

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**MILENA CARLA ESPÓSITO**

**ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO, DESENVOLVIMENTO  
ANALÍTICO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE  
ACETATO DE FLUDROCORTISONA, ACETATO DE CORTISONA E  
HIDROCORTISONA BASE**

Alfenas/MG  
2018

**MILENA CARLA ESPÓSITO**

**ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO, DESENVOLVIMENTO  
ANALÍTICO E AVALIAÇÃO DA QUALIDADE DE CÁPSULAS DE  
ACETATO DE FLUDROCORTISONA, ACETATO DE CORTISONA E  
HIDROCORTISONA BASE**

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alfenas.

Área de concentração: Ciências Farmacêuticas.

Alfenas/MG  
2018

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas

E77e Espósito, Milena Carla.  
Estudos de pré-formulação, desenvolvimento analítico e avaliação da qualidade de cápsulas de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base. / Milena Carla Espósito – Alfenas/MG, 2018.  
174 f.: il. --  
Orientadora: Magali Benjamin de Araújo.  
Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Alfenas, 2018.  
Bibliografia.

1. Corticosteroides. 2. Composição de Medicamentos. 3. Estudos de Validação . 4. Estabilidade de Medicamentos. 5. Cristalização. I. Araújo, Magali Benjamin. II. Título.

CDD-615.19

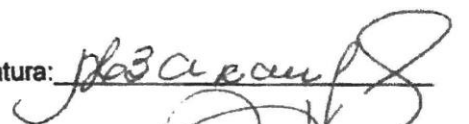
**MILENA CARLA ESPÓSITO**

**"Estudos de pré-formulação, desenvolvimento analítico e avaliação da qualidade de cápsulas de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base"**

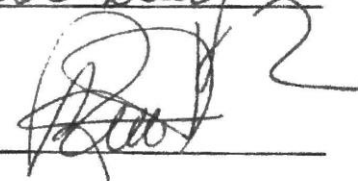
A Banca examinadora, abaixo assinada, aprova a Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Federal de Alfenas.

Aprovada em: 30/11/18

Profa. Dra. Magali Benjamim de Araújo  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

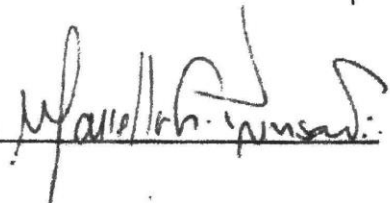
Prof. Dr. André Luis Morais Ruela  
Instituição: UFBA

Assinatura: 

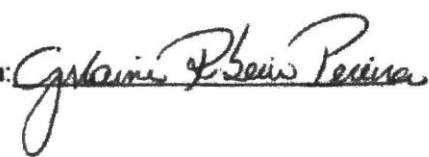
Profa. Dra. Lucélia Magalhães da Silva  
Instituição: IFPR

Assinatura: Lucélia M. da Silva

Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Profa. Dra. Gislaíne Ribeiro Pereira  
Instituição: UNIFAL-MG

Assinatura: 

Dedico este trabalho à Deus, que sempre me dá forças para seguir em frente rumo à realização de meus sonhos; e à minha família: filhas, marido, mãe, irmãs e sobrinhos pelo apoio e incentivo.

## AGRADECIMENTOS

À Deus, por me conceder saúde e condições de realizar esse trabalho.

A minha família, pelo amor que nutrimos uns aos outros e que nos faz sempre querer crescer.

Aos meus colegas de trabalho farmacêutica Danielle, farmacêutico Patrick, Jandira e prof. Antônio Luengo, pela compreensão e oportunidade.

Ao professor Rudy Bonfilio, pela transmissão de conhecimentos imprescindíveis para a realização desse trabalho.

A minha orientadora, profa. Dra. Magali Benjamim de Araújo, pela confiança em mim depositada e pelos conhecimentos transmitidos.

A todos os amigos e colegas de pós-graduação, especialmente Lilian, Thúlio, Jennifer e Lucas, pela ajuda e companheirismo durante toda a execução do trabalho.

As alunas de iniciação científica Thaline, Gabrielle e Athaislaine, pelo auxílio prestado.

Ao NCQ, LSLF, LacFar e LabIQ que me acolheram tão bem e proporcionaram a realização das análises.

A Faculdade de Ciências Farmacêuticas, pela oportunidade e suporte oferecido.

“A sabedoria dos homens é proporcional não à sua experiência, mas à sua capacidade de adquirir experiência.”

George Bernard Shaw

## RESUMO

A qualidade do medicamento se constitui no grau com que se cumpre com todas as características estabelecidas desde a fase de pesquisa da molécula ativa para finalidade pretendida até a disponibilização do medicamento para o usuário. Os corticosteroides, devido a sua intensa atividade imunomoduladora e anti-inflamatória, são os medicamentos mais amplamente prescritos no mundo. No Brasil, a comercialização de corticosteroides, com registro na ANVISA, para forma farmacêutica sólida via oral, se restringe à forma farmacêutica comprimido. A forma farmacêutica cápsula é manipulada em farmácias magistrais e não há descrição em compêndios oficiais e na literatura, de formulação padronizada para manipulação e nem metodologias de análise para os corticosteroides nessa apresentação. Esse trabalho objetivou desenvolver formulações padronizadas para forma farmacêutica cápsula e validar métodos analíticos para estudos biofarmacêuticos de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base, assim como estudar a estabilidade das cápsulas padronizadas e caracterizar polimorfos em acetato de fludrocortisona. Foram validados os métodos de análise dos referidos corticoides, assim como as suas aplicações no ensaio de dissolução, conforme a RDC 166/2017 – ANVISA/MS, apresentando resultados satisfatórios. Após o estudo de compatibilidade do IFA com os excipientes propostos, foi feito um planejamento fatorial a fim de selecionar uma formulação de cápsula de cada corticoide através de seu desempenho nos testes de doseamento, peso médio, dissolução e uniformidade de doses. Foram feitos testes de estabilidade acelerada e fotoestabilidade das cápsulas selecionadas que revelou uma estabilidade limitada das formulações. A investigação de polimorfismo foi feita apenas para o acetato de fludrocortisona, onde além do já descrito, foram caracterizados dois novos polimorfos.

Palavras-chave: Corticosteroides; Composição de Medicamentos; Estudos de Validação; Estabilidade de Medicamentos; Cristalização.



## ABSTRACT

The quality of the drug is the degree to which it meets all the characteristics established from the research phase of the active molecule for its intended purpose until the drug is made available to the user. Corticosteroids, due to their intense immunomodulatory and anti-inflammatory activity, are the most widely prescribed drugs in the world. In Brazil, the commercialization of corticosteroids, registered in ANVISA, for oral solid pharmaceutical form, is restricted to the compressed pharmaceutical form. The capsule pharmaceutical form is handled in master pharmacies and there is no description in official compendiums and in the literature of standardized formulation for manipulation and no analysis methodologies for corticosteroids in this presentation. This work aimed to develop standardized formulations for pharmaceutical capsule form and to validate analytical methods for biopharmaceutical studies of fludrocortisone acetate, cortisone acetate and hydrocortisone base, as well as to study the scapability of standardized capsules and to characterize polymorphs in fludrocortisone acetate. The methods of analysis of these corticosteroids were validated, as well as their applications in the dissolution test, according to RDC 166/2017 - ANVISA / MS, presenting satisfactory results. After the IFA compatibility study with the proposed excipients, a factorial design was carried out in order to select a capsule formulation of each corticosteroid through its performance in the dosage tests, mean weight, dissolution and uniformity of doses. Tests for accelerated stability and photostability of the selected capsules were performed which revealed limited stability of the formulations. The polymorphism investigation was done only for fludrocortisone acetate, where in addition to the already described, two new polymorphs were characterized.

**Keywords:** Adrenal Cortex Hormones; Drug Compounding; Validation Studies; Drug Stability; Crystallization.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	15
2.1	CORTICOESTEROIDES .....	15
2.2	POLIMORFISMO .....	20
2.3	FORMA FARMACÊUTICA CÁPSULA .....	23
2.4	ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO .....	25
<b>3</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	27
<b>4</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	38
4.1	MATERIAL .....	28
<b>4.1.1</b>	<b>Insumos farmacêuticos, substância química de referência e reagentes</b> .....	28
<b>4.1.2</b>	Equipamentos .....	29
<b>4.2</b>	<b>MÉTODOS</b> .....	30
4.2.1	<b>Estudos de pré-formulação</b> .....	30
4.2.1.1	Caracterização do estado sólido .....	30
4.2.1.2	Excipientes .....	31
4.2.1.3	Estudo de compatibilidade fármaco-excipiente .....	32
4.2.1.3.1	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial</i> .....	32
4.2.1.3.2	<i>Termogravimetria</i> .....	32
4.2.1.3.3	<i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência</i> .....	32
<b>4.2.2</b>	<b>Desenvolvimento da metodologia de análise</b> .....	33
4.2.2.1	Método espectrofotométrico – UV .....	33
4.2.2.2	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência .....	33
<b>4.2.3</b>	<b>Validação das metodologias de análise</b> .....	36
4.2.3.1	Seletividade .....	36
4.2.3.2	Linearidade .....	37
4.2.3.3	Exatidão .....	38
4.2.3.4	Precisão .....	39
4.2.3.5	Limite de Detecção .....	40
4.2.3.6	Limite de Quantificação .....	40
4.2.3.7	Robustez .....	40

<b>4.2.4</b>	<b>Processo Tecnológico para cápsulas</b> .....	41
4.2.4.1	Desenvolvimento das formulações .....	41
4.2.4.2	Manipulação das cápsulas .....	46
4.2.4.3	Controle do processo de manipulação das cápsulas .....	47
<b>4.2.5</b>	<b>Análise químico-farmacêutica para cápsulas</b> .....	48
4.2.5.1	Determinação de peso médio (ensaio destrutivo) .....	48
4.2.5.2	Doseamento.....	48
4.2.5.3	Análise dos componentes das formulações .....	49
4.2.5.4	Uniformidade de doses .....	51
4.2.5.5	Perfil de dissolução .....	51
<b>4.2.6</b>	<b>Estabilidade preliminar</b> .....	53
4.2.6.1	Estabilidade acelerada .....	53
4.2.6.2	Fotoestabilidade .....	53
<b>4.2.7</b>	<b>Caracterização de polimorfos</b> .....	54
4.2.7.1	Processo de recristalização .....	54
4.2.7.2	Microscopia .....	55
4.2.7.3	Análise por DRXP .....	55
4.2.7.4	Análise por IV .....	56
4.2.7.5	Análises térmicas por DSC e TG .....	56
<b>5</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	57
5.1	ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO .....	57
<b>5.1.1</b>	<b>Solubilidade</b> .....	57
<b>5.1.2</b>	<b>Granulometria e densidade aparente</b> .....	58
<b>5.1.3</b>	<b>Excipientes</b> .....	58
<b>5.1.4</b>	<b>Estudo de compatibilidade fármaco-excipiente</b> .....	59
5.1.4.1	Calorimetria Exploratória Diferencial .....	60
5.1.4.2	Termogravimetria .....	66
5.1.4.3	Doseamento por CLAE após estresse térmico .....	70
5.2	PLANEJAMENTO E PREPARO DAS CÁPSULAS .....	72
5.3	DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE ANÁLISE DAS CÁPSULAS .....	74
5.3.1	<b>Método espectrofotométrico – UV</b> .....	74
5.3.1.1	Escolha do comprimento de onda e solvente adequado .....	74
<b>5.3.2</b>	<b>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)</b> .....	75

5.4	VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE POR CLAE .....	76
5.4.1	<b>Seletividade</b> .....	76
5.4.2	<b>Lineridade</b> .....	79
5.4.3	<b>Exatidão</b> .....	85
5.4.4	<b>Precisão</b> .....	86
5.4.5	<b>Limite de quantificação (LQ)</b> .....	87
5.4.6	<b>Limite de detecção (LD)</b> .....	88
5.4.7	<b>Robustez</b> .....	88
5.5	VALIDAÇÃO DAS METODOLOGIAS DE ANÁLISE APLICADAS AOS TESTES DE DISSOLUÇÃO PARA CÁPSULAS DOS IFA'S .....	91
5.5.1	<b>Seletividade</b> .....	91
5.5.2	<b>Lineridade</b> .....	94
5.5.3	<b>Exatidão</b> .....	98
5.5.4	<b>Precisão</b> .....	99
5.5.5	<b>Limite de quantificação (LQ)</b> .....	99
5.5.6	<b>Limite de detecção (LD)</b> .....	100
5.5.7	<b>Robustez</b> .....	100
5.6	ENSAIOS ANALÍTICOS DAS FORMULAÇÕES DE CÁPSULAS DOS IFA'S .....	105
5.6.1	<b>Doseamento e análise dos componentes das formulações</b> .....	105
5.6.2	<b>Perfis de dissolução das formulações otimizadas</b> .....	112
5.6.3	<b>Uniformidade de doses unitárias das formulações escolhidas</b> .....	117
5.7	ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS CÁPSULAS .....	119
5.7.1	<b>Estabilidade acelerada</b> .....	119
5.7.2.	<b>Fotoestabilidade</b> .....	128
5.8	INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO .....	134
5.8.1	<b>Recristalização das IFA's</b> .....	134
5.8.2	<b>Caracterização dos cristais de acetato de fludrocortisona candidatos a polimorfos</b> .....	135
5.8.2.1.	Análise por DRXP .....	135
5.8.2.2	Microscopia .....	149
5.8.2.3	Análises térmicas .....	141
5.8.2.3.1	<i>Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)</i> .....	141
5.8.2.3.2	<i>Termogravimetria</i> .....	143

5.8.2.3.3	<i>Análise por IV-ATR</i> .....	144
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	146
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	149
	<b>Apêndice A – Proposta de formulação ACETATO DE FLUDROCORTISONA 50 µg E 100 µg, CÁPSULA</b> .....	158
	<b>Apêndice B - Proposta de formulação ACETATO DE CORTISONA 6,25mg e 12,5mg, CÁPSULA</b> .....	160
	<b>Apêndice C - Proposta de formulação HIDROCORTISONA BASE 10MG, CÁPSULA</b> .....	162
	<b>Apêndice D - Proposta de monografia analítica ACETATO DE FLUDROCORTISONA, CÁPSULAS</b> .....	166
	<b>Apêndice E - Proposta de monografia analítica ACETATO DE CORTISONA, CÁPSULAS</b> .....	169
	<b>Apêndice F - Proposta de monografia analítica HIDROCORTISONA BASE, CÁPSULAS</b> .....	172

## 1 INTRODUÇÃO

A qualidade do medicamento se constitui no grau com que se cumpre com todas as características estabelecidas desde a fase de pesquisa da molécula ativa para finalidade pretendida, rota sintética atribuída para o ativo farmacêutico em escala industrial, desenvolvimento da formulação, escolha dos excipientes e da forma farmacêutica, processo de fabricação, boa apresentação visando a maior confiabilidade e aceitabilidade pelo paciente, conformidade com os parâmetros farmacopeicos, biodisponibilidade, eficácia clínica e segurança (GASPAROTTO, 2005).

No desenvolvimento e na produção do medicamento, a evolução tecnológica exige o cumprimento de requisitos regulatórios de forma a evitar e prevenir os riscos de qualidade e segurança do produto. A garantia da qualidade é um importante aspecto a ser considerado desde o projeto de obtenção da molécula ativa até a liberação do medicamento para o consumidor.

Os órgãos regulamentadores exigem que as empresas produtoras realizem ensaios de qualidade em todas as fases do processo de fabricação. Estas normas são dinâmicas e devem ser sempre atualizadas para acompanhar a evolução tecnológica dos processos, de novos equipamentos e de gestão da qualidade (BRASIL, 2003; BRASIL, 2007; Brasil, 2010a).

A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), através da Gerência Geral de Inspeção de Medicamentos e Controle de Produtos, vem constatando a escassez no país de literatura técnica que sistematize ensaios, processos, e materiais utilizados por Laboratórios de Controle da Qualidade e Controle da Produção no sentido de controlar os ativos farmacêuticos quanto à presença de polimorfos, padronizar as formulações magistrais do mesmo ativo farmacêutico e desenvolver metodologias de análises validadas para controle da qualidade dos medicamentos manipulados (BRASIL, 2005a; BRASIL, 2007; SILVA, 2008).

No Brasil, a comercialização de corticoesteroides, com registro na ANVISA, para forma farmacêutica sólida via oral, se restringe à forma farmacêutica comprimido. A forma farmacêutica cápsula é manipulada em farmácias magistrais e não há descrição em compêndios oficiais e na literatura, de formulação padronizada para manipulação e nem metodologias de análise para os corticoesteroides nessa apresentação (BRASIL, 2016a).

Cápsula é a forma farmacêutica mais produzida em uma farmácia magistral pois, com sua infinidade de cores e impressões e por reduzir o risco de confusões, têm-se tornado bastante atraente frente às demais formas farmacêuticas de administração oral e, também, oferece boa adesão ao tratamento por mascarar gosto desagradável e por ser de fácil deglutição. Além disso, permitem a mistura de ativos no mesmo invólucro e redução nas etapas de processo o que torna

sua fabricação mais fácil, rápida, economicamente viável e possível de ser manipulada em farmácias magistrais (BERTOLLO, 2008; FERREIRA, 2006; SILVA, 2008).

Os corticoesteroides, devido a sua intensa atividade imunomoduladora e anti-inflamatória, são os medicamentos mais amplamente prescritos no mundo e, seu mercado mundial é estimado em mais de 10 bilhões de dólares por ano (RAMAMOORTHY, 2016).

Por outro lado, seus usos terapêuticos são limitados devido a seus efeitos colaterais, principalmente quando da utilização de altas doses e por tempo prolongado.

Considerando as etapas de metabolização e eliminação da farmacocinética dos corticoesteroides, em populações especiais como aquelas com problemas renais, hepáticos, geriátricas e pediátricas, sempre é necessário o ajuste de dose quando da utilização desses medicamentos por períodos prolongados (GOODMAN; GILMAN, 2012; POLITO, 2016).

As doses usuais de corticoesteróides via oral, para adultos variam de 0,05 a 100,00 mg/dia e, a partir de 0,020 mg/Kg/dia para pacientes pediátricos, considerando-se a potência do glicocorticoide e condição clínica do paciente (GOODMAN; GILMAN, 2012; POLITO, 2016).

Dessa forma, a preparação magistral desses medicamentos ganha destaque, já que permite a individualização e flexibilização das doses através da manipulação de cápsulas e/ou suspensões/soluções com a dose exata para um determinado paciente.

Os corticoesteroides são fármacos com classificação biofarmacêutica classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade), condição em que avaliação de polimorfismo nos IFAs, desenvolvimento tecnológico para formulação para forma farmacêutica cápsula e de testes de dissolução são essenciais para garantia da qualidade do medicamento, pois fornecem informações a respeito das características biofarmacêuticas do fármaco, de sua liberação a partir da forma farmacêutica e prospecção de seu comportamento *in vivo* (TODESCHINI, 2013).

Considerando a importância da qualidade de medicamentos para a saúde pública, o acompanhamento dos processos de fabricação que envolvem etapas diferenciadas e, também, excipientes diversificados que são empregados na formulação, faz-se necessário oferecer soluções tecnológicas e opções em procedimentos analíticos com o objetivo de otimizar, gerar economia e, conseqüentemente, trazer benefícios para os usuários do medicamento.

Neste contexto, buscamos contribuir com estudos de polimorfismo, estabilidade, desenvolvimento analítico e de formulação padronizada para forma farmacêutica cápsula com avaliação da qualidade das mesmas, o que vem de encontro com o desenvolvimento científico e tecnológico do país, com o Código Oficial Brasileiro (Farmacopéia Brasileira) no âmbito da Vigilância Sanitária e que, certamente, trará contribuições relevantes para área da farmácia e

impactos positivos para a saúde humana quando da utilização do medicamento manipulado, com formulações padronizadas e garantia de segurança e eficácia clínica.

As formulações foram padronizadas através da metodologia de otimização multivariada, tendo por base tipo de excipiente e respectivas proporções e tempo de mistura. Os excipientes escolhidos tiveram a compatibilidade com os IFA's avaliadas através das técnicas térmicas DSC e TG e também por CLAE. As cápsulas manipuladas foram submetidas a peso médio, variação do conteúdo teórico, doseamento, uniformidade de conteúdo, perfil de dissolução, teste de estabilidade acelerado e fotoestabilidade.

O método de análise das cápsulas manipuladas foi desenvolvido por CLAE e validado tanto para o doseamento das mesmas quanto para o teste de dissolução.

Foram obtidas formas cristalinas de acetato de fludrocortisona e caracterizadas por DSC, TG/DTG, DRXP e IV-ATR. Foram caracterizados dois novos polimorfos ainda não descritos na literatura.

Este estudo atende à Chamada CNPq/ANVISA nº12/2015, que tem como objetivo apoiar projetos de pesquisa para elaboração de monografias de formulações padronizadas de cápsulas para uso magistral assim como as suas metodologias de análise, visando a ampliação do número atual de formulações do Formulário Nacional, entre outros.

A referida Chamada CNPq/ANVISA demanda estudos para os corticosteroides acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A seguir será apresentada uma revisão bibliográfica do tema abordado nesse trabalho.

### 2.1 CORTICOESTEROIDES

Os corticoesteroides constituem uma classe de hormônios liberados pelo córtex adrenal, que inclui os glicocorticóides e os mineralocorticoides (RAMAMOORTHY, 2016).

Bartolomeu Eustáquio, em 1563 foi o primeiro a fazer referências às glândulas adrenais porém, apenas em 1855 Thomas Addison observou evidências da importância fisiológica dessas estruturas; importância essa, confirmada em 1856 pelo pesquisador Brown-Séguard, que demonstrou que o animal adrenalectomizado evoluía sempre para a morte (BARNES, 2014; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2015).

Em meados de 1930 várias condições patológicas como a Síndrome de Cushing entre outras, foram descritas observando-se a relação entre hipófise e adrenal. Bordley e colaboradores foram os primeiros a evidenciar que o hormônio adrenocorticotrópico era muito benéfico no tratamento de doenças alérgicas em 1949, porém o seu uso sistêmico foi limitado devido aos seus efeitos colaterais. Hench, Kendall e Reichstein (1950) ganharam o prêmio Nobel de Medicina por introduzirem a cortisona com grande sucesso no tratamento da artrite reumatóide, marcando assim, o início da corticoterapia (PENILDON, 2010; BARNES, 2014; CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2015).

A glândula supra-renal, localizada sobre o polo superior dos rins, possui duas camadas de origem embriológica diversa e com funções diferentes. A porção interna (medula) está relacionada com a produção dos hormônios adrenalina e noradrenalina. A porção externa (córtex) produz os hormônios glicocorticoides, mineralocorticoides e hormônios sexuais andrógenos e estrógenos (GOODMAN; GILMAN, 2012; QUAX, 2013; PENILDON, 2010).

Os mineralocorticoides atuam predominantemente no equilíbrio hidroeletrólítico retendo sódio e depletando potássio. A aldosterona é o mais importante mineralocorticoide endógeno. Os glicocorticoides possuem importante função no metabolismo de carboidratos, proteínas e cálcio e potente atividade anti-inflamatória e imunossupressora. São liberados em resposta a condições de stress. A hidrocortisona, também chamada de cortisol é o principal glicocorticoide endógeno (CRUZ-TOPETE; CIDLOWSKI, 2015; HANEEF, 2013; QUAX, 2013; PENILDON, 2010).

A síntese e liberação dessas substâncias ocorrem naturalmente pelo organismo, de acordo com sua necessidade, sob influência do hormônio adrenocorticotrófico (ACTH), considerando o ritmo circadiano que influencia diretamente na síntese de glicocorticoides pelo organismo. As concentrações plasmáticas de glicocorticoides encontram-se elevadas pela manhã e decrescem ao longo do dia e, por outro lado, as concentrações podem se modificar quando há alterações no hábito de dormir e por estímulos como excesso de calor ou frio, stress, lesões ou infecções (BAVARESCO, 2005; QUAX, 2013; RAMAMOORTHY, 2016).

Segundo Ramamoorthy (2016), o termo “corticoesteroides” é comumente utilizado para se referir aos glicocorticoides, maneira como iremos proceder aqui.

Os corticoesteroides possuem atividade sobre reações inflamatórias de qualquer etiologia, seja ela provocada por invasão de um patógeno, por estímulos físicos ou químicos, por reações autoimunes ou de hipersensibilidade, cujo usos terapêuticos estão relacionados a essas condições. São usados também para suprimir rejeições a enxertos e transplantes, devido a sua ação imunomoduladora (BAVARESCO, 2005; RAMAMOORTHY, 2016).

Os efeitos colaterais associados aos corticoesteroides podem ser observados nos diversos órgãos e sistemas: sistema nervoso central (ex.: depressão, insônia, psicose e tentativa de suicídio), sistema imune (imunodepressão), aparelho digestório (ex.: úlcera péptica, pancreatite), olhos (ex.: glaucoma, catarata), sistema endócrino e metabólico (ex.: retardo do crescimento, diabetes, síndrome de Cushing), aparelho cardiovascular (ex.: hipertensão, acidente vascular cerebral, infarto), sistema músculo esquelético (ex.: miopatias, osteoporose), sangue (ex.: leucocitose, tromboembolismo), pele (ex.: atrofia, acne, hirsutismo, equimoses), água e eletrólitos (ex.: depleção de potássio, hipocalcemia e edema). Além disso, pessoas submetidas a tratamento a longo prazo podem desenvolver resistência tecido-específico aos glicocorticoides (PENILDON, 2010; RAMAMOORTHY, 2016).

O aparecimento dos efeitos colaterais está relacionado com o tipo de preparação, horário, dose, duração, via e esquema de administração, idade e sexo, doença de base, associação com medicamentos que interferem na sua ação e o perfil individual de sensibilidade (ALVES, 2008).

A terapia prolongada (mais de uma semana) e/ou com altas doses de corticoesteroides pode causar três tipos de complicações quando seu uso é interrompido de maneira inadequada: insuficiência adrenal secundária à supressão do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), síndrome da retirada dos corticoides e reativação da doença de base. Não existe nenhum consenso, diretriz, ou ensaio clínico controlado orientando sobre como proceder a retirada da corticoterapia crônica. Na prática clínica, a maioria dos médicos que prescrevem

corticoesteroides desenvolve seu próprio esquema empírico de retirada da medicação e o que estabelecem em comum é que a retirada nunca deve ser abrupta (ALVES, 2008).

Os corticoesteroides endógenos são produzidos a partir do colesterol através de um processo multi-enzimático denominado esteroidogênese e pertencem, segundo classificação química, a série C21 (hormônios esteroides com 21 carbonos). Devido a sua natureza lipofílica, os glicocorticoides não podem ser pré-sintetizados e estocados na glândula adrenal, mas precisam ser rapidamente sintetizados (através de várias reações enzimáticas) sob estimulação do hormônio adrenocorticotrófico. Uma vez liberado pela adrenal, eles caem na corrente sanguínea e atingem os tecidos alvo, seus níveis são mantidos pela síntese adrenal, mas sua disponibilização é regulada pelo tecido ou a nível celular (RAMAMOORTHY, 2016).

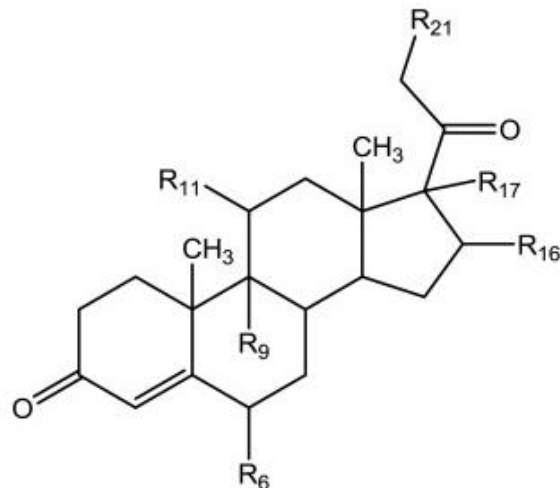
Os corticoesteroides agem através da interação com proteínas receptoras específicas nos tecidos-alvo para regular a expressão dos genes responsivos, modificando os níveis e tipos de proteínas sintetizadas. Esse tipo de ação constitui a principal via de ação dos glicocorticoides e é conhecida como ação genômica que, como depende de síntese proteica, não gera um efeito imediato no tecido alvo. Além dos efeitos genômicos, alguns poucos efeitos imediatos são observados e estão associados à interação físico-química com receptores de membrana para glicocorticoides, ação conhecida como não-genômica (GOODMAN; GILMAN, 2012; RAMAMOORTHY, 2016).

A hidrocortisona ((11 $\beta$ )-11,17,21-trihidroxypregn-4-en-3,20-diona) é o protótipo dos glicocorticoides, possui estrutura básica dos esteroides, que é o núcleo ciclopentanoperidrofenantreno (FIGURA 1). Modificações químicas efetuadas na sua molécula originam derivados sintéticos com maiores potências e duração de ação mais prolongadas. Em nenhum desses derivados observa-se separação dos efeitos anti-inflamatórios dos demais efeitos dos corticoesteroides e observa-se efeitos mínimos sobre os eletrólitos. A substituição por C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>O<sub>2</sub> em R<sub>21</sub> (FIGURA 1), contribui com o aumento da solubilidade da molécula. (CHEMSPIDER, 2017; CHEN, 2011; GOODMAN; GILMAN, 2012; LEWIS, 2016; PENILDON, 2010).

A atividade dos corticoesteroides sintéticos dependem, em grande parte dos substituintes ligados ao núcleo, que podem aumentar ambas as atividades glicocorticoide e mineralocorticoide (HANEED, 2013; ROMANHOLI; SALGADO, 2007). Se apresentam na forma de pó cristalino geralmente branco e podem ser produzidos sinteticamente, sob a forma de base livre ou sal, comumente na forma de acetato (CHEMSPIDER, 2018; EUROPEAN COMMISSION PUBLIC HEALTH, 2011; LEWIS, 2016).

Os corticoesteróides disponíveis comercialmente no Brasil, entre medicamentos de referência e genéricos, incluem a hidrocortisona e seus análogos sintéticos cortisona, clobetasol, fluticasona, fludrocortisona, fluormetonolona, fluocinolona, triancinolona, betametasona, beclometasona, budesonida, desonida, desoximetasona, dexametasona, deflazacorte, diflorasona, flunisolida, metilprednisolona, mometasona e prednisolona (BRASIL, 2016a).

No Brasil, além de comprimidos e soluções / suspensões para utilização por via oral, existem preparações industrializadas para uso via parenteral (intra-muscular, intra-articular e venosa), via inalatória e uso tópico (BRASIL, 2016a); não existem cápsulas de corticoesteroides industrializadas.



<b>Glicocorticoide</b>	<b>R<sub>9</sub></b>	<b>R<sub>6</sub></b>	<b>R<sub>11</sub></b>	<b>R<sub>17</sub></b>	<b>R<sub>16</sub></b>	<b>R<sub>21</sub></b>
Dexametasona	-F	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Betametasona	-F	-H	-OH	-OH	-CH <sub>3</sub>	-OH
Prednisona	-H	-H	=O	-OH	-H	-OH
Prednisolona	-H	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Metilprednisolona	-H	-CH <sub>3</sub>	-OH	-OH	-H	-OH
Beclometasona	-Cl	-H	-OH	-OH	-CH <sub>3</sub>	-OH
Hidrocortisona	-H	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Fludrocortisona	-F	-H	-OH	-OH	-H	-OH
Cortisona	-H	-H	=O	-OH	-H	-OH

Figura 1 - Estrutura química da hidrocortisona e seus principais análogos sintéticos utilizados na clínica.

Fonte: HANEEF, 2013.

Assim como a hidrocortisona, os seus análogos sintéticos são, também, bem absorvidos por via oral, especialmente na forma de acetato. A absorção da hidrocortisona por via oral acontece por difusão passiva, com 45 a 80% da dose administrada, ocorrendo o pico plasmático em torno de 1 hora após a administração. A ingestão concomitante com alimentos retarda a velocidade de absorção em torno de 2h, enquanto aumenta a sua absorção e biodisponibilidade por volta de 30% (EUROPEAN COMMISSION PUBLIC HEALTH, 2011).

Da hidrocortisona plasmática (5 a 25 $\mu$ g/100mL, concentração de produção endógena), 80 a 90% se encontram ligadas a proteínas plasmáticas chamadas de Globulinas de Ligação aos Corticoesteroides (CBG) ou transcortina e também, em menor parte, à albumina (5 a 15%). Somente cerca de 5% dos glicocorticoides plasmáticos estão livres e bioativos. Na circulação sistêmica, os corticoesteroides se distribuem livremente nos espaços intra e extra celulares, devido a sua natureza lipofílica, exercendo suas ações nos órgãos e tecidos-alvo. Alguns de seus efeitos podem ser detectados de 30 minutos a 2 horas após a administração e uma vez iniciados, podem durar horas ou dias após o desaparecimento do composto no sangue, já que esses efeitos são devidos a alterações a nível de RNA e síntese proteica (GOODMAN; GILMAN, 2012; RAMAMOORTHY, 2016).

O metabolismo dos corticoesteroides envolve reações de redução ou oxidação seguidas de conjugação (maioria com glicuronídeos) que ocorrem predominantemente no fígado, para a formação de derivados mais hidrossolúveis a serem excretados na urina (GOODMAN; GILMAN, 2012; RAMAMOORTHY, 2016).

Segundo classificação biofarmacêutica proposta por Amidon e colaboradores (1995), os corticoesteroides são de natureza lipofílica, com classificação biofarmacêutica classe II (alta permeabilidade e baixa solubilidade). Dessa forma, quando apresentado em preparações sólidas para uso oral, apresentam baixa velocidade de dissolução em meio aquoso, porém com alta permeabilidade intestinal (EUROPEAN COMMISSION PUBLIC HEALTH, 2011).

Encontram-se descritos na literatura diferentes métodos qualitativos e quantitativos de análise de corticoesteroides empregando na sua maioria, métodos cromatográficos (cromatografia líquida, cromatografia gasosa), com e sem derivatização (YAMASHITA, 2007; MARCOS; POZO, 2015) e utilização de detectores ultra-violeta (ADI-DAKO, 2017; CISTERNINO, SCHLATER; SAULNIER, 2003; D'HONDT, 2014; GIBAUDI, 2004), espectrometria de massas (GIACCONE, 2017; FERRABOSCHI, 2008; TAYLOR, GREBE; SINGH, 2004), fluorimétrico (SUDO, 1988), quimioluminescência (TAKEDA, 1990).

As publicações de métodos desenvolvidos para esse fim empregando amostras biológicas são mais frequentes que aqueles que empregam formas farmacêuticas e outras como

amostras de água. Dentre os métodos que empregam amostras biológicas Hawley e Keevil (2016), Ionita (2009), MC Whinney (2010), Ribot (2013), Sudo (1988) publicaram métodos que empregavam soro ou plasma, MC Whinney (2010) e Perogamvros (2009) utilizaram métodos para saliva, Antignac (2005), MC Whinney (2010), Pujos (2005), Sudo (1988), para urina, Bévalot (2000) para cabelo, Chen (2011) e Deceuninck (2011) para fragmentos de tecido (humanos e animais). Muitos métodos possuem a etapa de extração: Becue (2011) utilizou extração em fase sólida, Ribot (2013) e Saracino (2014) utilizaam microextração em fase sólida, Quin (2013) extração líquido/líquido e Hawley e Keevil (2016) precipitação de proteínas.

Publicações de estudos para detecção e dosagem de corticoesteroides a partir de medicamentos e cosméticos incluem métodos cujas amostras são cremes (cosméticos e medicamentosos), comprimidos, suspensões e soluções, utilizando métodos por cromatografia líquida de alta eficiência que empregam colunas cromatográficas tipo C18, fase móvel e fluxo variáveis, comprimento de onda de detecção, quando UV, entre 240 e 254nm, dependendo do corticoide em questão (AST, 1979; CISTERNINO, SCHLATTER; SAULNIER, 2003; GIACCONNE, 2017; GOLUBOVIC, 2015; JOHANNSONN, 2009).

Dentre os corticoides contemplados nas farmacopeias, na Farmacopeia Americana (USP) encontram-se as monografias para análise de matérias-primas e comprimidos de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e de hidrocortisona; na Farmacopeia Britânica, encontram-se as monografias para as respectivas matérias-primas dos 3 corticoesteroides estudados e na Farmacopeia Brasileira apenas a monografia para a hidrocortisona matéria-prima.

## 2.2 POLIMORFISMO

Todas as formas farmacêuticas sólidas orais estão sujeitas a apresentar variações em seus perfis de bioequivalência, já que podem ser formuladas com excipientes diversos que interferem na liberação do ingrediente ativo, assim como podem ser produzidas com matérias-primas sujeitas a apresentar o fenômeno do polimorfismo, que também interfere no perfil de dissolução do medicamento.

Polimorfismo pode ser definido como a capacidade de um composto sólido apresentar-se em duas ou mais formas cristalinas. Polimorfos são compostos com a mesma composição química, porém com moléculas arranjadas de pelo menos dois diferentes modos no estado cristalino (ARAÚJO, 2012; DESIRAJU, 2008).

O fenômeno do polimorfismo é conhecido há mais de dois séculos, sendo observado em 1788 pelo químico Martin Heinrich Klaprot, com a cristalização do carbonato de cálcio. O termo “polimorfismo” foi criado em 1822 pelo químico alemão Eilhard Mitscherlich, porém somente a partir de 1960 o setor farmacêutico começou a estudar melhor o assunto (ARAÚJO, 2012).

Em 1995 Dunitz e Bernstein’s focalizaram estudos na identificação e efeitos dos polimorfos e, a partir de então, vários métodos de obtenção de polimorfos e controle de formação dos mesmos foram desenvolvidos (LLINÁS, 2008).

As propriedades físico-químicas e tecnológicas que podem ser alteradas com o fenômeno de polimorfismo de fármacos são: compressibilidade, dureza, fluxo de pó, condutividade, densidade, higroscopicidade, índice de refração, cor, morfologia de partículas, entalpia e entropia, capacidade calorífica, temperaturas de fusão e ebulição, pressão de vapor, estabilidade, solubilidade e taxa de dissolução (EDDLESTON, 2013).

Qualquer variação no padrão de arranjo das moléculas resulta em formas polimórficas diferentes e modificações de suas propriedades físicas e químicas, uma vez que as características dos materiais sólidos estão intimamente ligadas à sua forma cristalina, podendo afetar a biodisponibilidade e estabilidade (PUROHIT, 2009).

Em ciências farmacêuticas o termo polimorfismo é utilizado para designar uma variedade de formas sólidas de fármacos e excipientes, incluindo formas amorfas, solvatos, hidratos, sais e co-cristais (ALTONEN, 2009). A rigor, as formas amorfas não são consideradas polimorfos, pois elas não são sólidos cristalinos, os solvatos e hidratos são classificados como pseudopolimorfos pois possuem moléculas de solvente ou água, respectivamente incluídas em sua rede cristalina e, os co-cristais diferentemente dos polimorfos consistem de um cristal formado por dois ou mais componentes sólidos à temperatura ambiente e coexistem em uma razão estequiométrica entre um ou mais IFA’s e um ou mais agentes cocrystalizantes (SILVA, 2010; ROCHA, 2016).

Diversas técnicas de cristalização para obtenção de polimorfos estão descritas na literatura e mostram que, a interação e reconhecimento molecular, termodinâmica e cinética podem ser úteis para obter informações sobre a forma cristalina desejada (LLINÁS, 2008).

As formas polimórficas dos IFA’s podem ser obtidas por técnicas bem conhecidas como moagem (mecanoquímica), aquecimento e cristalização (através de resfriamento de soluções, evaporação de solventes, adição de anti-solventes, utilização de fluidos supercríticos e spray-drying - secagem por pulverização) (HASA; JONES, 2017; HIGASHI, 2016).

É na etapa de desenvolvimento de um medicamento que deve ser investigada e escolhida a forma polimórfica a ser utilizada. O polimorfo preferido é sempre o mais estável, ou seja, aquele que apresenta menor energia. Para que se conheça e reconheça essa forma, uma análise do estado sólido do fármaco deve ser feita criteriosamente a fim de desenvolver um medicamento estável cujo comportamento farmacocinético seja previsível. Neste sentido, cuidados são necessários para que a forma escolhida não se converta para metaestável durante o processo de obtenção da molécula ativa, fabricação e armazenamento (SINGHAL, 2004).

Em alguns casos, a forma metaestável pode ser a escolhida para o desenvolvimento do medicamento, e quando isso acontecer, deve-se garantir que a maior alteração possível não compromete a qualidade e a biodisponibilidade do medicamento (SINGHAL, 2004).

Já foram identificadas algumas formas cristalinas polimórficas em corticoesteroides, porém apenas alguns dos sais descritos são comercializados no Brasil. (CARLESS, 1968; SUTTON, 1987; YANG, 2008; SUITCHMEZIAN, 2006; KUHNERT-BRANDSTATTER I II e III, 1971; PAULINO, 2013).

Em 1951 houve o primeiro pedido de patente, relativo a descoberta de cinco possíveis formas polimórficas de acetato de cortisona, revelando os seus respectivos padrões de difração de raios X. Em 1954, Garrat e Marshall fizeram as medidas de absorção no infravermelho das cinco formas polimórficas, porém não forneceram detalhes sobre a caracterização das mesmas. Já em 1958 houve um novo pedido de patente cujos padrões de difração de raios X eram semelhantes aos dados do pedido de patente anterior e os dados de estabilidade das formas polimórficas assim como informações cristalográficas eram diferentes. Beher, Parsons e Baker, em 1955 e 1958 também fizeram medidas de difração de raios X para algumas formas com dados cristalográficas ainda mais distintos (CALLOW, 1961)

Em 1961 ocorreu a primeira publicação a respeito de polimorfos (hidratos) de acetato de cortisona, no *Journal of Pharmacy and Pharmacology* por Callow. Em 1971 Van den Bossche publicou os dados cristalográficos da cortisona base livre. Em 1972 Declerq, Germain e Meerssche publicaram a caracterização da cortisona base livre e de outro polimorfo de acetato de cortisona, assim como Kanters et al, em 1985. Em 1987 Kanters chegou até um solvato de acetona de acetato de cortisona e a um monohidrato do mesmo composto. Shikii et al, em 2004 registraram os dados cristalográficos da cortisona base livre com pequenas diferenças dos registros anteriores. Em 2007, Petit et al registraram os dados cristalográficos de um solvato de metilformamida e um solvato de dimetilsulfóxido de acetato de cortisona (CCDC, 2018).

Com relação ao acetato de fludrocortisona, o primeiro registro de sua forma cristalina foi relativo à fludrocortisona base livre (9 $\alpha$ fluorocortisol) em 1972, por Weeks e Duax, no



American Crystallographic Association, Abstracts Papers (Winter). No mesmo ano, Dupont, Dideberg e Campstein fizeram o registro da mesma estrutura com pequenas variações nos dados cristalográficos. Em 1975, Duax e Norton registraram outra estrutura cristalina do mesmo composto, porém com posição diferente do átomo de flúor (6 $\alpha$ fluorocortisol). Em 1987 Sutton e Byrn registraram a estrutura cristalina do acetato de fludrocortisona (9 $\alpha$ fluorocortisol acetato) no mesmo ano os mesmos pesquisadores publicaram no Journal Pharmaceutical Science o encontro de um solvato do acetato de fludrocortisona, tendo como solvente o propanol e um hidrato de acetato de fludrocortisona. Esse último foi considerado por eles um polimorfo (CCDC, 2018).

Para a hidrocortisona existem registros a partir de 1955; o primeiro deles é de Shell, que fez o registro do cristal de acetato de hidrocortisona e seu polimorfo, um solvato de dimetilformamida. Haner em 1964 registrou os dados cristalográficos da hidrocortisona base livre. Em 2008 Suitchmezian et al registraram três cristais da base livre de hidrocortisona, porém com dados cristalográficos diferentes (CCDC, 2018).

São raras informações recentes sobre polimorfismo de fármacos pertencentes a essa classe e sua influência nas propriedades passíveis de serem modificadas.

### 2.3 FORMA FARMACÊUTICA CÁPSULA

Segundo Hondt (2014), as cápsulas são pequenos recipientes que se enchem com um ou mais ingrediente farmacêutico ativo (IFA) e seus adjuvantes técnicos (excipientes), os quais devem ser compatíveis com o IFA. As cápsulas são, na sua grande maioria, à base de gelatina e foram inventadas no século 19, a fim de mascarar o gosto e odor dos medicamentos. É uma forma de dosagem popular devido à sua estabilidade, alta precisão de dosagem, liberação rápida do IFA e facilidade de deglutição.

A grande vantagem da forma farmacêutica cápsula em relação às demais formas farmacêuticas sólidas de administração oral (comprimidos e drágeas, principalmente) é sua versatilidade por permitir a preparação da formulação pelo farmacêutico, de maneira personalizada, o que é muito útil e importante principalmente em geriatria, fugindo, dessa forma, da estratégia “*one size fits all*” adotada pela indústria farmacêutica (HONDT, 2014).

Em geriatria, a preparação de cápsulas é especialmente vantajosa por permitir a otimização da associação de vários IFAs em uma só forma farmacêutica e de suas dosagens, já que essa população geralmente está sob uso de polifarmácia, facilitando assim a adesão ao tratamento (HONDT, 2014).

Algumas desvantagens associadas à forma farmacêutica cápsula estão relacionadas ao armazenamento e produção das mesmas, devido à sua sensibilidade a variações de temperatura e umidade relativa, sendo as condições ideais temperaturas entre 20 e 25°C e umidade relativa entre 45 e 55%; dificuldade de deglutição devido às suas dimensões serem sempre maiores que a forma farmacêutica comprimido de uma formulação equivalente; impossibilidade de ser administrada à população pediátrica; possível aderência à parede do estômago; constitui unidade não fracionável; possui limitações de composição de conteúdo como utilização de fármacos sólidos deliquescentes, eflorescentes e eutéticos (AULTON, 2005; FERREIRA, 2006; FERREIRA, 2008).

A preparação de cápsulas por farmácias magistrais é bastante útil para atender pessoas que sofrem de “doenças órfãs”, que são aquelas doenças que são tão raras que a indústria farmacêutica reluta em desenvolver medicamentos para tratá-las por existir um mercado muito pequeno, que não permite o retorno do capital investido no seu desenvolvimento. Esses medicamentos são chamados “medicamentos órfãos” e dentre eles, encontram-se os corticoesteroides dexametasona e hidrocortisona (FRANCE, 2016). Portanto, é necessário que o farmacêutico tenha amparo técnico para preparar o medicamento personalizado que possa ser entregue ao paciente com segurança e qualidade garantidas.

Para preparar uma cápsula, são utilizados além do(s) IFA(s), adjuvantes farmacotécnicos conhecidos como excipientes, que são substâncias farmacologicamente inativas, com a finalidade de auxiliar na preparação da forma farmacêutica, na determinação da estabilidade, promover a liberação e proteger o IFA da degradação, assim como garantir sua boa administração (HANNA, 2016; MATOS, 2013).

Os excipientes podem ser utilizados na formulação de uma cápsula, isoladamente ou em associação e podem possuir funções diferentes como: agente molhante, desintegrante/desagregante, regulador de fluxo, diluente solúvel e diluente insolúvel, lubrificante, absorvente, estabilizante entre outros (BONAMICI, 2009; FERREIRA, 2008).

O excipiente escolhido deve ser sempre o mais simples possível, com o número de componentes reduzido ao mínimo suficiente para que cumpra as funções necessárias dentro da formulação, a fim de se reduzir a possibilidade de incompatibilidades IFA- excipientes e reações indesejáveis no usuário (ABRANTES, 2016; PATEL, 2015).

Os excipientes utilizados interferem nos aspectos relacionados a biodisponibilidade do fármaco, portanto nesse aspecto seu emprego na formulação deve ser criterioso, baseado nas informações de solubilidade e permeabilidade do IFA em questão (AMIDON, 1995).

## 2.4 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

O estudo do estado sólido das matérias-primas (IFA's e excipientes) é fundamental para avaliar e garantir o comportamento dos mesmos numa formulação. Para isso os estudos de pré-formulação de uma forma farmacêutica contribuem para a obtenção de um medicamento eficaz e seguro (MATOS, 2013).

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente é uma das etapas mais importantes do estudo de pré-formulação, pois proporcionam o conhecimento das interações físicas e químicas entre IFA e excipientes que podem influenciar a estabilidade, solubilidade, absorção, segurança e eficácia do medicamento (MATOS, 2013).

Esses estudos podem ser feitos através de diversas técnicas, entre elas as mais utilizadas são as técnicas térmicas como a calorimetria diferencial exploratória e termogravimetria (ALVES, 2007; MATOS, 2013; PATEL, 2015).

A padronização dos excipientes utilizados em cápsulas em preparações magistrais deve ser feita com base na literatura disponível levando-se também em conta a classificação biofarmacêutica e a farmacocinética do fármaco, assim como os requisitos farmacotécnicos da preparação farmacêutica e é uma necessidade que confere segurança no processo de manipulação contribuindo efetivamente para minimização dos erros farmacotécnicos, eficácia, segurança e qualidade do produto final (AMIDON, 1995; FERREIRA, 2008; LAMOLHA, 2014).

A Classificação Biofarmacêutica, proposta por Amidon na década de 1990, relaciona a dissolução *in vitro* com a biodisponibilidade *in vivo*. Estudos de dissolução bem projetados são extremamente úteis para se prever a absorção oral e a bioequivalência do fármaco a partir de uma determinada forma farmacêutica. Além disto, outros fatores interferem nos estudos de dissolução como aqueles relacionados ao fármaco e a formulação (solubilidade, tamanho de partícula, natureza química, forma farmacêutica, excipientes e tecnologia de fabricação); relacionados ao equipamento (aparato, geometria e vibração do sistema, velocidade de agitação, posição da haste, posição e método de amostragem e dispositivo para formas farmacêuticas que flutuam); relacionados ao meio de dissolução (volume, presença de gases/ar, presença de bolhas de ar, pH, temperatura, viscosidade, evaporação do meio, força iônica/pressão osmótica, tensoativo); relacionados ao meio ambiente (condições de estocagem) e relacionados ao método analítico (método de filtração e método analítico, sendo que o teste a ser realizado deve considerar todas as variáveis do sistema (AMIDON, 1995; LOBENBERG, 2000; UNITED STATES PHAMACOPEIA, 2015).

O perfil de dissolução de um IFA a partir da cápsula, de acordo com a Farmacopeia Europeia, pode ser representado como a quantidade total da substância ativa liberada a partir de uma forma farmacêutica sólida, em função do tempo (POLSKI, 2015).

Para fármacos com baixa solubilidade aquosa, como os fármacos de classificação biofarmacêutica classe II, várias tecnologias têm sido empregadas para melhorar a velocidade de dissolução e/ou solubilidade aparente no trato gastrointestinal, incluindo redução do tamanho da partícula e “nanomilling”, formação de sal, obtenção de polimorfo de alta energia ou co-cristal, desenvolvimento de dispersões sólidas e formulações a base de lipídeos, além da padronização dos excipientes utilizados em determinada formulação e adição de agentes molhantes (FEENEY, 2016).

Para esse tipo de fármaco, o perfil de dissolução no trato gastrointestinal pode ser limitante da absorção sistêmica, logo os testes de dissolução a partir de uma forma farmacêutica sólida requer desenvolvimento e metodologia de validação, assegurando que seja apropriadamente discriminatório e utilizado como ferramenta importante para orientar o desenvolvimento de novas formulações, avaliação do processo de fabricação lote a lote, além de poder indicar o desempenho da formulação *in vivo* (BRASIL, 2010a).

Estudos mostraram que variações na formulação ou na técnica de fabricação podem gerar diferenças substanciais na absorção e, conseqüentemente, na resposta terapêutica dos fármacos (ROUGE, 1996; CONSIGLIERI, STORPIRTIS, 2000). Essas modificações podem ser monitoradas *in vitro* pelo perfil de dissolução e por meio da quantificação da fração de fármaco dissolvido e *in vivo* (pela sua concentração plasmática), ambas em função do tempo. Os dados *in vivo* permitem determinar a biodisponibilidade do fármaco (SOUSA, 2007).

A qualidade e segurança do produto farmacêutico pode ser garantida também através de estudos de estabilidade, que devem ser projetados para testar e prover evidências quanto à variação da qualidade do fármaco em função do tempo, diante da influência de diversos fatores como temperatura, umidade, luz, relacionados às propriedades químicas e físicas do fármaco, excipientes e forma farmacêutica, do processo de fabricação, assim como relativos às propriedades da embalagem de armazenamento (BRASIL, 2016).

Considerando-se que os medicamentos sólidos de uso oral são aqueles que podem apresentar maiores problemas em relação à biodisponibilidade, torna-se importante avaliar o impacto dos fatores que interferem na dissolução do fármaco a partir da forma farmacêutica, realizando testes *in vitro* de liberação (CHORILLI, 2010).

### 3 OBJETIVOS

Desenvolver estudos de pré-formulação, propor formulações padronizadas, validar métodos analíticos para doseamento e dissolução e avaliar a qualidade de cápsulas de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base, assim como caracterizar polimorfos em acetato de fludrocortisona.

Objetivos específicos:

- a) Realizar estudo de compatibilidade fármaco-excipiente das formulações propostas;
- b) Propor formulações para os IFA's, para forma farmacêutica cápsula, por planejamento fatorial de misturas a fim de selecionar formulações promissoras;
- c) Reproduzir e otimizar o procedimento de manipulação das formulações propostas, em cápsulas;
- d) Avaliar a manipulação das cápsulas quanto aos parâmetros preconizados em compêndio oficial do país: peso médio, desvio padrão relativo, variação do conteúdo teórico;
- e) Propor, otimizar e validar metodologia analítica para quantificação do ativo farmacêutico (doseamento) e para o teste de dissolução, a partir da forma farmacêutica cápsula;
- f) Submeter as cápsulas manipuladas ao ensaio de doseamento, uniformidade de conteúdo e perfil de dissolução;
- g) Selecionar a formulação com melhor desempenho nos testes executados;
- h) Realizar estudos de estabilidade preliminar (estabilidade acelerada e fotoestabilidade) para a formulação da cápsula selecionada;
- i) Obter cristais a partir da matéria-prima acetato de fludrocortisona por técnicas de recristalização e caracterizá-los utilizando as técnicas de difração de Raios X, técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), microscopia óptica e espectrometria na região do infravermelho (IV-ATR);
- j) Caracterizar forma (s) polimorfa (s) em acetato de fludrocortisona matéria-prima por difratometria de Raios X por pó (DRXP), técnicas de análises térmicas como a termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC), microscopia óptica (hábito cristalino) e espectrometria na região do infravermelho (IV-ATR).

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

A seguir estão descritos todos os materiais, equipamentos e metodologia empregadas neste trabalho.

### 4.1 MATERIAL

Os materiais utilizados nesse trabalho são especificados a seguir.

#### 4.1.1 Insumos farmacêuticos, substância química de referência e reagentes

Foram analisados os IFA's abaixo:

- a) Acetato de cortisona micronizado: fornecedor Henrifarma Produtos Químicos e Farmacêuticos LTDA; lote: 14070; validade 02/07/17.
- b) Acetato fludrocortisona: fornecedor: Mase - Produtos Químicos e Farmacêuticos Ltda; lote: 36603816; validade 01/12/20.
- c) Hidrocortisona base: fornecedor Pharma Nostra; lote 16H03-B024-009042; validade 18/04/18.

Foram utilizados reagentes e solventes de grau analítico (PA) e grau UV/HPLC:

- a) Acetona (UV/HPLC): fornecedor Vetec; lote DCBD2154V; validade 16/09/18
- b) Acetonitrila (UV/HPLC): fornecedor Sigma-Aldrich; lote SHBG7762; validade:12/18
- c) Ácido clorídrico (PA): fornecedor Synth; lote:197257; validade: 04/19
- d) Álcool etílico (UV/HPLC): fornecedor: Dinâmica; lote 64812; validade 01/18
- e) Álcool isopropílico (UV/HPLC): fornecedor Dinâmica; lote 84337; validade 10/20
- f) Álcool metílico (UV/HPLC): fornecedor Dinâmica; lote 84340; validade 10/20
- g) Butanol (PA): fornecedor Dinâmica; lote 88605; validade 05/21
- h) Clorofórmio (PA): fornecedor Synth; lote 198885; validade 29/06/19
- i) Hidróxido de sódio (PA): fornecedor Neon; lote 35425; validade 04/20
- j) Metiletilcetona (PA): fornecedor Neon; lote 32721; validade 26/03/20

Foram utilizadas as Substâncias Químicas de Referência (SQR) dos IFA's:

- a) Acetato de fludrocortisona Padrão oficial USP, lote nº R006U0, catalogo nº 1273003. Teor declarado de 100%
- b) Acetato de cortisona Padrão USP, lote J0M362, catalogo nº 1150003. Teor declarado 100%

- c) Hidrocortisona base Padrão Oficial EPRS, lote: Y0001482, catálogo nº 002R0F. Teor declarado 100%

Foram utilizados os excipientes grau farmacêutico:

- a) Lactose monohidratada: fornecedor Fagron; lote 16F21-B011-007051; validade 02/03/18
- b) Lauril sulfato de sódio: fornecedor Henrifarma; lote 0015282126-039353/16; validade 22/04/18
- c) Dióxido de silício coloidal M200: fornecedor Henrifarma; lote 156012014-039377/16; validade 19/01/18
- d) Amido de milho: fornecedor Henrifarma; lote 00000025081 - 039562/16; validade 25/04/17
- e) Celulose microcristalina M102: fornecedor Fagron; lote 15116198-002057<sup>a</sup>; validade 17/07/18
- f) Talco farmacêutico: fornecedor All Chemistry; lote All50556; validade 14/02/18.

Foram utilizadas cápsulas gelatinosas incolores tamanho 4: fornecedor All Chemistry; lote ALL061312; validade 15/02/21.

#### 4.1.2 Equipamentos

Foram utilizados os seguintes equipamentos:

- a) Analisador calorímetro DSC3500, Netzsch – Japão
- b) Aparelho de ultrassom Unique, modelo USC 2800<sup>a</sup>
- c) Balança analítica KERN, modelo 210.
- d) Bomba de vácuo Nova técnica.
- e) Câmara de fotoestabilidade - 100 cm de comprimento, 16 cm de altura e 16 cm de profundidade, equipada com lâmpada germicida OSRAM HNS<sup>®</sup> de 30 W G13 (Fabricada manualmente).
- f) Coluna cromatográfica C18, 150mm x 4,6mm x 5µm, Thermo Scientific.
- g) Coluna cromatográfica C18, 150mm x 4,6mm x 5µm, NST (Nano Scientific Technologies).
- h) Dissolutor modelo TDT-08L (Electrolab, Índia).
- i) Difratorômetro de raios X de pó Rigaku com detector de cintilação e radiação monocromatizada.
- j) Encapsulador semi-automático Color Plus 240 Ideal<sup>®</sup>.

- k) Espectrofotômetro de infravermelho por transformada de Fourier Shimadzu ®, modelo Affinity-1 (Shimadzu ®, Tokyo, Japan) acoplado a acessório de amostragem por refletância total atenuada Pike Miracle ® com cristais de ZnSe Pike Technologies ®, Madison, Wisconsin, USA).
- l) Espectrofotômetros UV/Vis (Shimadzu ®, Tokyo, Japan), modelos 1601PC e 2001PC.
- m) Estufa Ethik technology, modelo 400-2 ND (Vargem Grande Paulista, SP Brasil).
- n) Medidor de pH digital Del lab, modelo DLA-PH.
- o) Microscópio Zeiss Scope A1, com câmera acoplada AxioCam ICc3 Zeiss.
- p) Sistema de cromatografia a líquido Shimadzu série LC-10 A com sistema de integração CLASS-VP, bomba LC-Advp, degaseificador DGU, injetor manual 7725i, detector UV spd-10avp/ injetor automático/ detector DAD modelo spd-M10avp, forno CTO-10Avp e controlador SCL-10Avp.
- q) Sistema de purificação de água Millipore®, modelo Direct-Q® 5 (São Paulo, São Paulo, Brasil)
- r) TG/DTA Exstar, modelo 7300.

## 4.2 MÉTODOS

Os métodos empregados durante o desenvolvimento desse trabalho estão descritos a seguir.

### 4.2.1 Estudos de pré-formulação

Os estudos de pré-formulação foram feitos a partir da caracterização do estado sólido das Ifa's e misturas de excipientes utilizadas, determinação da granulometria e densidade aparente e estudo de compatibilidade fármaco-excipiente.

#### 4.2.1.1 Caracterização do estado sólido

Para caracterização do estado sólido dos IFA's, uma amostra de cada IFA (acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base) foi submetida ao teste de determinação da granulometria pela técnica de tamização descrita na Farmacopeia Brasileira V (BRASIL, 2010), assim como à determinação da densidade aparente, descrita na mesma farmacopeia.



O mesmo foi feito com cada mistura de excipientes proposta.

Foi feito também um levantamento em compêndios oficiais e em bases de dados disponíveis *on line* (PubChem, DrugBank, Chempider), sobre a solubilidade dos IFA's.

#### 4.2.1.2 Excipientes

Foram propostas e formuladas misturas de excipientes (MIX) com base na aplicação dos mesmos, nas formulações das formas farmacêuticas comprimidos e nas formulações de excipientes pré-formulados disponíveis comercialmente (TABELA 1).

Foram produzidos os MIX utilizados para análise, através das misturas de seus componentes segundo as boas práticas de manipulação (BRASIL, 20017).

Tabela 1 - MIX de excipientes propostos para as formulações de cápsulas.

<b>MIX 1</b>	
Lauril sulfato de sódio	2,00%
Dióxido de silício coloidal	0,50%
Talco	19,50%
Celulose microcristalina	78,00%
<b>MIX 2</b>	
Lauril sulfato de sódio	2,00%
Dióxido de silício coloidal	0,50%
Celulose microcristalina	97,50%
<b>MIX 3</b>	
Lauril sulfato de sódio	2,00%
Dióxido de silício coloidal	0,50%
Lactose	97,50%
<b>MIX 4</b>	
Lauril sulfato de sódio	2,00%
Dióxido de silício coloidal	0,50%
Amido de milho	97,50%
<b>Excipiente colorido</b>	
Corante vermelho líquido	7 gotas
Talco farmacêutico	10,00 g

Fonte: Da autora.

#### 4.2.1.3 Estudo de compatibilidade fármaco-excipiente

Mesmo diante da evidente importância e utilidade dos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, não há um protocolo universal para desenvolvimento desse tipo de estudo (MANIKANDAN, 2013; PANI, 2012; RAJAN, 2005), portanto para tal foram escolhidas as técnicas térmicas Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Termogravimetria (TG), Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por refletância atenuada (IV-ATR), por serem rápidas, confiáveis, utilizarem pequena quantidade de amostra e conseguirem detectar qualquer interação físico-química entre os componentes testados (RAJAN, 2005; ALVES, 2007; CHIDAMBARAM; KRISHNASAMY, 2014; PETERKA, 2015; MEHTA; JINDAL, 2015).

##### 4.2.1.3.1 *Calorimetria Exploratória Diferencial*

Para o DSC, foi utilizado cerca de 5 mg de cada IFA, de cada componente dos MIX's individualmente e das misturas binárias de cada IFA com cada um dos excipientes contidos nos MIX's propostos para ele. As condições do teste foram: cadinho de alumínio hermético; atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50mL/min; razão de aquecimento de 10°C/min; faixa de aquecimento 25 a 400°C. Os dados foram analisados pelo software Proteus Analysis.

Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

##### 4.2.1.3.2 *Termogravimetria*

Para o TG, foi utilizado cerca de 5 mg de cada IFA, de cada componente dos MIX's individualmente e das misturas binárias de cada IFA com cada um dos excipientes dos MIX's propostos para ele. As condições do teste foram: cadinho de alumínio aberto; atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50ml/min; razão de aquecimento de 10°C/min; faixa de aquecimento 40 a 500°C. Os dados foram analisados pelo software Muse Jobs SII NanoTechnology Inc..

Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

##### 4.2.1.3.3 *Cromatografia Líquida de Alta Eficiência*

Através da cromatografia líquida de alta eficiência foi determinado o teor de amostras dos IFA's puros e em associação (mistura binária 1:1) com os excipientes, com os quais houve

indicação de haver alguma interação nas análises térmicas. As amostras puras e em associação com excipiente foram mantidas em estufa a 200°C por 30 minutos e após esse tempo, submetidas ao teste de doseamento por CLAE.

A temperatura de 200°C foi escolhida devido aos IFA's apresentarem estabilidade térmica limite próxima a essa temperatura, evidenciado nas análises de DSC e TG.

Para o doseamento foram utilizadas soluções dos IFA's puros e em mistura binária, nas concentrações de acetato de fludrocortisona 5 µg/mL, acetato de cortisona 25 µg/mL e hidrocortisona base 20 µg/mL.

Todas as análises foram conduzidas em triplicata.

## **4.2.2 Desenvolvimento da metodologia de análise**

### 4.2.2.1 Método espectrofotométrico – UV

Para escolha do comprimento de onda realizou-se uma varredura espectral de 200-400nm dos IFA's (SQR) na concentração de 10 µg/mL. O pico de máxima absorção ocorreu no comprimento de onda de 254nm, que foi utilizado para as análises posteriores. A escolha do solvente etanol foi baseada nos dados de solubilidade dos fármacos.

Os excipientes, para avaliação da seletividade das cápsulas, foram aqueles cujas formulações propostas constam da Tabela 1.

As varreduras foram realizadas utilizando os seguintes solventes:

- Ácido clorídrico 0,01M
- Ácido clorídrico 0,01M + 5% etanol
- Etanol
- Etanol 50% + água 50%
- Acetonitrila 5% + água 95%
- Acetonitrila 45% + 55% água
- Hidróxido de sódio 0,1M
- Hidróxido de sódio 0,1M + 5% etanol
- Hidróxido de sódio 0,01M 5% + água
- Metanol
- Metanol 7% + ácido acético glacial 3%

### 4.2.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência

A escolha dos parâmetros a serem utilizados na condução da CLAE, foi baseada nos métodos de análise de comprimidos, constantes nas farmacopeias americana (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015) e britânica (BRITISH PHARMACOPEIA, 2008). Após otimização, as condições para a CLAE ficaram estabelecidas em:

Para acetato de fludrocortisona:

a) Doseamento

Fase móvel: acetonitrila:água (45:55)

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5  $\mu$ m

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 20  $\mu$ L

Tempo de corrida: 8 minutos

b) Ensaio de dissolução

Fase móvel acetonitrila:água – 45:55

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5  $\mu$ m

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 100  $\mu$ L

Tempo de corrida: 8 minutos

Para acetato de cortisona:

a) Doseamento

Fase móvel: acetonitrila:água (45:55)

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5  $\mu$ m

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 20  $\mu$ L

Tempo de corrida: 8 minutos

b) Ensaio de dissolução

Fase móvel acetonitrila:água – 45:55

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5 µm

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 100 µL

Tempo de corrida: 8 minutos

Para hidrocortisona base:

a) Doseamento

Fase móvel: acetonitrila:água (35:65)

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5 µm

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 20 µL

Tempo de corrida: 6 minutos

b) Ensaio de dissolução

Fase móvel acetonitrila:água – 35:65

Fase sólida: C18 – 150 mm x 4,6 mm x 0,5 µm

Comprimento de onda: 254 nm

Temperatura: ambiente

Fluxo da fase móvel: 1mL/min

Volume de injeção: 100 µL

Tempo de corrida: 6 minutos

### 4.2.3 Validação das metodologias de análise

Foram validados os métodos otimizados para doseamento dos corticoides e o respectivo ensaio de dissolução, através dos parâmetros de seletividade, linearidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação e robustez.

A determinação dos parâmetros citados foi feita de acordo com o estabelecido na legislação vigente (BRASIL, 2017).

#### 4.2.3.1 Seletividade

O ensaio de seletividade foi feito fazendo-se corridas em CLAE, em triplicatas, nas mesmas condições cromatográficas, das seguintes soluções após filtração:

Acetato de fludrocortisona: 5µg/mL

MIX 1: 13,995mg/mL

Excipiente colorido: 0,495 mg/mL

Acetato de fludrocortisona 5µg/mL mais MIX 1 13,995mg/mL mais excipiente colorido 0,495 mg/mL.

Para a avaliação da seletividade da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e HCL 0,01M (meio de dissolução).

Acetato de cortisona: 5µg/mL

MIX 2: 50mg/mL

MIX 3: 50mg/mL

Excipiente colorido: 0,495 mg/mL

Acetato de cortisona 5µg/mL mais MIX 2 50mg/mL mais excipiente colorido 0,495 mg/mL.

Acetato de cortisona 5µg/mL mais MIX 3 50mg/mL mais excipiente colorido 0,495 mg/mL.

Para a avaliação da seletividade da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e solução de lauril sulfato de sódio 0,75% (meio de dissolução).

Hidro cortisona base: 5µg/mL

MIX 2: 50mg/mL

MIX 4: 50mg/mL

Excipiente colorido: 0,495 mg/mL

Hidrocortisona base 5µg/mL mais MIX 2 50mg/mL mais excipiente colorido 0,495 mg/mL.

Hidrocortisona base 5µg/mL mais MIX 4 50mg/mL mais excipiente colorido 0,495 mg/mL.

Para a avaliação da seletividade da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e água (meio de dissolução).

A pureza espectral dos picos relativos ao IFA foi verificada através de teste de pureza de pico, em detector DAD (Detector Array Diode).

#### 4.2.3.2 Linearidade

A avaliação da linearidade foi realizada a partir da média de três curvas analíticas obtidas em três dias consecutivos, com seis concentrações do IFA -SQR em triplicatas, submetidas a CLAE:

##### a) Acetato de fludrocortisona

Doseamento: 2, 5, 7, 10, 12 e 15,00 µg/mL; acetonitrila como solvente.

Aplicação ao teste de dissolução: 0,08; 0,10; 0,13; 0,15; 0,18; 0,20 µg/mL; 5% de acetonitrila e HCl 0,01M (meio de dissolução) como solvente.

##### b) Acetato de cortisona

Doseamento: 4, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL; acetonitrila como solvente.

Aplicação ao teste de dissolução: 4, 7, 10, 13, 18 e 20 µg/mL; 5% de acetonitrila e Lauril sulfato de sódio a 0,75% (meio de dissolução) como solvente.

##### c) Hidrocortisona base

Doseamento: 4, 10, 20, 30, 40 e 50 µg/mL; acetonitrila como solvente.

Aplicação ao teste de dissolução: 2, 6, 10, 14, 18 e 22 µg/mL; 5% de acetonitrila e água (meio de dissolução) como solvente.

A partir das três curvas analíticas obtidas determinou-se a equação da reta e o coeficiente de correlação (r) o teste de F e ANOVA de mínimos quadrados para análise das variâncias e significância do coeficiente angular pelo método dos mínimos quadrados, teste de Cochran e estatística de regressão.

#### 4.2.3.3 Exatidão

Foram testadas pelo método proposto, três concentrações do IFA (baixa, média e alta), em triplicata, individualmente preparadas, utilizando o método do placebo contaminado. Foram utilizadas soluções contendo o IFA na presença dos respectivos excipientes, nas seguintes concentrações:

##### a) Doseamento:

Acetato de fludrocortisona: 2,00, 10,00 e 15,00  $\mu\text{g/mL}$  de acetato de fludrocortisona correspondentes a 0,20, 1,00 1,50  $\text{mg/mL}$  de acetato de fludrocotisona diluído em excipiente colorido a 1:100.

MIX 1: 5,40, 27,00 e 40,50  $\text{mg/mL}$  (devida proporção em relação ao peso médio da cápsula com 50 $\mu\text{g}$  de acetato de fludrocortisona)

Acetonitrila foi utilizado como solvente.

Acetato de cortisona: 5,00, 20,00 e 30,00  $\mu\text{g/mL}$

MIX 2: 0,05, 0,22 e 0,33  $\text{mg/mL}$

MIX 3: 0,05, 0,22 e 0,33  $\text{mg/mL}$

Ambos excipientes na devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 6,25  $\text{mg}$  de acetato de cortisona.

Acetonitrila foi utilizado como solvente.

Hidrocortisona base: 5,00, 20,00 e 30,00  $\mu\text{g/mL}$

MIX 2: 0,05, 0,22 e 0,33  $\text{mg/mL}$

MIX 4: 0,05, 0,22 e 0,33  $\text{mg/mL}$

Ambos MIX's na devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 10,00  $\text{mg}$  de hidrocortisona base.

Acetonitrila foi utilizado como solvente.



b) Aplicação ao teste de dissolução:

Acetato de fludrocortisona: 0,02, 0,10 e 0,12  $\mu\text{g/mL}$ , correspondentes a 2,00, 10,00 e 12 mg de acetato de fludrocortisona diluído em excipiente colorido a 1:100.

MIX 1: 0,04, 0,20 e 0,24  $\text{mg/mL}$  (devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 100  $\mu\text{g}$  de acetato de fludrocortisona)

O solvente utilizado foi 5% de acetonitrila e 95% HCL 0,01M (meio de dissolução).

Acetato de cortisona: 2,00, 10,00 e 18,00  $\mu\text{g/mL}$ .

MIX 2: 0,04, 0,20 e 0,32  $\text{mg/mL}$

MIX 3: 0,04, 0,20 e 0,32  $\text{mg/mL}$

Ambos MIX's na devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 12,5 mg de acetato de cortisona.

O solvente utilizado foi 5% de acetonitrila e solução de lauril sulfato de sódio a 0,75% (meio de dissolução).

Hidrocortisona base: 4,00, 10,00 e 15,00  $\mu\text{g/mL}$

MIX 2: 0,04, 0,11 e 0,17  $\text{mg/mL}$

MIX 4: 0,04, 0,11 e 0,17  $\text{mg/mL}$

Ambos MIX's na devida proporção com relação ao peso médio da cápsula contendo 10,00mg de hidrocortisona base.

O solvente utilizado foi 5% de acetonitrila e 95% de água (meio de dissolução).

#### 4.2.3.4 Precisão

O teste de precisão foi realizado em relação a repetibilidade ou precisão intra-dia e precisão intermediária ou inter-dia.

A repetibilidade foi avaliada por análise no mesmo dia de soluções do IFA em três concentrações na presença dos respectivos excipientes, preparadas em triplicatas, individualmente.

A precisão intermediária foi avaliada por repetição dos ensaios em dois dias diferentes, por analistas diferentes também em triplicatas.

As soluções utilizadas foram preparadas conforme descrito no item 4.2.3.3.

#### 4.2.3.5 Limite de Detecção

O limite de detecção foi estabelecido através da seguinte fórmula:

$$(1) LD = \frac{3,3 \cdot \sigma}{IC}$$

Onde  $\sigma$  corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo Y, e IC corresponde à inclinação da curva de calibração.

#### 4.3.2.6 Limite de Quantificação

O limite de quantificação tanto para o método de análise quanto para o método aplicado ao ensaio de dissolução, foi estabelecido através da seguinte fórmula:

$$(2) LQ = \frac{10 \cdot \sigma}{IC}$$

Onde  $\sigma$  corresponde ao desvio padrão do intercepto com o eixo Y, e IC corresponde à inclinação da curva de calibração.

#### 4.2.3.7 Robustez

A robustez foi avaliada pela variação na proporção do modificador orgânico da fase móvel, estabilidade do ativo após 6 horas do preparo e utilização de coluna de fabricante diferente. As análises foram realizadas em triplicatas com o IFA na presença dos excipientes correspondentes, na devida proporção em que se encontram na cápsula de menor dosagem (50 $\mu$ g para acetato de fludrocortisona, 6,25mg para acetato de cortisona e 10mg para hidrocortisona base):

a) Acetato de fludrocotisona: 10 $\mu$ g/mL

MIX 1: 0,028 mg/mL

Excipiente colorido: 0,99 mg/mL

Acetato de fludrocortisona a 10 $\mu$ g/mL mais MIX 1 a 27,99mg/mL mais excipiente colorido a 0,99 mg/mL.

Para a avaliação da robustez da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e 95% de HCL 0,01M (meio de dissolução).

Variação da proporção do modificador orgânico da fase móvel: acetonitrila:água 40:60 v/v.

b) Acetato de cortisona: 10µg/mL

MIX 2: 100mg/mL

MIX 3: 100mg/mL

Excipiente colorido: 0,99 mg/mL

Acetato de cortisona a 10µg/mL mais MIX 2 a 100mg/mL mais excipiente colorido a 0,99 mg/mL.

Acetato de cortisona a 10µg/mL mais MIX 3 a 100mg/mL mais excipiente colorido a 0,99 mg/mL.

Para a avaliação da robustez da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e 95% de solução de lauril sulfato de sódio 0,75% (meio de dissolução).

Variação da proporção do modificador orgânico da fase móvel: acetonitrila:água 40:60 v/v.

c) Hidrocortisona base: 10µg/mL

MIX 2: 100mg/mL

MIX 4: 100mg/mL

Excipiente colorido: 0,99 mg/mL

Hidrocortisona base a 10µg/mL mais MIX 2 a 100mg/mL mais excipiente colorido a 0,99 mg/mL.

Hidrocortisona base a 10µg/mL mais MIX 4 a 100mg/mL mais excipiente colorido a 0,99 mg/mL.

Para a avaliação da robustez da metodologia analítica de doseamento, o solvente usado foi acetonitrila. Para aplicação ao ensaio de dissolução, foi utilizado 5% de acetonitrila e 95% de água (meio de dissolução).

Variação da proporção do modificador orgânico da fase móvel: acetonitrila:água 45:55 v/v.

## **4.2.4 Processo Tecnológico para cápsulas**

### **4.2.4.1 Desenvolvimento das formulações**

Para desenvolvimento das formulações padronizadas de cápsulas de acetato de fludrocortisona 50,00 µg e 100,00 µg, acetato de cortisona 6,25 mg e 12,5 mg e hidrocortisona base 10,0 mg, empregou-se a metodologia de otimização multivariada para fins de identificação dos principais fatores e níveis capazes de influenciar na qualidade do produto final.

Os procedimentos farmacotécnicos e de tecnologia de fabricação utilizados tiveram por base: tipo (s) de excipiente (s) e respectivas proporções e tempo de mistura. A matriz de planejamento foi construída de acordo com o número de fatores de interesse, sendo que cada fator varia com pelo menos dois níveis cada, resultando em diferentes combinações; os ensaios foram realizados de maneira aleatória para evitar erros sistemáticos.

Para avaliar simultaneamente o efeito de todas as possíveis combinações de todos os níveis das variáveis (fatores), com um número reduzido de experimentos nas formulações, foi feito um planejamento fatorial inicial que resultou em 16 formulações diferentes (Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7) (AUTON, 2005; BARBIN, 2013; FERREIRA, 2008).

Tabela 2 - Parâmetros do experimento fatorial para cápsulas de acetato de fludrocortisona.

Experimento Fatorial $2^{(5-1)}$		
Fatores	Nível dos Fatores usados na formulação	
	-	+
X1: Dose de IFA	50,00 µg	100,00 µg
X2: Conc. de Dióxido de silício coloidal	0,10%	0,50%
X3: Conc. Lauril Sulfato de Sódio	1,00%	2,00%
X4: Diluente	Celulose	Celulose microc.: talco
X5: Tempo de Mistura	2 minutos	5 minutos

Fonte: Da autora.

Tabela 3 - Planejamento fatorial para obtenção de formulações diferentes de cápsulas de acetato de fludrocortisona.

Planejamento fatorial 2 <sup>5</sup> (5-1)					
Formulações	IFA (µg)	Dióxido de silício coloidal	Lauril sulfato de sódio	Diluyente (qsp)	Tempo de mistura (minutos)
1	50,00	0,10%	1,00%	Celulose microc.	2
2	100,00	0,10%	1,00%	Celulose microc.	5
3	50,00	0,50%	1,00%	Celulose microc.	5
4	100,00	0,50%	1,00%	Celulose microc.	2
5	50,00	0,10%	2,00%	Celulose microc.	5
6	100,00	0,10%	2,00%	Celulose microc.	2
7	50,00	0,50%	2,00%	Celulose microc.	2
8	100,00	0,50%	2,00%	Celulose microc.	5
9	50,00	0,10%	1,00%	Cel. microc.:talco	2
10	100,00	0,10%	1,00%	Cel. microc.:talco	5
11	50,00	0,50%	1,00%	Cel. microc.:talco	5
12	100,00	0,50%	1,00%	Cel. microc.:talco	2
13	50,00	0,10%	2,00%	Cel. microc.:talco	5
14	100,00	0,10%	2,00%	Cel. microc.:talco	2
15	50,00	0,50%	2,00%	Cel. microc.:talco	2
16	100,00	0,50%	2,00%	Cel. microc.:talco	5

Fonte: Da autora.

Tabela 4 - Parâmetros do experimento fatorial para cápsulas de acetato de cortisona.

Experimento Fatorial 2 <sup>5</sup> (5-1)		
Fatores	Nível dos Fatores usados na formulação	
	-	+
X1: Dose de Ativo	6,25 mg	12,50 mg
X2: Conc. de Dióxido de Silício coloidal	0,10 %	0,50 %
X3: Conc. Lauril Sulfato de Sódio	1,00 %	2,00 %
X4: Diluyente	Lactose q.s.p	Celulose
X5: Tempo de Mistura	2 minutos	5 minutos

Fonte: Da autora.

Tabela 5 - Planejamento fatorial para obtenção de formulações diferentes de cápsulas de acetato de cortisona.

Planejamento fatorial 2 <sup>5-1</sup>					
Formulações	Acetato de Cortisona	Dióxido de silício coloidal	LSS	Diluyente (qsp)	Tempo de Mistura (minutos)
1	6,25mg	0,10%	1,00%	Lactose	2
2	12,50mg	0,10%	2,00%	Lactose	5
3	6,25mg	0,50%	1,00%	Lactose	5
4	12,50mg	0,50%	2,00%	Lactose	2
5	6,25mg	0,10%	1,00%	Lactose	5
6	12,50mg	0,10%	2,00%	Lactose	2
7	6,25mg	0,50%	1,00%	Lactose	2
8	12,50mg	0,50%	2,00%	Lactose	5
9	6,25mg	0,10%	1,00%	Celulose microc.	2
10	12,50mg	0,10%	2,00%	Celulose microc.	5
11	6,25mg	0,50%	1,00%	Celulose microc.	5
12	12,50mg	0,50%	2,00%	Celulose microc.	2
13	6,25mg	0,10%	2,00%	Celulose microc.	5
14	12,50mg	0,10%	1,00%	Celulose microc.	2
15	6,25mg	0,50%	2,00%	Celulose microc.	2
16	12,50mg	0,50%	1,00%	Celulose microc.	5

Fonte: Da autora.

Tabela 6 - Parâmetros do experimento fatorial para cápsulas de hidrocortisona base.

Experimento Fatorial 2 <sup>4</sup>		
Fatores	Nível dos Fatores usados na formulação	
	-	+
X1: Conc. de Dióxido de silício coloidal	0,10%	0,50%
X2: Conc. Lauril Sulfato de Sódio	1,00%	2,00%
X3: Diluyente	Amido	Celulose microcristalina
X4: Tempo de Mistura	2 minutos	5 minutos

Fonte: Da autora.

Tabela 7 - Planejamento fatorial para obtenção de formulações diferentes de cápsulas de hidrocortisona base.

Planejamento fatorial 2 <sup>4</sup>				
Formulações	Dióxido de silício coloidal	Lauril Sulfato de Sódio	Diluyente (qsp)	Tempo de mistura (minutos)
1	0,1%	1%	Amido	2
2	0,5%	1%	Amido	2
3	0,1%	2%	Amido	2
4	0,5%	2%	Amido	2
5	0,1%	1%	Celulose microc.	2
6	0,5%	1%	Celulose microc.	2
7	0,1%	2%	Celulose microc.	2
8	0,5%	2%	Celulose microc.	2
9	0,1%	1%	Amido	5
10	0,5%	1%	Amido	5
11	0,1%	2%	Amido	5
12	0,5%	2%	Amido	5
13	0,1%	1%	Celulose microc.	5
14	0,5%	1%	Celulose microc.	5
15	0,1%	2%	Celulose microc.	5
16	0,5%	2%	Celulose microc.	5

Fonte: Da autora.

A observação dos efeitos de variáveis e interações entre elas é de extrema importância para entender os processos que estão sendo monitorados em um determinado sistema. (VILELA, 2013).

Fatores tecnológicos como a velocidade e tempo de mistura (influencia o tamanho de partícula), entre outros, podem influenciar a biodisponibilidade de um fármaco. Para uma dada formulação, condições do processo de manipulação são importantes para garantir a reprodutibilidade na velocidade de dissolução do produto durante o seu armazenamento (STORPIRTIS, 1999). Assim sendo, a variável tempo de mistura foi incluída no estudo.

As formulações das cápsulas foram preparadas pelo método volumétrico, utilizando-se encapsuladoras semiautomáticas (FERREIRA, 2008). Para cada formulação preparada foi feito o cálculo do peso médio, coeficiente de variação (desvio padrão relativo) e variação do conteúdo teórico, segundo Formulário Nacional da Farmacopéia Brasileira V (BRASIL, 2012).

Foi incluído tempo de mistura em gral e pistilo como fator, a fim de se avaliar a influência desse procedimento, já que reflete diretamente na homogeneidade da mistura e tamanho de partículas dos pós.

Os valores das respostas foram então utilizados para calcular os efeitos de cada fator e o erro dos efeitos. Quando valores absolutos de efeitos maiores do que o erro estimado, são obtidos, significa que esses valores influenciam na resposta analítica. Além disso, efeitos positivos indicam que o aumento nos seus níveis produz o aumento na resposta analítica e efeitos negativos indicam que a resposta analítica tende a diminuir com o aumento nos seus níveis.

Após análise, novo planejamento fatorial foi feito para se chegar às melhores concentrações dos constituintes obtendo-se 4 novas formulações a fim de se obter a formulação ideal.

As 4 formulações obtidas foram submetidas ao perfil de dissolução, a partir do qual foi calculada a eficiência da dissolução e observado o Q, a fim de se determinar a formulação com melhor desempenho.

#### 4.2.4.2 Manipulação das cápsulas

Foram manipuladas 60 cápsulas de cada formulação proposta pelo planejamento fatorial para cada IFA, de acordo com os princípios de Boas Práticas de Manipulação (BRASIL, 2007), procedendo-se as seguintes etapas:

- a) cálculo da quantidade de excipiente e tamanho da cápsula pela técnica volumétrica
- b) pesagem
- c) mistura em gral e pistilo através de diluição geométrica
- d) enchimento das cápsulas utilizando encapsulador semiautomático Color Plus 240 Ideal®

O excipiente colorido utilizado nas formulações propostas é constituído de talco adicionado de corante líquido vermelho na proporção de 7 gotas para cada 10g de talco. O corante vermelho utilizado é uma solução de corante vermelho III, adquirida comercialmente, cujo uso é permitido em formas farmacêuticas para uso oral (BRASIL, 2010). Esse excipiente é utilizado para diluir o acetato de fludrocortisona na proporção de 1:100 a fim de facilitar as pesagens desse IFA e corar o acetato de cortisona e hidrocortisona base no momento da manipulação das cápsulas, já que a dosagem dos mesmos é baixa. Além disso a utilização de excipientes coloridos facilita a verificação visual da homogeneidade do excipiente com o IFA,



na etapa de homogeneização dos pós, na preparação das cápsulas, quando os mesmos possuem a mesma coloração, nesse caso, branca (FERREIRA, 2008; TROY, 2012).

#### 4.2.4.3 Controle do processo de manipulação das cápsulas

As cápsulas manipuladas foram analisadas através de três parâmetros recomendados pelo Formulário Nacional da Farmacopeia Brasileira (BRASIL, 2012):

##### a) Peso médio (ensaio não destrutivo)

O peso médio ( $P_{\text{médio}}$ ) é a média aritmética do peso de dez unidades de cápsulas manipuladas, em gramas, pesadas individualmente.

Os limites de variação tolerados para cápsulas duras cujo peso médio está até 300 mg, é de  $\pm 10\%$ .

##### b) Desvio Padrão Relativo (DPR)

O Desvio padrão relativo (DPR) não deve ser maior que 4% e é dado em porcentagem, calculado conforme as equações que se seguem:

$$(3) \text{ DPR} = \frac{DP}{P_{\text{médio}}} \times 100$$

Em que:

DP = Desvio Padrão do  $P_{\text{médio}}$

O Desvio Padrão do Peso médio foi calculado aplicando-se a seguinte equação:

$$(4) DP = \sqrt{\sum_{i=1}^n \frac{(P_{\text{cáps. } i} - P_{\text{médio}})^2}{n - 1}}$$

Em que:

$P_{\text{cáps. } i}$  = peso de cada unidade de cápsula manipulada

n = número de cápsulas manipuladas empregadas na determinação do peso médio

##### c) Variação do conteúdo teórico das cápsulas

A variação do conteúdo teórico das cápsulas permite obter uma estimativa da variação aceitável de peso das mesmas, supondo que a massa de pós encapsulada está homogênea e, se seguidas as boas práticas de manipulação, a distribuição do fármaco nas mesmas, também está homogênea.

Esse valor deve ser estimado determinando-se a Quantidade teórica mínima de pó ( $Q_{teor.mín}$ ) e a Quantidade teórica máxima de pó ( $Q_{teor.máx}$ ), de acordo com os extremos de pesos obtidos na pesagem das cápsulas, conforme equação a seguir:

$$(5) Q_{teor.mín} = \frac{P_{cápsula\ mais\ leve}}{P_{teórico}} \times 100 \quad e \quad (6) Q_{teor.máx} = \frac{P_{cápsula\ mais\ pesada}}{P_{teórico}} \times 100$$

Em que:

$P_{cápsula\ mais\ leve}$  = é o menor peso individual observado na pesagem das cápsulas manipuladas para determinação de Peso médio.

$P_{cápsula\ mais\ pesada}$  = é o maior peso individual observado na pesagem das cápsulas manipuladas para determinação de Peso médio.

As quantidades teóricas, mínima e máxima calculadas deverão estar contidas no intervalo de 90 a 110%.

#### **4.2.5 Análise químico-farmacêutica para cápsulas**

##### **4.2.5.1 Determinação de peso médio (ensaio destrutivo)**

A determinação do peso médio foi realizada através da pesagem individual de 20 unidades de cápsulas do produto manipulado a ser avaliado, segundo o estabelecido na Farmacopéia Brasileira V, obedecendo aos critérios estabelecidos na mesma, que preconiza um limite de variação de  $\pm 10,0\%$  para forma farmacêutica cápsula com peso menor que 300,0 mg (BRASIL, 2010).

##### **4.2.5.2 Doseamento**

O ensaio de doseamento da fórmula farmacêutica cápsula (determinação de pureza) foi feito seguindo-se o preconizado na Farmacopéia Brasileira V, aplicando-se o método por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) aqui desenvolvido e validado, em conformidade com o guia Q2 (R1) da Conferência Internacional de Harmonização (ICH) e a RE da Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº 166 de 2017 (ICH, 2005; BRASIL, 2017).

Doseamento das cápsulas de acetato de fludrocortisona:

Pesou-se individualmente 20 cápsulas de acetato de fludrocortisona e posteriormente seus invólucros, determinando o peso médio do conteúdo das cápsulas.

Após homogeneização do conteúdo obtido das 20 cápsulas, pesou-se o equivalente a 5 pesos médios e transferiu-se para balão volumétrico de 25 mL, avolumou-se com acetonitrila, agitou-se e filtrou-se em papel de filtro. Do filtrado, retirou-se uma alíquota de 5 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, obtendo-se uma solução a 5 µg/mL, a qual foi submetida ao doseamento por CLAE.

Doseamento das cápsulas de acetato de cortisona:

Pesou-se individualmente 20 cápsulas de acetato de cortisona e posteriormente seus invólucros, determinando o peso médio do conteúdo das cápsulas.

Após homogeneização do conteúdo obtido das 20 cápsulas, pesou-se o equivalente a 1 peso médio e transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL, avolumou-se com acetonitrila, agitou-se e filtrou-se em papel de filtro. Do filtrado, retirou-se uma alíquota de 2 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, obtendo-se uma solução a 25 µg/mL, a qual foi submetida ao doseamento por CLAE.

Doseamento das cápsulas de hidrocortisona base:

Pesou-se individualmente 20 cápsulas de hidrocortisona e posteriormente seus invólucros, determinando o peso médio do conteúdo das cápsulas.

Após homogeneização do conteúdo obtido das 20 cápsulas, pesou-se o equivalente a 1 peso médio e transferiu-se para balão volumétrico de 50 mL, avolumou-se com acetonitrila, agitou-se e filtrou-se em papel de filtro. Do filtrado, retirou-se uma alíquota de 1 mL e transferiu-se para um balão volumétrico de 10 mL, obtendo-se uma solução a 20 µg/mL, a qual foi submetida ao doseamento por CLAE.

#### 4.2.5.3 Análise dos componentes das formulações

As formulações de cápsulas contendo os IFA's foram otimizadas de forma multivariada. A abordagem experimental foi realizada de acordo com a literatura (MONTGOMERY, 2000), para investigar quais os fatores experimentais mais importantes e quais os fatores que não afetam a resposta analítica.

Nesse tipo de experimento, os fatores são examinados em dois níveis, o nível mais alto, codificado com o sinal positivo (+) e o nível mais baixo, codificado com o sinal negativo (-). Inicialmente, a melhor resposta analítica foi definida como o teor mais próximo de 100%.

A resposta analítica foi dimensionada em uma escala de 0 a 1, empregando-se a função de utilidade, proposta por Derringer e Suich (DERRINGER; SUICH, 1980).

Neste tipo de abordagem, as respostas obtidas em diferentes grandezas  $y_i$ , ( $i = 1, 2, \dots, m$ ), são dimensionadas em uma mesma escala ( $d_i$ ), definidas como funções de utilidade parcial. A escala dessas funções de utilidade parcial ( $d_i$ ) varia entre 0, para respostas indesejáveis e 1 para as respostas buscadas. A equação abaixo descreve a fórmula utilizada para obtenção da função de utilidade parcial:

$$(7) \ d_i = \{0, \text{ se } y_i < a; [(y_i - a)/(b - a)], \text{ se } a \leq y_i \leq b; [(y_i - c)/(a - b)], \text{ se } b < y_i \leq c; 1, 0 \text{ se } y_i > c\}$$

Em que:  $y_i$  = resposta observada;  $a$  = limite inferior,  $b$  = valor ótimo e  $c$  = limite superior.

O limite inferior ( $a$ ) foi definido como 95%, o valor ótimo ( $b$ ) foi definido como 100% o limite superior ( $c$ ) como 105%, uma vez que são limites normalmente preconizados para teor de medicamentos.

Os valores das respostas foram utilizados para calcular os valores médios e a variância das respostas de cada experimento.

As respostas analíticas foram utilizadas também para calcular as estimativas de contraste de cada fator. A estimativa de contraste de cada fator é a média de todos os valores de um determinado fator no nível positivo subtraído da média de todos os valores do fator considerado em seu nível negativo. As estimativas de interação foram calculadas do mesmo modo, porém a coluna de interação entre dois fatores é igual ao produto das colunas dos fatores principais.

A fim de verificar a significância estatística dos fatores e suas interações, a variância padrão ( $S_{p^2}$ ) foi calculada utilizando a equação abaixo:

$$(8) \ S_{p^2} = \frac{(n_A - 1)S_A^2 + (n_B - 1)S_B^2}{(n_A - 1) + (n_B - 1)}$$

Em que:  $n$  é o número de vezes que o ensaio foi repetido e  $s^2$  é a variância obtida em cada ensaio.

Posteriormente, a variância das estimativas de contrastes foi estimada partir da equação abaixo:

$$(9) V(\textit{estimado}) = \frac{S_p^2}{n} + \frac{S_p^2}{n}$$

Em que:  $S_p^2$  é a variância padrão e  $n$  é o número de ensaios realizados nos níveis altos ( $n = 8$ ) e baixos ( $n = 8$ ).

O erro das estimativas de contraste foi então obtido pela raiz quadrada da variância estimada. Multiplicando o erro por um valor  $t$  tabelado, com 16 graus de liberdade ao nível de significância de 5% (2,12) foi finalmente obtido o erro estimado.

#### 4.2.5.4 Uniformidade de doses

A uniformidade de doses foi avaliada através do ensaio de uniformidade de conteúdo com posterior cálculo do valor de aceitação, ambos executados conforme descritos na Farmacopeia Brasileira V (BRASIL, 2010) e em conformidade com o guia Q2 (R1) da Conferência Internacional de Harmonização (ICH) e a RE da Agência Nacional de Vigilância Sanitária nº 166 de 2017 (ICH, 2005; BRASIL, 2017).

#### 4.2.5.5 Perfil de dissolução

Foram estabelecidas as condições para o ensaio de dissolução utilizando-se cápsulas de acetato de fludrocortisona 100 µg, acetato de cortisona 12,5 mg e hidrocortisona base 10,0 mg, envolvendo as seguintes variáveis (BRASIL, 2010a):

- 1) meio de dissolução. Foi otimizado o meio de dissolução para forma farmacêutica comprimidos que consta das farmacopeias consultadas.
- 2) o sistema de agitação do meio foi otimizado testando-se o aparato cestas e o aparato pá com o uso de sinker.
- 3) a velocidade de agitação do meio foi otimizada, testando-se as velocidades de 50 rpm, 75 rpm e 100 rpm.
- 4) tempo de coleta da amostra para o teste de dissolução. Ficou estabelecido tempo de coleta (Q) em 15 minutos para acetato de fludrocortisona e hidrocortisona base e 20 minutos para o acetato de cortisona.

5) a coleta das amostras. Foram coletados 15mL de meio de dissolução, com reposição do mesmo, nos tempos de 5, 10, 15, 20, 30 e 60 minutos, para definição do perfil de dissolução e estabelecimento do tempo de coleta para o teste de dissolução.

Condições estabelecidas para o teste de dissolução das cápsulas de acetato de fludrocortisona, após otimização:

Meio de dissolução: HCL 0,01M

Volume do meio de dissolução: 500 mL

Temperatura: 37°C

Aparato: pás

Rotação: 75 rpm

Tempo (Q) = 15 minutos

Condições estabelecidas para o teste de dissolução das cápsulas de acetato de cortisona, após otimização:

Meio de dissolução: Lauril Sulfato de Sódio 0,75%

Volume do meio de dissolução: 900 mL

Temperatura: 37°C

Aparato: pás

Rotação: 100 rpm

Tempo (Q) = 20 minutos

Condições estabelecidas para o teste de dissolução das cápsulas de hidrocortisona base, após otimização:

Meio de dissolução: água

Volume do meio de dissolução: 900 mL

Temperatura: 37°C

Aparato: pás

Rotação: 75 rpm

Tempo (Q) = 15 min

Os perfis de dissolução foram construídos analisando-se 6 cápsulas de cada um dos dois lotes de cada IFA manipulados, plotando-se as médias das porcentagens de cedência em função do tempo, em minutos. O desenvolvimento e validação dos ensaios de dissolução foram

realizados de acordo com as normas estabelecidas pela USP 34 (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015) e Anvisa (BRASIL, 2010a).

A comparação dos perfis de dissolução obtidos foi feita por observação do Q e do cálculo da Eficiência de Dissolução (ED), conforme equação 10.

$$(10) \quad ED = \frac{\text{Área sob a curva}}{\text{Área total da curva}} \times 100$$

#### 4.2.6 Estabilidade preliminar

A estabilidade das cápsulas manipuladas foi verificada através dos testes de estabilidade acelerada e fotoestabilidade.

##### 4.2.6.1 Estabilidade acelerada

O estudo de estabilidade acelerada foi conduzido de acordo com a Resolução RE nº 1 de 29 de julho de 2005 (Brasil, 2005). Amostras das cápsulas selecionadas como melhor formulação, foram acondicionadas dentro da embalagem primária, em dessecadores sob vácuo e na presença de solução saturada de cloreto de sódio para manter o ambiente supersaturado ( $70 \pm 5$  % de umidade relativa). Em seguida, foram colocadas sob  $40 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura pelo tempo total de três meses. A temperatura e umidade foram controladas através de termohigrômetro fixado dentro do dessecador.

O período de 3 meses foi escolhido devido à finalidade da formulação magistral, que é atender à necessidade terapêutica imediata do paciente, apenas no período de tratamento. Sendo assim, deve ser de uso imediato e o prazo de uso não deve, preferencialmente, exceder o período de tratamento estipulado pelo médico no seu receituário (BRASIL, 2007).

As análises das cápsulas foram realizadas no tempo 0, 1, 2 e 3 meses avaliando alterações nas propriedades físicas (cor e odor), o teor de princípio ativo, dissolução e presença de produtos de degradação pelos métodos desenvolvidos e validados.

##### 4.2.6.2 Fotoestabilidade

O estudo de fotoestabilidade foi conduzido de acordo com a RE nº1 de 29/07/2005 – Anvisa.

Amostras das cápsulas selecionadas como a melhor formulação foram expostas à luz por 23 horas em câmara de fotoestabilidade, construída no próprio laboratório, validada pelo sistema actinométrico (ICH, 1996). Parte das cápsulas foram expostas diretamente à luz e outra parte foi exposta acondicionada na embalagem primária.

Após a exposição, as cápsulas foram submetidas aos testes de alteração das propriedades físicas (cor e odor), teor de princípio ativo, dissolução, desintegração e detecção de produtos de degradação pelos métodos desenvolvidos e validados.

Tanto para o estudo de estabilidade acelerada quanto para o estudo de fotoestabilidade, foram utilizadas cápsulas de acetato de fludrocortisona 100 µg manipuladas com a formulação 2; para o acetato de cortisona foram utilizadas cápsulas de 12,5mg manipuladas com a formulação 3; para a hidrocortisona base foram utilizadas cápsulas de 10,0mg manipuladas com a formulação 2. A embalagem primária utilizada consistiu de pote plástico de polietileno de alta densidade branco, opaco, com tampa de rosca.

#### **4.2.7 Obtenção e caracterização de polimorfos**

Formas cristalinas de acetato de fludrocortisona foram obtidas por recristalização e caracterizadas conforme descrito abaixo.

##### **4.2.7.1 Processo de recristalização dos IFAs**

Foi utilizada a técnica de recristalização por evaporação de solvente, que parte de soluções saturadas dos IFAs com diversos solventes com etapas de processo envolvendo remoção do líquido por evaporação espontânea (FLORENCE; ATTWOOD, 2003; AUTON, 2005).

Os solventes foram escolhidos de acordo com os dados de solubilidade dos IFA's e combinados aleatoriamente.

Foram feitas soluções com 10,00 mg de IFA nos solventes e nas misturas entre eles (TABELA 8) e após agitação manual e filtração, as soluções ficaram em repouso em temperatura ambiente para evaporação espontânea do solvente.



Tabela 8 - Solventes e combinações de solventes utilizados no processo de recristalização do acetato de fludrocortisona, pela técnica de evaporação de solvente.

Identificação	Solventes e combinações de solventes
1	3,3 mL metanol + 3,3 mL clorofórmio + 3,3 mL acetona
2	3,3 mL etanol + 3,3 mL clorofórmio + 3,3 mL metanol
3	6,0 mL clorofórmio + 4,0 mL acetona
4	10,0 mL dioxano
5	10,0 mL metil etil cetona
6	3,0 mL álcool isopropílico + 7,0 mL acetonitrila
7	5,0 mL metanol + 4,0 mL clorofórmio + 1,0 mL água
8	4,0 mL metanol + 5,0 mL acetonitrila + 1,0 mL butanol
9	4,0 mL metanol + 5,0 mL metil etil cetona + 1,0 mL água
10	3,0 mL metanol + 3,0 mL butanol + 3,0 mL acetonitrila + 1,0 mL água
11	6,0 mL metanol + 3,0 mL clorofórmio + 1,0 mL acetonitrila
12	5,0 mL metanol + 5,0 mL clorofórmio
13	10,0 mL acetonitrila
14	5,0 mL acetonitrila + 5,0 mL água
15	10,0 mL acetona

Fonte: Da autora.

#### 4.2.7.2 Microscopia

Os cristais obtidos foram submetidos à microscopia óptica a fim de caracterizar o hábito cristalino os mesmos. A observação foi feita com preparação direta dos cristais, entre lâmina e lamínula, com objetiva de 10x, aumento de 100x.

#### 4.2.7.3 Análises por DRXP

As análises para o IFA e seus possíveis polimorfos foram realizadas nas seguintes condições para DRXP: radiação monocromática em tubo selado de grafite por filtro de Cu ( $K\alpha$  Cu,  $\lambda = 1,54187 \text{ \AA}$ ); varreduras no intervalo de 5 à 40° 2 $\theta$ , à temperatura ambiente, com passo ótico de 0,05 em 2 $\theta$ , corrente de 30 mA, tensão de 40 kV, velocidade de varredura de 1° 2 $\theta$ /min.

#### 4.2.7.4 Análises por IV

As amostras do IFA e seus possíveis polimorfos foram analisadas por espectrômetro de Transformada de Fourier Shimadzu®, ATR-FTIR, onde o feixe é focado sobre uma pequena área da amostra analisada na forma de pó entre 4500-500  $\text{cm}^{-1}$ . As especificações das medidas foram: modo transmitância, 32 varreduras por análise e resolução de 4,0  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.2.7.5 Análises térmicas por DSC e TG

As curvas de varredura por calorimetria exploratória diferencial (DSC) do IFA e possíveis polimorfos foram obtidas pesando-se cerca de 5 mg das amostras em cadinhos de alumínio herméticos, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50  $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ ) com razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ , faixa de aquecimento de 25 a 400 $^{\circ}\text{C}$ .

As medidas de termogravimetria (TG) foram realizadas pesando-se cerca de 5 mg de amostra em cadinho de alumínio aberto, colocadas sob atmosfera de nitrogênio (50  $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ ) com razão de aquecimento de 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$  e faixa de aquecimento de 40 $^{\circ}\text{C}$  até temperatura máxima de 500 $^{\circ}\text{C}$ .

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir estão apresentados os resultados das análises realizadas e a discussão dos mesmos.

### 5.1 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

#### 5.1.1 Solubilidade

Foram utilizados os dados de solubilidade descritos no Index Merck e informações fornecidas pelos sites Drug Bank, PubChem e ChemSpider (O'NEIL, 2013; DRUGBANK, 2016; CHEMSPIDER, 2018; PUBCHEM, 2016) (TABELA 9).

Tabela 9 - Solubilidade do acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base

Acetato de fludrocortisona				
Solvente	Solubilidade (mg/mL)			Fonte
	Acetato de fludrocortisona	Acetato de cortisona	Hidrocortisona base	
Acetona	56,000	-	9,300	Index Merck
	-	-	9,300	PubChem
Água	0,040	0,022	0,280	Index Merck
	0,140	0,020	15,000	PubChem
	0,140	0,028	0,190	DrugBank
	-	0,059	<1,000	Chemspider
Clorofórmio	20,000	182,000	1,600	Index Merck
DMSO	45,000	59,000	73,000	Chemspider
Etanol	20,000	-	15,000	Index Merck
	-	59,000	9,060	Chemspider
	-	-	15,000	PubChem
Éter	4,000	-	0,350	Index merck
	-	-	0,350	PubChem
Metanol	-	-	6,200	Index Merck
	-	-	6,200	PubChem
Propilenoglicol	-	44,000	12,700	Index Merck
	-	-	12,700	PubChem

Fonte: Da autora.

### 5.1.2 Granulometria e densidade aparente

O estado sólido dos IFA's e dos MIX's foi caracterizado através da determinação da granulometria (técnica de tamização) e da densidade aparente, segundo procedimentos descritos na Farmacopeia Brasileira V (Brasil,2010), para fins farmacotécnicos (TABELA 10).

Tabela 10 - Caracterização do estado sólido dos IFA's e MIX's propostos

	<b>Granulometria</b>	<b>Densidade aparente</b>
Acetato de fludrocortisona	Pó moderadamente grosso	0,286 g/mL
Acetato de cortisona	Pó moderadamente grosso	0,375 g/mL
Hidrocortisona base	Pó moderadamente grosso	0,357 g/mL
MIX 1	Pó semi-fino	0,550 g/mL
MIX 2	Pó fino	0,500 g/mL
MIX 3	Pó fino	0,714 g/mL
MIX 4	Pó fino	0,710 g/mL
Excipiente colorido	Pó semi-fino	0,660 g/mL

Fonte: Da autora.

### 5.1.3 Excipientes

Os excipientes escolhidos para compor as formulações das cápsulas de acetato de fludrocortisona 50,00 µg e 100,00 µg, acetato de cortisona 6,25 mg e 12,50 mg e hidrocortisona base 10,00mg (doses usuais) constam da Tabela 11.

Tabela 11 - MIX's propostos para os respectivos IFA's.

<b>IFA</b>	<b>MIX</b>
Acetato de fludrocortisona	MIX 1
	MIX 2
	Excipiente colorido
Acetato de cortisona	MIX 2
	MIX 3
	Excipiente colorido
Hidrocortisona base	MIX 2
	MIX 4
	Excipiente colorido

Fonte: Da autora.

Os excipientes e suas proporções que constam das misturas propostas (MIX) estão descritos na tabela 1.

O dióxido de silício coloidal consta nas formulações porque possui propriedades adsorvente, deslizante, desintegrante e estabilizador térmico, que contribuem para a qualidade final da cápsula no que diz respeito à sua conservação, desintegração “*in vivo*” e à técnica de preparo. Seu pequeno tamanho de partícula (cerca de 15nm) e grande área de superfície específica fornecem características que melhoram as propriedades de fluxo de pós secos (ROUE, 2009).

O lauril sulfato de sódio (LSS) também está presente nas formulações do IFA como agente molhante, com a finalidade de melhorar a velocidade de dissolução, já que o corticoide em questão pertence a classe II da classificação biofarmacêutica (FERREIRA, 2008; ROUE, 2009).

A celulose microcristalina foi utilizada como diluente e apresenta vantagens como não ser absorvida pelo trato gastrointestinal, ter elevada compatibilidade com ativos farmacêuticos, apresentar bom fluxo de pó, entre outras (ROUE, 2009; ABRANTES, 2016).

O talco farmacêutico (silicato de magnésio) foi incluído em um dos excipientes para a formulação de acetato de fludrocortisona por ser insolúvel em água e ter a característica de reduzir ou retardar a dissolução de fármacos pouco solúveis (ROUE, 2009). Espera-se que ele contribua retardando a liberação do IFA a partir da cápsula.

Para as cápsulas de acetato de cortisona foi escolhido para um dos excipientes, a lactose como diluente, em razão de evidências de menor solubilidade do IFA quando comparado ao acetato de fludrocortisona. A lactose, por ser um excipiente solúvel, é conhecida por auxiliar na dissolução de fármacos de baixa solubilidade (FERREIRA, 2008; ROUE, 2009).

Para as cápsulas de hidrocortisona base, o amido foi escolhido como um dos excipientes (diluente) por estar presente na maioria das formulações comercialmente disponíveis.

A escolha dos excipientes se baseou também nas formulações de comprimidos industrializados dos corticoides em questão, e na composição dos excipientes pré-fabricados indicados para utilização com fármacos de baixa solubilidade, disponíveis comercialmente.

#### **5.1.4 Estudo de compatibilidade fármaco-excipiente**

Os estudos de compatibilidade entre o fármaco (IFA) e os excipientes presentes na formulação são essenciais para a garantia de uma formulação com estabilidade, segurança e

eficácia e são considerados o “*stepping stone*” da formulação (PANI, 2011; PETERKA, 2015; MEHTA; JINDAL, 2015).

Há descrito na literatura, várias técnicas para avaliar a compatibilidade entre excipientes e o IFA, entre elas técnicas térmicas e não térmicas, que são complementares para esse fim. Essas técnicas contribuem significativamente para predição, monitoramento e caracterização da incompatibilidade entre IFA's e excipientes, diminuindo custos e tempo nos estudos de pré-formulação, principalmente no caso de formas farmacêuticas sólidas (CHADA; BHANDARI, 2014).

A compatibilidade entre os componentes das formulações propostas para as cápsulas dos corticoides estudados foi avaliada através das técnicas de DSC, TG e doseamento por CLAE, dos componentes individualmente e das suas misturas físicas na proporção de 1:1 (misturas binárias) (FIGURAS 2 e 3).

#### 5.1.4.1. Calorimetria Exploratória Diferencial

As Figuras 2 e 3 mostram as curvas DSC obtidas com o acetato de fludrocortisona e excipientes individualmente e as misturas físicas (1:1) do IFA com os excipientes propostos.

O acetato de fludrocortisona – IFA apresentou, na curva de DSC, estabilidade térmica até aproximadamente 220,00°C e um evento endotérmico relacionado à sua fusão na temperatura de 228,60 °C ( $T_{\text{onset}}$ ) seguido de sua decomposição térmica. A celulose microcristalina mostra transição endotérmica entre 80 e 170,00°C correspondente à desidratação, seguido de estabilidade térmica; a curva de DSC obtida com a mistura física acetato de fludrocortisona:celulose microcristalina, representa a soma dos eventos obtidos com as substâncias individualmente.

A curva de DSC obtida com o LSS, evidencia dois eventos endotérmicos entre 80 e 120,00°C, que estão relacionados à desidratação; após uma faixa de estabilidade térmica entre 120 e 190,00°C, ocorre outro evento endotérmico que corresponde à sua fusão ( $T_{\text{onset}} = 191,00^\circ\text{C}$ ), seguida da sua decomposição térmica. Com a mistura física acetato de fludrocortisona:LSS o evento endotérmico relacionado à fusão do IFA não apareceu na temperatura esperada, podendo indicar uma interação entre esses componentes com algum efeito negativo.

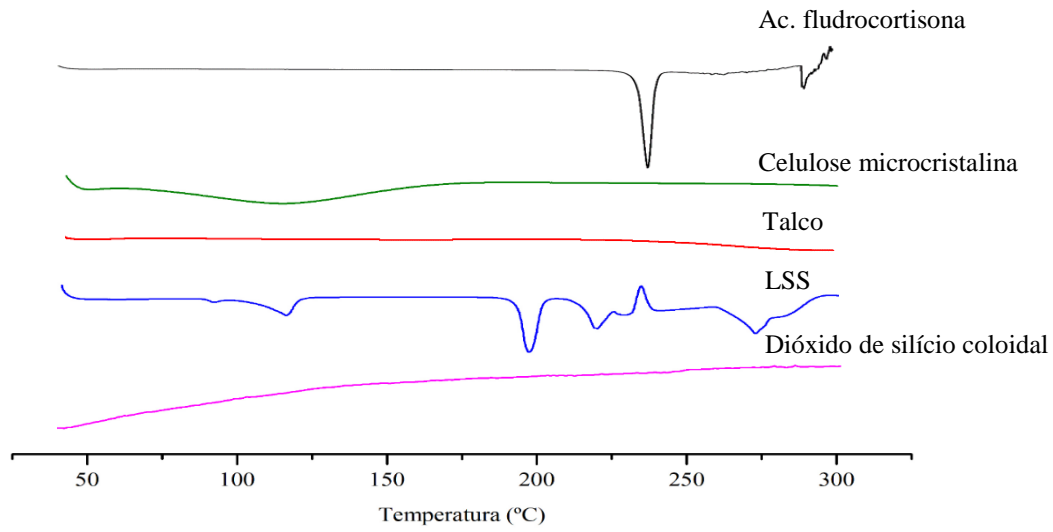


Figura 2 - Curvas DSC do acetato de fludrocortisona e dos excipientes das formulações propostas (=3).  
Fonte: Da autora.

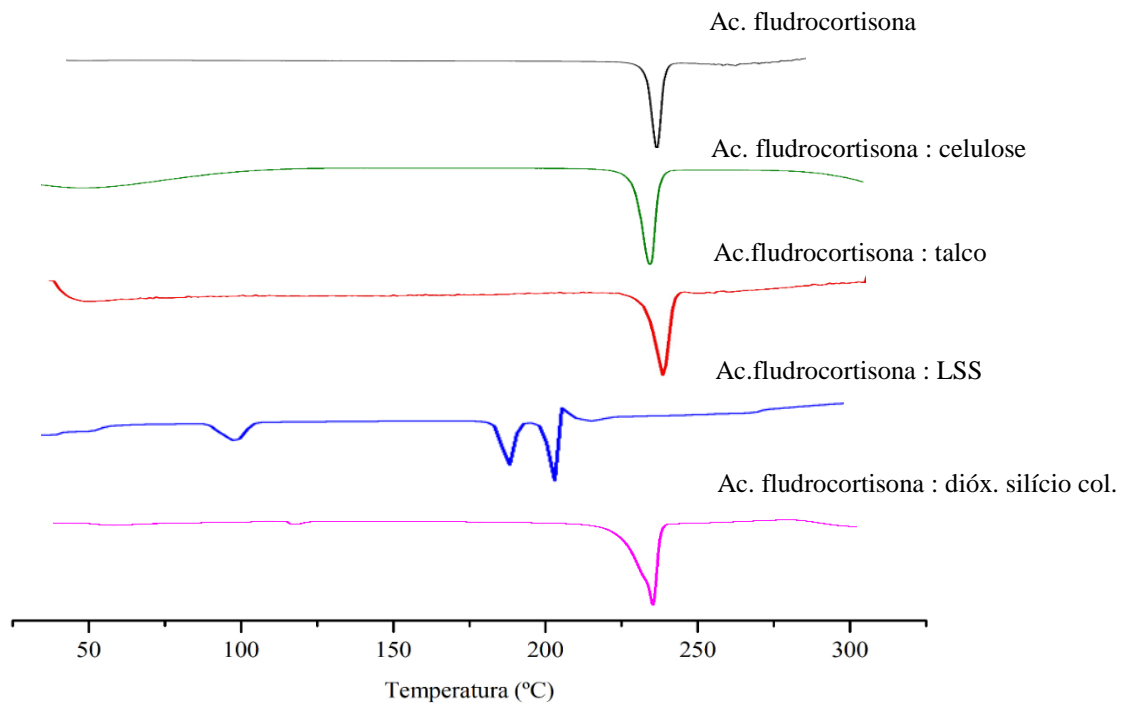


Figura 3 - Curvas DSC do acetato de fludrocortisona, e das suas misturas físicas com os excipientes das formulações propostas (n=3).  
Fonte: Da autora.

Tabela 12 - Temperaturas de fusão do acetato de fludrocortisona e suas misturas físicas, nas curvas de DSC.

	Temperatura de fusão do ac. fludrocortisona ( $T_{\text{onset}}$ )*	$\Delta H_f$ (J.g <sup>-1</sup> )*
Acetato de fludrocortisona	228,60 °C	99,83 ± 0,12
Ac. fludrocortisona:celulose	225,40 °C	38,30 ± 0,21
Ac. fludrocortisona:talco	228,36 °C	42,99 ± 0,23
Ac. fludrocortisona:LSS	--	--
Ac. fludrocortisona:dióx. silício coloidal	224,15 °C	42,06 ± 0,15

\*Média de três determinações.

Fonte: Da autora.

O dióxido de silício coloidal não apresentou nenhum evento térmico na faixa de temperatura analisada; a curva de DSC obtida com a mistura física dióxido de silício coloidal e acetato de fludrocortisona mostra o evento endotérmico de fusão do acetato de fludrocortisona em 224,15°C ( $T_{\text{onset}}$ ). Comportamento semelhante foi encontrado com o talco farmacêutico e com a mistura talco: acetato de fludrocortisona (TABELA 12).

Conforme pode ser observado na Tabela 12, pequenas variações nos valores de  $T_{\text{onset}}$  podem estar relacionadas ao fato de se tratar de misturas, o que já foi observado por Manikandan (2013) e Pani (2012). Portanto os dados obtidos no DSC com o acetato de fludrocortisona e os componentes das formulações propostas não evidenciaram incompatibilidade entre si, com exceção do lauril sulfato de sódio, cuja curva de DSC evidenciou uma interação entre eles devido ao desaparecimento do evento de fusão do IFA na temperatura esperada.

Interações físico-químicas entre o IFA e o excipiente testado podem ser detectadas através de variações significativas dos valores de entalpia. Nesse estudo os valores de  $\Delta H_f$  também não sofreram variações significativas, pois se encontraram aproximadamente na metade do valor obtido com o IFA puro, devido a diluição na proporção de 1:1 (massa/massa) que foi utilizada nas análises (ALVES, 2007; CHIDAMBARAM; KRISHNASAMY, 2014; PETERKA, 2015; MEHTA; JINDAL, 2015).



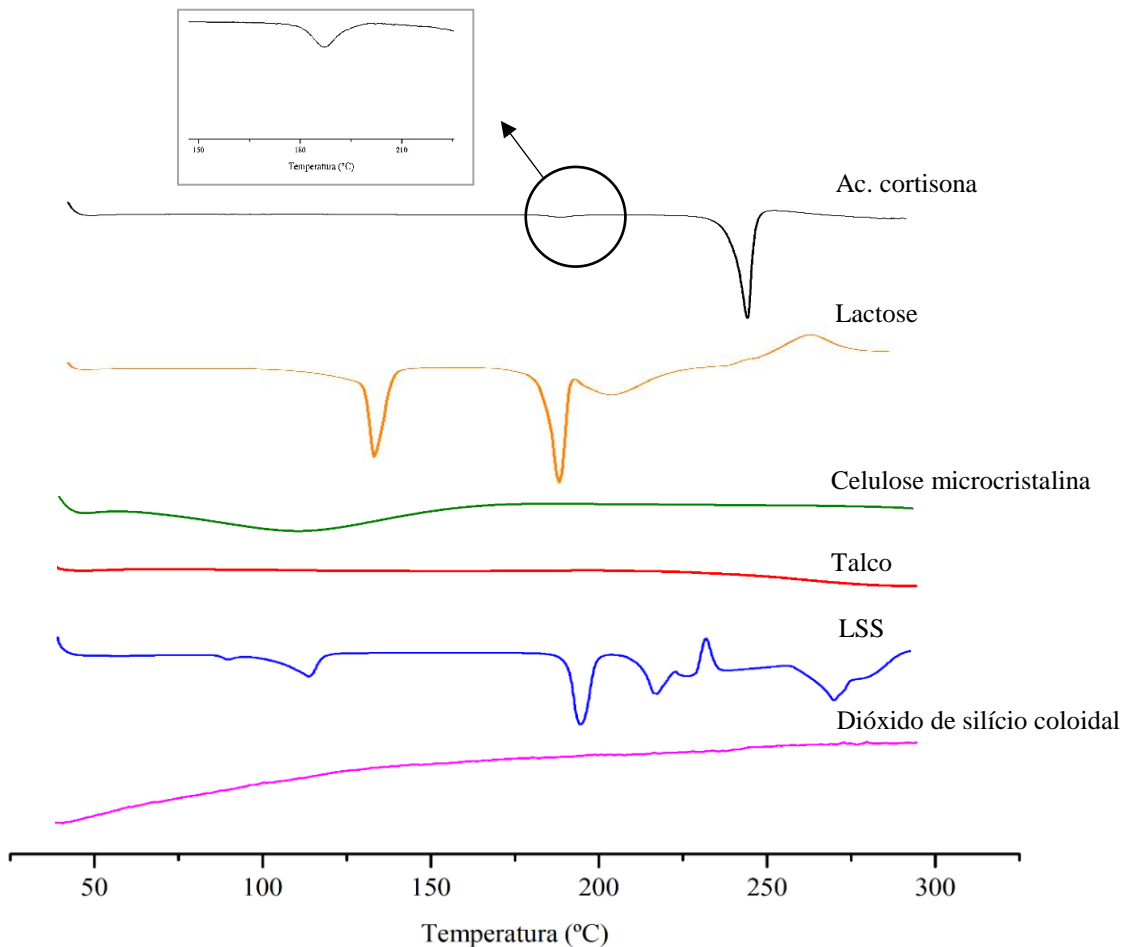


Figura 4 - Curvas DSC do acetato de cortisona e dos excipientes das formulações propostas (n=3).  
Fonte: Da autora.

A Figura 4 apresenta as curvas DSC do acetato de cortisona e dos excipientes propostos individualmente, onde pode-se observar que não há eventos térmicos nas curvas dos excipientes na temperatura em que ocorre o evento de fusão do IFA. O acetato de cortisona – IFA apresentou estabilidade térmica de 25 a 185°C, quando em 187°C aparece um pequeno evento endotérmico que pode estar relacionado a uma transição endotérmica ou fusão de contaminantes, e outro evento endotérmico relativo a fusão do IFA com  $T_{onset} = 230,40^{\circ}\text{C}$ . As curvas obtidas com as misturas físicas do acetato de cortisona e os excipientes evidenciam a fusão do IFA nas respectivas temperaturas listadas na Tabela 13. Com exceção do lauril sulfato de sódio, as pequenas variações de temperatura de fusão do acetato de cortisona puro e as misturas físicas com os excipientes (1:1), não demonstraram incompatibilidade entre eles (FIGURA 5).

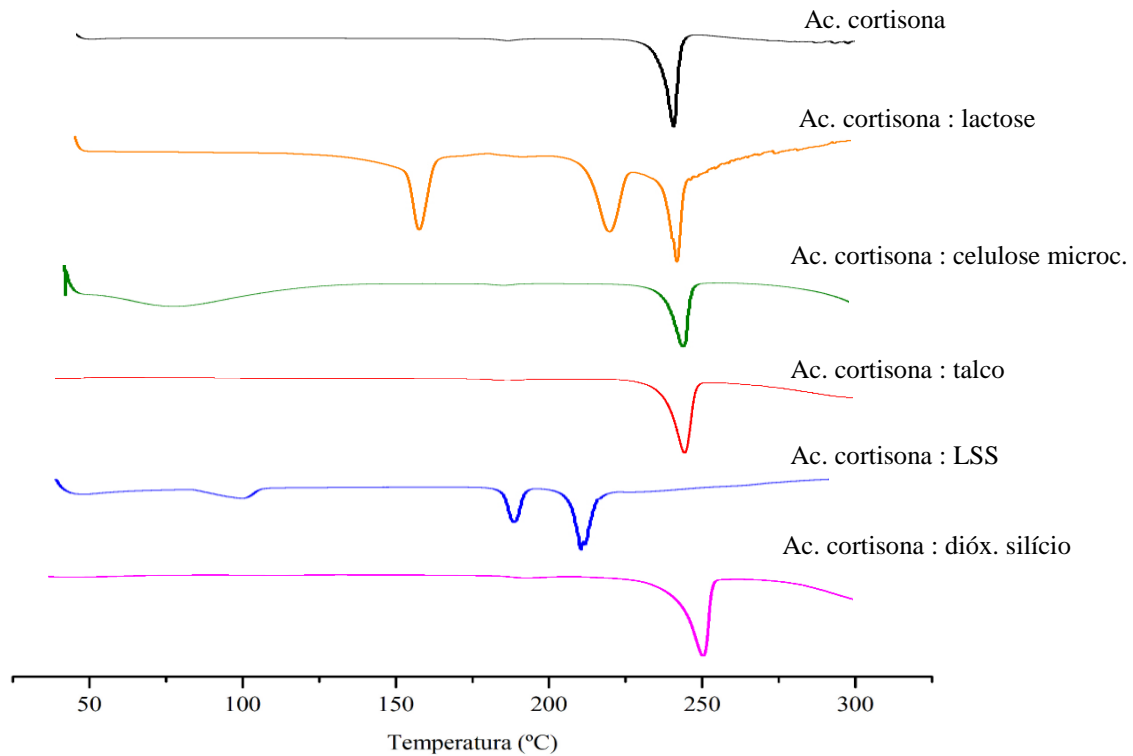


Figura 5. Curvas DSC do acetato de cortisona e das suas misturas físicas com os excipientes propostos (n=3).

Fonte: Da autora.

Tabela 13 - Temperaturas de fusão do acetato de cortisona e suas misturas físicas com os excipientes propostos, nas curvas de DSC.

	Temperatura de fusão do acetato de cortisona ( $T_{\text{onset}}$ )*	$\Delta H_f$ (J.g <sup>-1</sup> )*
Acetato de cortisona	230,40 °C	90,45 ± 0,10
Ac. cortisona:lactose	231,51 °C	41,58 ± 0,18
Ac. cortisona:celulose	230,00 °C	38,28 ± 0,21
Ac. cortisona:talco	231,22 °C	42,67 ± 0,14
Ac. cortisona:LSS	--	--
Ac. cortisona:dióx. silício coloidal	232,24 °C	40,62 ± 0,17

\*Média de três determinações.

Fonte: Da autora.

A hidrocortisona base quando submetida ao DSC apresentou estabilidade térmica até 226,00°C e apenas um evento endotérmico relacionado à sua fusão, com  $T_{\text{onset}}$  em 227,84°C. O amido de milho não apresentou eventos térmicos na temperatura de fusão de IFA e quando observada a curva de DSC da mistura física hidrocortisona base: amido de milho, verifica-se

que os eventos ocorridos correspondem à soma dos eventos que apareceram nas curvas do IFA e excipiente isoladamente, ocorrendo o mesmo com as misturas do IFA com celulose microcristalina, lactose, talco e dióxido de silício coloidal. A mistura física hidrocortisona base:LSS também não evidencia a fusão do IFA na temperatura esperada (FIGURAS 6 e 7; TABELA 14).

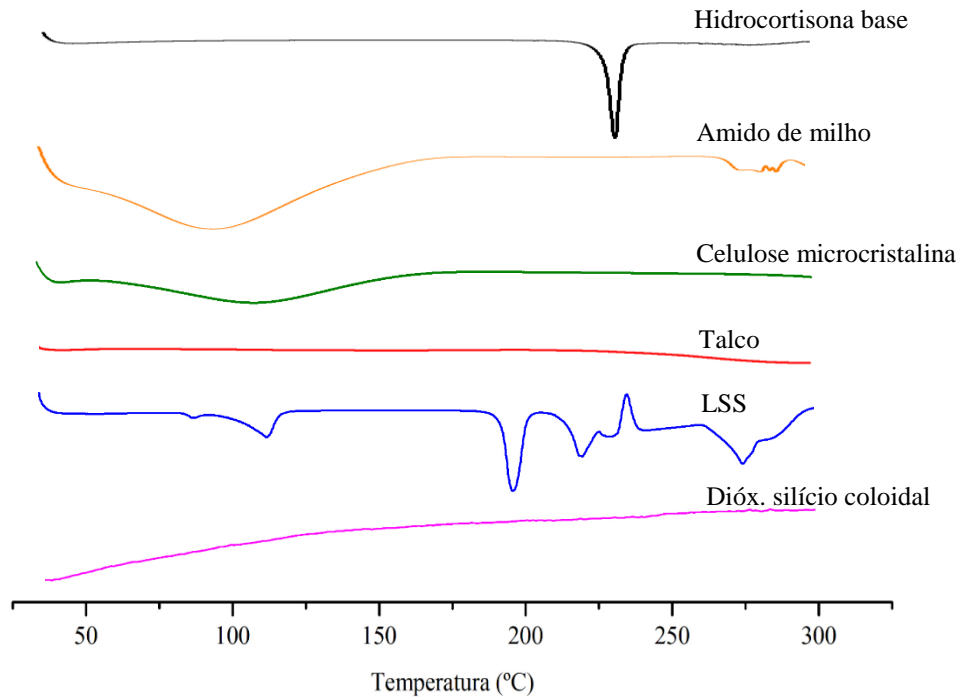


Figura 6 - Curvas DSC da hidrocortisona base e excipientes das formulações propostas (n=3).  
Fonte: Da autora.

Tabela 14. Temperaturas de fusão da hidrocortisona base e suas misturas físicas com os excipientes propostos, nas curvas de DSC.

	Temperatura de fusão da hidrocortisona base ( $T_{onset}$ )*	$\Delta H_f$ ( $J \cdot g^{-1}$ )*
Hidrocortisona base	224,10 °C	98,76 ± 0,11
Hidrocortisona base:amido de	223,23 °C	42,46 ± 0,13
Hidrocortisona base:celulose	223,84 °C	46,27 ± 0,22
Hidrocortisona base:talco	223,23 °C	56,45 ± 0,12
Hidrocortisona base:LSS	--	--
Hidrocortisona base:dióx. silício	215,06 °C	40,84 ± 0,17

\*Média de três determinações.

Fonte: Da autora.

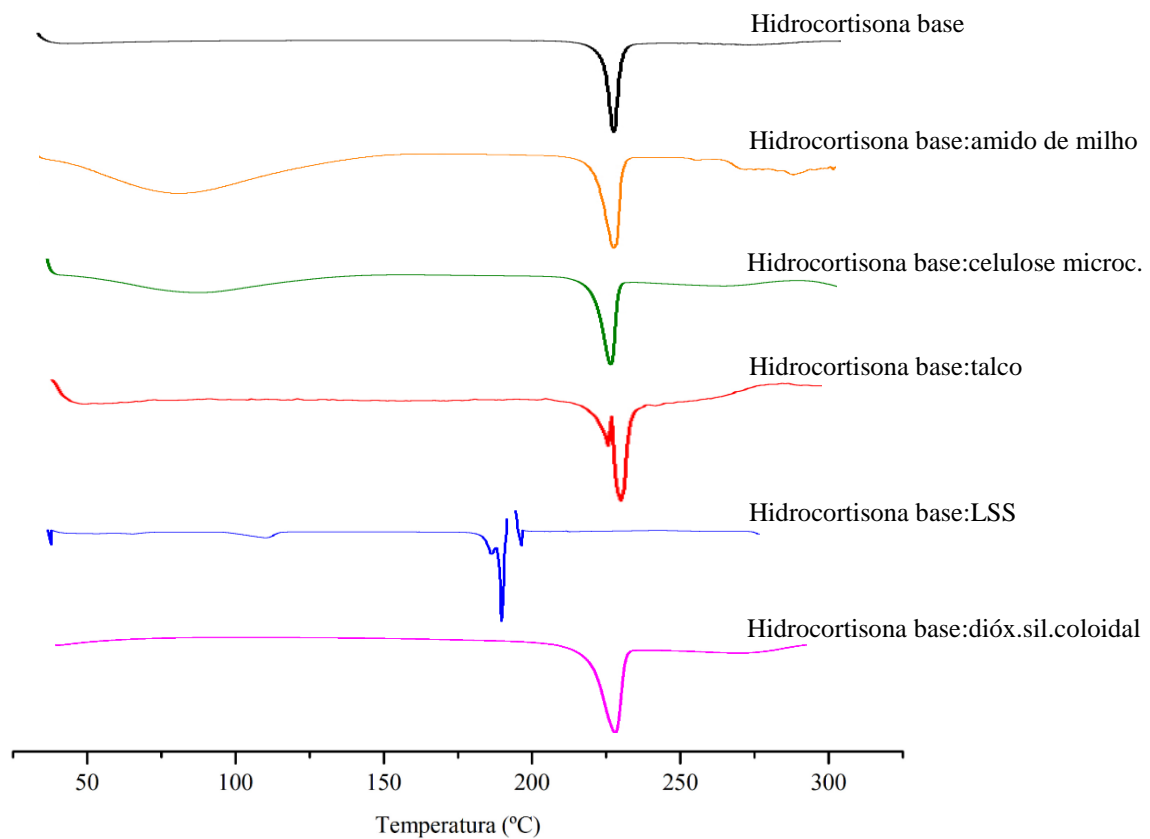


Figura 7 - Curvas DSC da hidrocortisona base e das suas misturas físicas com os excipientes propostos (n=3).

Fonte: Da autora.

#### 5.1.4.2 Termogravimetria

A Figura 8 mostra as curvas TG obtidas com o acetato de fludrocortisona e excipientes propostos. O acetato de fludrocortisona mostrou estabilidade térmica até 230,00°C, seguida de uma perda de massa em duas etapas, a primeira em 231,09°C ( $T_{onset}$ ) com 53,99% de perda de massa ( $\Delta_m$ ); a segunda etapa ocorreu em 375,16°C com  $\Delta_m$  igual a 23,35%.

O dióxido de silício coloidal mostrou-se estável na faixa de temperatura analisada e a sua mistura física com o acetato de fludrocortisona apresentou uma maior estabilidade térmica, quando comparado ao IFA isolado com a primeira perda de massa iniciando em 240,70°C e  $\Delta_m$  da primeira etapa igual a 31,89%.

O talco também mostrou-se termicamente estável na faixa de temperatura analisada e sua mistura física com o acetato de fludrocortisona não alterou a estabilidade térmica do IFA, que iniciou a perda de massa em 232,61°C com  $\Delta_m$  da primeira etapa igual a 25,23%.

A curva TG obtida com a mistura física acetato de fludrocortisona:celulose microcristalina apresentou início de perda de massa em 235,74°C com o primeiro  $\Delta_m$  igual a 84,58%.

A mistura acetato de fludrocortisona:lauril sulfato de sódio mostrou diminuição da estabilidade térmica do IFA, com início da perda de massa em 190,25°C e  $\Delta_m$  da primeira etapa igual 48,01%.

Portanto, podemos dizer que não há evidências de incompatibilidade entre os excipientes e o IFA, com exceção do lauril sulfato de sódio, cuja degradabilidade do IFA será investigada através do seu doseamento após estresse térmico da mistura.

Com relação às misturas do IFA com talco e dióxido de silício coloidal, verificamos que há uma interação com efeito positivo, pois ocorre aumento da estabilidade térmica do IFA na mistura, conforme evidenciado nas curvas termogravimétricas.

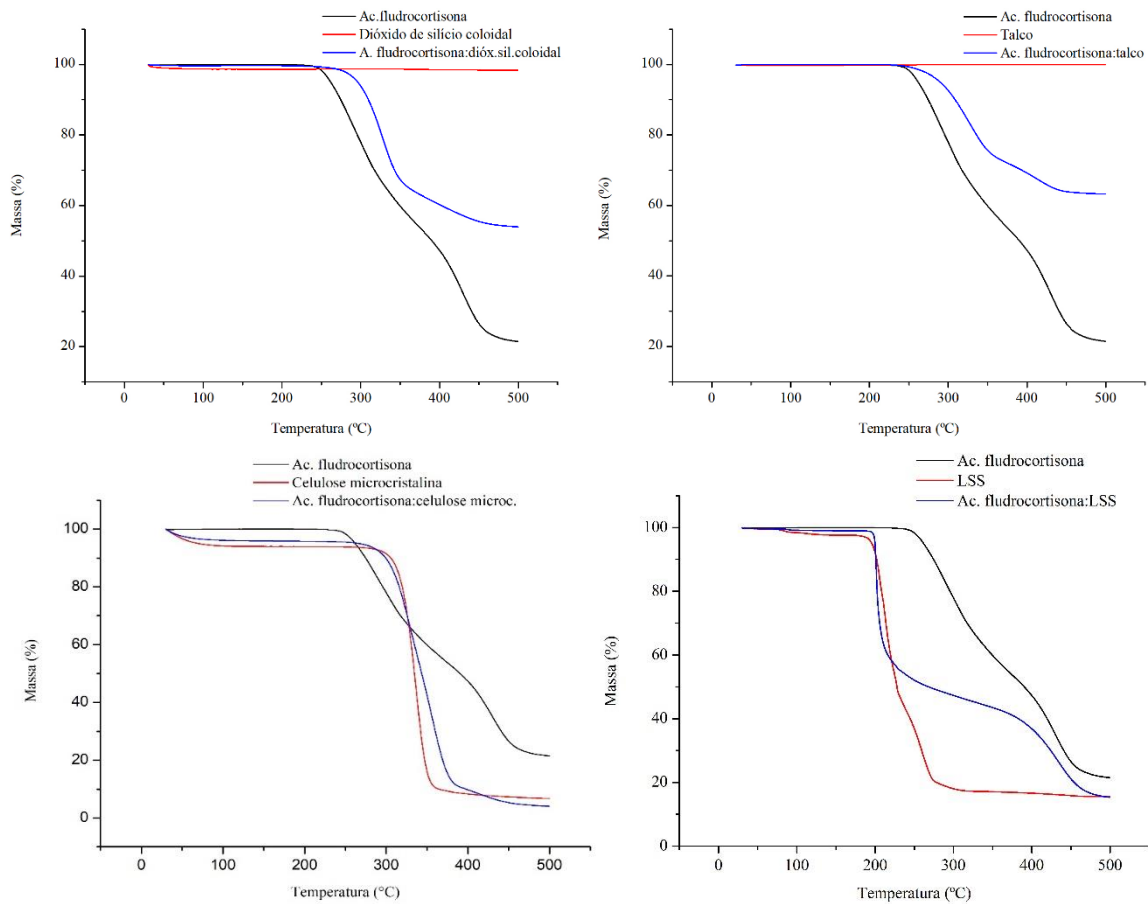


Figura 8 - Curvas TG obtidas com o acetato de fludrocortisona, excipientes propostos e suas misturas físicas (n=3).

Fonte: Da autora.

A curva TG obtida com o acetato de cortisona mostrou perda de massa em duas etapas, a primeira com  $T_{onset}$  em 261,33°C e  $\Delta_m$  igual a 38,05%, a segunda etapa apresentou  $T_{onset}$  em 374,14°C e  $\Delta_m$  igual a 44,27% (FIGURA 9).

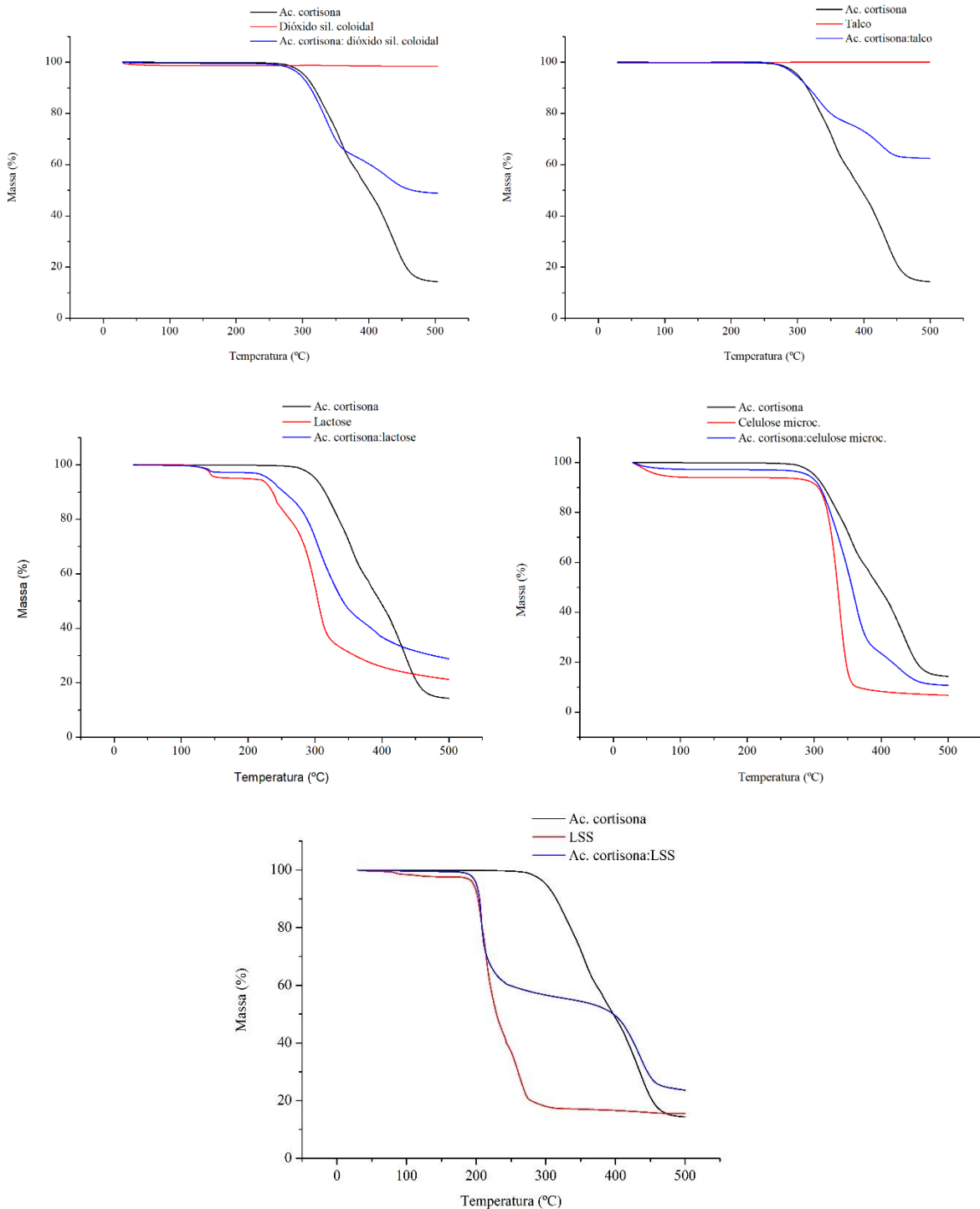


Figura 9 - Curvas TG obtidas com o acetato de cortisona, excipientes propostos e suas misturas físicas (n=3).

Fonte: Da autora.

A observação das curvas obtidas com as misturas físicas do acetato de cortisona e excipientes aponta que, com exceção das misturas com LSS e lactose que tiveram suas  $T_{onset}$  antecipadas, os demais excipientes não alteraram a estabilidade térmica do IFA. A antecipação da temperatura da primeira perda de massa indica que os excipientes citados diminuem a estabilidade térmica do acetato de cortisona (FIGURA 9).

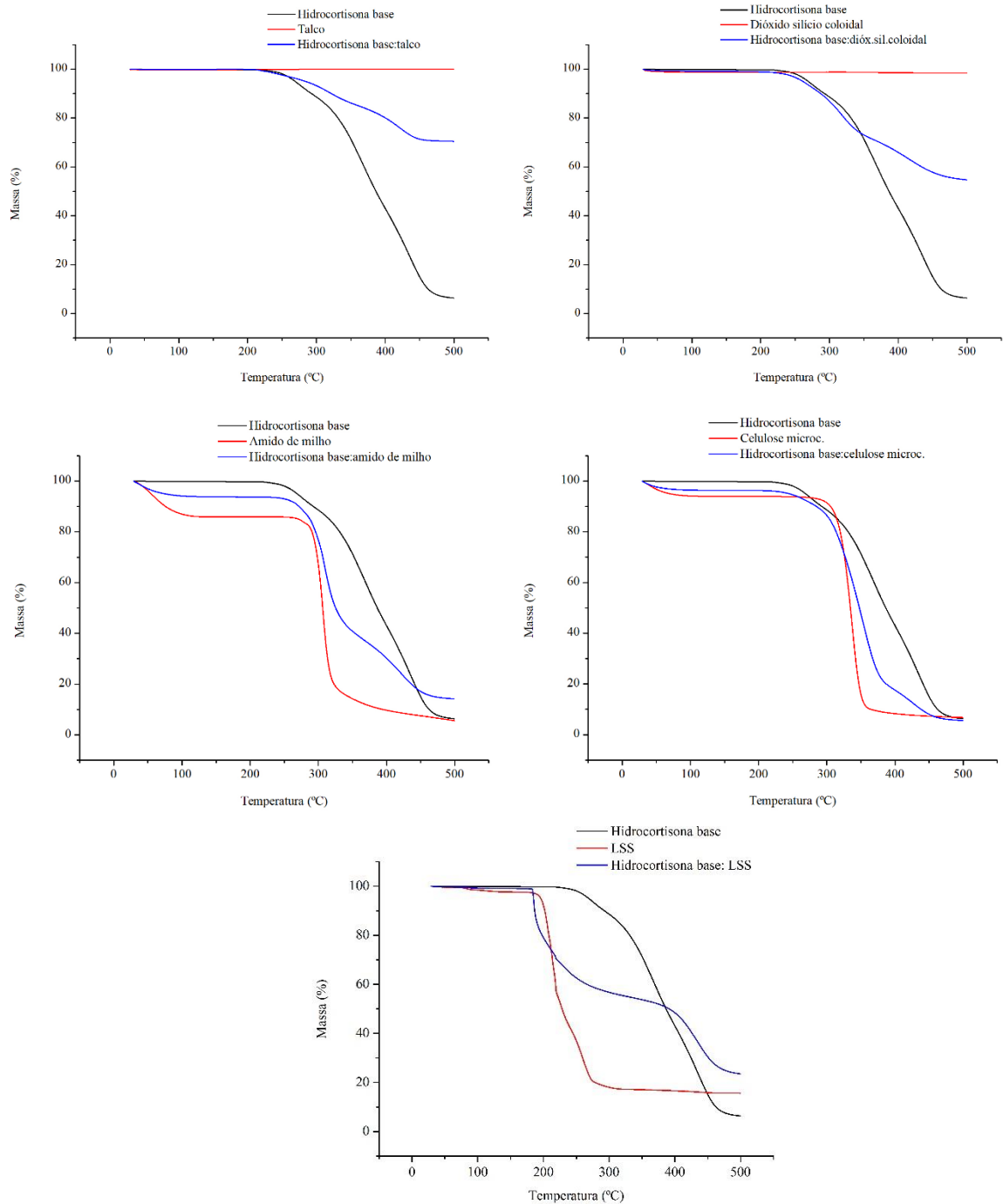


Figura 10 - Curvas TG obtidas com a hidrocortisona base, excipientes propostos e suas misturas físicas (n=3).

Fonte: Da autora.

A degradabilidade do IFA na sua mistura com lactose e LSS, será investigada através do doseamento do mesmo após estresse térmico das misturas.

O comportamento da hidrocortisona base na curva TG mostrou perda de massa em três etapas que se iniciam em temperaturas ( $T_{\text{onset}}$ ) de 236,16, 325,84 e 398,07°C e  $\Delta_m$  iguais a 11,22%, 38,76% e 31,01% respectivamente (FIGURA 10).

Conforme mostra a Figura 10, as misturas físicas de hidrocortisona base e excipientes, com exceção da mistura com LSS que teve sua  $T_{\text{onset}}$  antecipada, apresentaram curvas sem alteração da estabilidade térmica do IFA.

Araújo et al (2003) ao analisar a mistura física zidovudina: PEG (polietilenoglicol) observou a antecipação de evento de fusão assim como ocorreu com as misturas de LSS e IFA's aqui estudadas, e cita o mesmo tipo de ocorrência com outros fármacos como naproxeno, piroxicam e cetoprofeno, atribuindo o fato à dissolução dos fármacos nos PEG's utilizados. Para que pudéssemos admitir essa explicação ao ocorrido aqui com as misturas de IFA's com LSS, seria necessário submeter as misturas físicas de LSS e IFA à análise por DSC fotovisual ou análise termo óptica (TOA), já que o LSS se funde a 196,60° (evidenciada na curva de DSC) e os IFA's se fundem na faixa de  $\pm 230^\circ\text{C}$  e pode se dissolver no LSS fundido alterando assim a temperatura de fusão e de início da primeira etapa de perda de massa (OLIVEIRA, YOSHIDA; GOMES, 2011).

Pequenos deslocamentos das  $T_{\text{onset}}$ , como demonstrados nos resultados aqui apresentados podem ocorrer por variações nas massas utilizadas para obtenção das curvas de TG, fato evidenciado por Pereira (2013) na caracterização térmica de hormônios bioidênticos.

Segundo Tita (2011), a determinação da temperatura de fusão pode ser utilizada para avaliar a pureza de uma substância, e a diminuição da mesma pode ocorrer na presença de impurezas. Como a mistura binária obviamente não é um composto puro, a diminuição do ponto de fusão pode acontecer e não indica necessariamente incompatibilidade entre os componentes (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011).

Não foram encontrados estudos de compatibilidade para os IFA's analisados.

#### 5.1.4.3 Doseamento por CLAE após estresse térmico

A escolha de altas temperaturas para incubação dos IFA's e das misturas é feita para promover aceleração das possíveis reações de degradação em curtos períodos de tempo (MATOS, 2013).



As misturas binárias que apresentaram resultados sugestivos de incompatibilidade entre IFA e excipiente nas análises térmicas foram submetidas a estresse térmico e posteriormente analisadas por CLAE. Os resultados estão demonstrados na Tabela 15.

Os valores de teor apresentados na Tabela 15 correspondem a aos valores de massa já corrigidos, no que diz respeito às análises das misturas binárias.

Tabela 15 - Valores de teor e DPR das amostras de IFA's e suas respectivas misturas binárias, submetidas a estresse térmico (200°C durante 30 minutos) (n=3).

Acetato de fludrocortisona	Teor (%)	DPR (%)
IFA	99,69	3,02
Ac. fludrocortisona:LSS (1:1)	14,58	3,66
Acetato de cortisona	Teor (%)	DPR (%)
IFA	101,79	0,88
Ac. cortisona:lactose (1:1)	40,61	1,90
Ac. cortisona:LSS (1:1)	6,84	1,98
Hidrocortisona base	Teor (%)	DPR (%)
IFA	96,44	1,68
Hidrocortisona:LSS (1:1)	23,79	1,64

Fonte: Da autora.

As amostras dos IFA's aquecidas não apresentaram nenhum pico adicional nos cromatogramas, quando em comparação com amostras dos IFA's sem aquecimento (preparadas nas mesmas condições) que pudesse indicar degradação térmica (dados não apresentados), portanto os IFA's foram considerados termoestáveis até a temperatura de 200°C (temperatura de aquecimento no estresse térmico).

A mistura de acetato de cortisona e lactose apresentou resultado de teor diminuído; as misturas contendo LSS mostraram-se carbonizadas após o estresse térmico assim como o LSS puro e, o teor dos IFA's foram acentuadamente diminuídos.

Esses resultados demonstram que há interação entre o LSS e os IFA's, assim como entre o acetato de cortisona e a lactose, porém não exclui a necessidade de realização de testes de estabilidade a longo prazo, por pelo menos 6 meses a temperatura ambiente ou estabilidade acelerada para verificar se essas interações correspondem a incompatibilidades que podem modificar as propriedades de liberação da forma farmacêutica ou reduzir o teor dos IFA's a curto prazo, inviabilizando sua utilização em formulações para manipulação de cápsulas.

Tendo em vista que a velocidade de reação no estado sólido é lenta e depende de fatores como a composição química total da mistura (quali e quantitativa), cristalinidade do sólido entre outros, e que o medicamento manipulado é um medicamento individualizado que atende uma necessidade particular de um paciente e deve ser de uso imediato, deve-se atribuir a ele uma data limite de uso (prazo de uso) que pode variar de alguns dias até poucos meses e não um prazo de validade, já que não possui tempo de prateleira (SOARES, 2016; BRASIL, 2007; BRASIL, 2012).

## 5.2 PLANEJAMENTO E PREPARO DAS CÁPSULAS

Todas as 16 formulações manipuladas, obtidas através dos planejamentos fatoriais (Tabelas 3, 5 e 7) foram submetidas a controle e atenderam aos critérios de aprovação estabelecidos no Formulário Nacional, conforme Tabelas 16, 17 e 18.

Tabela 16 - Critérios de aprovação das cápsulas de ac. fludrocortisona manipuladas (n=10).

Formulação	Peso médio (mg)	DPR (%)*	Varição do conteúdo teórico (%)**
1	154	1,31	97 - 102
2	148	1,00	95 - 97
3	146	0,92	94 - 96
4	148	1,39	95 - 97
5	148	1,73	95 - 97
6	149	1,71	94 - 98
7	147	1,32	94 - 99
8	149	0,98	95 - 97
9	147	1,25	94 - 98
10	146	1,10	95 - 97
11	149	1,64	95 - 97
12	149	1,45	95 - 97
13	147	1,50	94 - 98
14	149	1,24	95 - 97
15	148	1,27	95 - 97
16	147	1,75	95 - 97

\*Limite = 4,0%; \*\*Limite = 90,0% - 110,0%.

Tabela 17 - Critérios de aprovação das cápsulas de acetato de cortisona manipuladas (n=10).

Formulação	Peso médio (mg)	DPR (%)*	Variação do conteúdo teórico (%)**
1	144	1,88	93 – 99
2	147	2,23	94 – 102
3	146	1,87	94 – 100
4	146	2,19	93 – 101
5	146	1,18	96 – 99
6	146	1,40	94 – 100
7	147	1,01	97 – 100
8	146	1,43	94 – 100
9	144	1,42	94 – 99
10	144	1,69	93 – 100
11	145	1,45	94 – 98
12	145	0,95	95 – 98
13	146	1,00	95 – 98
14	145	1,72	94 – 100
15	147	1,62	95 – 99
16	145	1,57	94 – 99

\*Limite = 4,0%; \*\*Limite = 90,0 – 110,0%.

Fonte: Da autora.

O Formulário Nacional estabelece que a variação de peso das cápsulas cujo peso médio esteja até 300mg, deve ser de até  $\pm 10\%$ , o desvio padrão relativo calculado não deve ser maior que 4% e a variação aceitável do conteúdo teórico das cápsulas deve estar contida no intervalo de 90 a 110%. Esse último critério permite obter uma estimativa da variação de peso das cápsulas, supondo que a massa de pós encapsulada, assim como a quantidade de fármaco, está homogênea desde que seguidas as Boas Práticas de manipulação.

Tabela 18 - Critérios de aprovação das cápsulas de hidrocortisona base manipuladas (n=10).

Formulação	Peso médio (mg)	DPR (%)*	Variação do conteúdo teórico (%)**
1	145,00	1,53	95,61 – 100,47
2	147,00	1,55	96,82 – 102,97
3	148,00	1,74	96,49 – 103,45
4	147,00	1,76	95,88 – 102,84
5	146,00	1,34	96,96 – 101,28
6	147,00	2,37	95,54 – 102,77
7	149,00	1,93	97,16 – 103,78
8	148,00	2,52	93,51 – 103,78
9	145,00	1,96	93,85 – 101,42
10	149,00	1,70	97,64 – 103,58
11	146,00	2,25	94,53 – 105,00
12	140,00	2,59	94,26 – 103,51
13	145,00	1,77	95,00 – 101,69
14	148,00	1,50	96,76 – 103,04
15	144,00	1,71	97,36 – 102,91
16	149,00	1,93	96,15 – 103,85

\*Limite = 4,0%; \*\*Limite = 90,00 – 110,00%

Fonte: Da autora.

### 5.3 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE ANÁLISE DAS CÁPSULAS

#### 5.3.1 Método espectrofotométrico – UV

Os métodos espectrofotométricos são muito úteis para determinações qualitativas e quantitativas de compostos orgânicos e inorgânicos; baseiam-se na medida da absorvância da luz por compostos que absorvem na região espectral do ultravioleta (200 a 400nm) e do visível (400 a 800nm) por apresentarem cromóforos em sua estrutura (KOCHAKIAN, 1988; ROZET, 2013).

Possuem a vantagem de fazer medidas precisas, rápidas e de baixo custo (ROZET,2013).

##### 5.3.1.1 Escolha do comprimento de onda e solvente adequado

Foram realizadas comparações dos resultados de varredura espectral dos IFA's na presença dos excipientes mantendo-se a proporção em que o IFA se encontra numa cápsula de 50 µg de acetato de fludrocortisona, 6,25mg de acetato de cortisona e 10,00 mg de hidrocortisona base, em diversos solventes, a fim de confirmar a não interferência dos excipientes na detecção do IFA, dentro da faixa de 200 a 400 nm.

O método espectrofotométrico não se mostrou seletivo ou seja, não foi capaz de medir os IFA's sem interferência dos excipientes presentes nas formulações propostas na proporção em que se encontram nas cápsulas nas referidas dosagens. Resultados semelhantes foram obtidos com todos os solventes utilizados.

Tentou-se também o recurso de espectrofotometria derivada, que consiste numa alternativa para melhorar a sensibilidade e seletividade na análise de sistemas multicomponentes, sem tratamento prévio da amostra (DONATO, 2010). Porém, os resultados também não foram satisfatórios (dados não apresentados), de modo que este recurso não tornou o método espectrofotométrico seletivo.

Diante disso foi dado prosseguimento ao desenvolvimento do método cromatográfico (cromatografia líquida de alta eficiência) por ser um método seletivo, que envolve separação dos componentes de uma amostra.

### **5.3.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)**

A cromatografia líquida de alta eficiência é um método seletivo, que envolve separação dos componentes de uma amostra.

Os parâmetros cromatográficos extraídos nas condições otimizadas e os cromatogramas obtidos com os IFA's – SQR, podem ser observados na Figura 11.

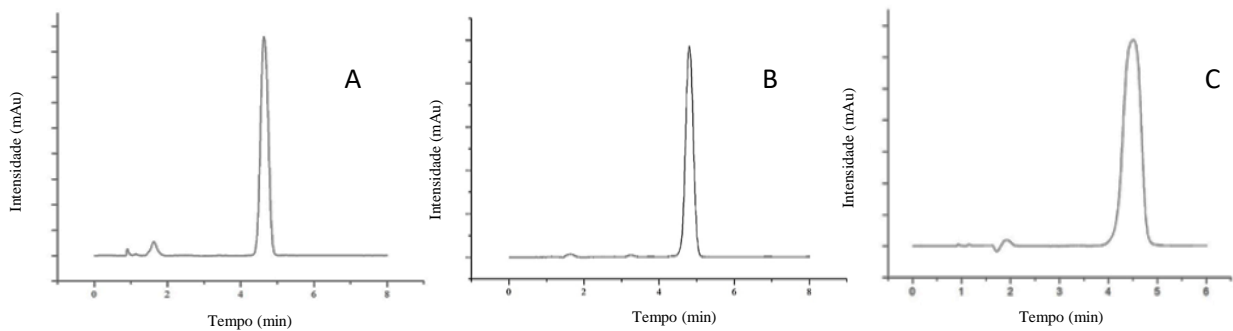


Figura 11- A - Cromatograma do ac. de fludrocortisona, nas condições otimizadas. Tempo morto = 0,9 minutos; tempo de retenção = 4,7 minutos; fator de capacidade = 4,22; fator de cauda = 0,538; número de pratos teóricos = 83525,407; resolução = 13,594. B - Cromatograma do ac. cortisona, nas condições otimizadas. Tempo morto = 0,7 minutos; tempo de retenção = 4,8 minutos; fator de capacidade = 5,86; fator de cauda = 1,098; número de pratos teóricos = 2651,71; resolução = 3,091. C - Cromatograma da hidrocortisona base, nas condições otimizadas. Tempo morto = 0,9 minutos; tempo de retenção = 4,4 minutos; fator de cauda = 1,001; resolução = 3,83; número de pratos teóricos = 3728,761.

Fonte: Da autora.

## 5.4 VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DE ANÁLISE POR CLAE

### 5.4.1 Seletividade

De acordo com a ANVISA seletividade é a capacidade que o método possui de medir exatamente um composto em presença de outros componentes tais como impurezas, produtos de degradação e componentes da matriz (BRASIL, 2003).

Para o acetato de fludrocortisona foi utilizado somente o MIX 1 porque ele possui os mesmos constituintes do MIX 2, além do talco farmacêutico. Isso foi feito para todos os parâmetros da validação que necessitam da presença do excipiente. Para o acetato de cortisona e para a hidrocortisona base, foram usados os MIX propostos (TABELA 5).

O método mostrou-se seletivo para todos os três IFA's, como demonstram as Figuras 12, 14 e 16. As Figuras 13, 15 e 17 expressam o resultado do teste de pureza de pico em detector DAD (Detector Diod Array), confirmando assim, a seletividade do método.

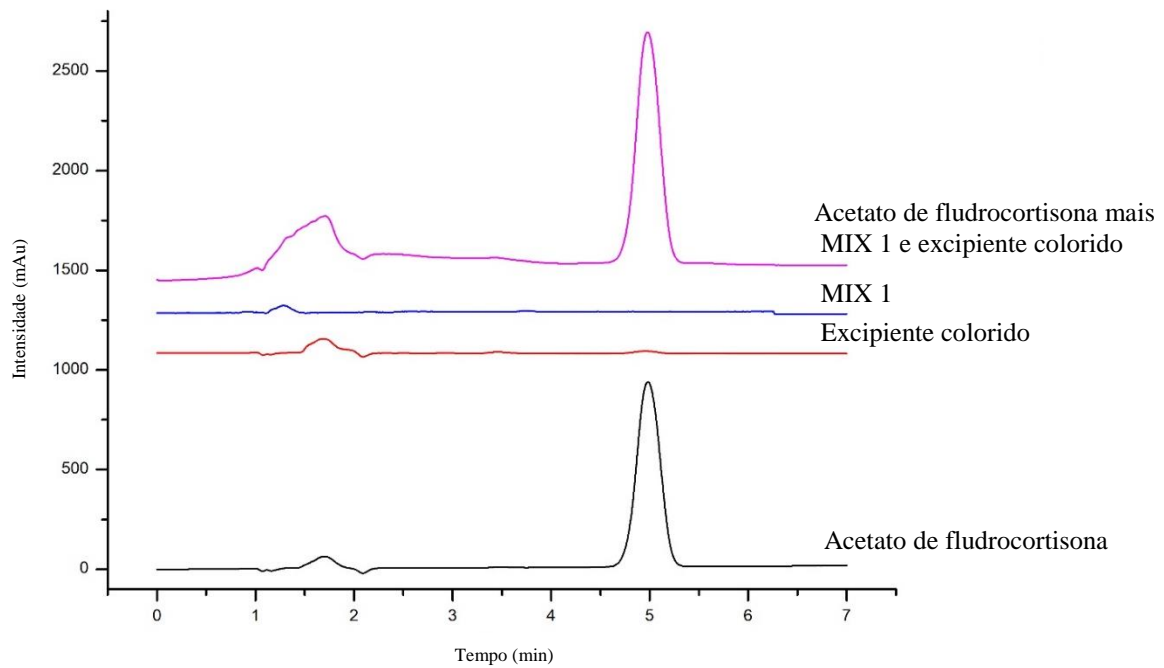


Figura 12 - Cromatogramas que expressam a seletividade do método para o acetato de fludrocortisona e MIX 1 e excipiente colorido, obtidos por CLAE (n=3).

Fonte: Da autora.

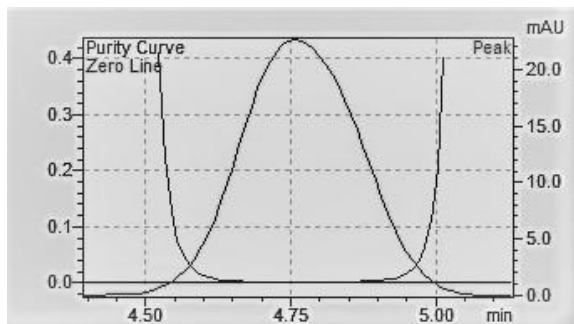


Figura 13 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica do acetato de fludrocortisona em solvente acetonitrila. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 1,00000; limiar de ponto único (single point threshold): 0,998539; índice mínimo de pureza do pico: 1460.

Fonte: Da autora.

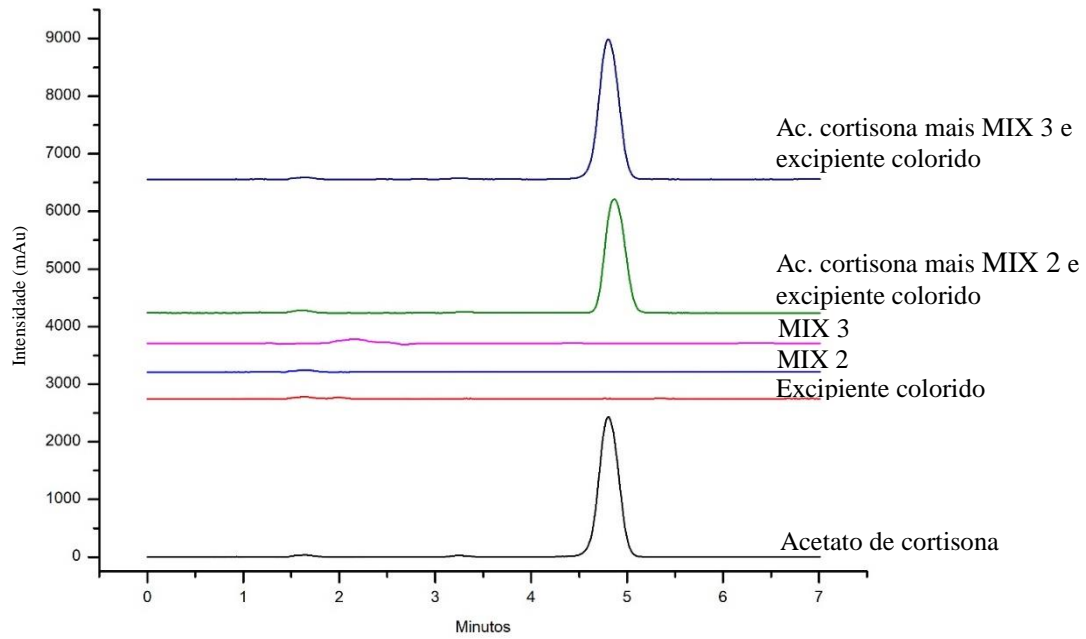


Figura 14 - Cromatogramas do acetato de cortisona - IFA e excipientes, que expressam a seletividade do método, obtidos por CLAE (n=3).

Fonte: Da autora.

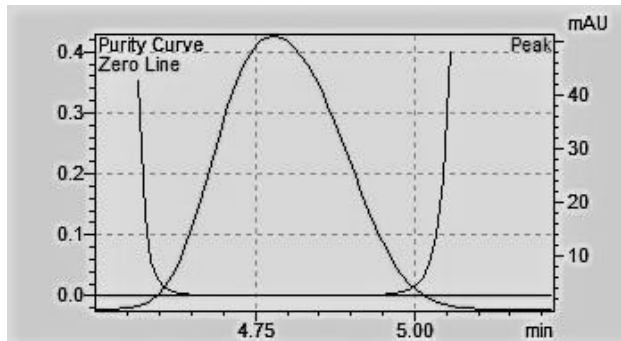


Figura 15 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica do acetato de cortisona em solvente acetonitrila. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 1,00000; limite de ponto único (single point threshold): 0,999701; índice mínimo do pico de pureza:299.



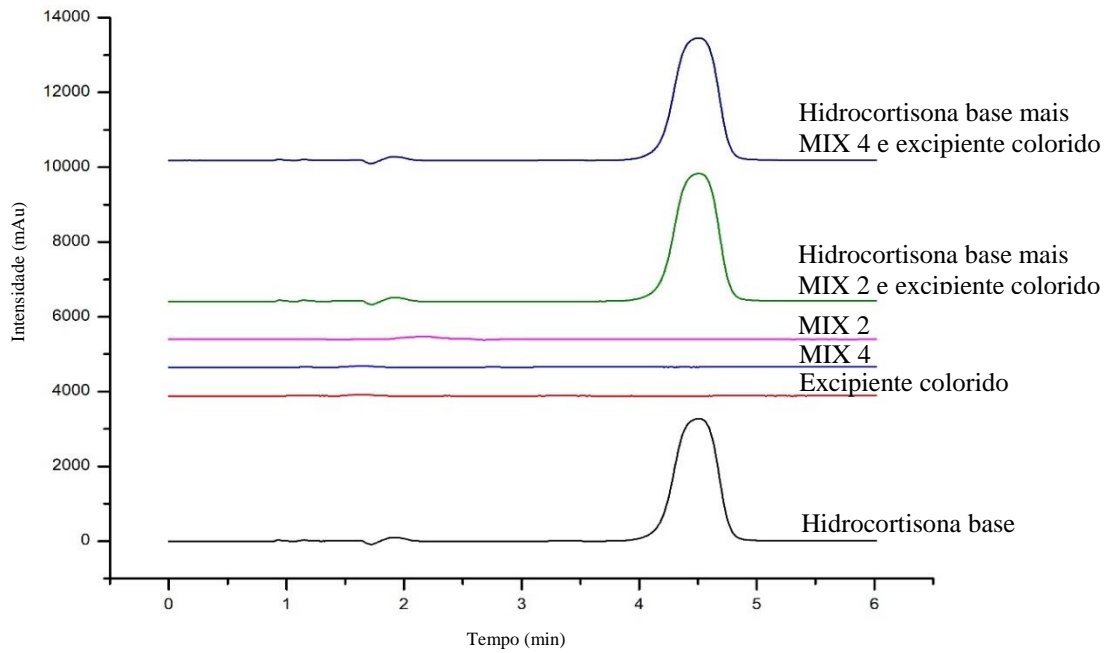


Figura 16 - Cromatogramas que expressam a seletividade do método desenvolvido para hidrocortisona base em cápsulas, em solvente acetonitrila, por CLAE (n=3).

Fonte: Da autora.

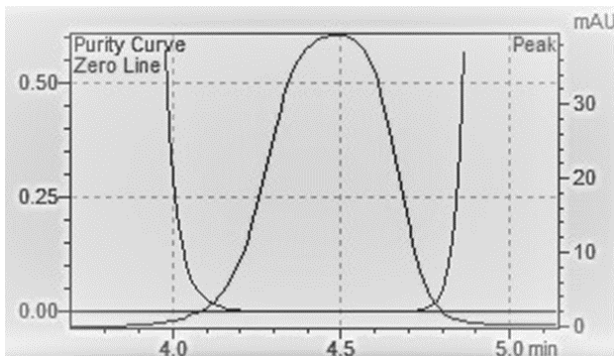


Figura 17 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica da hidrocortisona base em solvente acetonitrila. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 1,00000; limiar de ponto único (single point threshold): 0,999596; índice mínimo do pico de pureza:403.

Fonte: Da autora.

#### 5.4.2 Linearidade

Segundo Anvisa, a linearidade de um procedimento analítico é a sua capacidade de obter resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2003).

As curvas de calibração e os dados do ensaio de linearidade para os IFA's estão expressos na Figura 18 e Tabela 19.

Foram adotados como limites de aceitação dos valores percentuais de coeficiente de variação e de recuperação do IFA nas análises para cápsulas de acetato de fludrocortisona, 5,30 e 95,00 a 105,00 %, respectivamente, de acordo com a concentração do IFA na amostra (para fármacos cuja concentração do analito na amostra analisada esteja entre 100 mg/Kg e 1000 mg/Kg), em todas as análises que validam o método desenvolvido para esse IFA (BRASIL, 2016b – anexo V).

Para o acetato de cortisona foram adotados os valores percentuais de coeficiente de variação e de recuperação do IFA de 3,7 e 97,00 a 103,00%, e para a hidrocortisona base, de 2,7 e 98,00 a 102,00% respectivamente, nas análises das cápsulas e nos parâmetros da validação (BRASIL, 2016b – anexo V).

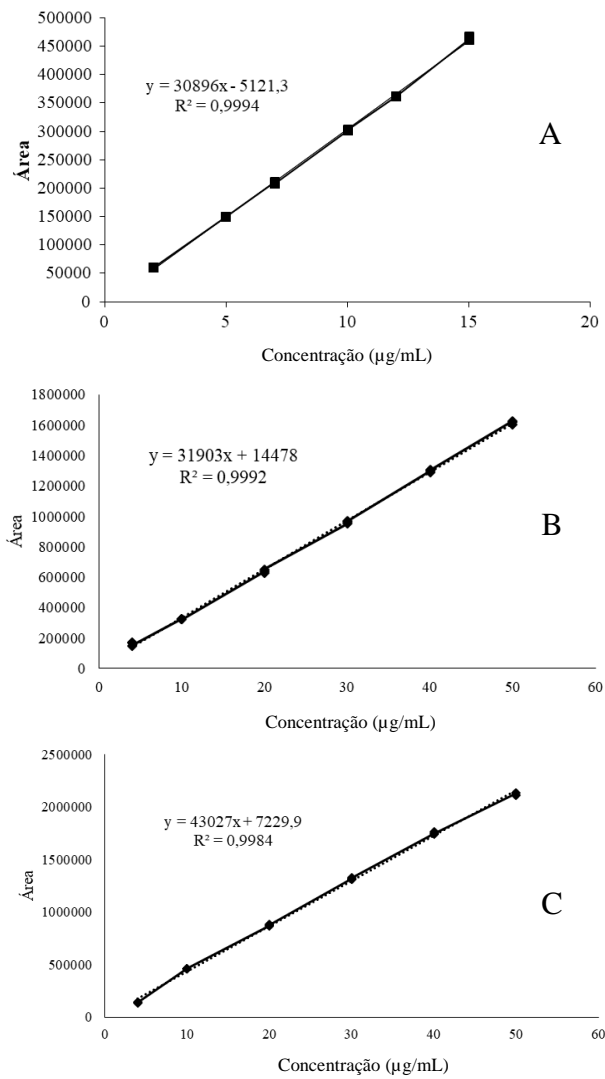


Figura 18 - Curvas analíticas para os métodos de análise das cápsulas de: A - acetato de fludrocortisona ( $r = 0,9997$ ); B - acetato de cortisona ( $r = 0,9990$ ); C - hidrocortisona base ( $r = 0,9992$ ); por CLAE ( $n=3$ ).

Fonte: Da autora.

Tabela 19 - Resultados do ensaio de linearidade para os parâmetros desvio padrão e coeficiente de variação (DPR%), para os métodos de análise das cápsulas dos IFA's, por CLAE (n=3).

Acetato de fludrocortisona						
Concentrações (µg/mL)						
	2,00	5,00	7,00	10,00	12,00	15,00
Área média	60187,00	148723,00	208946,00	301619,00	362074,00	463408,00
DPR (%)	0,14	0,06	0,68	0,42	0,02	0,66
Acetato de cortisona						
Concentrações (µg/mL)						
	4,00	10,00	20,00	30,00	40,00	50,00
Área média	125161,66	323669,00	637907,16	96329,00	129709,83	1616400,67
DPR (%)	1,22	0,72	1,79	1,00	0,69	0,63
Hidrocortisona base						
Concentrações (µg/mL)						
	4,00	10,00	20,00	30,00	40,00	50,00
Área média	139202,33	462418,67	874181,30	1319021,00	1752126,33	2122633,00
DPR (%)	0,49	0,44	0,84	0,39	0,50	0,48

Fonte: Da autora.

Conforme pode-se observar visualmente, foi obtida uma relação linear entre os dados do ensaio de linearidade e um coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) maior que 0,990, assim como valores de desvio padrão relativo das áreas em suas respectivas concentrações, dentro dos limites estabelecidos, para os três IFA's.

A avaliação da igualdade das variâncias foi feita pelo método de Cochran, que concluiu que as variâncias são heterocedásticas para o acetato de fludrocortisona e homocedásticas para os demais IFA's (TABELA 20).

Tabela 20 - Teste de Cochran, ao nível de 5% de significância, aplicado aos dados do ensaio de linearidade do método para determinação dos IFA's em cápsulas, por CLAE.

	Ac. fludrocortisona	Ac. cortisona	Hidrocortisona
C calculado	0,721	0,244	0,380
C crítico	0,616	0,616	0,616

Fonte: Da autora.

Desta forma, foi aplicado, para o acetato de fludrocortisona, o método dos Mínimos Quadrados Ponderados para ajustar o modelo, conseguindo-se a representação gráfica com observação visual de relação linear e  $r$  igual a 0,9999, para os dados ajustados conforme Figura 19.

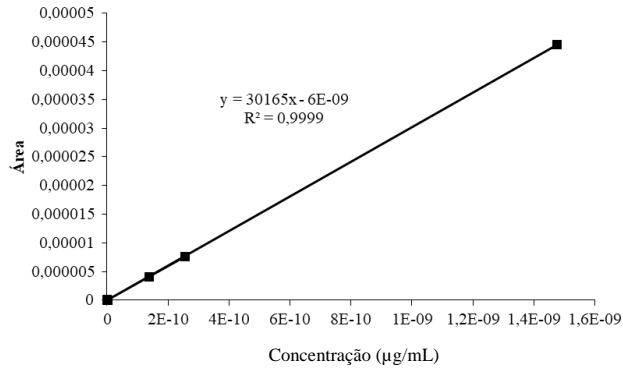


Figura 19 - Curva analítica obtida com os dados ponderados do ensaio de linearidade do método de determinação de acetato de fludrocortisona, em cápsulas, por CLAE ( $r = 0,9999$ ;  $n=3$ ).

Fonte: Da autora.

O teste de Cochran aplicado aos dados ponderados revelou homocedasticidade (TABELA 21).

Tabela 21 - Teste de Cochran, ao nível de 5% de significância, aplicado aos dados ponderados do ensaio de linearidade do método para determinação de acetato de fludrocortisona em cápsulas, por CLAE.

C calculado	C crítico
0,282	0,616

Fonte: Da autora.

Foi aplicado aos dados de linearidade dos três IFA's, o teste de F e ANOVA de mínimos quadrados para análise das variâncias e significância do coeficiente angular (TABELAS 22 e 23).

Tabela 22 - Análise de variância (Anova), teste F e teste de Cochran aplicado aos dados do ensaio de linearidade do método para determinação de acetato de fludrocortisona por CLAE.

	GL	SQ	QM	F	F de significação
Acetato de fludrocortisona (dados ponderados)					
Regressão	1	4,58E-09	4,58E-09	1463479,24	4,01E-41
Resíduo	16	5,01E-14	3,13E-15		
Total	17	4,58E-09			
Acetato de cortisona					
Regressão	1	7,89E+12	7,89E+12	38148,39	7,57E-33
Resíduo	16	3931661418,00	206929548,30		
Total	17	7,90E+12			
Hidrocortisona base					
Regressão	1	8,69E+12	8,68E+12	9693,46	1,07E-23
Resíduo	16	1,43E+10	895740937,30		
Total	17	8,70E+12			

Legenda: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = Quadrado médio.

Fonte: Da autora.

Tabela 23 - Estatística de regressão dos dados do ensaio de linearidade dos métodos para determinação dos IFA's em cápsulas, por CLAE.

Estatística de regressão			
	Ac fludrocortisona (dados ponderados)	Ac cortisona	Hidrocortisona base
R múltiplo	0,999	0,999	0,999
R-Quadrado	0,999	0,999	0,998
R-quadrado	0,999	0,999	0,998
Erro padrão	5,59E-08	14385,050	29928,930
Observações	18	21	18

Fonte: Da autora.

A análise de variância (Anova) consiste em avaliar se uma determinada reta de regressão estimada (curva de calibração) explica satisfatoriamente a relação existente entre a concentração e o sinal (Brasil, 2003).

O teste F na análise de variância tem o objetivo de testar a significância da estimativa do coeficiente associado à variável independente x (concentração); se F calculado for maior ou igual a F de significação, conclui-se que o modelo é adequado. E calcular o coeficiente de determinação ( $R^2$ ) tem o objetivo de averiguar o grau de explicação do modelo (Brasil, 2003).

A qualidade do ajuste da curva de calibração e a sua linearidade também devem ser avaliadas por meio da inspeção visual do gráfico de resíduos gerados pela regressão. Os pontos no gráfico de resíduos deverão estar aleatoriamente distribuídos ao redor do eixo x, não apresentando nenhum comportamento ou tendência funcional, o que pode ser observado na Figura 20 (Brasil, 2017).

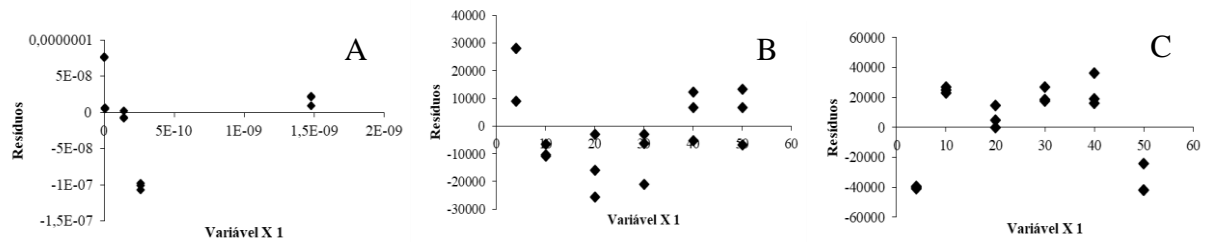


Figura 20 - Plotagem dos resíduos variável X 1, gerados pela regressão aplicada aos dados do ensaio de linearidade dos métodos para determinação dos IFA's: A - acetato de fludrocortisona (dados ponderados); B – acetato de cortisona; C – Hidrocortisona base.

Fonte: Da autora.

### 5.4.3 Exatidão

A exatidão de um método analítico representa o grau de concordância entre os resultados individuais, obtidos pelo método em estudo, em relação a um valor de referência aceito como verdadeiro (Brasil, 2003).

Os resultados dos parâmetros avaliados estão reunidos na Tabela 24.

Os resultados obtidos com os três IFA's obedeceram aos limites pré-estabelecidos, indicando que o método é exato frente aos MIX's testados.

Tabela 24 - Parâmetros que expressam a exatidão dos métodos para análise das cápsulas dos IFA's, por CLAE (n=3).

Acetato de fludrocortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	2,00	10,00	15,00
	MIX 1		
DPR (%)	3,10	3,31	3,28
Concentração média obtida (µg/mL)	2,04	9,53	14,87
Recuperação (%)	102,24	95,33	99,14
Acetato de cortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	5,00	20,00	30,00
	MIX 2		
DPR (%)	1,48	0,98	0,21
Concentração média obtida (µg/mL)	5,07	20,05	30,48
Recuperação (%)	101,44	100,63	98,09
	MIX 3		
DPR (%)	0,52	0,35	0,05
Concentração média obtida (µg/mL)	5,07	20,13	29,43
Recuperação (%)	101,44	100,63	98,09
Hidrocortisona base			
	Concentrações (µg/mL)		
	5,00	20,00	30,00
	MIX 2		
DPR (%)	0,13	0,04	0,80
Concentração média obtida (µg/mL)	5,09	20,34	30,24
Recuperação (%)	101,78	101,69	100,80
	MIX 4		
DPR (%)	0,13	0,21	0,06
Concentração média obtida (µg/mL)	4,94	19,87	30,42
Recuperação (%)	97,97	98,44	100,46

Fonte: Da autora.

#### 5.4.4 Precisão

O teste de precisão foi realizado em relação a repetibilidade ou precisão intra-dia e precisão intermediária ou inter-dia.

Os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (TABELA 25).



Tabela 25 - Valores obtidos na determinação da precisão dos métodos para análise das cápsulas dos IFA's, por CLAE (n=3).

Acetato de fludrocortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	2,00	10,00	15,00
	MIX 1		
Precisão intra-dia (DPR%)	3,10	3,31	3,28
Precisão intermediária (DPR%)	3,09	1,32	2,17
Acetato de cortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	5,00	20,00	30,00
	MIX 2		
Precisão intra-dia (DPR%)	1,48	0,98	0,21
Precisão intermediária (DPR%)	1,97	0,23	0,23
	MIX 3		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,52	0,35	0,05
Precisão intermediária (DPR%)	0,03	1,37	1,22
Hidrocortisona base			
	Concentrações (µg/mL)		
	5,00	20,00	30,00
	MIX 2		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,13	0,04	0,80
Precisão intermediária (DPR%)	0,02	0,01	0,01
	MIX 4		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,13	0,21	0,06
Precisão intermediária (DPR%)	0,14	0,81	0,55

Fonte: Da autora.

Todas as análises apresentaram resultados dentro dos limites pré-estabelecidos, indicando que o método é preciso frente aos MIX's testados.

#### 5.4.5 Limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra, que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (Brasil, 2003).

Os resultados para os métodos propostos estão na Tabela 26.

Tabela 26 - Valores de limite de quantificação para os métodos de análise dos IFA's (n=3).

Limite de quantificação (LQ)	
Acetato de fludrocortisona	0,15 µg/mL
Acetato de cortisona	1,03 µg/mL
Hidrocortisona base	0,97 µg/mL

Fonte: Da autora.

#### 5.4.6 Limite de detecção (LD)

Limite de detecção é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém, não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (Brasil, 2003).

Os resultados para os métodos propostos estão na Tabela 27.

Tabela 27 - Valores de limite de detecção para os métodos de análise dos IFA's (n=3).

Limite de detecção (LD)	
Acetato de fludrocortisona	0,05 µg/mL
Acetato de cortisona	0,34 µg/mL
Hidrocortisona base	0,32 µg/mL

Fonte: Da autora.

#### 5.4.7 Robustez

Os valores obtidos no ensaio de robustez e os parâmetros avaliados, constam da Tabela 28. A ANOVA foi utilizada para determinar se as variações produziram alterações significativas nos resultados obtidos ( $p = 0,05$ ) (TABELA 29).

Para os dados de robustez obtidos com o acetato de fludrocortisona, a análise de variância evidenciou diferenças estatisticamente significativas entre as condições analisadas.

Com os dados obtidos com o acetato de cortisona na presença do MIX 2, a mesma análise indicou que todos os dados não diferem estatisticamente entre si, ou seja, o método é robusto para as variações aplicadas frente ao MIX 2. Frente ao MIX 3, diferenças significativas entre as variações das condições analisadas foram evidenciadas. Para a hidrocortisona base, os resultados das análises de variância aplicadas aos dados de robustez frente aos MIX 2 e 4 não

evidenciaram diferenças significativas, sendo assim, podemos dizer que o método é robusto para as variações aplicadas.

Tabela 28 - Dados de robustez dos métodos para análise das cápsulas dos IFA's, por CLAE (n=3).

Acetato de fludrocortisona			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (40:60) (%)*
MIX 1			
99,90	95,01	101,40	100,14
97,51	94,98	106,74	100,02
99,61	94,89	105,26	104,21
Acetato de cortisona			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (40:60) (%)*
MIX 2			
99,67	100,65	99,20	102,76
99,66	99,11	97,76	101,34
101,37	99,78	98,47	101,65
MIX 3			
100,28	85,12	98,09	103,77
100,63	84,62	101,41	102,61
100,98	84,87	94,77	103,16
Hidrocortisona base			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (45:55) (%)*
MIX 2			
98,99	100,31	95,78	99,38
98,71	96,25	97,52	93,58
98,59	104,24	95,40	93,23
MIX 4			
98,90	104,50	104,66	107,90
99,54	96,16	96,29	98,12
101,83	92,81	95,00	92,66

\* Dados expressos em relação à exatidão do método.

Fonte: Da autora.

Tabela 29 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez do método para determinação dos IFA's em cápsulas, por CLAE.

Fonte da variação	SQ	GL	QM	F calculado	valor-P	F crítico
Acetato de fludrocortisona						
MIX 1						
Entre grupos	145,37	3	48,46	12,93	0,002	4,07
Dentro dos grupos	29,99	8	3,75			
Total	175,37	11				
Acetato de cortisona						
MIX 2						
Entre grupos	18,05	3	6,02	9,11	0,006	4,07
Dentro dos grupos	5,28	8	0,67			
Total	23,33	11				
MIX 3						
Entre grupos	597,94	3	199,31	68,93	4,67E-06	4,07
Dentro dos grupos	23,13	8	2,89			
Total	621,07	11				
Hidrocortisona base						
MIX 2						
Entre grupos	45,54	3	15,18	2,08	0,18	4,07
Dentro dos grupos	58,41	8	7,30			
Total	103,94	11				
MIX 4						
Entre grupos	8,18	3	2,73	0,09	0,96	4,07
Dentro dos grupos	239,05	8	29,89			
Total	247,23	11				

Legenda: SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio.  
Fonte: Da autora.

Para o acetato de fludrocortisona, o teste de Tukey mostrou que apenas os dados obtidos com a utilização da coluna marca B são estatisticamente diferentes daqueles obtidos com as condições normais do método (coluna marca A), ao nível de significância de 0,05 (TABELA 30). Portanto o método não se mostrou robusto para utilização de colunas de marca diferente da utilizada nesse estudo.

O teste de Tukey para o acetato de cortisona frente ao MIX 3 mostrou que os dados obtidos com a leitura das soluções após 6 horas do seu preparo são estatisticamente diferentes daqueles obtidos com as condições normais do método (leitura imediata), ao nível de significância de 0,05, ou seja, o método não é robusto para leituras após 6h do preparo, sendo recomendado leitura imediata quando se trata do uso do MIX 3.

Tabela 30 - Resultados do teste de Tukey aplicado aos dados do ensaio de robustez dos métodos para os IFA's em cápsulas, por CLAE.

Acetato de fludrocortisona			
MIX 1			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	4,0467	3,6200	ns
Médias (1 a 3)=	5,4600	4,8844	<0,05
Médias (1 a 4) =	2,4500	2,1917	ns
Acetato de cortisona			
MIX 2			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	0,16	0,32	ns
Médias (1 a 3)=	1,53	2,98	ns
Médias (1 a 4) =	1,91	3,71	ns
MIX 3			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	15,76	16,07	<0,01
Médias (1 a 3)=	2,54	2,59	ns
Médias (1 a 4) =	2,55	2,60	ns

Legenda: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = Quadrado médio; Q = quadrado; ns = não significativo.

Fonte: Da autora.

## 5.5 VALIDAÇÃO DAS METODOLOGIAS DE ANÁLISE APLICADAS AOS TESTES DE DISSOLUÇÃO PARA CÁPSULAS DOS IFA'S

O teste de dissolução permite determinar a quantidade de substância ativa dissolvida no meio de dissolução a partir de uma forma farmacêutica sólida, em aparelhagem específica, sob condições experimentais definidas (BRASIL, 2010).

### 5.5.1 Seletividade

O método mostrou-se seletivo para todos os três IFA's, como demonstram as Figuras 21, 23 e 25. As Figuras 22, 24 e 26 expressam os resultados do teste de pureza de pico em detector DAD (Detector Diode Array), confirmando assim, a seletividade dos métodos.

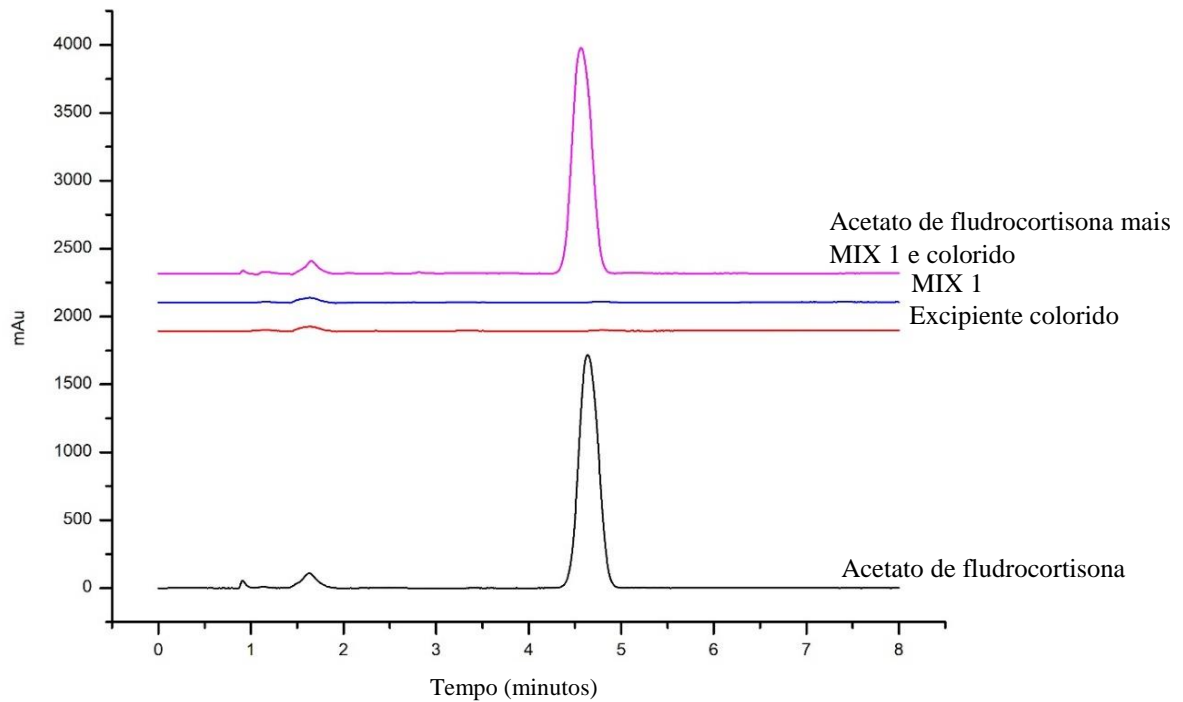


Figura 21 - Cromatogramas que expressam a seletividade do método aplicado ao ensaio de dissolução, para acetato de fludrocortisona, MIX 1 e excipiente colorido, obtidos por CLAE (n=3).  
Fonte: Da autora.

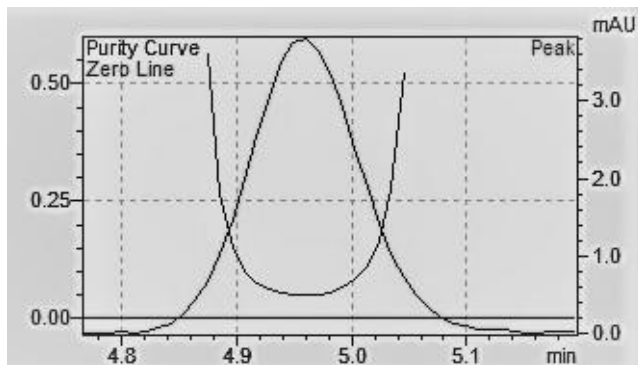


Figura 22 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica do acetato de fludrocortisona em solvente HCl 0,01M. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 0,999996; limiar de ponto único (single point threshold): 0,951348; índice mínimo do pico de pureza:48647.  
Fonte: Da autora.

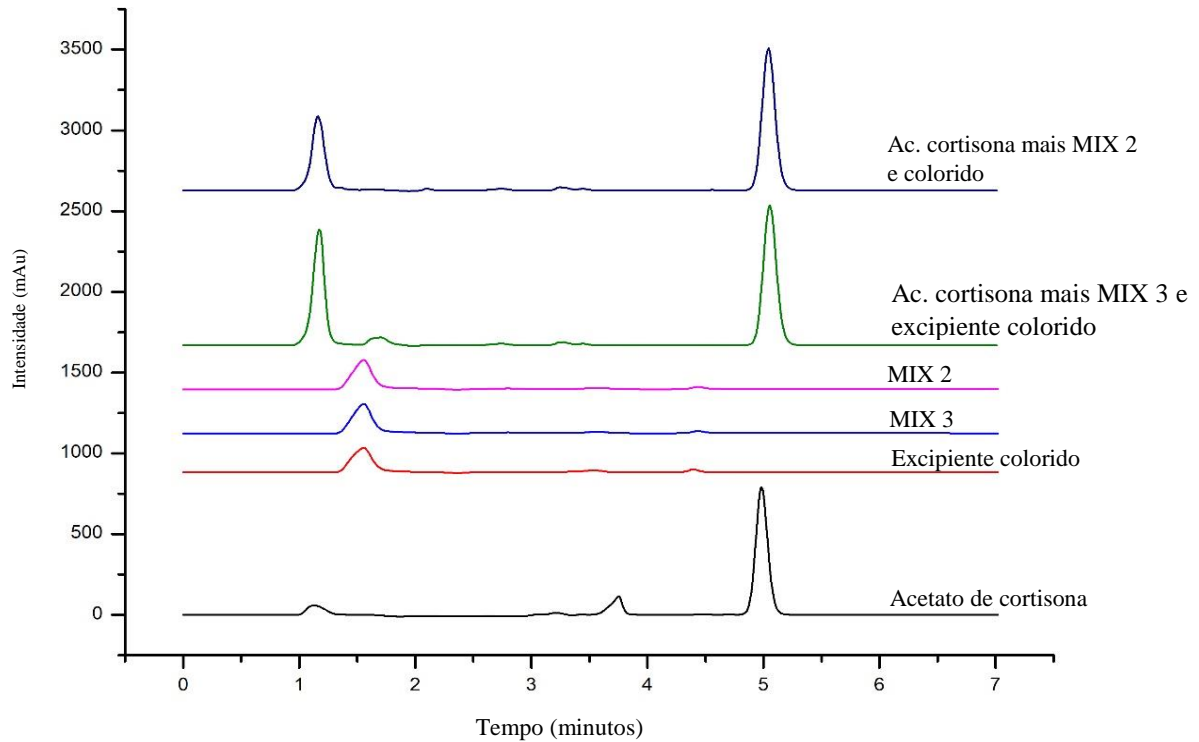


Figura 23 - Cromatogramas que expressam a seletividade do método aplicado ao ensaio de dissolução, para acetato de cortisona, MIX 2, MIX 3 e excipiente colorido, obtidos por CLAE (n=3).  
Fonte: Da autora.

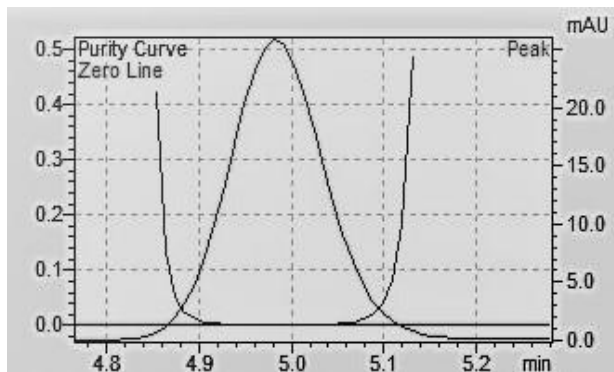


Figura 24 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica do acetato de cortisona em solvente lauril sulfato de sódio 0,75%. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 1,00000; limiar de ponto único (single point threshold): 0,998923; índice mínimo do pico de pureza:1077.  
Fonte: Da autora.

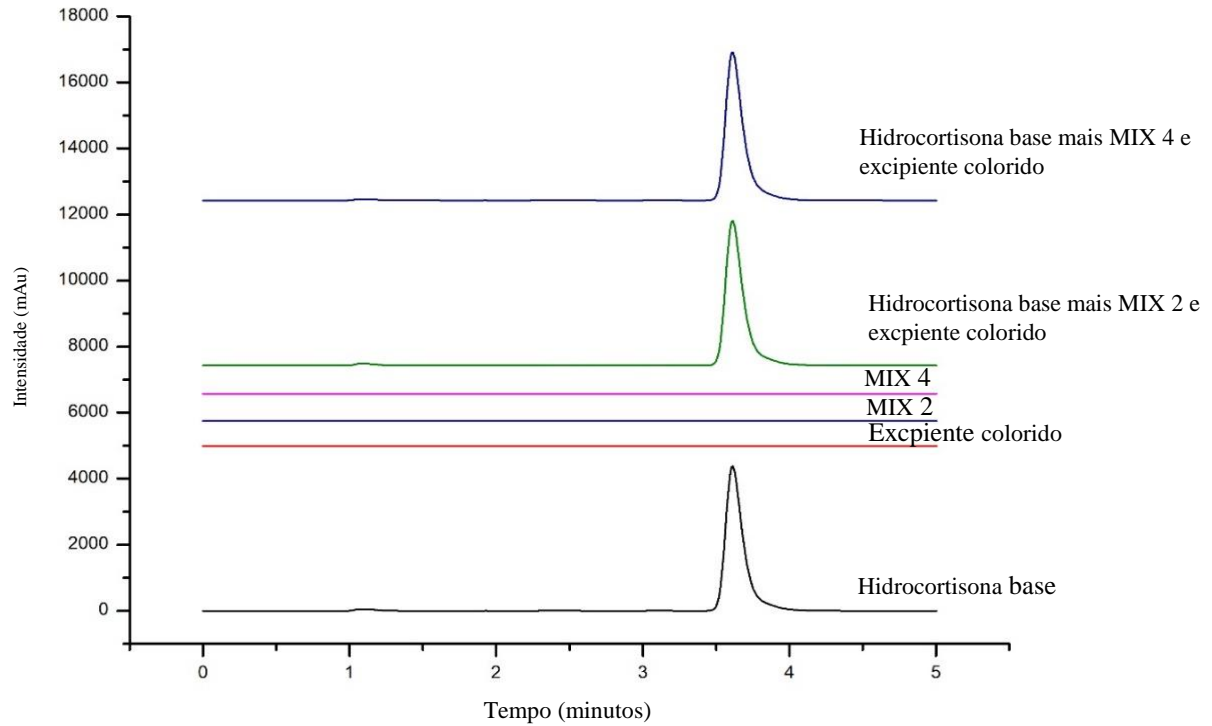


Figura 25 - Cromatogramas que expressam a seletividade do método aplicado ao ensaio de dissolução, desenvolvido para hidrocortisona base, MIX2, MIX4 e excipiente colorido (n=3).

Fonte: Da autora.

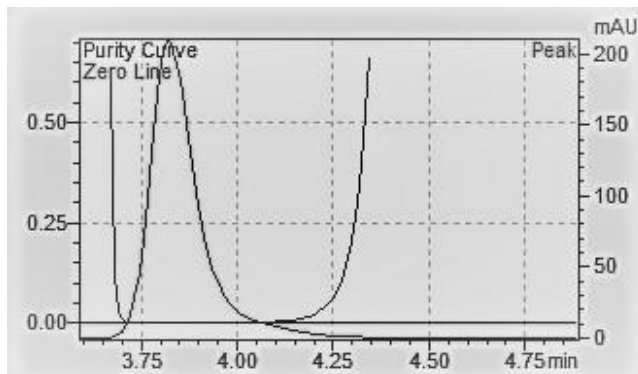


Figura 26 - Gráfico de pureza espectral cromatográfica da hidrocortisona base, em solvente água. Impurezas: não detectadas; índice de pureza de pico: 1,00000; limiar de ponto único (single point threshold): 0,999972; índice mínimo do pico de pureza: 127.

Fonte: Da autora.

## 5.5.2 Linearidade



No estudo de linearidade, evidenciou-se que existe correlação linear entre as concentrações e as áreas de pico através da equação  $y = ax + b$ , com coeficiente de correlação de Pearson ( $r$ ) maior que 0,990 (FIGURA 27).

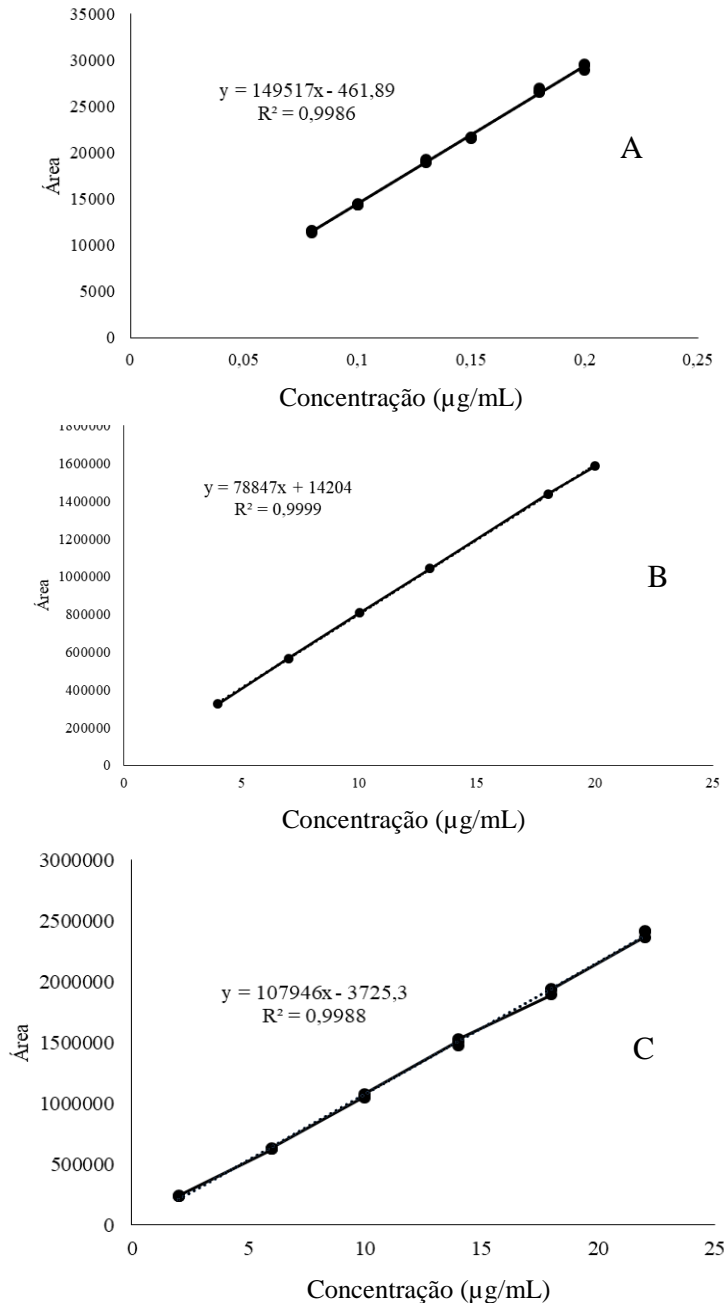


Figura 27 - Curvas analíticas obtidas no ensaio de linearidade dos métodos de análise dos IFA's, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução. A – acetato de fludrocortisona, meio de dissolução = solução de HCL 0,01N,  $r = 0,9993$ ,  $n = 3$ ; B – acetato de cortisona, meio de dissolução = solução de laurel sulfato de sódio 0,75%,  $r = 0,9999$ ,  $n = 3$ ; C – hidrocortisona base, meio de dissolução = água,  $r = 0,9994$ ,  $n = 3$ .

Fonte: Da autora.

As áreas em suas respectivas concentrações, obedeceram aos limites pré-estabelecidos de DPR, descritas na Tabela 31.

Tabela 31 - Valores obtidos na análise estatística para os ensaios de linearidade dos métodos para os IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução (n=3).

Acetato de fludrocortisona						
Concentrações (µg/mL)						
	0,08	0,10	0,13	0,15	0,18	0,20
Área média	11530,00	14463,00	19098,00	21658,00	26738,00	29335,00
DPR (%)	0,89	0,35	0,83	0,38	0,84	1,01
Acetato de cortisona						
Concentrações (µg/mL)						
	4,00	7,00	10,00	13,00	18,00	20,00
Área média	324770,67	565877,33	807345,33	1043051,67	1436838,67	1584302,67
DPR (%)	1,40	1,06	0,13	0,33	0,59	0,49
Hidrocortisona base						
Concentrações (µg/mL)						
	2,00	6,00	10,00	14,00	18,00	22,00
Área média	240037,00	628380,33	1058755,67	1502388,67	1923449,33	2396761,00
DPR (%)	1,19	1,00	1,68	1,82	1,33	1,22

Fonte: Da autora.

A avaliação da igualdade das variâncias foi feita pelo teste de Cochran, que concluiu que as variâncias são homocedásticas para os métodos aplicados aos três IFA's. O teste de F e ANOVA de mínimos quadrados aplicados aos dados para análise das variâncias e significância do coeficiente angular, revelaram a adequabilidade dos dados ao modelo e a distribuição não tendenciosa dos resíduos gerados na análise estatística (TABELAS 32, 33 e 34 e FIGURA 28).

Tabela 32 - Valores obtidos no Teste de Cochran, ao nível de 5 % de significância, dos dados da linearidade dos métodos para os IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução.

	Ac. fludrocortisona	Ac. cortisona	Hidrocortisona base
C calculado	0,478	0,355	0,285
C crítico	0,616	0,616	0,616

Fonte: Da autora.

Tabela 33 - Valores obtidos na análise de variância, Anova/teste F, para o ensaio de linearidade dos métodos para os IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução.

	GL	SQ	QM	F	F de significação
Acetato de fludrocortisona					
Regressão	1	7,1E+08	7,1E+08	11576,30	2,6E-24
Resíduo	16	982554	61409,60		
Total	17	7,1E+08			
Acetato de cortisona					
Regressão	1	3,62E+12	3,6182E+12	76567,98	7,13E-31
Resíduo	16	7,56E+08	47254678		
Total	17	3,62E+12			
Hidrocortisona base					
Regressão	1	9,79E+12	9,79E+12	13052,15	9,92E-25
Resíduo	16	1,20E+10	749914214,60		
Total	17	89,80E+12			

Legenda: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = Quadrado médio

Fonte: Da autora.

Tabela 34 - Estatística de regressão aplicada aos dados dos ensaios de linearidade para os IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicados aos ensaios de dissolução.

Estatística de regressão			
	Ac fludrocortisona	Ac cortisona	Hidrocortisona base
R múltiplo	0,999	0,999	0,999
R-Quadrado	0,999	0,999	0,998
R-quadrado ajustado	0,999	0,999	0,998
Erro padrão	247,810	6874,200	27348,560
Observações	18	21	18

Fonte: Da autora.

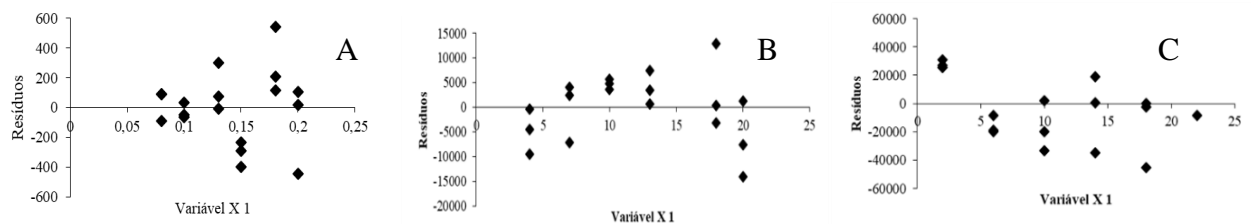


Figura 28 - Plotagem dos resíduos gerados pela regressão aplicada aos dados dos ensaios de linearidade para os IFA's, por CLAE, aplicados aos ensaios de dissolução. A – acetato de fludrocortisona; B – acetato de cortisona; C – hidrocortisona base.

Fonte: Da autora.

### 5.5.3 Exatidão

Os resultados obtidos no ensaio de exatidão dos métodos para determinação dos IFA's estão expressos na Tabela 35.

Tabela 35 - Valores obtidos no ensaio de exatidão dos métodos para determinação dos IFA's, em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução (n=3).

Acetato de fludrocortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	0,02	0,10	0,12
	MIX 1		
DPR (%)	0,70	2,73	2,44
Concentração média obtida (µg/mL)	0,02	0,10	0,12
Recuperação (%)	98,05	98,66	101,67
Acetato de cortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	2,00	10,00	18,00
	MIX 2		
DPR (%)	0,81	1,17	0,75
Concentração média obtida (µg/mL)	2,01	9,84	17,84
Recuperação (%)	100,33	98,42	99,11
	MIX 3		
DPR (%)	0,19	0,09	1,34
Concentração média obtida (µg/mL)	2,02	9,90	18,05
Recuperação (%)	101,07	98,99	100,30
Hidrocortisona base			
	Concentrações (µg/mL)		
	4,00	10,00	15,00
	MIX 2		
DPR (%)	0,66	0,34	1,22
Concentração média obtida (µg/mL)	4,01	10,15	15,11
Recuperação (%)	100,26	101,46	100,75
	MIX 4		
DPR (%)	0,04	0,05	1,70
Concentração média obtida (µg/mL)	3,92	10,02	14,99
Recuperação (%)	98,05	100,17	99,96

Fonte: Da autora.

### 5.5.3 Precisão

A precisão do ensaio de dissolução foi avaliada pela repetibilidade ou precisão intradia e precisão intermediária ou inter-dia. Os resultados estão expressos na Tabela 36.

Tabela 36 - Valores obtidos no ensaio de precisão dos métodos para determinação dos IFA's, em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução (n=3).

Acetato de fludrocortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	0,02	0,10	0,12
	MIX 1		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,70	2,73	2,44
Precisão intermediária (DPR%)	0,07	0,82	2,28
Acetato de cortisona			
	Concentrações (µg/mL)		
	2,00	10,00	18,00
	MIX 2		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,82	1,17	0,75
Precisão intermediária (DPR%)	1,89	0,98	0,37
	MIX 3		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,19	0,09	1,34
Precisão intermediária (DPR%)	0,02	0,25	1,58
Hidrocortisona base			
	Concentrações (µg/mL)		
	4,00	10,00	15,00
	MIX 2		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,66	0,34	1,22
Precisão intermediária (DPR%)	1,22	0,29	0,45
	MIX 4		
Precisão intra-dia (DPR%)	0,04	0,05	1,70
Precisão intermediária (DPR%)	0,51	0,35	0,76

Fonte: Da autora.

### 5.5.5 Limite de Quantificação (LQ)

Os valores dos limites de quantificação obtidos nos métodos para determinação dos IFA's em cápsulas, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução estão descritos na Tabela 37.

Tabela 37- Valores de limite de quantificação para os métodos de análise dos IFA's (n=3).

Limite de quantificação (LQ)	
Acetato de fludrocortisona	0,002 µg/mL
Acetato de cortisona	0,36 µg/mL
Hidrocortisona base	0,69 µg/mL

Fonte: Da autora.

### 5.5.6 Limite de Detecção (LD)

Os valores obtidos para limites de detecção dos métodos para determinação dos IFA's em cápsulas, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução constam da Tabela 38.

Tabela 38 - Valores de limite de detecção para os métodos de análise dos IFA's (n=3).

Limite de detecção (LD)	
Acetato de fludrocortisona	0,0007 µg/mL
Acetato de cortisona	0,12 µg/mL
Hidrocortisona base	0,23 µg/mL

Fonte: Da autora.

### 5.5.7 Robustez

Os valores obtidos no ensaio de robustez e os parâmetros avaliados, constam da Tabela 39. A ANOVA foi utilizada para determinar se as variações produziram alterações significativas nos resultados obtidos ( $p = 0,05$ ).

Tabela 39- Dados de robustez dos métodos para análise das cápsulas dos IFA's, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução (n=3).

<b>Acetato de fludrocortisona</b>			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (40:60) (%)*
<b>MIX 1</b>			
98,00	131,49	86,00	130,00
100,00	128,67	84,00	129,00
98,00	129,25	92,00	129,00
<b>Acetato de cortisona</b>			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (40:60) (%)*
<b>MIX 2</b>			
99,08	98,81	98,65	101,78
98,90	101,28	99,44	101,62
99,00	100,05	99,05	101,78
<b>MIX 3</b>			
97,09	100,62	95,34	102,03
99,13	100,64	95,95	101,10
99,04	96,26	93,73	102,18
<b>Hidrocortisona base</b>			
Condições normais do método (%)*	Leitura após 6h do preparo das soluções (%)*	Coluna Marca B (%)*	Fase móvel Acetonitrila : água (45:55) (%)*
<b>MIX 2</b>			
99,04	99,35	102,65	96,51
99,08	99,56	102,81	96,62
99,10	99,35	102,76	96,69
<b>MIX 4</b>			
98,99	100,31	95,78	99,38
98,71	96,25	97,52	93,58
98,59	104,24	95,40	93,23

\* Dados expressos em relação à exatidão do método.

Fonte: Da autora.

A análise de variância aplicada aos dados de robustez dos métodos aplicados aos ensaios de dissolução, para a determinação de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona (frente

aos MIX's 2 e 3) e para a hidrocortisona base apenas frente ao MIX 2, evidenciou diferenças significativas entre as variações das condições analisadas (TABELA 40).

Tabela 40 - Análise de variância aplicada ao ensaio de robustez dos métodos para determinação dos IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicado aos respectivos ensaios de dissolução.

Fonte da variação	SQ	GL	QM	F calculado	valor-P	F crítico
Acetato de fludrocortisona						
MIX 1						
Entre grupos	4204,73	3	1401,58	264,23	2,44E-08	4,07
Dentro dos grupos	42,44	8	5,30			
Total	4247,16	11				
Acetato de cortisona						
MIX 2						
Entre grupos	76,57	3	25,52	11,32	0,003	4,07
Dentro dos grupos	18,03	8	2,25			
Total	94,60	11				
MIX 3						
Entre grupos	14,69	3	4,90	11,54	0,003	4,07
Dentro dos grupos	3,40	8	0,42			
Total	18,09	11				
Hidrocortisona base						
MIX 2						
Entre grupos	57,23	3	19,08	2578,50	2,80E-12	4,07
Dentro dos grupos	0,06	8	0,01			
Total	57,29	11				
MIX 4						
Entre grupos	45,54	3	15,18	2,08	0,18	4,07
Dentro dos grupos	58,41	8	7,30			
Total	103,94	11				

Legenda: SQ = soma dos quadrados; GL = graus de liberdade; QM = Quadrado médio.

Fonte: Da autora.

O teste de Tukey aplicado aos dados do método para acetato de fludrocortisona mostrou que todos os parâmetros variados foram estatisticamente diferentes daqueles obtidos com as condições normais do método ao nível de significância de 0,01 ou seja, o método não é robusto para as variações aplicadas (TABELA 41).

Com relação ao método para acetato de cortisona frente ao MIX 2, o teste de Tukey evidenciou diferenças significativas apenas entre a alteração da fase móvel e tempo de leitura, e entre a coluna de marca diferente e a variação da fase móvel; porém nenhum dado foi



estatisticamente diferente daqueles obtidos com as condições normais do método. Sendo assim, o método foi considerado robusto para as alterações aplicadas frente ao MIX 2. Frente ao MIX 3, o método para acetato de cortisona não foi considerado robusto apenas para variação da fase móvel, ao nível de significância de 0,05 (TABELA 41).

Quanto ao método para hidrocortisona base frente ao MIX 2, o teste de Tukey mostrou que o método não é robusto para nenhuma das variações aplicadas, mas sim frente ao MIX 4 (TABELA 41).

Tabela 41 - Valores obtidos no teste de Tukey aplicado aos dados do ensaio de robustez do método de determinação dos IFA's em cápsulas, por CLAE, aplicados aos respectivos ensaios de dissolução.

Acetato de fludrocortisona			
MIX 1			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	31,14	23,42	<0,01
Médias (1 a 3)=	11,33	8,52	<0,01
Médias (1 a 4) =	30,67	23,06	<0,01
Acetato de cortisona			
MIX 2			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	0,75	0,87	ns
Médias (1 a 3)=	3,41	3,94	ns
Médias (1 a 4) =	3,67	4,24	ns
Médias (2 a 3)=	4,17	4,81	<0,05
Médias (2 a 4)=	2,92	3,37	ns
Médias (3 a 4) =	7,09	8,17	<0,01
MIX 3			
Tukey:	Diferença	Q	(p)
Médias (1 a 2)=	1,05	2,80	ns
Médias (1 a 3)=	0,05	0,14	ns
Médias (1 a 4) =	2,73	7,27	<0,01
Hidro cortisona base			
MIX 2			
Médias (1 a 2)=	0,35	6,87	<0,01
Médias (1 a 3)=	3,67	72,65	<0,01
Médias (1 a 4) =	2,47	48,87	<0,01

Legenda: GL = graus de liberdade; SQ = soma dos quadrados; QM = Quadrado médio; Q = quadrado; ns = não significativo.

Fonte: Da autora.

## 5.6 ENSAIOS ANALÍTICOS DAS FORMULAÇÕES DE CÁPSULAS DOS IFA'S

Validados os métodos analíticos, as cápsulas manipuladas foram submetidas aos testes de doseamento, perfil de dissolução, uniformidade de doses e análises estatísticas para determinação da formulação com melhor desempenho.

### 5.6.1 Doseamento e análise dos componentes das formulações

Foram submetidas, de maneira aleatória, ao doseamento pela metodologia de CLAE desenvolvida e validada, as formulações de cápsulas dos IFA's, com os respectivos resultados constantes da Tabela 42.

Tabela 42 - Parâmetros do doseamento das formulações de cápsulas dos IFA's (n=3).

Formulação	Ac. fludrocortisona		Ac. cortisona		Hidrocortisona base	
	DPR (%)	Teor (%)*	DPR (%)	Teor (%)*	DPR (%)	Teor (%)*
01	1,46	96,13	0,85	96,37	0,81	95,83
02	2,19	99,09	2,36	96,32	1,48	98,55
03	1,90	94,91	6,13	101,35	0,34	91,86
04	2,46	94,67	0,05	97,99	1,83	100,78
05	0,86	96,24	1,49	97,50	0,33	95,35
06	1,40	95,98	1,72	96,78	0,55	93,26
07	2,03	97,07	0,05	97,03	1,68	95,95
08	0,70	106,96	0,63	95,44	0,93	99,06
09	1,71	99,99	2,33	103,90	2,68	95,56
10	1,45	95,46	1,86	99,13	0,83	96,23
11	2,45	100,80	1,00	94,29	0,08	95,15
12	1,77	99,49	2,58	104,63	0,96	96,11
13	3,10	96,47	1,59	100,74	3,18	94,40
14	1,39	104,31	2,79	97,61	1,96	93,12
15	2,79	100,41	1,24	99,70	1,66	96,95
16	1,32	102,62	0,96	97,55	1,76	94,34

\*Média de três determinações

Fonte: da autora.

Os valores obtidos no doseamento foram dimensionados e utilizados para calcular o erro estimado, conforme Tabelas 43, 44 e 45.

Quando valores absolutos de estimativa de contraste maiores do que o erro estimado, são obtidos, significa que esses valores influenciam na resposta analítica. Além disso, estimativas de contraste positivas indicam que o aumento nos seus níveis produz o aumento na resposta analítica e estimativas de contraste negativas indicam que a resposta analítica tende a diminuir com o aumento nos seus níveis (TABELA 46).

Tabela 43 - Resultados do planejamento fatorial fracionário  $2^4$  para cápsulas de acetato de fludrocortisona.

Formulações	Resposta 1 (teor)	Resposta 2 (teor)	Dimens. da resposta 1	Dimens. da resposta 2	Média	Variância
1	96,83	96,58	0,37	0,32	0,34	0,0013
2	98,45	100,01	0,69	1,00	0,84	0,0474
3	95,14	93,42	0,03	0,00	0,01	0,0004
4	95,50	96,57	0,10	0,31	0,21	0,0229
5	95,71	95,72	0,14	0,14	0,14	0,0000
6	95,00	96,85	0,00	0,37	0,18	0,0685
7	96,10	98,81	0,22	0,76	0,49	0,1469
8	107,42	106,45	0,00	0,00	0,00	0,0000
9	100,46	100,97	0,91	0,81	0,86	0,0052
10	95,37	96,12	0,07	0,22	0,15	0,0113
11	99,29	100,84	0,86	0,83	0,85	0,0003
12	99,18	98,85	0,84	0,77	0,80	0,0022
13	95,95	95,05	0,19	0,01	0,10	0,0162
14	104,44	103,08	0,11	0,38	0,25	0,0370
15	103,56	93,67	0,29	0,00	0,14	0,0415
16	102,72	103,99	0,46	0,20	0,33	0,0323

$Sp^2 = 0,0271$

V estimativa de contrastes= 0,0034

S estimativa de contrastes = 0,0582

Erro = 0,12

Fonte: Da autora.

Tabela 44 - Resultados do planejamento fatorial fracionário  $2^{(5-1)}$  para cápsulas de acetato de cortisona.

Formulações	Resposta 1 (teor)	Resposta 2 (teor)	Dimens. da resposta 1	Dimens. da resposta 2	Média	Variância
1	97,10	96,67	0,42	0,33	0,38	0,0038
2	98,80	95,83	0,76	0,17	0,46	0,1762
3	97,98	97,55	0,60	0,51	0,55	0,0038
4	98,04	98,00	0,61	0,60	0,60	0,0000
5	98,84	97,71	0,77	0,54	0,66	0,0257
6	98,68	96,09	0,74	0,22	0,48	0,1348
7	97,03	97,00	0,41	0,40	0,40	0,0000
8	96,12	95,20	0,22	0,04	0,13	0,0173
9	103,13	101,96	0,37	0,61	0,49	0,0272
10	101,17	98,63	0,77	0,73	0,75	0,0008
11	95,15	94,44	0,03	0,00	0,02	0,0005
12	104,93	101,80	0,01	0,64	0,33	0,1958
13	101,96	101,32	0,61	0,74	0,67	0,0082
14	99,57	99,57	0,91	0,00	0,46	0,4184
15	100,46	100,37	0,91	0,93	0,92	0,0001
16	98,50	97,52	0,70	0,50	0,60	0,0190

---

$Sp^2 = 0,0645$

V estimativa de contrastes = 0,0081

S estimativa de contrastes = 0,0898

Erro = 0,19

---

Fonte: Da autora.

Tabela 45 - Resultados do planejamento fracionário 2<sup>4</sup> para cápsulas de hidrocortisona base.

Formulações	Resposta 1 (teor)	Resposta 2 (teor)	Dimens. da resposta 1	Dimens. da resposta 2	Média	Variância
1	96,49	96,01	0,30	0,20	0,25	0,005
2	100,21	97,90	0,96	0,58	0,77	0,071
3	92,20	91,77	0,00	0,00	0,00	0,004
4	102,90	99,82	0,42	0,96	0,69	0,148
5	95,55	95,50	0,11	0,10	0,11	0,000
6	93,83	93,09	0,00	0,00	0,00	0,011
7	97,60	95,85	0,52	0,17	0,34	0,061
8	99,78	99,39	0,96	0,88	0,92	0,003
9	98,49	94,44	0,70	0,11	0,41	0,172
10	96,96	96,36	0,39	0,27	0,33	0,007
11	95,22	95,15	0,04	0,03	0,04	0,000
12	97,17	95,19	0,43	0,04	0,24	0,078
13	97,86	92,73	0,57	0,00	0,29	0,007
14	95,16	92,58	0,03	0,00	0,02	0,102
15	97,92	97,85	0,58	0,57	0,58	0,000
16	96,23	93,66	0,25	0,00	0,12	0,000

---

$Sp^2 = 0,046$

V estimativa de contrastes= 0,006

S estimativa de contrastes = 0,076

Erro = 0,161

---

Fonte: Da autora

Tabela 46 - Estimativa de contrastes referente à análise dos resultados obtidos através do doseamento das 16 formulações de cápsulas de cada IFA, sugeridas pelo planejamento fatorial.

Estimativas de contraste			
Fator	Ac. fludrocortisona	Ac. cortisona	Hidro cortisona base
Dose	-0,02	2,77*	--
Dióx. Silício col.	0,00	-0,09	0,14
Lauril sulf, sódio	- 0,30*	-0,03	0,08
Diluyente	0,16*	0,07	-0,04
Tempo de mistura	- 0,11	0,03	-0,02

\*Estimativas de contrastes estatisticamente significativas.

Fonte: Da autora

As estimativas de contrastes assinaladas com asterisco na Tabela 46 são estatisticamente significativas, pois seus valores absolutos excedem o erro estimado. Além disso, estimativas de contraste com valores positivos indicam que o aumento nos seus níveis resulta no aumento significativo da resposta analítica e estimativas de contraste com valores negativos indicam que a resposta analítica aumenta com um decréscimo em seus níveis.

Para o acetato de fludrocortisona a observação da Tabela 46 leva à conclusão de que a dose da cápsula não influencia a metodologia de doseamento, ou seja, o método desenvolvido pode ser aplicado para o doseamento das cápsulas de acetato de fludrocortisona, independente da dose. O mesmo pode ser dito com relação à concentração de dióxido de silício coloidal presente no excipiente utilizado e com relação ao tempo de mistura para o preparo das cápsulas.

Quanto à concentração de lauril sulfato de sódio utilizada nos excipientes sugeridos e testados, observou-se que é o fator de maior impacto no doseamento, apresentando uma estimativa de contraste negativa, que quer dizer que quanto menor a concentração utilizada, maior é o sinal analítico.

O tipo de diluyente utilizado apresentou uma estimativa de contraste positiva, o que significa que o diluyente celulose microcristalina:talco (referido como +, no planejamento fatorial) melhora o sinal analítico, em relação ao uso do diluyente constituído de apenas celulose microcristalina.

Para o acetato de cortisona a observação da Tabela 46 leva à conclusão de que apenas a dose da cápsula influencia a metodologia de doseamento, ou seja, por apresentar uma estimativa de contraste positiva, o sinal analítico do método desenvolvido aumenta na presença de doses maiores, o que já era esperado. Com relação aos outros constituintes da fórmula, as variações aplicadas não interferem com o método.

Para a hidrocortisona base, podemos notar na mesma Tabela 46, que nenhum dos fatores analisados influencia a metodologia de doseamento, pois nenhuma estimativa de contraste foi superior ao erro estimado.

Dessa forma, um novo planejamento fatorial foi feito para cada IFA; para o acetato de fludrocortisona utilizou-se como variáveis otimizadas: porcentagem de dióxido de silício coloidal e tempo de mistura, fixou-se a dose em 100µg, concentração de lauril sulfato de sódio em 1% e o diluente celulose microcristalina: talco (TABELA 47).

Para o acetato de cortisona e para a hidrocortisona base optou-se por fazer um novo planejamento fatorial a fim de se otimizar a formulação, utilizando como variáveis o diluente e a porcentagem de lauril sulfato de sódio por serem os constituintes da formulação que podem influenciar na dissolução. Fixou-se a dose do acetato de cortisona em 12,50mg e da hidrocortisona base em 10,00mg, concentração de dióxido de silício coloidal em 0,10% e o tempo de mistura em 2 minutos (TABELA 48).

Tabela 47 - Planejamento fatorial 2<sup>2</sup>, para obtenção das formulações de cápsulas de acetato de fludrocortisona otimizadas.

Formulações	Dióxido de silício coloidal	Tempo de mistura
1	0,10	2
2	0,50	2
3	0,10	5
4	0,50	5

Fonte: Da autora.

Tabela 48 - Planejamento fatorial 2<sup>2</sup>, para obtenção das formulações de cápsulas de acetato de cortisona e de hidrocortisona base, otimizadas.

Formulações*	Acetato de cortisona		Hidrocortisona base	
	Lauril sulfato de sódio (%)	Diluente	Lauril sulfato de sódio (%)	Diluente
1	1,00	Lactose	1,00	Amido
2	2,00	Lactose	2,00	Amido
3	1,00	Celulose microc.	1,00	Celulose microc.
4	2,00	Celulose microc.	2,00	Celulose microc.

Fonte: da autora

Cada formulação foi manipulada em dois lotes e os parâmetros de aceitação estão descritos na Tabela 49.



Tabela 49 - Critérios de aprovação das cápsulas dos IFA's otimizadas para submissão ao teste de dissolução (n=20).

<b>Acetato de fludrocortisona</b>			
Formulação	Peso médio (mg)	DPR(%)*	Varição do conteúdo teórico (%)**
1 – lote 1	148,00	1,06	93,24 – 95,95
1 – lote 2	147,00	0,97	95,27 – 98,65
2 – lote 1	148,00	1,39	95,64 – 97,41
2 – lote 2	149,00	1,67	95,32 – 97,89
3 – lote 1	148,00	1,00	95,87 – 97,93
3 – lote 2	148,00	0,89	95,76 – 97,54
4 – lote 1	147,00	1,63	93,24 – 96,62
4 – lote 2	148,00	1,68	95,59 – 98,65
<b>Acetato de cortisona</b>			
Formulação	Peso médio (mg)	DPR(%)*	Varição do conteúdo teórico (%)**
1 – lote 1	147,00	1,88	95,33 – 100,67
1 – lote 2	145,00	1,92	94,41 – 99,58
2 – lote 1	147,00	2,23	93,87 – 101,80
2 – lote 2	143,00	2,05	94,67 – 99,33
3 – lote 1	145,00	1,72	93,67 – 100,40
3 – lote 2	144,00	1,46	94,67 – 98,67
4 – lote 1	144,00	1,69	92,93 – 100,09
4 – lote 2	146,00	1,77	95,33 – 100,67
<b>Hidrocortisona base</b>			
Formulação	Peso médio (mg)	DPR(%)*	Varição do conteúdo teórico (%)**
1 – lote 1	146,00	1,48	96,62 – 100,68
1 – lote 2	142,00	1,92	93,92 – 99,32
2 – lote 1	148,00	1,09	100,00 – 103,38
2 – lote 2	146,00	1,89	95,95 – 102,70
3 – lote 1	144,00	0,93	95,95 – 98,65
3 – lote 2	144,00	1,06	95,95 – 98,65
4 – lote 1	147,00	1,87	96,62 – 103,38
4 – lote 2	148,00	2,61	95,95 – 103,38

\*Limite = 4,0%; \*\*Limite = 90,0 – 110,0%.

Fonte: Da autora.

Todas as formulações manipuladas apresentaram valores de DPR e variação do conteúdo teórico dentro dos limites estabelecidos.

### 5.6.2 Perfis de dissolução das formulações otimizadas

De cada formulação produzida (cada lote) foi feito o perfil de dissolução nas condições otimizadas.

Foi possível utilizar as médias dos valores obtidos individualmente nos perfis dos dois lotes produzidos para cada formulação, a fim de se obter um único perfil de uma mesma formulação, já que os coeficientes de variação nos primeiros tempos de coleta (40% do total de pontos de coleta) não excederam 20% e o restante dos pontos (60%) não excederam 10% (BRASIL, 2010a).

Os valores de DPR (%) e os perfis de dissolução médios, das formulações de cada IFA, são mostrados nas Tabelas 50, 51 e 52 e Figura 32.

Tabela 50 - Valores de DPR (%) e de dissolução média (%) obtidos nos perfis individuais de cada um dos dois lotes de cápsulas de acetato de fludrocortisona (n=6).

Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)	Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)
<b>1</b>	5	8,30	82,95	<b>3</b>	5	1,82	85,48
	10	4,54	86,39		10	3,25	87,35
	15	6,48	85,93		15	2,29	87,96
	20	3,81	85,97		20	2,53	86,81
	30	3,40	83,40		30	1,20	82,61
	60	3,12	85,53		60	3,30	83,70
<b>2</b>	5	2,66	91,38	<b>4</b>	5	0,50	84,21
	10	1,98	93,32		10	2,15	86,95
	15	1,11	90,44		15	0,74	87,52
	20	1,12	90,80		20	1,20	85,80
	30	0,53	86,94		30	2,15	84,62
	60	4,01	87,73		60	0,20	85,14

Fonte: Da autora.

Tabela 51 - Valores de DPR (%) e de dissolução média (%) obtidos nos perfis individuais de cada um dos dois lotes de cápsulas de acetato de cortisona (n=6).

Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)	Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)
<b>1</b>	5	0,11	78,36	<b>3</b>	5	0,03	95,54
	10	0,06	90,98		10	0,06	100,44
	15	0,02	90,99		15	0,04	100,33
	20	0,08	95,20		20	0,03	103,54
	30	0,11	97,93		30	0,03	104,18
	60	0,08	97,18		60	0,03	102,73
<b>2</b>	5	0,05	77,34	<b>4</b>	5	0,02	88,94
	10	0,02	93,72		10	1,72	93,23
	15	0,06	98,96		15	1,47	94,32
	20	0,03	97,75		20	2,33	94,99
	30	0,03	98,83		30	0,01	94,79
	60	0,03	98,82		60	0,01	94,10

Fonte: Da autora.

Após análise da Tabela 50, para o acetato de fludrocortisona foi estabelecido Q em 15 minutos com 80% de dissolução mínima (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015).

Para o acetato de cortisona (TABELA 51), foi estabelecido Q em 20 minutos com 70% de dissolução mínima, com base nas especificações farmacopeicas para acetato de cortisona na forma farmacêutica comprimidos (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015).

A partir da análise da Tabela 52, estabeleceu-se Q em 15 minutos com 70% de dissolução mínima para as cápsulas de hidrocortisona base (UNITED STATES PHARMACOPEIA, 2015).

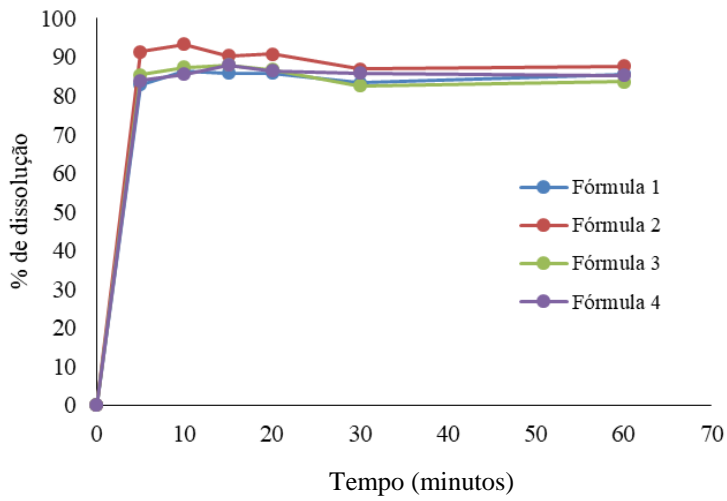
Tabela 52 - Valores de DPR (%) e de dissolução média (%) obtidos nos perfis individuais de cada um dos dois lotes de cápsulas de hidrocortisona base (n=6).

Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)	Formulação	Tempo de coleta (minutos)	DPR (%)	% dissolução (média)
<b>1</b>	5	5,24	46,44	<b>3</b>	5	1,38	93,73
	10	0,33	90,10		10	0,66	94,24
	15	7,47	103,86		15	0,82	94,34
	20	2,53	93,46		20	0,82	92,28
	30	2,22	93,00		30	1,13	90,47
	60	2,09	91,32		60	0,74	89,50
<b>2</b>	5	0,01	80,81	<b>4</b>	5	1,09	96,25
	10	2,28	96,60		10	1,00	98,05
	15	0,85	102,84		15	0,33	94,95
	20	1,27	101,79		20	1,31	94,91
	30	0,42	99,57		30	0,13	94,52
	60	0,99	96,84		60	1,18	91,64

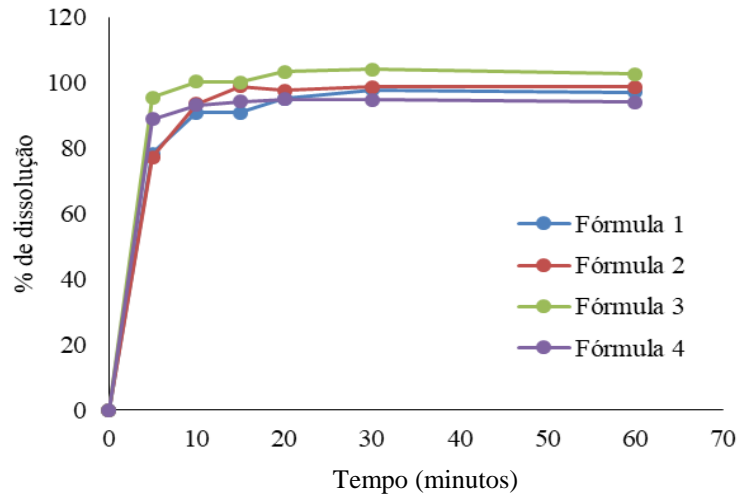
Fonte: Da autora.

Segundo a Resolução nº 31 de 2010/Anvisa, a comparação de perfis de dissolução é útil quando se deseja conhecer o comportamento de dois medicamentos ou de duas formulações. Para tal, avalia-se a curva como um todo, empregando-se o Método Modelo Independente Simples que utiliza o cálculo de F1 (fator de diferença) e F2 (fator de semelhança). F2 corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis. Porém, quando a formulação for comprovadamente de liberação imediata com dissolução muito rápida, o fator F2 perde seu poder discriminativo e o coeficiente de variação no ponto de 15 minutos não pode exceder 10% (BRASIL, 2010a).

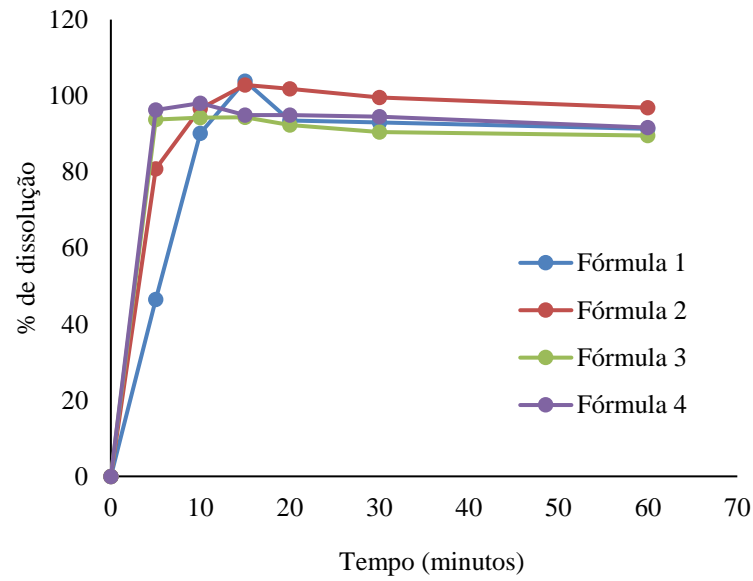
Conforme mostra a Figura 29, a maioria das cápsulas testadas mostraram mais de 85% de dissolução no tempo de 10 minutos, configurando assim, forma farmacêutica de liberação imediata. Dessa forma, a comparação dos perfis obtidos foi feita através do cálculo da eficiência da dissolução de cada formulação.



A



B



C

Figura 29 - Perfis médios de dissolução das cápsulas: A- acetato de fludrocortisona 100µg; B- acetato de cortisona; C- hidrocortisona base.

Fonte: Da autora.

De cada perfil médio foi calculada a eficiência da dissolução e observado o respectivo Q (TABELA 53). A eficiência da dissolução (ED) de uma forma farmacêutica é um parâmetro utilizado para caracterizar o perfil de liberação de um fármaco. É definida como a área sob a curva de dissolução em um determinado tempo, expressa como uma porcentagem da área do retângulo considerada como 100% de dissolução no mesmo tempo (COSTA; LOBO, 2001).

Tabela 53 - Valores de eficiência da dissolução e Q das formulações de cápsulas dos IFA's.

Formulação	ED	Q (%)
Acetato de fludrocortisona		
1	81,20	85,93
2	85,19	90,44
3	81,04	87,96
4	82,24	87,52
Acetato de cortisona		
1	90,53	95,20
2	92,37	97,75
3	98,04	103,54
4	90,04	94,99
Hidrocortisona base		
1	85,55	103,86
2	93,48	102,84
3	87,59	94,34
4	90,38	94,95

Legenda: ED = Eficiência da dissolução; Q = porcentagem de dissolução no tempo de coleta 15 minutos par ac. fludrocortisona e hidrocortisona base e 20 minutos para ac. cortisona.

Fonte: Da autora.

Foi aplicada uma análise de variância (ANOVA) nos dados de ED e Q obtidos com cada IFA para verificar se há diferenças estatisticamente significativas entre o desempenho das formulações nos parâmetros citados, para fins de padronização de formulação.

Os resultados das análises de variância constam da Tabela 54.

Tabela 54 - Valores obtidos na análise de variância Anova/Teste F (nível de significância = 0,05), aplicados aos dados de eficiência de dissolução e Q, calculados para as formulações dos IFA's submetidas ao teste de dissolução.

Fonte da variação	SQ	GL	QM	F calculado	valor-P	F crítico
Acetato de fludrocortisona						
Entre grupos	61,49	1	61,49	17,11	0,006	5,99
Dentro dos grupos	21,56	6	3,59			
Total	83,06	7				
Acetato de cortisona						
Entre grupos	52,53	1	52,53	3,58	0,11	5,99
Dentro dos grupos	87,99	6	14,66			
Total	140,52	7				
Hidrocortisona base						
Entre grupos	190,03	1	190,03	10,17	0,019	5,99
Dentro dos grupos	112,10	6	18,68			
Total	302,13	7				

Fonte: Da autora.

A análise de variância evidenciou que para as cápsulas de acetato de fludrocortisona, há diferenças significativas entre os dados analisados. Portanto podemos dizer que a formulação número 2 é a que apresentou melhor eficiência de dissolução e maior Q em 15 minutos ( $Q \geq 80\% +5$ ), sendo assim escolhida como o melhor formulação na forma farmacêutica cápsula para o acetato de fludrocortisona 100  $\mu\text{g}$  e, conseqüentemente para a dose de 50  $\mu\text{g}$ .

Para o acetato de cortisona a análise de variância concluiu que não há diferenças significativas entre os dados analisados, logo todas as formulações submetidas ao ensaio de dissolução apresentaram desempenho equivalentes. Para fins de padronização, foi escolhida a formulação 3 para dar prosseguimento às análises, pois foi a formulação que apresentou maiores valores de ED e de Q ( $Q > 70\% +5$ ).

Para a hidrocortisona base a análise de variância evidenciou também, que há diferenças significativas entre os dados obtidos. Dessa forma, foi escolhida a formulação 2 como aquela que apresentou melhor desempenho nos testes (melhor ED e  $Q > 70\% +5$ ).

### 5.6.3 Uniformidade de doses unitárias das formulações escolhidas

O teste de uniformidade de conteúdo é feito para verificar a quantidade de IFA em unidades individuais de um lote e, se essa quantidade existe de forma uniforme nas unidades

testadas. Segundo a Farmacopeia Brasileira, para cápsulas gelatinosas duras com dose menor que 25mg e proporção do fármaco menor que 25%, deve ser empregado o teste de uniformidade de conteúdo, a partir do qual calcula-se o valor de aceitação (VA).

As formulações escolhidas como aquelas que apresentaram o melhor desempenho no perfil de dissolução foram então submetidas ao teste de uniformidade de doses unitárias (uniformidade de conteúdo), cujos resultados estão demonstrados na Tabela 55.

Tabela 55. Valores obtidos no teste de uniformidade de conteúdo para as formulações escolhidas (n=10).

Uniformidade de conteúdo	
Acetato de fludrocortisona - Formulação 2	
Recuperação média (%)	91,56
Valor de aceitação	10,77
Acetato de cortisona – Formulação 3	
Recuperação média (%)	95,75
Valor de aceitação	10,02
Hidrocortisona base – Formulação 2	
Recuperação média (%)	95,69
Valor de aceitação	7,79

Fonte: Da autora.

O limite do VA é expresso como L1 (valor máximo permitido para o valor de aceitação) quando as primeiras 10 cápsulas testadas são aprovadas. O valor máximo de L1 é 15,0 logo as formulações testadas estão de acordo, apresentando VA dentro dos limites, sendo aprovadas no primeiro critério.

As formulações padronizadas na forma farmacêutica cápsula, e a otimização do tempo de mistura para os IFA's foram estabelecidas como constam na Tabela 56.



Tabela 56 - Formulações padronizadas para cápsulas dos IFA's.

	Acetato de fludrocortisona	Acetato de cortisona	Hidro cortisona base
Dose			
	50µg (5mg*)	6,25 mg	10mg
	100 µg (10mg*)	12,5mg	---
Excipientes			
Lauril sulfato de sódio	1,00 %	1,00 %	2,00 %
Dióxido de silício coloidal	0,50 %	0,10 %	0,10 %
Excipiente colorido	1,00 %	1,00 %	1,00 %
Talco farmacêutico	20,00 %	---	---
Celulose microc.	78,50 %	97,50 %	---
Amido de milho	---	---	96,90 %
Tempo de mistura			
	2 minutos	2 minutos	2 minutos

\*Acetato de fludrocortisona diluída a 1:100 em excipiente colorido.

Fonte: Da autora.

## 5.7 ESTABILIDADE PRELIMINAR DAS CÁPSULAS

Segundo a Organização Mundial de Saúde, estabilidade farmacêutica é a capacidade do produto farmacêutico manter as suas propriedades químicas, físicas, microbiológicas e biofarmacêuticas dentro de limites especificados durante todo o seu prazo de validade (WHO, 1996).

### 5.7.1 Estabilidade acelerada

O teste de estabilidade acelerada avaliou a influência de fatores extrínsecos como temperatura e umidade na degradação do medicamento.

O efeito do aumento da temperatura de exposição do medicamento é proporcional ao aumento das reações de degradação do mesmo. A influência da temperatura pode ser diminuída com o armazenamento em temperatura correta e controlada (LEITE, 2005).

A umidade é outro fator que influencia a estabilidade do medicamento, pois pode promover a aderência de moléculas de água na sua superfície, alterando seu estado físico e sua reatividade, provocando reações de degradação. Esse fato pode ser evitado ou diminuído pela adição de dessecantes no armazenamento ou uso de embalagens impermeáveis. (LEITE, 2005)

As cápsulas cujas formulações foram padronizadas, foram submetidas ao teste de estabilidade acelerada, onde foram executados os ensaios de teor, dissolução e alteração das propriedades físicas (aparência) nos períodos de 30, 60 e 90 dias de exposição, à temperatura de  $40^{\circ}\text{C} \pm 2$  e umidade de  $70\% \pm 5$  (BRASIL, 2016).

As cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2 tiveram suas propriedades físicas como cor e odor inalteradas em todo o período de exposição indicando estabilidade física das cápsulas, os demais resultados constam da Figura 30. O doseamento dessas cápsulas apresentou uma queda após 30 dias e se manteve estável em níveis menores até o final do período de exposição. No teste de dissolução houve diminuição drástica do Q15 já nos primeiros 30 dias e diminuiu ainda mais com 60 e 90 dias de exposição. A diminuição do Q15 pode ser atribuída à desintegração incompleta das cápsulas, que foi observada durante a execução do teste; desintegração essa, que foi influenciada e alterada pelas condições da exposição no teste de estabilidade acelerada, já que no tempo zero (0 dias de exposição) ocorreu desintegração total da cápsula que apresentou valor de Q15 aceitável.

Esses resultados mostram que cápsulas de acetato de fludrocortisona produzidas por um processo de manipulação magistral devem ser utilizadas em curto período de tempo. Para estimar o tempo exato que deve ser adotado como prazo de uso, deve ser executado o teste de estabilidade de longo prazo (BRASIL, 2007).

O acetato de fludrocortisona é considerado medicamento padrão para tratamento de Insuficiência Adrenal Primária (Doença de Addison) e outras insuficiências adrenais, cuja reposição de corticoide é contínua, sem prazo determinado para o tratamento, portanto recomendamos que a quantidade de cápsulas de acetato de fludrocortisona a ser manipulada seja para 30 dias de tratamento, a fim de garantir a sua segurança e eficácia, segundo os testes aqui executados (Brasil, 2007; Ministério da Saúde, 2015).

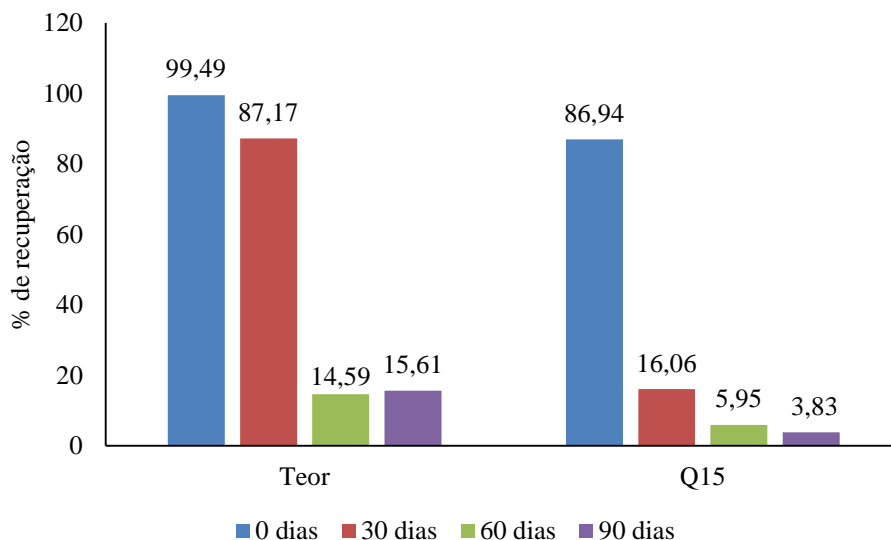


Figura 30 - Porcentagens de recuperação no teste de doseamento (teor, n= 10) e dissolução (Q15, n=6) das cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2 submetidas ao teste de estabilidade acelerada.

Fonte: Da autora.

Nesse teste também foi investigada a degradação do acetato de fludrocortisona, a qual foi evidenciada através da detecção de picos cromatográficos que indicam os possíveis produtos de degradação formados durante o período de exposição das cápsulas às condições alteradas de temperatura e umidade (FIGURA 31).

A diminuição evidente da área do pico cromatográfico referente ao acetato de fludrocortisona após 30, 60 e 90 dias de exposição e o surgimento de outros picos em tempos de retenção diferentes, estão refletidos no teste de doseamento. Esses resultados reforçam as recomendações acerca da quantidade de cápsulas a ser manipulada em um processo magistral.

O cromatograma apresentado com 30 dias de exposição foi diferente daqueles obtidos com 60 e 90 dias, que são equivalentes. Esse comportamento pode ser atribuído a alguma transição entre os primeiros produtos formados com 30 dias.

Cisternino, Schlatter e Saulnier (2003) estudaram a degradação de soluções hidroalcoólicas de acetato de fludrocortisona preparadas a partir do IFA (pó) e a partir de comprimidos triturados, encontrando recuperações, após 7 dias de exposição a 40°C, de 10,5% e 32,0% para soluções preparadas a partir do IFA (pó) e a partir dos comprimidos triturados, respectivamente. A partir de 14 dias de exposição não conseguiu recuperação, pois as concentrações estariam abaixo do limite de detecção do método empregado (18 ng/mL).

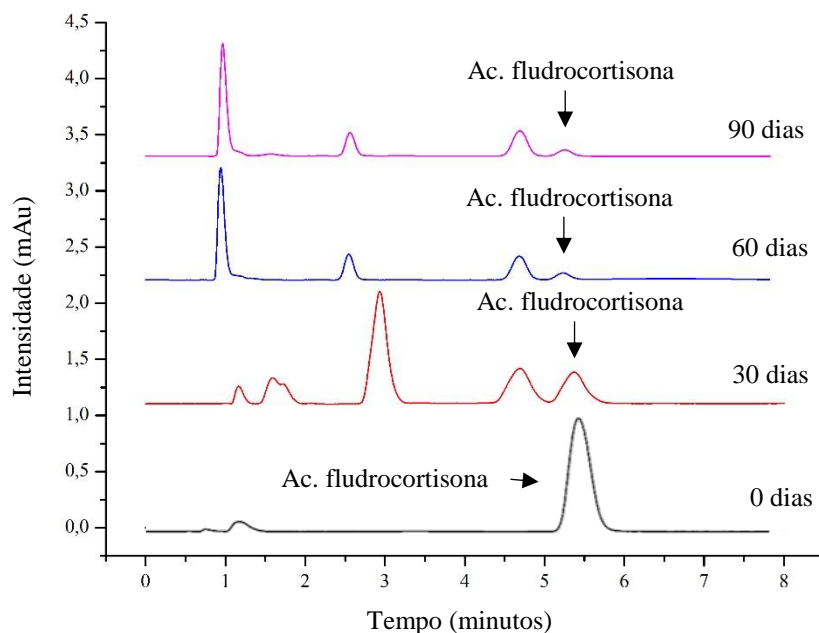


Figura 31 - Cromatogramas que expressam a formação de produtos de degradação durante o teste de estabilidade acelerada das cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2 (tempo de retenção do acetato de fludrocortisona entre 5,0 e 6,0 minutos).

Fonte: Da autora.

Segundo Ast (1979), que desenvolveram um método indicativo de estabilidade para comprimidos de acetato de fludrocortisona, podem estar presentes junto ao IFA, algumas impurezas ou produtos de degradação conhecidas como sistema  $\Delta^{1,4}$  dieno. Alguns análogos hidroxilados também são esperados como produtos hidrolíticos do éster da molécula, que podem surgir no período de armazenamento prolongado. Após submissão de comprimidos de acetato de fludrocortisona ao teste de stress, esses pesquisadores detectaram a formação de dois produtos de degradação que eluíam antes do pico relativo ao IFA e os identificaram como análogos hidroxilados, nenhum sistema  $\Delta^{1,4}$  dieno foi detectado. Foi possível recuperar apenas um dos picos identificados como produtos de degradação, e sua análise por espectroscopia por ressonância magnética nuclear e espectrometria de massas levou à conclusão de que se trata de um ácido graxo formado por hidrólise de um excipiente e não a partir do acetato de fludrocortisona.

O teste de CLAE aqui desenvolvido e validado, quando aplicado ao teste de estabilidade acelerada detectou a formação de três picos que eluíam antes do pico relativo ao IFA; dessa forma o método pode ser considerado indicativo de estabilidade para esta formulação de cápsulas padronizada, já que os dados de pureza do pico cromatográfico do acetato de fludrocortisona mostram que não há coeluição de substâncias no tempo de retenção do mesmo (FIGURA 32).

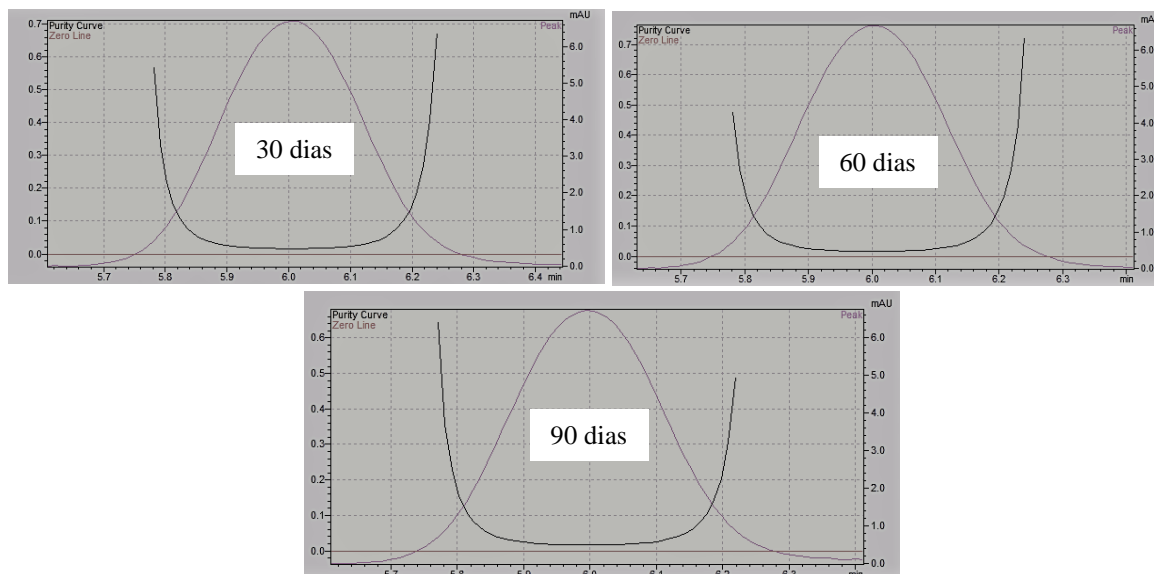


Figura 32 - Representação gráfica da pureza dos picos do acetato de fludrocortisona (tempo de retenção entre 5,0 e 6,0 minutos) nos cromatogramas que expressam a presença de produtos de degradação. **30 dias**: impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,983630; índice mínimo de pureza do pico = 16369. **60 dias**: impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,983626; índice mínimo de pureza do pico = 16373. **90 dias**: impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,983508; índice mínimo de pureza do pico = 16492.

Fonte: Da autora.

As cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3 mostraram estabilidade física até o final do período de exposição. Os demais parâmetros analisados constam das Figuras 33 e 34

Os dados relativos ao Q20 se mostraram compatíveis com os resultados de teor em 30 e 60 dias de exposição. Com 90 dias de exposição praticamente não houve recuperação do acetato de cortisona no teste de dissolução, o que pode ser devido à ausência de desintegração das mesmas nesse teste (FIGURA 33).

Os cromatogramas obtidos durante o tempo de exposição, mostraram pequenas alterações em relação ao tempo zero. Houve formação de pequenos picos no tempo de retenção entre 2,5 e 4,0 com 30 e 60 dias de exposição. Esses picos podem indicar a formação de produtos de degradação. Com 90 dias de exposição esse pico não se formou, mas sim um outro, em 2,0 minutos (FIGURAS 34 e 35).

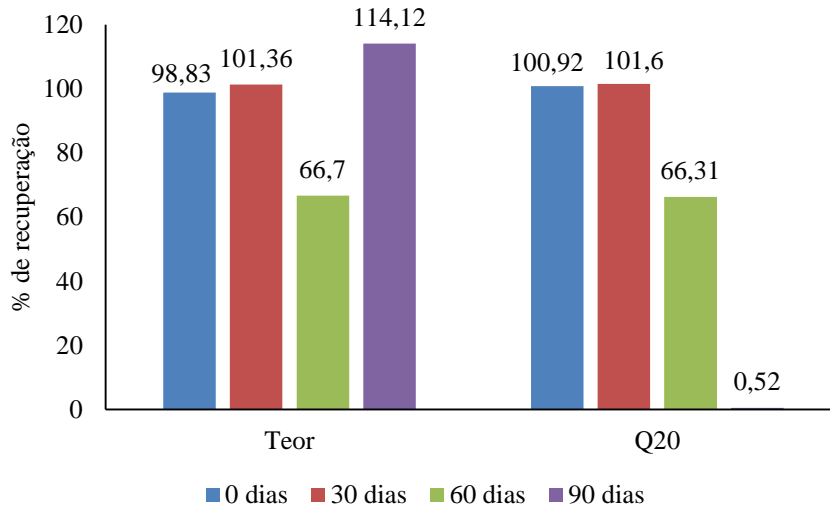


Figura 33 - Porcentagem de recuperação nos testes de doseamento (teor, n=10) e dissolução (n=6) das cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3, submetidas ao teste de estabilidade acelerada.

Fonte: Da autora.

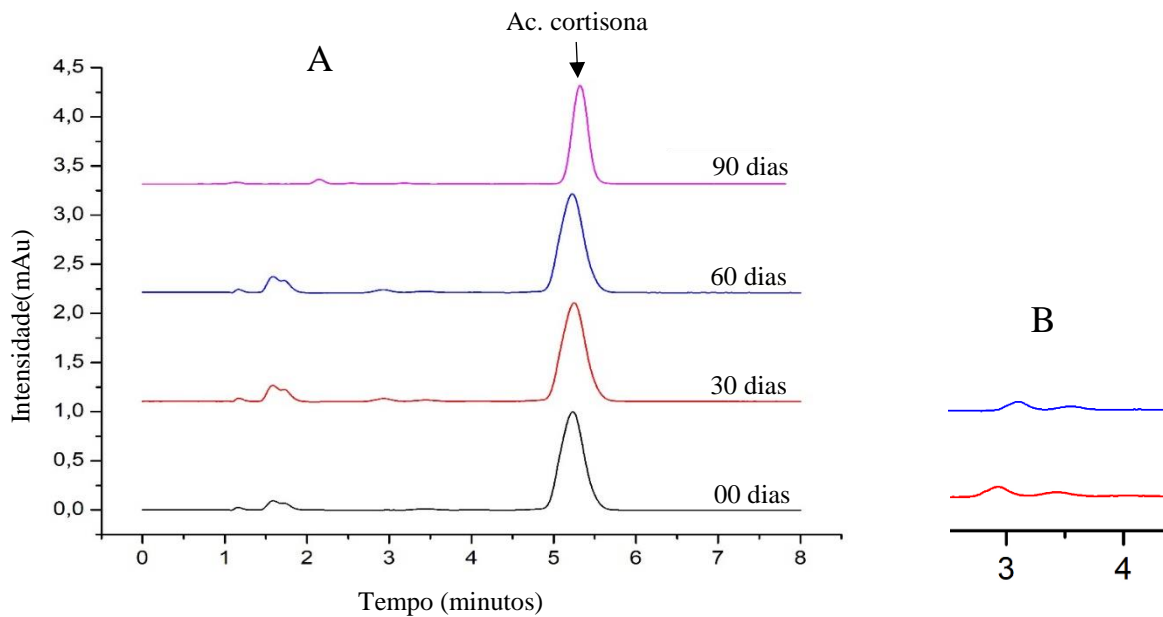


Figura 34 - A - Cromatogramas que expressam a formação de produtos de degradação durante o teste de estabilidade acelerada das cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3 (tempo de retenção do acetato de cortisona entre 5 e 6,0 minutos). B – Aumento da região de formação dos picos com 30 e 60 dias de exposição, nos tempos de retenção entre 2,5 e 4,0 minutos.

Fonte: Da autora.

Podemos inferir também que os picos formados com 30 e 60 dias entre 2,5 e 4,0 minutos podem ser análogos hidroxilados (formados por hidrólise do éster, já que no ambiente do teste existe  $\pm 70\%$  de umidade) ou formados por oxidação da cortisona que eluem antes do pico do IFA, conforme observado também por Zheng et al (2015) e Ast (1979). Na sequência (90 dias

de exposição) esses produtos não foram mais detectados e não eluíram junto ao acetato de cortisona, pois o pico apresenta pureza (FIGURA 38).

Zheng et al (2015) detectaram um produto de oxidação da cortisona chamado de 6 $\beta$ -hidroxicortisona formado *in vivo*, por CLAE, com tempo de retenção em torno de 5,0 minutos, quando esse tempo para a cortisona foi em torno de 18 minutos.

Geller e Silberman (1967) estudaram os efeitos de impurezas na estabilidade de corticoides e verificaram que quando a cortisona estava livre de impurezas, apresentava o mesmo padrão de decomposição. Verificaram também que as impurezas poderiam ser provenientes dos solventes utilizados nos processos cromatográficos empregados.

Acofarma (2018) relata na ficha de segurança do produto acetato de cortisona – IFA, no item estabilidade e reatividade, a formação de vapores de monóxido de carbono e dióxido de carbono a partir do mesmo.

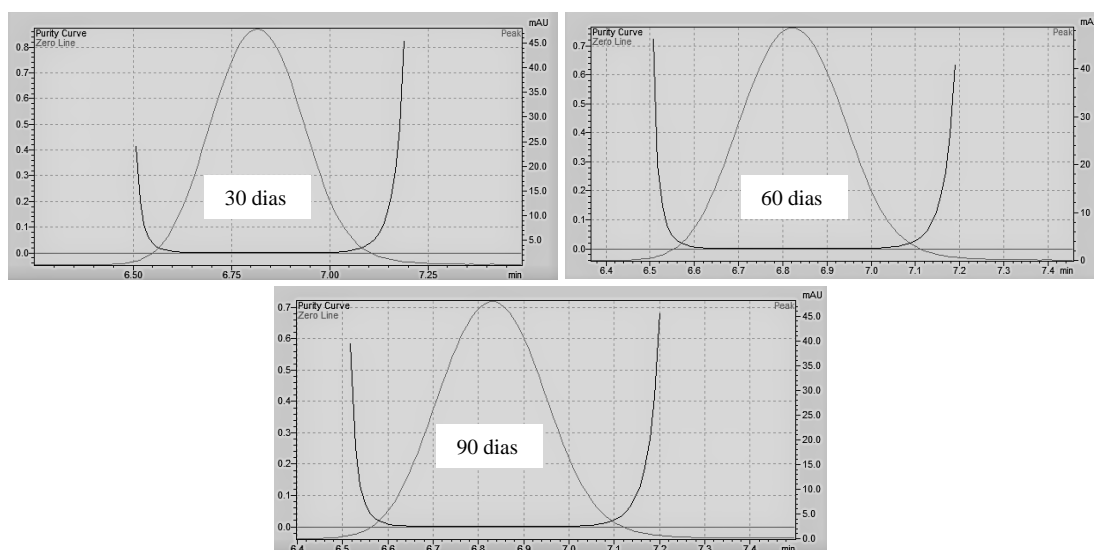


Figura 35 - Representação gráfica da pureza dos picos do acetato de cortisona (tempo de retenção entre 5,0 e 6,0 minutos) nos cromatogramas que expressam a presença de produtos de degradação. **30 dias:** impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,999663; índice de pureza mínimo do pico = 336. **60 dias:** impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,99672; índice de pureza mínimo do pico = 327. **90 dias:** impurezas não detectadas; índice de pureza do pico = 1,000000; limite de ponto único (single point threshold) = 0,999666; índice de pureza mínimo do pico = 334.

Fonte: Da autora.

Não foram encontrados estudos de identificação e quantificação de produtos de degradação de acetato de cortisona a partir de formas farmacêuticas.

As cápsulas de hidrocortisona 10,00 mg - formulação 2 tiveram suas propriedades físicas inalteradas durante o período de exposição. Os demais resultados obtidos constam das Figuras 36 e 37.

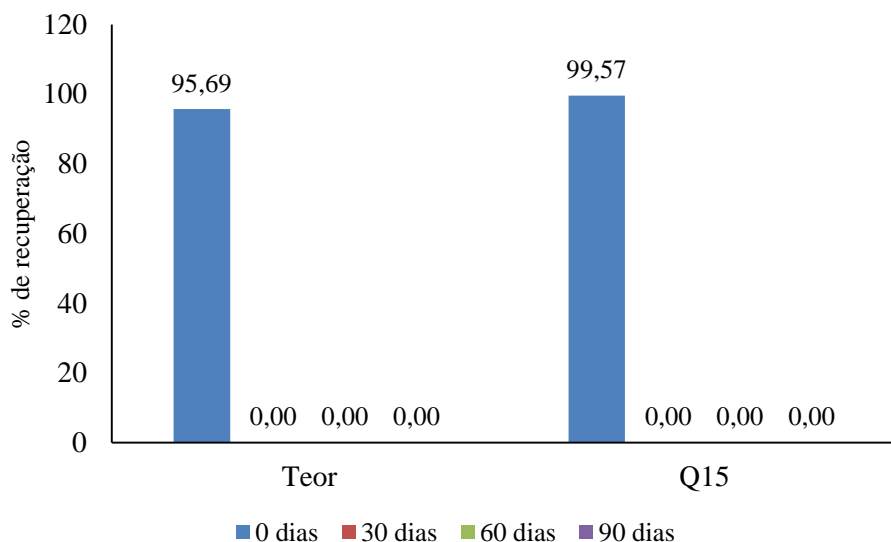


Figura 36 - Porcentagem de recuperação das cápsulas de hidrocortisona base – formulação 2, nos testes de doseamento (teor, n=10) e dissolução (n=6) submetidas ao teste de estabilidade acelerada. Fonte: Da autora.

Os valores obtidos no doseamento durante o período de exposição foram nulos, o mesmo aconteceu com os valores de Q15, além disso foi observado a ausência de dissolução das cápsulas no tempo 90 dias de exposição (FIGURA36).

O comportamento das cápsulas de hidrocortisona base na CLAE, evidencia já nos primeiros 30 dias de exposição, o desaparecimento do pico cromatográfico relativo ao IFA (tempo de retenção em 3,8 minutos) e o aparecimento de outros dois picos com tempos de retenção em 1,3 e 5,4 minutos, indicando a formação de produtos com maior e menor polaridade respectivamente. Com 60 dias de exposição, o comportamento foi o mesmo de 30 dias. Com 90 dias de exposição houve alteração nos tempos de retenção dos picos referentes a produtos de degradação, no entanto, todos esses eventos demonstram a intensa degradação da hidrocortisona base em cápsulas (formulação 2) nas condições do ensaio (FIGURA 37).



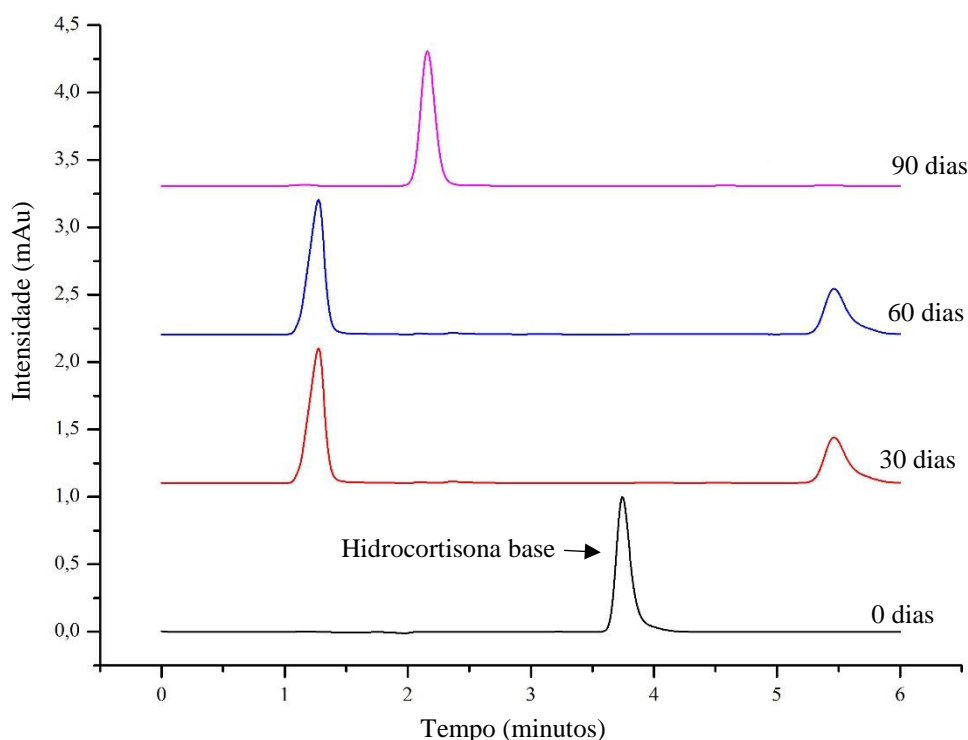


Figura 37 - Cromatogramas que expressam a formação de produtos de degradação durante o teste de estabilidade acelerada das cápsulas de hidrocortisona base – fórmula 2.

Fonte: Da autora.

Os resultados obtidos com as formulações de cápsulas dos três IFA's no teste de estabilidade acelerada pode ser reflexo da presença do LSS nas formulações, já que ficou constatado no estudo de compatibilidade fármaco-excipientes que existe uma interação com efeito negativo entre eles. Porém para se ter certeza disso seria necessário submeter cápsulas cujas formulações sejam isentas de LSS ao mesmo teste para fins de comparação.

Informações a respeito da cinética de degradação dos corticoesteroides e testes de estabilidade em diferentes temperaturas de armazenamento (temperatura ambiente e temperatura de geladeira) também seriam bastante úteis para o estabelecimento do prazo de uso de cápsulas de corticoesteroides manipulados em farmácias magistrais.

Visto que o LSS está presente na grande maioria das formulações pré-fabricadas de excipientes e também naquelas sugeridas na literatura para utilização específica com fármacos classe II (classificação biofarmacêutica) (AULTON, 2005; CELLULOMAX, 2016; FERREIRA, 2006; LAMOLHA, 2014), fica o alerta da possível interação negativa entre esse excipiente e fármacos, principalmente corticoesteroides, contraindicando o seu uso de maneira generalizada para fármacos de baixa solubilidade e alta permeabilidade, devendo dessa forma, serem utilizados mais criteriosamente.

Outra recomendação seria a substituição do LSS, na ausência de informações sobre sua compatibilidade ou suspeita de incompatibilidade, por outras substâncias molhantes como por exemplo o docussato sódico ou os polissorbatos 20, 60 ou 80 (tweens) (FERREIRA, 2008).

### 5.7.2. Fotoestabilidade

As cápsulas padronizadas dos IFA's foram submetidas ao teste de fotoestabilidade e analisadas quanto à alteração das propriedades físicas, teor, dissolução, desintegração e presença de produtos de degradação (BRASIL, 2005).

As propriedades físicas das cápsulas de acetato de fludrocortisona não apresentaram alteração de odor, mas sim de coloração, passando de rosa claro no tempo zero para alaranjado ao final de 23 horas na exposição direta à luz. A exposição na embalagem primária não sofreu alteração de nenhuma das propriedades físicas. Tanto a exposição direta à luz quanto a exposição na embalagem primária causaram diminuição significativa do teor e do Q15 das cápsulas (FIGURA 38). A diminuição dos valores de Q15 se devem à degradação pela luz e não pela ausência de desintegração, como mostram os dados da Tabela 57.

Os resultados obtidos no teste de fotoestabilidade confirmam os dados de fotossensibilidade do IFA constantes do laudo de análise técnica do fornecedor (MASE PRODUTOS FARMACÊUTICOS, 2016) utilizado para a manipulação das cápsulas, ou seja, a presença dos excipientes na formulação não protegeu o IFA dos efeitos degradativos da luz.

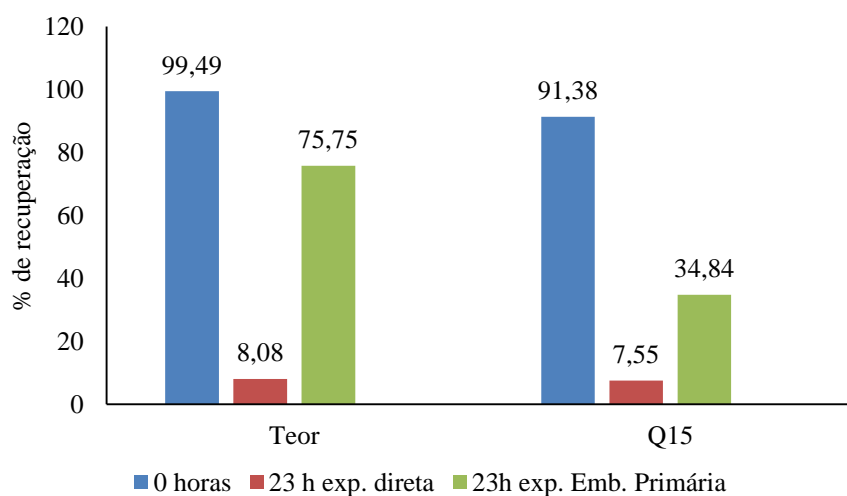


Figura 38 - Porcentagem de recuperação das cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2 submetidas ao teste de fotoestabilidade, nos testes de doseamento (teor, n=10) e dissolução (n=6).

Fonte: Da autora.

Tabela 57 - Tempo de desintegração das cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2 submetidas ao teste de fotoestabilidade (n=6).

Período de exposição	Desintegração
0 horas	4 min 00 seg
Exposição direta	
23 horas	4 min 30 seg
Exposição na embalagem primária	
23 horas	4 min 00 seg

Fonte: Da autora.

Na investigação da formação de produtos de degradação durante a exposição à luz notou-se a intensificação de um pico com fator de retenção entre 1 e 2 minutos e a diminuição significativa do pico correspondente ao acetato de fludrocortisona (fator de retenção entre 4 e 6 minutos) (FIGURA 39). Esse primeiro pico do cromatograma pode ser atribuído ao mesmo produto de degradação que apareceu no cromatograma do teste de estabilidade acelerada, no mesmo tempo de retenção, em 30 e 90 dias de exposição.

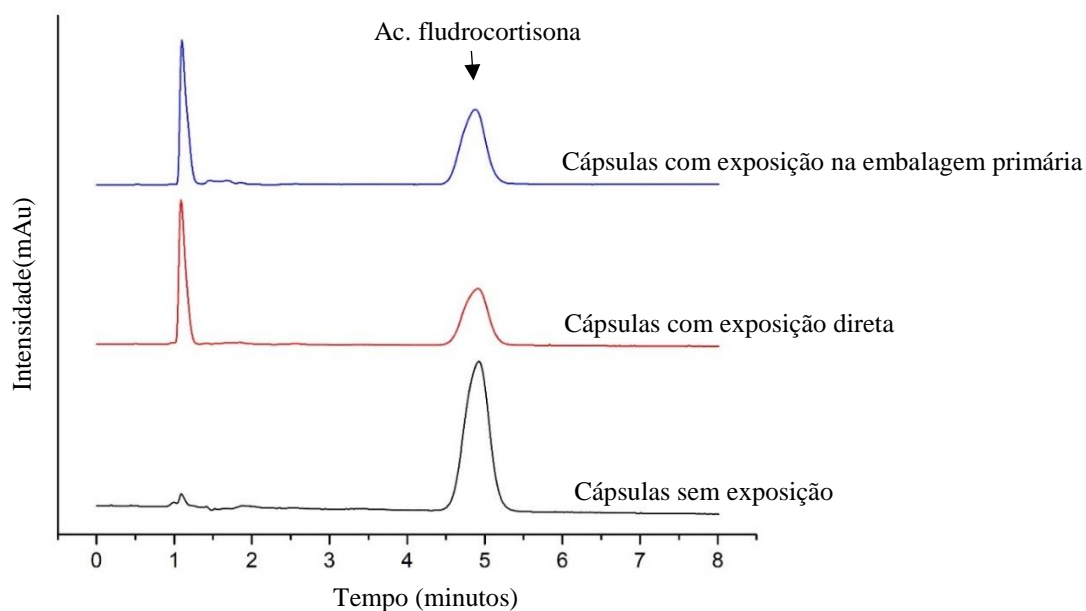


Figura 39 - Cromatogramas que expressam a presença de produtos de degradação nas cápsulas de acetato de fludrocortisona – formulação 2, submetidas ao teste de fotoestabilidade.

Fonte: Da autora.

Os padrões cromatográficos diferentes encontrados nos testes de estabilidade acelerada e fotoestabilidade, levam a crer que as rotas de degradação do acetato de fludrocortisona nas condições testadas são diferentes, com formação de produtos intermediários de degradação também diferentes, já que os produtos gerados no primeiro teste podem ser atribuídos à hidrólise, pois as condições de estresse incluem ambiente úmido (supersaturado) e, no segundo teste, há apenas a umidade do ambiente (AST; ABDU,1978).

Arsand, 2010 investigou a fotodegradação da dexametasona, corticoide com estrutura química bastante similar à fludrocortisona, e revelou que a fotodegradação da dexametasona origina produtos orgânicos intermediários que não absorvem na região do UV e do visível, logo não são detectados por CLAE com detector UV, utilizado aqui. Isso pode explicar a ausência de picos adicionais nos cromatogramas do teste de fotoestabilidade, reforçando a diferença dos produtos de degradação gerados no teste de estabilidade acelerada, detectáveis por UV.

As cápsulas de acetato de cortisona apresentaram estabilidade física tanto na exposição direta à luz, quanto na exposição na embalagem primária. Na exposição direta à luz, houve diminuição significativa do Q20 mas não do teor, o que pode ser atribuído à desintegração mais lenta das cápsulas, conforme pode ser observado na Tabela 58. Na exposição na embalagem primária, os valores de teor e Q20 foram considerados satisfatórios (FIGURA 40).

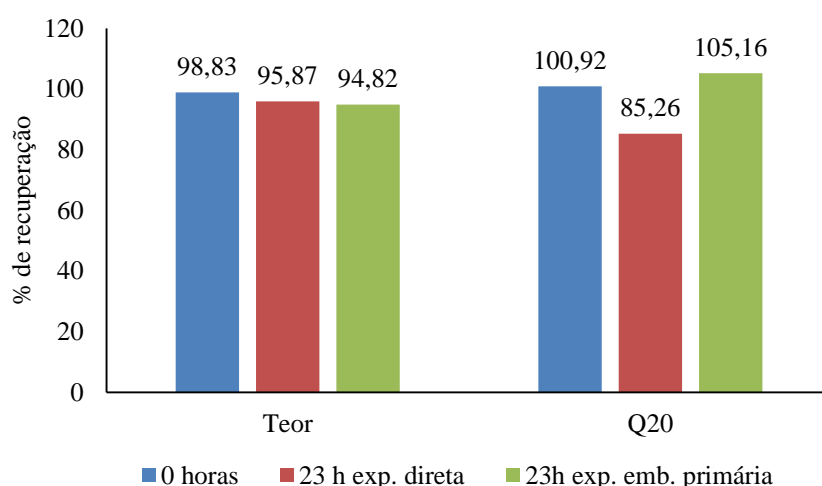


Figura 40 - Porcentagem de recuperação das cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3 obtidas nos testes de doseamento (teor, n=10) e dissolução, (n=6), submetidas ao teste de fotoestabilidade.

Fonte: Da autora.

Tabela 58 - Tempo de desintegração analisado no teste de fotoestabilidade para as cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3 (n=6).

Período de exposição	Desintegração
0 horas	5 min 00 seg
Exposição direta	
23 horas	7 min 58 seg
Exposição na embalagem primária	
23 horas	3 min 59 seg

Fonte: Da autora.

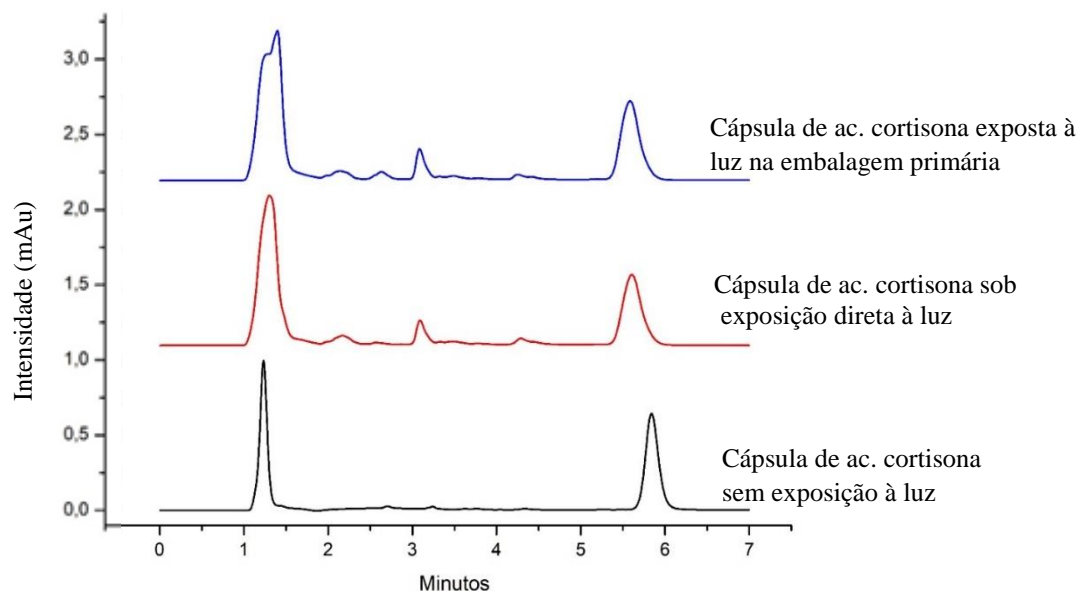


Figura 41 - Cromatogramas que expressam a presença de produtos de degradação nas cápsulas de acetato de cortisona – formulação 3, submetidas ao teste de fotoestabilidade.

Fonte: Da autora.

Os cromatogramas obtidos com as cápsulas de acetato de cortisona submetidas ao teste de fotoestabilidade mostraram a formação de picos cromatográficos em tempos de retenção em torno de 3 minutos e alterações no primeiro pico das corridas cromatográficas, com indícios de coeluição de substâncias (FIGURA41).

Romão et al (2015) estudaram a degradação fotocatalítica do acetato de cortisona e da hidrocortisona em solução aquosa na presença e ausência de catalisadores, constatando que não houve decomposição fotocatalítica em sistema fotocatalítico puro. Porém na presença de  $\text{TiO}_2$  como fotocatalisador ( $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ ) e luz, a decomposição foi intensa.

As cápsulas manipuladas nesse estudo, contém dióxido de silício, um composto inorgânico insolúvel assim como o dióxido de titânio na concentração de 0,10%, portanto a pequena degradação observada nas cápsulas pode ter sido influenciada pela presença desse composto. Como o dióxido de silício coloidal não deve ser excluído da formulação devido a sua ação dessecante e anti-aderente, recomenda-se proteger as cápsulas manipuladas da exposição direta da luz.

Não foi encontrado na literatura estudos de identificação e quantificação de produtos de degradação fotolítica do acetato de cortisona.

As cápsulas de hidrocortisona base – formulação 2 submetidas ao teste de fotoestabilidade mostraram alteração na coloração após a exposição direta e na embalagem primária, porém apenas as cápsulas expostas diretamente à luz tiveram o tempo de desintegração bastante aumentado (TABELA 59). Na determinação do teor das cápsulas, a mesma diminuição nos valores foi observada nos dois tipos de exposição. O Q15 diminuiu acentuadamente nas cápsulas expostas diretamente à luz, mas não na exposição dentro da embalagem primária (FIGURA 42).

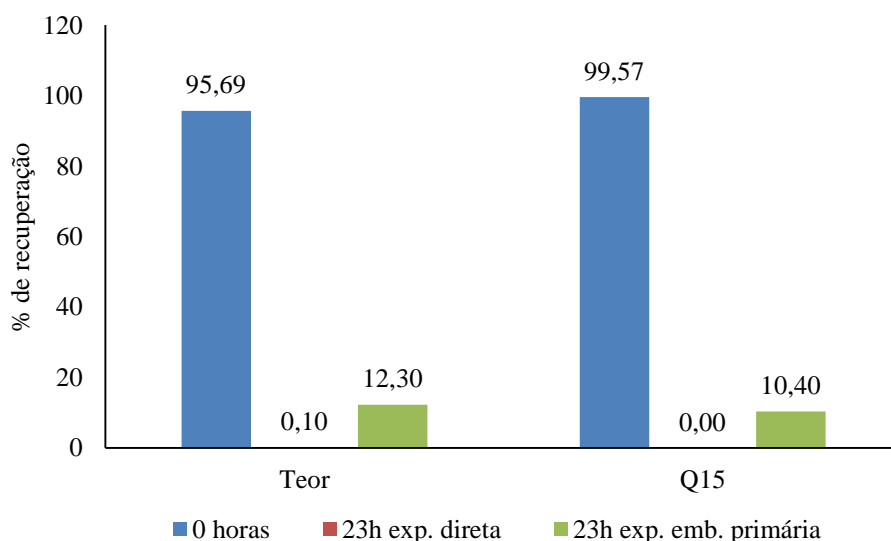


Figura 42 - Porcentagem de recuperação das cápsulas de hidrocortisona base nos testes de doseamento (teor, n=10) e dissolução (n=6), submetidas ao teste de fotoestabilidade.

Fonte: Da autora.

A Figura 43 mostra que houve diminuição acentuada do pico cromatográfico relativo à hidrocortisona base exposta à luz na embalagem primária e o desaparecimento do pico na exposição direta, assim como houve a formação de outros picos em tempos de retenção

anteriores e posterior ao do IFA, nas duas condições de exposição. Esses produtos podem ser considerados derivados da fotodegradação da hidrocortisona base, o que reflete a diminuição do teor e do Q15 encontrado nessas cápsulas.

Esse fato é reflete reações de fotodegradação que podem ser iniciadas ou aceleradas por energias radiantes de fontes luminosas naturais ou artificiais, contribuindo para a formação de produtos derivados de um princípio ativo ou mesmo de um excipiente presente no produto farmacêutico, comprometendo dessa forma, a sua eficácia e segurança (ALVES, 2008).

Tabela 59 - Tempo de desintegração e propriedades físicas (cor e odor) analisados no teste de fotoestabilidade para as cápsulas hidrocortisona base 10,0 mg (n=6).

Período de exposição	Propriedades físicas	Desintegração
0 horas	Cor branca, inodoro	5 min 17 seg
Exposição direta		
23 horas	Cor amarelada, inodoro	16 min 40 seg
Exposição na embalagem primária		
23 horas	Cor amarelada, inodoro	4 min 49 seg

Fonte: Da autora.

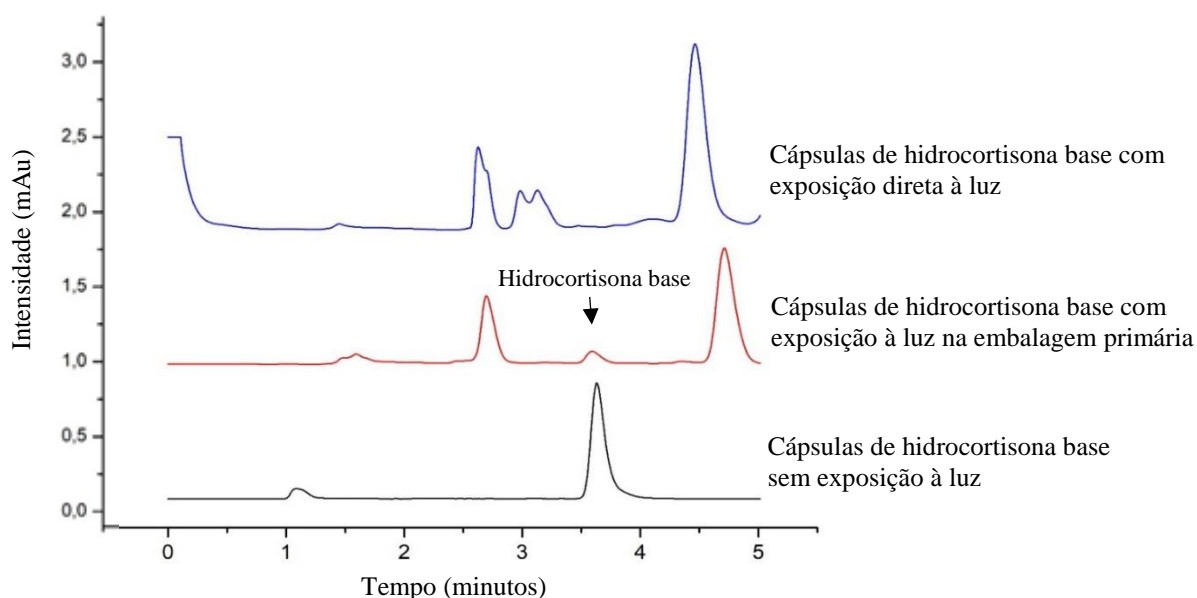


Figura 43 - Cromatogramas que expressam a presença de produtos de degradação nas cápsulas de hidrocortisona base – formulação 2 submetidas ao teste de fotoestabilidade.

Fonte: Da autora.

Os resultados obtidos nesse estudo indicam a recomendação do acondicionamento das cápsulas manipuladas, em frascos que permitam de 10 a 25% de transmissão de luz entre 290 e 450 nm, que são os frascos indicados para acondicionamento de medicamentos, segundo a Farmacopeia Americana (USP, 2015), pois ficou demonstrado o efeito negativo da luz direta e indireta sobre a hidrocortisona base.

Alves (2008a) efetuou a caracterização da transmissão de luz em embalagens plásticas e de vidros utilizadas no acondicionamento de produtos farmacêuticos e, segundo seus resultados, nenhum dos frascos testados sem coloração apresentaram a barreira necessária à proteção do medicamento fotossensível. O melhor desempenho para barreira da luz foram os frascos de vidro âmbar e os frascos de politereftalato de etileno (PET) até 350 nm e o de polietileno de baixa densidade (PEBD) no restante do espectro. Os frascos PET âmbar, verde e branco apresentaram a melhor barreira à luz dentre os frascos PET coloridos. Com relação à espessura dos materiais, essa não deve ser inferior a 0,6 mm.

Assim sendo, após a manipulação não somente da hidrocortisona base, mas dos três corticoesteroides aqui estudados, o acondicionamento das cápsulas deve obedecer criteriosamente, o recomendado pela USP, observando-se o desempenho dos frascos utilizados quanto à barreira de proteção à luz.

## 5.8 INVESTIGAÇÃO DE POLIMORFISMO

Foi investigada a presença de polimorfismo em acetato de fludrocortisona.

### 5.8.1 Recristalização dos IFA's

Foi dado prosseguimento aos estudos somente com o acetato de fludrocortisona por apresentar na literatura um número muito pequeno de polimorfos descritos e caracterizados e também por ser, entre os corticoides estudados, aquele utilizado em doses menores (microgramas), o que implica que pequenas alterações nas propriedades biofarmacêuticas de uma forma farmacêutica que o contenha, poder levar a ineficácia do tratamento. Além disso, o acetato de fludrocortisona apresentou sensibilidade à luz e instabilidade no ensaio de estabilidade acelerada. Assim sendo, a possível existência de polimorfos mais estáveis, pode ser muito útil para o desenvolvimento de novas formulações orais de acetato de fludrocortisona.

A recristalização do acetato de fludrocortisona foi feita pela técnica de cristalização por evaporação de solvente.



Foram obtidos cristais a partir das soluções listadas na Tabela 2. As soluções 9, 10 e 14 não originaram cristais.

## 5.8.2 Caracterização dos cristais de acetato de fludrocortisona candidatos a polimorfos

### 5.8.2.1. Análise por DRXP

A análise por difração de raios X por policristais (DRXP) é uma técnica na qual um feixe de raios X incide sobre uma amostra sólida, com variações no ângulo de incidência ( $\theta$ ). O equipamento detecta o espalhamento dos raios por ação dos elétrons da amostra (SALVI, 2015).

As Figuras 44, 45, 46 e 47 mostram os resultados obtidos na DRPX com o acetato de fludrocortisona e com os candidatos a polimorfos obtidos por recristalização.

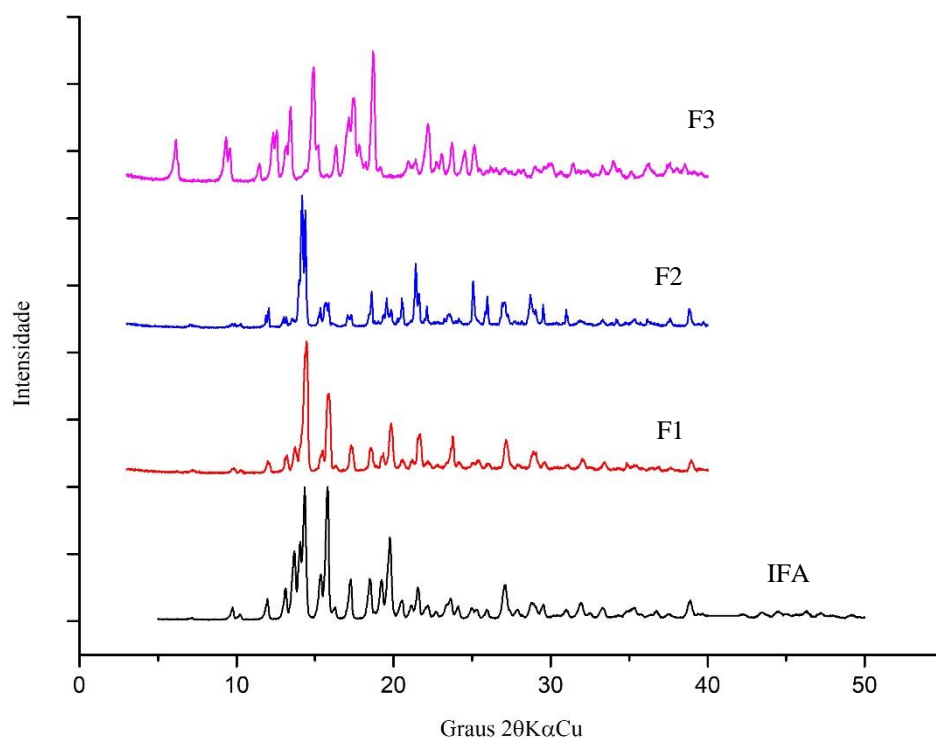


Figura 44 - Difratogramas do acetato de fludrocortisona – IFA e dos cristais candidatos a polimorfos F1, F2 e F3.

Fonte: Da autora.

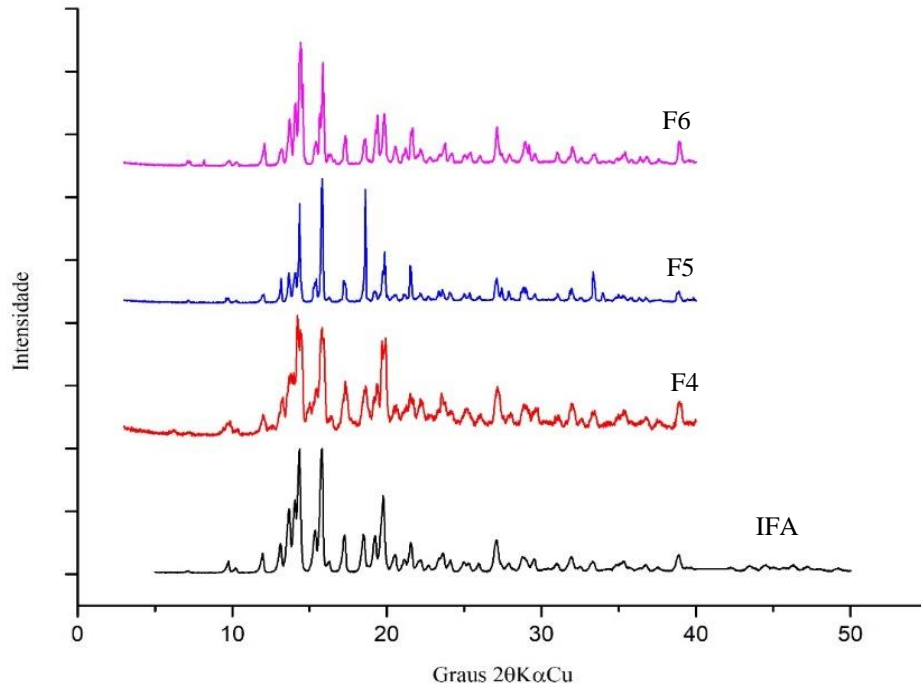


Figura 45 - Difratomogramas do acetato de fludrocortisona – IFA e dos cristais candidatos a polimorfos F4, F5 e F6.

Fonte: Da autora.

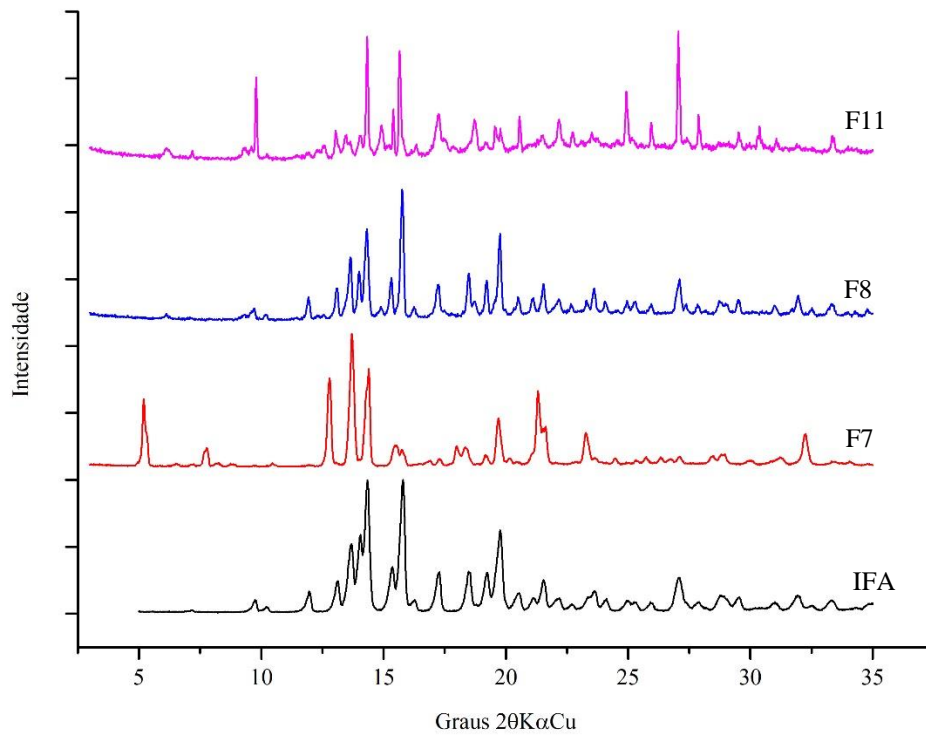


Figura 46 - Difratomogramas do acetato de fludrocortisona – IFA e dos cristais candidatos a polimorfos F7, F8 e F11.

Fonte: Da autora.

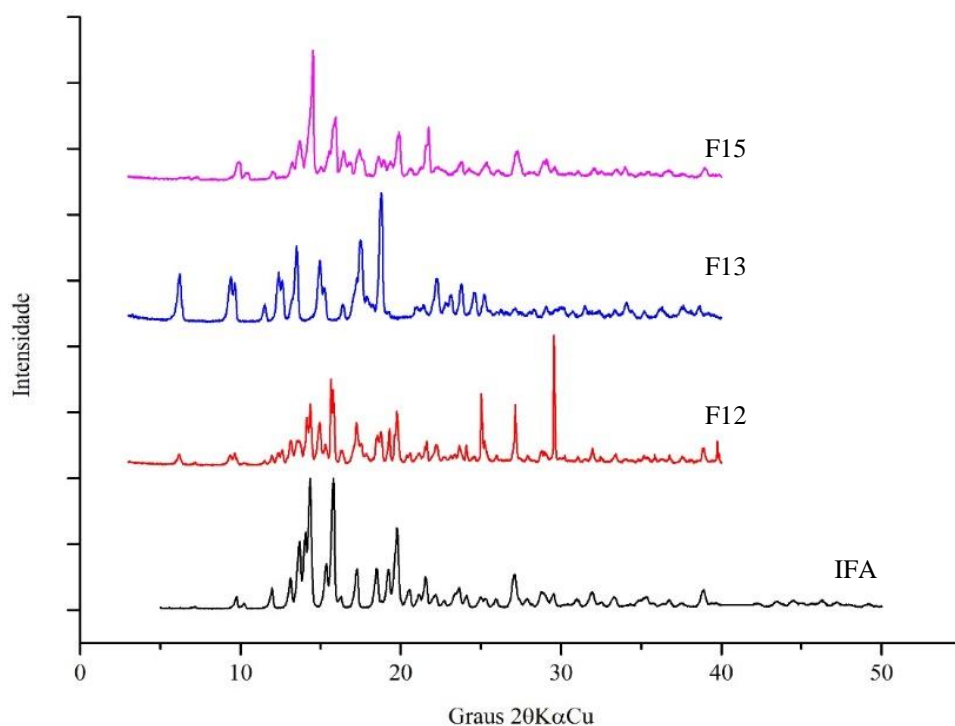


Figura 47 - Difratomogramas do acetato de fludrocortisona – IFA e dos cristais candidatos a polimorfos F12, F13 e F15.

Fonte: Da autora.

Considerando uma variância de  $\pm 0,2$  Graus  $2\theta$  para cada pico dos difratogramas obtidos dos candidatos a polimorfos, observou-se que F3, F7, F11, F12, F13 e F15 apresentam diferenças em relação ao acetato de fludrocortisona – IFA. Todos os demais cristais obtidos são iguais ao IFA.

Na análise dos difratogramas, F3 se mostrou idêntico a F13, apesar da diferença microscópica de seus cristais.

O padrão de picos de Bragg de F11, F12 e F15 mostra que se trata de uma mistura entre as formas cristalinas do IFA e de F3/F13.

Por esse motivo, foi dada sequência às análises apenas para três candidatos a polimorfos: F3, F7 e F13 (FIGURA 48)

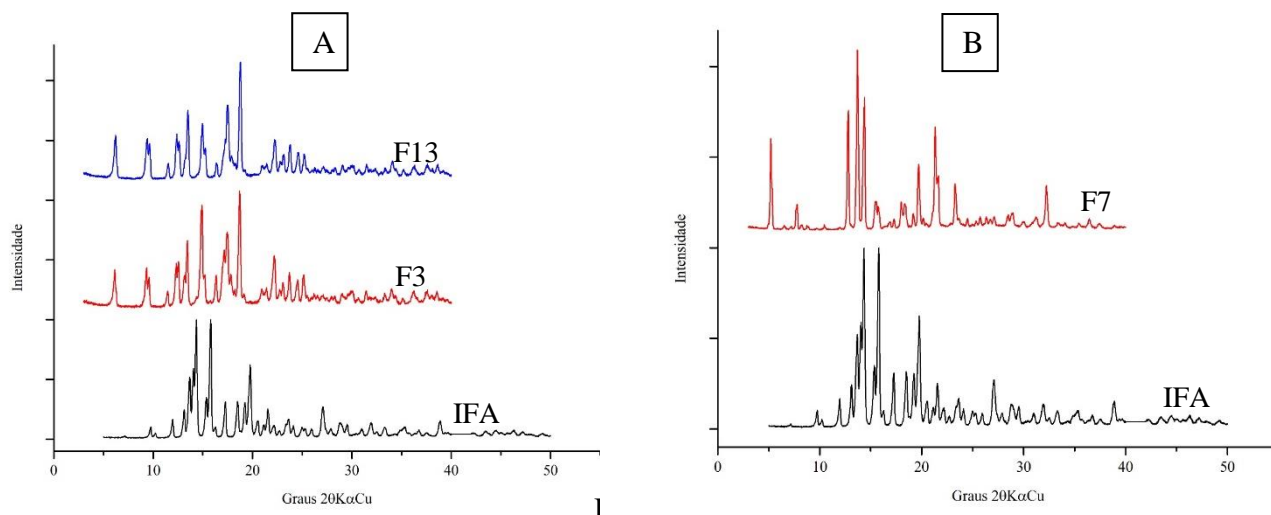


Figura 48 - Difratoformas de raios X por policristais: A- acetato de fludrocortisona – IFA e cristais candidatos a polimorfos F3 e F13. B- acetato de fludrocortisona – IFA e cristal candidato a polimorfo F7.

Fonte: Da autora.

Através de pesquisa realizada na base de dados CCDC – Conquest (Cambridge Crystallographic Data Centre) e na literatura, foram encontradas duas estruturas cristalinas de fludrocortisona já identificadas: acetato de fludrocortisona e acetato de fludrocortisona - solvato de propanol, descritas por Sutton e Byrn em 1987 (CCDC, 2018).

Foi encontrado também acetato de fludrocortisona – hidrato descrito por Sutton e Byrn em 1987 e outras duas bases livres de fludrocortisona com dados de parâmetros de cela diferentes, descritas por Weeks e Duax, 1971 e Bossche, 1971, todas sem identificação de estrutura (CCDC, 2018).

A Figura 49 mostra os padrões de difração de raios X das estruturas cristalinas de fludrocortisona já identificadas citadas acima e dos candidatos a polimorfos F3/F13 e F7, assim como do acetato de fludrocortisona – IFA.

Após comparação dos difratogramas apresentados por cada estrutura cristalina, concluiu-se que o padrão de difração apresentado pelo IFA é o mesmo do acetato de fludrocortisona obtido por Sutton e Byrn, 1987, apesar da intensidade dos picos serem diferentes. Essas diferenças de intensidade de difrações, segundo Carini (2009) são decorrentes de maior ou menor ordenamento ou espaçamento atômico na rede cristalina.

Os padrões de difração de F3/F13 e F7 não coincidem com nenhum dos padrões apresentados pelas estruturas cristalinas já identificadas até o momento, o que é forte evidência de que se tratam de duas novas formas cristalinas de acetato de fludrocortisona (polimorfos).

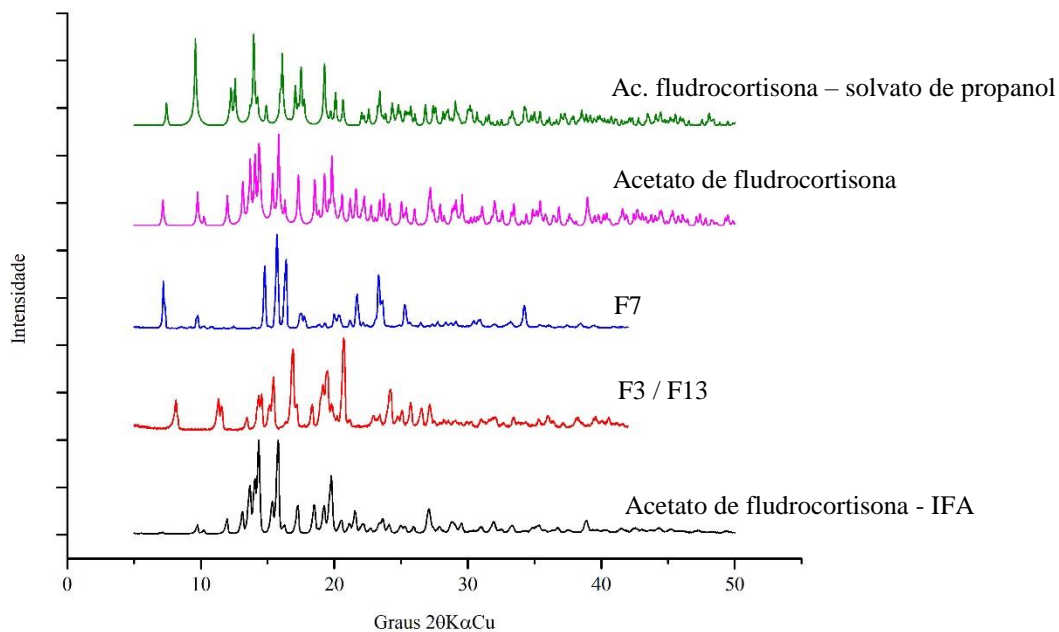


Figura 49 - Difratomogramas de raios X por policristais de acetato de fludrocortisona – IFA, cristais candidatos a polimorfos F3, F7 e F13 e formas cristalinas já identificadas.

Fonte: Da autora.

### 5.8.2.2 Microscopia

A microscopia foi utilizada para descrever o hábito cristalino do acetato de fludrocortisona – IFA e os candidatos a polimorfos.

O hábito de um cristal (estrutura morfológica externa) sofre influência da velocidade de precipitação (na sua obtenção), temperatura, presença de impurezas ou “venenos” na solução e da velocidade de crescimento das faces do cristal (ARAÚJO, 2012; CAPUCHO, 2008; FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Segundo Maghsoodi (2015) o solvente de cristalização exerce grande influência no hábito cristalino, que pode ser devido a interação soluto-solvente nas interfaces do cristal, alterando-as, provocando mudanças na cinética de crescimento e aumentando ou inibindo o crescimento de certas faces. Propriedades dos solventes como polaridade, peso molecular e interação com o fármaco dissolvido são fatores que influenciam a direção na qual o cristal cresce.

Uma mesma substância pode apresentar diferentes hábitos cristalinos, o que não necessariamente se refere a polimorfos diferentes, pois o polimorfismo é relativo a diferenças na estrutura interna do cristal (ARAÚJO, 2012; FLORENCE; ATTWOOD, 2003). Por outro lado, Carini (2009) relata a influência do hábito cristalino de talidomida nos eventos térmicos apresentados por esse IFA nas curvas de DSC.

Na área farmacêutica o hábito cristalino de uma substância química é importante por influenciar e modificar características de um pó como fluidez, compressibilidade, seringabilidade, estabilidade em suspensão e dissolução. Esses fenômenos foram descritos em 1963 por Shell e foram documentadas as ocorrências com a tolbutamida e ibuprofeno nas décadas de 60 e 70 (ARAÚJO, 2012; CAPUCHO, 2008).

A Figura 50 mostra a o hábito cristalino dos candidatos a polimorfos F3, F7 e F13 e acetato de fludrocortisona - IFA, obtidos por recristalização.

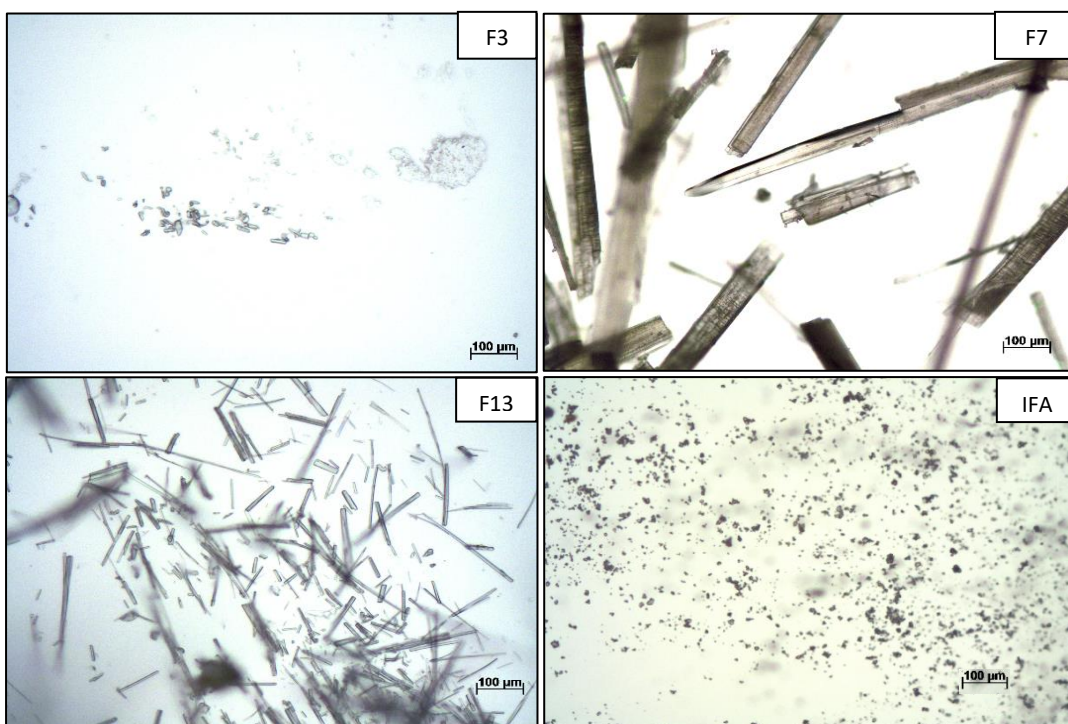


Figura 50 - Fotomicrografia ótica, aumento de 20X dos cristais candidatos a polimorfos e do IFA acetato de fludrocortisona.

Fonte: Da autora.

O candidato a polimorfo F3 apresenta-se, na sua maioria, em forma de pequenos cristais aciculares, F7 apresenta forma colunar, F13 apresenta forma acicular e o IFA apresenta-se na forma granular.

Segundo Araújo (2012), cristais em forma de agulhas alongadas não apresentam boa compressibilidade em função da baixa fluidez. Cristais equidimensionais apresentam melhores propriedades de fluidez e compressibilidade. Assim sendo, podemos dizer que os cristais apresentados pelo IFA e F3 são aqueles que apresentam características favoráveis à produção de cápsulas, pelo ponto de vista farmacotécnico.

A forma cristalina de F7 e F13, teriam necessidade de trituração antes da encapsulação, o que contribui para a perda de material durante o procedimento farmacotécnico, constituindo, assim, uma desvantagem desse tipo de cristal considerando que gral de porcelana é o equipamento mais utilizado para trituração e homogeneização de pós para preparação de cápsulas em farmácias de manipulação. D'Hondt (2014) avaliou o uso de gral de diferentes materiais na preparação de cápsulas gelatinosas duras com relação à perda de pó e, constatou que o gral de porcelana foi aquele que originou maior perda. Esse fato pode ser devido ao desgaste da superfície do referido gral.

Conforme foi comentado acima, F3 e F13 apesar de apresentarem mesmo perfil de difração de raios X confirmando a identidade de empacotamento (estrutura interna) dos cristais, apresentam-se com hábitos cristalinos diferentes.

### 5.8.2.3 Análises térmicas

Segundo a Confederação Internacional de Análise Térmica e Calorimetria (ICTAC), análise térmica é o estudo das relações entre as propriedades de uma amostra e sua temperatura, quando essa amostra é aquecida ou resfriada em um programa controlado de temperatura (PANI, 2011).

O acetato de fludrocortisona e as formas cristalinas F3, F7 e F13 foram submetidas às técnicas térmicas Termogravimetria (TG/DTG) e Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).

#### 5.8.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise por Calorimetria Exploratória Diferencial visa confirmar a estrutura cristalina predominante por meio da estabilidade térmica do composto. A diferença de energia da substância testada e um material de referência, é medida em função da temperatura, sob programação rigorosamente controlada de temperatura e atmosfera (PANI, 2011).

A Figura 51 mostra as curvas de DSC que foram obtidas utilizando como amostra o acetato de fludrocortisona – IFA e as formas cristalinas F3, F7 e F13.

As curvas apresentadas por F3 e F13 são idênticas, apresentando um evento exotérmico anterior ao evento endotérmico relativo às suas fusões. As temperaturas do evento exotérmico correspondem a  $T_{on\ set} = 185,18\ ^\circ C$  e  $T_{peak} = 195,00\ ^\circ C$ .

Os eventos exotérmicos em curvas de DSC, em atmosfera de nitrogênio, podem ser relativos a processos de cristalização, cura, polimerização, adsorção, entre outros (PANI,2011).

No caso em questão, associado aos resultados de termogravimetria de F3/F13, onde não há evidências de perda de massa nessa temperatura, excluindo-se a possibilidade de um solvato, sugere-se que esse evento indica transição sólido-sólido, ou seja, transição de uma forma cristalina metaestável para a fase estável do acetato de fludrocortisona (mesma em que se encontra o IFA), e que se funde em seguida.

Para F3, F13 e IFA, o  $T_{\text{onset}}$  para os eventos endotérmicos ocorreram em 232,4 °C, 232,6 °C e 232,60 °C, enquanto a temperaturas de fusão foram 235,30 °C, 234,60 °C e 235,30 °C, respectivamente.

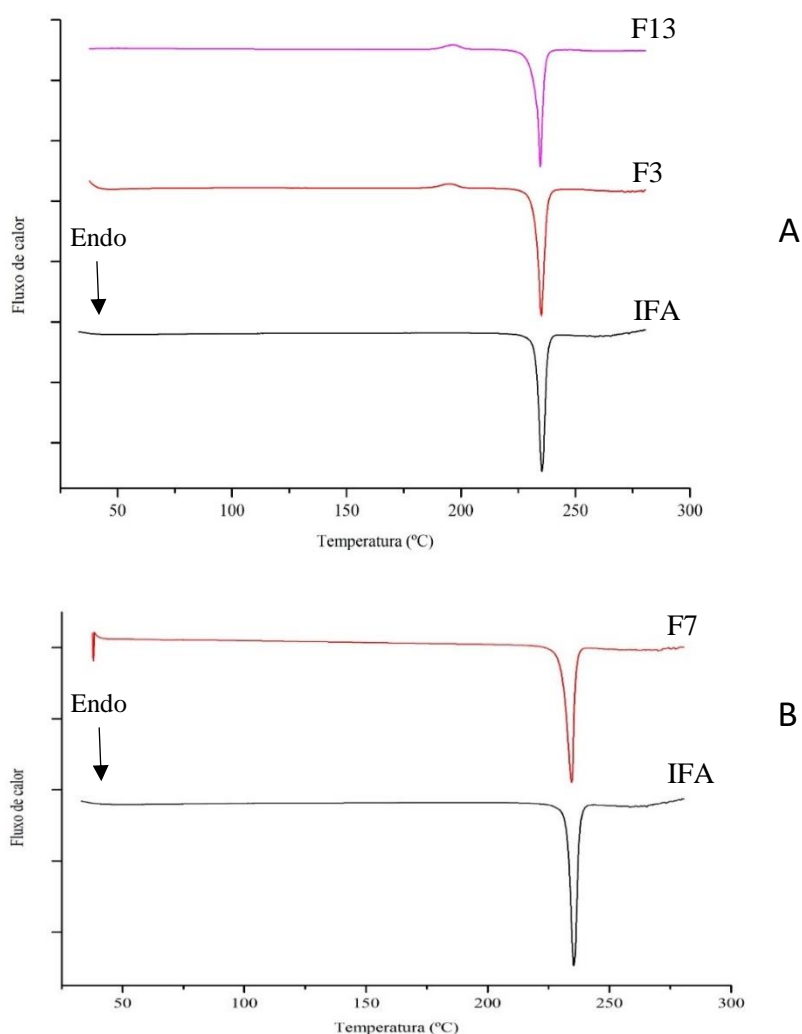


Figura 51 - Curvas de DSC: A- acetato de fludrocortisona - IFA e candidatos a polimorfos F3 e F13. B- acetato de fludrocortisona – IFA e F7.

Fonte: Da autora.



Todas essas informações reforçam a suspeita de que F3/F13 se trata de uma nova forma cristalina, ou seja, um polimorfo de acetato de fludrocortisona.

A curva apresentada pelo candidato a polimorfo F7 mostrou apenas o evento endotérmico referente ao seu pico de fusão, em 234,70 °C e  $T_{on\ set}$  em 230,60 °C, assim como na curva do IFA.

#### 5.8.2.3.2 Termogravimetria

Na termogravimetria (TG) a variação de massa da substância testada é determinada em função da temperatura ou do tempo, enquanto ela é submetida a um programa controlado de temperatura (PANI, 2011).

Foram obtidas curvas por TG dinâmica, do acetato de fludrocortisona e as formas cristalinas F3, F7 e F13 (FIGURA 52).

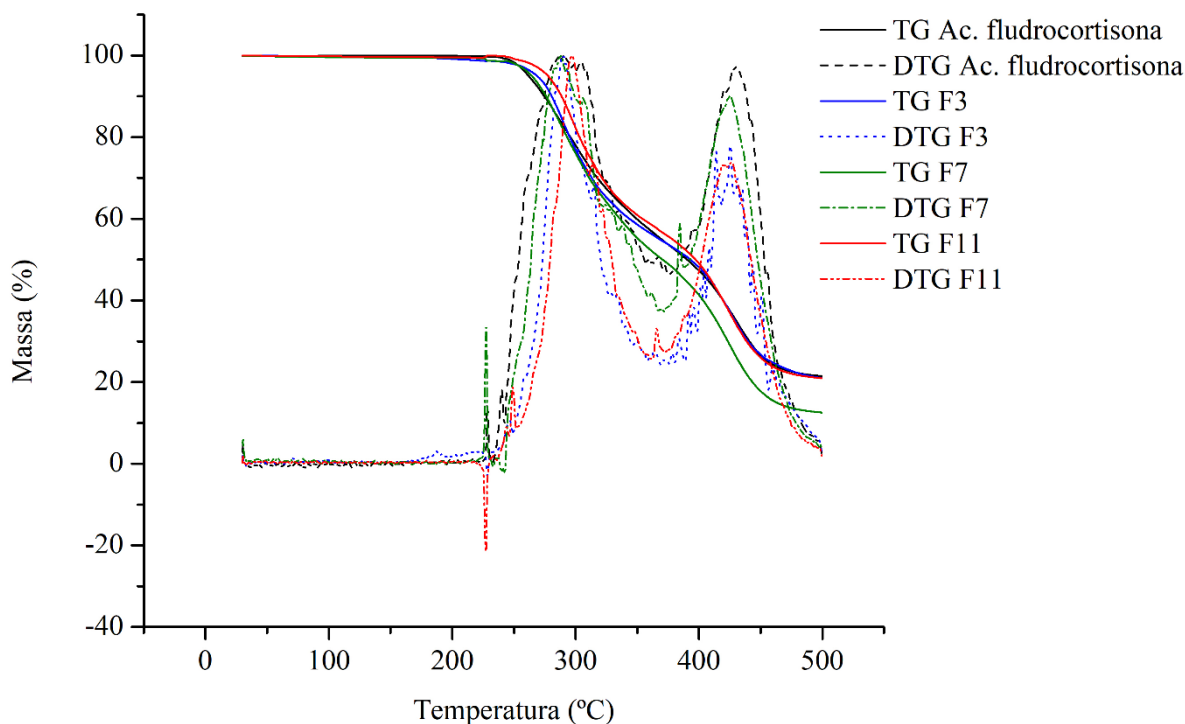


Figura 52 - Curvas de TG e DTG obtidas na faixa de 40 a 500°C, obtidas com o acetato de fludrocortisona – IFA e candidatos a polimorfos F3, F7 e F13.

Fonte: Da autora.

As quatro formas cristalinas de acetato de fludrocortisona submetidas a TG/DTG apresentaram comportamento semelhante entre si, com perda de massa em duas etapas.

A primeira etapa de perda de massa das formas cristalinas acetato de fludrocortisona - IFA, F3, F7 e F13 apresentou valores de  $240,00 \pm 10$  °C,  $290,00 \pm 10$  °C e de  $45,00 \pm 6,00$  % para  $T_{\text{onset}}$ ,  $T_{\text{peak}}$  e  $\Delta_m$ , respectivamente. A segunda etapa, em torno de  $345,00 \pm 4$ °C,  $480,00 \pm 0,5$ °C e  $31,00 \pm 0,4$ % para  $T_{\text{onset}}$ ,  $T_{\text{peak}}$  e  $\Delta_m$ , apenas para acetato de fludrocortisona – IFA, F3 e F13 respectivamente.

A forma cristalina F7 mostrou valores diferentes das outras três formas na segunda etapa de perda de massa, nas curvas de TG/DTG. Os valores foram:  $T_{\text{onset}} = 371,86$ °C,  $T_{\text{peak}} = 424,10$ °C e  $\Delta_m = 37,30$ %. Esses dados reforçam a suspeita de que F7 se trata de uma forma cristalina diferente do IFA e de F3/13, ou seja, um segundo polimorfo de acetato de fludrocortisona.

#### 5.8.2.3.3 *Análise por IV-ATR*

A absorção de frequências de radiação eletromagnética ocorre pela grande maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos. A absorção dessas frequências na região do infravermelho, por determinada molécula são selecionadas e, correspondem a frequências vibracionais naturais dessa molécula, desse modo, o espectro de infravermelho de duas moléculas nunca serão idênticos. Assim, os espectros de infravermelho possuem duas aplicações principais, identificação de compostos e fornecimento de informações estruturais do mesmo (PAIVA, 2011).

Os espectros obtidos com o acetato de fludrocortisona - IFA e os possíveis polimorfos F3, F7 e F13 apresentaram bandas características das ligações químicas presentes na estrutura do acetato de fludrocortisona, mostrando que todos os cristais analisados se tratam da mesma substância (FIGURA 53).

Ao analisar o espectro do IFA encontramos bandas intensas na região  $1000\text{--}1300$   $\text{cm}^{-1}$ , especificamente em  $1271$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondente à ligação C–F. São evidentes bandas na região entre  $1375$  e  $1465$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondentes a dobramentos  $\text{CH}_3$  e  $\text{CH}_2$ , respectivamente. As ligações C=O são evidenciadas nas bandas em  $1715$  e  $1734$   $\text{cm}^{-1}$ . É possível observar uma banda no número de onda de  $1650$   $\text{cm}^{-1}$ , correspondente à ligação C=C. As bandas em  $2360$  e  $2341$   $\text{cm}^{-1}$  são correspondentes ao  $\text{CO}_2$  do ambiente e devem ser desconsideradas na avaliação dos espectros. Nota-se, também na região entre  $2870$  e  $3015$  algumas bandas equivalentes a

estiramentos C-H. As duas bandas encontradas em 3346 e 3435  $\text{cm}^{-1}$  são correspondentes às hidroxilas (-OH) presentes na estrutura.

Os candidatos a polimorfos F3 e 13 possuem um deslocamento de banda que ocorre especificamente em 1759  $\text{cm}^{-1}$ , que os diferencia de F7 e do IFA. Essa banda pode equivaler a diferenças de interações intermoleculares existentes nos cristais.

Em F7, um segundo candidato a polimorfo, existem duas bandas: em 1647 e 1635  $\text{cm}^{-1}$ , ao invés de uma única banda observada no espectro de IV do IFA. Estas duas bandas podem ser úteis no reconhecimento dessa forma cristalina.

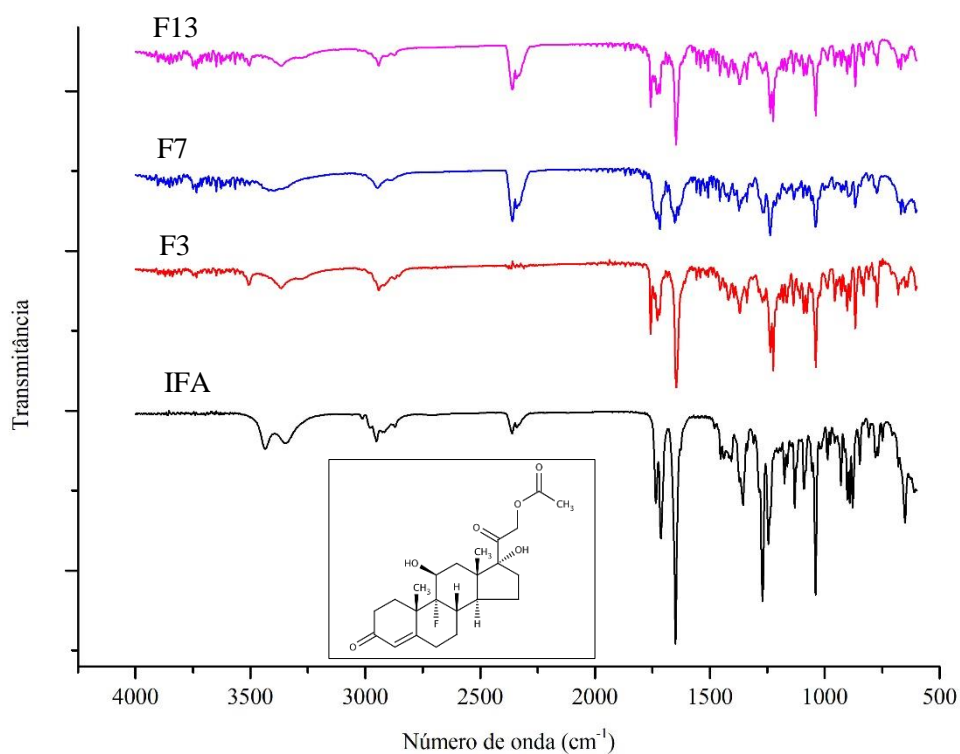


Figura 53 - Espectros de Infravermelho do acetato de fludrocortisona – IFA e candidatos a polimorfos F3, F7 e F13.

Fonte: Da autora.

## 6 CONCLUSÕES

Foram desenvolvidas e testadas 16 formulações de cada IFA e desse total, foi otimizada a formulação que apresentou melhor desempenho nos testes preconizados pela Farmacopeia Brasileira para formas farmacêuticas cápsulas.

Com base no dosemaneto das cápsulas, foi evidenciado o melhor desempenho do excipiente que contém celulose microcristalina: talco farmacêutico para as cápsulas de acetato de fludrocortisona, como diluente.

O excipiente que contém celulose microcristalina foi testado para os três corticoides estudados, porém ele apresentou melhor desempenho somente para o acetato de cortisona, quando foi superior à lactose. Sendo assim, excipiente lactose deve sempre ser substituído pela celulose microcristalina em formulações de cápsulas de acetato de cortisona diante de evidências de incompatibilidade entre os dois componentes e do melhor desempenho da celulose microcristalina nos ensaios realizados, a fim de garantir uma formulação com melhor segurança e eficácia.

Para cápsulas de hidrocortisona base o diluente amido mostrou desempenho superior ao da celulose microcristalina nos testes realizados.

Ficou estabelecido como ótimo o tempo de mistura de 2 minutos, utilizando gral e pistilo, para a homogeneização dos IFA's com os excipientes, evidenciado que um tempo maior de mistura não melhorou o desempenho das cápsulas nos testes realizados.

O estudo de compatibilidade para os excipientes utilizados nas cápsulas de acetato de fludrocortisona, acetato de cortisona e hidrocortisona base revelou que existem interações entre o lauril sulfato de sódio e os IFA's, assim como entre a lactose e o acetato de cortisona. Porém com base nos dados obtidos nos estudos de estabilidade acelerada, podemos afirmar que as cápsulas dos corticoides estudados, nas formulações padronizadas, devem seguir o princípio da concepção de um medicamento manipulado, ou seja, devem ser manipuladas para consumo imediato com prazo de uso curto, especialmente para a hidrocortisona base.

O estudo de fotoestabilidade associado ao estudo de estabilidade acelerado, concluiu que o procedimento de manipulação de cápsulas desses corticoesteroides deve ser feito em ambiente protegido da luz e, deve sempre constar no rótulo da embalagem de acondicionamento do medicamento manipulado a inscrição: “manter em temperatura ambiente (15°C a 30°C) e proteger da umidade e luz direta”, conforme RE 1/2005 (BRASIL, 2005), pois foram

encontrados resultados que confirmam a influência da elevação da temperatura e umidade no armazenamento, assim como da exposição à luz, na degradação dos IFA's (exceto para acetato de cortisona).

O estudo de estabilidade acelerada revelou a formação de produtos de degradação na forma farmacêutica cápsula para os três corticoesteroides estudados. Com relação ao acetato de fludrocortisona, os resultados obtidos foram de acordo com estudos constantes na literatura para a forma farmacêutica comprimido, dessa forma, esses produtos devem ser melhor elucidados a fim de encontrar meios de evitar ou diminuir a sua formação para melhor estabilidade do produto farmacêutico. Não há informações na literatura a respeito de produtos de degradação dos corticoides estudados na forma farmacêutica cápsula.

As cápsulas de acetato de cortisona mostraram maior estabilidade que o acetato de fludrocortisona, porém tiveram seu desempenho prejudicado no teste de dissolução, quando submetidas às condições do teste de estabilidade acelerada.

Não foram encontradas evidências de fotossensibilidade quando testadas as cápsulas de acetato de cortisona.

As cápsulas de hidrocortisona base mostraram baixa estabilidade nas condições do teste de estabilidade acelerada. No teste de fotoestabilidade, não houve alteração significativa do teor, mas a dissolução das cápsulas foi extremamente prejudicada, o que remete à ineficácia do medicamento quando utilizado nessas condições, portanto mesmo sem evidências de degradação do IFA, o medicamento (cápsula) deve ser protegido da luz durante o armazenamento.

Devido aos resultados obtidos nos testes de compatibilidade e estabilidade das formulações com os três IFA's, o emprego de LSS em formulações de corticoesteroides deve ser bastante criterioso, pois há fortes indícios de interações com efeito negativo entre eles.

Os resultados do teste de fotoestabilidade indicam o acondicionamento das cápsulas dos corticoesteroides em frascos que ofereçam barreira de proteção à luz, segundo o recomendado pela farmacopeia americana.

Os métodos desenvolvidos (metodologia para doseamento e aplicação ao método de dissolução) foram validados para os IFA's e respectivos excipientes testados, com resultados satisfatórios, em concordância com a legislação vigente.

Foram obtidos cristais de acetato de fludrocortisona a partir de 14 misturas de solventes.

A caracterização dos cristais obtidos de acetato de fludrocortisona, apresentou resultados positivos para dois possíveis novos polimorfos ainda não descritos na literatura, os quais poderão ser mais criteriosamente analisados numa perspectiva futura a fim de determinar

o seu comportamento no teste de solubilidade e dissolução, cujo resultado será comparado ao do IFA utilizado.

As duas novas formas cristalinas (possíveis polimorfos) de acetato de fludrocortisona serão estudadas para fins de identificação e descrição de suas estruturas cristalinas.

## REFERÊNCIAS

- ABRANTES, C. G.; DUARTE, D.; REIS, C. P. An overview of pharmaceutical excipients: safe or not safe? **J Pharm Sci**, v. 105, p. 2016-2026, 2016.
- ACOFARMA. Ficha de dados de segurança – acetato de cortisona. Disponível em: <<http://www.acofarma.com/admin/uploads>>. Acesso em: 01 jun. 2018.
- ADI-DAKO, O. et al. Novel HPLC analysis of hydrocortisone in conventional and controlled-release pharmaceutical preparations. **Int. J. Pharm**, v. 2017, p. 1-8, 2017.
- ALTONEN, J. et al. Solid form screening- a review. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 71, p. 23-37, 2009.
- ALVES, C. et al. Withdrawal from glucocorticosteroid therapy: clinical practice recommendations. **J Pediatr**, v. 84, n. 3, p. 192-202, 2008.
- ALVES, R. **Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose**. 2007. 90 f. Dissertação (Mestrado em Fármaco e Medicamentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.
- ALVES, R. M. V. et al. Embalagens plásticas e de vidro para produtos farmacêuticos: avaliação das propriedades de barreira à luz. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 29, n. 2, p. 169-180, 2008a.
- 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, n. 3, p. 413-420, 1995.
- ANTIGNAC, J. -P. et al. Analytical strategies for the direct mass spectrometric analysis of steroid and corticosteroid phase II metabolites. **Steroids**, v. 70, p. 205–216, 2005.
- ARAÚJO, A. A. S. et al. Thermal analysis of the antirretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms. **Int J Pharm**, n. 260, p. 303-314, 2003.
- ARAÚJO, G. L. B. et al. Polimorfismo na produção de medicamentos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl.**, v. 33, n. 1, p. 27-36, 2012.
- ARSAND, D. R. **Anti-inflamatório dexametasona: estudos de biodegradabilidade, toxicidade, ocorrência e degradação oxidativa avançada em efluente hospitalar**. 2010. 146 f. Tese (Doutorado em Química). Centro de Ciências Naturais e Exatas - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.
- AST, T. M.; ABDU, H. M. Analysis of fludrocortisone acetate and its solid dosage forms by high-performance liquid chromatography. **J Pharm Sci**, v. 68, n. 4, p. 421-423, 1979.
- AULTON, M. E. **Delineamento de formas farmacêuticas**. 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 677 p.
- BARBIN, D. **Planejamento e análise estatística de experimentos agrônômicos**. 2. ed. Londrina: Editora Mecnas, 2013. 214 p.
- BARNES, P. J. Glucocorticoids. **Chem Immunol Allergy**, v. 100, p. 311-316, 2014.

BAVARESCO, L. Glicocorticóides: usos clássicos e emprego no tratamento do câncer. **Infarma**, v. 17, n. 7/9, 2005.

BECUE, I. et al. The use of library identification and common fragments for the identification of corticosteroids in forensic samples. **Anal Bioanal Chem** v. 400, p. 2837–2846, 2011.

BENET, L. Z.; CUMMINS, C. L.; WU, C. Y. Unmasking the dynamic interplay between efflux transporters and metabolic enzymes. **Int. J. Pharm.**, v. 277, p. 3-9, 2004.

BERTOLLO, G. M. **O processo magistral em farmácias do estado do Espírito Santo**. 2008. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2008.

BÉVALOT, F et al. Analysis of corticosteroids in hair by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry. **J Chromatogr B Biomed Sci Appl**. v. 740, n. 2, p. 227-236, 2000.

BONAMICI, D. **Sistema de Classificação Biofarmacêutica e Bioisenções**. 2009. 171 f. Dissertação (Mestrado em fármaco e medicamentos). Faculdade de Ciências Farmacêuticas - Universidade de São Paulo. São Paulo, 2009.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 1, 29 de julho de 2005, Guia para Realização de Estudos de Estabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, 01 agosto de 2005. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br>>. Acesso em: 07 maio 2016.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5 ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, v. 1, 2010.

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

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução da Diretoria Colegiada – RE nº 166, de 24 de julho de 2017, determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". **Diário Oficial da União**, Brasília, nº 141, 24 jul. de 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Medicamentos/Assunto+de+Interesse/Medicamentos+de+referencia>>. Acesso em: 09 maio 2016 a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA)**. Consulta Pública nº 129, de 12 de fevereiro de 2016. Disponível em: <<http://www.amvisa.gov.br>>. Acesso em: 02 out. 2016 b.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Formulário nacional da farmacopéia brasileira**. 2. ed. Brasília, 2012. Revisão 2.

BRASIL. Ministério da Saúde. RDC nº. 67, de 8 de outubro de 2007. Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humanos em Farmácias. **Diário Oficial da União**, Brasília, 9 out. 2007.



BRASIL. Ministério da Saúde. Subsídios à discussão sobre a proposta de regulamentação para farmácias magistrais. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v. 39, n. 4, 2005 a.

**BRITISH PHARMACOPEIA**. London: Her Majesty's Stationery Office, 2008, p. 2392.

CALLOW, R. K.; KENNARD, O. Polymorphism of Cortisone Acetate. **J Pharm Pharmacol**, v. 13, p.723-733, 1961.

**CAMBRIDGE CRYSTALLOGRAPHIC DATA CENTRE (CCDC)**. Disponível em: <[http://bdec.dotlib.com.br/inicio\\_csds/application/conquest](http://bdec.dotlib.com.br/inicio_csds/application/conquest)>. Acesso em: 05 fev 2018.

CAPUCHO, H. C.; MASTROIANNI, P. C.; CUFFINI, S. Farmacovigilância no Brasil: a relação entre polimorfismo de fármacos, efetividade e segurança dos medicamentos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 29, n. 3, p. 277-283, 2008.

CARINI, J. P. et al. Investigação preliminar avaliando a influência dos processos de compactação e trituração em relação às propriedades cristalinas e polimórficas da talidomida. **Lat Am J Pharm**, n. 28, v. 2, p. 226-33, 2009.

CARLESS, J. E. et al. Effect of crystal form, cortisone alcohol and agitation on crystal growth of cortisone acetate in aqueous suspensions. **J Pharm Pharmacol**, v. 20, p. 639-645, 1968.

**CELLULOMAX E**. Disponível em: <<http://www.embrafarma.com.br/produtos>>. Acesso em: 10 maio 2016.

CHADA, R.; BHANDARI, S. Drug - excipient compatibility screening - role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **J Pharm Biomed Anal**, v. 87, p. 82-97, 2014.

CHEMSPIDER. Disponível em: <<http://www.chemspider.com>>. Acesso em 25 jul. 2017.

CHEN, D. et al. Development of a liquid chromatography-tandem mass spectrometry with pressurized liquid extraction for determination of glucocorticoid residues in edible tissues. **J Chromatogr B**, v. 879, p. 174-180, 2011.

CHIDAMBARAM, M.; KRISHNASAMY, K. Drug-drug/drug-excipient compatibility studies on curcumin using non-thermal methods. **Adv Pharm Bull**, v. 4, n. 3, p. 309-312, 2014.

CHORILLI, M. et al. Estudo de perfil de dissolução dos medicamentos de referência, genérico e similar contendo cefalexina na forma farmacêutica cápsula. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 31, n. 1, p. 69-73, 2010.

CISTERNINO, S.; SCHLATTER, J; SAULNIER, J. L. Stability of fludrocortisone acetate solutions prepared from tablets and powder. **Eur J Pharm Biopharm**. v. 5, p. 209-213, 2003.

CONCIGLIERI, V. O.; STORPIRITIS, S. Bioequivalência de medicamentos: objetivos, parâmetros farmacocinéticos, delineamento experimental e critérios de avaliação. **Rev Bras Ciênc Farm**, v. 36, p. 13-21, 2000.

CRUZ-TOPETE, D.; CIDLOWSKI, J. A. One hormone two actions: anti- and pro-inflammatory effects of glucocorticoids. **Neuroimmunomodulation**, v. 22, p. 20-32, 2015.

D'HONDT, M. et al. Investigation of active pharmaceutical ingredient loss in pharmaceutical compounding of capsules. **J Pharm Biomed Anal**, v. 96, p. 68-76, 2014.

DECEUNICK, Y. et al. Determination of MRL regulated corticosteroids in liver from various species using ultra high performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry (UHPLC). **Anal Chim Acta**, v. 700, p. 137– 143, 2011.

DERRINGER, G.; SUICH, R. Simultaneous optimization of several response variables. **J Qual Technol**, v. 12, n. 4, p. 214-219, 1980.

DESIRAJU, G. R. Polymorphism: the same and not quite the same. **Cryst Growth Des**, v. 8, n. 1, p. 3-5, 2008.

DONATO, E. M. et al. Espectrofotometria derivada: uma contribuição prática para o desenvolvimento de métodos. **Rev Ciênc Farm Básica Apl**, v. 31, n. 2, p. 125-130, 2010.

**DRUGBANK**. Disponível em: <<https://www.drugbank.ca/drugs/DB00687>>. Acesso em: 25 jul. 2016.

DUQUE, M. D. et al. Optimization of primaquine diphosphate tablet formulation for controlled drug release using the mixture experimental design. **Pharm Dev Technol**. v. 18, n. 5, p. 1247-1254, 2013.

EDDLESTON, M. D. et al. Determination of the Crystal Structure of a New Polymorph of Theophylline. **Chemistry**, v. 19, n. 24, p. 7883-8, 2013.

**EUROPEAN COMMISSION PUBLIC HEALTH**. 2011. Disponível em: <[http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2011/201111103110069/anx\\_110069\\_pt.pdf](http://ec.europa.eu/health/documents/communityregister/2011/201111103110069/anx_110069_pt.pdf)>. Acesso em: 27 abr 2016.

FEENEY, O. M. et al. 50 years of oral lipid-based formulations: Provenance, progress and future perspectives. **Adv Drug Deliv Rev**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.04.007>>. Acesso em: 10 set. 2016.

FERRABOSCHI, P. et al. Estimation and characterisation of budesonide tablets impurities. **J Pharm Biomed Anal**, v. 47, p. 636–640, 2008.

FERREIRA, A. O. **Desenvolvimento magistral de cápsulas gelatinosas duras de liberação entérica**, Rio de Janeiro: UFRJ/FF, 2006.

FERREIRA, A. O. **Guia prático da farmácia magistral**. 3. ed., São Paulo: Pharmabooks, 2008, v. 1, 409 p.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. **Princípios físico-químicos em farmácia**. 3. ed. São Paulo: Edusp, 2003, 717 p.

**FRANCE**. Orphanet Report Series. List of medicinal products for rare diseases in Europe. April 2016. Disponível em: <[http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/list\\_of\\_orphan\\_drugs\\_in\\_europe.pdf](http://www.orpha.net/orphacom/cahiers/docs/GB/list_of_orphan_drugs_in_europe.pdf)>. Acesso em: 10 maio 2016.

FULIAS et al. Thermal behaviour of procaine and benzocaine Part II: compatibility study with some pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Chem Central J**, v. 7, n. 140, p. 1-10, 2013.

GASPAROTTO, F. S., **Fatores relacionados à síntese de matérias-primas que podem alterar a biodisponibilidade do medicamento genérico**. 2005. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

GELLER, L. E.; SILBERMAN, N. The effect of chemical impurities in the stability of labelled steroids. **Steroids**, v. 9, n. 2, p. 157-161, 1967.

GIACCONE, V. et al. Determination of ten corticosteroids in illegal cosmetic products by a simple, rapid, and high-performance LC-MS/MS method. **Int J Anal Chem**, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2017/3531649>>. Acesso em: 05 mar. 2016.

GIBAUD, S. et al. Poly ( $\epsilon$ -caprolactone) and Eudragit® microparticles containing fludrocortisone acetate. **Int J Pharm**, v. 269, n. 2, p. 491-508, 2004.

GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12. ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Companies, 2012.

HANEEF, J. et al. Application of LC-MS/MS for quantitative analysis of glucocorticoids and stimulants in biological fluids. **J Pharm Anal**, v. 3, n. 5, p. 341-348, 2013.

HANNA, et al. An accurate and precise representation of drug ingredients. **J Biomed Sem**, v. 7, n. 7, 2016.

HASA, D.; JONES, W. Screening for new pharmaceutical solid forms using mechanochemistry: A practical guide, **Adv Drug Deliv Rev**, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2017.05.001>>. Acesso em: 02 fev. 2017.

HAWLEY, J. M.; KEEVIL, B. G. Endogenous glucocorticoid analysis by liquid chromatography– tandem mass spectrometry in routine clinical laboratories. **J Steroid Biochem Mol Biol**, v. 162, p. 27–40, 2016.

HIGASHI, K; UEDA, K.; MORIBE, K. Recent progress of structural study of polymorphic pharmaceutical drugs. **Adv Drug Deliv Rev**, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2016.12.001>>. Acesso em: 20 nov. 2016.

International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for registration of Pharmaceuticals for Human Use Topic. Q1B: **Stability testing: Photostability testing of new drug substances and Products**. Geneva, 1996.

ICH. International Conference on Harmonization (ICH) of Technical Requirements for registration of Pharmaceuticals for Human Use Topic Q2 (R1): **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**, Geneva, 2005.

IONITA, I. A. et al. Development of a sensitive and selective method for the quantitative analysis of cortisol, cortisone, prednisolone and prednisone in human plasma. **J Chromatogr B**, v. 877, p. 765–772, 2009.

JOHANNSON, G. et al. Improving glucocorticoid replacement therapy using a novel modified-release hydrocortisone tablet: a pharmacokinetic study. **Eur J Endocrinol**, v. 161, p. 119–130, 2009.

KOCHAKIAN, C. D. The development of spectrophotometry: fortuitous inventions for steroid biochemistry. **Trends Biochem Sci**, n. 13, v. 9, p. 359-362, 1988.

KUHNERT-BRANDSTATTER, M.; GASSER, P. Solvates and Polymorphic Modifications of Steroid Hormones. I, II E III. **Microchem J**, v. 16, p. 419-428, 1971.

LAMOLHA, M. A. et al. Excipientes pré-formulados para a manipulação de cápsulas: uma realidade magistral. **Rev Anfarmag**, n. 100, p. 48 – 52, 2014.

- LEITE, E. G. **Estabilidade: importante parâmetro para avaliar a qualidade, segurança e eficácia de fármacos e medicamentos**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2005.
- LEWIS, R. J. **Hawley's Condensed Chemical Dictionary**, 16. ed. New York, John Wiley e Sons, Inc, 2016.
- LLINÀS, A.; GOODMAN, J. M. Polymorph control: past, presente and future. **Drug Discov Today**, v. 13, n. 5/6, 2008.
- LOBENBERG, R.; AMIDON, G. L. Modern bioavailability, bioequivalence and biopharmaceutics classification system. New scientific approaches to international regulatory standarts. **Eur J Pharm Biopharm**, v. 50, p. 3-12, 2000.
- MAGHSOODI, M. Role of solvents in improvement of dissolution rate of drugs: crystal habit and crystal agglomeration. **Adv Pharm Bull**, v. 5, n. 3, p. 13-18, 2015.
- MANIKAMDAN, M.; KANNAN, K.; MANAVALAN, R. Compatibility studies of camptothecin with various pharmaceutical excipients used in the development of nanoparticle formulation. **Int J Pharm Pharmac Sci**, v. 5, n.4, p. 315-321, 2013.
- MARCOS, J.; POZO, O. J. Derivatization of steroids in biological samples for GC-MS and LC-MS analyses. **Bioanalysis**, v. 7, n. 19, 2015.
- MARTINELLO, T.; KANEKO, T. M.; VELASCO, M. V. R.; TAQUEDA, M. E. S.; CONSIGLIERI, V. O. Optimization of poorly compactable drug tablets manufactured by direct compression using the mixture experimental design. **Int J Pharm**, v. 322, p. 87-95, 2006.
- MASE PRODUTOS FARMACÊUTICOS. **Certificado de análise – Acetato de fludrocortisona micronizado**. São Paulo, 2016.
- MATOS, A. P. S. **Estudos de compatibilidade fármaco-excipiente e sua importância no desenvolvimento de formulações farmacêuticas**. 2013. 80 p. Monografia (Especialização em Tecnologias Industriais Farmacêuticas). Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz - Farmanguinhos, 2013.
- MCWHINNEY, B. C. et al. Measurement of cortisol, cortisone, prednisolone, dexamethasone and 11-deoxycortisol with ultrahigh performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry: Application for plasma, plasma ultrafiltrate, urine and saliva in a routine laboratory. **J Chromatogr B**, v. 878, p. 2863–2869, 2010.
- MEHTA, S. K.; JINDAL, N. Tyloxapol Niosomes as Prospective Drug Delivery Module for Antiretroviral Drug Nevirapine. **AAPS Pharm Sci Tech**, v. 16, n. 1, p. 67-75, 2015.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas. Insuficiência Adrenal Primária – Doença de Addison**. Portaria SAS/MS nº1170 de 19 de novembro de 2015.
- MONTGOMERY, D. C. **Design and Analysis of Experiments**. New York: Wiley, 2000.
- O'NEIL, M. J. **The Index Merck. An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals**. 15. ed. Cambridge: RSCPublishing, 2013.
- OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quim Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011

PAIVA, D. L. **Introdução à espectroscopia**. 4. ed. São Paulo: Editora Cengage Learning, 2011.

PANI, N. R. et al. Compatibility studies of nateglinide with excipients in immediate release tablets. **Acta Pharm**. v. 61, p. 237–247, 2011.

PATEL, P. et al. Drug-excipient compatibility studies: first step for dosage form development. **Pharma Innov J**, v. 4, n. 5, p. 14-20, 2015.

PAULINO, A. S. et al. Dissolution enhancement of Deflazacort using hollow crystals prepared by antisolvent crystallization process. **Eur J Pharm Sci**, n. 49, p. 294–301, 2013.

PENILDON, S. **Farmacologia**. 8. ed. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010.

PEREIRA, T. M. M. **Caracterização térmica (TG/DTG, DTA, DSC, DSC-fotovisual) de hormônios bioidênticos (estriol e estradiol)**. 2013. 104 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas). Centro de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal, 2013.

PEROGAMVROS, I. et al. Simultaneous measurement of cortisol and cortisone in human saliva using liquid chromatography–tandem mass spectrometry: application in basal and stimulated conditions. **J Chromatogr B**, v. 877 p. 3771–3775, 2009.

PETERKA, P. T. et al. Solid state compatibility study and characterization of a novel degradation product of tacrolimus in formulation. **J Pharm Biomed Anal**, v. 110, p. 67-75, 2015.

PODCZECK, F.; JONES, B. E. **Pharmaceutical capsules**. 2. ed. London: Pharmaceutical Press, 2004. 272 p.

POLITO, A. et al. Pharmacokinetics of oral fludrocortisone in septic shock. **Br J Clin Pharmacol**, v. 82, n. 6, p. 1509-1516, 2016.

POLSKI, A. et al. Influence of polymer type on the physical properties and release profile of papaverine hydrochloride from hard gelatin capsules. **Polim Med**, v. 45, n. 2, p. 51-55, 2015.

**PUBCHEM**. Disponível em: < <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> > Acesso em: 25 jul. 2017.

PUJOS, E. et al. Comparison of the analysis of corticosteroids using different techniques. **Anal Bioanal Chem** v.381, p. 244–254, 2005.

PUROHIT, R.; VENUGOPALAN, P. Polymorphism: An Overview. **Resonance**, v. 14, n. 9, p. 882-893, 2009.

QIN, H. et al. Separation and pre-concentration of glucocorticoids in water samples by ionic liquid supported vortex-assisted synergic microextraction and HPLC determination. **J Sep Sci** v. 36, p. 1463–1469, 2013.

QUAX, R. A. et al. Glucocorticoid sensitivity in health and disease. **Nat Rev Endocrinol**, v. 9, p. 670-686, 2013.

RAJAN K.; VERMA, S. G. Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug – excipient compatibility testing. **J Pharm Biomed Anal**, v. 38, p. 633–644, 2005.

RAMAMOORTHY, S.; CIDLOWSKI, J. A. Corticosteroids. Mechanisms of action in health and disease. **Rheum Dis Clin N Am**, v. 42, p. 15–31, 2016.

- RIBOT, M. et al. Human plasma quantification of fludrocortisone using liquid chromatography coupled with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry after low-dosage administration. **Clin Chim Acta**, v. 420, p. 109–113, 2013.
- ROCHA, A. B. O. et al. Cocrystal: Uma estratégia promissora na área farmacêutica. **Quim Nova**, v. 39, n. 9, p. 1112-1125, 2016.
- ROMANHOLI, D. J. P. C.; SALGADO, L. R. Síndrome de Cushing exógena e retirada dos glicocorticoides. **Arq Bras Endocrinol Metab**, v. 51, n. 8, p. 1280-1292, 2007.
- ROMÃO, J. S. et al. Photocatalytic decomposition of cortisone acetate in aqueous solution. **J Hazard Mat**, n. 282, p. 208-215, 2015.
- ROUE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.
- ROUGE, N.; BURI, P.; DOELKER, E. Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for sitespecific delivery. **Int J Pharm**, v. 136, p. 117-139, 1996.
- ROZET, E. et al. Methodology for the validation of analytical methods involved in uniformity of dosage units tests. **Anal chim Acta**, v. 760, p. 46-52, 2013.
- SALVI, S. T. B. **Método para controle da qualidade de medicamentos sólidos por difração de raios X**. 2015. 166 f. Tese (Doutorado em Química) – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2015.
- SARACINO, M. A. et al. Multi-matrix assay of cortisol, cortisone and corticosterone using a combined MEPS-HPLC procedure. **J Pharm Biomed Anal**, v. 88, p.643–648, 2014.
- SHAH, V. P. et al. In vitro dissolution profile of water-insoluble drug dosage forms in the presence of surfactants. **Pharm Res**, v.6, n.7, p.612-618, 1989.
- SILVA, C. C. P. **Caracterização de estado sólido de insumos farmacêuticos ativos: clorpropamida, nevirapina e dietilcarbamazina**. 2010. 185 p. Dissertação (Mestrado em Ciências). Instituto de Física de São Carlos - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.
- SILVA, R. F.; NASCIMENTO FILHO, A. P.; SANTOS, C. R. Avaliação retrospectiva do processo de produção de cápsulas em farmácias de manipulação através do controle estatístico de processo. In: **CONGRESSO NACIONAL DE EXCELÊNCIA EM GESTÃO**, 4, 2008, Niterói. Anais... Niterói, 2008.
- SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. **Adv Drug Deliv Rev**, v. 56, p. 335–347, 2004.
- SOARES, J.; VICHI, F. A cinéticas das reações em estado sólido. DOI 10.13140/RG.2.2.15655.75688. Disponível em: <<https://www.researchgate.net/publication/306589325>>. Acesso em: 29 out. 2018.
- SOFTWARE STATISTICAL**, versão 6.0. StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA.
- SOUSA, J., FREITAS, Z. M. F., STORPIRTIS, S. Modelos in vitro para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 43, n. 4 São Paulo, p. 515-525, 2007.
- STORPIRTIS, S. et al. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Rev Bras Cienc Farm**, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1999.

- SUDO, A. Analysis of corticosteroids in biological fluids by high-performance liquid chromatography with fluorometric detection. **Ind Health**, v. 26, p. 263-266, 1988.
- SUITCHMEZIAN, V. et al. Crystal structures and properties of two new pseudopolymorphic modifications of the glucocorticoid triamcinolone diacetate. **Solid State Sci**, v. 8, p. 1373–1379, 2006.
- SUTTON, P. A.; BYRN, S. R. Crystal Structure of Two Crystal Forms of 9 $\alpha$ -Fluorocortisol Acetate: Variation of the Conformation of the A Ring of Steroids Due to Crystal Packing. **J Pharm Sci**, v. 76, n. 3, 1987.
- TAKEDA, M.; MAEDA, M.; TSUJI, A. Chemiluminescence high performance liquid chromatography of corticosteroids using lucigenin as post-column reagent. **Biomed Chromatogr**, v. 4, n. 3, p. 119-22, 1990.
- TAYLOR, R. L., GREBE, S. K.; SINGH, R. J. quantitative, highly sensitive liquid chromatography–tandem mass spectrometry method for detection of synthetic corticosteroids. **Clin Chem**, v. 50, n. 12, p. 2345–2352, 2004.
- TITA, B. et al. Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **J Pharm Biomed Anal**, v. 56, n. 2, p. 221-227, 2011.
- TODESCHINI, V. **Métodos analíticos para determinação de delapril e manidipino aplicáveis a estudos de estabilidade e ao desenvolvimento de método de dissolução para a forma farmacêutica comprimido**. 2013. 111 f. Tese (Doutorado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2013.
- TROY, D. B.; BERINGER, P. **Remington – The Science And Practice Of Pharmacy**. 22. ed. Gra Bretanha: Pharmaceutical UK, 2012. 3024 p.
- UNITED STATES PHARMACOPEIA**, 38. Ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, 2015.
- VILELA, E. F. **Utilização do planejamento fatorial para a otimização do experimento do pêndulo**. 2013. 38 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Física) – Faculdade de Física - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Internacional Stability Testing: guidelines for stability testing of pharmaceutical products containing well established drug substances in conventional dosage forms**. Anex 5, WHO Technical Report Series. 863, 1996.
- YAMASHITA, K. et al. Use of novel picolinoyl derivatization for simultaneous quantification of six corticosteroids by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatogr A**, v. 1173; p. 120–128, 2007.
- YANG, J-H. A  $^{13}\text{C}$  solid-state NMR analysis of steroid compounds. **Magn Reson Chem** v. 46, p. 718–725, 2008.
- ZHENG, L. et al. Simultaneous Determination of Cortisol, Cortisone, 6 $\beta$ -Hydroxycortisol and 6 $\beta$ -Hydroxycortisone by HPLC. **J Chromatogr Sci**, v. 53, p. 451–455, 2015.

## Apêndice A

### Proposta de formulação

#### ACETATO DE FLUDROCORTISONA 50 µg e 100 µg, CÁPSULA

FORMA FARMACÊUTICA  
Cápsula.

Excipiente colorido

Componentes	Quantidade
Talco farmacêutico	10,0 g
Corante vermelho líquido	7,0 g

Adicionar o corante vermelho gota a gota ao talco farmacêutico em gral de vidro. Após total homogeneização, secar em estufa.

#### Diluição de acetato de fludrocortisona 1:100

Componentes	Quantidade
Acetato de fludrocortisona	0,5 g
Excipiente colorido	49,5 g

Pesar o acetato de fludrocortisona, verter no gral e adicionar o excipiente colorido por progressão geométrica, homogeneizando com pistilo.

Excipiente 1

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,5 %
Talco farmacêutico	20%
Celulose microcristalina	78,5 %

Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Talco farmacêutico	20%
Celulose microcristalina	78,5%

#### DOSE 50 µg

#### FÓRMULA 1

Componentes	Quantidade
Acetato de fludrocortisona 1:100	5,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

#### FÓRMULA 2

Componentes	Quantidade
Acetato de fludrocortisona 1:100	5,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	5 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

#### FÓRMULA 3

Componentes	Quantidade
Acetato de fludrocortisona 1:100	5,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	5 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

#### DOSE 100 µg

#### FÓRMULA 4

Componentes	Quantidade
Acetato de fludrocortisona 1:100	10,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.



**FÓRMULA 5**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade</b>
Acetato de fludrocortisona 1:100	10,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	5 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**FÓRMULA 6**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade</b>
Acetato de fludrocortisona 1:100	10,0 mg
Excipiente 1	100,0 mg
Tempo de mistura	5 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

*Nota: Teor do fármaco 100,42%*

**ORIENTAÇÕES DE PREPARO**

Antes da pesagem do acetato de fludrocortisona, realizar a correção do peso de acordo com o teor da matéria-prima na etapa de diluição.

Realizar pesagem individual dos componentes da *fórmula* a ser manipulada em balança. Homogeneizar por progressão geométrica em gral e pistilo os componentes

em pó, iniciando com o acetato de fludrocortisona e excipiente colorido. Tamizar a mistura final em tamis número 30 (600 µm) e encapsular em cápsula número 4.

**EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO**

Conservar em recipiente opaco adicionado de cápsula de sílica, fechado, ao abrigo da luz e da umidade e à temperatura ambiente.

**ADVERTÊNCIAS**

Suspender o uso se houver mudança de aspecto ou odor. Manter fora do alcance de crianças.

**INDICAÇÕES**

Tratamento de insuficiência adrenocortical e na primeira linha de tratamento da hipertensão ortostática idiopática.

**MODO DE USAR**

Uso interno.  
A critério médico.

**Apêndice B****Proposta de formulação****ACETATO DE CORTISONA****6,25 mg e 12,5 mg, CÁPSULA****FORMA FARMACÊUTICA**

Cápsula.

## Excipiente colorido

Componentes	Quantidade
Talco farmacêutico	10,0 g
Corante vermelho líquido	7,0 g

Adicionar o corante vermelho gota a gota ao talco farmacêutico em gral de vidro. Após total homogeneização, secar em estufa.

## Excipiente 1

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,5 %
Celulose microcristalina	97,5 %

## Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	2,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Lactose	97,9 %

## Excipiente 3

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Lactose	98,9 %

**DOSE 6,25 mg****FÓRMULA 1**

Componentes	Quantidade
Acetato de cortisona	6,25mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 1	102,75mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**FÓRMULA 2**

Componentes	Quantidade
Acetato de cortisona	6,25mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 2	102,75 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**FÓRMULA 3**

Componentes	Quantidade
Acetato de cortisona	6,25mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 3	102,75 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**DOSE 12,5 mg****FÓRMULA 4**

Componentes	Quantidade
Acetato de cortisona	12,5mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 1	96,5mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**FÓRMULA 5**

Componentes	Quantidade
Acetato de cortisona	12,5mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 2	96,5 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**FÓRMULA 6**

<b>Componentes</b>	<b>Quantidade</b>
Acetato de cortisona	12,5mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 3	96,5 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

**ORIENTAÇÕES DE PREPARO**

Antes da pesagem do acetato de cortisona, realizar a correção do peso de acordo com o teor da matéria-prima.

Realizar pesagem individual dos componentes da *fórmula* a ser manipulada em balança. Homogeneizar por progressão geométrica em gral e pistilo os componentes em pó, iniciando com o acetato de cortisona e excipiente colorido. Tamizar a mistura final em tamis número 50 (300 µm) e encapsular em cápsula número 4.

*Nota: Teor do acetato de cortisona 101,01%*

**EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO**

Conservar em recipiente opaco adicionado de cápsula de sílica, fechado, ao abrigo da luz e da umidade e à temperatura ambiente.

**ADVERTÊNCIAS**

Suspender o uso se houver mudança de aspecto ou odor. Manter fora do alcance de crianças.

**INDICAÇÕES**

Para tratamento de reações inflamatórias, alérgicas e como imunossupressor.

**MODO DE USAR**

Uso interno.

A critério médico.

## Apêndice C

### Proposta de formulação

#### HIDROCORTISONA BASE

10 mg, CÁPSULA

#### FORMA FARMACÊUTICA

Cápsula.

Excipiente colorido

Componentes	Quantidade
Talco farmacêutico	10,0 g
Corante vermelho líquido	7,0 g

Adicionar o corante vermelho gota a gota ao talco farmacêutico em gral de vidro. Após total homogeneização, secar em estufa.

Excipiente 1

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	2,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Amido de milho	97,9 %

Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Amido de milho	89,9%

Excipiente 2

Componentes	Quantidade
Lauril sulfato de sódio	1,0 %
Dióxido de silício coloidal	0,1 %
Celulose microcristalina	89,9%

### FÓRMULA 1

Componentes	Quantidade
Hidrocortisona base	10,0 mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 1	99,0 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

### FÓRMULA 2

Componentes	Quantidade
Hidrocortisona base	10,0 mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 1	99,0 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

### FÓRMULA 3

Componentes	Quantidade
Hidrocortisona base	10,0 mg
Excipiente colorido	1,0 mg
Excipiente 1	99,0 mg
Tempo de mistura	2 minutos

\*Quantidade por cápsula número 4.

### ORIENTAÇÕES DE PREPARO

Antes da pesagem da hidrocortisona base, realizar a correção do peso de acordo com o teor da matéria-prima.

Realizar pesagem individual dos componentes da fórmula a ser manipulada em balança. Homogeneizar por progressão geométrica em gral e pistilo os componentes em pó, iniciando com a hidrocortisona base e excipiente colorido. Tamizar a mistura final em tamis número 50 (300 µm) e encapsular em cápsula número 4.

### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Conservar em recipiente opaco adicionado de cápsula de sílica, fechado, ao abrigo da luz e da umidade e à temperatura ambiente.

### ADVERTÊNCIAS

Suspender o uso se houver mudança de aspecto ou odor. Manter fora do alcance de crianças.

#### INDICAÇÕES

Tratamento de insuficiência adrenocortical, doenças antiinflamatórias, reumáticas e dermatológicas assim como em estados alérgicos.

#### MODO DE USAR

Uso interno.

A critério médico.

## APÊNDICE D

### Proposta de monografia analítica

#### ACETATO DE FLUDROCORTISONA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de  $C_{23}H_{31}FO_6$ .

Realizar todas as análises utilizando vidraria âmbar, em ambiente protegido da luz.

#### IDENTIFICAÇÃO

*Procedimento:* Proceder conforme *Cromatografia a líquida de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando como solvente acetonitrila. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5  $\mu$ m), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 5,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água na proporção de 45:55, filtrar e desgaseificar.

*Solução amostra (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 250  $\mu$ g de acetato de fludrocortisona e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente, para a concentração final de 5  $\mu$ g/mL.

*Solução padrão (2):* Pesar 250  $\mu$ g de acetato de fludrocortisona SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 5  $\mu$ g/mL.

A eficiência da coluna não deve ser menor do que 1000 pratos teóricos. O fator de cauda não deve ser superior a 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de réplicas do pico registrado não deve ser maior que 2 %.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25  $\mu$ L das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas. O tempo de retenção do pico do cromatograma da *Solução (1)* obtido no Doseamento corresponde àquele da *Solução (2)*.

#### CARACTERÍSTICAS

**Determinação de peso (5.1.1).** Cumpre o teste.

**Teste de desintegração (5.1.4).** Cumpre o teste.

**Uniformidade de doses unitárias (5.1.6).** Cumpre o teste.

#### TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)

*Meio de dissolução:* HCl 0,01 M; 500 mL.

*Aparelhagem:* pá, 75 rpm

*Tempo:* 15 minutos

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência (5.2.17.4)*.

*Fase móvel:* mistura de acetonitrila : água na proporção de 45:55, filtrar e degaseificar.

*Solução amostra:* após realização do teste, utilizar alíquotas filtradas do meio de dissolução.

*Solução padrão:* preparar solução padrão na mesma concentração, utilizando 5% de acetonitrila para dissolver o acetato de fludrocortisona SQR, e HCL 0,01M como solvente e filtrar.

*Procedimento:* injetar volumes iguais separadamente (100 µL) no cromatógrafo de solução padrão e amostras, conforme descrito para identificação. Calcular a quantidade de acetato de fludrocortisona

dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

*Tolerância:* Não menos que 85% (Q=85%) da quantidade declarada de  $C_{23}H_{31}FO_6$  dissolvem-se em 15 minutos.

#### DOSEAMENTO

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando acetonitrila como solvente. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5 µm), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 5,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água (45:55). Filtrar e degaseificar.

*Solução (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 250 µg de acetato de fludrocortisona e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o

filtrado com o mesmo solvente, para a concentração final de 5 µg/mL.

*Solução (2):* Pesar 250 µg de acetato de fludrocortisona SQR e transferir para balão volumétrico de 25 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 5 µg/mL.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular quantidade de C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>FO<sub>6</sub> partir das respostas obtidas com a *Solução (1)* e *Solução (2)*.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

#### ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.



## APÊNDICE E

### Proposta de monografia analítica

#### ACETATO DE CORTISONA CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de  $C_{23}H_{30}O_6$ .

Realizar todas as análises utilizando vidraria âmbar, em ambiente protegido da luz.

#### IDENTIFICAÇÃO

*Procedimento:* Proceder conforme *Cromatografia a líquida de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando como solvente acetonitrila. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5  $\mu$ m), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 5,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água na proporção de 45:55, filtrar e degaseificar.

*Solução amostra (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade

de pó equivalente a 6,25 mg de acetato de cortisona e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 25  $\mu$ g/mL.

*Solução padrão (2):* Pesar 6,25 mg de acetato de cortisona SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 25  $\mu$ g/mL.

A eficiência da coluna não deve ser menor do que 1000 pratos teóricos. O fator de cauda não deve ser superior a 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de réplicas do pico registrado não deve ser maior que 2 %.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25  $\mu$ L das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas. O tempo de retenção do pico do cromatograma da *Solução (1)* obtido no Doseamento corresponde àquele da *Solução (2)*.

#### CARACTERÍSTICAS

**Determinação de peso (5.1.1).** Cumpre o teste.

**Teste de desintegração (5.1.4).** Cumpre o teste.

**Uniformidade de doses unitárias (5.1.6).**

Cumpra o teste.

**TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)**

*Meio de dissolução:* solução aquosa de Lauril Sulfato de Sódio (LSS) 0,75%; 900 mL.

*Aparelhagem:* pá, 100 rpm

*Tempo:* 15 minutos

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)*.

*Fase móvel:* mistura de acetonitrila : água na proporção de 45:55, filtrar e degaseificar.

*Solução amostra:* após realização do teste, utilizar alíquotas filtradas do meio de dissolução.

*Solução padrão:* preparar solução padrão na mesma concentração do teste, utilizando 5% de acetonitrila para dissolver o acetato de cortisona SQR, e LSS 0,75% como solvente e filtrar.

*Procedimento:* injetar volumes iguais separadamente (100 µL) no cromatógrafo de solução padrão e amostras, conforme descrito para identificação. Calcular a quantidade de acetato de cortisona

dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

*Tolerância:* Não menos que 85% (Q=85%) da quantidade declarada de  $C_{23}H_{31}FO_6$  dissolvem-se em 15 minutos.

**DOSEAMENTO**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a líquido de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando acetonitrila como solvente. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5 µm), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 5,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água (45:55). Filtrar e degaseificar.

*Solução (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 6,25 mg de acetato de cortisona e transferir para balão volumétrico de 50mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o

filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 25 µg/mL.

*Solução (2):* Pesar 6,25 mg de acetato de cortisona SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 25 µg/mL.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25 µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular quantidade de C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>6</sub> partir das respostas obtidas com a *Solução (1)* e *Solução (2)*.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

#### ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.

## APÊNDICE F

### Proposta de monografia analítica

#### HIDROCORTISONA BASE, CÁPSULAS

Contém, no mínimo, 90,0% e, no máximo, 110,0% da quantidade declarada de  $C_{21}H_{30}O_5$ .

Realizar todas as análises utilizando vidraria âmbar, em ambiente protegido da luz.

#### IDENTIFICAÇÃO

*Procedimento:* Proceder conforme *Cromatografia a líquida de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando como solvente acetonitrila. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5  $\mu$ m), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 3,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água na proporção de 35:65, filtrar e desgaseificar.

*Solução amostra (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 10,0 mg de hidrocortisona base e transferir para balão volumétrico de 50mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 20  $\mu$ g/mL.

*Solução padrão (2):* Pesar 10,0 mg hidrocortisona base SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 20  $\mu$ g/mL.

A eficiência da coluna não deve ser menor do que 1000 pratos teóricos. O fator de cauda não deve ser superior a 2,0. O desvio padrão relativo das áreas de réplicas do pico registrado não deve ser maior que 2 %.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25 $\mu$ L das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas. O tempo de retenção do pico do cromatograma da *Solução (1)* obtido no Doseamento corresponde àquele da *Solução (2)*.

#### CARACTERÍSTICAS

**Determinação de peso (5.1.1).** Cumpre o teste.

**Teste de desintegração (5.1.4).** Cumpre o teste.

**Uniformidade de doses unitárias (5.1.6).**

Cumpre o teste.

**TESTE DE DISSOLUÇÃO (5.1.5)**

*Meio de dissolução:* água purificada; 900 mL.

*Aparelhagem:* pá, 100 rpm

*Tempo:* 15 minutos

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência (5.2.17.4)*.

*Fase móvel:* mistura de acetonitrila : água na proporção de 35:65, filtrar e degaseificar.

*Solução amostra:* após realização do teste, utilizar alíquotas filtradas do meio de dissolução.

*Solução padrão:* preparar solução padrão na mesma concentração do teste, utilizando 5% de acetonitrila para dissolver a hidrocortisona base SQR, e água purificada como solvente e filtrar.

*Procedimento:* injetar volumes iguais separadamente (100 µL) no cromatógrafo de solução padrão e amostras, conforme descrito para identificação. Calcular a

quantidade de hidrocortisona base dissolvida no meio a partir das respostas obtidas com as soluções padrão e amostra.

*Tolerância:* Não menos que 85% (Q=85%) da quantidade declarada de  $C_{21}H_{31}FO_5$  dissolvem-se em 15 minutos.

**DOSEAMENTO**

Proceder conforme descrito em *Cromatografia a liquido de alta eficiência (5.2.17.4)* utilizando acetonitrila como solvente. Utilizar cromatógrafo provido de detector ultravioleta a 254 nm, coluna C18 com especificação de 150 mm de comprimento e 4,6 mm de diâmetro interno, empacotada com sílica quimicamente ligada a grupo octadecilsilano (0,5 µm), mantida à temperatura de 25 °C. Fluxo da *fase móvel* de 1,0 mL/minuto. O tempo de retenção é de aproximadamente 3,0 minutos.

*Fase móvel:* Preparar mistura de acetonitrila : água (35:65). Filtrar e degaseificar.

*Solução (1):* Pesar 10 cápsulas, remover o conteúdo e pesá-las novamente. A partir do peso médio, pesar a quantidade de pó equivalente a 10,0 mg de hidrocortisona base e transferir para balão volumétrico de 50mL. Completar o volume com acetonitrila agitar e filtrar. Diluir o filtrado

com o mesmo solvente para a concentração final de 20 µg/mL.

*Solução (2):* Pesar 10,0 mg de hidrocortisona base SQR e transferir para balão volumétrico de 50 mL. Completar o volume com acetonitrila, agitar e filtrar. Diluir o filtrado com o mesmo solvente para a concentração final de 20 µg/mL.

*Procedimento:* Injetar separadamente 25µL das *Soluções (1)* e *(2)*, registrar os cromatogramas e medir as áreas dos picos. Calcular quantidade de C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub> partir das respostas obtidas com a *Solução (1)* e *Solução (2)*.

#### EMBALAGEM E ARMAZENAMENTO

Em recipiente bem fechado, ao abrigo da luz e à temperatura ambiente.

#### ROTULAGEM

Observar a legislação vigente.