escolha da faixa de trabalho foi proposta para contemplar todos os pontos de coleta utilizados no perfil de dissolução em paralelo com 20% a menos e a mais da menor e da maior

concentração esperada, respectivamente, mediante critérios de aceitação definidos para o teste de dissolução.

Foram apresentados a representação gráfica das respostas (áreas) em função da concentração do analito e os coeficientes de correlação (r) e de determinação (r^2). Além disso, foram analisados a homocedasticidade dos dados mediante teste de Cochran e os gráficos de dispersão dos resíduos e sua avaliação estatística, através do teste de Shapiro-Wilk (nível de confiança de 95 %). Foi feito também a análise da significância do coeficiente angular.

4.9.3 Exatidão

A exatidão do método foi realizada na faixa de 50 a 120 % da concentração teórica aproximada para o dicloridrato de buclizina. Foram preparadas 9 determinações com 3 níveis: baixa ($14,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$), média ($28,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$) e alta ($33,6 \mu\text{g.mL}^{-1}$) em triplicata, através de massas pesadas do ativo e adição de placebo nas cubas de dissolução. Procedeu-se as diluições (TABELA 5) e avaliou-se a porcentagem de recuperação obtida para cada nível da exatidão.

Tabela 5- Preparo das soluções da exatidão (dissolução)

Conc %	Conc estoque ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Diluição (mL)	Conc Teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Massa Placebo (mg)
50 %	2520	5,0	14,000	294,96
50 %	2525	5,0	14,027	294,64
50 %	2510	5,0	13,944	296,90
100 %	2525	10,0	27,29	295,15
100 %	2530	10,0	28,05	295,43
100 %	2515	10,0	27,88	295,92
120 %	2525	12,0	33,59	296,49
120 %	2530	12,0	33,66	294,88
120 %	2515	12,0	33,46	296,33

Volume Final: 900 mL (Dissolutor)

Fonte: Da autora.

4.10 Estudo de estabilidade

Os comprimidos contendo a BCZ-BL, o BCZHCl e o BCZH₂Cl₂ foram incubados em estufa a 40 °C e 75% UR durante 21 dias com o intuito de avaliar a influência dessa condição no doseamento do fármaco em questão.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1.1 Cristalização

Teve-se êxito na obtenção de monocristais adequados para medidas de DRXM de duas formas da BCZ: o dicloridrato de buclizina ($BCZH_2Cl_2$) e o monoclóridrato de buclizina ($BCZHCl$). Infelizmente, não conseguiu-se monocristais da base livre da buclizina (BCZ-BL)

Por meio de experimentos específicos, conseguiu-se obter material policristalino puro (monofásico em termos de forma cristalina) em escala adequada, o qual é imprescindível para os estudos físico-químicos de interesse farmacêutico, das seguintes formas: $BCZH_2Cl_2$ e $BCZHCl$ e BCZ-BL. Essas três formas foram caracterizadas e utilizadas no estudo de solubilidade de perfil de dissolução.

5.1.2 Determinação estrutural das formas $BCZHCl$ e $BCZH_2Cl_2$

A BCZ é uma molécula quiral com um carbono assimétrico, o que possibilita a existência de dois isômeros óticos, um R e outro S (FIGURA 2). Devido à provável dificuldade de se conduzir a síntese assimétrica (ou síntese enantiosseletiva ou síntese quiral ou síntese estereosseletiva) ou a ausência de estudos que demonstrem a potencialização dos efeitos farmacológicos ou tóxicos de um dos isômeros, a BCZ é comercializada como mistura racêmica. Assim, o IFA da BCZ ($BCZH_2Cl_2$) é um racemato contendo os seus isômeros R e S. Essa característica foi confirmada nesse trabalho de mestrado realizando um ensaio de rotação ótica (polarímetro) de uma solução preparada a partir do $BCZH_2Cl_2$, a qual mostrou não haver qualquer desvio. Ou seja, o sal de $BCZH_2Cl_2$ é de fato uma mistura 1:1 dos isômeros R e S da BCZ.

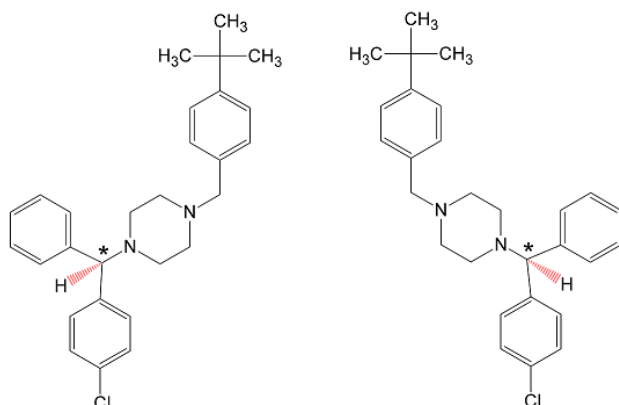


Figura 2 - Estrutura química dos isômeros R e S da BCZ. O carbono assimétrico é destacado por um asterisco
Fonte: Da autora.

A cristalização de uma solução contendo uma mistura racêmica de enantiômeros possibilita três situações (FIGURA 3): i) cristalização com racemização espontânea de maneira que os dois isômeros integrarão ordenadamente (ordem a longo alcance) um mesmo cristal na proporção exata de 1:1 gerando um cristal racêmico; ii) cristalização com resolução espontânea formando uma mistura física de cristais contendo apenas o isômero R ou apenas o isômero S gerando um conglomerado racêmico com cristais não-geminados; iii) cristalização com resolução espontânea formando uma mistura física de cristais contendo o isômero R mais o isômero S (sem ordenamento a longo alcance dos isômeros e permitindo proporções diferentes de 1:1) gerando um conglomerado racêmico com cristais geminados.

Dentre os cristais formados a partir de misturas racêmicas, 90 a 95% cristalizam como cristais racêmicos, 5 a 10% como conglomerados racêmicos e menos de 1% como solução sólida racêmica.

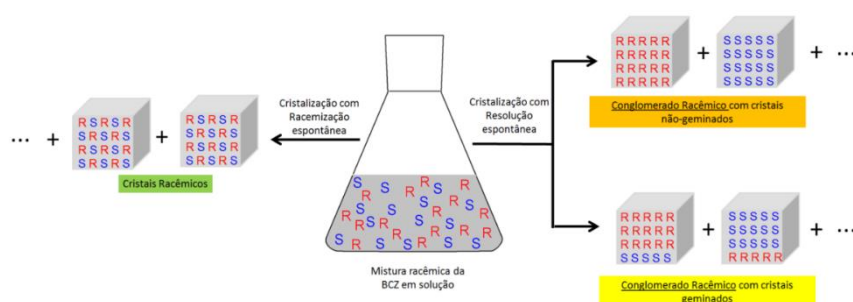


Figura 3 - Representação esquemática das possibilidades de cristalização de uma solução contendo uma mistura racêmica

Fonte: Da autora.

Em termos de estrutura possível, uma mistura racêmica pode cristalizar adotando três tipos de empacotamento cristalino:

- a) estruturas Aquirais Centrossimétricas (AC) de grupos de espaço correspondendo aos grupos de ponto $\bar{1}$, $2/m$, mmm , $4/m$, $4/mmm$, $\bar{3}$, $\bar{3}m$, $6/m$, $6/mmm$, $m3$ e $m3m$ (Grupos mais frequentes $P2_1/c$, $C2/c$, $Pbca$ e $P\bar{1}$);
- b) estruturas Aquirais Não-centrossimétricas (AN) de grupos de espaço correspondendo aos grupos de ponto m , $mm2$, $\bar{4}$, $4mm$, $\bar{4}2m$, $3m$, $\bar{6}$, $6mm$, $\bar{6}m2$ e $\bar{4}3m$ (Grupos predominantes $Pna2_1$, $Pca2_1$, Cc e Pc);
- c) estruturas Quirais Não-centrossimétricas (QN) de grupos de espaço correspondendo aos grupos de ponto 1 , 2 , 222 , 4 , 422 , 3 , 32 , 6 , 622 , 23 e 432 (Grupos Espaciais predominantes $P2_12_12_1$ e $P2_1$).

Os três tipos de estruturas permitem cristais racêmicos. O mais comum (95% dentre os cristais racêmicos) é adotar uma estrutura contendo um centro de inversão cristalográfico. Ou seja, uma estrutura do tipo AC. Grupos de espaço não-centrossimétrico polares (contendo planos espelhos) e quirais (sem inversão e espelhos) também permitem cristais racêmicos embora pouco comum (AN e QN representam respectivamente 4,5-5 % e 0,02% dos casos). No caso desse último, a unidade assimétrica deverá ser constituída por pelo menos um par de moléculas independentes por simetria, sendo uma o isômero R e o outro o S. Um conglomerado será formado por uma mistura física de cristais enantiopuros que obrigatoriamente terão a simetria de um grupo de espaço não-centrossimétrico quiral (sem simetria de inversão ou de espelhos), uma vez que a ausência do par de isômeros empacotados de forma periódica no mesmo cristal (ordenamento dos dois isômeros a longo alcance), impossibilita a existência da simetria de inversão e ou espelhos inerente aos grupos de espaço centrossimétricos e não-centrossimétrico polares. Obviamente, essa regra também é válida para cristais formados a partir de soluções contendo moléculas enantiopuras. Por fim, cristais formados por soluções sólidas racêmicas são permitidas nos três tipos de empacotamentos, AC, AN e QN.

As resoluções das estruturas cristalinas dos monocristais escolhidos para se fazer as medidas de difração de raios X por monocristal mostraram que o $BCZH_2Cl_2$ e o $BCZHCl$ cristalizaram nos grupos de espaço $Pca2_1$ e $Pna2_1$, respectivamente (TABELA 6). Portanto, são cristais racêmicos que adotam o empacotamento pouco comum do tipo AN.

Os principais dados cristalográficos para $BCZHCl$ e $BCZH_2Cl_2$ estão resumidos na Tabela 6.

Tabela 6- Principais dados cristalinos e parâmetros de refinamento das estruturas da BCZH₂Cl₂, BCZHCl

Estrutura	BCZH ₂ Cl ₂	BCZHCl
Formula Empírica	C ₂₈ H ₃₅ Cl ₃ N ₂	C ₂₈ H ₃₄ Cl ₂ N ₂
Formula peso	505,93	469,47
Temperatura de Medida (K)	298(2)	298(2)
Comprimento de Onda (Å)	0,71073	1,54184
Sistema Cristalino	Ortorrômbico	Ortorrômbico
Grupo Espacial	Pna2 ₁	Pca2 ₁
Dimensões de Cella (Å)	a = 25,156(2) b = 15,7503(15) c = 6,9637(6)	a = 11,6630(2) b = 10,4966(2) c = 21,1059(4)
Volume (Å ³)	2759,2(4)	2583,82(8)
Z,Z'	4,1	4,1
Dens. Calc. (g.cm ⁻³)	1,218	1,207
Coef. de Absorção (mm ⁻¹)	0,350	2,379
F(000)	1072	1000
θ _{min.} e θ _{max.} (°)	3,199 e 29,712	4,189 e 72,767
Intervalo de Indexação	31 ≤ h ≤ 29, -21 ≤ k ≤ 13, -9 ≤ l ≤ 6.	-8 ≤ h ≤ 14, -12 ≤ k ≤ 9, -26 ≤ l ≤ 25.
Reflexões Coletadas	12637	6235
Reflexões Independentes	5510	3730
	[R _(int) = 0,0408]	[R _(int) = 0,0263]
Completude até θ _{max.} (%)	97,3	100,0
Dados / Restrições / parâmetros	5510 / 1 / 299	3730 / 1 / 295
Qualidade do ajuste em F ²	1,053	1,047
índices R finais [I > 2σ(I)]	R1 = 0,0833, wR2 = 0,2215	R1 = 0,0482, wR2 = 0,1270
R índices R (todos os dados)	R1 = 0,1226, wR2 = 0,2520	R1 = 0,0515, wR2 = 0,1319
Parâmetro de Flack	0,00(17)	0,02(2)
ρ _{max.} e ρ _{min.} (e.Å ⁻³)	0,603 e -0,691	0,335 e -0,356

Fonte: Da autora.

A Figura 4 ilustra a geometria intramolecular das formas BCZHCl e BCZH₂Cl₂. A determinação estrutural confirmou a protonação dos dois nitrogênios pirerazínicos (N1 e N2) no caso do BCZH₂Cl₂ e da protonação de apenas um nitrogênio pirerazínico (N2), (o ligado ao fragmento [dimetiletil- BCZH₂Cl₂ fenil]-metil) no caso da forma BCZHCl. O empacotamento cristalino das formas BCZH₂Cl₂ e BCZHCl são mostrados nas Figuras 5 e 6.

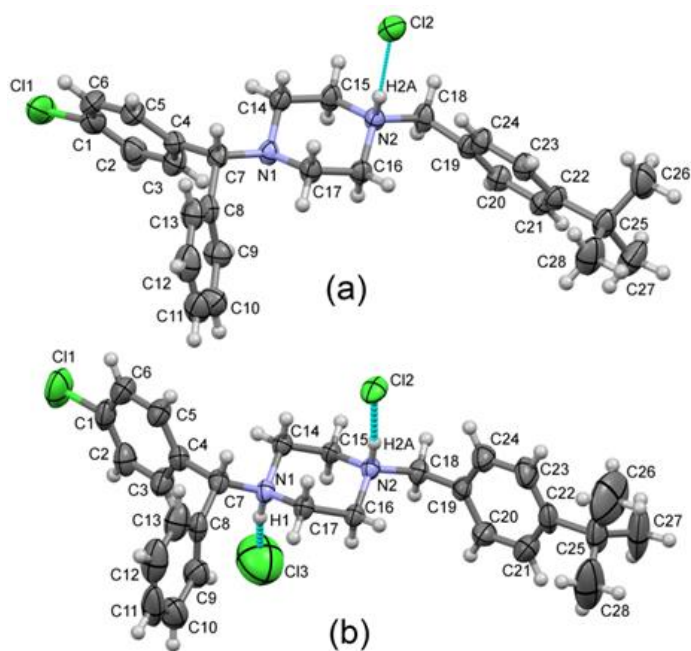


Figura 4 - Representação ORTEP criada pelo programa Mercury das unidades assimétricas das estruturas com elipsoides a 50% de probabilidade. O esquema de identificação de átomos (não-hidrogenoides) também é fornecido. A ligação de hidrogênio entre nitrogênios piperazínicos e o ânion cloreto é representada por linhas pontilhadas ciano:

A) BCZHCl

B) BCZH₂Cl₂

Fonte: Da autora.

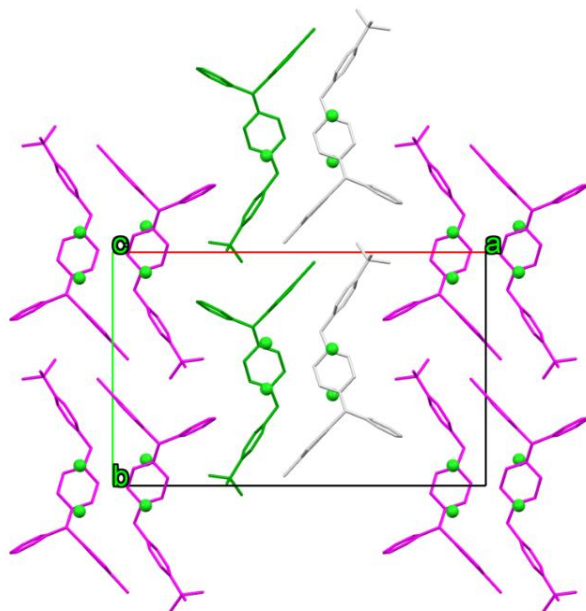


Figura 5 - Representação do empacotamento da forma (S)-BCZH₂Cl₂ vista normal ao plano ab. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da figura. Os contra-íon Cl⁻ estão representados como esferas de cor verde. As cores das moléculas de BCZ representam, arbitrariamente, as quatro moléculas geradas pelas operações de simetria (incluindo as transladadas) do grupo de espaço da estrutura

Fonte: Da autora.

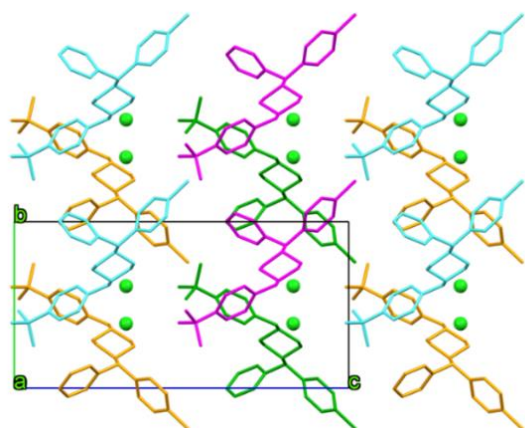


Figura 6 - Representação do empacotamento da forma (S)-BCZHCl vista normal ao plano bc. Os átomos de hidrogênio foram omitidos para maior clareza da figura. Os contra-íon Cl⁻ estão representados por esferas de cor verde. As cores das moléculas de BCZ representam arbitrariamente, as quatro moléculas geradas pelas operações de simetria (incluindo as transladadas) do grupo de espaço da estrutura

Fonte: Da autora.

Para o BCZHCl, o grupamento piperazínico (N1-C14-C15-N2-C16-C17) adota uma conformação do tipo cadeira distorcida com os parâmetros Q , θ e ϕ de 0,598 (6) Å, 4,3 (5) ° e 332 (8)°. Para uma conformação de cadeira ideal, o valor de θ deve ser 0 ou 180°. Os substituintes em BCZHCl (4-cloro-difenilmetano e 1-metil-4-terc-butilbenzeno) ocupam a posição equatorial do anel piperazínico. Ângulos de torção selecionados envolvendo o anel piperazínico e os substituintes para BCZHCl em comparação com BCZH₂Cl₂ são dados na Tabela 7.

Tabela 7- Ângulos de torção selecionados nos sais da BCZ

Ângulos de Torsão (°)	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
N1-C7-C8-C9	-48.8(4)	-43.0(9)
N1-C7-C4-C3	42.6(5)	58.5(9)
C17-N1-C7-C8	-51.3(4)	-62.8(7)
C17-N1-C7-C4	-174.1(3)	172.2(5)
N2-C18-C19-C24	-46.8(5)	-71.9(7)
C16-N2-C18-C19	-47.6(4)	-56.1(7)

Fonte: Da autora.

No seu empacotamento cristalino (FIGURA 5), o par iônico BCZ⁺:Cl⁻ é estabilizado por uma forte ligação de H forte assistida por carga (Figura 4a) envolvendo o átomo de N2 protonado do fármaco e o ânion Cl (N2—H2a•••Cl2).

Além disso, a porção butilfenil, também atua como doadora para o contra-íon (C24 H24 ••• Cl2), estabelecendo com o ânion uma ligação de H do tipo não-clássica (FIGURA 7).

Os pares iônicos também são conectados entre si por meio de duas ligações H não-clássicas adicionais (C13–H13 ••• Cl2 e C17–H17b ••• Ct3) que contribuem para ligar os pares iônicos relacionados à simetria (onde A e B estão relacionados por um plano de deslizamento perpendicular ao eixo b) em cadeias 1D (... A-B-A-B...) ao longo da direção [100] (FIGURA 7). Essas cadeias estão conectadas entre si, ao longo da direção [010], mediante as seguintes ligações de H: C2–H2 ••• Cl2, C15–H15a ••• Ct1 e C16–H16b ••• Ct2 (FIGURA 8). Além disso, as interações C–H ••• π (FIGURA 9) parecem corrigir a orientação adotada pelas metades fenílicas, reduzindo a liberdade de rotação em torno das ligações σ C4-C7, C8-C7 e C18-C19. De modo geral, o empacotamento 3D também é estabilizado por ligações de H não clássicas (C10–H10 ••• Cl1) e outros tipos de interações como : van der Waals (C–H ••• H C) (FIGURA 10). As geometrias de ligação de hidrogênio para BCZHCl estão listadas na Tabela 8.

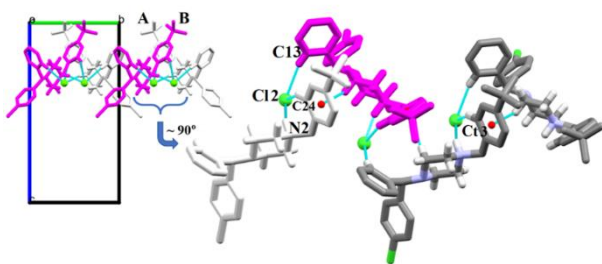


Figura 7 - Vista da cadeia 1D ao longo da direção [100] da estrutura do BCZHCl. As moléculas relacionadas à simetria são representadas nas cores branco e magenta. As esferas vermelhas são os centróides dos anéis fenílicos da molécula. As ligações de hidrogênio são representadas por linhas ciano tracejadas. Os átomos de H não participantes nas interações foram omitidos para maior clareza

Fonte: Da autora.

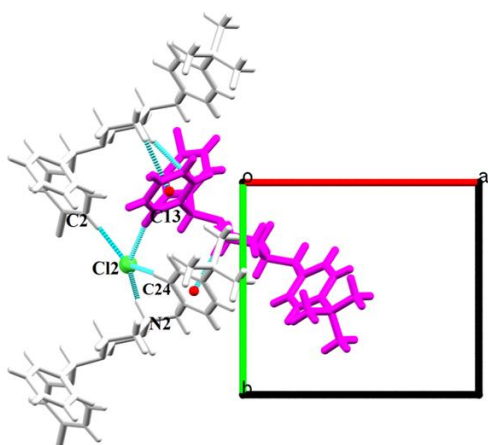


Figura 8 - Visualização das interações inter-cadeias (linhas ciano tracejadas que atuam no agrupamento ao longo da direção [010]). As esferas vermelhas são centróides dos anéis fenílicos da droga. Para maior clareza, apenas os átomos de H envolvendo interações são mostrados

Fonte: Da autora.

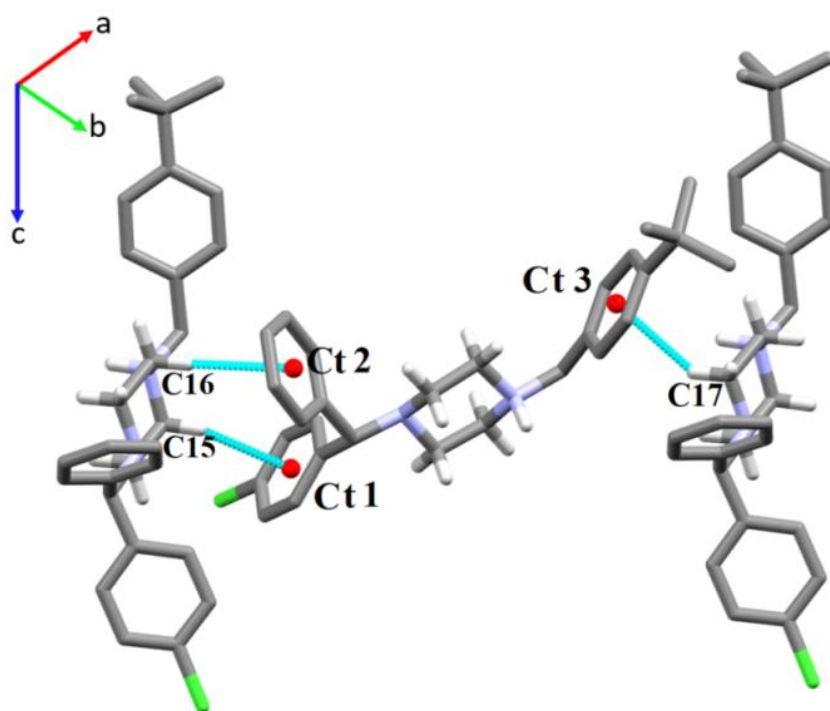


Figura 9 - Fragmento da rede 2D mostrando as ligações de hidrogênio não clássicas C-H \cdots π (linhas ciano tracejadas) em BCZHCI. Ct é o centróide dos anéis fenólicos da molécula. Para maior clareza, apenas os átomos de H envolvendo interações são mostrados

Fonte: Da autora.

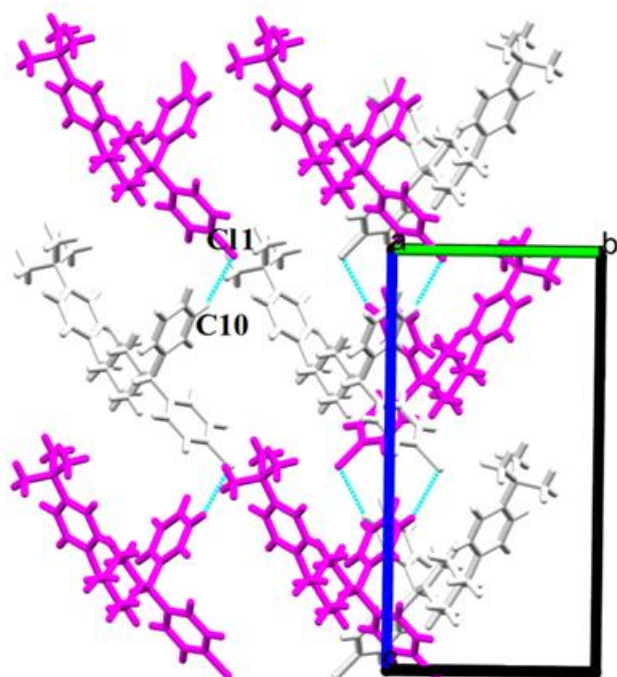


Figura 10 - Vista parcial do empacotamento cristalino do BCZHCI. As ligações de hidrogênio C10-H10 \cdots C11 (linhas cianas tracejadas) são responsáveis por ligar as cadeias ao longo da direção [001]

Fonte: Da autora.

Tabela 8- Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do BCZHCl

Interação	D...H(Å)	D...A(Å)	H...A(Å)	D-H...A(°)	Código de Simetria
N2-H2a...Cl2	0.98	3.024(3)	2.09	158	x, y, z
C24-H24...Cl2	0.93	3.777(4)	2.97	146	x, y, z
C13-H13...Cl2	0.93	3.774(5)	2.84	165	-1/2+x, -1-y, z
C2-H2...Cl2	0.97	3.775(5)	3.05	136	x, +1+y, z
C10-H10...Cl1	0.93	3.627(6)	2.87	140	+1/2-x, y, -1/2+z
C15-H15a...Cl1	0.97	3.560(4)	2.72	145	1/2+x, -y, z
C16-H16a...Cl2	0.97	3.936(5)	2.98	173	1/2+x, -y, z
C17-H17b...Cl3	0.97	3.498(4)	2.83	129	-1/2+x, -1-y, z

Fonte: Da autora.

O anel piperazínico do BCZH₂Cl₂ também o adota uma conformação de cadeira distorcida, com os parâmetros de Q, θ e φ de 0,593 (6) Å, 2,2 (6) e 21 (33)°, respectivamente. Apesar dos substituintes 4-cloro-difenilmetano e 1-metil-4-terc-butilbenzo no BCZH₂Cl₂ também ocuparem a posição equatorial do anel piperazínico, eles apresentam uma geometria conformacional ligeiramente diferente da forma BCZHCl (FIGURA 11 e TABELA 7).

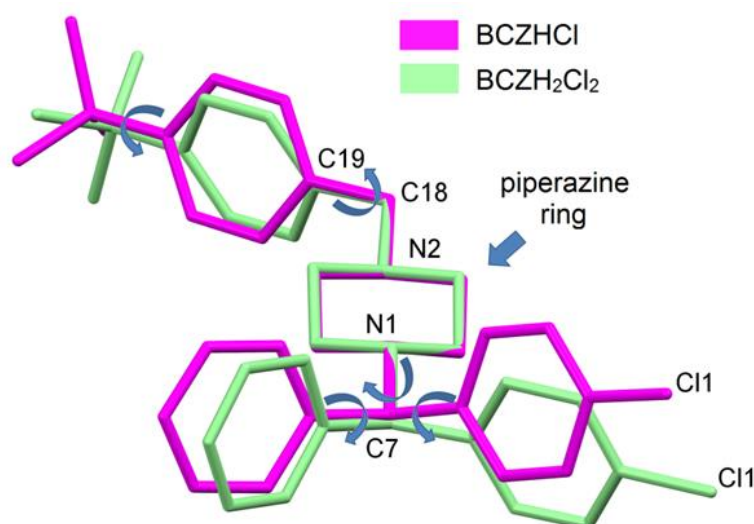


Figura 11 - Sobreposição dos esqueletos dos isômeros BCZHCl e BCZH₂Cl₂. As estruturas foram sobrepostas considerando todos os átomos de hidrogênio piperazínicos não homólogos, usando o cálculo de sobreposição de estrutura do Mercury (RMS = 0,0337). Para maior clareza, os átomos de hidrogênio foram omitidos

Fonte: Da autora.

No cristal, os átomos de N1 e N2 protonados atuam como doadores de ligação de H para os ânions cloreto, estabelecendo com eles duas ligações de H assistidas por carga (N2–H2a•••Cl2 e N1–H1•••Cl3) (FIGURA 4b).

Além disso, o par iônico também é estabilizado por uma série de ligações de H não clássicas, que se propagam por translação ao longo da direção [001] (FIGURA 12 e TABELA 9), envolvendo ambos os ânions Cl, todos os átomos de H piperazínicos em posições apicais (H14a, H15a, H16b e H17b), alguns átomos de H aromáticos (H3, H5, H9 e H24) e o átomo de H metilênico (H7). Essas interações parecem ser a causa das diferenças conformacionais relacionadas anteriormente (FIGURA 11 e TABELA 7).

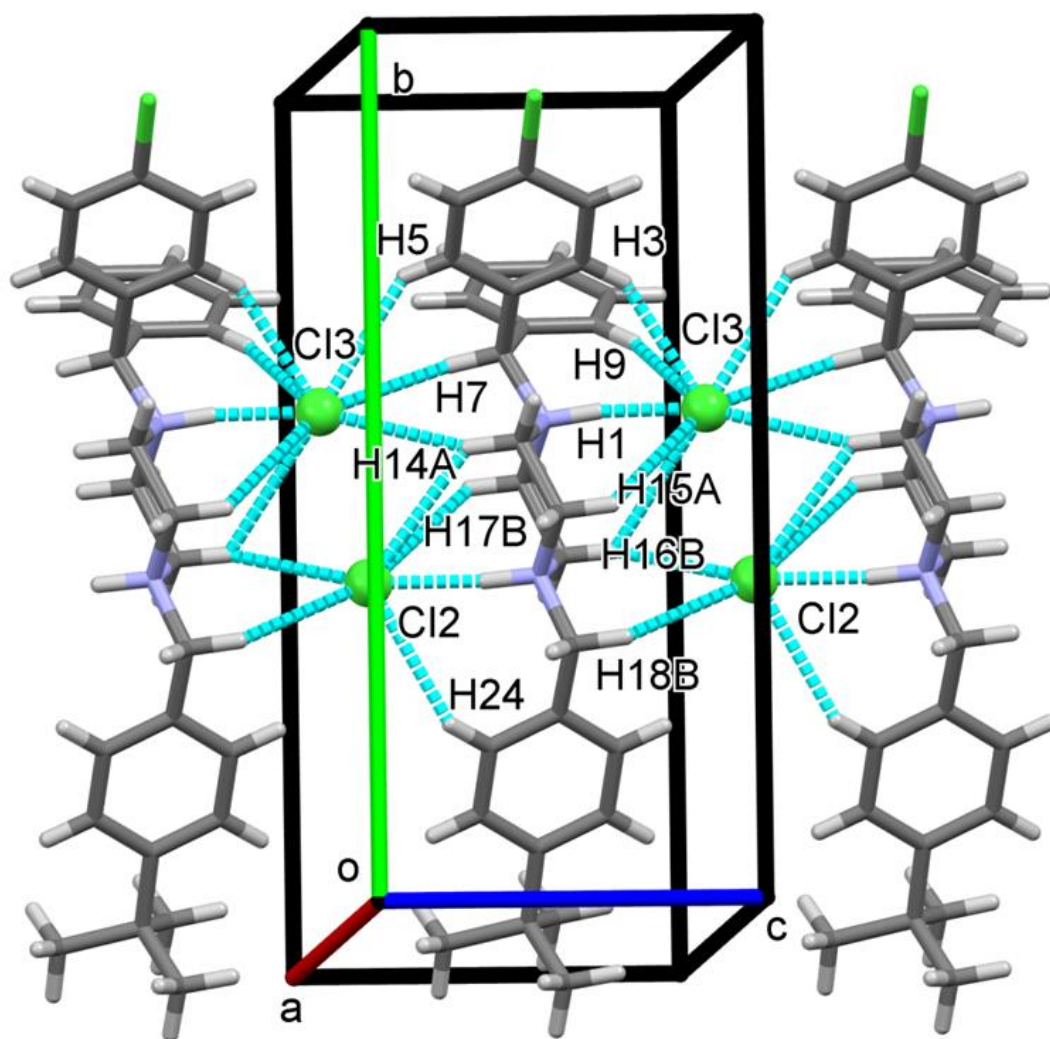


Figura 12 - Cadeia iônica ao longo de [001] estabilizada por ligações de hidrogênio não clássicas, representadas em linhas ciano tracejadas

Fonte: Da autora.

Tabela 9- Parâmetros geométricos das ligações de hidrogênio do BCZH₂Cl₂

Interação	D...H(Å)	D...A(Å)	H...A(Å)	D-H...A(°)	Código de Simetria
N2-H2...Cl2	0,98	3,065(5)	2,09	174	x, y, z
N1-H1...Cl3	0,98	2,933(9)	1,97	166	x, y, z
C16-H16b...Cl2	0,98	3,635(7)	2,76	151	x, y, z+1
C16-H16b...Cl3	0,97	3,798(9)	3,15	126	x, y, z
C18-H18b...Cl2	0,97	3,632(7)	2,77	148	x, y, z+1
C17-H17b...Cl2	0,97	3,770(7)	3,06	131	x, y, z
C15-H15b...Cl2	0,97	3,553(5)	2,96	121	-x+1, -y+1, z+1/2
C15-H15b...Cl3	0,97	3,686(8)	2,75	163	-x+1, -y+1, z-1/2
C15-H15a...Cl3	0,97	3,577(9)	2,85	132	x, y, z
C14-H14a...Cl2	0,97	3,781(7)	3,06	132	x, y, z
C14-H14a...Cl3	0,97	3,720(9)	2,82	154	x, y, z-1
C14-H14b...Cl2	0,97	3,704(6)	3,05	126	-x+1, -y+1, z+1/2
C7-H7...Cl3	0,98	3,650(1)	2,74	154	x, y, z-1
C24-H24...Cl2	0,93	3,677(8)	2,94	137	x, y, z
C5-H5...Cl3	0,93	3,676(1)	2,89	143	x, y, z-1
C3-H3...Cl3	0,93	3,504(1)	2,71	144	x, y, z
C9-H9...Cl3	0,93	3,577(1)	2,69	161	x, y, z
C27-H27b...Cl1	0,96	3,769(1)	2,81	173	x, -1+y, z

Fonte: Da autora.

A presença de um eixo de 21 parafusos paralelo ao eixo c leva à formação de cadeias duplas (... A-A-A... e... B-B-B...) ao longo da direção [100] (FIGURA 13). As cadeias relacionadas interagem através dos átomos de hidrogênio piperazínicos em posição equatorial

e ânions cloreto: C15-H15b \cdots Cl2, C15-H15b \cdots Cl3 e C14 – H14b \cdots ligações Cl2-H (FIGURA 13 e TABELA 9).

Essas interações, juntamente com o C27-H27b \cdots Cl1 (que liga as essas mesmas cadeias duplas ao longo do eixo b), dão origem a camadas duplas paralelas ao plano (100). As camadas duplas, por sua vez, empacotam ao longo da direção [100] mediante ligações de van der Waals (FIGURA 14).

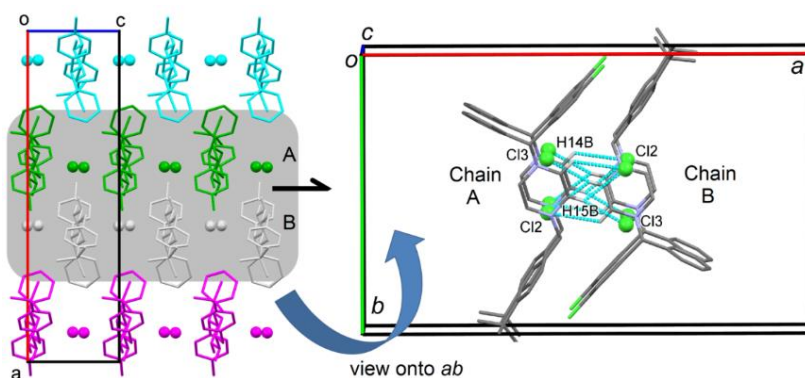


Figura 13 - Vista do empacotamento de cristal em planos ac (direita) e ab (esquerda) mostrando a cadeia dupla formada ao longo da direção [001], estabilizada por ligações H não clássicas e relacionada pelo eixo de parafusos paralelo ao eixo c. Átomos de hidrogênio não envolvidos nas ligações H foram omitidos para maior clareza

Fonte: Da autora.

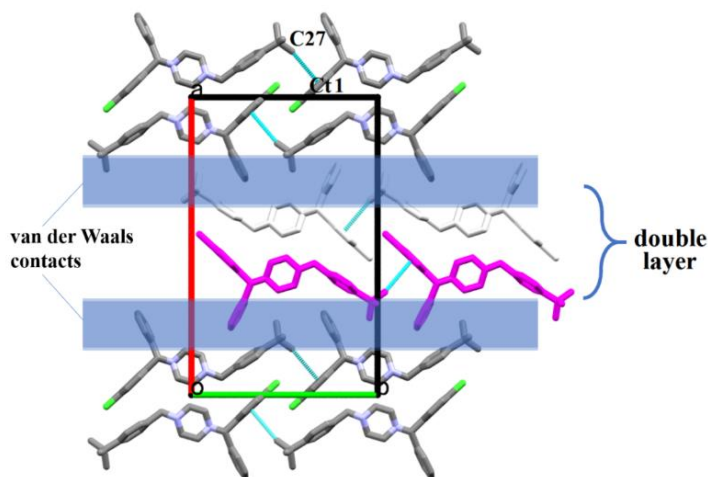


Figura 14 - Empacotamento do cristal ao longo da direção [001]. As ligações de hidrogênio C-H... π (linhas cianas tracejadas) são responsáveis por ligar as mesmas cadeias ao longo da direção [010]

Fonte: Da autora.

5.2 Caracterização das formas obtidas

5.2.1 Análises por difração de raios X por policristais (DRXP)

O estabelecimento do protocolo de obtenção da BCZ-BL e da BCZHCl exigiu inúmeras tentativas de neutralização/cristalização que foram acompanhadas por meio de DRXP.

Conseguiu-se obter a BCZ-BL puro dissolvendo o BCZH₂Cl₂ em uma mistura etanol:água 1:1 (v:v) (pH inicial 2,7) e elevando-se o pH até 5,8 por meio de adição de NaOH 1,0 mol.L⁻¹. Para a obtenção do BCZHCl puro, o solvente usado para dissolver o BCZH₂Cl₂ foi outro, uma mistura metanol:água 1:1 (v:v) (pH inicial 2,3) e o pH foi elevado até um valor menor, pH =4,8. Além das variações de solvente e pH, outra variável importante para a obtenção de material cristalino das novas formas, foi o envelhecimento dos precipitados formados com a adição de NaOH 1,0 mol.L⁻¹ sem separá-los da solução de equilíbrio. Tanto para o BCZ-BL quanto o BCZHCl, observou-se que o sólido recém-formado apresentavam um halo amorfo nos DRXP. O surgimento de picos de Bragg indicando a sua transformação (termodinamicamente esperado) para uma fase cristalina só foi observado a partir do 10º dia de obtenção do material sólido (FIGURA 15).

A diferença dos padrões de DRXP das formas obtidas por recristalização/neutralização (BCZHCl e BCZ-BL) em comparação ao do BCZH₂Cl₂ permitiu inferir que tratavam-se de formas distintas (FIGURA 16). Posteriormente, foi possível comparar os padrões de raios experimentais e calculados (a partir dos resultados de DRXM) das formas BCZH₂Cl₂ e BCZHCl, confirmando a obtenção de seus *bulk* puro e, para o caso do BCZHCl, a sua obtenção (FIGURA 16). Para a BCZ-BL não foi possível fazer essa comparação de difratogramas experimental e calculado tendo em vista o insucesso de obtenção de seus monocristais e assim a sua determinação estrutural. Contudo, devido as diferenças significativas do seu padrão de DRXP experimental em comparação aos das outras duas formas, infere-se que seu *bulk* puro foi obtido, o que foi corroborado pelos dados de quantificação química, TG, DSC e infravermelho.

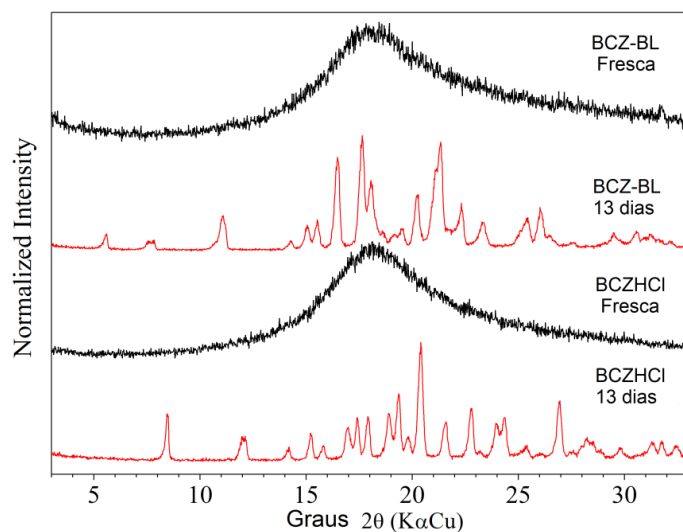


Figura 15 - Difratoqramas de raios X por policristais que demonstram a influência do tempo de envelhecimento na cristalinidade das formas BCZ-BL e BCZHCl

Fonte: Da autora.

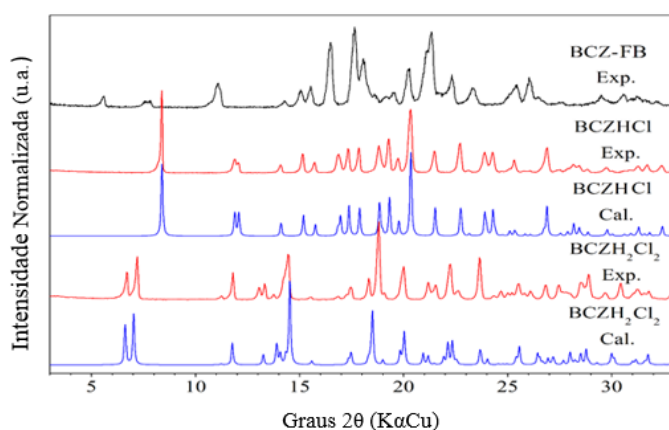


Figura 16 - Difratoqramas de raios X por policristais, experimentais (Exp.) e calculados (Calc.) do BCZH₂Cl₂ e da BCZHCl. O difratograma experimental da BCZ-BL também foi incluído

Fonte: Da autora.

5.2.2 Infravermelho

As principais bandas de absorção para as formas estudadas estão descritas na Tabela 10 e Figura 17. As atribuições foram realizadas em comparação com dados de literatura tabelados para os respectivos grupos funcionais (PAVIA et al., 2013; SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2005).

Tabela 10- Atribuições das bandas do espectro infravermelho aos grupos correspondentes nas formas BCZH₂Cl₂, BCZHCl e BCZ-BL

Atribuição	Grupo	Forma Sólida	Número de Onda (cm ⁻¹)
Estiramento C-H	Aromático	BCZ-BL BCZHCl BCZH ₂ Cl ₂	3051
Estiramento C-H	Alifático e CH ₃ -N	BCZ-BL BCZHCl BCZH ₂ Cl ₂	2806 2961
Estiramento N-H	NH ⁺	BCZ-BL BCZHCl BCZH ₂ Cl ₂	----- 2326 2347

Fonte: Da autora.

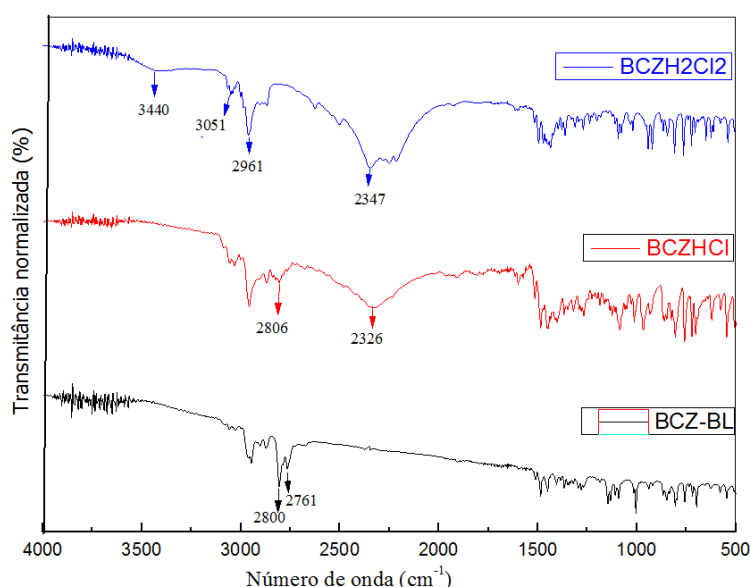


Figura 17 - Espectros de absorção no infravermelho na região de 4000 - 500 cm⁻¹

Fonte: Da autora.

O espectro do BCZH₂Cl₂ (FIGURA 17) é semelhante ao anteriormente publicado (MOSTAFA; AL-BADR, 2011) apresentando picos característicos em 3051 cm⁻¹ (estiramento de C-H aromático), 2961 cm⁻¹ (estiramento de C-H alifático) e 2347 cm⁻¹ (estiramento de R³-N⁺-H). Uma vez que aminas terciárias não absorvem na região 3700-3100 cm⁻¹, a banda alargada em 3440 cm⁻¹ presente no espectro do BCZH₂Cl₂ é provavelmente devido à presença de água de umidade da amostra (SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J., 2005; LARKIN, 2017). Por outro lado, espera-se que grupos de sais de aminas terciárias apresentem um pico alargado e intenso na faixa de 2770-2380 cm⁻¹ atribuído ao estiramento de

N^+-H (SILVERSTEIN ; WEBSTER ; KIEMLE, 2005; LARKIN, 2017). Portanto, as bandas largas observadas nos espectros do $BCZH_2Cl_2$ e do $BCZHCl$ com respectivas intensidades máximas em 2347 e 2326 cm^{-1} são características dos cátions $BCZH_2^{2+}$ ou $BCZH^+$, permitindo diferenciar formas salinas da BCZ de sua forma base livre que (sem protonação dos nitrogênios piperazínicos). Adicionalmente, observa-se que a intensidade da banda atribuída ao estiramento de N^+-H é maior para o $BCZH_2Cl_2$ do que $BCZHCl$, o que pode estar correlacionado com o número de átomos de nitrogênios protonados do anel piperazínico (dois no $BCZH_2Cl_2$ e um no $BCZHCl$). Portanto, a diferença de intensidade referente ao estiramento de N^+-H poderia ser um parâmetro para discriminar sais mono ($BCZH^+$) e diácidos ($BCZH_2^{2+}$) da BCZ. Outra diferença nos espectros das formas salinas é a presença de uma banda em 2806 cm^{-1} observada somente para o $BCZHCl$. Sabe-se que grupos metilênicos próximos a átomos de nitrogênio de aminas terciárias resultam em dupletos com frequências próximas em torno de 2800 cm^{-1} (LARKIN, 2017). Portanto, a ausência da banda à 2806 cm^{-1} no espectro do $BCZH_2Cl_2$ está correlacionado à protonação de seus dois nitrogênios piperazínicos, o que aumenta a constante de força da ligação C-H, deslocando essas bandas para uma região de maior frequência coincidentes as de outras bandas nesta faixa espectral (por exemplo, aqueles em 3051 e 2961 cm^{-1}). No entanto, como apenas um dos dois átomos de nitrogênio piperazínico está desprotonado na forma $BCZHCl$, o estiramento de C-H próximo a amina terciária aparece na região esperada de 2800 cm^{-1} . Essa portanto, é uma outra característica que permite discriminar os sais mono e diácidos da BCZ. Nenhuma banda é observada na faixa de 2770-2380 cm^{-1} do espectro da BCZ-BL acusando a ausência de estiramentos de N^+-H e que portanto os dois átomos de nitrogênio do anel piperazínico estão desprotonados. Adicionalmente, o espectro BCZ-BL mostra o duplete (picos em 2800 e 2761 cm^{-1}) esperado para estiramentos de grupos metilênicos próximos a aminas terciárias, o que corrobora a desprotonação de ambos os nitrogênios piperazínicos. Em resumo, a análise espectral na região do infravermelho permitiu discriminar as três formas cristalinas da BCZ estudadas nesse trabalho.

5.2.3 Análise Térmica

As curvas de TG e DSC das formas cristalinas do $BCZH_2Cl_2$, $BCZHCl$ e BCZ-BL são mostradas na Figura 18.

A curva de DSC da BCZ-BL apresenta um evento endotérmico em torno de 105 °C referente da fusão. A curva de TG mostra que a fase líquida obtida a partir da BCZ-BL é estável até aproximadamente 250 °C, temperatura em que inicia sua decomposição que se completa à aproximadamente 350 °C.

A curva de DSC da BCZHCl não mostra, como esperado, o pico de fusão próximo a 100 °C como observado para a BCZ-BL. Observa-se um evento endotérmico largo com dois picos (227 e 240 °C) sugerindo a fusão seguida da imediata decomposição da amostra. A curva de TG correspondente mostra uma inflexão antes de 250 °C temperatura em que 7,5% sua massa inicial foi perdida. A perda de massa até essa temperatura pode ser atribuída a saída do cloreto presente na estrutura na forma de Cl⁻ (calculado 7,5%) em acordo com a estequiometria 1:1 BCZ:Cl da forma BCZHCl.

Curvas de DSC e TG foram obtidas para a forma BCZH₂Cl₂. O pico atribuído à fusão acompanhado da decomposição é evidenciado em aproximadamente 206 °C. Um segundo pico ocorre em aproximadamente 243 °C. A curva TG apresenta duas inflexões no intervalo entre 200 a 270 °C atribuídos à saída dos cloretos na forma de Cl⁻ em duas etapas. Um decréscimo de massa total de 14% (calc. 14%) é observado até o final desse intervalo, corroborando a estequiometria 1:2 BCZ:Cl da forma BCZH₂Cl₂.

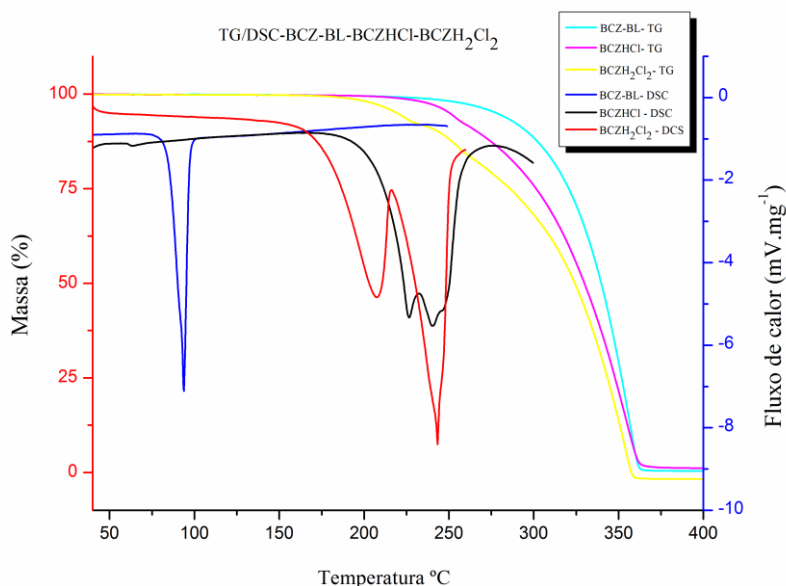


Figura 18 - Curvas TG e DSC para as formas BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂
Fonte: Da autora.

5.2.4. Teor das formas de BCZ obtidas

O teor de BCZ nas amostras policristalinas das formas BCZ-BL, BCZH₂Cl₂ e BCZHCl são apresentados na Tabela 11. Mediante critério de aceitação de 98,0 a 102,0%, conclui-se que os resultados são satisfatórios para o doseamento das formas.

Tabela 11- Doseamento de BCZ nos materiais policristalinos de BCZ-BL, BCZH₂Cl₂ e BCZHCl

Forma Sólida	Teor (%)	DPR (%)
BCZ-BL	99,5	0,01
BCZHCl	99,6	0,3
BCZH ₂ Cl ₂	99,2	0,8

Fonte: Da Autora.

5.3 Validação parcial do método de doseamento

5.3.1 Seletividade

Não foi observado a ocorrência de picos interferentes no mesmo tempo de retenção da BCZ em nenhuma das soluções injetadas. Além disso, considerando que o parâmetro do software Chromeleon 6.8 para pureza de pico seja 1000, ao avaliar o pico da BCZ (FIGURA 19), conclui-se que seu valor obtido é próximo de 1000 (aproximadamente 999). Ou seja, não existe mais nenhum pico secundário coeluinto com a buclizina, confirmando a seletividade do método.

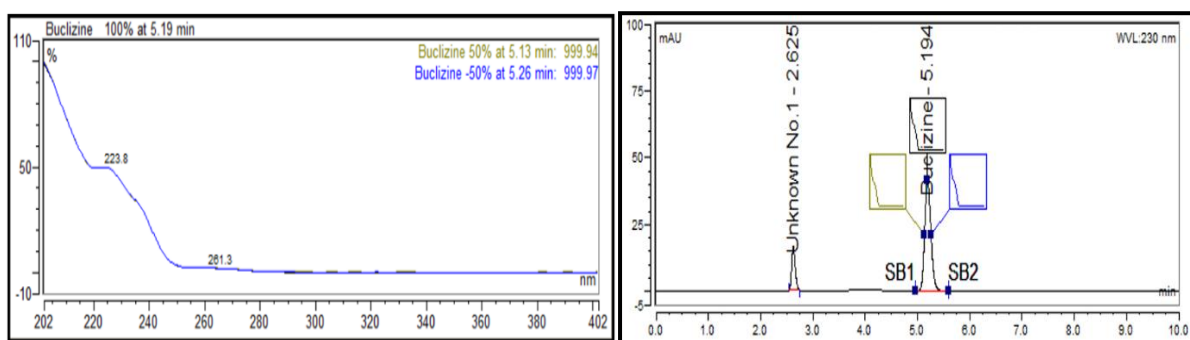


Figura 19 - Demonstração da pureza de pico e espectro da BCZ entre 200 a 400 nm

Fonte: Da autora, adaptando saída gráfica do software Chromeleon 6.8.

5.3.2 Linearidade

A linearidade do método apresentou $r = 0,9993$ e $r^2 = 0,9987$ (FIGURA 20). Sendo o critério de aceitação $r \geq 0,990$, concluiu-se que o método é linear na faixa de concentração de 3,00 a 20,00 $\mu\text{g.mL}^{-1}$. Além disso, os dados foram considerados homocedásticos, pois o C calculado foi de 0,4562 e é menor que o C tabelado (0,4775). Também confirmou-se a significância do coeficiente angular, pois o F calculado = 19118,92 é maior que o F crítico (4,24). Mediante gráfico de resíduo (FIGURA 21) e sua avaliação estatística, em que $p = 0,3525$ foi maior que 0,05, concluiu-se que dados obedecem uma distribuição normal e não apresentam tendências.

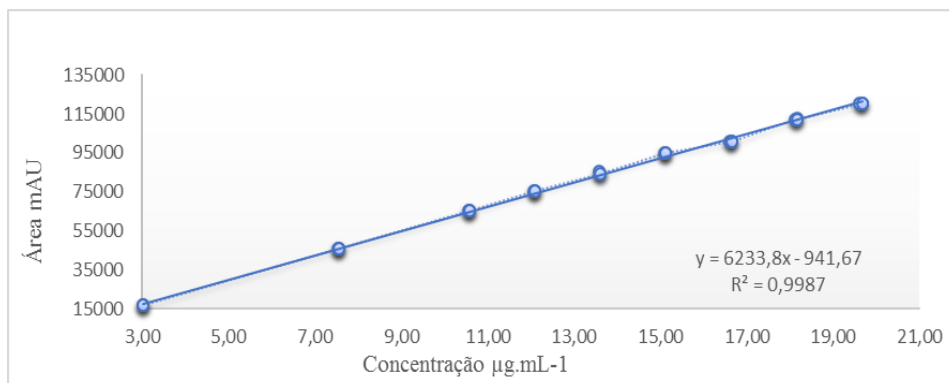


Figura 20 - Curva analítica para quantificação da BCZ em análises de doseamento
Fonte: Da autora.

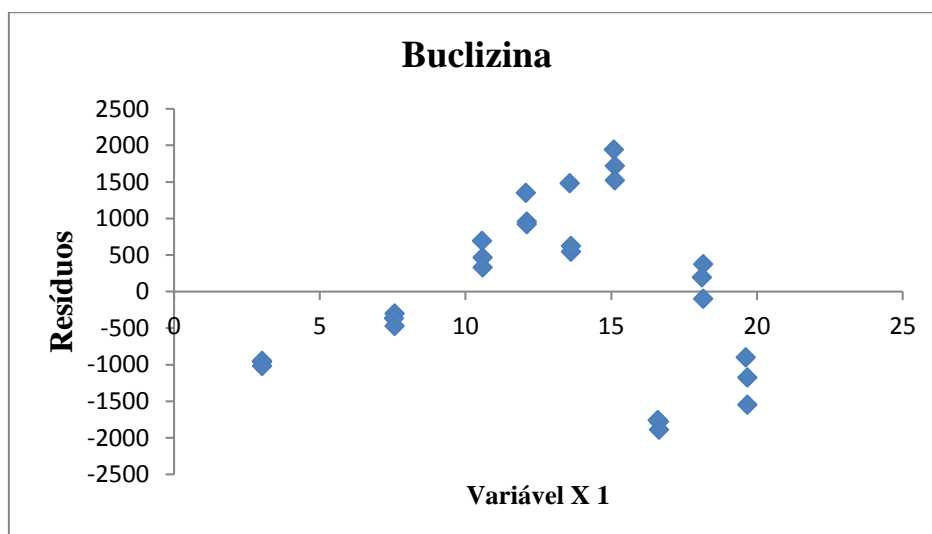


Figura 21 - Gráfico de Resíduo para quantificação da BCZ em análises de doseamento
Fonte: Da autora.

5.3.3 Precisão

Sendo o critério de aceitação DPR (%) $\leq 2,0$, concluiu-se que para todos os meios, o método foi preciso (TABELA 12).

Tabela 12- Resultados da precisão para o doseamento de BCZH₂Cl₂

Amostra	HCl 0,01 mol.L ⁻¹	HCl 0,1 mol.L ⁻¹	pH 4,5	pH 6,8	pH 7,5	Água
1	101,1	101,0	98,6	99,3	97,4	98,3
2	102,5	99,1	99,8	100,5	98,7	98,6
3	98,5	100,3	98,9	98,7	97,8	101,0
4	99,9	102,9	98,0	97,2	100,9	101,6
5	101,1	98,7	99,8	98,3	98,3	98,0
6	99,5	102,0	98,7	98,8	98,2	99,5
Média (%)	100,4	100,7	99,0	98,8	98,6	99,5
DPR (%)	1,3	1,6	0,7	1,1	1,3	1,5

Fonte: Da autora.

5.3.4 Exatidão

A exatidão do método foi verificada através da porcentagem média de recuperação e do desvio padrão relativo (TABELA 13). Sendo os critérios de aceitação: DPR < 2% e recuperação 100 \pm 2%, concluiu-se que o método é exato.

Tabela 13- Resultados da exatidão para o doseamento

Conc %	Conc Teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Conc Obtida ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	Média e DPR (%)
50-1 %	7,58	7,47	98,5	
50-2 %	7,50	7,40	98,7	M=98,6
50-3 %	7,70	7,60	98,7	DPR=0,1
100-1 %	15,22	15,14	99,5	
100-2 %	15,37	15,24	99,2	M=99,4
100-3 %	15,25	15,17	99,5	DPR=0,2
120-1 %	18,17	18,13	99,8	
120-2 %	18,37	18,38	100	M=99,9
120-3 %	18,51	18,47	99,8	DPR=0,1
Média Total (%) =99			DPR (%)=0,6	

Fonte: Da autora.

5.3.5 Estabilidade da Solução Padrão

O valor obtido de recuperação em relação a concentração na análise inicial (hora zero), foi satisfatória para todos os tempos (TABELA 14). Sendo o critério de aceitação porcentagem de recuperação de $100 \pm 2\%$, concluiu-se que a solução quando armazenada a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ apresenta estabilidade por 96 horas.

Tabela 14- Estabilidade da solução padrão (% recuperação em relação à hora zero (HO))

Tempo (horas)	Conc ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)
0	15,01	-----
24	15,10	100,6
48	15,08	100,5
72	15,04	100,2
96	15,15	100,9

Fonte: Da autora.

5.4 Estudo de solubilidade

Para a discussão das solubilidades encontradas nos diferentes meios, é importante considerar as faixas de pH em que as três espécies ácido-base da BCZ, a BCZH_2^{2+} , a BCZH^+ e a BCZ^0 , são favorecidas. Contudo, não foram encontrados na literatura os pKa referentes às protonações/desprotonações ($\text{BCZH}_2^{2+} \xrightarrow{Ka1} \text{BCZH}^+ + \text{H}^+ \xrightarrow{Ka2} \text{BCZ}^0 + \text{H}^+$) dos dois nitrogênios piperazínicos da BCZ. Portanto, os pKas tiveram que ser calculados utilizando o software ChemSketch da ACDLabs, sendo encontrados os seguintes valores: $\text{pKa}_1 = 2,12$ e $\text{pKa}_2 = 6,55$. Os pKa_1 e pKa_2 envolvem a protonação/desprotonação dos nitrogênios piperazínico ligados aos grupos [(4-clorofenil)fenilmetil] e [[4-(1,1-dimetiletil)fenil]-metil], respectivamente (FIGURA 1). O diagrama das frações molares das espécies pH-dependente da BCZ (FIGURA 22), considerando os valores calculados de pKa_1 e pKa_2 , mostra as faixas de pH em que as três espécies têm prevalência.

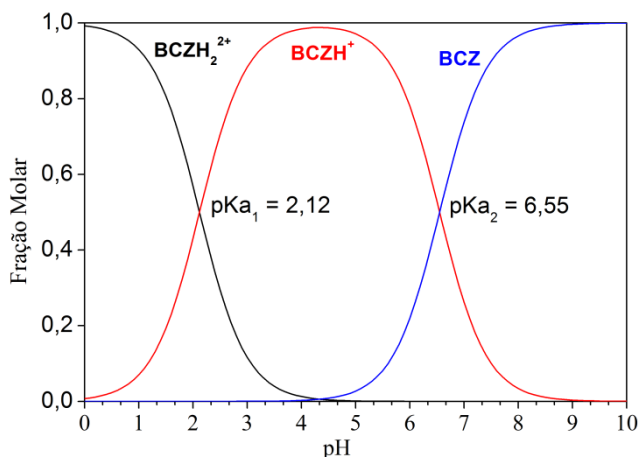


Figura 22 - Diagrama de distribuição das diferentes espécies da BCZ em função do pH calculadas a partir de seus pKas. A fração molar (α) de cada espécie foi calculada da seguinte maneira: $\alpha_2 = [BCZH_2^{2+}]/C = (1 + (Ka_1/[H^+]) + (Ka_1 \times Ka_2/[H^+]^2))^{-1}$; $\alpha_1 = [BCZH^+]/C = \alpha_2(Ka_1/[H^+])$; $\alpha_0 = [BCZ^0]/C = \alpha_2(Ka_1 \times Ka_2/[H^+]^2)$; onde $\alpha_0 + \alpha_1 + \alpha_2 = 1$ e $C = [BCZH_2^{2+}] + [BCZH^+] + [BCZ^0]$. Curvas mostram o pH em intervalos de 0,1

Fonte: Da autora.

Outra informação importante que deve ser considerada antes de discutir os resultados de solubilidade, são os pHs finais dos meios onde foram feitos os experimentos. Observa-se, como esperado, que houve uma ligeira variação comparando as diferentes formas e os pH iniciais e finais para os meios não tamponados, HCl 0,1 mol.L⁻¹, HCl 0,01 mol.L⁻¹ e a água (TABELA 15).

Tabela 15- Solubilidade em equilíbrio ($\mu\text{g.mL}^{-1}$) para BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂; pH inicial (pHi) e pH final (pHf) no equilíbrio de cada solução

Meio	BCZ-BL	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
HCl 0,01 mol.L ⁻¹ pH = 2,2	75,7 ± 1,9 pHi = 2,1 pHf = 2,9	36,0 ± 3,1 pHi = pHf = 2,1	19,9 ± 1,2 pHi = 2,4 pHf = 1,9
HCl 0,1 mol.L ⁻¹ pH = 1,2	51,1 ± 1,9 pHi = pHf = 1,2	30,3 ± 1,1 pHi = 1,1 pHf = 1,2	12,2 ± 0,8 pHi = 1,1 pHf = 1,2
Tampão acetato de sódio pH 4,5	^a ND pHi = pHf = 4,5	3,1 ± 0,1 pHi = pHf = 4,5	16,3 ± 0,9 pHi = pHf = 4,5
Água ultrapura pH 6,8	^a ND pHi = 5,1 pHf = 4,6	18,4 ± 0,7 pHi = 3,9 pHf = 3,3	34,8 ± 1,6 pHi = 3,4 pHf = 2,8
Tampão fosfato pH 6,8	^a ND pHi = pHf = 6,8	^a ND pHi = pHf = 6,8	^a ND pHi = pHf = 6,8
Tampão fosfato pH 7,5	^a ND pHi = pHf = 7,5	^a ND pHi = pHf = 7,5	^a ND pHi = pHf = 7,5

^aND = não detectável.

Fonte: Da autora.

As três formas estudadas mostraram-se mais solúveis no meio HCl 0,01 mol.L⁻¹ onde os pHs finais ficaram entre 1,9 e 2,9 (TABELA 15 e FIGURA 23). Esse comportamento era esperado devido a provável formação da espécie BCZH₂²⁺ e/ou BCZH⁺ em solução em pHs abaixo de 4,5 (FIGURA 22). Observa-se ainda que a ordem de solubilidade nesse meio foi BCZ-BL > BCZHCl > BCZH₂Cl₂. Ou seja, a base livre possui solubilidade superior à dos sais estudados. Esse comportamento pode estar associado ao efeito do íon-comum, que tende a diminuir a solubilidade dos dois sais de BCZ que têm o cloreto como contra-íon. Essa hipótese é reforçada pelo fato de a solubilidade das três formas terem sido reduzidas (TABELA 15 e FIGURA 23) quando a concentração do ácido foi aumentada em 10 vezes (meio HCl 0,1 mol.L⁻¹, pH final = 1,2).

Já em água, a base livre se mostrou insolúvel mesmo havendo a redução do pH final da solução (pH = 4,6) para um valor abaixo do pKa₂. Observa-se ainda que a solubilidade em água da forma BCZH₂Cl₂ (pH final = 2,8) foi maior do que a da BCZHCl (pH final = 3,3), invertendo a tendência dos dois meios HCl onde a BCZHCl foi mais solúvel do que o BCZH₂Cl₂. A maior solubilidade do BCZH₂Cl₂ em relação ao BCZHCl em água sugere que sob ausência do efeito do íon-comum, o processo exotérmico envolvendo a solvatação das espécies iônicas liberadas para solução versus o processo endotérmico envolvendo a liberação das mesmas de suas respectivas redes cristalinas, favorece mais a solubilidade do BCZH₂Cl₂ do que o BCZHCl. É importante destacar ainda que a solubilidade da forma BCZH₂Cl₂ em água é maior do que nos meios HCl 0,1 e 0,01 mol.L⁻¹ e vice-versa para o caso da BCZHCl.

De forma similar ao observado no meio água, a base livre mostrou-se insolúvel no meio acetato de sódio pH 4,5, indicando que o pH desse meio (pH final = 4,5) não favorece a sua dissolução, mesmo estando abaixo do pKa₂ da BCZ. Nesse meio, a forma BCZH₂Cl₂ (pH final = 4,5) é aproximadamente 5 vezes mais solúvel do que a BCZHCl (pH final = 4,5). Para o caso do BCZH₂Cl₂ o valor de solubilidade é comparável aos alcançados nos meios HCl 0,1 e 0,01 mol.L⁻¹.

Em tampão fosfato pH 6,8 e pH 7,5 nenhuma das formas se solubilizou, o que está de acordo com o esperado considerando que esses pHs estejam acima do pKa₂ da buclizina (TABELA 15 e FIGURAS 22 e 23).

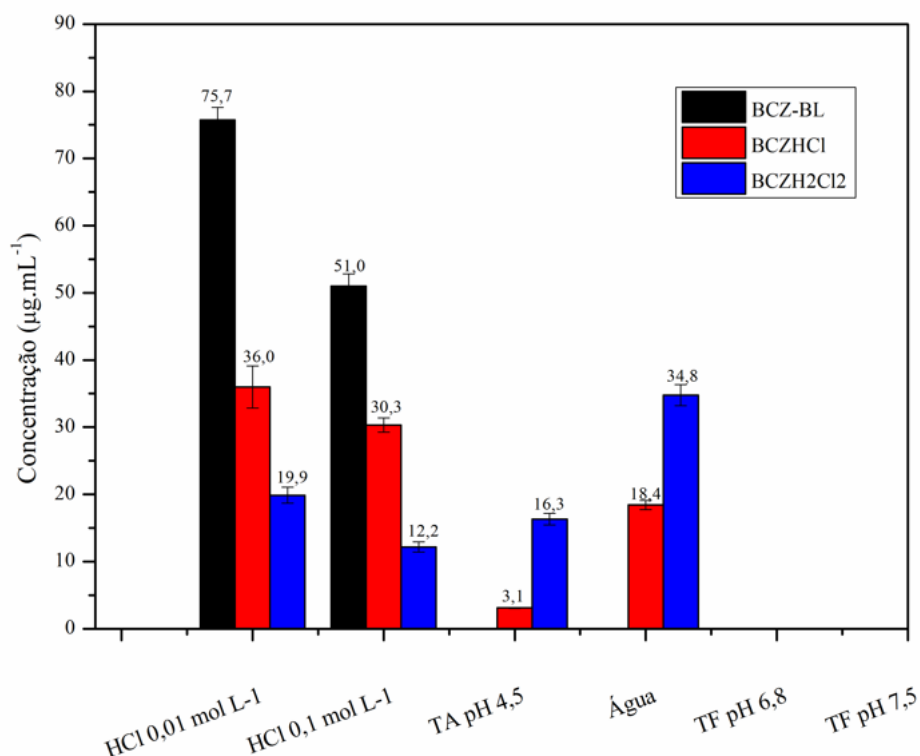


Figura 23 - Ensaio de solubilidade das formas salinas e BCZ-BL em diferentes meios
Fonte: Dados autora.

Seguindo o critério adotado pelo FDA (FDA, 2000), um fármaco é considerado altamente solúvel, quando a sua maior dose comercial disponível no mercado, seja solúvel em no máximo 250 mL de solução aquosa, contemplada na faixa de pH de 1,0-7,5 a $37 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Ao extrapolar os resultados de solubilidade e dose/solubilidade para o Sistema de classificação biofarmacêutica (SCB), pode-se concluir que as três formas devam ser classificadas como de classe II (baixa/solubilidade e alta permeabilidade) ou IV (baixa/solubilidade e baixa permeabilidade).

As três formas sólidas apresentam solubilidades distintas nos meios HCl 0,01 mol.L⁻¹, HCl 0,1 mol.L⁻¹, acetato de sódio pH 4,5 e água em um nível de significância de 5%, sendo que o P-value foi de 0,0 (<0,05) para BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂. O corpo de fundo separado das alíquotas de cada meio, após o ensaio de solubilidade de equilíbrio, foram analisados por DRXP.

Nos meios ácidos de HCl 0,01 mol.L⁻¹ e HCl 0,1 mol.L⁻¹ os difratogramas experimentais dos precipitados de BCZH₂Cl₂ e BCZHCl foram coincidentes com os seus respectivos padrões de difração calculados (FIGURAS 24 e 25). Para o experimento com a BCZ-BL ocorreu a conversão da estrutura cristalina da fase inicial para a do BCZHCl (FIGURAS 24 e 25). A

concentração de trabalho do HCl empregado e conseqüentemente, seus valores de pH final, pode ser o motivo da prevalência da formação BCZHCl ao invés do $BCZH_2Cl_2$.

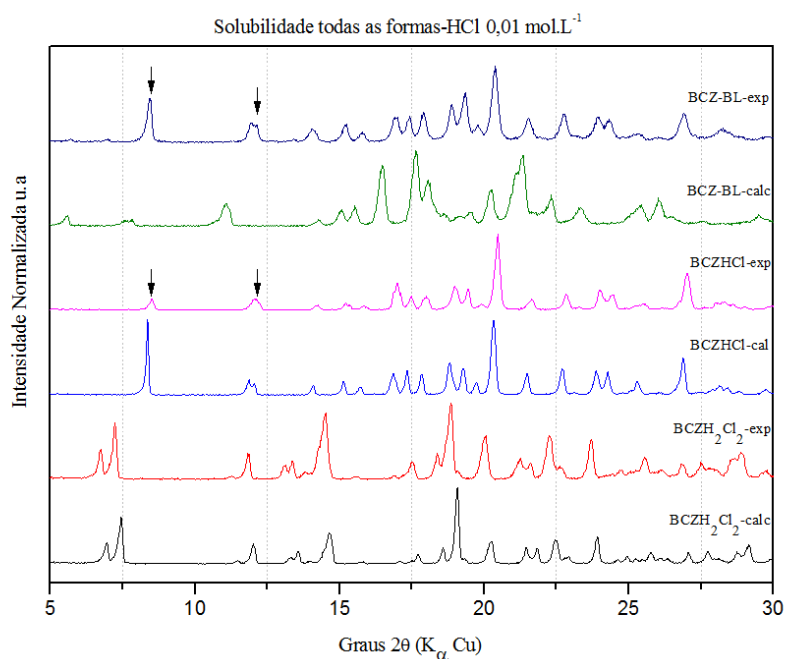


Figura 24 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em HCl 0,01 mol.L⁻¹, após o teste de solubilidade em equilíbrio
Fonte: Dados autora.

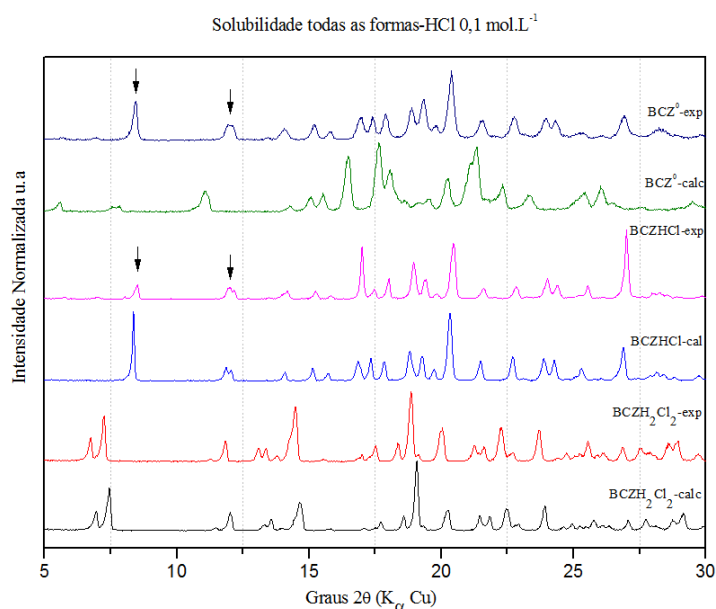


Figura 25 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em HCl 0,1 mol.L⁻¹, após o teste de solubilidade em equilíbrio
Fonte: Dados autora.

As três formas avaliadas nos demais meios, apresentaram os padrões de difração experimentais dos sólidos remanescentes idênticos aos difratogramas calculados. Ou seja, suas

estruturas cristalinas mantiveram-se estáveis durante todo o teste de solubilidade (FIGURAS 26-29).

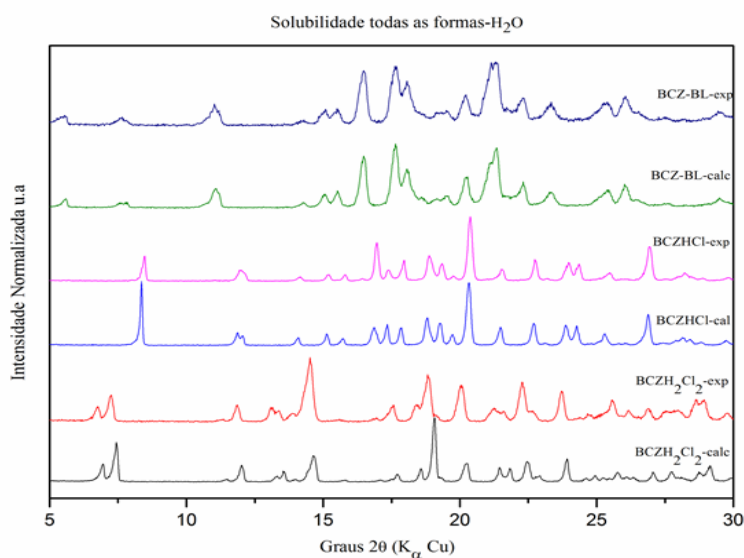


Figura 26 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e da BCZ-BL em água, após o teste de solubilidade em equilíbrio

Fonte: Dados autora.

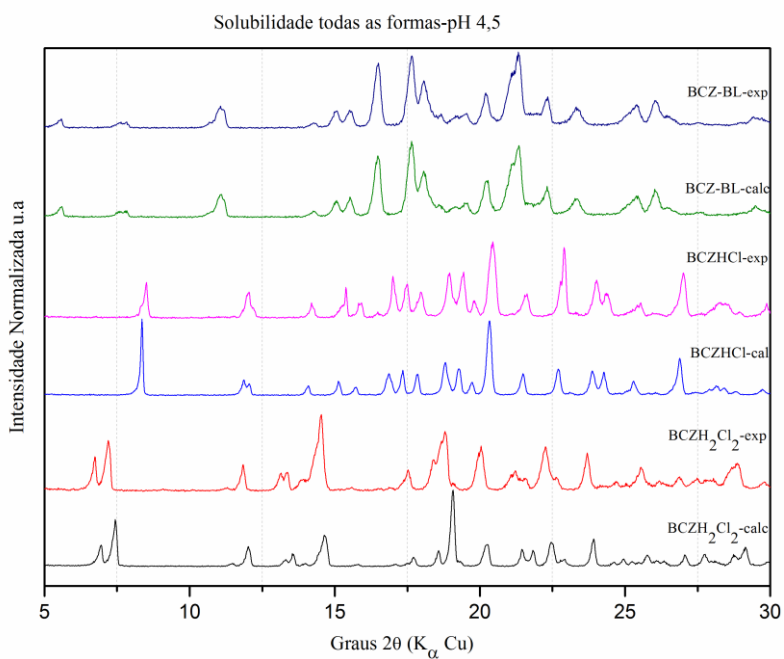


Figura 27 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão acetato de sódio pH 4,5, após o teste de solubilidade em equilíbrio

Fonte: Dados autora.

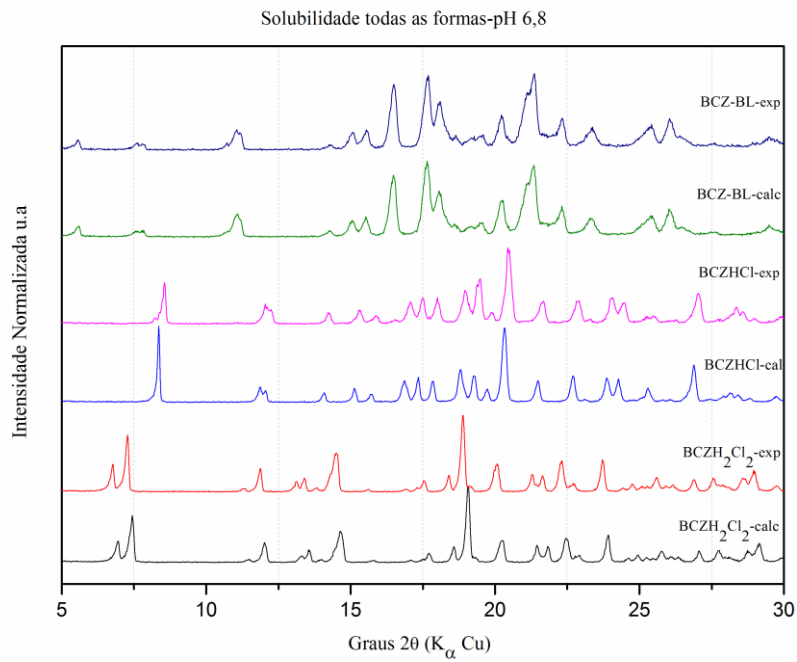


Figura 28 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão fosfato de sódio pH 6,8, após o teste de solubilidade em equilíbrio
Fonte: Dados autora.

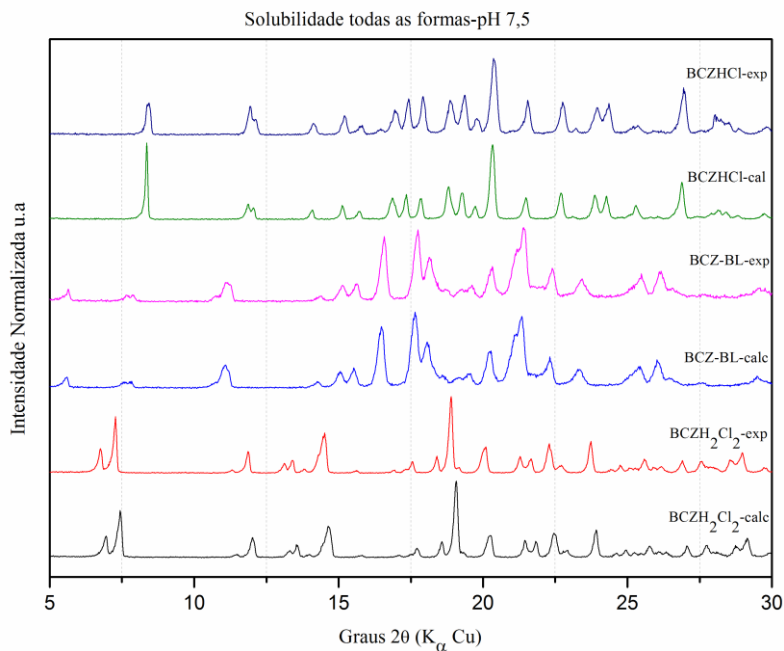


Figura 29 - DRXP calculado e experimental das formas salinas e BCZ-BL em tampão fosfato de sódio pH 7,5, após o teste de solubilidade em equilíbrio
Fonte: Dados autora.

5.5 Obtenção e caracterização dos comprimidos

A seguir, segue os testes realizados para a avaliação da qualidade dos comprimidos, contendo as três formas sólidas.

5.5.1 Friabilidade dos Comprimidos

De acordo com os resultados (TABELA 16), os comprimidos contendo as três formas sólidas encontram-se dentro da especificação.

Tabela 16- Friabilidade dos comprimidos (%)

	BCZ-BL	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
Resultados (%)	0,2 %	0,1 %	0,1 %
Especificação (%)	Redução massa < 1,5 %		

Fonte: Dados autora.

5.5.2 Determinação do Peso Médio

De acordo com a Tabela 17, todos os comprimidos se encontram dentro da especificação (DPR \leq 5,0 %).

Tabela 17- Determinação do peso médio (mg) dos comprimidos produzidos com BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂

Comprimido	BCZ-BL	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
1	320,56	319,73	325,62
2	322,89	323,03	322,12
3	319,45	320,39	320,63
4	319,46	321,02	320,26
5	326,17	322,71	320,95
6	325,95	321,85	323,12
7	328,61	318,33	322,25
8	322,89	319,56	320,05
9	327,91	319,66	320,96
10	324,05	319,85	321,32
11	318,94	320,05	321,42
12	324,24	321,83	323,69
13	318,77	321,85	320,08
14	318,94	323,06	319,18
15	318,63	320,1	320,02
16	321,23	320,67	320,05
17	319,52	322,26	325,33
18	325,96	321,09	319,19
19	328,01	320,15	319,58
20	328,25	320,01	320,01
Média (n=20) (mg)	323,0	320,9	321,3
DPR (%)	3,6	1,3	1,8
Resultado	Aprovado	Aprovado	Aprovado

Fonte: Dados autora.

5.5.3 Doseamento dos Comprimidos

Mediante resultados (TABELA 18), as três formulações apresentam-se de acordo com a especificação de 90,0 a 110,0%. Portanto, os resultados são satisfatórios para o doseamento das formas.

Tabela 18- Doseamento de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂ comprimidos

Forma Sólida	Teor (%)	DPR (%)
BCZ-BL	99,9	0,6
BCZHCl	98,9	0,6
BCZH ₂ Cl ₂	99,6	0,4

Fonte: Dados autora.

5.5.4 Uniformidade de Conteúdo

Através da Tabela 19, conclui-se que as três formulações encontram-se dentro da especificação ($VA \leq 15,0$).

Tabela 19- Uniformidade de conteúdo de BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂ comprimidos

Comprimido	BCZ-BL (%)	BCZHCl	BCZH ₂ Cl ₂
1	104,4	97,1	96,9
2	104,9	104,9	104,9
3	99,8	97,6	104,8
4	101,8	96,4	102,3
5	102,2	101,5	101,8
6	100,4	104,3	100,2
7	104,9	98,8	101,5
8	101,8	101,6	102,3
9	102,3	104,1	102,9
10	103,6	102,8	101,4
Média (n=10) (%)	102,6	100,9	101,9
Critério de Aceitação ($VA \leq 15,0$)	4,3	7,7	6,0
DPR (%)	1,8	3,2	2,5

Fonte: Dados autora.

5.6 Validação parcial do método de dissolução

5.6.1 Seletividade

O parâmetro seletividade foi analisado no item 5.3.1 Seletividade (doseamento).

5.6.2 Linearidade

A linearidade do método apresentou $r = 0,9999$ e $r^2 = 0,9998$ (FIGURA 30). Sendo o critério de aceitação $r \geq 0,990$, concluiu-se que o método é linear na faixa de concentração de $5,7 \mu\text{g.mL}^{-1}$ a $34,0 \mu\text{g.mL}^{-1}$. Além disso, os dados foram considerados homocedásticos, pois o C calculado foi de 0,3134 e é menor que o C tabelado (0,5157). Também confirmou-se a significância do coeficiente angular, pois o F calculado = 128503,04 é maior que o F crítico (4,30). Mediante gráfico de resíduo (FIGURA 31) e sua avaliação estatística, em que $p = 0,6324$ foi maior que 0,05, concluiu-se que os dados obedecem uma distribuição normal e não apresentam tendências.

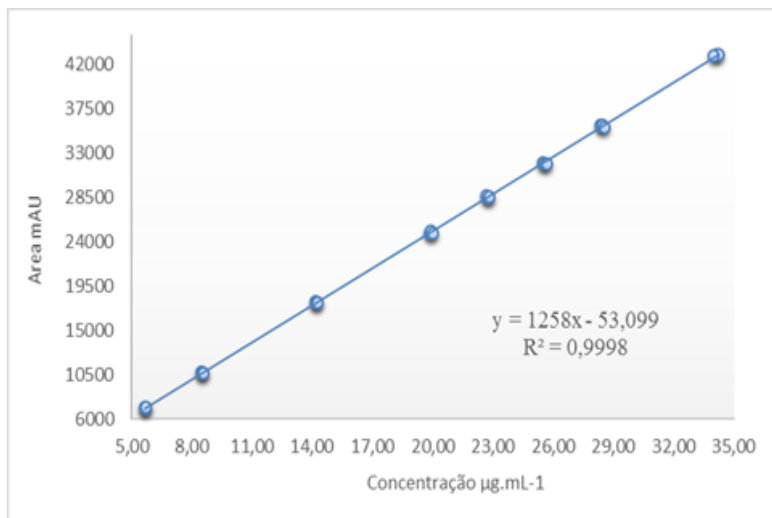


Figura 30 - Curva analítica para quantificação da BCZ em análises de dissolução
Fonte: Da autora.

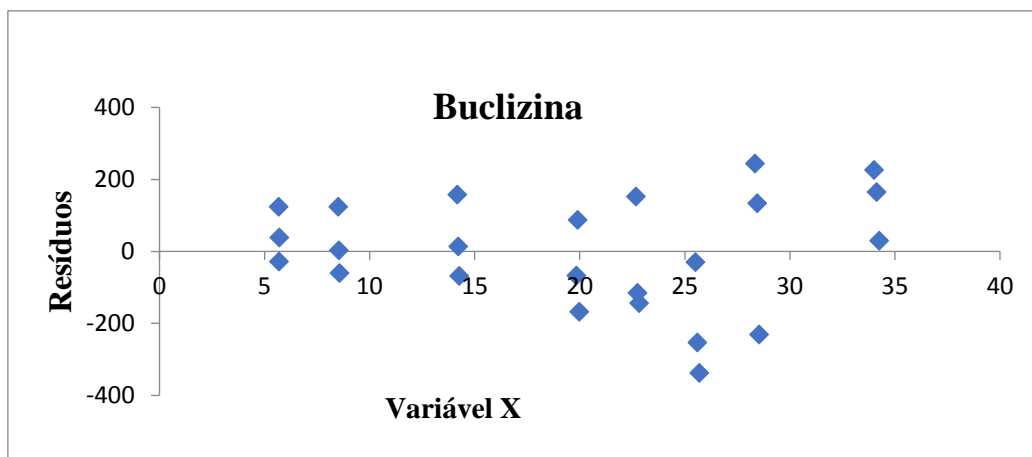


Figura 31 - Gráfico de Resíduo para quantificação da BCZ em análises de dissolução
Fonte: Da autora.

5.6.3 Exatidão

A exatidão do método foi verificada através da porcentagem média de recuperação e do desvio padrão relativo, onde os resultados são demonstrados na Tabela 20. Sendo os critérios de aceitação: $DPR \leq 5\%$ e recuperação $100 \pm 5\%$, concluiu-se que o método é exato.

Tabela 20- Resultados da exatidão para o doseamento

Conc %	Conc Teórica ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Conc Obtida ($\mu\text{g.mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	Média e DPR (%)
50-1 %	14,00	14,58	104,2	
50-2 %	14,03	14,65	104,4	M=104,3
50-3 %	13,94	14,53	104,2	DPR=0,14
100-1 %	27,29	27,32	97,6	
100-2 %	28,05	27,49	98,0	M=98,3
100-3 %	27,88	27,67	99,2	DPR=0,85
120-1 %	33,59	32,96	98,1	
120-2 %	33,66	32,95	97,9	M=98,4
120-3 %	33,46	33,25	99,3	DPR=0,80
Média Total (%) =100			DPR (%)=3,0	

Fonte: Da autora.

5.7 Perfil de dissolução

O racional para a escolha do meio de dissolução mais adequado, foi baseado na solubilidade e no volume da condição sink do BCZH_2Cl_2 , pois é a forma disponível no mercado. Além disso, foi levado em consideração o volume das cubas para se realizar a dissolução, que pode ser de 500, 900 ou 1000 mL (FDA, 1997).

Os valores de solubilidade obtidos no item 5.4 quando extrapolados para a dosagem da forma comercial (25 mg), justificam a necessidade da utilização de tensoativo, uma vez que na sua ausência, as três formas apresentaram solubilidade aquém da necessária para solubilizar o comprimido (TABELA 15). Em outras palavras, considerando as “*sink conditions*”, concluiu-se que nenhum dos meios testados é ideal para realizar o perfil de dissolução da BCZH_2Cl_2 , pois todos eles apresentaram valores de solubilidade que requereriam volumes de solução que estariam acima da capacidade máxima da cuba de maior volume, 1000 mL (TABELA 21).

Tabela 21- Solubilidade, sink condition, para as soluções em equilíbrio, após 72 horas

Meio	BCZ-BL Solub $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Sink Condition (mL)	BCZHCl Solub $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Sink Conditon (mL)	BCZH ₂ Cl ₂ Solub $\mu\text{g.mL}^{-1}$	Sink Condition (mL)
HCl 0,01 mol.L ⁻¹	75,725	857	35,983	1938	19,875	3774
HCl 0,1 mol.L ⁻¹	51,00	1264	30,326	2305	12,171	6162
pH 4,5	N.D	N.D	3,10036	22497	16,3041	4699
Água	N.D	N.D	18,412	3788	34,771	2157

N.D. = não detectável

Fonte: Da autora.

Dessa maneira, de acordo com a recomendação da RDC N° 31 e NT003 (BRASIL, 2010; BRASIL, 2013), para assegurar que a quantidade de BCZH₂Cl₂ existente na formulação fosse dissolvida, foi necessário a utilização da menor quantidade possível de tensoativo.

Apesar da maior solubilidade ser em água (34,771 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), a variação de pH ao adicionar às três formas e após a execução do teste de solubilidade foi significativa (TABELA 15). Sendo assim, descartou-se a escolha da água para adicionar o tensoativo.

O segundo meio em que se observou um maior valor de solubilidade, foi o HCl 0,01 mol.L⁻¹ (19,875 $\mu\text{g.mL}^{-1}$), porém, este meio não foi selecionado para o ensaio do perfil de dissolução devido à transição de fase observada para a forma BCZ-FB em BCZHCl durante o estabelecimento do equilíbrio (FIGURA 23).

Sendo assim, a opção de escolha foi o tampão acetato pH 4,5 (16,304 $\mu\text{g.mL}^{-1}$). Quantidades de 0,5 e 1,0 % de lauril sulfato de sódio (LSS) foram adicionadas e comparadas.

Os resultados do perfil de dissolução (FIGURA 32, Tabela 22) demonstraram que a concentração de 1,0 % apresentou liberação 11% mais elevada em relação a de 0,5 %, além de atender todos os critérios de coeficiente de variação descritos na RDC 31, que são 20 % para os tempos iniciais e de 10 % para os demais pontos (BRASIL, 2010).

Tabela 22- Média e DPR (%) para 0,5 e 1,0 LSS, nos tempos: 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos

Conc. LSS (%)	Tempo (min)	5	10	15	20	30	60
1,0	Média %	31,8	47,4	57,9	64,9	75,1	88,4
	DPR %	19,1	12,5	10,3	9,0	7,3	4,6
0,5	Média %	33,0	42,1	49,6	56,2	64,2	77,7
	DPR %	22,9	14,3	5,6	6,0	3,8	4,3

Fonte: Da autora.

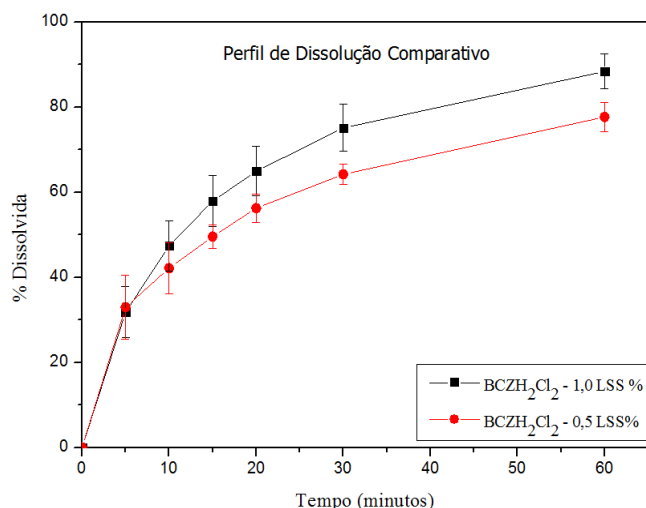


Figura 32 - Perfil de dissolução comparativo, para a determinação da menor quantidade de LSS para a dissolução da BCZH₂Cl₂
Fonte: Da autora.

Ao avaliar os resultados do perfil comparativo para as formas BCZ-BL, BCZH₂Cl₂ e BCZHCl em tampão acetato pH 4,5 contendo 1,0 % LSS (FIGURA 33), constatou-se que as médias no tempo final de dissolução foram respectivamente: 91, 88 e 55%. A taxa de dissolução mais elevada para a BCZ-BL pode ser explicada pela maior capacidade de formação de micelas em detrimento às variações sólidas salinas. Ou seja, a BCZ-BL, por ser um cristal molecular (contém a espécie BCZ⁰), pode ter tido uma maior interação com a cadeia apolar do LSS assim que era liberada da rede do cristal molecular. No caso das formas salinas, em concordância com os valores de solubilidade em equilíbrio (FIGURA 23), o BCZH₂Cl₂, apresentou valores de dissolução mais elevados que o BCZHCl.

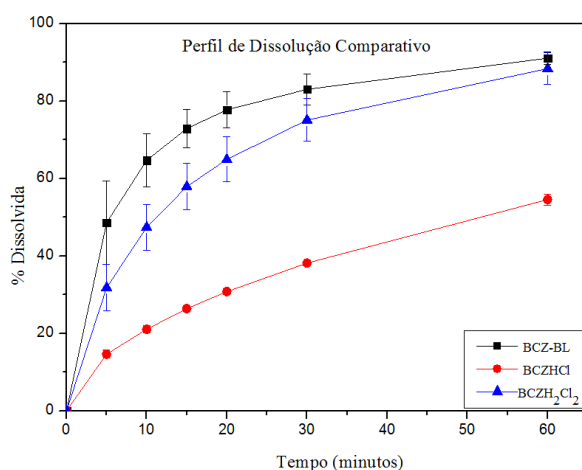


Figura 33 - Perfil de dissolução comparativo entre BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂.
Meio de dissolução: pH 4,5 + 1,0 % lauril sulfato de sódio
Fonte: Da autora.

Com o intuito de demonstrar que as três formas possuíam performances diferentes, porém, isentas da influência do uso do tensoativo, realizou-se também um perfil de dissolução em água, mesmo sabendo que este não apresentou a condição ideal para propiciar que toda BCZ presente na formulação fosse solubilizada. A $BCZH_2Cl_2$ apresentou taxa de dissolução de 35 % em 60 minutos enquanto as formas $BCZHCl$ e $BCZ-BL$ não dissolveram (FIGURA 34).

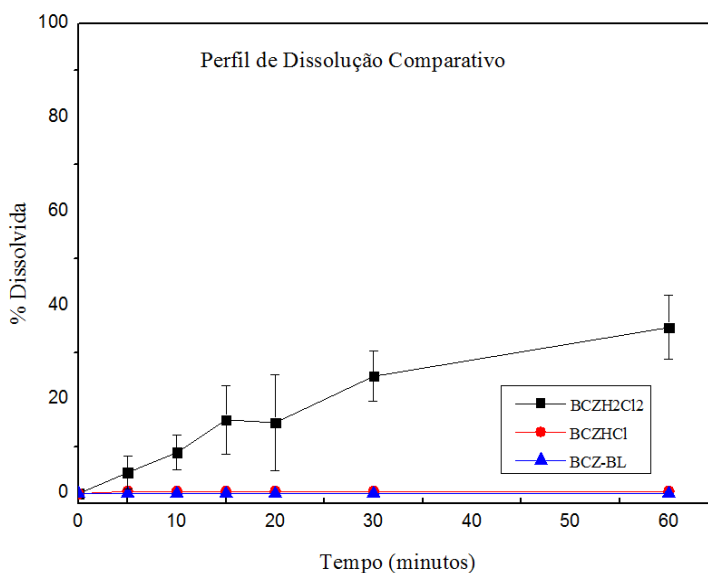


Figura 34 - Perfil de dissolução comparativo entre a $BCZ-BL$, $BCZHCl$ e $BCZH_2Cl_2$ utilizando água como meio de dissolução

Fonte: Da autora.

Para as formulações serem consideradas semelhantes, o fator de semelhança (F_2) deve ser > 50 . Os resultados de F_2 obtidos dos perfis de dissolução apresentados na Figura 33, comparando $BCZH_2Cl_2$ versus $BCZ-BL$ e $BCZH_2Cl_2$ versus $BCZHCl$, foram de, respectivamente, 44 e 26. Sendo assim, mediante os valores de fatores de semelhança para os perfis demonstrados, nenhum se encontra dentro da especificação. Além disso, conclui-se que as condições definidas do teste de dissolução, conseguiram discriminar as três formulações.

5.8 Estudo de estabilidade dos comprimidos

Mediante os resultados apresentados na Tabela 23 pode-se concluir que na condição de $40\text{ }^\circ\text{C}$ e 75 % umidade relativa (UR) durante 21 dias, todos os comprimidos mantiveram seu doseamento estável, e dentro da especificação para doseamento que é de 98,0 – 102,0 %.

Tabela 23- Estabilidade dos comprimidos, durante 21 dias, 40 °C - 75 % UR

	Inicial	21 dias
BCZ-BL-comprimidos	99,5 %	100,3 %
BCZHCl-comprimidos	99,7 %	100,6 %
BCZH ₂ Cl ₂ -comprimidos	99,4 %	100,4 %

Fonte: Da autora.

6 CONCLUSÕES

Obteve-se as formas sólidas BCZHCl e BCZ-BL a partir da neutralização da forma comercial BCZH₂Cl₂. A obtenção e a pureza das formas sólidas foi confirmada pelas análises de DRXP, IV, DSC, TG e CLAE.

As estruturas da BCZH₂Cl₂ e BCZHCl foram determinadas por difração de raios X por monocristal, demonstrando que ambas apresentam cristalização com racemização espontânea, gerando monocristais com os isômeros R e S, disponibilizados ordenadamente a longo alcance na proporção exata de 1:1, dando origem a um cristal racêmico.

A solubilidade de equilíbrio das formas BCZH₂Cl₂, BCZHCl e BCZ-BL foram comparadas na faixa de pH fisiológico. A ordem de solubilidade nos meios contendo HCl foi BCZ-BL > BCZHCl > BCZH₂Cl₂. A BCZ-BL mostrou-se insolúvel em água e em tampão acetato pH 4,5 enquanto a BCZH₂Cl₂ foi mais solúvel que a BCZHCl nesses meios. Em pH 6,8 e 7,5, todas as formas foram insolúveis. Também foi realizado a DRXP dos corpos de fundo formados em todos os meios avaliados.

Os perfis de dissolução estabelecidos em tampão acetato pH 4,5 + 1,0 % LSS mostrou uma taxa de dissolução no tempo final da curva (60 minutos) de 88, 55 e 91% para o BCZH₂Cl₂, BCZHCl e BCZ-BL, respectivamente. O valor de F2 comprova que todas as formulações possuem performances diferentes.

Os comprimidos preparados com as três formas se mostraram estáveis após incubação por 21 dias a 40 °C e 75% UR.

Portanto, mediante as análises empregadas nesta dissertação, pôde-se diferenciar as três formas estudadas. Sendo assim, estas técnicas podem ser utilizadas na rotina de laboratórios de Controle de Qualidade, com o intuito de caracterização e avaliação se está ocorrendo transição de fases entre BCZ-BL, BCZHCl e BCZH₂Cl₂.

7 PERSPECTIVAS E SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Obter monocristais da BCZ-BL para sua determinação estrutural por DXRM ou tentar determinar a sua estrutura por DRXP;

Tendo em vista que dados preliminares indicaram a possível obtenção de sais nitrato e brometo da BCZ durante esse trabalho, pretende-se fazer a caracterização sistemática e o estudo cristalográfico dos mesmos, bem como comparar suas solubilidades com a $BCZH_2Cl_2$, que é forma comercial da BCZ.

REFERÊNCIAS

- AALTONEN, J. et al. Solid form screening – a review. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v. 71, n. 1, p. 23-37, 2009.
- ABUZARUR-ALOUL, R. et al. Critical dissolution tests of oral systems based on statistically designed experiments. Screening of critical fluids and in vitro/in vivo modelling of extended release coated spheres. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 23, n. 8, p. 749-760, 1997.
- ADAMS, E. et al. Application of linear mixed effects models to the evaluation of dissolution profiles. **Int. J. Pharm.**, v. 226, p. 107-125, 2001.
- AGUIAR, A. J.; ZELMER, J. E. Dissolution behavior of polymorphs of chloramphenicol palmitate and mefanamic acid, **J. Pharm. Sci.**, v. 58, p. 983–987, 1969.
- AITIPAMULA, S.; CHOW, P. S.; TAN, R. B. H. Conformational polymorphs of a muscle relaxant, metaxalone. **Cryst. Growth Des.**, v. 11, n. 9, p. 4101–4109, 2011.
- AITIPAMULA, S. et al. Polymorphs, salts, and cocrystals: What's in a name? **Cryst. Growth Des.**, v. 12, n. 5, p. 2147–2152, 2012.
- ALLEN, F. H. The cambridge structural database: a quarter of a million crystal structures and rising research papers. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.**, v. B58, p. 380–388, 2002.
- ALMEIDA, E. S. et al. Supersaturation potential of salt, co-crystal, and amorphous forms of a model weak base. **Cryst. Growth Des.**, v. 16, p. 737–748, 2016.
- AMIDON, G. L. et al. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharm. Res.**, v. 12, p. 413–420, 1995.
- ATICI, E. B.; KARLIGA, B, E. Quantitative determination of two polymorphic forms of imatinib mesylate in a drug substance and tablet formulation by X-ray powder diffraction, differential scanning calorimetry and attenuated total reflectance Fourier transform infrared spectroscopy. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 114, p. 330–40, 2015.

AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Artmed, 2005.

AVDEEF, A. pH-metric solubility. 1. Solubility-pH profiles from Bjerrum plots. Gibbs buffer and pKa in the solid state. **Pharmacol. Commun.**, v. 4, p. 165-178, 1998.

AVDEEF, A.; BERGER, C. M.; BROWNELL, C. pH-metric solubility 2: Correlation between the acid-base titration and the saturation shake-flask solubility-pH methods. **Pharm. Res.**, v. 17, p. 85-8, 2000.

AYALA, A. P. et al. Solid state characterization of olanzapine polymorphs using vibrational spectroscopy. **Int. J. Pharm.**, v. 326, p. 69-79, 2006.

AYALA, A. P.; SIESLER, W. H.; CUFFINI, S. L. Polymorphism incidence in commercial tablets of mebendazole: a vibrational spectroscopy investigation. **J. Raman Spectrosc.**, v. 39, p. 1150-1157, 2008.

BANAKAR, U. V. Pharmaceutical dissolution testing. **Drugs Pharm. Sci.**, v. 49, p. 307-392, 1992.

BAUER, J.; JÜRGENS, H.; FRÜHWALD, M. C. Important aspects of nutrition in children with cancer 1. **Nutrition**, v. 2, p. 67-77, 2011.

BAKA, E.; COMER, J. E. A.; TAKÁCS-NOVÁK, K. Study of equilibrium solubility measurement by saturation shake-flask method using hydrochlorothiazide as model compound. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 46, n. 2, p. 335-341, 2008.

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

BLAGDEN, N. et al. Crystal engineering of active pharmaceutical ingredients to improve solubility and dissolution rates. **Adv. Drug Deliver. Rev.**, v. 59, n. 7, p. 617-30, 2007.

BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Quim. Nov.**, v. 25, n. 5, p. 849-855, 2002.

BERNSTEIN, J. **Polymorphism in molecular crystals**. 3. ed. New York: Oxford University, 2002.

_____. **Polymorphism in molecular crystals**. New York: Oxford University 2008.

BETTIN, A.; RAFFAGHELLI, R. R. LA buclicina como orexigeno en pediatria. **Prensa Universitaria**, n. 329, p. 6226–6228, 1969.

BONFILIO, R. et al. Analysis of chlorthalidone polymorphs in raw materials and tablets and the effect of forms I and II on the dissolution properties of drug products. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 88, p. 562–570, 2014.

BONFILIO, R. et al. A discriminating dissolution method for glimepiride polymorphs. **J. Pharm. Sci.**, v. 101, p. 794–804, 2012.

BONFILIO, R. et al. Solubility and dissolution studies of tibolone polymorphs. **J. Pharm. Sci.**, v. 53, p. 1–12, 2017.

BOULTIF, A.; LOUËR, D. Indexing of powder diffraction patterns for low-symmetry lattices by the successive dichotomy method. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 24, p. 987–993, 1991.

BOX, K. J. et al. Equilibrium versus kinetic measurements of aqueous solubility, and the ability of compounds to supersaturate in solution – a validation study. **J. Pharm. Sci.**, v. 95, p. 1298–1307, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RESOLUÇÃO-RDC Nº. 31, DE 11 DE AGOSTO:** dispõe sobre a realização dos “Estudos de Equivalência Farmacêutica e de Perfil de Dissolução Comparativo”. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, nº 154. Acesso em: 12 ago. 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Nota técnica nº 003/2013/CEFAR/GTFAR/GGMED/ANVISA:** dispõe sobre a avaliação da solubilidade de fármacos e o desenvolvimento de métodos de dissolução para estudos de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução comparativo, e dá outras providências. Disponível em:
http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/anvisa/home/medicamentos!/ut/p/c4/04_SB8K8xLLM9MSSzPy8xBz9CP0os3hnd0cPE3MfAwMDMydnA093Uz8z00B_A_cgQ_2CbEdFADg hJT0!/?1dmy&urile=wcm%3Apath%3A/anvisa+portal/anvisa/inicio/medicamentos/publicacao+medicamentos/avaliacao+da+solubilidade+de+farmacos+e+o+desenvolvimento+de+metodos+de+dissolucao+para+estudos+de+equivalencia+farmaceutica+e+perfil+de+dissolucao+comparativo+nota+tecnica+n+003. Acesso em: 02 jan. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução da Diretoria Colegiada – RESOLUÇÃO-RDC N° 166, DE 24 DE JULHO DE 2017:** Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências”. Diário Oficial da União, Poder Executivo, Brasília, DF, nº 141. Acesso em: 25 jul. 2017.

BRITISH Pharmacopoeia. London: Her Majesty’s Stationery Office, 2017, v. 1, p. 88–90.

CAVALHEIRO, E. T. G. et al. A influência de fatores experimentais nos resultados de análises termogravimétricas. **Quim. Nov.**, v. 18, p. 305, 1995.

CENSI, R.; DI MARTINO, P. Polymorph impact on the bioavailability and stability of poorly soluble drugs. **Molecules**, v. 20, p. 18759-76, 2015.

CERREIA VIOGLIO, P.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 117, p. 86–110, 2017.

CIANCI, M. et al. Anomalous scattering in structural chemistry and biology. **Crystallogr. Rev.**, v. 11, n. 4, p. 245–335, 2005.

CHAKRABORTY, S.; GANGULY, S.; DESIRAJU, G. R. Synthron transferability probed with IR spectroscopy: Cytosine salts as models for salts of lamivudine. **Cryst. Growth Des.**, v. 16, n. 22, p. 4732–4741, 2014.

CHEMBURKAR, S. R. et al. Dealing with the impact of ritonavir polymorphs on the late stages of bulk drug process development. **Org. Process. Res. Dev.**, v. 4, p. 413–417, 2002.

CHENEY, M. L. et al. Effects of crystal form on solubility and pharmacokinetics: A crystal engineering case study of lamotrigine. **Cryst. Growth Des.**, v. 10, n. 1, p. 394–405, 2010.

CHIENG, N.; RADES, T.; AALTONEN, J. An overview of recent studies on the analysis pharmaceutical polymorphs. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 55, p. 618-644, 2011.

CHILDS, S. L.; STAHLY, G. P.; PARK, A. The salt-cocrystal continuum: The influence of crystal structure on ionization state. **Mol. Pharm.**, v. 4, n. 3, p. 323–338, 2007.

COLLMAN, B. M. et al. Comparison of a rational vs. high throughput approach for rapid salt screening and selection. **Drug Dev. Ind. Pharm.**, v. 39, p. 29–38, 2013.

CRAIG, D. Q. M. R. M.; READING, M. **Thermal analysis of pharmaceuticals**. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2006.

CRISP, J. L.; DANN, S. E.; BLATCHFORD, C. G. Antisolvent crystallization of pharmaceutical excipients from aqueous solutions and the use of preferred orientation in phase identification by powder X-ray diffraction. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 42, p. 568–577, 2011.

COLMAN, M. D. et al. Evolved gas analysis (TG-DSC-FTIR) and (Pyr-GC-MS) in the disposal of medicines (aceclofenac). **Anal. Appl. Pyrol.**, v. 119, p. 157-161, 2016.

CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-Ray diffraction**. 3. ed. Harlow: Pearson, 2001.

DE RESENDE, R. C. et al. Analysis of spironolactone polymorphs in active pharmaceutical ingredients and their effect on tablet dissolution profiles. **Brazilian J. Pharm. Sci.**, v. 52, n. 4, p. 613–622, 2016.

DESCHAMPS, J. R. X-ray crystallography of chemical compounds. **Life Sci.**, v. 86, n. 15–16, p. 585–589, 2010.

DESIRAJU, G. R.; NANGIA, A. Use of the term "Crystal Engineering" in the regulatory and patent literature of pharmaceutical solid forms. Some comments. **Cryst. Growth Des.**, v.16, n. 10, p. 5585-5587, 2016.

DHARMENDRA, S.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 5, n. 3, p. 335-347, 2004.

DING, T. et al. Compatibility study of rivaroxaban and its pharmaceutical excipients. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 130, n. 3, p. 1569–1573, 2017.

DOMINGOS, S. et al. New forms of old drugs: improving without changing. **J. Pharm. Pharmacol.**, v. 67, n. 6, p. 830–846, 2015.

DORIGUETTO, A. C. et al. Anti-Inflammatory and Antioxidant Activities. **Chem Biodivers.**, v. 4, p. 488–499, 2007.

DRUGBANK. Disponível em: <https://www.drugbank.ca/drugs/DB00354>. Acesso em: 16 fev. 2019.

DUGGIRALA, N. K. et al. Pharmaceutical cocrystals: along the path to improved medicines. **Chem. Commun.**, v. 52, p. 640-55, 2016.

EMAMI, J. In vitro-in vivo correlation: from theory to application. **J. Pharm. Pharm. Sci.**, v. 9, n. 2, p. 169–189, 2006.

EVERETT GAILLARD, G.; WHITE PLAINS, M. D.; IT, N. Clinical evaluation of a new antihistamine, buclizine hydrochloride (Vibazine). **Journal of Allergy**, v. 26, n. 4, p. 373-376, 1955.

Farmacopeia BRASILEIRA. 5. ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010, v. 1. p. 59–60.

FARRUGIA, L. J. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a graphical user interface (GUI). **J. Appl. Crystallogr.**, v. 30, p. 565, 1997.

_____. WinGX suite for small-molecule single-crystal crystallography. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 32, p. 837, 1999.

_____. ORTEP-3 for Windows - a version of ORTEP-III with a graphical user interface (GUI). **J. Appl. Crystallogr.**, v. 30, p. 565, 2012.

FLACK, H. D. On enantiomorph-polarity estimation. **Acta Crystallographica Section A**, v. 39, n. 6, p. 876–881, 1983.

_____. Chiral and achiral crystal structures. **Helv. Chim. Acta**, v. 86, p. 905–921, 2003.

FONSECA, L. B. **Desenvolvimento e validação de método de dissolução aplicado a suspensões orais de nimesulida**. 2006. 151f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2006.

Food and Drug Administration (FDA). Guidance for Industry: **Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-release, Solid Oral Dosage Forms Based on Biopharmaceutics Classification System Food and Drug Administration**. Rockville: Center for Drug Evaluation and Research, 2000.

_____. Guidance for Industry: **Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms** Rockville: Center for Drug Evaluation and Research, 1997.

_____. Guidance for Industry: **Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information.** Rockville: Center for Drug Evaluation and Research, 2007.

_____. Guidance for Industry: **Regulatory Classification of Pharmaceutical Co-crystals; Food and Drug Administration:** Rockville: Center for Drug Evaluation and Research, 2011.

GARCIA, R. V. et al. **Megestrol acetate for treatment of anorexia-cachexia syndrome.** Nova Jersey: John Wiley & Sons, 2013.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **J. Therm. Anal.**, v. 68, p. 335–357, 2002.

GU, C-H.; YOUNG, V.; GRANT, D. J. W. Polymorph screening: influence of solvents on the rate of solvent-mediated polymorphic transformation. **J. Pharm. Sci.**, v. 90, n. 11, p. 1878–1890, 2001.

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

_____. Thermal methods of analysis: principles, applications and problems. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 45, p. 335–336, 1995.

HALEBLIAN, J.; MCCRONE, W. Pharmaceutical applications of polymorphism. **J. Pharm. Sc.**, v. 58, p. 911–929, 1969.

HE, Y.; ORTON, E.; YANG, D. The selection of a pharmaceutical salt - the effect of the acidity of the counterion on its solubility and potential biopharmaceutical performance. **J. Pharm. Sci.**, v. 107, n. 1, p. 419–425, 2018.

HEALY, A. M. et al. Pharmaceutical solvates, hydrates and amorphous forms: a special emphasis on cocrystals. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 117, p. 25–46, 2017.

HIGA, J.; MICELLI, I.; ASTOLFI, E. La Buclicina como estimulante del apetito. - **Prensa Med. Argent.**, v. 56, p. 1129, 1969.

HIGASHI, K.; UEDA, K.; MORIBE, K. Recent progress of structural study of polymorphic pharmaceutical drugs. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 117, p. 71–85, 2017.

HOMNICK, D. N. et al. Long-term trial of cyproheptadine as an appetite stimulant in cystic fibrosis. **Pediatr. Pulmonol.**, v. 40, n. 3, p. 251–256, 2005.

JACON, J. T. F. et al. Analysis of polymorphic contamination in meloxicam raw materials and its effects on the physicochemical quality of drug product. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 109, p. 347-358, 2017.

JÚLIO, T. A. et al. Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC-UV. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 111, n. 3, p. 2037–2044, 2013.

KALEPU, S.; NEKKANTI, V. Insoluble drug delivery strategies: review of recent advances and business prospects. **Acta Pharm. Sin.**, p. 442–453, 2015.

KATZUNG, B. G.; MASTERS, S. B.; TREVOR, A. J. **Farmacologia básica e clínica**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

KHANNA, I. Drug discovery in pharmaceutical industry: productivity challenges and trends. **Drug Discov. Today**, v. 17, n. 19/20, p. 1088-1102, 2012.

KUMINEK, G. et al. Development and validation of a stability-indicating HPLC method for the determination of buclizine hydrochloride in tablets and oral suspension and its application to dissolution studies. **Quim. Nov.**, v. 35, n. 1, p. 207–212, 2012.

LAVOR, E. P. et al. Application of thermal analysis to the study of anti-tuberculosis drug compatibility Part 1. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 108, n. 1, p. 207–212, 2012.

LARKIN, P. *Infrared and Raman Spectroscopy: Principles and Spectral Interpretation*. 2. ed. [s.l: s.n.], 2011.

LEE, A. Y.; ERDEMIR, D.; MYERSON, A. S. Crystal Polymorphism in Chemical Process Development. **Annu. Rev. Chem. Biomol. Eng.**, v. 2, p. 259-280, 2011.

LEITE, R, S. et al. Evaluation of compatibility between dried extracts of Myracrodruon urundeuva Allemão and pharmaceutical excipients by TG and DTA. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 133, n. 1, p. 633–639, 2017.

LENNERNÄS, H.; ABRAHAMSONN, B. The use of biopharmaceutic classification of drugs in drug discovery and development: current status and future extension. **J. Pharmacol.** v. 57, p. 273–285, 2005.

LILTORP K.; LARSEN T. G.; WILLUMSEN B. H. R. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non-thermal methods. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 55, p. 424–428, 2011.

LIPINSK, C. A. Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability. **J. Pharmacol. Toxicol.**, v 44, p. 235–249, 2002.

MACRAE, C. F. et al. Mercury CSD 2.0 - new features for the visualization and investigation of crystal structures. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 41, p.466-470, 2008.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução in vitro na absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v. 38, p. 375-399, 2002.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. 2003. 114f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2003.

MARTINDALE; **The Extra Pharmacopoeia**, 31 th ed. London: Pharmaceutical Press, 1997.

MARTINS, F. T. et al. Vibrational and thermal analyses of multicomponent crystal forms of the anti-HIV drugs lamivudine and zalcitabine. **J. Pharmaceut. Biomed.**, v. 110, p. 76–82, 2015.

MILLER, J. M. et al. Identifying the stable polymorph early in the drug discovery-development process, **Pharm. Dev. Technol.**, v. 10, p. 291–297, 2005.

MORREN, H. et al. New prolonged-action antihistaminic substances, **bull. Soe. chim. belge**, p. 60-282, 1951.

MORISSETE, S. L. et al. High-throughput crystallization: polymorphs, salts, co-crystals and solvates of pharmaceutical solids. **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 56, n. 3, p. 275-300, 2004.

MOSTAFA, G. A. E.; AL-BADR, A. A. **Buclizine**. Riyadh: Elsevier Inc., 2011. v. 36.

MOTHÉ, C. G.; AZEVEDO, A. D. **Análise térmica de materiais**. São Paulo: I-editora, 2002.

MOURAO, S. C. et al. Dissolution parameters for sodium diclofenac-containing hypromellose matrix tablete. **Int. J. Pharm.**, v. 386, n. 1/2, p. 201–207, 2010.

NASR, S. Z.; DRURY, D. Appetite stimulants use in cystic fibrosis. **Pediatr. Pulmonol.**, v. 43, p. 209–219, 2008.

NEWMAN, A.; WENSLOW, R. Solid form changes during drug development: good, bad, and ugly case studies. **AAPS Open**, v. 2, p. 11p, 2016.

QIU, J. et al. Quantification of febuxostat polymorphs using powder X-ray diffraction technique. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 107, p. 298–303, 2015.

PAJANDER, J. et al. Foreign matter identification from solid dosage forms. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 80, p. 116–125, 2013.

PARSONS, S.; FLACK, H. Precise absolute-structure determination in light-atom crystals. **Acta Crystallogr. Sect. A Found. Crystallogr.**, v. A 60, p. s61, 2004.

PASA, C. R. et al. Análise de medicamentos antihipertensivos contendo captopril, propranolol e losartana manipulados por farmácias de Campo Grande-MS. **Rev. Bras. Farm.**, v. 89, p. 322–326, 2008.

PAULEKUNHN, G. S.; DRESSMAN, J. B.; SAAL, C. Trends in active pharmaceutical ingredient salt selection based on analysis of the orange book database. **J. Med. Chem.**, v. 50, p. 6665–6672, 2007.

PAVIA, D. L. et al. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Cengage Learnig, 2013.

PINDELSKA, E.; SOKAL, A.; KOLODZIEJSKI, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: Advanced characterization techniques. **Adv. Drug Deliv.**, v. 117, p. 111–146, 2017.

PORTA, V.; YAMAMICHI, E.; STORPIRTIS, S. Avaliação biofarmacêutica in vitro de capsulas de fluconazol. **Rev. Bras. Ciencias Farm.**, v. 38, n. 3, p. 333–343, 2002.

PORTELL, A. et al. Ziprasidone malate, a new trimorphic salt with improved aqueous solubility, **CrystEngComm.**, v. 11, p.791–795, 2009.

PUDIPEDDI, M. et al. Solubility and dissolution of weak acids, bases, and salts. In: STAHL, P. H.; WERMUTH, C. G. **Handbook of pharmaceutical salts, properties, selection and use.** Weinheim: Wiley-VCH; Zurich: VHCA, 2002. cap. 2, p. 19-40.

REUBEN, D. B. et al. The effects of megestrol acetate suspension for elderly patients with reduced appetite after hospitalization: A phase II randomized clinical trial. **J. Am. Geriatr. Soc.**, v. 53, n. 6, p. 970-975, 2005.

RIETVELD, H. A profile refinement method for nuclear and magnetic structures. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 2, p. 65–71, 1969.

RODRIGUEZ-ALLER, M.; et al. Strategies for formulating and delivering poorly water-soluble drugs. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**, v. 30, SI. p. 342-351, 2015.

ROJEK, B.; WESOLOWSKI, M. Fourier transform infrared spectroscopy supported by multivariate statistics in compatibility study of atenolol with excipients. **Vib. Spectrosc.**, v. 86, p. 190-197, 2016.

ROSASCO, M. A. et al. Compatibility study of tobramycin and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, FTIR, DRX, and HPLC. **J. Therm. Anal. Calorim.**, v. 134, n. 3, p. 1929-1941, 2018.

SAAL, C.; BECKER, A. Pharmaceutical salts: a summary. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 49, n 4, p .614-623, 2013.

SAINI, A. et al. New conformational polymorph of hydrochlorothiazide with improved solubility. **Pharm. Dev. Technol.**, v. 21, p. 611-618, 2016.

SAIFEE, M. et al. Drug polymorphism: a review. **Int. J. Health Res.**, v. 2, n. 4, p. 291- 306, 2009.

SALEH, M. A. et al. Enhancement the dissolution rate and solubility of poorly soluble drugs: review. **Advanced Materials Research**, v. 701, p 234-238, 2013.

SANPHUI, P. et al. New multi-component solid forms of anti-cancer drug Erlotinib: role of auxiliary interactions in determining a preferred conformation. **Acta Crystallogr. Sect. B Struct. Sci. Cryst. Eng. Mater.**, v. 72, p. 291-300, 2016.

SANTOS, O. M. M. et al. Polymorphism: an evaluation of the potential risk to the quality of drug products from the farmácia popular rede própria. **Brazilian J. Pharm. Sci.**, v. 50, p. 1-24, 2014.

SASTRY, J. L. N. et al. Clinical evaluation of efficacy and safety of appetizer syrup as appetite stimulant in children with non-pathogenic anorexia. **Indian J. Tradit. Knowl.**, v. 16, n. 4, p. 700-705, 2017.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug solubility: importance and enhancement techniques. **International Scholarly Research Network ISRN Pharmaceutics**, v. 2, p. 1-10, 2012.

SCARDI, P. et al. Rietveld refinement guidelines. **J. Appl. Cryst.**, v. 32, p. 36-50, 1999.

SEHIC, S. et al. Investigation of intrinsic dissolution behavior of different carbamazepine samples. **Int. J. Pharm.**, v.386, p.77-90, 2010.

SERAJUDDIN, A. T. M. Salt formation to improve drug solubility, **Adv. Drug Deliv. Rev.**, v. 59, p. 603-616, 2007.

SHELDRIK, G. M. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Crystallogr. Sect. C Struct. Chem.**, v. 71, p. 3-8, 2015.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Spectrometric identification of organic compounds**. New York: John Wiley & Sons, 2005.

SVETLANA, B.; TIMOTHY, N.; HESSEL, V. Continuous-flow multistep synthesis of cinnarizine, cyclizine, and a buclizine derivative from bulk alcohols. **ChemSusChem.**, v. 9, p. 67-74, 2016.

SIMONS, F. E. R. Advances in H₁-Antihistamines. **N. Engl. J. Med.**, v. 351, n. 21, p. 2203-2217, 2004.

SINGAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Adv. Drug Del.**, v. 56, n. 3, p. 335-347, 2004.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Braz. J. Pharm. Sci.**, v. 43, p. 79-88, 2007.

SHELDRICK, G. M. A short history of SHELX. **Acta Crystallogr., Sect. A: Found. Crystallogr.**, v. A64, p. 112-122, 2008.

SHOGHI et al. Solubility-pH profiles of some acidic, basic and amphoteric drugs. **Eur. J. Pharm. Sci.**, v. 48, n. 1-2, p. 291-300, 2013.

TALACZYNSKA, A.; DZITKO, J.; CIELECKA-PIONTEK, J. Benefits and limitations of polymorphic and amorphous forms of active pharmaceutical ingredients. **Curr. Pharm. Des.**, v. 22, p. 4975-4980, 2016.

TAN, D.; LOOTS, L.; FRISCIC, T. Towards medicinal mechano chemistry: evolution of milling from pharmaceutical solid form screening to the synthesis of active pharmaceutical ingredients (APIs). **Chem. Commun.**, v. 52, p. 7760-7781, 2016.

TAYLOR, P. Adv. colloid interface. **Sci.**, v. 75, p. 107-163, 1998.

TILLEY, R. J. **Cristalografia cristais e estruturas cristalinas**. São Paulo: Oficina de textos., 2014.

UDO, T.; GRILO, C. M. Archival report prevalence and correlates of DSM-5-defined eating disorders in a nationally representative sample of U.S. adults. **Biol. Psychiatry**, n. 7, p. 345-354, 2015.

VÖLGYI, G. et al. Study of pH-dependent solubility of organic bases. revisit of Henderson-Hasselbalch relationship. **Anal. Chim. Acta**, v. 673, n. 1, p. 40-46, 2010.

VAN DE WATERBEEMD, H. Physicochemical properties in drug profiling. Molecular drug properties, measurement and prediction. **Methods and principles in medicinal chemistry**, v. 37, p. 25-33, 2008.

VAN DE WATERBEEMD, H.; LENNERNÅS, H.; ARTURSSON, P. Physico-chemical approaches to drug absorption. Drug bioavailability, estimation of solubility, permeability, absorption and bioavailability. **Methods and principles in medicinal chemistry**, v. 18, p. 1-20, 2003.

VERMA, R. K.; GARG, S. Compatibility studies between isosorbide mononitrate and selected excipients used in the development of extended release formulations. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 35, p. 449-458, 2004.

_____. Selection of excipients for the extended release formulations of glipizide through drug–excipient compatibility testing. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 38, p. 633-644, 2005.

VIANA, A. L. M. et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glimepiride polymorphs. **Int. J. Pharm.**, v. 553, p. 272-280, 2018.

WERNER, P. E.; ERIKSSON, L.; WESTDAHL, M. T. A semi-exhaustive trial-and-error powder indexing program for all symmetries. **J. Appl. Crystallogr.**, v. 18, p. 367-370, 1985.

WIEDMANN, T. S.; NAQWI, A. Pharmaceutical salts : theory, use in solid dosage forms and in situ preparation in an aerosol. **AJPS.**, v. 11, n. 6, p. 722-734, 2016.

ZIMMERMANN, B., BARANOVIĆ, G. Thermal analysis of paracetamol polymorphs by FT-IR spectroscopies. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v. 54, p. 295-302, 2011.