

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

RENATA CRISTINA DA SILVA

**ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE PARA
BROMOPRIDA, LISINOPRIL E PANTOPRAZOL POR ANÁLISE TÉRMICA,
ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA**

ALFENAS/MG

2025

RENATA CRISTINA DA SILVA

**ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE PARA
BROMOPRIDA, LISINOPRIL E PANTOPRAZOL POR ANÁLISE TÉRMICA,
ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA**

Tese apresentada como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutora em Química, pela
Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração:
Química Analítica.

Orientadora: Profa. Dra. Jerusa Simone Garcia Trevisan
Coorientador: Prof. Dr. Marcello Garcia Trevisan

ALFENAS/MG

2025

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Silva, Renata Cristina da.

Estudos de compatibilidade fármaco-excipiente para bromoprida, lisinopril e pantoprazol por análise térmica, espectroscopia no infravermelho e cromatografia líquida / Renata Cristina da Silva. - Alfenas, MG, 2025.

132 f. : il. -

Orientador(a): Jerusa Simone Garcia Trevisan.

Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Compatibilidade fármaco-excipiente. 2. Análise térmica. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência. 4. FT-IR. 5. Bromoprida. I. Trevisan, Jerusa Simone Garcia , orient. II. Título.

RENATA CRISTINA DA SILVA

ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE PARA BROMOPRIDA, LISINOPRIL E PANTOPRAZOL POR ANÁLISE TÉRMICA, ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO E CROMATOLOGRAFIA LÍQUIDA

A Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Tese apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Analítica

Aprovada em: 14 de abril de 2025.

Profa. Dra. Jerusa Simone Garcia Trevisan
Presidente da Banca Examinadora
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Prof. Dr. Marcelo Antonio de Oliveira
Instituição: Universidade Federal do Espírito Santo

Profa. Dra. Maria Betânia de Freitas Marques
Instituição: Universidade Federal de Alfenas

Dra. Josiane Souza Pereira Daniel
Instituição: GM Regulatórios, GM Laboratório

Prof. Dr. Eduardo Tonon de Almeida
Instituição: Universidade Federal de Alfenas



Documento assinado eletronicamente por **Jerusa Simone Garcia Trevisan, Professor do Magistério Superior**, em 22/04/2025, às 14:59, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1494635** e o código CRC **E605A5DD**.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer, primeiramente, a Deus, por minha vida e por todas as bênçãos concedidas ao longo desta jornada. Sua presença foi essencial em cada passo dado, trazendo força e esperança nos momentos mais desafiadores.

Aos meus orientadores, Dra. Jerusa Simone Garcia Trevisan e Dr. Marcello Garcia Trevisan, agradeço profundamente pela orientação, apoio e inspiração ao longo deste trabalho. Suas contribuições foram fundamentais para o meu crescimento acadêmico e pessoal.

Aos meus pais, Dalvimar e Juvêncio, e à minha irmã Aline, minha eterna gratidão pelo amor incondicional, apoio constante e por acreditarem em mim nos momentos em que duvidei de mim mesma. Sem vocês, este sonho não teria se tornado realidade.

Aos meus amigos Lucas Henrico, Caio e Luckerman, obrigado pela amizade, companheirismo e palavras de incentivo que fizeram toda a diferença durante essa caminhada.

A todos que, de maneira direta ou indireta, contribuíram para que esse sonho se concretizasse, deixo meu sincero agradecimento. Cada gesto de apoio, palavra de incentivo ou simples presença teve um impacto significativo nesta conquista.

Aos órgãos de fomento: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) e Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior Brasil (CAPES) Código de Financiamento 001.

O presente trabalho foi realizado com apoio financeiro da “Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

RESUMO

Tendo em vista que as interações entre o fármaco e os excipientes da formulação podem alterar a natureza química, a estabilidade e a biodisponibilidade do fármaco, comprometendo assim eficácia do medicamento, o objetivo dos autores com o presente estudo foi avaliar a compatibilidade fármaco-excipiente para os fármacos Bromoprida (BROM), Lisinopril (LIS) e Pantoprazol (PAN) com excipientes farmacêuticos de uso comum. Os fármacos foram caracterizados por calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) e difração de Raios-X em pó (PXRD). Para avaliar a compatibilidade dos fármacos, as amostras do fármaco puro, dos excipientes e das misturas binárias fármaco/excipientes na razão de 1:1 (m/m) foram analisadas por DSC ou TG, FT-IR e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), além do teste de estresse isotérmico. O estudo de compatibilidade dos fármacos LIS e PAN foram realizados pela combinação de técnicas analíticas de TG, FT-IR e CLAE. Realizou-se uma avaliação das curvas TG simuladas a partir das misturas binárias, obtidas pela soma dos perfis térmicos do fármaco e do respectivo excipiente. Para isso, empregou-se o coeficiente de correlação de Pearson como ferramenta para examinar semelhanças entre os perfis experimentais e simulados. Os resultados da TG apontaram provável interação do LIS com a lactose monidratada e manitol, enquanto que a FT-IR revelou provável interação com o manitol. Os resultados obtidos por meio da CLAE revelaram que as misturas binárias, nas quais o LIS estava em combinação com a lactose e o manitol apresentaram uma redução no teor correspondente a 8 e 21%, respectivamente. Os resultados da TG indicaram uma possível interação química entre o PAN e o manitol, porém, os dados de FT-IR e CLAE confirmaram que ocorreu a degradação do excipiente e não do PAN. De modo geral, o estudo de compatibilidade entre o fármaco PAN e os excipientes selecionados não revelou qualquer sinal de incompatibilidade. Os estudos de compatibilidade da BROM com os excipientes selecionados foram conduzidos por meio da combinação das técnicas analíticas de DSC, FT-IR e CLAE. Os resultados da DSC mostraram provável interação com a maioria dos excipientes estudados, exceto com manitol e talco. No entanto, os resultados de CLAE mostraram que apenas dióxido de silício coloidal, fosfato de cálcio di-hidratado, estearato de magnésio e celulose microcristalina são incompatíveis com a BROM, apresentando redução do teor entre 19 a 44%. Os excipientes croscarmelose sódica, hidroxipropil-metil-celulose, lactose monohidratada e polivinilpirrolidona apesar de terem sido apontados pelo DSC não tiveram suas interações químicas com a BROM confirmadas pela CLAE. Também foi realizada uma tentativa de recristalização e/ou formação de sais de BROM utilizando diversos

solventes, como acetonitrila, metanol, DMSO, acetona e etanol, além de diferentes ácidos concentrados, como clorídrico, bromídrico e nítrico. Apesar da expectativa de obter um sal de BROM ou promover a recristalização em uma nova forma polimórfica, nenhuma das tentativas resultou em um resultado satisfatório.

Palavras-chave: Compatibilidade fármaco-excipiente; bromoprida; lisinopril; pantoprazol; análise térmica, cromatografia líquida de alta eficiência, FT-IR

ABSTRACT

Considering that interactions between the drug and the formulation excipients can alter the chemical nature, stability, and bioavailability of the drug, thereby compromising the effectiveness of the medication, the objective of this study was to evaluate drug-excipient compatibility for the drugs Bromopride (BROM), Lisinopril (LIS), and Pantoprazole (PAN) with commonly used pharmaceutical excipients. The drugs were characterized using differential scanning calorimetry (DSC), thermogravimetry (TG), Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR), and powder X-ray diffraction (PXRD). To assess drug compatibility, samples of the pure drug, excipients, and binary drug/excipient mixtures at a 1:1 (w/w) ratio were analyzed using DSC or TG, FT-IR, and high-performance liquid chromatography (HPLC), in addition to the isothermal stress test. The compatibility study of the drugs LIS and PAN was conducted using a combination of analytical techniques, including TG, FT-IR, and HPLC. An evaluation of the simulated TG curves was performed based on binary mixtures, obtained by summing the thermal profiles of the drug and the respective excipient. To achieve this, the Pearson correlation coefficient was employed as a tool to examine similarities between the experimental and simulated profiles. The TG results indicated a possible interaction between LIS and both lactose monohydrate and mannitol, while FT-IR suggested a probable interaction with mannitol. The results obtained through HPLC revealed that the binary mixtures in which LIS was combined with lactose and mannitol exhibited a reduction in content of 8% and 21%, respectively. The TG results suggested a possible chemical interaction between PAN and mannitol. However, the FT-IR and HPLC data confirmed that this interaction was only due mannitol degradation, and decreasing in PAN assay was not observed. Overall, the compatibility study between the drug PAN and the selected excipients did not reveal any signs of incompatibility. The compatibility studies of BROM with the selected excipients were conducted using a combination of analytical techniques, including DSC, FT-IR, and HPLC. The DSC results indicated a probable interaction with most of the excipients studied, except for mannitol and talc. However, HPLC results showed that only colloidal silicon dioxide, dicalcium phosphate dihydrate, magnesium stearate, and microcrystalline cellulose were incompatible with bromopride, exhibiting a reduction in content ranging from 19% to 44%. The excipients sodium croscarmellose, hydroxypropyl methylcellulose, lactose monohydrate, and polyvinylpyrrolidone, despite being flagged by DSC, did not have their chemical interactions with BROM confirmed by HPLC. Additionally, an attempt was made to recrystallize and/or form salts of BROM using various solvents, such

as acetonitrile, methanol, DMSO, acetone, and ethanol, as well as different concentrated acids, including hydrochloric, hydrobromic, and nitric acids. Despite the expectation of obtaining a BROM salt or promoting recrystallization into a new polymorphic form, none of the attempts yielded a satisfactory result.

Keywords: Drug-excipient compatibility; bromopride; lisinopril; pantoprazole; thermal analysis; high-performance liquid chromatography; FT-IR.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Representação gráfica da estrutura química da BROM.....	33
Figura 2 -	Representação gráfica da estrutura química do LIS.....	35
Figura 3 -	Representação gráfica da estrutura química do PAN.....	38
Figura 4 -	Análise térmica do LIS (DSC, TG, DTG).....	55
Figura 5 -	Espectro infravermelho do LIS na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1}	56
Figura 6 -	Difração de Raios-X de pó do LIS.....	57
Figura 7 -	Curvas TG de LIS, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficas de correlação das misturas binárias que não apresentaram alterações.....	59
Figura 8 -	Curvas TG de LIS, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficas de correlação das misturas binárias referentes aos excipientes lactose monohidratada (LM) e manitol (Man).	61
Figura 9 -	Curvas DTG do LIS, excipiente e das misturas experimental e simulada.....	62
Figura 10 -	Gráfico de espectro de IR do LIS e das misturas binárias antes e depois do aquecimento.....	65
Figura 11 -	Gráfico de espectro de IR da mistura binária LIS + Man antes e depois do aquecimento.....	66
Figura 12 -	Gráfico de linearidade do LIS em 225 nm na faixa de $20,0$ a $120,0\text{ mg.L}^{-1}$ ($n=3$).....	67
Figura 13 -	Gráfico de dispersão dos resíduos.....	68
Figura 14 -	Cromatogramas de LIS e dos excipientes.....	71
Figura 15 -	Cromatogramas de LIS nas misturas binárias após aquecimento.....	72
Figura 16 -	Cromatogramas representativos de LIS, LIS +LM e LIS +Man após estresse isotérmico em estufa a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 30 dias.....	75
Figura 17 -	Análise térmica do PAN.....	77
Figura 18 -	Ponto de fusão do PAN.....	79
Figura 19 -	Espectro infravermelho do PAN na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1}	80
Figura 20 -	Difração de Raios-X de pó do PAN.....	81
Figura 21 -	Curvas TG do PAN, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficas de correlação das misturas binárias.....	82
Figura 22 -	Curvas DTG do PAN, excipiente e das misturas experimental e simulada.....	84
Figura 23 -	Espectro FT-IR do PAN e das misturas binárias antes e depois do aquecimento.....	86
Figura 24 -	Espectro FT-IR do excipiente Mac, do PAN e das misturas binárias PAN + Mac antes e depois do aquecimento.....	87
Figura 25 -	Gráfico de linearidade do PAN em 290 nm na faixa de $200,0$ a $4000,0\text{ mg.L}^{-1}$ ($n=3$).....	89
Figura 26 -	Gráfico de dispersão dos resíduos.....	90
Figura 27 -	Cromatogramas de PAN e dos excipientes.....	92
Figura 28 -	Cromatogramas de PAN nas misturas binárias após aquecimento.....	93

Figura 29 -	Análise térmica da BROM.....	96
Figura 30 -	Espectro infravermelho da BROM na faixa de 4000 cm ⁻¹ a 400 cm ⁻¹ , 32 varreduras com resolução de 4 cm ⁻¹	98
Figura 31 -	Difração de Raios-X de pó da BROM	99
Figura 32 -	Curvas DSC da BROM e dos excipientes isolados: temperatura de 40 °C a 180 °C; razão de aquecimento 10°C.min ⁻¹ e atmosfera de N ₂ com fluxo de 50 mL.min ⁻¹	100
Figura 33 -	Curvas DSC de BROM, excipiente e misturas binárias 1:1 (m/m)	103
Figura 34 -	Gráfico de espectro de IV da BROM e das misturas binárias antes e depois do aquecimento	107
Figura 35 -	Gráfico de linearidade da BROM em 310 nm na faixa de 200,0 a 2000,0 mg.L ⁻¹ (n=3).....	110
Figura 36 -	Gráfico de dispersão dos resíduos	111
Figura 37 -	Cromatogramas da BROM e dos excipientes após o aquecimento	113
Figura 38 -	Cromatogramas de BROM das misturas binárias após o aquecimento	114
Figura 39 -	Cromatogramas representativos de BROM, BROM + CM, BROM + DSc, BROM + EM e BROM + FCD após teste de estresse isotérmico	117
Figura 40 -	Tentativa de formação de sal de brometo de BROM utilizando a acetonitrila após total evaporação deste solvente.....	119
Figura 41 -	Difração de Raios-X de pó da BROM e da tentativa de formação de sal de brometo de BROM utilizando a acetonitrila após total evaporação deste solvente.....	120

LISTA DE SIGLAS

Am	Amido
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BROM	Bromoprida
CarS	Carbonato de sódio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CM	Celulose microcristalina
CS	Croscarmelose sódica
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
DSc	Dióxido de silício coloidal
EM	Estearato de magnésio
EMA	Agência Europeia de Medicamentos
FCD	Fosfato dicálcico di-hidratado
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FT-IR	<i>Fourier Transform Infrared Spectroscopy</i>
HPMC	Hidroxipropil-metil-celulose
IFA	Insumo farmacêutico ativo
IPEC	<i>International Pharmaceutical Excipient Council</i>
LIS	Lisinopril dihidratado
LM	Lactose monohidratada
Mac	Macrogol
Man	Manitol
PAN	Pantoprazol sódico sesquihidratado

PVP	Polivinilpirrolidona
PXRD	Difração de Raios-X em pó
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
Tal	Talco
TG	Termogravimetria
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	OBJETIVOS	19
1.1.1	Objetivos específicos	19
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	20
2.1	ESTUDO DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE.....	20
2.2.	INTERAÇÕES QUÍMICAS ENTRE FÁRMACO-EXCIPIENTES.....	22
2.3.	TÉCNICAS UTILIZADAS NO ESTUDO DE COMPATIBILIDADE.....	25
2.3.1	Análise térmica	26
2.3.2	Espectroscopia no infravermelho	28
2.3.3	Cromatografia Líquida de alta eficiência	30
2.3.4	Teste de estresse isotérmico	31
2.4	FÁRMACOS ALVO DESTE ESTUDO	32
2.4.1	Bromoprida	32
2.4.2	Lisinopril dihidratado	35
2.4.3	Pantoprazol sesquihidratado	37
3	MATERIAIS E METODOS	41
3.1	INSTRUMENTOS E ACESSÓRIOS	41
3.2	MATÉRIAS-PRIMAS	41
3.2.1	Bromoprida	42
3.2.2	Lisinopril	42
3.2.3	Pantoprazol	42
3.3	PREPARO DE AMOSTRAS	43
3.4	CARACTERIZAÇÃO DOS FÁRMACOS	43
3.4.1	Análise termogravimétrica (TG)	43
3.4.2	Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	43
3.4.3	Difratometria de Raios-X	44
3.4.4	Espectroscopia no infravermelho	44
3.5	ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE DOS FÁRMACOS	45
3.5.1	Por análise térmica	45
3.5.2	Por cromatografia líquida	46
3.5.2.1	CLAE-BROM.....	46

3.5.2.2	CLAE-LIS	48
3.5.2.3	CLAE-PAN	49
3.5.2.3.1	Validação analítica	49
3.5.3	Por FT-IR	51
3.5.4	Testes de estresse isotérmico	52
3.6	RECRISTALIZAÇÃO E FORMAÇÃO DE SAIS DE BROM	52
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	54
4.1	CARACTERIZAÇÃO DO LIS	54
4.1.1	Análise térmica	54
4.1.2	Espectroscopia no infravermelho	55
4.1.3	Difratometria de Raios-X	56
4.2	ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM O LIS	57
4.2.1	Análise térmica	57
4.2.2	FT-IR	64
4.2.3	Validação analítica do método cromatográfico para LIS	67
4.2.3.1	Avaliação da compatibilidade fármaco-excipiente do LIS por CLAE	69
4.2.4	Teste de estresse isotérmico do LIS	74
4.3	CARACTERIZAÇÃO DO PAN	76
4.3.1	Análise térmica	76
4.3.2	Espectroscopia no infravermelho	79
4.3.3	Difratometria de Raios-X	80
4.4	ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM O PAN	81
4.4.1	Análise térmica	82
4.4.2	Estudo de compatibilidade por FT-IR	85
4.4.3	Validação analítica do PAN por CLAE	88
4.4.3.1	Compatibilidade fármaco-excipiente do PAN por CLAE	91
4.4.3	Teste de estresse isotérmico para o PAN	94
4.5	CARACTERIZAÇÃO DA BROM	95
4.5.1	Análise térmica	95
4.5.2	Espectroscopia no infravermelho	97
4.5.3	Difratometria de Raios-X	98
4.6	ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM A BROM	99
4.6.1	Análise térmica	99

4.6.2	Estudo de compatibilidade por FT-IR	106
4.6.3	Validação analítica da BROM por CLAE	109
4.6.3.1	Compatibilidade fármaco-excipiente da BROM por CLAE.....	112
4.6.3	Teste de estresse isotérmico para a BROM	116
4.7	RECRISTALIZAÇÃO E FORMAÇÃO DE SAIS DE BROM	118
5	CONCLUSÃO	121
	REFERENCIAS	123

1 INTRODUÇÃO

O sucesso no desenvolvimento de um produto farmacêutico está intrinsecamente ligado à qualidade do projeto de formulação. No processo de pré-formulação para a criação de formas farmacêuticas, um marco crucial é a análise da compatibilidade entre fármaco e excipientes. Essa etapa desempenha um papel determinante na identificação antecipada de potenciais incompatibilidades físico-químicas que podem surgir no medicamento quando transformado em sua forma farmacêutica (Narang; Mantri; Raghavan, 2017; Gorain *et al.*, 2018). A investigação da compatibilidade tem como objetivo primordial prever interações que possam ocorrer entre os fármacos, entre fármaco-excipiente e mesmo entre diferentes excipientes. Nesse contexto, é importante avaliar a magnitude do risco associado a essas interações para assegurar a integridade e eficácia do produto farmacêutico (Gorain *et al.*, 2018).

Caso as interações entre fármaco e excipientes comprometam a estabilidade do medicamento, estratégias devem ser adotadas para mitigar tal instabilidade. Isso não apenas minimiza os riscos relacionados à estabilidade do produto, mas também gera economia em termos de recursos e tempo, ao evitar complicações que possam surgir durante a fase final de desenvolvimento do produto (Kurm *et al.*, 2019). Assim, a condução criteriosa desses estudos já nas etapas iniciais de pré-formulação é fundamental, contribuindo para a eficiência do desenvolvimento e o sucesso do produto no mercado farmacêutico.

A pesquisa farmacêutica nessa área tem direcionado a atenção para a aplicação de técnicas de análise térmica em estudos de pré-formulação. Essas abordagens têm se mostrado fundamentais para a caracterização e avaliação da estabilidade térmica de fármacos, bem como para a compreensão das interações entre fármacos e excipientes. Nesse contexto, diversos trabalhos têm emergido, explorando os benefícios dessas técnicas. Um exemplo é o estudo conduzido por Lopes e colaboradores (2020), que investigaram a compatibilidade do cetoconazol, um fármaco antifúngico imidazólico, cuja formulação oral foi aprovada nos Estados Unidos em 1981, mas atualmente é utilizada apenas por via tópica devido a preocupações com toxicidade hepática. O estudo de compatibilidade investigou a interação do fármaco e vários excipientes essenciais, como amido de milho, celulose microcristalina, dióxido de silício coloidal, lactose monohidratada e povidona. Para essa investigação, os autores empregaram calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria. As conclusões desse estudo indicaram que nem todos os excipientes se mostraram compatíveis com o fármaco em questão. Notavelmente, o amido de milho e o

dióxido de silício coloidal apresentaram incompatibilidade com o Cetoconazol, fornecendo informações decisivas para a seleção criteriosa de excipientes em futuras formulações.

Outra pesquisa conduzida por Melchiades (2020) investigou a compatibilidade entre o kaempferol, um flavonol pertencente à subclasse dos flavonoides, e os excipientes associados. Para atingir esse objetivo, empregaram uma abordagem multifacetada, fazendo uso de análise térmica, que incluiu calorimetria exploratória diferencial e termogravimetria. A investigação também incluiu testes de estresse isotérmico por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier. Os resultados obtidos pela equipe indicaram que todas as combinações entre o Kaempferol e os excipientes testados são compatíveis, trazendo informações valiosas para a formulação segura e eficaz das formulações contendo este fármaco.

Essas abordagens ilustram o impacto que as técnicas de análise térmica, assim como outras igualmente importantes, como CLAE, difração de Raios-X e espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier, estão exercendo no avanço dos estudos de pré-formulação na indústria farmacêutica. Ao compreender a interação entre fármaco e excipientes, bem como ao obter informações precisas sobre a estabilidade térmica, os pesquisadores têm a capacidade de aperfeiçoar a formulação de medicamentos, garantindo a segurança, eficácia e qualidade dos produtos destinados aos pacientes.

Este estudo abrange a avaliação de três fármacos de relevância terapêutica: a bromoprida e o pantoprazol, recomendados para o tratamento de distúrbios gastrointestinais, e o lisinopril, empregado no controle da hipertensão arterial e doenças coronárias. Esses fármacos foram selecionados por ainda não apresentarem estudos de compatibilidade com excipientes e por terem sido disponibilizados por empresas farmacêuticas parceiras. No âmbito deste trabalho, reside o propósito de conduzir uma caracterização abrangente destes fármacos, empregando técnicas analíticas como a Termogravimetria (TG), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Difração de Raios-X de pó (PXRD) e Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR). Ademais, um enfoque crucial deste estudo envolve a avaliação inédita da compatibilidade de cada fármaco mencionado com os excipientes frequentemente utilizados em formulações farmacêuticas. Os excipientes selecionados foram diferentes para cada fármaco e escolhidos com base nas bulas disponíveis no mercado. Para isso, a abordagem adotada consistiu na investigação de misturas binárias fármaco-excipiente, mantendo a proporção de 1:1 (m/m). Os estudos foram realizados utilizando técnicas de análise térmica, como DSC e TG. Para aprimorar a interpretação dos dados obtidos pela TG, foi elaborada uma curva simulada correspondente

à mistura fármaco-excipiente. Adicionalmente, o coeficiente de Pearson foi empregado para avaliar a similaridade entre as curvas experimentais e simuladas de cada mistura. Outras técnicas analíticas também foram empregadas, incluindo FT-IR e CLAE para a identificação de interações químicas, além do teste de estresse isotérmico.

A combinação dessas técnicas analíticas permite uma melhor compreensão das possíveis interações entre os fármacos selecionados e os excipientes comumente utilizados, contribuindo para a escolha adequada de componentes em formulações farmacêuticas. Dessa forma, este estudo busca antecipar incompatibilidades, otimizando a eficácia terapêutica, a segurança e a qualidade dos medicamentos desde as etapas iniciais do desenvolvimento.

1.1 OBJETIVOS

Avaliar a compatibilidade dos fármacos bromoprida, lisinopril e pantoprazol na presença de excipientes comumente utilizados nas formulações utilizando diferentes técnicas analíticas.

1.1.1 Objetivos específicos

Diante do exposto estabeleceram-se os seguintes objetivos específicos:

- a) caracterizar os fármacos bromoprida (BROM), lisinopril dihidratado (LIS) e pantoprazol sódico sesquihidratado (PAN) utilizando TG, DSC, FT-IR e PXRD;
- b) realizar estudo da compatibilidade da BROM com excipientes farmacêuticos utilizando DSC, FT-IR e CLAE;
- c) realizar estudo da compatibilidade do LIS com excipientes farmacêuticos utilizando TG, FT-IR e CLAE;
- d) realizar estudo da compatibilidade do PAN com excipientes farmacêuticos utilizando TG, FT-IR e CLAE;
- e) realizar estudo da recristalização e formação de sais de BROM.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A seguir será apresentada uma revisão bibliográfica a respeito do tema abordado neste trabalho.

2.1 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE

Os fármacos são administrados por meio de formulações farmacêuticas. Uma formulação farmacêutica é caracterizada como a combinação de um ou mais fármacos juntamente com excipientes específicos (Chadha; Bhandari, 2014). Os excipientes podem constituir de 1% a 99% da massa total da formulação e desempenham diversas funções, tais como: solubilizar, suspender, diluir, emulsificar, estabilizar e também auxiliar na aceitabilidade pelo paciente por meio de características como cor, cheiro e sabor. Entretanto, a função mais importante de qualquer excipiente é garantir a segurança e eficácia do medicamento durante toda a formulação, período de armazenamento, durante e após sua administração (Dave *et al.*, 2014; Abrantes, Duarte; Reis, 2016). Fundamentalmente, os excipientes são geralmente definidos por instituições como a *United States Food and Drug Administration* (US FDA), a *United States Pharmacopeia* (USP) e o *International Pharmaceutical Excipient Council* (IPEC) como componentes com função predominantemente inerte em relação aos fármacos nos medicamentos. No entanto, essa visão nem sempre reflete a realidade, pois os excipientes podem participar de interações químicas ou físicas com o insumo farmacêutico ativo (IFA). Sendo compostos orgânicos, eles podem interagir com grupos funcionais reativos do fármaco, o que pode levar a alterações estruturais ou funcionais que impactem sua estabilidade ou eficácia. (Dave *et al.* 2014; Narang *et al.*, 2015; Abrantes; Duarte; Reis, 2016).

Com o objetivo final de garantir a segurança dos excipientes usados na indústria farmacêutica, as principais agências reguladoras como a agência americana FDA, a Agência Europeia de Medicamentos (EMA) e, no Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) exigem testes de excipientes farmacêuticos para verificar a identidade, pureza, rastreabilidade dos lotes a qualquer momento, estabilidade e qualidade (GMP, 2018). Estes testes rotineiros se tornaram essenciais para a produção de medicamentos mais seguros e eficazes, devendo acatar as orientações sobre princípios de uso de animais em toxicologia e também estar atentos as boas práticas de laboratório (Abrantes; Duarte; Reis, 2016). Quando

um novo excipiente é introduzido no mercado farmacêutico, as agências reguladoras exigem que sejam atendidos os requisitos de qualidade e segurança estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) na RDC nº 34/2015 (Brasil, 2015), que trata das Boas Práticas de Fabricação para medicamentos. Caso haja monografias publicadas para um determinado excipiente, todos os métodos de teste descritos devem ser realizados e os resultados devem estar de acordo. No caso de não existir monografias, o fabricante deve usar métodos de teste semelhantes a outras monografias, sendo necessário realizar a avaliação dos mesmos, respeitando o Guia de Validação ICH Q2 (R2): 2024 (Elder; Kuentz; Holm, 2016; Kar *et al.*, 2019).

As interações entre o fármaco e os excipientes utilizados em sua formulação representam um aspecto crítico na pesquisa farmacêutica. Essas interações podem ser físicas ou químicas e tem o potencial de exercer impactos significativos em diversos aspectos, como a natureza química do fármaco, sua estabilidade ao longo do tempo, a biodisponibilidade e, por conseguinte, tanto sua eficácia terapêutica quanto seu perfil de segurança (Ding *et al.*, 2017; Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020). As interações físicas em geral, podem afetar o desempenho do medicamento, como: a taxa de dissolução ou a uniformidade da dosagem e a biodisponibilidade do fármaco. As interações químicas podem levar a ocorrência de impurezas, ou até mesmo em casos mais graves à degradação do fármaco (Chadha; Bhandari, 2014; Abrantes; Duarte; Reis, 2016; Gorain *et al.*, 2018).

Reconhecidamente, as interações entre fármaco e excipientes podem desencadear modificações sutis ou substanciais na propriedade do fármaco, o que pode repercutir diretamente na qualidade do tratamento oferecido aos pacientes. Diante disso, uma análise abrangente das interações entre fármacos e excipientes é de suma importância para orientar a formulação de medicamentos que não somente sejam eficazes, mas também seguros e consistentes em termos de qualidade. Essa avaliação pode garantir que as interações entre o fármaco e seus excipientes não comprometam as propriedades terapêuticas do medicamento.

Uma forma inicial para prever incompatibilidades entre fármaco e excipientes, ou mesmo entre excipientes, é a aplicação de métodos computacionais. Por meio desses métodos, é possível acessar informações detalhadas disponíveis em bancos de dados especializados, como a presença de grupos funcionais reativos, valores de pK_a e reatividades de compostos estruturalmente semelhantes, previamente conhecidos. Essas informações são relevantes para a seleção de excipientes adequados e podem ser obtidas através de softwares computacionais como CAMEO, SPARTAN, EPWIN e Pharm D3 (Chadha; Bhandari, 2014; Abrantes; Duarte; Reis, 2016; Narang; Mantri; Raghavan, 2016; Kar *et al.*, 2019).

A análise computacional, ao processar os dados obtidos, possibilita uma previsão inicial da compatibilidade química entre fármacos e excipientes. Entretanto, apesar de sua utilidade, essa abordagem não deve ser utilizada como única fonte de informação para a avaliação de compatibilidade. Ela deve ser complementada por técnicas experimentais e estudos laboratoriais, que são indispensáveis para a validação dos dados e para garantir a segurança e eficácia do produto final. (Chadha; Bhandari, 2014; Abrantes; Duarte; Reis, 2016; Narang; Mantri; Raghavan, 2016; Kar et al., 2019)

A avaliação efetiva das possíveis interações entre fármacos e excipientes é realizada através dos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente. Os estudos de compatibilidade estão presentes nas pesquisas voltadas para o desenvolvimento de novos medicamentos. Ao mesmo tempo, alguns trabalhos relatam incompatibilidades fármaco-excipiente em medicamentos já existentes no mercado (Santos *et al.*, 2021). Para realizar um estudo de compatibilidade, geralmente, são utilizadas misturas físicas de fármaco-excipiente na proporção 1:1 massa/massa. Esta proporção demasiadamente alta em relação à formulação é mantida com a finalidade de maximizar a proporção fármaco-excipiente, aumentando desta forma a probabilidade de incompatibilidade (Chadha; Bhandari, 2014; Gorain *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2018).

As misturas binárias, após serem homogeneizadas, devem ser submetidas a análises utilizando técnicas analíticas capazes de avaliar a compatibilidade entre o fármaco e o excipiente. Vale ressaltar que não existe um protocolo padrão universalmente aceito para este tipo de estudo, o que torna essencial o uso de diferentes abordagens analíticas para garantir a precisão da avaliação das interações entre o fármaco e outros componentes (Chadha; Bhandari, 2014).

A realização de estudos de compatibilidade fármaco-excipiente é essencial para garantir a estabilidade, segurança e eficácia dos medicamentos. Embora não exista um protocolo universalmente aceito para essa avaliação, a aplicação de abordagens computacionais e experimentais permite identificar possíveis interações que possam comprometer a qualidade da formulação. Dessa forma, a investigação criteriosa dessas interações contribui significativamente para o desenvolvimento de medicamentos mais seguros e eficazes, minimizando riscos de degradação e assegurando a manutenção das propriedades terapêuticas ao longo do tempo.

2.2 INTERAÇÕES QUÍMICAS ENTRE FÁRMACO-EXCIPIENTES

A incompatibilidade química entre o fármaco e excipientes pode causar efeitos indesejáveis, como a formação de produtos de degradação tóxicos ou redução da eficácia clínica do tratamento. As reações químicas mais frequentemente observadas em produtos farmacêuticos incluem hidrólise, oxidação, isomerização, fotólise e polimerização, além de interações específicas com os componentes da formulação, como excipientes e suas respectivas impurezas (Narang *et al.*, 2012; Dave *et al.*, 2015; Gorain *et al.*, 2018).

Diversos fatores contribuem para a ocorrência de reações químicas em formulações farmacêuticas. A temperatura, por exemplo, é um fator determinante na cinética das reações. Santos *et al.* (2021) destacam que o aumento da temperatura pode acelerar significativamente as reações, influenciando diretamente a estabilidade dos fármacos. O pH do meio também exerce um papel crucial, como demonstrado em diversos estudos. Condições ácidas ou básicas podem catalisar reações de hidrólise, comprometendo a integridade molecular dos fármacos (Oliveira; Yoshida; Gomes, 2011).

A umidade, tanto no estado sólido do produto quanto na umidade relativa do ambiente, é outro fator crítico. A presença de água pode promover reações de hidrólise e afetar a estabilidade de fármacos higroscópicos (Santos *et al.*, 2020). Além disso, a presença de catalisadores, como íons metálicos, pode acelerar significativamente reações de oxidação, como evidenciado por diversos estudos na literatura (Oliveira; Yoshida; Gomes, 2011).

A exposição à luz e ao oxigênio também são fatores de instabilidade, podendo induzir processos de fotodegradação e oxidação, respectivamente. Características físicas do fármaco e dos excipientes, como a forma física (amorfismo ou cristalino) e o tamanho das partículas, também influenciam significativamente a reatividade e a estabilidade do produto final. A forma amorfa, por exemplo, é geralmente mais reativa devido à maior energia livre do sistema (Chaurasia, 2016).

A hidrólise é uma reação química amplamente conhecida que ocorre quando um composto interage com a água em diferentes faixas de pH. No contexto farmacêutico, essa reação pode comprometer a estabilidade do fármaco e dos excipientes, levando à formação de produtos de degradação que podem impactar a qualidade, eficácia e segurança do medicamento. Certos excipientes são particularmente suscetíveis à hidrólise, especialmente aqueles que possuem grupos funcionais como ésteres e amidas em sua estrutura química.

Durante o processo hidrolítico, os ésteres geralmente se degradam formando álcoois e ácidos carboxílicos, enquanto as amidas podem gerar ácidos carboxílicos e aminas. Esses produtos de degradação podem, por sua vez, reagir com o fármaco ou outros componentes da formulação, potencializando a instabilidade da formulação (Gorain *et al.*, 2018).

A hidrólise dos ésteres pode ser influenciada significativamente pelo pH do meio. Em ambientes ácidos, a reação tende a alcançar um estado de equilíbrio, enquanto em ambientes básicos, a hidrólise ocorre de forma irreversível, resultando na completa conversão do éster em seus produtos de degradação (Gorain *et al.*, 2018).

Além de ser um fator que favorece a hidrólise, a água também pode atuar como meio reacional, aumentando a plasticidade e a mobilidade molecular do sistema. Esses efeitos podem acelerar reações químicas indesejadas, comprometendo a integridade do medicamento ao longo do tempo. Alguns excipientes possuem a capacidade de minimizar esses efeitos ao adsorver a água, reduzindo sua disponibilidade para reações químicas. Um exemplo disso são a sílica coloidal e a sílica gel que podem ajudar a prevenir a degradação do fármaco ao reduzir a atividade da água na formulação. Por outro lado, excipientes como a celulose microcristalina possuem água fracamente adsorvida, o que a torna mais reativa e potencialmente envolvida em processos de degradação (Narang *et al.*, 2012).

A oxidação, outro fator responsável pela degradação de fármacos devido às interações com excipientes, envolve a remoção de um átomo, radical ou elétron eletropositivo, ou, de forma inversa, a adição de uma fração eletronegativa. A oxidação pode ocorrer de maneira espontânea, mas é frequentemente acelerada por fatores como a presença de oxigênio, íons de metais pesados e exposição à luz, que atuam como catalisadores na formação de radicais livres altamente reativos. Fármacos que contêm grupos funcionais como aldeídos, álcoois, fenóis, alcaloides e ácidos graxos insaturados são especialmente vulneráveis à degradação oxidativa (Gorain *et al.*, 2018).

A reação de Maillard é um dos principais mecanismos de degradação que podem ocorrer devido à interação entre fármacos e excipientes. Esse processo envolve a reação entre grupos amina primária ou secundária presentes no fármaco e açúcares redutores frequentemente utilizados como excipientes em formulações sólidas. Essa reação não enzimática pode levar ao escurecimento da formulação, formação de impurezas indesejáveis e possível perda da eficácia terapêutica do medicamento (Dave *et al.*, 2015; Narang *et al.*, 2012; Qiu *et al.*, 2005).

Excipientes como lactose e glicose são frequentemente envolvidos na reação de Maillard quando interagem com fármacos contendo grupos amina. Essa reação ocorre em três etapas principais, iniciando-se com a formação da Base de Schiff, onde o grupo carbonila de um açúcar redutor reage com o grupo amina de um fármaco ou excipiente, resultando em um intermediário instável de imina. Em seguida, essa estrutura sofre um rearranjo molecular, dando origem ao produto de Amadori, um composto mais estável e característico dessa reação. Na etapa final, esse produto passa por processos de degradação, incluindo oxidação e desidratação, culminando na formação de compostos aromáticos e pigmentos escuros conhecidos como melanoidinas (Gorain *et al.*, 2018; Bharate *et al.*, 2010).

Em vista dos fatores que influenciam a estabilidade e a integridade das formulações farmacêuticas, a avaliação da compatibilidade entre o fármaco e o excipiente é essencial para garantir a qualidade e segurança dos medicamentos. A próxima seção abordará as técnicas analíticas utilizadas para estudar essa compatibilidade, proporcionando uma compreensão detalhada dos métodos que podem ser aplicados para detectar e mitigar possíveis interações químicas prejudiciais entre os componentes da formulação.

2.3 TÉCNICAS UTILIZADAS NO ESTUDO DE COMPATIBILIDADE

Na busca por uma formulação de um produto eficaz, diferentes métodos analíticos vêm sendo utilizados em estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, como: métodos térmicos: DSC, análise térmica diferencial (DTA), TG, microscopia de estágio quente; métodos espectroscópicos: Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR), difração de Raios-X em pó (PXRD), espectroscopia vibracional e espectroscopia de ressonância magnética nuclear de estado sólido (ssRMN); método microscópico: microscopia eletrônica de varredura (MEV) e métodos cromatográficos: CLAE e Cromatografia em camada delgada (CCD) (Gorain *et al.*, 2018).

Para a identificação adequada de incompatibilidade o ideal é fazer combinações de métodos térmicos e não térmicos (Chadha; Bhandari, 2014). As análises térmicas e métodos espectroscópicos são relativamente simples que fornecem resultados imediatos. As técnicas, como DSC e TG são mais usadas para triagem de compatibilidade, pois são de fácil uso,

baixo custo e que usa uma quantidade pequena de amostra. Já as técnicas espectroscópicas, como FT-IR, apesar de serem facilmente conduzidas, geram grandes volumes de dados o que leva a uma trabalhosa interpretação e que, normalmente, necessitam de análise quimiométrica para extrair a informação desejada (Melchiades *et al.*, 2020).

O estudo de compatibilidade quando realizado apenas com a DSC pode ser inconclusivo, por isso é recomendado combinar a DSC com outras técnicas, como TG (Santos *et al.*, 2021), FT-IR (Ledeti *et al.*, 2017), PXRD (Ding *et al.*, 2017), CLAE (Niguram *et al.*, 2020) e teste de estresse isotérmico (Veras *et al.*, 2019) para gerar interpretação mais precisa.

Em resumo, a combinação de diferentes métodos analíticos tem se mostrado crucial para a avaliação da compatibilidade fármaco-excipiente, permitindo uma abordagem abrangente e eficaz na identificação de potenciais incompatibilidades. As próximas seções discutirão mais detalhadamente as técnicas específicas utilizadas neste trabalho, como Análise Térmica, Espectroscopia no Infravermelho e a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, bem como o Teste de Estresse Isotérmico.

2.3.1 Análise térmica

Os métodos térmicos, como já mencionados, oferecem análise rápida, além de ser uma ferramenta de triagem pouco trabalhosa. Dentre os métodos térmicos, a DSC é a primeira escolha aplicada à triagem rápida de incompatibilidade (Rojek; Wesolowski, 2019). Essa técnica registra a diferença de energia cedida a uma amostra e a um material de referência em função da temperatura, quando estas são submetidas a um programa controlado de temperatura (Clas; Dalton; Hancock, 1999). A DSC apresenta vantagens expressivas: requer pequena quantidade amostra (cerca de 2–5 mg), curto tempo de análise (algumas horas), resultados simples, taxas de aquecimento/resfriamento personalizáveis e abrange ampla faixa de temperatura (Gao *et al.*, 2015; Niguram *et al.*, 2020; Lopes *et al.*, 2020; Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020). Outras vantagens são que os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente realizados por DSC não necessitam de armazenamento por longos períodos da mistura antes da avaliação e nem estarem sob condições extremas de temperatura e umidade para acelerar as interações (Oliveira *et al.*, 2011). Apesar de muito utilizada a DSC, apresenta limitações que devem ser levadas em consideração, esta é uma técnica semi-quantitativa, além de proporcionar um ambiente diferente das condições

normais de estocagem, uma vez que as amostras são expostas a altas temperaturas (Chadha; Bhandari, 2014).

A análise de DSC para avaliação de compatibilidade envolve registrar as curvas do excipiente individual, do fármaco e das misturas físicas fármaco-excipiente em uma taxa padrão de aquecimento, geralmente sob uma atmosfera de nitrogênio. Ao comparar as curvas resultantes destas análises, realiza-se a sobreposição das mesmas que são então interpretadas a fim de determinar se as propriedades térmicas da mistura são uma soma dos componentes individuais. Um sinal de interação é identificado quando ocorrem mudanças no aparecimento ou desaparecimento de um pico de transição, mudanças na temperatura de transição ou alterações na forma e área do pico. As interações fármaco-excipiente só serão confirmadas definitivamente quando os resultados obtidos com outras técnicas também indicarem a incompatibilidade, uma vez que pequenas mudanças na altura, forma e largura do pico podem ser devido a mudanças prováveis no estado cristalino da mistura, não configurando, portanto, em interação química. Outra maneira de comprovar uma possível interação é com o cálculo da entalpia, já que as misturas binárias possuem a razão 1:1 m/m espera-se encontrar a metade da entalpia para o pico quando comparadas com a curva térmica do fármaco puro (Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020).

A análise por DSC tem sido proposta como uma ferramenta eficaz e ágil para a avaliação das alterações físico-químicas entre os diversos componentes de uma formulação. Rosasco e colaboradores utilizaram DSC, em conjunto com outras técnicas de triagem, para avaliar a compatibilidade do antibiótico tobramicina, que pertence à classe dos aminoglicosídeos, um grupo de antibióticos bactericidas, com diferentes excipientes. As interações foram avaliadas a partir das curvas DSC, analisando a aparência, mudança ou desaparecimento dos picos. Neste estudo foi demonstrado que o Tobramicina é incompatível com cloreto de benzalcônio, ácido bórico, sorbato de potássio, fosfato de sódio monobásico, EDTA dissódico, metabissulfito de sódio e timerosal (Rosasco *et al.*, 2018).

Melchiades *et al.* (2020), utilizaram DSC e TG, juntamente com teste de estresse térmico, CLAE e FT-IR para detectar incompatibilidades entre kaempferol e seus excipientes. Os resultados das análises térmicas isoladamente indicaram que ocorreram interações entre o fármaco e todos os excipientes estudados, exceto um, a celulose microcristalina. Entretanto, ao prosseguir a investigação pelas demais técnicas foi constatada compatibilidade entre Kaempferol e todos os excipientes. Desta forma, o estudo mostrou a importância de combinar diferentes técnicas durante a pré-formulação.

A TG, outra técnica termoanalítica muito usada nos estudos de compatibilidade fármaco-excipientes, pode determinar a composição de um material, quando acoplada à outra técnica de identificação como espectrometria de massas (MS) ou espectroscopia no infravermelho, e também determinar a estabilidade térmica. É possível caracterizar o material caso ele exiba uma mudança na massa devido à interação física ou química. Esta técnica fornece dados sobre a taxa de mudança de massa em função da temperatura, de modo que a perda ou ganho de massa pode ocorrer devido à decomposição, evaporação ou dessorção e oxidação (Gorain *et al.*, 2018). A técnica pode ser empregada em estudos de compatibilidade, visto que a alteração de parâmetros como a temperatura de decomposição, pode estar associada a uma interação fármaco-excipientes.

As técnicas DSC e TG podem ser usadas em conjunto para a conclusão final no estudo de compatibilidade. Por exemplo, quando em uma análise realizada no DSC ocorrer o aparecimento de um pico endotérmico em torno de 100°C, este pode estar relacionado a uma interação ou à perda de água de uma molécula hidratada. Deste modo, a elucidação do evento pode ser comprovada caso seja realizado uma análise paralela em TG, uma vez que, a desidratação é acompanhada de perda de massa na curva (Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020).

Em um estudo de compatibilidade realizado por Trandafirescu e colaboradores (2019) buscou-se identificar a interação entre os sistemas binários de albendazol-ciclodextrinas com excipientes farmacêuticos, utilizando entre outras técnicas TG/DTG (termogravimetria derivada). As análises foram realizadas em cadinhos abertos em atmosfera dinâmica de ar sintético. Os resultados mostraram que em temperaturas acima de 40°C ocorreu a desidratação seguida de termólise e indicando interações em todas as amostras avaliadas.

Diante do exposto, enfatiza-se que cada método térmico disponível para a análise da compatibilidade fármaco-excipientes possui vantagens e desvantagens. Desta forma, para avaliar a interação entre componentes, uma escolha sensata é a abordagem integrada e combinada. Os métodos térmicos são eficazes para detectar alterações nas propriedades térmicas das substâncias, porém os dados de apenas uma técnica isolada são insuficientes para inferir a existência da interação entre IFA e excipientes. Para confirmação da ocorrência de incompatibilidade química ou interação apontada por métodos termoanalíticos uma alternativa é a aplicação da cromatografia líquida (Tita *et al.*, 2011a).

2.3.2 Espectroscopia no infravermelho

A espectroscopia no infravermelho (FT-IR, do inglês “*Fourier Transform Infrared Spectroscopy*”) é uma técnica amplamente empregada tanto para a investigação do comportamento do estado sólido do fármaco e suas respectivas formulações quanto como uma ferramenta eficiente na avaliação de compatibilidade (Rojek *et al.*, 2016). Essa metodologia baseia-se na interação entre a radiação infravermelha e as ligações químicas presentes em uma amostra, fornecendo informações sobre os grupos funcionais e possíveis interações moleculares (Gorain *et al.*, 2018).

A técnica de FT-IR é utilizada para identificar interações químicas potenciais entre o fármaco e os excipientes de uma formulação por meio da análise dos grupos funcionais característicos do fármaco puro, dos excipientes puros e das misturas físicas. As variações vibracionais registradas nos espectros possibilitam a identificação de potenciais interações intermoleculares entre os componentes analisados uma vez que podem ser detectadas novas bandas de estiramento, além de deslocamentos ou alterações de intensidade que possam evidenciar essas interações (Rojek *et al.*, 2016).

A análise por espectroscopia de infravermelho pode ser prejudicada pela presença de bandas sobrepostas nos espectros, o que reduz a precisão e a confiabilidade (ROJEK *et al.*, 2016). Por essa razão, a técnica, quando utilizada isoladamente, não é adequada para prever com precisão a compatibilidade ou incompatibilidade em misturas farmacêuticas. A sobreposição de bandas em misturas físicas representa um obstáculo à detecção de alterações vibracionais específicas de determinados componentes. Além disso, grupos funcionais presentes em uma molécula, bem como possíveis contaminantes, podem absorver energia em intervalos de frequência semelhantes, gerando informações que podem ser interpretadas de forma ambígua e dificultando a identificação de incompatibilidades entre o fármaco e os excipientes (Rojek *et al.*, 2016, Chadha; Bhandari, 2014).

Vlase e coladores (2018) investigaram a compatibilidade do micofenolato mofetil, pertencente à classe farmacológica dos imunossupressores, com 5 excipientes (hidroxietilcelulose, celulose microcristalina, dióxido de silício, talco e estearato de magnésio) por meio das técnicas FT-IR e TG/DSC. A etapa inicial deste estudo consistiu na comparação dos espectros de infravermelho médio obtidos das misturas binárias, analisados antes e após serem submetidos à análise térmica. Essa abordagem permitiu avaliar possíveis alterações nas características espectrais decorrentes das investigações térmicas, contribuindo

para a compreensão das interações entre os componentes das misturas. A análise por FT-IR mostrou que os excipientes hidroxietilcelulose e celulose microcristalina poderiam desencadear algumas interações induzidas termicamente.

No estudo realizado por Tita e colaboradores (2014), a compatibilidade entre o fármaco indometacina, pertencente à classe farmacológica dos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), e seus excipientes foi investigada utilizando análise térmica como técnica principal, complementada por espectroscopia FT-IR e difração de raios X. As interações observadas entre a Indometacina e os excipientes ácido esteárico, povidona e estearato de magnésio, inicialmente identificadas pela análise térmica, foram confirmadas por meio da FT-IR e difração de raios X.

Com base no exposto, conclui-se que a espectroscopia FT-IR é uma técnica complementar indispensável em estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, pois fornece dados relevantes sobre interações intermoleculares e auxilia na interpretação dos resultados obtidos por outras técnicas analíticas.

2.3.3 Cromatografia Líquida de alta eficiência

A técnica de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é amplamente aplicada e explorada na realização de estudos de compatibilidade fármaco-excipientes. Entretanto, ela é utilizada muitas vezes para confirmar os resultados da triagem inicial de incompatibilidade usando métodos térmicos ou por espectroscopia no infravermelho (Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020). Essa técnica abrange não apenas pesquisas de pré-formulação para quantificação de componentes medicamentosos, mas também a identificação e avaliação do grau de incompatibilidade destes componentes. Para realização das análises por CLAE, as amostras são diluídas adequadamente em solvente apropriado e, posteriormente, são injetadas no sistema para a determinação da concentração do IFA (Gorain *et al.*, 2018).

Normalmente, a CLAE é utilizada para analisar amostras que foram previamente submetidas a testes de estresse isotérmico. Após esse processo, as amostras são analisadas por CLAE, e a incompatibilidade é avaliada por meio da quantificação do IFA. Se houver uma redução no teor de fármaco na mistura em relação ao fármaco puro, isso pode indicar

uma interação entre o fármaco e o excipiente. (Chadha; Bhandari, 2014; Ghaderi; Monajjemzadeh, 2020).

O estudo realizado por Niguram e colaboradores (2020) investigou a compatibilidade da empagliflozina, pertencente à classe farmacológica dos inibidores do cotransportador sódio-glicose tipo 2 (SGLT2), com diferentes excipientes. O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente foi conduzido usando DSC, TG, FT-IR, PXRD e microscopia de estágio quente (HSM). Estudos teste de estresse isotérmico foram realizados e o teor do fármaco avaliado por CLAE. No geral, o fármaco mostrou compatibilidade com 13 excipientes selecionados. No entanto, os resultados de DSC e teste de estresse isotérmico indicaram interação do fármaco com macrogol.

No trabalho de Marothu e colaboradores (2015) foi realizado um estudo de compatibilidade do fumarato de bisoprolol, que pertence à classe farmacológica dos betabloqueadores seletivos, com excipientes selecionados. Neste estudo as misturas binárias (proporção 1:10) do fármaco com cada excipiente foram submetidas ao teste de estresse isotérmico e avaliadas por CLAE. Os resultados indicaram que o Fumarato de bisoprolol puro apresentou uma degradação de 18,6% após ser submetido ao teste de estresse isotérmico. A degradação mais acentuada do fumarato de bisoprolol foi observada na presença de hidroxianisol butilado (89,4%), ácido cítrico anidro (89%), manitol (77%) e glicerol (61,9%).

A compatibilidade do ácido rosmarínico com excipientes foi realizada por Veras e colaboradores (2019) por DSC e TG, FT-IR e CLAE. As análises por CLAE foram realizadas após teste de estresse isotérmico. Para tal, a cada mistura binária foi adicionada à 10% (m/m) de água e em seguida estas amostras foram armazenadas em estufa a 50°C por três semanas. As misturas do fármaco com croscarmelose sódica e estearato de magnésio apresentaram perda de teor de 16 e 30%, respectivamente, confirmando a degradação química do fármaco.

Geralmente, a CLAE é utilizada para analisar as amostras do teste de estresse isotérmico. No entanto, nesta Tese, além da realização desse teste, a CLAE também foi empregada na análise das misturas binárias fármaco-excipiente. Neste caso, o preparo prévio das misturas fármaco-excipiente foi utilizado, com o objetivo de simular as condições de temperatura a que as misturas são submetidas nas análises térmicas, como DSC e TG.

2.3.4 Teste de estresse isotérmico

No teste de estresse isotérmico, o fármaco sozinho e as misturas fármaco-excipientes são armazenadas em ambiente controlados, que pode ser com ou sem umidade em alta temperatura por um período específico de tempo (cerca de 3 a 4 semanas) com a finalidade de acelerar qualquer interação fármaco-excipiente (Chadha; Bhandari, 2014).

A incompatibilidade química é avaliada determinando o teor do fármaco nas amostras armazenadas, geralmente por CLAE. Os resultados da CLAE que mostram uma perda percentual semelhante à do fármaco analisado isoladamente indicam a ausência de interação com os excipientes. Por outro lado, diferenças significativas na degradação sugerem a ocorrência de incompatibilidade entre os componentes da formulação.

Embora o método seja útil, a principal desvantagem do teste de estresse isotérmico é o tempo de análise prolongado e a necessidade de uma quantificação precisa. Em contrapartida, as técnicas térmicas apresentam vantagens significativas em relação aos testes convencionais de estresse isotérmico. A análise térmica permite a obtenção de dados sem a necessidade de longos períodos de armazenamento ou do desenvolvimento de metodologias específicas para cada princípio ativo, como ocorre no teste de estresse isotérmico. Além disso, as técnicas de análise térmica possibilitam a realização de um grande número de testes de triagem de excipientes em um tempo reduzido, tornando o processo mais eficiente (Chadha; Bhandari, 2014). Idealmente, a combinação da técnica térmica como a DSC e do teste de estresse isotérmico é recomendada para uma seleção mais eficiente de excipientes (Bharate *et al.*, 2010).

2.4 FÁRMACOS ALVO DESTE ESTUDO

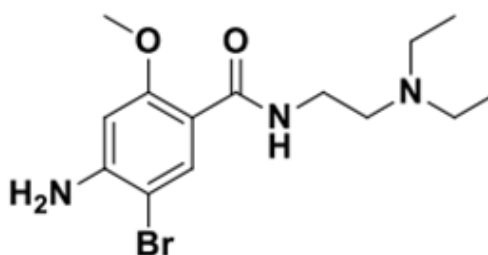
Neste estudo, serão abordados três fármacos de interesse: BROM, LIS e PAN. A compreensão das características físico-químicas desses compostos é essencial para avaliar sua compatibilidade com excipientes e sua estabilidade em diferentes condições. Nas seções subsequentes, serão discutidas as propriedades e aplicações de cada um desses fármacos, fornecendo uma base para a análise de suas interações e comportamento em formulações farmacêuticas.

2.4.1 Bromoprida

A BROM é um fármaco empregado no tratamento de refluxo gastroesofágico, síndrome do intestino irritável, dispepsia funcional, gastroparesia diabética, exame radiológico do trato gastrointestinal e vômitos induzidos por quimioterapia (Silva *et al.*, 2015).

A BROM (FIGURA1), conhecida pelo nome químico 4-amino-5-bromo-N-[2-(dietilamino)etil]-2-metoxibenzamida, é um pó cristalino, branco a marfim, praticamente insolúvel em água, pouco solúvel em acetona, etanol e éter etílico, moderadamente solúvel em acetonitrila, porém solúvel em soluções diluídas de ácidos minerais (F. Bras. 7ª Ed., 2024). Possui massa molar de 344,26 g/mol, fórmula química $C_{14}H_{22}BrN_3O_2$, dois grupos ionizáveis com pK_a de 2,04 e 9,35, log P (coeficiente de partição) de 2,8, com estrutura análoga à metoclopramida, sendo ambas derivadas da benzamida, (Abreu *et al.*, 2021; Carrer *et al.*, 2016).

Figura 1 - Representação gráfica da estrutura química da BROM.



Fonte: Abreu (2021).

A BROM pertencente à classe dos agentes procinéticos e antieméticos. O efeito procinético está relacionado ao bloqueio dos receptores de dopamina D2 no trato gastrointestinal e no sistema nervoso central, o que estimula a motilidade gástrica e aumenta a taxa de esvaziamento do estômago. As propriedades antieméticas por sua vez ajudam a prevenir náuseas e vômitos (Tonini *et al.*, 2004; Lachi-silva *et al.*, 2020).

Aprovada pela ANVISA, a BROM é comercializada no Brasil, onde possui ampla disponibilidade. No Brasil, há cerca de 40 formulações registradas, englobando cápsulas, comprimidos, soluções orais, injetáveis e gotas pediátricas (Lachi-silva *et al.*, 2020).

A utilização da BROM cresceu especialmente após a retirada da Cisaprida do mercado nos anos 2000. A decisão da FDA de descontinuar a Cisaprida foi motivada por

relatos de efeitos adversos graves, incluindo mortes, o que levou à substituição deste procinético por alternativas mais seguras. Nos Estados Unidos, essa mudança impulsionou o uso da metoclopramida, enquanto no Brasil, a BROM tornou-se a principal opção (Lachi-Silva et al., 2020).

Apesar de sua ampla utilização no Brasil, a BROM possui disponibilidade restrita globalmente. Ela não é comercializada nos Estados Unidos nem no Reino Unido, mas pode ser encontrada em países como Taiwan, Itália, Espanha e Alemanha (Lachi-Silva *et al.*, 2020). Nesses mercados, o fármaco é comercializado sob diferentes nomes, como Digesan, produzido pela Sanofi-Synthelabo, e Plamet, fabricado pela Libbs, além de estar disponível na versão genérica.

A BROM foi amplamente estudada na área da saúde entre as décadas de 1970 e 1980, período em que demonstrou eficácia clínica, levando à sua incorporação na prática pediátrica. Embora a BROM seja amplamente utilizada em alguns países, há uma escassez de estudos clínicos recentes que avaliem sua eficácia e segurança em comparação com outros antieméticos disponíveis (Portela *et al.*, 2014).

A literatura científica apresenta um número limitado de estudos sobre a determinação da BROM. Em 2014, Lima e colaboradores desenvolveram um método espectrofotométrico baseado na técnica de análise por injeção em fluxo (FIA), que possibilitou a quantificação direta de BROM em formulações farmacêuticas e amostras de urina. O método proposto se destaca pela alta precisão, sensibilidade e reprodutibilidade, sendo uma alternativa eficaz para a análise da BROM em diferentes matrizes (Lima *et al.*, 2014).

Fontana e colaboradores (2010) validaram métodos analíticos para quantificar a BROM em formulações farmacêuticas líquidas. Os autores desenvolveram métodos utilizando cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa (RP-LC) e espectrofotometria UV, visando garantir precisão, exatidão e especificidade na determinação do fármaco em soluções orais e injetáveis. Os métodos propostos foram validados de acordo com parâmetros como linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e robustez, demonstrando-se adequados para o controle de qualidade da BROM nessas formulações.

A BROM é um medicamento classificado como Classe II pelo Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), caracterizado por sua baixa solubilidade e alta permeabilidade (Silva et al., 2015). Para superar essa limitação e melhorar sua

biodisponibilidade, algumas estratégias têm sido estudadas com o objetivo de aumentar sua solubilidade.

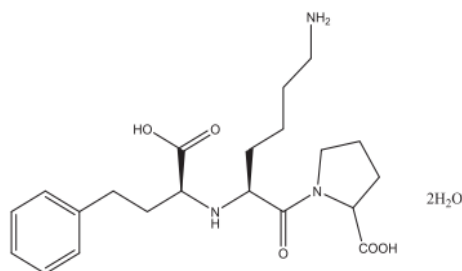
Carrer e colaboradores (2016) investigaram as propriedades térmicas da BROM recristalizada a partir de diferentes solventes e sob diversas condições de temperatura. Os autores realizaram análises térmicas para avaliar como esses fatores influenciam as características físico-químicas do fármaco. Os resultados forneceram informações sobre a estabilidade térmica e possíveis modificações polimórficas da BROM, dados essenciais para o desenvolvimento e armazenamento adequados deste medicamento.

Um estudo conduzido por Bello e colaboradores (2022) explorou o desenvolvimento de um sistema de liberação sustentada baseado em montmorilonita para administração oral da BROM. Os resultados demonstraram que essa abordagem representa uma alternativa promissora para prolongar a liberação do fármaco, contribuindo para a melhoria de sua eficácia terapêutica.

2.4.2 Lisinopril dihidratado

O LIS é um fármaco com o nome químico de [N2-[(S)-1-carboxi-3-fenilpropil]-L-lisil]-L-prolina di-hidratado. Possui massa molar de 441,5 g/mol, solubilidade em água de 97 mg/mL, um log P de -1,8 e fórmula molecular $C_{21}H_{31}N_3O_5 \cdot 2H_2O$ (Helal; Lane, 2014), sendo sua estrutura apresentada na Figura 2. O LIS é comercializado apenas na forma de comprimido de 5 mg, 10 mg ou 20 mg.

Figura 2 - Representação gráfica da estrutura química do LIS



Fonte: Sbârcea *et al.* (2016).

Disponível comercialmente desde 1987, LIS é amplamente utilizado na terapia para o tratamento de muitas doenças, incluindo hipertensão, insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio e nefropatia diabética. Sua forma cristalina mais estável encontrada em medicamentos comerciais é um di-hidratado (Fujii *et al.*, 2012; Sorrenti *et al.*, 2013; Grosu *et al.*, 2020).

O LIS é um composto derivado sintético, análogo do dipeptídeo N-carboxialquil lisil-prolina (Lin; Wang, 2012). Ele atua como um inibidor da enzima conversora de angiotensina (ECA), bloqueando a ação dessa enzima que normalmente cliva a angiotensina I relativamente inativa em angiotensina II ativa. Isso leva a um efeito em que os vasos sanguíneos se expandem ou dilatam, resultando na diminuição da pressão sanguínea (Arayne *et al.*, 2013).

Do ponto de vista farmacêutico, o LIS é classificado como um fármaco de classe III no SCB. Sua biodisponibilidade oral é relativamente baixa, atingindo cerca de $25 \pm 4\%$, o que impacta sua absorção após a administração. Aproximadamente 30% da dose ingerida é absorvida, e a concentração plasmática máxima do fármaco é alcançada entre 6 e 8 horas. A dose diária máxima recomendada é de 80 mg. (Sorrenti *et al.*, 2013; Helal; Lane, 2014).

Gul e colaboradores (2017) realizaram uma revisão abrangente sobre as principais técnicas analíticas utilizadas para a quantificação do LIS em diferentes matrizes, como formulações farmacêuticas e fluidos biológicos. O estudo analisou diversos métodos, incluindo CLAE, cromatografia gasosa (GC), espectrometria de massas (MS), espectrofotometria UV-Vis e técnicas eletroquímicas, avaliando suas vantagens, limitações e aplicações específicas na análise desse fármaco. A maioria dos métodos de CLAE revisados demonstra grande potencial de aplicação prospectiva, destacando-se como uma alternativa viável para análises precisas e confiáveis do lisinopril em diferentes matrizes. Além disso, técnicas emergentes, como eletroforese capilar e imunoenaios, foram discutidas como alternativas promissoras para a determinação mais eficiente do fármaco. A busca por novos métodos reflete a necessidade de superar limitações das técnicas convencionais, garantindo análises mais precisas e reprodutíveis, fundamentais para o controle de qualidade e monitoramento clínico do LIS.

Além do aprimoramento das técnicas analíticas, novas abordagens têm sido investigadas para melhorar as propriedades físico-químicas do LIS. Sbârcea e colaboradores (2016) investigaram a formação de complexos de inclusão entre o LIS e zofenopril cálcio

(ZOF) com β -ciclodextrina (β -CD). Os complexos preparados foram caracterizados por técnicas como análise térmica, PXRD, FT-IR e espectroscopia UV. Os resultados confirmaram a formação de complexos de inclusão em estado sólido e em solução, com estequiometria de 1:1 para ambos os fármacos. O estudo avaliou a compatibilidade do sistema binário LIS/ β -CD com lactose na proporção 1:1 (m/m) utilizando TG, DTG e FT-IR. Os resultados do estudo indicam que o complexo de inclusão formado entre LIS e β -CD apresenta uma compatibilidade significativamente maior com a lactose. Essa interação favorável sugere que a encapsulação do LIS na cavidade da β -CD pode ser uma estratégia promissora para o desenvolvimento de novas formulações farmacêuticas.

Além da complexação com β -CD, outras estratégias para modificar as características físico-químicas do LIS têm sido exploradas. Nesse contexto, Sorrenti e colaboradores (2013) investigaram novas formas sólidas do LIS. Os pesquisadores realizaram recristalizações a partir de diferentes solventes e expuseram o produto de sua desidratação a diversos vapores sob condições controladas, resultando na identificação de formas anidras e amorfas do LIS, que apresentaram taxas de dissolução intrínseca significativamente superiores à da forma diidratada comercialmente disponível. A caracterização físico-química dessas novas formas incluiu técnicas como PXRD com temperatura constante e programada, DSC, TG e FT-IR. Além disso, o estudo determinou pela primeira vez a estrutura cristalina do lisinopril diidratado por difração de raios X de monocristal, revelando sua natureza duplamente zwitteriônica no estado sólido.

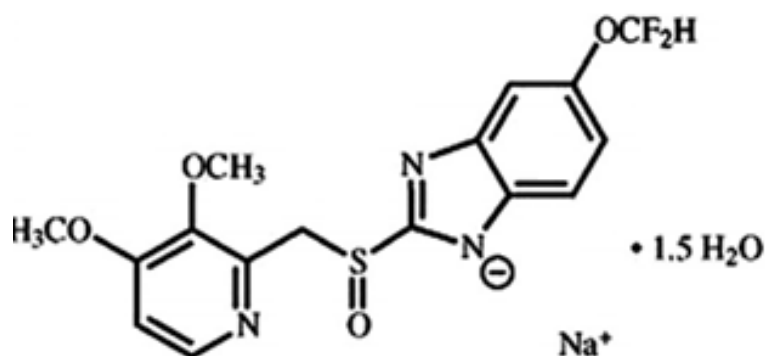
2.4.3 Pantoprazol sesquihidratado

O PAN (FIGURA 3), derivado de benzimidazol, é classificado como um dos inibidores da bomba de prótons, possui fórmula molecular $C_{16}H_{14}F_2N_3 \cdot NaO_4S \cdot 1,5H_2O$, massa molar de 432,4 g/mol, valor de pK_a de 3,9, um $\log P$ de 2,11 e solubilidade em água de 0,49 mg/mL (Ramadan et al., 2015).

Os primeiros estudos do PAN datam de 1989, ele foi aprovado pelo FDA em 2000 (Protonix ® comprimidos revestidos) e tem especialidades farmacêuticas registradas na ANVISA desde 1995 (Jungnickel, 2000). Lançado no mercado em 1997, o PAN continua sendo amplamente prescrito. De acordo com o relatório da IQVIA sobre gastos e acessibilidade de medicamentos nos Estados Unidos, tanto o PAN quanto o omeprazol estavam entre os 20 fármacos mais prescritos em 2020 (Srebro *et al.*, 2022). O PAN de

liberação retardada é administrado por via oral na forma de comprimidos ou os grânulos de liberação são administrados via tubo nasogástrico para os pacientes que não conseguem engolir comprimidos e cápsulas (Patel, Patel², Joshi, 2018). O PAN apresenta-se no mercado nacional na forma de comprimido revestido de liberação retardada no intestino disponível em dosagem de 20 e 40 mg em embalagens fracionáveis com 7, 14, 28, 42, 56, 60, 90 unidades ou embalagem hospitalar 280 unidades.

Figura 3 - Representação gráfica da estrutura química do PAN



Fonte: Ramadan *et al.* (2015, p.464).

Os inibidores da bomba de prótons são uma classe de medicamentos supressores de ácido comumente utilizado em tratamento de distúrbios relacionados ao ácido gástrico, como: úlcera péptica, doença do refluxo gastroesofágico e síndrome de Zollinger Ellison, além de serem prescritos também no tratamento de outras doenças como infecção por *Helicobacter pylori*, câncer e infecções virais (Zhang *et al.*, 2020). Esta classe de fármacos conhecida como inibidores da bomba de prótons inclui o omeprazol, o primeiro clinicamente disponível, e mais recentemente outros como o Lansoprazol, Pantoprazol, Rabeprazol e Esomeprazol (Eslami *et al.*, 2019). O PAN, em comparação aos outros, apresenta a vantagem de possuir maior estabilidade em um ambiente de pH neutro e maior duração de ação (Nasef, Gardouh, Ghorab, 2017).

A enzima H^+ , K^+ -ATPase (ou bomba de prótons) tem papel fundamental na secreção do ácido gástrico sendo responsável pela etapa final na formação do mesmo. Os inibidores da bomba de prótons, como é o caso do PAN, trabalham de forma a inibir esta enzima realizando a supressão ácida gástrica (Zhang *et al.* 2020).

O PAN, por oferecer proteção gástrica, é muito indicado aos pacientes internados nos centros de terapia intensiva como forma de proteção à úlcera péptica de estresse, em estudos

referentes a incompatibilidades medicamentosas em cenários de terapia intensiva o PAN apresentou ser incompatível com alguns medicamentos, tais como: amicacina, fenitoína, gluconato de cálcio, ciprofloxacino, clindamicina, dexametasona, hidrocortisona, manitol, metoclopramida, vancomicina, furosemida e metadona (Paes, *et al.*, 2017).

O PAN pertence à Classe III do SCB (Srebro *et al.*, 2022), assim como o LIS. Ambos os fármacos apresentam baixa permeabilidade, o que pode comprometer sua biodisponibilidade. Para contornar essa limitação, estratégias como o desenvolvimento de formas farmacêuticas de liberação controlada podem ser utilizadas para otimizar sua absorção.

Diante desses desafios biofarmacêuticos, diferentes abordagens têm sido exploradas para otimizar a absorção do PAN. Nesse contexto, Patel e colaboradores (2018) investigaram a formulação de comprimidos que combinam a rápida desintegração na cavidade oral com a liberação retardada do PAN no trato gastrointestinal, visando melhorar a estabilidade do fármaco em ambientes ácidos e otimizar sua absorção. Os comprimidos com sistema de múltiplas unidades de pellets foram avaliados quanto à dureza, tempo de desintegração e perfil de liberação do fármaco. Os resultados indicaram que os comprimidos apresentaram dureza adequada, desintegração rápida e um perfil de liberação do PAN que permaneceu inalterado após o processo de compressão, sugerindo que a abordagem de sistema de múltiplas unidades de pellets é promissora para a administração eficaz do PAN.

Além das formulações de liberação modificada, outras estratégias têm sido investigadas para garantir a administração eficaz do PAN. Todorović e colaboradores (2023) investigaram a preparação de formulações líquidas e sólidas do PAN, visando atender às necessidades de dosagem ajustável para diferentes pacientes. O estudo compara a estabilidade química, aplicabilidade e adequação dessas formulações. Os resultados indicam que, embora ambas as formas sejam viáveis para a administração do PAN, as formulações sólidas demonstram maior estabilidade química em comparação às líquidas. Este achado sugere que, na prática de manipulação farmacêutica, as formulações sólidas podem ser preferíveis quando a estabilidade do fármaco é uma consideração crucial.

Segundo a revisão de Srebro e colaboradores (2022), diversas publicações sobre o PAN exploram uma variedade de formulações, incluindo comprimidos, nanopartículas, micropartículas, microesferas, sistemas mucoadesivos, formulações de hidrogel, revestimentos enterossolúveis e formas de liberação prolongada. No campo das novas

tecnologias de formulação, a nanotecnologia surge como uma ferramenta promissora. Sistemas nanofarmacêuticos, como nanopartículas ou lipossomos, têm mostrado grande potencial para melhorar a solubilidade e a biodisponibilidade do PAN, ao mesmo tempo em que oferecem proteção contra sua degradação ácida. Além disso, inovações em excipientes estão sendo investigadas para melhorar a estabilidade do PAN em formulações orais, com o uso de excipientes que favorecem a liberação do fármaco em pH mais elevado, como no intestino, potencializando a eficácia do tratamento.

3 MATERIAIS E METODOS

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

3.1 INSTRUMENTOS E ACESSÓRIOS

Abaixo, apresentam-se os instrumentos e acessórios utilizados ao longo do desenvolvimento deste trabalho:

- Balança analítica AY220 Shimadzu utilizada durante o preparo das amostras para pesagem das matérias-primas;
- Agitador de tubos tipo vórtex utilizado para homogeneizar as misturas binárias;
- DSC Q20 da TA Instruments (EUA) pertencente ao LabQui UNIFAL;
- Termobalança Q600 da TA Instruments (EUA) pertencente ao LabQui UNIFAL;
- Sistema UCLAE Ultimate 3000 LC system (Thermo Scientific, California), que consiste em uma bomba LPG-3400RS com desgaseificador a vácuo integrado, auto amostrador WPS-3000RS com injetor de 100 μ L, forno de coluna TCC-3000RS e detector DAD-3000RS, software Chromeleon 6.8 do LACFar, UNIFAL;
- Espectrômetro de infravermelho Affinity-1 Fourier Transform (Shimadzu) acoplado a Pike Miracle™ Attenuated Total Reflectance (ATR) pertencente ao LACFar, UNIFAL;
- Difrátômetro de Raios-X Ultima IV (Rigaku diffractometer, Japão) do Laboratório de Cristalografia da UNIFAL;
- Agitador magnético (Labnet International);
- pHmetro (MS TECNOPON);
- Microtubos de 1,5 mL de polietileno;
- Vidrarias de grau analítico do LACFar, UNIFAL;
- Microcomputador;
- Medidor de ponto de fusão modelo PF;M-II.

3.2 MATÉRIAS-PRIMAS

3.2.1 Bromoprida

Para estudos de compatibilidade foram preparadas misturas binárias de BROM (Lebsa, lote 2200010555) com excipientes de grau farmacêutico (acima de 99% de pureza), usualmente encontrado nas formulações deste IFA no mercado, tais como: celulose microcristalina (CM), croscarmelose sódica (CS), dióxido de silício coloidal (DSc), estearato de magnésio (EM), fosfato dicálcico di-hidratado (FCD), hidroxipropil-metil-celulose (HPMC), lactose monohidratada (LM), manitol (Man), polivinilpirrolidona (PVP) e talco (Tal). A acetonitrila (grau CLAE) assim como o tampão fosfato de potássio 0,01 M pH 7,0, preparado com 1,361 g de fosfato de potássio monobásico (Synth) e 2,0 mL de trimetilamina em balão de 1 L (pH ajustado com ácido fosfórico PA(Ciavicco)) foram usados na análise por CLAE.

3.2.2 Lisinopril

Para estudos de compatibilidade foram preparadas misturas binárias do fármaco LIS (Zhejiang Huahaia Pha, lote M1Q8795) com excipientes de grau farmacêutico (acima de 99% de pureza) usualmente encontrado nas formulações deste IFA no mercado, tais como: amido (Am), celulose microcristalina (CM), croscarmelose sódica (CS), dióxido de silício coloidal (DSc), estearato de magnésio (EM), fosfato dicálcico di-hidratado (FCD), lactose monohidratada (LM) e manitol (Man). Na análise por CLAE foram usados como fase móvel o metanol (grau CLAE) e a mistura água/acetonitrila (pH 3,0, ajustado com ácido fosfórico PA(Ciavicco)), de modo que a fase móvel consistia em metanol/água/acetonitrila na proporção 80:17,5:2,5 (v/v/v).

3.2.3 Pantoprazol

Para estudos de compatibilidade foram preparadas misturas binárias do fármaco PAN com excipientes de grau farmacêutico (acima de 99% de pureza) usualmente encontrado nas formulações deste IFA no mercado, tais como: carbonato de sódio (CarS), hidroxipropil-metil-celulose (HPMC), macrogol (Mac), manitol (Man), e polivinilpirrolidona (PVP). Na

análise por CLAE foram usados como fase móvel a acetronitrila (grau CLAE) e Solução A na proporção 35:65 (v:v). Para o preparo da solução A, foram dissolvidos 3,85 g de acetato de amônio em 1 L de água, ajustando-se o pH para 7,9 com solução de hidróxido de amônio diluída 1:1 com água.

3.3 PREPARO DE AMOSTRAS

Os componentes das misturas binárias fármaco-excipiente de todos os fármacos foram preparados na proporção de 1:1 (m/m). As respectivas massas foram aferidas diretamente em microtubos de 1,5 mL de polietileno contendo esferas de aço inoxidável usando microbalança analítica. O conteúdo (cerca de 3 mg para análise em DSC e cerca de 10 mg para análise em TG) foi homogeneizado em agitador de tubo vórtex por 3 min (Veronez *et al.*, 2015). Cada mistura foi preparada individualmente, considerando-se a massa total para análise, garantindo a uniformidade. Após o preparo, as amostras foram analisadas imediatamente por DSC, TG e FT-IR. O mesmo procedimento foi aplicado às amostras submetidas ao aquecimento em estufa, destinadas a análises adicionais por CLAE e FT-IR, conforme descrito no método específico.

3.4 CARACTERIZAÇÃO DOS FÁRMACOS

Antes do início dos estudos de compatibilidade, os fármacos BROM, LIS e PAN foram caracterizados físico-quimicamente, de acordo com as técnicas a seguir.

3.4.1 Análise termogravimétrica (TG)

As curvas TG (Q600 da TA Instruments (EUA)) da BROM, LIS e do PAN foram obtidas a partir da análise de 10,0 mg de amostra, acondicionada em cadinho de alumina aberto a uma taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹ e temperatura variando de 30 a 600 °C em uma atmosfera de nitrogênio a 50 mL.min⁻¹, de acordo com as diretrizes da ASTM E2550 (ASTM, 2013).

3.4.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

As curvas DSC da BROM, LIS e do PAN foram obtidas usando um DSC Q20 da TA Instruments (EUA). O gás de purga foi nitrogênio seco a uma taxa de fluxo de 50 mL.min⁻¹. Uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e faixa de temperatura de 40 até 180 °C para a BROM, de 40 até 210 °C para o LIS e de 40 até 200 °C para o PAN. Em todos os casos foram adotadas cerca de 3,0 mg de amostra. Cadinho de alumínio com tampa foi usado na análise. O padrão índio metálico foi utilizado como calibração de temperatura do equipamento ($T_{\text{onset}} = 156,4 \text{ °C}$; $\Delta H_{\text{fusão}} = 28,7 \text{ J g}^{-1}$), conforme especificado pelo ASTM E537-12 (ASTM, 2012).

Outra análise de DSC foi realizada para BROM e PAN, utilizando dois ciclos de aquecimento com resfriamento controlado. Em cada caso, aproximadamente 5 mg de amostra foram utilizados, com gás de purga de nitrogênio seco a uma taxa de fluxo de 50 mL.min⁻¹ e taxa de aquecimento de 10 °C.min⁻¹. Para a BROM, foi empregado um cadinho de alumínio fechado. O primeiro ciclo consistiu em aquecimento de 40 a 180 °C, seguido de resfriamento até 40 °C e um segundo aquecimento até 180 °C. Já para o PAN, utilizou-se um cadinho de alumínio aberto. O primeiro ciclo envolveu aquecimento de 40 a 160 °C, com manutenção da temperatura em 160 °C por 3 minutos, seguido de resfriamento controlado até 40 °C e um segundo aquecimento até 180 °C. A análise de DSC com dois aquecimentos e resfriamento controlado foi realizada para investigar o evento endotérmico observado na primeira análise, bem como para determinar a temperatura de fusão do fármaco.

3.4.3 Difractometria de Raios-X

O padrão difratométrico da estrutura cristalina da BROM, LIS e do PAN foram obtidos por PXRD com os intervalos de ângulo analítico de 2θ entre 3° e 40°, utilizando 40 kV e 30 mA. O difratômetro foi operado no modo *Step Scan*, com passo de 0,02° e tempo de integração de 0,5 segundo por passo. Empregou-se cobre como fonte de Raios-X (K_{α} médio: 1,54178) e níquel como filtro β . A análise de PXRD foi realizada utilizando um difratômetro de raios X Ultima IV (Rigaku diffractometer, Japão), sendo a amostra preparada em lâminas de vidro com uma fina camada de pó sem solvente.

3.4.4 Espectroscopia no infravermelho

As análises no infravermelho foram realizadas utilizando um espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) (Nicolet iS50, Thermo Scientific (USA)) acoplado a Pike Miracle™ Attenuated Total Reflectance (ATR). Os espectros foram registrados em temperatura ambiente usando 32 varreduras, resolução de 4 cm⁻¹ e faixa de 4000 a 400 cm⁻¹ (Pani *et al.*, 2012).

3.5 ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE FÁRMACO-EXCIPIENTE DOS FÁRMACOS

3.5.1 Por análise térmica

O estudo de compatibilidade fármaco-excipiente por análise térmica foi conduzido utilizando TG para os fármacos LIS e PAN, enquanto a técnica DSC foi empregada para o fármaco BROM. A escolha da técnica em cada caso foi baseada nas características térmicas específicas de cada fármaco, identificadas na etapa de caracterização por análise térmica.

Para os estudos de DSC envolvendo os excipientes e as misturas físicas da BROM foram realizados utilizando o mesmo equipamento e as mesmas condições descritas na Seção 3.4.2, descrita a seguir.

A análise por TG do LIS e do PAN, dos excipientes e das respectivas misturas físicas foram realizadas utilizando aproximadamente 10,0 mg de amostra previamente homogeneizada como descrito no item 3.3. Nos estudos relacionados ao LIS, o aquecimento foi realizado na faixa de 40 a 550 °C, enquanto para o PAN a faixa foi de 40 a 600 °C. As demais condições experimentais seguiram aquelas descritas na Seção 3.4.1.

Para auxiliar na interpretação dos resultados de TG foi realizada uma curva TG/DTG simulada. Para cada mistura foi produzida uma curva TG/DTG simulada a partir do somatório dos perfis térmicos dos componentes puros (LIS, PAN e excipientes). A similaridade entre a curva simulada e a curva experimental da mistura binária foi comparada utilizando o coeficiente de correlação de Pearson (Daniel, *et al.*, 2021). Este procedimento foi realizado para facilitar a identificação de possíveis incompatibilidades. Havendo incompatibilidades e formação de produtos voláteis, haverá um perfil diferente do simulado.

Para a construção da curva simulada, foram utilizados os dados obtidos das curvas TG do fármaco puro e dos excipientes, considerando a faixa de 40 a 550 °C para o LIS e de 40 a 600 °C para o PAN. A matriz de dados contém 6.022 linhas, tanto para o fármaco puro

quanto para cada excipiente, sendo essas linhas comparadas ponto a ponto para gerar a curva simulada. Cada ponto da curva simulada foi calculado utilizando a equação abaixo:

$$\text{Curva simulada} = [(M_{FAR} \times 0,5) + (M_{excipiente} \times 0,5)] \quad (1)$$

Onde M_{FAR} correspondente a curva TG referente ao fármaco puro e $M_{excipiente}$ corresponde à curva TG referente ao excipiente. O mesmo princípio foi utilizado para o cálculo das curvas DTG simuladas.

3.5.2 Por cromatografia líquida

Com o objetivo de determinar se as incompatibilidades observadas por DSC no caso da BROM e por TG no caso do LIS e PAN são de origem química ou física, foi realizado o doseamento do fármaco por CLAE.

3.5.2.1 CLAE-BROM

Nos ensaios de DSC referentes à BROM, as misturas binárias foram aquecidas antes da decomposição térmica da BROM. Desta forma, a presença de interações exclusivamente físicas não deveria causar alterações no teor original da BROM. Para a realização da avaliação por CLAE, o procedimento ideal consistiria na utilização das amostras previamente submetidas à análise por DSC. Contudo, tal abordagem não foi viável em razão da quantidade insuficiente de material remanescente nos cadinhos após a análise térmica, limitada a aproximadamente 3,0 mg, o que impossibilitou sua aplicação nas determinações por CLAE. Deste modo, para a análise por CLAE as amostras passaram por um preparo prévio a fim de mimetizar as condições térmicas obtidas nos testes de DSC e possibilitar sua comparação. Vale ressaltar que a simples mistura binária à temperatura ambiente é insuficiente para causar uma incompatibilidade imediata para maioria dos casos.

O resultado da análise térmica realizada na etapa de caracterização da BROM auxiliou na escolha da temperatura de aquecimento realizado por meio de estufa. Para o preparo das amostras, 5 mg de BROM e também 10 mg das misturas fármaco-excipiente na proporção 1:1 (m/m) devidamente homogeneizadas permaneceram na estufa em isoterma a

180 °C por 20 min. Essa temperatura foi escolhida por estar 18 °C acima da fusão da BROM e 56 °C abaixo da sua temperatura de degradação térmica. O tempo de permanência das amostras na estufa foi determinado por meio de experimentos prévios sendo testados 10, 20 e 30 min. Após a permanência das amostras na estufa a 180 °C pelos tempos previamente descritos, elas foram analisadas por CLAE para determinação do teor do fármaco, sendo considerado ideal o tempo em que não houve perda desse teor.

Após serem retiradas da estufa, as mesmas foram diluídas com acetonitrila em balão de 10 mL, sonicadas em banho de ultrassom por 40 min e então analisadas em CLAE. Todo procedimento foi realizado em triplicata.

A análise por CLAE foi feita usando um sistema Ultimate 3000 LC (Thermo Scientific, EUA). O método cromatográfico foi baseado na Farmacopeia do Brasil (Brasil, 2019). A água deionizada foi obtida por meio de um sistema de purificação de água Milli-Q Gehaha. Acetonitrila grau CLAE CROMASOLV®≥99,9% e tampão fosfato de potássio 0,01 M, pH 7,0 foram usados na fase móvel. A coluna cromatográfica foi uma Eclipse XDP-Phenyl (Agilent), 4,6 mm×250 mm, com tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel consistia em tampão fosfato de potássio:acetonitrila na proporção 60:40 (v:v). O fluxo foi de 1,0 mL min⁻¹, a temperatura da coluna mantida em 30 °C, o comprimento de onda de detecção de 310 nm e o volume de injeção de 10 µL. As concentrações dos padrões foram 200,0, 500,0, 1000,0, 1500,0 e 2000,0 mg L⁻¹. A área do pico foi usada para a construção da curva de calibração.

As amostras controles de BROM foram preparadas de modo que a concentração do fármaco esperada fosse de 500,0 mg.L⁻¹. A Equação 2 foi utilizada para calcular a área corrigida para todas as misturas levando em consideração a massa usada na mistura fármaco-excipientes.

$$A_c = \left(\frac{[BROM]_c}{m_m} \right) \times A_m \quad (2)$$

Sendo A_c a área corrigida, $[BROM]_c$ a concentração da amostra controle, m_m a massa do fármaco usada na mistura e A_m a área do pico correspondente a BROM na mistura. A partir do cálculo da área corrigida a concentração de BROM nas misturas foram calculadas por meio da equação da reta referente à curva de calibração.

Em seguida a Equação 3 foi utilizada para o cálculo do teor relativo de BROM nas misturas.

$$T(\%) = \left(\frac{[M]}{[BROM]_c} \right) \times 100 \quad (3)$$

Sendo T o teor relativo, [M] a concentração da BROM na mistura e [BROM]_c a concentração da amostra controle.

3.5.2.2 CLAE-LIS

A CLAE foi empregada para verificar se as variações de massas observadas nos resultados de TG, em altas temperaturas, estão relacionadas a perda de teor do fármaco. Pelos mesmos motivos expostos no item 3.5.2.1, o LIS também passou por um preparo prévio a fim de mimetizar as condições térmicas obtidas nos testes de TG e possibilitar sua comparação das amostras submetidas à análise em CLAE.

As amostras foram preparadas pesando 4 mg de LIS e também 8 mg das misturas fármaco-excipiente devidamente homogeneizadas que permaneceram na estufa em isoterma a 170 °C por 5 min. (5 °C abaixo da sua temperatura de degradação térmica). O tempo de estufa foi determinado por meio de experimentos prévios observando a integridade do teor do fármaco e os resultados da análise térmica da etapa de caracterização do LIS. Os tempos testados das amostras na estufa foram de 5, 7 e 10 min, sendo o intervalo de 5 min. empregado nesta avaliação.

Após serem retiradas da estufa as amostras foram diluídas em metanol/água/acetonitrila na proporção 80:17,5:2,5 (v/v/v) em balão de 10 mL, sonicadas em banho de ultrassom por 20 min e então analisadas por CLAE. Todo procedimento foi realizado em triplicata. As concentrações dos padrões para a curva de calibração foram 20, 40, 60, 80, 100 e 120 mg.L⁻¹. A área do pico foi usada para a elaboração da curva de calibração.

A análise por CLAE foi realizada usando mesmo equipamento citado na secção 3.5.2.1 As condições cromatográficas foram escolhidas de acordo com a o trabalho de Arayne e colaboradores (2013). A coluna cromatográfica foi uma Roc C18, 4,6 mm×150 mm, com tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel consistia em metanol/água/acetonitrila na proporção 80:17,5:2,5 (v/v/v) pH 3,0 (corrigido com ácido fosfórico concentrado). A taxa de fluxo foi de 0,7 mL/min, a temperatura da coluna mantida em 30 °C, o comprimento de onda de detecção de 225 nm e o volume de injeção de 2 µL.

A amostra controle de LIS foi inicialmente preparada com concentração de 400,0 mg.L⁻¹ e, em seguida, diluída na proporção de 1:5, resultando em uma concentração final de 80,0 mg.L⁻¹. Esse valor foi adotado como referência para representar 100% do teor de LIS. A área corrigida, concentração e teor relativo das misturas foram calculados seguindo mesmo raciocínio descrito na sessão 3.5.2.1.

3.5.2.3 CLAE-PAN

O PAN também passou por um preparo prévio a fim de simular as condições térmicas obtidas nos testes de TG. As amostras foram preparadas pesando cerca de 20,0 mg de PAN e também 40,0 mg das misturas fármaco-excipiente devidamente homogeneizadas que permaneceram na estufa em isoterma a 160 °C por 4 min. Assim como nos estudos com os demais fármacos o tempo de estufa foi determinado por meio de experimentos prévios, sendo testados os tempos de 4, 5 e 10 min.

A análise por CLAE seguiu o método cromatográfico foi baseado na *United States Pharmacopeia* (USP, 2019). A coluna cromatográfica foi uma C18, 4,6 mm×150 mm, com tamanho de partícula de 5 µm. A fase móvel consistiu em acetonitrila e Solução A na proporção de 50:50 (v/v). A Solução A foi preparada com acetato de amônio 0,05 M em água, ajustando o pH para 7,9 com solução diluída de hidróxido de amônio (1:1 em água). A taxa de fluxo foi de 1,0 mL min⁻¹, a temperatura da coluna mantida em 30 °C, o comprimento de onda de detecção de 290 nm e o volume de injeção de 10 µL. As soluções-padrão, as amostras controle de PAN e as misturas binárias foram diluídas em hidróxido de sódio 0,02 M e 2% de acetonitrila. As concentrações dos padrões foram 200,0, 1000,0, 2000,0, 3000,0 e 4000,0 mg.L⁻¹. A área do pico foi usada para a preparação da curva de calibração.

A amostra controle de PAN foi preparada de modo que a concentração esperada fosse de 2000,0 mg.L⁻¹, sendo este valor correspondente ao teor de 100% de PAN. A área corrigida, concentração e teor relativo de PAN nas misturas foram calculados seguindo mesmo raciocínio descrito na sessão 3.5.2.1.

3.5.2.3.1 Validação analítica

Foi realizada a validação da metodologia analítica por CLAE para os fármacos BROM, LIS e PAN, com base no método descrito na RDC 166 de 2017 da ANVISA (Brasil,

2017). A avaliação incluiu os parâmetros de precisão, exatidão, linearidade, seletividade, limite de detecção e limite de quantificação.

Foi investigado se os excipientes interferem na detecção e quantificação do fármaco. A seletividade do método foi comprovada pela ausência de interferências dos excipientes presentes nas misturas binárias. O estudo foi conduzido analisando todos os excipientes selecionados para cada fármaco, previamente submetidos a tratamento em estufa, e posteriormente avaliados por CLAE nas mesmas condições aplicadas aos fármacos.

Para isso, as massas dos excipientes foram medidas em balança analítica, submetidas ao tratamento térmico em estufa nas condições favoráveis de cada fármaco, dispersadas e analisadas por CLAE, seguindo as condições descritas nas seções específicas: 3.5.2.1 para os excipientes do estudo de compatibilidade da BROM, 3.5.2.2 para os excipientes relacionados ao LIS e 3.5.2.3 para os excipientes associados ao PAN.

Para avaliação da linearidade, foram preparadas ao menos cinco concentrações diferentes de cada fármaco em triplicata (réplicas independentes). Após as concentrações serem injetadas no cromatográfico, foram obtidas as áreas em cada nível de concentração, construiu-se a curva de calibração, construiu-se o gráfico de dispersão dos resíduos acompanhado de avaliação estatística e analisou-se a associação linear entre as variáveis por meio dos coeficientes de correlação (r) e determinação (r^2), e examinou-se a significância do coeficiente angular.

A precisão foi determinada com base na repetibilidade, que avalia a proximidade dos resultados obtidos em condições idênticas, como no mesmo dia, com o mesmo analista, equipamento e laboratório. Para cada fármaco, as concentrações (baixa, média e alta), dentro da faixa de aplicação do método analítico, foram preparadas em triplicata e quantificadas utilizando uma curva de calibração (Brasil, 2017). A avaliação da precisão foi realizada por meio do cálculo do desvio padrão relativo (DPR), conforme descrito na fórmula 4 apresentada a seguir.

$$DPR = (DP|CMD) \times 100 \quad (4)$$

Em que DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada.

A exatidão foi avaliada por meio da recuperação do analito, comparando o valor obtido experimentalmente com o valor verdadeiro ou aceito como referência. Para o cálculo da exatidão, foram utilizadas as mesmas amostras empregadas na avaliação da precisão. O cálculo foi feito utilizando a fórmula 5 apresentada abaixo:

$$\% \textit{recuperação} = \frac{\textit{Concentração média experimental}}{\textit{Concentração teórica}} \times 100 \quad (5)$$

Os limites de detecção e quantificação foram determinados com base nos parâmetros da curva de calibração. Utilizando a curva de calibração de cada fármaco obtida em triplicata, foi calculada a inclinação por meio do modelo de regressão linear, e o desvio-padrão foi estimado a partir das áreas correspondentes a cada nível de concentração. Esses valores foram aplicados nas equações 6 e 7, conforme estabelecido pela RDC 166 da ANVISA.

$$LD = \frac{3,3 \times \sigma}{IC} \quad (6)$$

$$LQ = \frac{10 \times \sigma}{IC} \quad (7)$$

Onde: IC é a inclinação da curva de calibração e σ é o desvio padrão dos resíduos da linha de regressão.

3.5.3 Por FT-IR

A compatibilidade fármaco-excipiente também foi investigada por FT-IR sendo analisadas amostras de cada fármaco, dos excipientes e das misturas binárias, tanto antes quanto após o tratamento prévio em estufa, realizado de acordo com as condições descritas nas seções 3.5.2.1, 3.5.2.2 e 3.5.2.3. As condições de análise por FT-IR seguiram os mesmos parâmetros descritos na seção 3.4.4.

3.5.4 Testes de estresse isotérmico

Foi realizado o teste de estresse isotérmico com a finalidade de avaliar a estabilidade térmica de cada fármaco em combinação com os excipientes a uma temperatura constante e identificar possíveis interações químicas ou físicas que podem ocorrer entre o fármaco e os excipientes ao longo do tempo. Este teste foi realizado com os excipientes que apresentaram perda de teor nos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente por CLAE nos casos dos fármacos BROM e LIS. No caso do PAN, todos os excipientes selecionados para este fármaco foram investigados.

As misturas binárias que apresentaram perda de teor no caso do LIS foram aquelas contendo os excipientes lactose monohidratada e manitol. No caso do BROM, as misturas analisadas incluíam os excipientes dióxido de silício coloidal, fosfato de cálcio diidratado, estearato de magnésio e celulose microcristalina.

Para o teste de estresse isotérmico, foram pesados 10 mg das misturas fármaco-excipiente nos estudos com a BROM, 8 mg nos estudos com o LIS e 4 mg nos estudos com o PAN. As massas foram pesadas diretamente em balões de 10 mL ($n = 3$). Em seguida, os balões foram armazenados em estufa a 50 °C por 30 dias. Após esse período, as amostras foram devidamente diluídas, analisadas por CLAE (nas condições descritas nas seções 3.5.2.1, 3.5.2.2 e 3.5.2.3), e o teor de fármaco foi determinado a partir da curva de calibração.

3.6 RECRISTALIZAÇÃO E FORMAÇÃO DE SAIS DE BROM

A BROM é classificada como um medicamento de Classe II segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), caracterizando-se por baixa solubilidade e alta permeabilidade (Silva *et al.*, 2015). Diferentemente, os demais fármacos analisados neste estudo, LIS e PAN, pertencem à Classe III, que se caracteriza por alta solubilidade e baixa permeabilidade. A baixa solubilidade dos fármacos pode comprometer sua absorção e biodisponibilidade, afetando a eficácia terapêutica.

Na tentativa de aumentar a solubilidade deste fármaco, buscou-se desenvolver novas formas sólidas de BROM. Para alcançar esse objetivo as recristalizações e formação de sais

foram conduzidas a partir de diferentes solventes e em temperaturas distintas tendo como ponto de partida o trabalho de Carrer e colaboradores (2016). O estudo de Carrer (2016) indica a presença de polimorfismo na BROM, dependendo do tratamento aplicado durante sua recristalização. Esse fenômeno foi verificado qualitativamente por meio de imagens obtidas na análise microscópica. No entanto, os difratogramas de PXRD apresentaram picos característicos correspondentes à única forma cristalográfica da BROM descrita na literatura por Tanaka *et al.* (2004), embora tenham sido observadas mudanças na intensidade e o surgimento de novos picos em algumas amostras.

As recristalizações consistiram em dissolver aproximadamente 20 mg de BROM em diferentes solventes, como acetonitrila, metanol, DMSO, acetona e etanol, e/ou suas misturas. As recristalizações foram conduzidas a 25 °C. Para permitir uma recristalização mais lenta, também foi testada a temperatura de 7 °C, já que a morfologia dos cristais pode ser significativamente alterada pelas diferentes taxas de resfriamento ao usar o solvente.

Na síntese dos sais de BROM, 2,0 mL de cada ácido concentrado (clorídrico, bromídrico e nítrico) foram adicionados a uma solução saturada de BROM em etanol (20 mL). O sólido precipitado foi, então, filtrado e recristalizado a partir de uma solução de etanol (Melo *et al.*, 2020).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

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

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO LIS

Primeiramente serão mostrados os resultados referentes à caracterização do LIS.

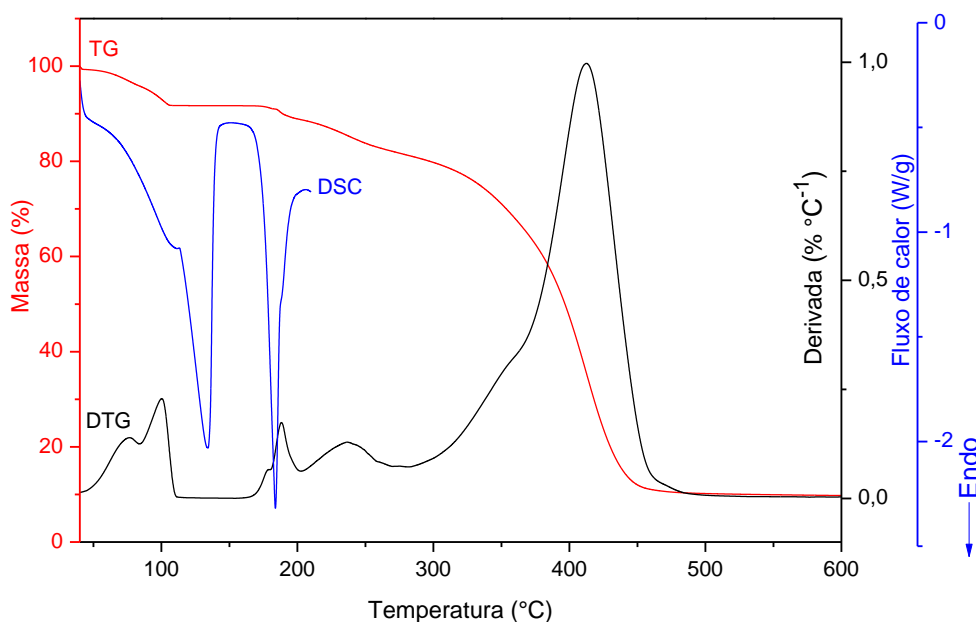
4.1.1 Análise térmica

A caracterização térmica do LIS é apresentada na Figura 4. A curva DSC apresenta dois eventos endotérmicos sobrepostos na faixa de 40,0 a 143,7 °C. De acordo com os resultados de TG, na faixa de temperatura de 40,0 a 105,5 °C ocorre perda de massa de 8,3% atribuída à desidratação. Essa perda de massa corresponde a duas moléculas de água passando da forma dihidratada para forma anidra, uma vez que a massa molecular do LIS dihidratado é de 441,5 g.mol⁻¹ e a perda teórica da água é de 8,15%. A diferença de temperatura entre o primeiro evento observado no DSC e a primeira perda de massa no TG ocorre porque, no TG, o cadinho está aberto, facilitando a liberação de voláteis (como a água) e permitindo que a desidratação aconteça mais rapidamente. Na sequência, observa-se na curva DSC um evento endotérmico na faixa de 163,40 a 206,46 °C, com T_{onset} em 174 °C e entalpia de 174,57 J g⁻¹, correspondente ao processo de fusão do fármaco, seguido pelo início de sua decomposição. Dados da literatura indicam que, quando a análise de LIS por DSC é realizada em cadinho de alumínio aberto, o fármaco apresenta T_{onset} de 187 °C e início de degradação a partir de 190 °C, o que sugere que as variações observadas podem estar relacionadas às condições experimentais adotadas. (Sorrenti *et al.*, 2013).

Nesta mesma faixa de temperatura de fusão do fármaco (163,40 a 206,46 °C) ocorre fusão com decomposição, e perda de massa na curva TG. A curva TG mostra que a partir da temperatura de 175 °C, o fármaco apresentou perda de massa restando 9,5% de resíduo. Relatos na literatura indicam que a fusão do LIS ocorre entre 167 a 187 °C (Danafar *et al.*, 2017; Hinojosa-Torres *et al.*, 2008; Lin; Wang 2012; Sorrenti *et al.*, 2013).

Os eventos de fusão e decomposição ocorrem em temperaturas muito próximas, o que torna difícil determinar a temperatura final de fusão e a temperatura inicial de decomposição do fármaco. Comportamento térmico onde a fusão é precedida pela decomposição da molécula torna o evento térmico pouco reproduzível pela dificuldade de integração do evento térmico. Desta forma, este comportamento impossibilitou realizar o estudo de compatibilidade fármaco-excipiente do LIS por DSC. Diante disso, os estudos foram direcionados para as análises por TG.

Figura 4 - Análise térmica do LIS (DSC, TG, DTG)



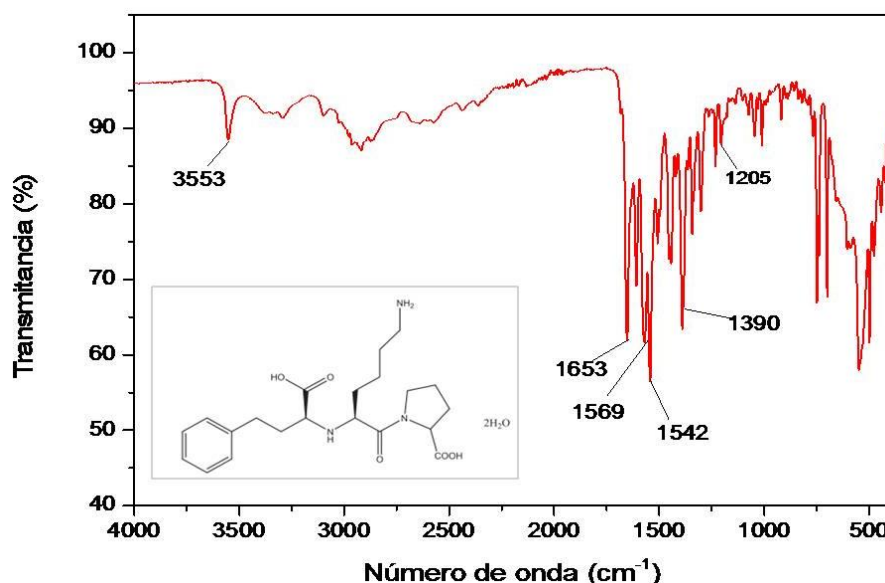
Fonte: da autora.

4.1.2 Espectroscopia no infravermelho

As bandas características do LIS (FIGURA 5) são observadas no espectro IR. Em 3553 cm^{-1} é observada a banda de absorção atribuída à presença de água na estrutura (vibração de estiramento O-H da água); em 3099 cm^{-1} a banda devido ao estiramento de C-H aromático; a absorção em 1608 cm^{-1} é devido vibrações de estiramento C=C do anel aromático; a absorção em 1653 cm^{-1} é devido vibrações de estiramento C=O da amida; em 1569 e 1542 cm^{-1} mostra a banda referente ao estiramento assimétrico do grupo carboxila; a

banda em 1453 cm^{-1} é referente a ligação $-\text{CH}_2$, em 1390 cm^{-1} devido ao estiramento assimétrico do grupo carboxila e em 1205 cm^{-1} (C-N) confirma a presença de amina terciária (Sorrenti *et al.*, 2014; Tan; Widjaja 2008).

Figura 5 - Espectro infravermelho do LIS na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1}



Fonte: da autora.

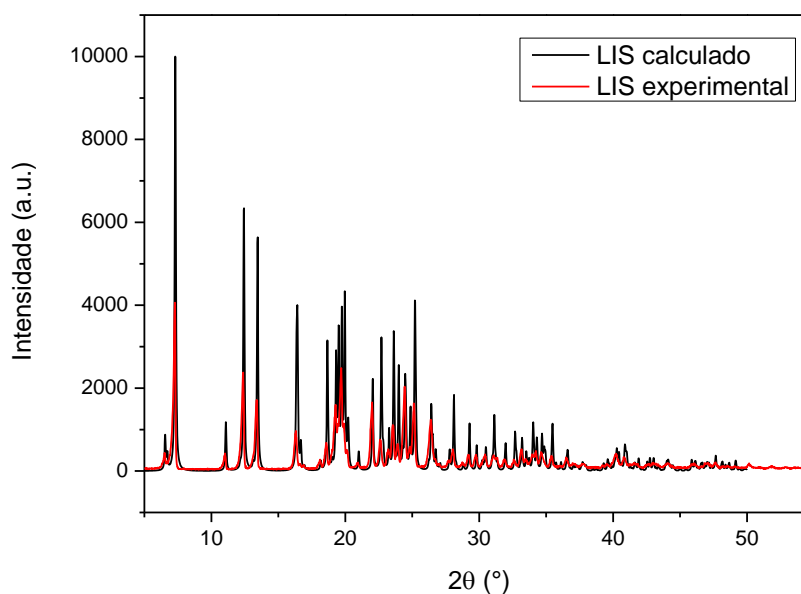
4.1.3 Difratometria de Raios-X

A Figura 6 mostra o padrão de difração obtido do pó cristalino de LIS obtido experimentalmente e também o difratograma calculado a partir das estruturas do lisinopril di-hidratado utilizando o software Mercury. O software, desenvolvido pelo CCDC (*Cambridge Crystallographic Data Centre*), pode calcular um difratograma de pó a partir de estruturas cristalinas usando a abordagem baseada na teoria da difração de raios X de pó. Considerando o difratograma calculado, em relação à amostra do LIS, os picos de Bragg possuem um padrão semelhante, não havendo diferença entre os dois padrões de difração avaliados.

A fase di-hidratada do lisinopril é reconhecida como a forma cristalina mais estável, denominado "lisinopril Form 1", sendo a forma usada neste trabalho. O resultado está de

acordo com dados encontrados na literatura (Hinojosa-TorreS *et al.*, 2008; Sbârcea *et al.*, 2016).

Figura 6 - Difração de Raios-X de pó do LIS



Fonte: da autora.

4.2 ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM O LIS

Os resultados referentes ao estudo de compatibilidade fármaco-excipiente realizados com o LIS são apresentados a seguir.

4.2.1 Análise térmica

Os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente para o LIS foram realizados investigando a combinação do LIS com diferentes excipientes, utilizando primeiramente a técnica de termogravimetria (TG). Nesse contexto, é importante ressaltar que a escolha da técnica de TG em vez de DSC foi motivada pela natureza específica do LIS. Uma vez que o ponto de fusão e de decomposição do LIS ocorrem em temperaturas próximas. Desta forma, a pesquisa seguiu a mesma estratégia adotada no trabalho desenvolvido por Daniel e colaboradores (2013).

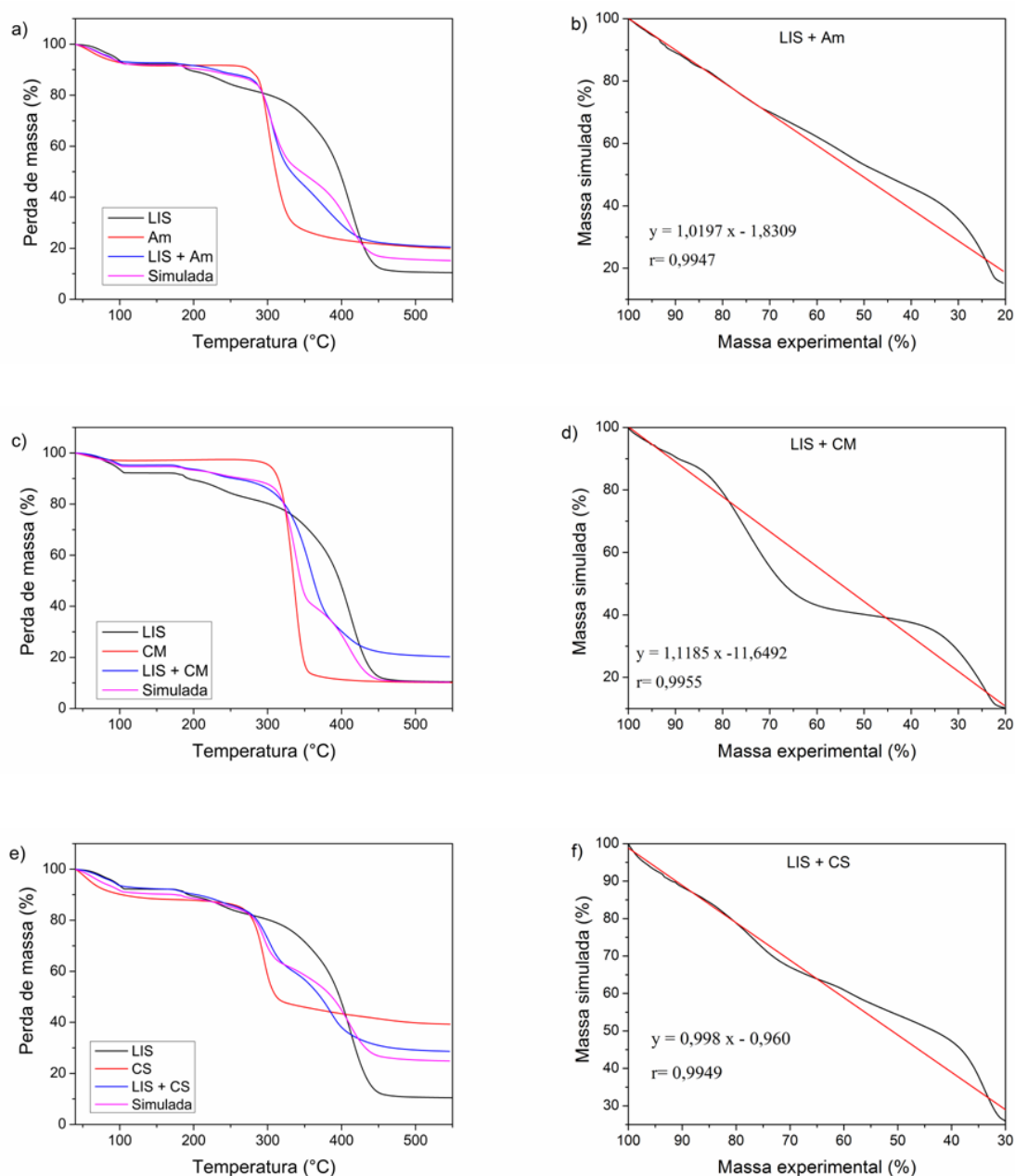
Quando o perfil térmico da mistura binária fármaco-excipiente se assemelha aos padrões térmicos dos componentes individuais, pode-se concluir que a substância ativa é possivelmente compatível com os excipientes escolhidos. No entanto, se análise termoanalítica da mistura binária revelar um perfil diferente quando comparado com os componentes individuais, isso indica a ocorrência de interação (Ledeti *et al.*, 2017). Estas mudanças nos perfis térmicos são ocasionadas pela formação de compostos voláteis que ocasionam perda de massa. Por isso é importante conduzir estudos de compatibilidade de TG associado a outras técnicas, como FT-IR e HPLC.

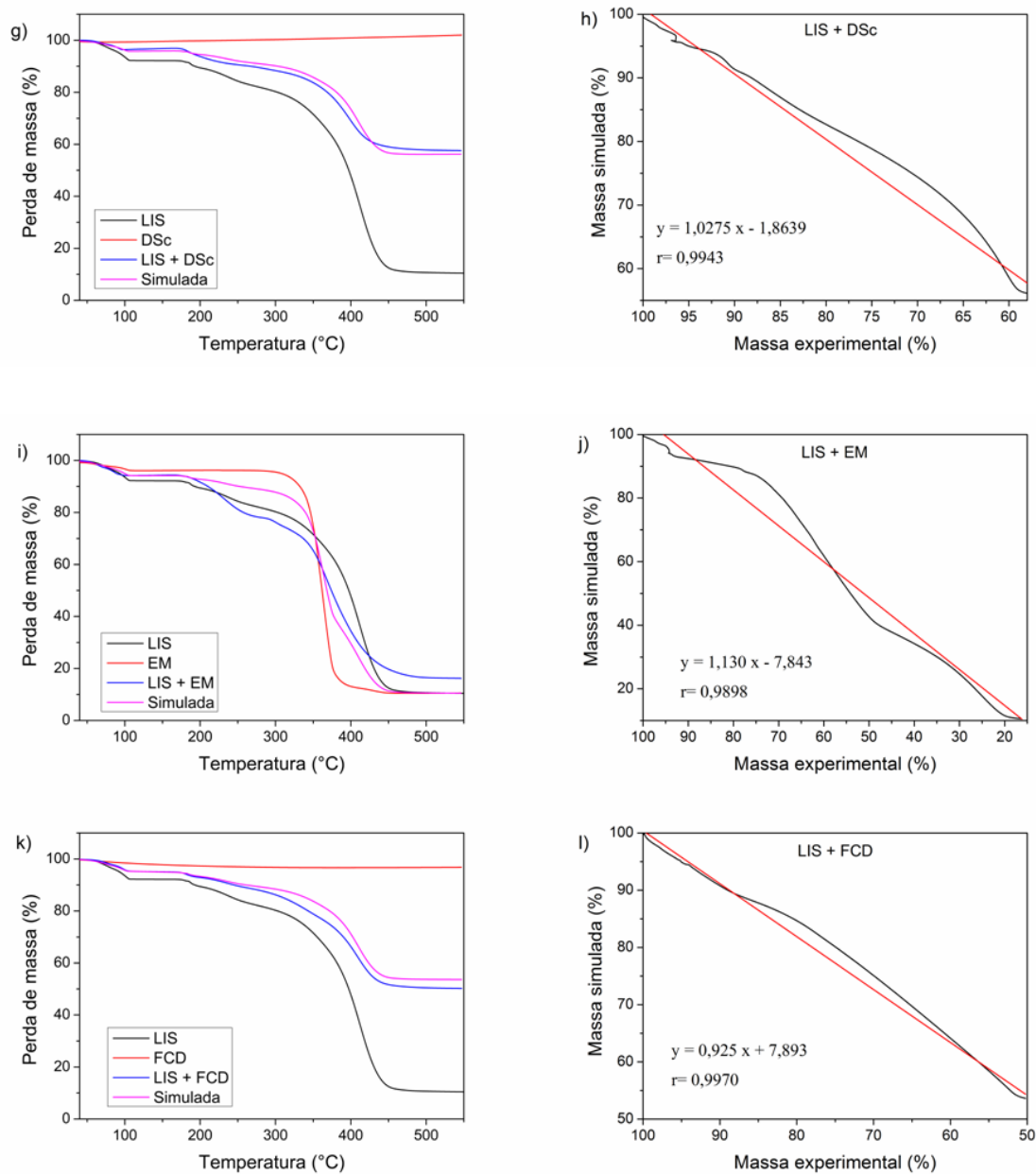
Após a obtenção dos perfis térmicos dos componentes puros e das misturas binárias, uma curva simulada foi gerada. Este artifício foi utilizado para auxiliar na interpretação dos resultados de TG experimental. Para cada mistura experimental foi produzida uma curva TG simulada a partir do somatório dos perfis térmicos dos componentes puros (LIS e excipiente). Este procedimento foi realizado para facilitar a identificação de incompatibilidades. Havendo incompatibilidades e formação de produtos voláteis, haverá um perfil diferente do simulado.

A análise visual entre as curvas simuladas e as experimentais das misturas binárias ajuda a verificar possíveis diferenças. No entanto, métodos de correlação são eficazes para avaliar a similaridade entre dois perfis com mais exatidão. A similaridade entre a curva simulada e a curva experimental da mistura binária foi comparada utilizando o coeficiente de correlação de Pearson (Daniel *et al.*, 2021). Métodos de correlação podem ser utilizados para avaliar a similaridade entre os dois perfis. O coeficiente de correlação de Person (r) foi utilizado para avaliar a similaridade entre o perfil experimental e teórico. O coeficiente de Pearson (r) é uma medida que revela o grau de associação existente através de uma relação linear entre duas variáveis. A amplitude desse coeficiente pode oscilar entre -1 e 1. Um valor de 0 para este coeficiente indica ausência de influência entre as duas variáveis (SCOTT *et al.*, 2013). Quanto mais próximo de 1 ou -1 o coeficiente estiver, maior será relação linear entre essas variáveis. Quando o coeficiente r se aproxima de 1, isso sugere uma variação positiva forte e linear, o que significa que, à medida que uma variável aumenta, a outra também tende a aumentar em proporção constante. Por outro lado, quando o coeficiente r se aproxima de -1, denota uma variação negativa forte e linear. Nesse caso, à medida que uma variável aumenta, a outra tende a diminuir em proporção constante. Portanto, o coeficiente de Pearson é uma ferramenta estatística fundamental para avaliar a relação linear entre variáveis e entender a direção e a força dessa relação.

Deste modo, as curvas TG do LIS e das misturas binárias obtidas experimentalmente e simuladas, bem como os gráficos de correlação de cada mistura são mostradas na Figura 7. Nesta figura são apresentadas apenas as misturas binárias que não apresentaram alterações significativas nos perfis térmicos em comparação aos componentes individuais, indicando não haver interação entre o fármaco e estes excipientes.

Figura 7 - Curvas TG de LIS, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficos de correlação das misturas binárias que não apresentaram alterações





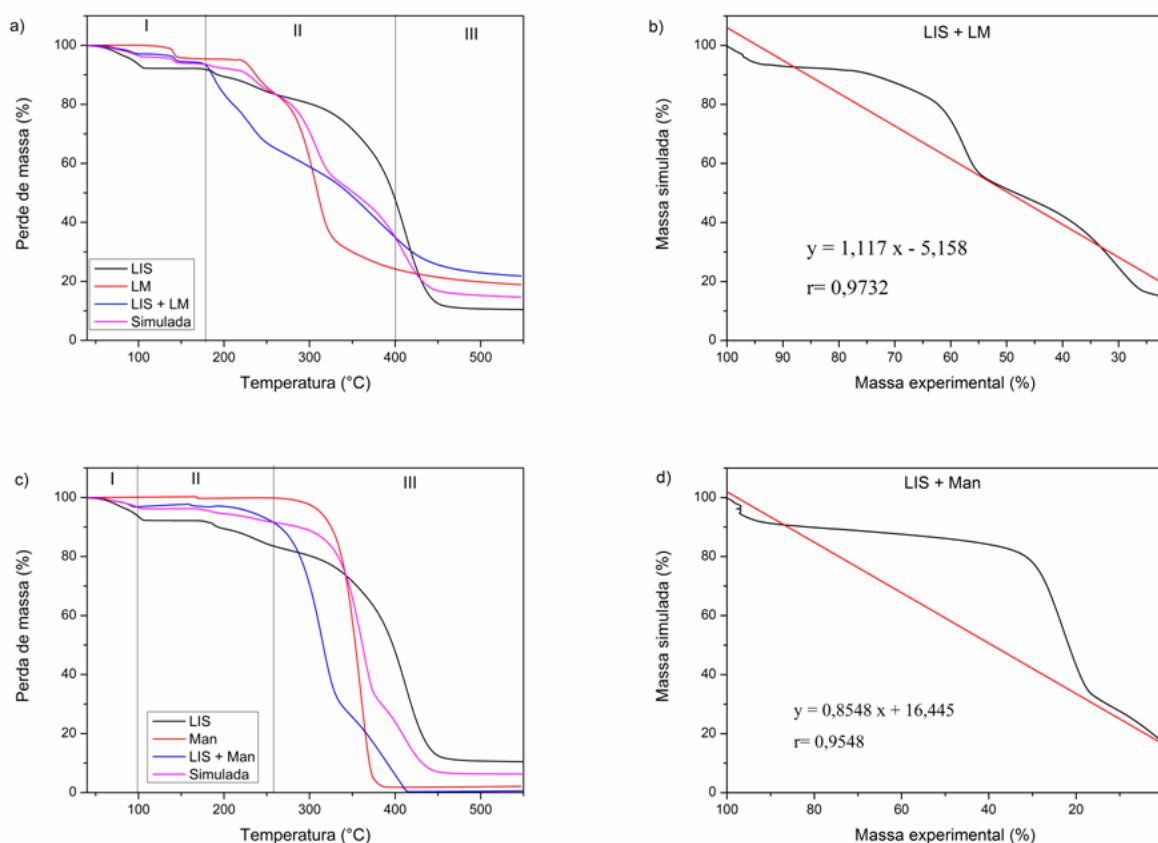
Fonte: da autora.

Legenda: Curvas TG do LIS, excipiente e das misturas experimentais e simuladas: (a) LIS+Am; (c) LIS+CM; (e) LIS+CS; (g) LIS+ DSc; (i) LIS+EM; (k) LIS+FCD e Gráficos de correlação das misturas: (b) LIS+ Am; (d) LIS+ CM; (f) LIS+ CS; (h) LIS+DSc; (j) LIS+EM; (l) LIS+FCD

A Figura 8 mostra a curva TG experimental comparada à curva TG simulada nos casos das misturas binárias de LIS com lactose monohidratada (LM) e manitol (Man). De acordo com o coeficiente de correlação de Pearson mostrado na Figura 8, é possível

observar a distância do valor ideal ($r= 1,00$), principalmente no que diz respeito à mistura entre LIS e os excipientes LM e Man que apresentaram os menores valores de r .

Figura 8 - Curvas TG de LIS, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficas de correlação das misturas binárias referentes aos excipientes lactose monohidratada (LM) e manitol (Man).



Fonte: da autora.

Legenda: Curvas TG do LIS, excipiente e das misturas experimentais e simuladas: (a) LIS+LM; (c) LIS+Man.

Gráficos de correlação das misturas: (b) LIS+ LM; (d) LIS+ Man

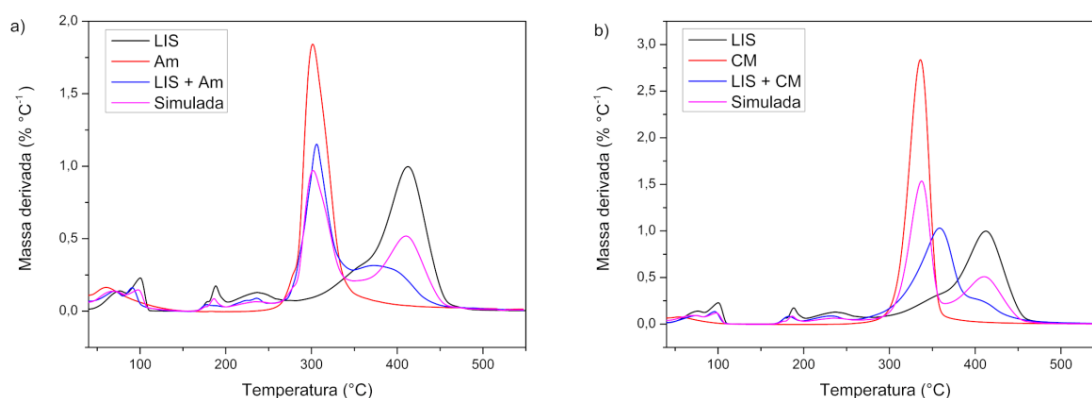
Observa-se na Figura 8.a a desidratação da LM até 150 °C, com uma perda de aproximadamente 4,4%. A partir da temperatura de 220 °C este excipiente inicia um processo de decomposição com perda de 81% da sua massa inicial. Ao comparar a mistura experimental com a simulada, o perfil térmico pode ser dividido em 3 regiões. Na região I (40 a 180 °C) a curva simulada é semelhante à experimental. Na região II (180 a 402 °C) a curva simulada fica acima da experimental, indicando que experimentalmente ocorreu maior perda de massa. Essa região engloba a decomposição do LIS e, no caso da mistura com a LM,

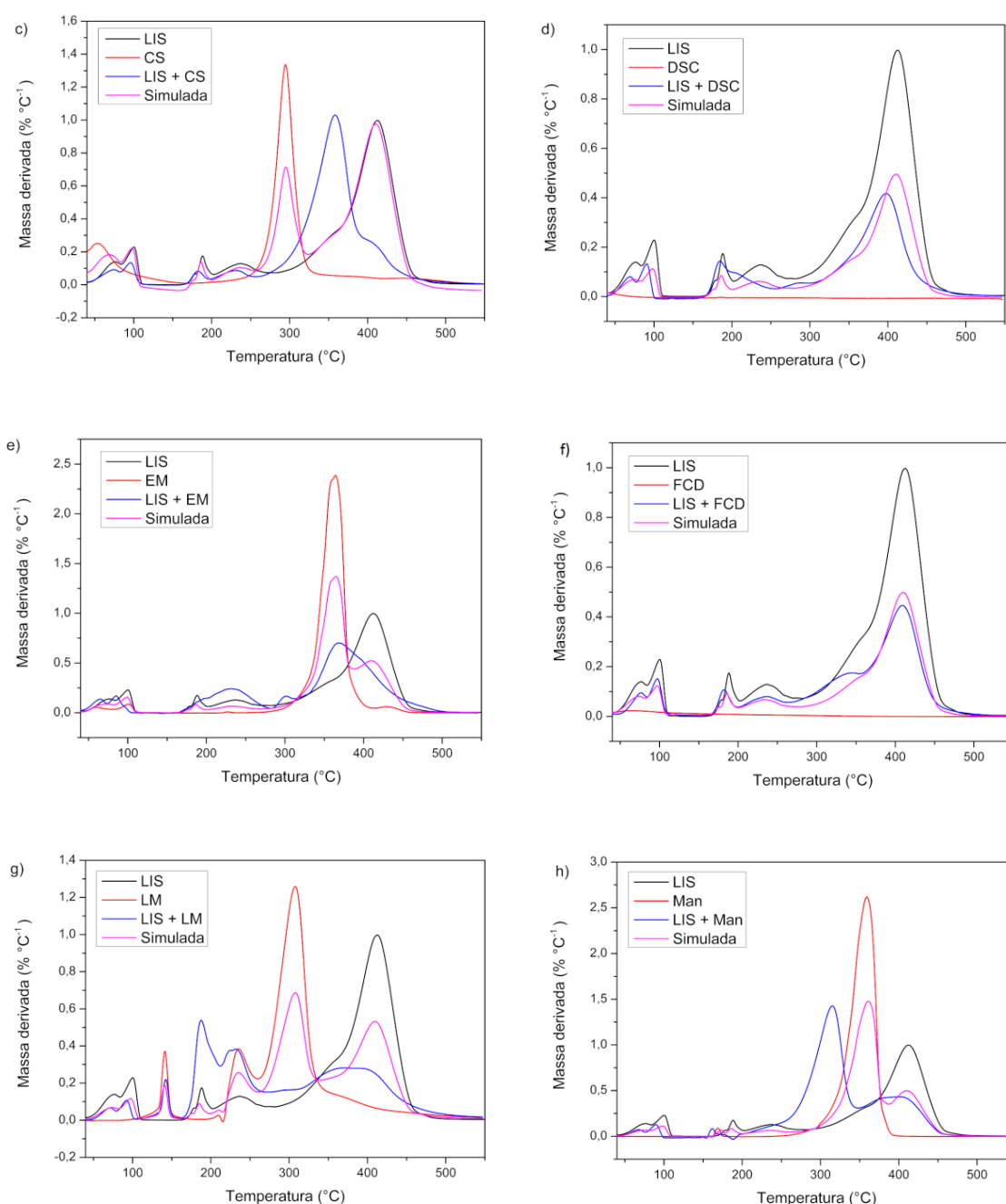
pode ter ocorrido a formação de diferentes produtos de degradação térmica voláteis em relação aqueles obtidos quando o excipiente ou o fármaco é aquecido de forma isolada. Na região III (402 a 550 °C) ocorreu o contrário, a curva experimental está acima da curva simulada, evidenciando que ocorreu uma menor perda de massa que o esperado, indicando maior estabilidade térmica da mistura. Este comportamento sugere um efeito térmico protetor do excipiente nessa faixa de temperatura, apesar de ambos os compostos já estarem termicamente degradados e convertidos a uma massa condensada de carbono.

Para o excipiente Man (FIGURA 8.c), observa-se a decomposição térmica a partir de 261 a 400 °C, restando 1,9% de resíduo. Ao comparar a mistura experimental com a simulada o perfil térmico foi dividido em 3 regiões. Na região I (40 a 100 °C), a curva simulada é semelhante à experimental. Na região II (100 a 259 °C), a curva experimental está um pouco acima da curva simulada, sugerindo que ocorreu uma menor perda de massa que o esperado. Na região III (259 a 550 °C), a curva simulada está acima da experimental, indicando que experimentalmente ocorreu maior perda de massa.

A Figura 9 apresenta as curvas DTG do LIS, dos excipientes, e de suas respectivas misturas binárias (experimental e simulada). Algumas misturas binárias, como as de LIS com os excipientes Am, DSc, EM e FCD, não mostraram alterações significativas nos perfis térmicos em comparação com os componentes individuais.

Figura 9 - Curvas DTG do LIS, excipiente e das misturas experimental e simulada





Fonte: da autora

Nas misturas binárias do fármaco com os excipientes CS e CM, a curva DTG experimental indicou maior estabilidade térmica em comparação à curva DTG simulada. A Figura 9.c mostra que a curva experimental do LIS com CS apresenta um pico entre 261 e 394 °C, enquanto a curva simulada para essa mistura exhibe o pico correspondente em temperaturas mais baixas, entre 251 e 326 °C. O mesmo comportamento foi observado na

mistura do fármaco com CM (FIGURA 9b), onde o pico experimental ocorre entre 267 e 394 °C, enquanto a curva simulada mostra o pico correspondente entre 284 e 364 °C.

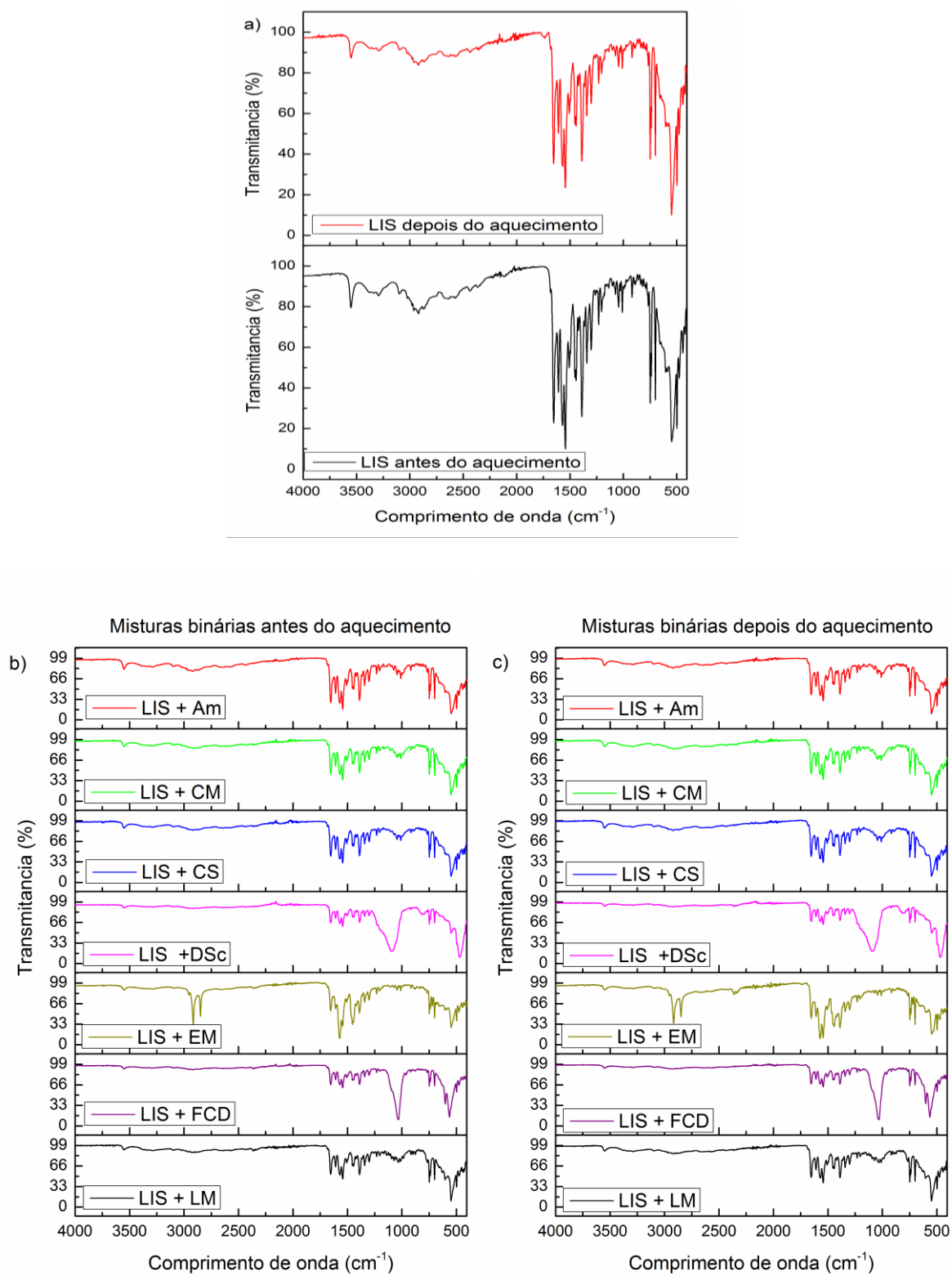
A mistura de LIS com os excipientes LM e Man apresentou um perfil de curva DTG experimental diferente da curva simulada. A curva experimental indicou menor estabilidade térmica, uma vez que os picos foram observados em temperaturas inferiores em comparação à curva DTG simulada. Na mistura de LIS com LM, a partir de 162 °C, a curva experimental exibiu picos em temperaturas mais baixas em comparação com a curva simulada. Na mistura de LIS com Man, todos os picos da curva experimental ocorreram em temperaturas inferiores às observadas na curva simulada, como, por exemplo, na curva experimental é observado um pico entre 209 e 352 °C, enquanto o pico correspondente na curva simulada foi registrado entre 294 e 389 °C.

4.2.2 FT-IR

A espectroscopia FT-IR foi utilizada como uma técnica complementar para investigar possíveis interações químicas entre o LIS e os excipientes. Alguns indicadores de interações na análise das misturas binárias por esta técnica incluem a presença de novas bandas de absorção, o alargamento de bandas existentes e alterações na intensidade das bandas (Rojek *et al.*, 2019).

Primeiramente, os espectros das amostras contendo LIS e misturas binárias foram analisadas utilizando FT-IR à temperatura ambiente e também após aquecimento a 170 °C por 5 min (FIGURA 10a). Não foi observada nenhuma mudança no espectro quando se compara o LIS puro antes e depois do tratamento térmico. No caso das misturas binárias de LIS e excipientes, a simples moagem em temperatura ambiente, não provocou nenhuma interação. Todos os espectros FT-IR das misturas binárias representam a sobreposição dos espectros FT-IR dos componentes puros (FIGURA10b).

Figura 10 - Gráfico de espectro de IR do LIS e das misturas binárias antes e depois do aquecimento

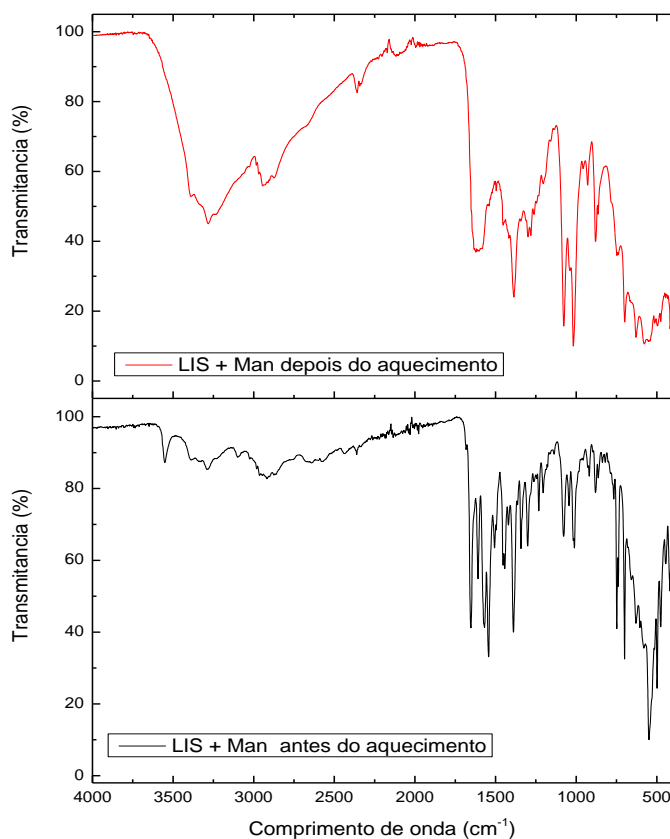


Fonte: da autora.

Ao comparar os espectros das misturas binárias antes e depois do tratamento térmico (FIGURA 10a e b), não foi observado o aparecimento de novas bandas em nenhuma das misturas. Além disso, as misturas, com exceção apenas da LIS-Man, não apresentaram nenhuma alteração, como alargamento de banda ou aumento ou diminuição de intensidade, mostrando assim a compatibilidade do LIS com a maioria dos excipientes.

No entanto, na mistura LIS-Man (FIGURA 11) ocorreu o desaparecimento da banda em 3565 cm^{-1} , além do alargamento de bandas na faixa de $3400\text{--}2266\text{ cm}^{-1}$ e aumento de intensidade das bandas. A região do espectro correspondente à faixa de $3700\text{--}3200\text{ cm}^{-1}$ é típica das vibrações de estiramento O–H, confirmando que a banda em 3565 cm^{-1} é atribuída aos grupos hidroxila. Os resultados da análise da mistura de LIS-Man indicam que, provavelmente, ocorre a interação do fármaco com os grupos hidroxila presente no manitol, sugerindo a interação entre eles.

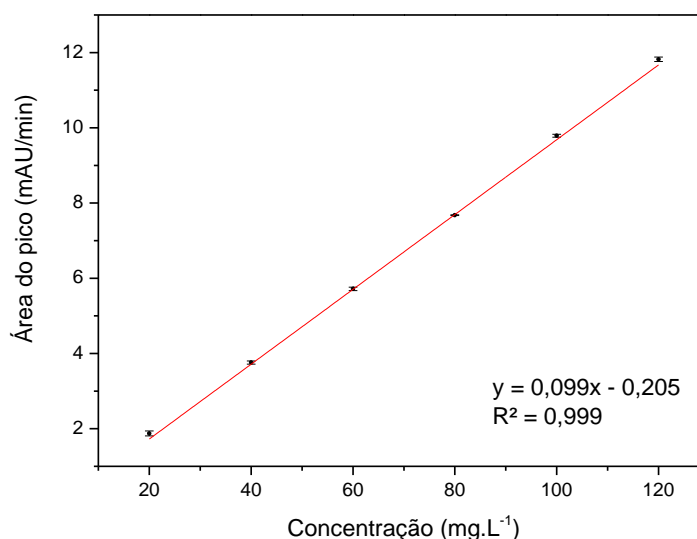
Figura 11 - Gráfico de espectro de IR da mistura binária LIS + Man antes e depois do aquecimento



4.2.3 Validação analítica do método cromatográfico para LIS

A curva analítica com seis pontos nas concentrações de 20,0, 40,0, 60,0, 80,0, 100,0 e 120,0 mg.L⁻¹ realizadas em triplicata, foi construída para o LIS no comprimento de onda de 255 nm para detector UV conforme a Figura 12. O método foi considerado linear dentro da faixa de trabalho, a equação da reta obtida pela regressão linear do método dos mínimos quadrados ordinário foi de $y = 0,099x - 0,205$, com um valor de $R^2 = 0,999$.

Figura 12 - Gráfico de linearidade do LIS em 225 nm na faixa de 20,0 a 120,0 mg.L⁻¹ (n=3).



Fonte: Da autora

A partir dos resultados de linearidade, foram realizadas análises estatísticas de regressão, demonstradas na Tabela 1.

Tabela 1 - Parâmetros estatísticos avaliados

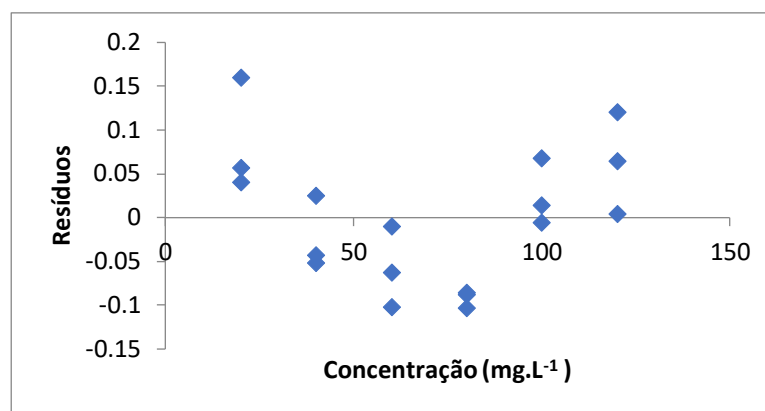
R múltiplo	0,99976
R-Quadrado	0,99952

Fonte: Da autora

A análise estatística de regressão da Tabela 1 demonstrou a linearidade do método. Os coeficientes de correlação linear, descrito como “R múltiplo” na tabela, se demonstrou acima do valor permitido de 0,990 pela RDC 166 (Brasil, 2017).

Foi realizada análise do gráfico de dispersão dos resíduos que estão demonstrados na Figura 13.

Figura 13 - Gráfico de dispersão dos resíduos



Fonte: Da autora

A partir do resultado de dispersão de resíduos apresentado na Figura 13 pode-se observar visualmente que os valores estão distribuídos aleatoriamente. Foi realizada uma análise estatística por Shapiro Wilk, em que foi confirmada a distribuição normal dos dados ($p > 0,05$).

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para determinar o nível de significância do coeficiente angular, em que o coeficiente angular deve ser significativamente diferente de 0. Os resultados estão demonstrados na Tabela 2.

Tabela 2 – Análise de variância da curva de linearidade

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	208,717	208,717	33595,6	5,18E-28
Resíduo	16	0,0994	0,00621		
Total	17	208,816			

Fonte: da autora.

Nota: graus de liberdade (gl), soma dos quadrados (SQ), média dos quadrados (MQ) e estatística F de Fisher (F).

Como pode ser observado na Tabela 2, o valor de F calculado é maior do que o F tabelado para 16 graus de liberdade ($F_{\text{tabelado}}=3,24$). Portanto, pode-se concluir que os coeficientes angulares das curvas de linearidade são significativamente diferentes de zero. O resultado do teste F da ANOVA demonstrou a significância da regressão, confirmando que não houve desvio da linearidade sobre a faixa de trabalho utilizada.

Todos os testes estatísticos realizados acima foram avaliados com nível de significância de 5%, como é determinado pela ANVISA (Brasil, 2017).

Os limites de detecção e quantificação foram calculados a partir das fórmulas descritas no item 3.5.2.1.1, utilizando os valores médios das áreas obtidas de cada ponto da curva analítica. Os limites determinados foram: limite de detecção (LD) de $2,6 \text{ mg L}^{-1}$ e limite de quantificação (LQ) de $7,7 \text{ mg L}^{-1}$. Os valores encontrados foram considerados baixos, levando-se em consideração a ampla faixa linear utilizada, indicando sensibilidade do método adequada.

Os resultados dos estudos de precisão por repetibilidade e exatidão estão demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3 – Resultados de precisão e exatidão

Concentração (mg.L^{-1})	Recuperação (%)	DPR (%)
20,0	98,4	0,47
80,0	99,5	0,15
120,0	101,2	0,40

Fonte: da autora.

Nota: desvio padrão relativo (DPR)

A RDC nº 166 de 2017 da ANVISA não estabelece critérios numéricos específicos de aceitação para a exatidão, determinando apenas que os limites devem ser previamente definidos e justificados com base na aplicação do método analítico. No entanto, segundo González e Herrador (2007), os limites aceitáveis de recuperação devem situar-se entre 98% e 102%, sendo essa faixa considerada adequada para garantir a confiabilidade dos resultados em análises quantitativas. Deste modo, pode-se considerar que o método é preciso nas concentrações baixa, média e alta ($20,0$, $80,0$ e $120,0 \text{ mg.L}^{-1}$) uma vez que as porcentagens de recuperação variaram de 98 a 101%. Os valores de desvio padrão relativo no ensaio de repetibilidade estão dentro do limite recomendado de 2%.

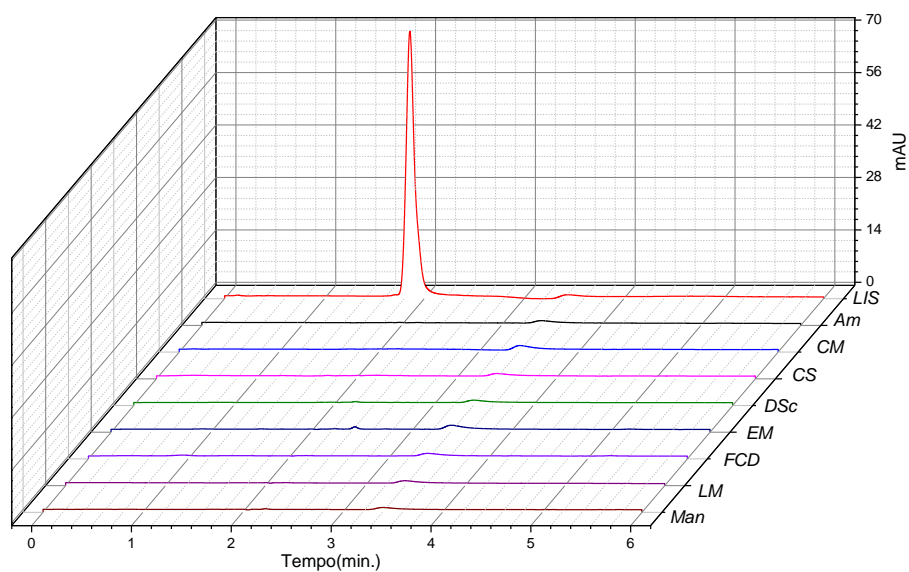
4.2.3.1 Avaliação da compatibilidade fármaco-excipientes do LIS por CLAE

Na condução dos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente do LIS, inicialmente, foi realizado um estudo preliminar para determinar o tempo de permanência das amostras na estufa a 170 °C (5 °C abaixo da temperatura de degradação térmica do LIS), visando replicar as condições térmicas submetidas às misturas binárias na análise TG, mas assegurando parâmetros relativos ao tempo e temperatura de exposição que não causassem a degradação do LIS isolado. Constatou-se que 5 minutos não provocou a degradação do fármaco, já os tempos de 7 e 10 minutos geraram perda no teor de 6 e 23%, respectivamente. Desta forma, selecionou-se o tempo de 5 minutos como sendo o tempo ideal de permanência do fármaco na estufa à 170 °C. Depois do aquecimento em estufa as amostras foram diluídas em metanol/água/acetonitrila na proporção 80:17,5:2,5 (v/v/v) em balão de 10 mL, sonicadas em banho ultrassônico por 40 min e posteriormente analisadas por CLAE.

Também realizadas análises das soluções contendo LIS e de todos os possíveis interferentes, representados pelos excipientes selecionados para o estudo de compatibilidade.

Os resultados da análise de LIS e excipientes são mostrados na Figura 14. O cromatograma do LIS exibiu pico com retenção de 1,85 minutos e área de 7,62 mAU/min. O tempo de retenção é superior a 0,30 minutos, que corresponde ao tempo necessário para a fase móvel deixar a coluna. No método não foram observados picos referentes aos excipientes avaliados. Isso significa que os excipientes não interferem na detecção e quantificação do fármaco. Indicando assim que o método analítico é seletivo o suficiente para distinguir o fármaco dos excipientes, garantindo que qualquer pico observado naquela região é de fato do fármaco e não causado por um excipiente ou um produto de degradação.

Figura 14 - Cromatogramas de LIS e dos excipientes

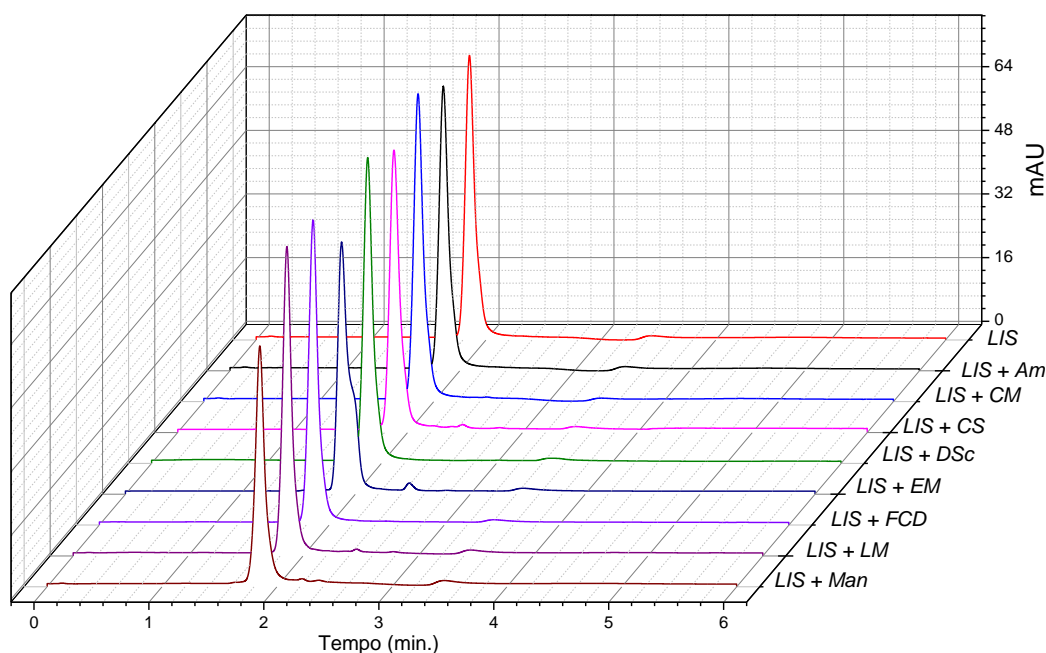


Fonte: da autora.

Nota: coluna Roc C18, 4,6 mm×150 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel metanol: acetonitrila: água (80:17,5:2,5 v/v/v) pH 3 ajustado com ácido fosfórico, vazão de 0,7 mL min⁻¹.

A representação gráfica da análise do LIS e das misturas binárias fármaco-excipiente por CLAE, realizada após aquecimento à 170 °C por um período de 5 minutos, encontra-se ilustrada na Figura 15. O cromatograma do LIS puro indica que o processo de aquecimento não provocou uma degradação térmica significativa do LIS, uma vez que esse pico correspondeu a 98,0±1,0 % da quantidade total de LIS presente na solução.

Figura 15 - Cromatogramas de LIS nas misturas binárias após aquecimento



Fonte: da autora.

Nota: coluna Roc C18, 4,6 mm×150 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel metanol: acetonitrila: água (80:17,5:2,5 v/v) pH 3 ajustado com ácido fosfórico, vazão de 0,7 mL min⁻¹.

As misturas LIS-excipientes foram preparadas contendo a mesma concentração usada na solução de LIS (80,0 mg.L⁻¹). O ICH Q1A diz que mudança em 5% do teor de fármaco com relação ao inicial é considerada uma alteração significativa, e por consequência, incompatibilidade química entre o fármaco e o excipiente (ICH). Os valores da área do pico (mAU/min) e a teor relativo (%) do LIS e das misturas estão apresentados na Tabela 4 como média ± desvio padrão a partir das triplicatas de análise. Diferenças entre as amostras foram determinadas utilizando teste t de Student, com significância $p > 0,05$.

Tabela 4- Área do pico e Teor Relativo do LIS em comparação com as misturas binárias (média ± desvio padrão) (n=3)

	Área de Pico (mAU/min)	Teor Relativo (%)
LIS	7,62±0,07	98,0±1,0 (a)
LIS + Am	7,52±0,16	96,8±2,1 (a)
LIS + CM	7,70±0,29	99,1±0,4 (a)
LIS + CS	7,58±0,08	97,4±1,1 (a)
LIS + DSc	7,69±0,15	97,4±1,0 (a)

(Continua)

Tabela 4- Área do pico e Teor Relativo do LIS em comparação com as misturas binárias (média \pm desvio padrão) (n=3)

	Área de Pico (mAU/min)	Teor Relativo (%)	(Conclusão)
LIS + EM	7,62 \pm 0,19	98,0 \pm 2,4	(a)
LIS + FCD	7,64 \pm 0,13	98,3 \pm 1,6	(a)
LIS + LM	7,13 \pm 0,02	91,8 \pm 0,3	(b)
LIS + Man	6,10 \pm 0,21	79,0 \pm 2,6	(b)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$) de acordo com o teste t de Student.

Os resultados acima mostraram que não houve interação química significativa entre o LIS e os excipientes: Am, CM, CS, DSc, EM e FCD. As análises das áreas dos picos sugerem que esses excipientes são compatíveis e adequados para serem utilizados em formulações sólidas contendo LIS. No entanto, o resultado é diferente quando se trata das misturas de LIS com LM e Man (FIGURA 15). Nestes casos, as áreas dos picos são menores com perda de teor de 8% e 21% para lactose e manitol, respectivamente. As análises sugerem que a interações entre o LIS com estes excipientes são de natureza química.

Foi realizado um estudo intradia de compatibilidade por CLAE, abrangendo exclusivamente os excipientes que apresentaram perda de teor do LIS nas misturas com o fármaco, especificamente LM e Man. Os resultados, apresentados na Tabela 5, confirmam os dados obtidos em análises anteriores.

Tabela 5 - Precisão interdias das misturas binárias que de LIS com LM e Man (n=3)

	Dia	Área de Pico (mAU/min)	Teor Relativo (%)	DPR (%)
LIS + LM	1	7,13 \pm 0,02	90	2
	2	7,14 \pm 0,14	89	2
	3	7,09 \pm 0,16	88	2
LIS + Man	1	6,10 \pm 0,21	76	2
	2	5,77 \pm 0,20	73	3
	3	5,65 \pm 0,19	73	2

Fonte: da autora.

Existem vários relatos na literatura sobre a incompatibilidade da lactose com IFA contendo amina. Fármacos que apresentam o grupo amina, como o LIS, quando formulados

com dissacarídeos redutores ou outros insumos farmacêuticos contendo grupos carbonila, como é o caso da lactose, comprometem a estabilidade do produto devido à ocorrência da reação de Maillard (Bharate *et al.*, 2010).

O manitol também demonstrou incompatibilidade com o fumarato de bisoprolol (Marothu *et al.*, 2015). Amostras contendo o fumarato de bisoprolol e as misturas binárias deste fármaco com alguns excipientes foram submetidas ao teste de estresse isotérmico e analisadas por CLAE. Os resultados de CLAE revelaram que o fumarato de bisoprolol mostra 18,6% de degradação, enquanto a mistura do fármaco com manitol apresentou 77% de degradação. Os autores sugeriram que a degradação ocorreu devida à interação do fármaco com grupos hidroxila do manitol (Marothu *et al.*, 2015). O fumarato de bisoprolol possui grupos funcionais, como amina e ácido carboxílico, também presentes na molécula de LIS; portanto, considerando a reação previamente observada entre o fumarato de bisoprolol e as hidroxilas do manitol, sugere-se que os grupos funcionais semelhantes presentes no LIS possam interagir de forma análoga com as hidroxilas do manitol.

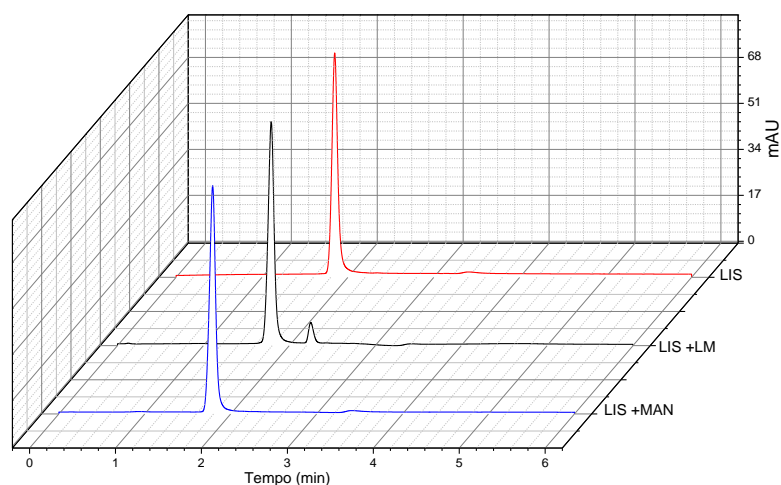
Outra explicação para a degradação gerada pelo manitol pode estar no fato deste excipiente conter glicose residual como impureza, uma vez que o manitol é produzido pela redução de glicose, estas impurezas podem interagir com o LIS através da reação de Maillard. A interação neste caso pode ocorrer entre a carbonila proveniente da glicose residual e a amina secundária presente no LIS. Formulações contendo aminas secundárias e carboidratos redutores são propensas à condensação de grupos funcionais amina e carbonila e à formação de glicosilaminas (Szalka *et al.*, 2014).

4.2.4 Teste de estresse isotérmico do LIS

As interações químicas ocorridas entre o LIS e os excipientes LM e Man durante o teste de estresse isotérmico foram investigadas pelo método CLAE proposto. A diminuição na área do pico do fármaco revela que interação ocorre durante o teste de estresse isotérmico.

Os resultados da análise de LIS e excipientes são mostrados na Figura 16. O cromatograma do LIS controle exibiu pico com retenção de 1,85 minutos e área de 6,61 mAU/min. Na mistura binária LIS + LM, além do pico em 1,85 minutos, foi observado outro pico em 2,24 minutos.

Figura 16 - Cromatogramas representativos de LIS, LIS + LM e LIS + Man após estresse isotérmico em estufa a 50 °C por 30 dias



Fonte: da autora.

Nota: coluna Roc C18, 4,6 mm×150 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel metanol: acetonitrila: água (80:17,5:2,5 v/v/v) pH 3 ajustado com ácido fosfórico, vazão de 0,7 mL min⁻¹.

Os resultados quantitativos estão apresentados na Tabela 6 onde observou-se uma perda de aproximadamente 14% no teor de LIS em relação à massa total colocada no balão no início do teste. As misturas de LIS com LM e Man exibiram perda de teor do fármaco igual à amostra controle de LIS. Os dados da Tabela 6 foram analisados pelo teste t de Student.

Tabela 6 - Teste de estresse isotérmico ($n=3$)

	Pico (mAU/min)	Concentração relativa (%)
LIS controle	6,613±0,29	86±4 (a)
LIS + Lactose monohidratada	6,551±0,36	86±4 (a)
LIS + Manitol	6,781±0,23	87±3 (a)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p>0,05$) de acordo com o teste t de Student.

Os resultados do teste de estresse isotérmico mostram que a perda de teor do LIS isolado é semelhante à observada nas misturas com os excipientes LM e Man. Isso sugere que esses excipientes não impactam significativamente a estabilidade do LIS sob essas condições.

Após os estudos de compatibilidade do LIS por TG, FT-IR e HPLC, foi possível demonstrar que interações químicas, como as observadas nas misturas do fármaco com LM e Man, podem afetar a estabilidade do LIS, influenciando potencialmente a qualidade do produto final. Portanto, esses resultados devem ser cuidadosamente considerados no desenvolvimento de formulações farmacêuticas que contenham LIS em combinação com lactose ou manitol.

De acordo com o *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2009), a lactose monohidratada e o manitol são excipientes que desempenham, principalmente, a função de diluentes em formulações farmacêuticas. Excipientes alternativos com função semelhante incluem a xilitol ou sorbitol.

Essas descobertas destacam a importância da seleção criteriosa de excipientes em formulações farmacêuticas. Compreender o comportamento entre os componentes é essencial para garantir estabilidade, eficácia e segurança dos medicamentos. Através do estudo da interação fármaco-excipiente pode-se otimizar as formulações e garantir a melhor entrega do medicamento ao paciente.

4.3 CARACTERIZAÇÃO DO PAN

Os resultados referentes caracterização do PAN estão apresentados a seguir.

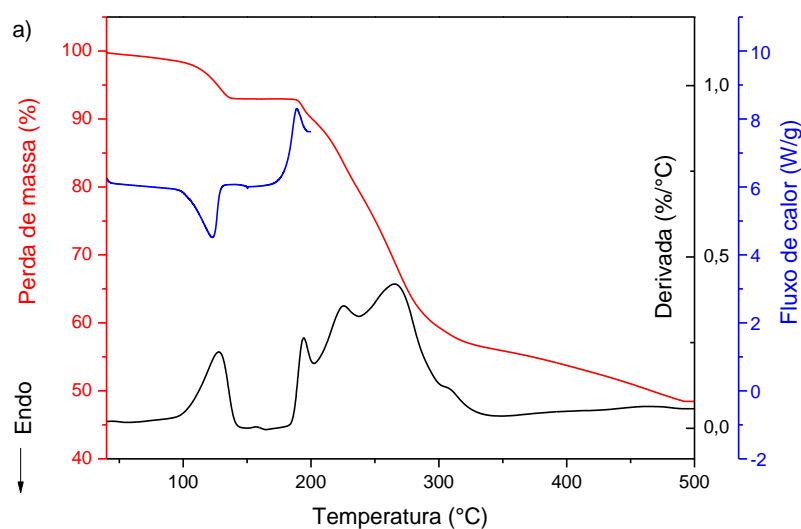
4.3.1 Análise térmica

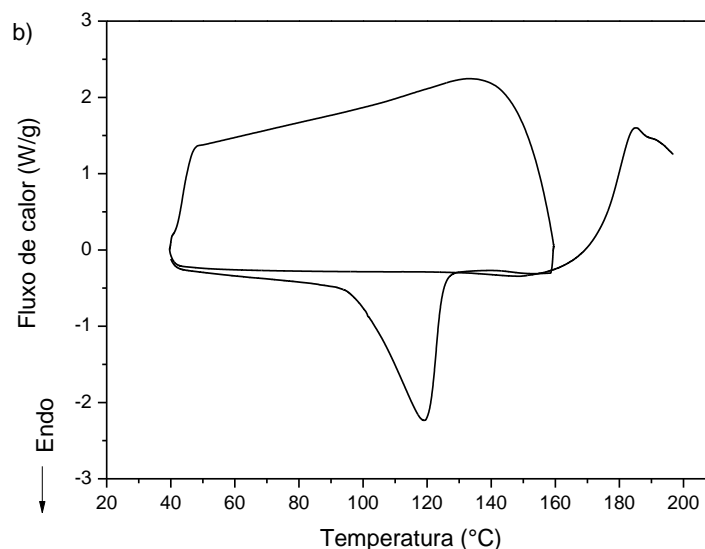
As curvas TG/DTG e DSC do PAN são apresentadas na Figura 17 a. O perfil térmico obtido por DSC revelou dois picos. O primeiro, de natureza endotérmica, apresentou T_{onset} de 102,52 °C, entalpia (ΔH) de 145,9 J/g e faixa de temperatura variando entre 92,0 e 134,0 °C, sendo atribuído à desidratação do fármaco. De acordo com os resultados de TG, na faixa de temperatura de 40,0 a 143,0 °C, foi observada uma perda de massa de 7,3%. Essa perda

de massa corresponde a 1,5 molécula de água, considerando que a massa molecular do PAN sesquidratado é de 332,4 g/mol e a perda teórica de água é de 8,12%.

O segundo pico identificado na curva DSC, observado a partir de 160,0 °C foi de natureza exotérmica e associada à decomposição do fármaco. Essa atribuição é corroborada pela curva TG, que indica múltiplas perdas de massa a partir de 178,0 °C, totalizando aproximadamente 44% de perda de massa e deixando um resíduo de aproximadamente 49%. Esses resultados estão em conformidade com os dados reportados na literatura, que indicam que a decomposição do PAN ocorre na faixa de 139 °C a 160 °C, conforme descrito na monografia da Farmacopeia Brasileira (Brasil, 2019).

Figura 17 - Análise térmica do PAN





Fonte: da autora.

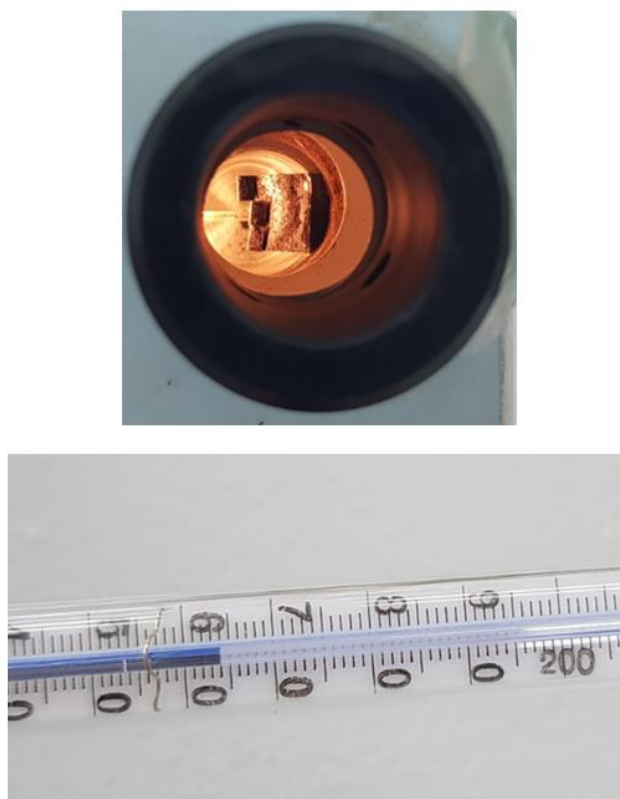
Legenda: a) DSC, TG/DTG;
b) DSC cíclica

Para confirmar se o primeiro evento endotérmico observado na curva DSC correspondia à desidratação e investigar a temperatura de fusão do fármaco, foi realizada uma análise do PAN em DSC utilizando dois ciclos de aquecimento e resfriamento controlado (FIGURA 17b). No primeiro ciclo de aquecimento, foi identificado o pico endotérmico. Durante o resfriamento, nenhum evento térmico foi observado. No segundo ciclo de aquecimento, o evento endotérmico não foi detectado, enquanto o evento exotérmico, iniciado a partir de 160,0 °C foi registrado. Esses resultados confirmam que o evento endotérmico identificado no primeiro ciclo de aquecimento corresponde à desidratação. Como a análise foi realizada em cadinho aberto, a água liberada durante o primeiro aquecimento não estava mais presente, o que explica a ausência de um evento endotérmico no segundo aquecimento.

De acordo com a Farmacopeia Brasileira, a faixa de fusão do PAN ocorre juntamente com a decomposição com temperatura inicial entre 139 °C e 160 °C. No entanto, outras fontes relatam que, devido à degradação gradual durante o aquecimento, o ponto de fusão exato não pode ser determinado.

A determinação do ponto de fusão do PAN foi conduzida utilizando-se um medidor de ponto de fusão, conforme apresentado na Figura 18, sendo o ponto de fusão observado a 164 °C.

Figura 18 - Ponto de fusão do PAN



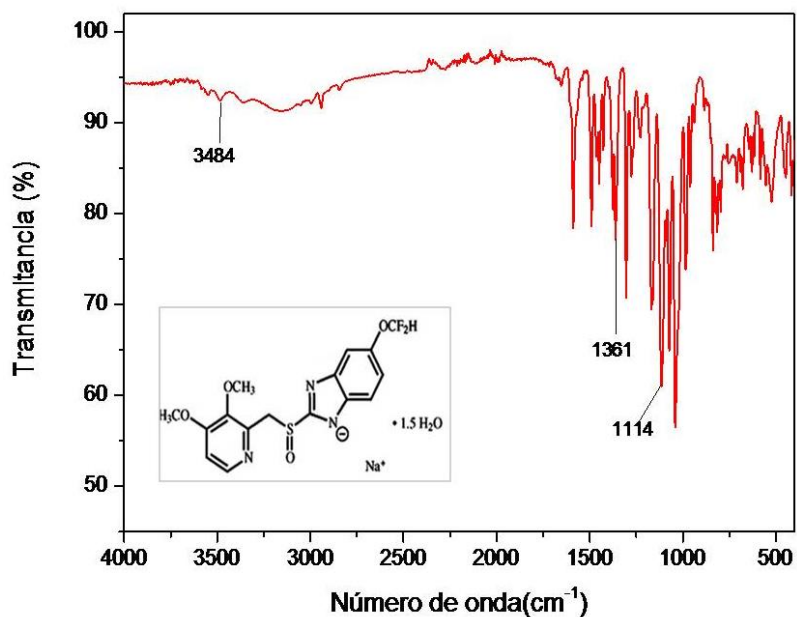
Fonte: da autora.

Zupancic e colaboradores (2005) investigaram as formas mono-hidratada e sesqui-hidratada do PAN. Com base na análise combinada de DSC, TG e microscopia de estágio a quente os autores concluíram que a desidratação dos hidratos ocorre simultaneamente à fusão, o que dificulta a determinação precisa do ponto de fusão.

4.3.2 Espectroscopia no infravermelho

Seguindo a caracterização do PAN, nesta seção serão apresentadas as bandas de absorção características do PAN no espectro IV (FIGURA 19).

Figura 19 - Espectro infravermelho do PAN na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1}



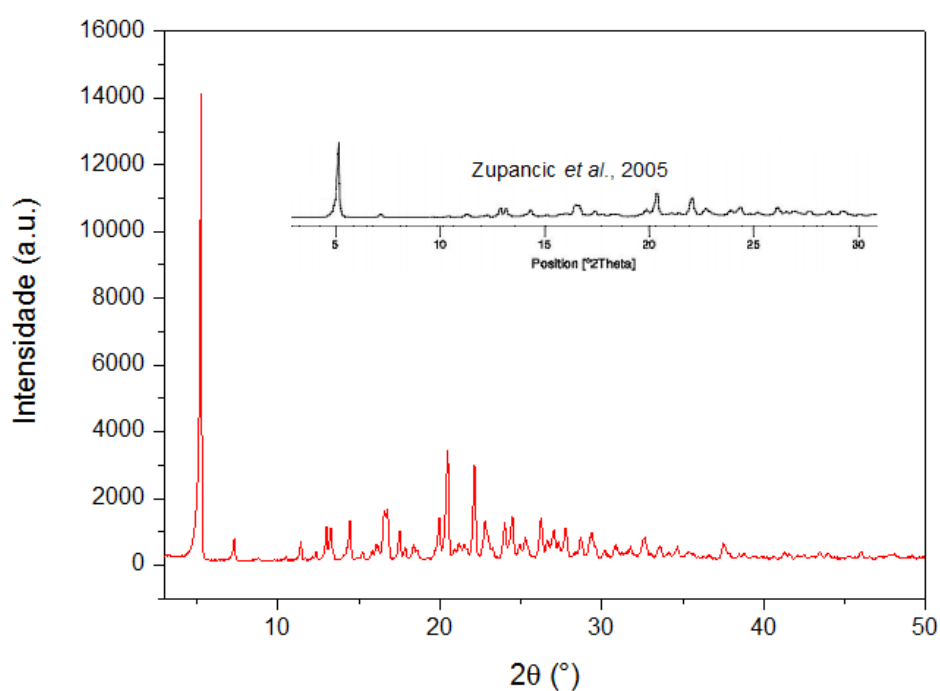
Fonte: da autora.

De acordo com o espectro IV obtido, as bandas características do PAN apresentam sinais específicos que confirmam a presença de seus grupos funcionais. Na região de $3000\text{ a }3500\text{ cm}^{-1}$, são observadas bandas correspondentes às vibrações de estiramento dos grupos O-H e C-H. Entre $1800\text{ e }1500\text{ cm}^{-1}$, destacam-se bandas atribuídas às vibrações dos grupos C=C e C=N. A banda em 1361 cm^{-1} está associada às vibrações do grupo CF_2 , enquanto a banda em 1114 cm^{-1} é característica das vibrações do grupo S=O. Esses dados são consistentes com a literatura científica e fornecem informações cruciais para a identificação e caracterização deste fármaco (Zupancic *et al.*, 2005; Hanif *et al.*, 2020).

4.3.3 Difractometria de Raios-X

A Figura 20 apresenta o padrão de difração de raios X do pó cristalino de PAN, comparado ao difratograma reportado por Zupančič e colaboradores (2005). Observa-se que os picos de Bragg do difratograma de Zupančič exibem um padrão semelhante ao da amostra de PAN analisada, indicando a ausência de diferenças significativas entre os dois padrões de difração.

Figura 20 - Difração de Raios-X de pó do PAN



Fonte: da autora.

O padrão de difração de raios X do pó do PAN analisado neste estudo está de acordo com o descrito na Patente dos EUA 6.933.389 B2 (REDDY *et al.*, 2005). Essa correspondência permite concluir que ambos os materiais são equivalentes e que a amostra analisada é representativa da Forma I.

4.4 ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM O PAN

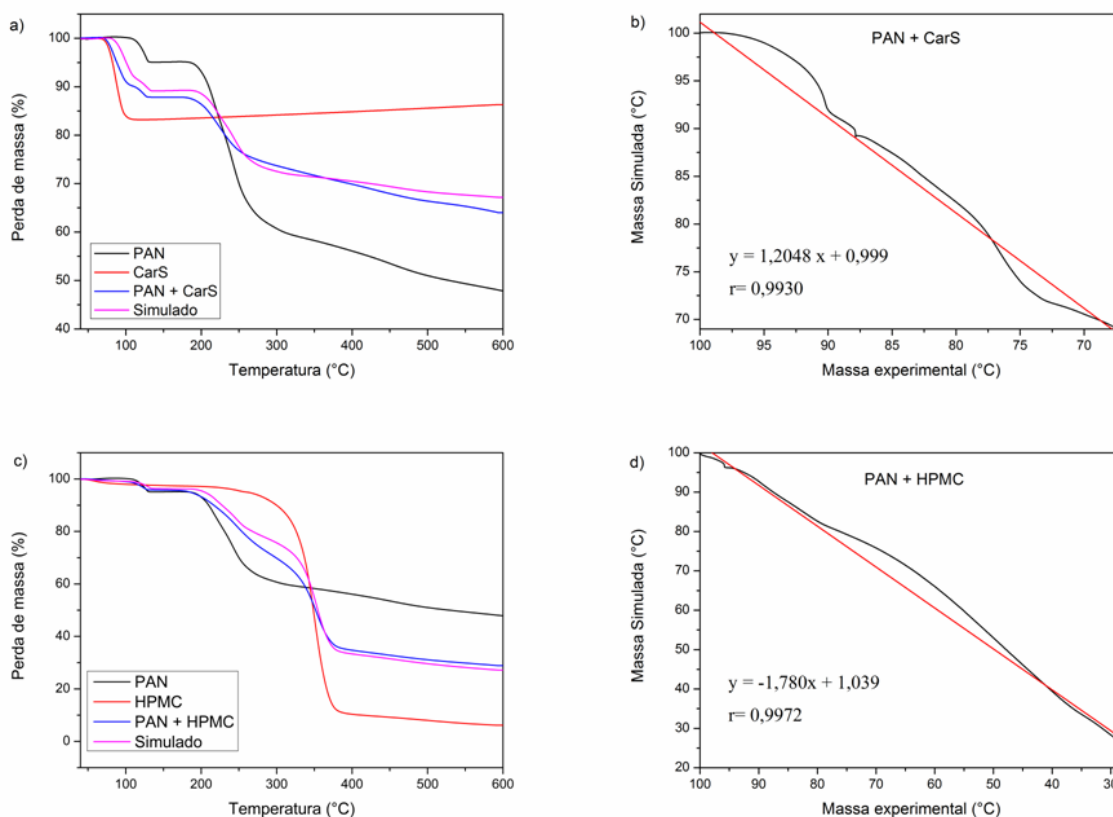
Os resultados referentes ao estudo de compatibilidade fármaco-excipiente realizados com o PAN estão apresentados a seguir.

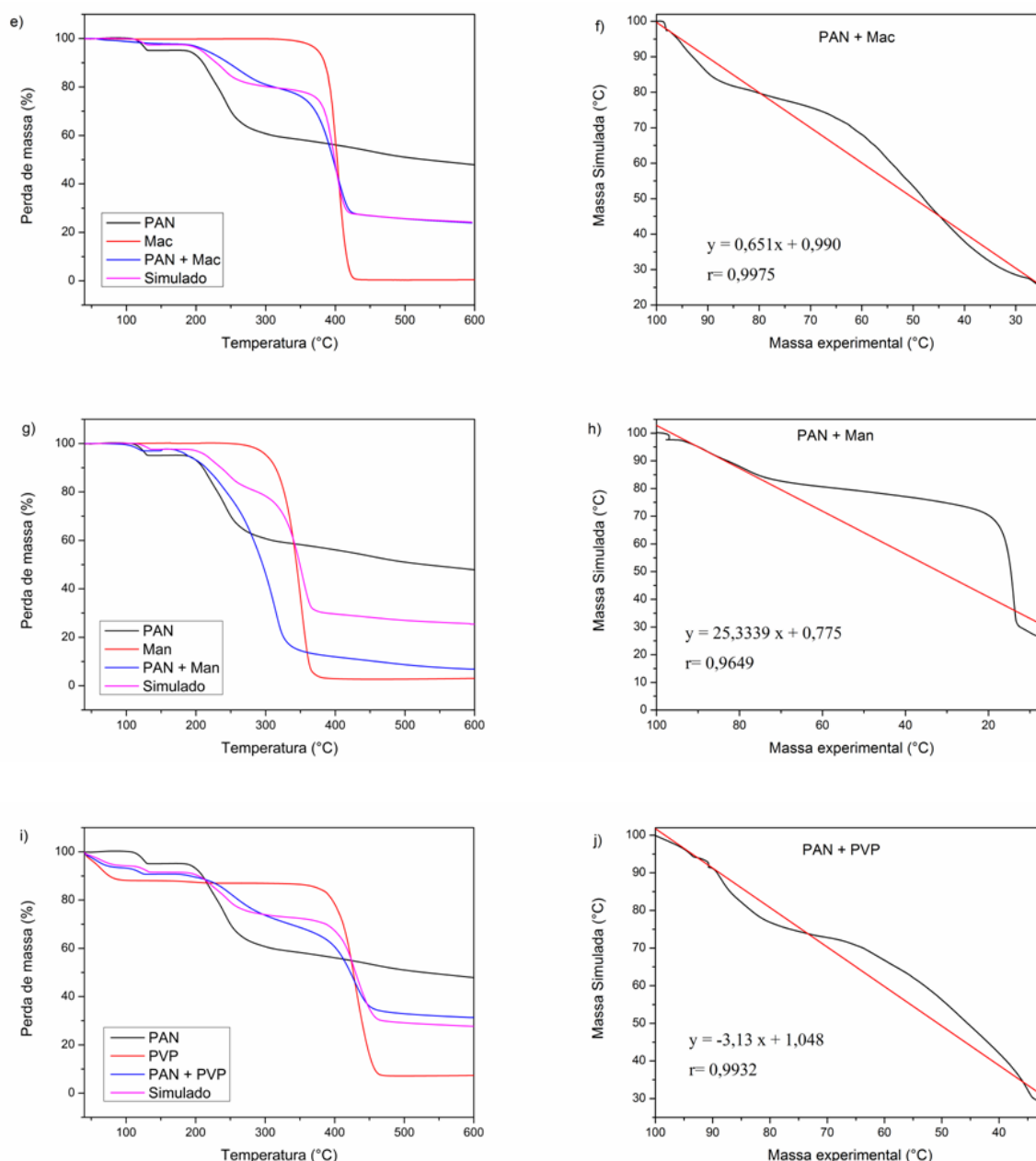
4.4.1 Análise térmica

Os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente para o PAN foram conduzidos avaliando a combinação do fármaco com diferentes excipientes. A primeira técnica utilizada foi a TG. A escolha da TG, em vez da DSC, foi justificada pela natureza específica do PAN, cujo ponto de fusão não está bem definido. Essa indefinição dificulta a realização de estudos por DSC, que dependem da análise da variação de entalpia e da temperatura de início (T_{onset}) do evento de fusão. Assim, a pesquisa adotou a mesma estratégia previamente utilizada em estudos de compatibilidade fármaco-excipiente com o fármaco LIS. Também foi realizada a construção da curva simulada para cada mistura fármaco-excipiente. A curva simulada foi comparada à curva experimental quanto à similaridade, utilizando o coeficiente de correlação de Pearson como critério de avaliação.

As curvas TG do PAN e das misturas binárias obtidas experimentalmente e simuladas, bem como os gráficos de correlação de cada mistura são mostradas na Figura 21.

Figura 21 - Curvas TG do PAN, excipiente, misturas binárias experimentais, simuladas e gráficos de correlação das misturas binárias





Fonte: da autora.

Legenda: Curvas TG do PAN, excipiente e das misturas experimentais e simuladas: (a) PAN + CarS; (c) PAN + HPMC; (e) PAN + Mac; (g) PAN + Man; (i) PAN + PVP; Gráficos de correlação das misturas: (b) PAN + CarS; (d) PAN + HPMC; (f) PAN + Mac; (h) PAN + Man; (j) PAN + PVP.

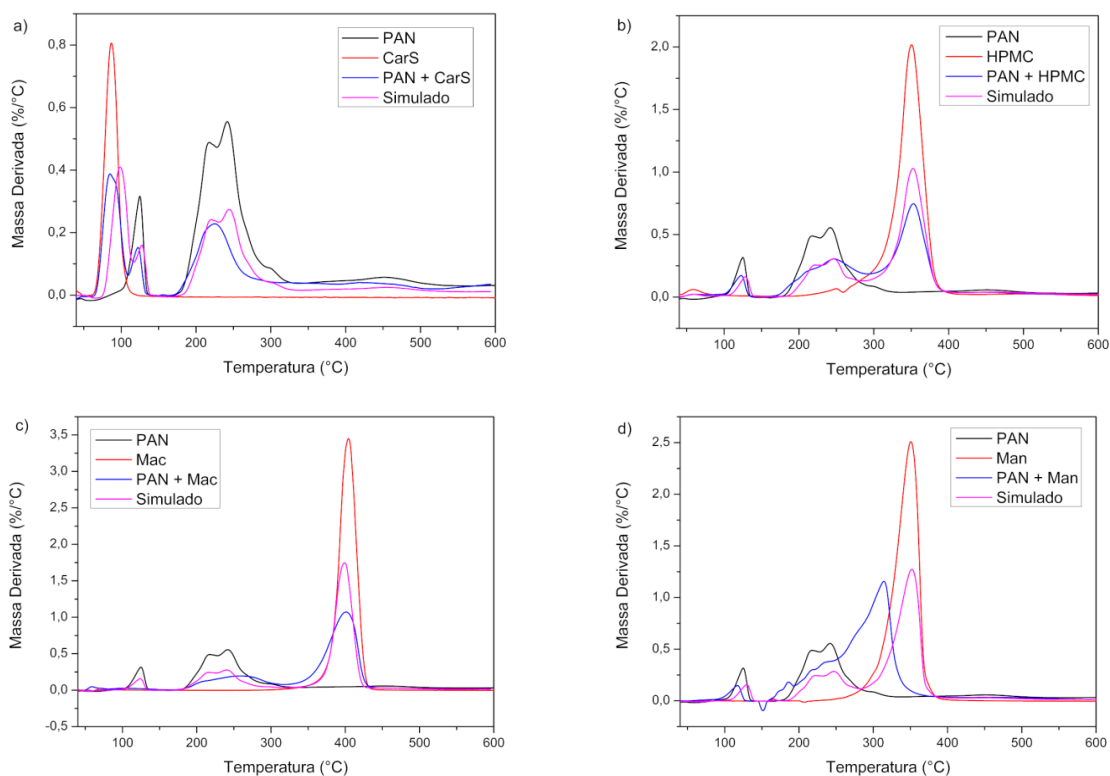
Todas as misturas binárias avaliadas, com exceção da mistura com Man, não apresentaram alterações significativas nos perfis térmicos em comparação aos componentes individuais. Nesse contexto, foi possível observar a semelhança entre as curvas experimentais e simuladas, o que foi corroborado pelo coeficiente de correlação de Pearson,

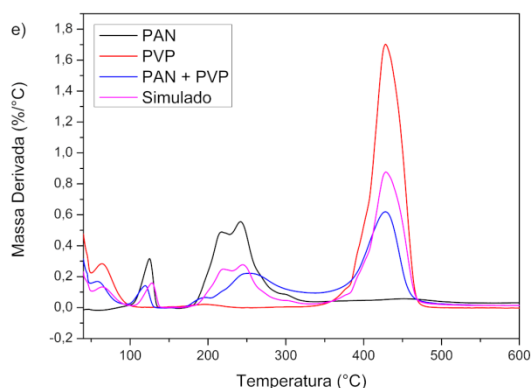
cujos valores de r variaram entre 0,9975 e 0,9932. Esses resultados indicam a ausência de interação entre o fármaco e os excipientes analisados, exceto no caso do Manitol.

Para a mistura binária com Manitol (Man) (FIGURA 21g e 21h), o coeficiente de correlação de Pearson apresentou um valor de $r=0,9649$, indicando um desvio em relação ao valor ideal ($r=1,00$). Ao comparar a curva experimental da mistura com a curva simulada, observa-se que, em temperaturas acima de 170 °C, a curva simulada está acima da experimental. Esse comportamento sugere uma maior perda de massa que o esperado, provavelmente decorrente de uma interação entre o fármaco e o excipiente, resultando na formação de produtos mais voláteis. Observa-se também que a diferença entre as curvas simulada e experimental da mistura é proveniente da decomposição do excipiente, pois não houve diminuição da temperatura de decomposição do PAN.

A Figura 22 apresenta as curvas DTG do PAN, dos excipientes, e de suas respectivas misturas binária (experimental e simulada). As misturas binárias, exceto com o excipiente Man, não mostraram alterações significativas nos perfis térmicos em comparação com os componentes individuais.

Figura 22 - Curvas DTG do PAN, excipiente e das misturas experimental e simulada





Fonte: da autora.

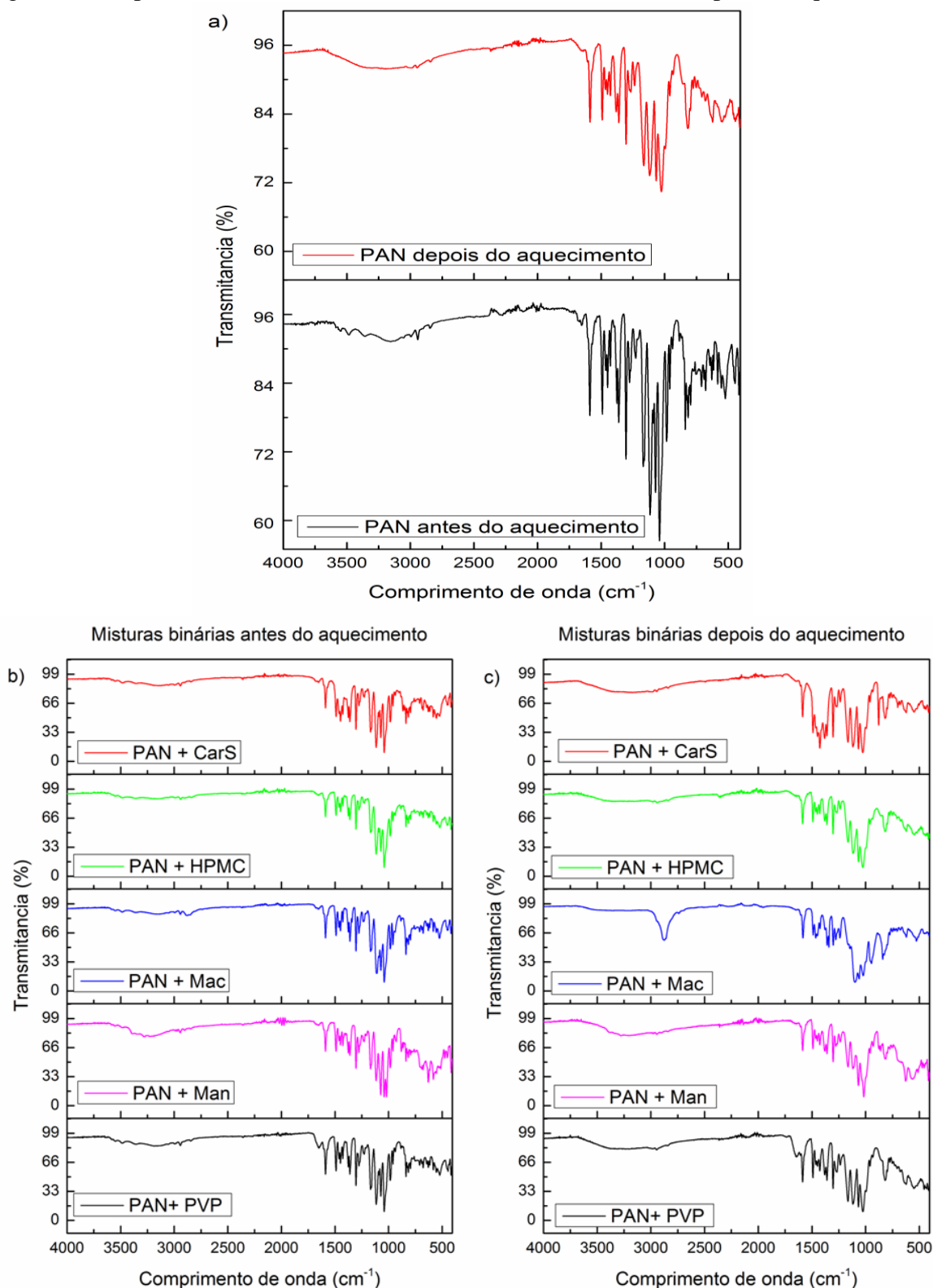
Ao comparar a curva DTG da mistura experimental, referente ao excipiente Man, com a curva simulada, verificou-se que a curva experimental apresentou menor estabilidade térmica. Isso foi evidenciado pelo deslocamento dos picos da curva experimental para temperaturas inferiores em relação aos picos observados na curva DTG simulada.

Em resumo, os resultados obtidos por meio da termogravimetria (TG) indicaram a existência de uma interação entre o PAN e o Man. Para determinar se essa interação é de natureza física ou química, é imprescindível o uso de técnicas complementares. No contexto do presente trabalho, essas técnicas incluem FT-IR, CLAE e testes de estresse isotérmico, as quais permitirão uma análise mais detalhada das interações envolvidas.

4.4.2 Estudo de compatibilidade por FT-IR

Os espectros das amostras contendo PAN e misturas binárias foram analisadas utilizando FT-IR à temperatura ambiente e também após aquecimento a 160 °C por 4 min. são mostrados na Figura 23a. Ao comparar os espectros PAN antes e após o aquecimento em estufa, observou-se uma diminuição na intensidade das bandas em duas regiões específicas. A primeira entre 3000 e 3500 cm^{-1} , correspondentes às vibrações de estiramento dos grupos O-H e segunda entre 1200 e 950 cm^{-1} .

Figura 23 - Espectro FT-IR do PAN e das misturas binárias antes e depois do aquecimento



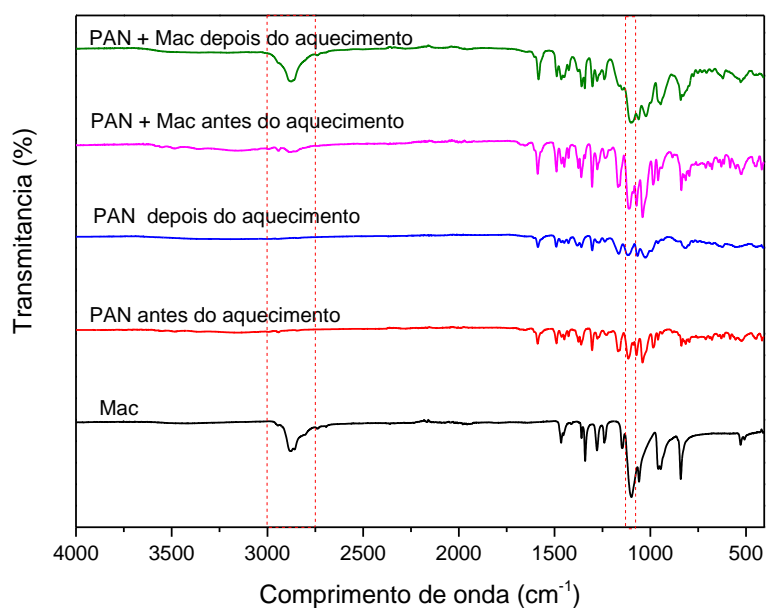
Fonte: da autora.

Para as misturas binárias de PAN com os excipientes, a moagem em temperatura ambiente não resultou na ocorrência de interações detectáveis. Os espectros FT-IR das

misturas binárias apresentaram-se como uma sobreposição dos espectros FT-IR dos componentes individuais (FIGURA 23b).

Ao comparar os espectros das misturas binárias obtidos antes e após o tratamento térmico (FIGURA 23b e 23c), não foi identificado o surgimento de novas bandas em nenhuma das misturas, exceto na combinação do PAN com o excipiente macrogol (Mac). Para uma análise mais detalhada desse resultado, a Figura 24 apresenta os espectros do macrogol, do PAN antes e após o aquecimento, e da mistura PAN+macrogol, também antes e após o tratamento térmico.

Figura 24 - Espectro FT-IR do excipiente Mac, do PAN e das misturas binárias PAN + Mac antes e depois do aquecimento



Fonte: da autora.

O Mac, também conhecido como polietilenoglicol (PEG), apresenta bandas significativas em torno de 2880 cm^{-1} , associadas às vibrações de estiramento C-H, e uma banda proeminente em 1102 cm^{-1} , atribuída às vibrações de estiramento C-O-C do éter. Esses resultados estão em concordância com os dados reportados na literatura (Abdullah *et al.*, 2012). A banda proeminente em 1102 cm^{-1} , característica do grupo C-O-C do Mac, não

é observada em nenhum dos espectros do PAN. Contudo, no espectro da mistura PAN+Mac antes do aquecimento em estufa, essa banda surge com baixa intensidade. Após o aquecimento, no entanto, a banda em 1102 cm^{-1} torna-se significativamente mais intensa no espectro da mistura.

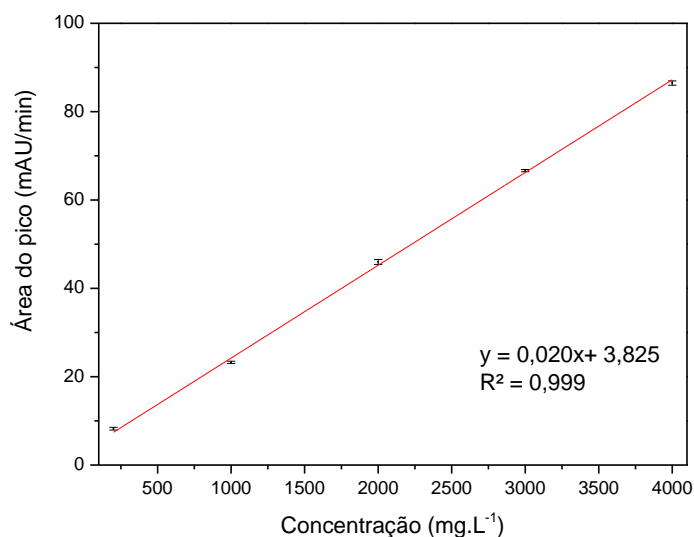
Quando uma amostra analisada por FT-IR apresenta uma banda de baixa intensidade antes do aquecimento e, após o aquecimento, essa mesma banda se torna mais intensa, isso pode indicar uma interação física ou química que foi intensificada ou ativada pelo tratamento térmico. No caso específico da banda em 1102 cm^{-1} , característica do grupo C-O-C do Mac, o aumento de intensidade pode ser explicado por diversos fatores. O aquecimento pode induzir uma maior reorganização das moléculas, resultando em mudanças na orientação ou proximidade dos grupos funcionais, o que aumenta a absorção IR associada ao grupo C-O-C. Além disso, antes do aquecimento, a presença de água adsorvida ou outros componentes voláteis pode mascarar parcialmente a banda, mas após o aquecimento, a remoção desses interferentes pode aumentar a clareza e a intensidade da banda característica.

Portanto, não é possível afirmar que o aumento da intensidade da banda em 1102 cm^{-1} na mistura de PAN com Mac após o aquecimento indique uma incompatibilidade. A confirmação ou não de uma possível incompatibilidade dependerá da análise completa do estudo de compatibilidade do PAN, considerando todas as técnicas empregadas na investigação.

4.4.3 Validação analítica do PAN por CLAE

A curva analítica foi construída para o PAN utilizando cinco pontos de concentração: 200,0, 1000,0, 2000,0, 3000,0 e 4000,0 mg.L^{-1} , conforme apresentado na Figura 25. As análises foram realizadas em triplicata, empregando comprimento de onda de 290 nm no detector UV. O método demonstrou linearidade no intervalo da faixa de trabalho, com a equação da reta obtida por regressão linear pelo método dos mínimos quadrados sendo $y = 0,020x + 3,825$ e coeficiente de determinação $r^2 = 0,999$.

Figura 25 - Gráfico de linearidade do PAN em 290 nm na faixa de 200,0 a 4000,0 mg.L⁻¹ (n=3)



Fonte: da autora.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram calculados, sendo os valores obtidos de LD = 127,3 mg.L⁻¹ e LQ = 385,8 mg.L⁻¹. Os valores de LD e LQ apresentados são adequados para o intervalo de concentração esperado na análise.

Com base nos resultados obtidos para a linearidade, foram conduzidas análises estatísticas de regressão, cujos dados estão apresentados na Tabela 7.

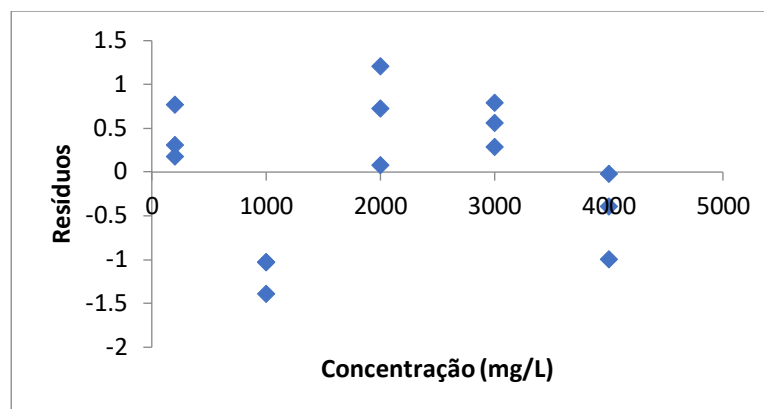
Tabela 7- Resultados da estatística de regressão da curva de linearidade

R múltiplo	0,999628
R-Quadrado	0,999257

Fonte: Da autora.

A análise estatística de regressão, apresentada na Tabela 7, confirmou a linearidade do método. O coeficiente de correlação linear, indicado como "R múltiplo" na Tabela, mostrou-se superior ao limite mínimo estabelecido de 0,990, conforme os requisitos da RDC 166 (Brasil, 2017). Adicionalmente, foi realizada a avaliação do gráfico de dispersão dos resíduos, ilustrado na Figura 26.

Figura 26 - Gráfico de dispersão dos resíduos



Fonte: da autora.

Os resultados de dispersão de resíduos apresentados na Figura 26 indicam, de forma visual, uma distribuição aleatória dos valores, o que foi corroborado pela análise estatística realizada por meio do teste de Shapiro-Wilk, confirmando a normalidade dos dados.

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para avaliar a significância do coeficiente angular, que deve apresentar valor estatisticamente diferente de zero, conforme demonstrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Análise de variância da curva de linearidade

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	12008,07	12008,07	17486,73	9,95E-22
Resíduo	13	8,927051	0,686696		
Total	14	12017			

Fonte: da autora.

Nota: graus de liberdade (gl), soma dos quadrados (SQ), média dos quadrados (MQ) e estatística F de Fisher (F).

Conforme observado na Tabela 8, o valor de F calculado é superior ao F tabelado para 13 graus de liberdade (F tabelado = 4,67), indicando que os coeficientes angulares das curvas de linearidade são significativamente diferentes de zero. O teste F da ANOVA confirmou a significância da regressão, evidenciando a ausência de desvios de linearidade na faixa de trabalho avaliada.

A precisão foi realizada em três níveis de concentração (alto, médio e baixo correspondente a 200,0, 2000,0 e 4000,0 mg.L⁻¹, respectivamente). Os resultados experimentais estão representados na Tabela 9. pode-se observar que os valores obtidos nos

ensaios de exatidão e precisão estão dentro dos limites especificados de recuperação entre 98 a 102% para exatidão e desvio padrão relativo de no máximo 2%.

Tabela 9 – Resultados de precisão e exatidão

Concentração (mg.L ⁻¹)	Recuperação (%)	DPR (%)
200,0	98,4	1,63
2000,0	100,5	0,06
4000,0	101,9	0,01

Fonte: da autora.

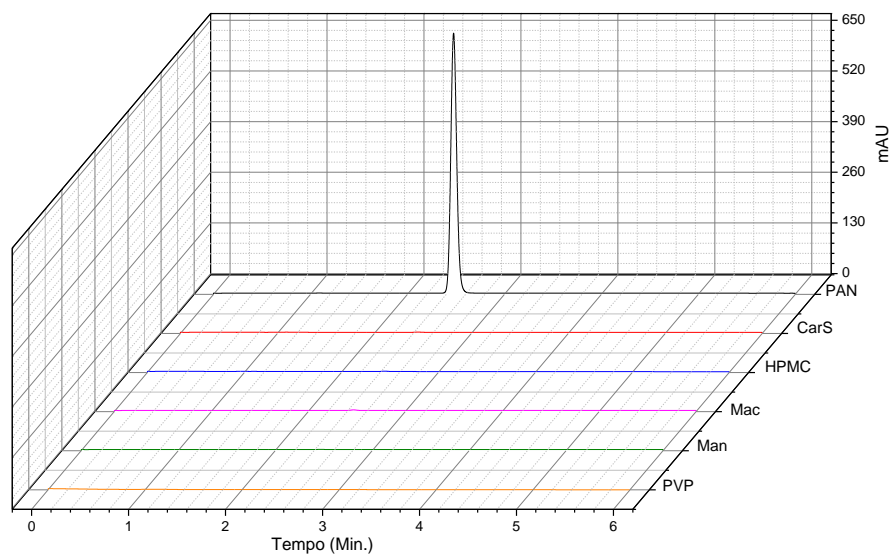
Nota: desvio padrão relativo (DPR)

4.4.3.1 Compatibilidade fármaco-excipiente do PAN por CLAE

Para a realização dos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente do PAN, foi realizado um estudo preliminar para determinar o tempo ideal de permanência das amostras na estufa a 160 °C, temperatura estabelecida 18 °C abaixo do ponto de degradação térmica do PAN. O objetivo foi reproduzir as condições térmicas aplicadas às misturas binárias na análise TG, garantindo, contudo, que tanto o tempo quanto a temperatura empregados não provocassem a degradação do fármaco. Verificou-se que 4 minutos de aquecimento a 160 °C não causaram degradação do fármaco, enquanto tempos de 5 e 10 minutos resultaram em perdas de 8% e 10%, respectivamente. Assim, o tempo de 4 minutos foi selecionado como ideal. Após o aquecimento, as amostras foram diluídas em hidróxido de sódio 0,02 M e acetonitrila na proporção 98:2 (v/v), sonicadas por 5 minutos e analisadas por CLAE.

Os resultados da análise de PAN e excipientes isolados, apresentados na Figura 27, mostram que o cromatograma do PAN exibiu um pico com tempo de retenção de 2,48 minutos. Os cromatogramas dos excipientes isolados não apresentam picos. Isso confirma que o método analítico é seletivo, permitindo a detecção e quantificação do fármaco sem interferência dos excipientes.

Figura 27 - Cromatogramas de PAN e dos excipientes

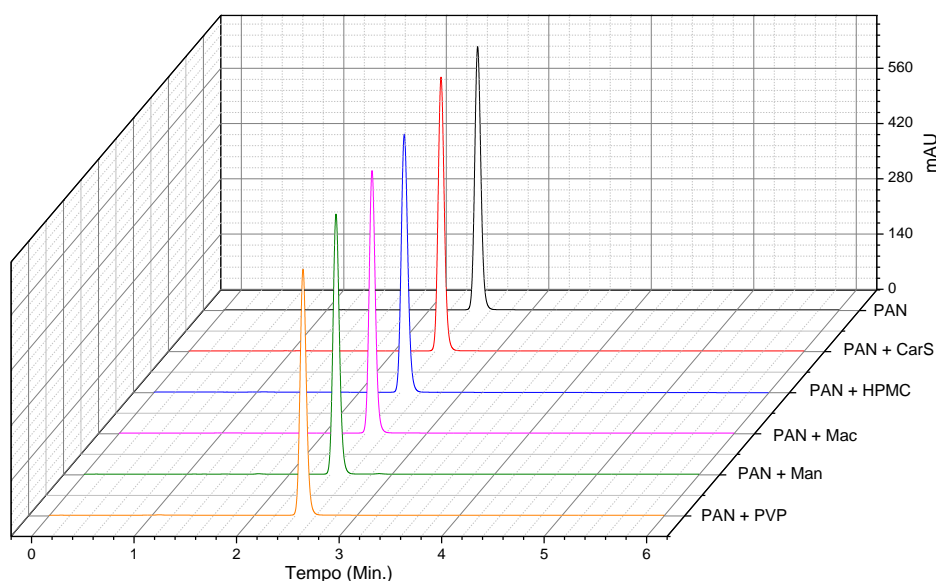


Fonte: da autora.

Nota:coluna cromatográfica foi uma Eclipse XDP-Phenyl (Agilent), 4,6 mm×250 mm, com tamanho de partícula de 5 μm . A fase móvel consistiu em acetonitrila e Solução A na proporção de 50:50 (v/v), vazão de 1,0 mL min^{-1} .

A Figura 28 apresenta os resultados da análise do PAN e das misturas binárias fármaco-excipiente por CLAE, após aquecimento a 160 °C por 4 minutos. O cromatograma do PAN puro evidencia que o aquecimento não resultou em degradação térmica significativa, conforme os critérios estabelecidos pelo ICH Q1A, que consideram aceitável uma perda inferior a 5%. O pico correspondente ao fármaco representa 99% da quantidade total presente na solução, confirmando sua estabilidade térmica nas condições avaliadas.

Figura 28 - Cromatogramas de PAN nas misturas binárias após aquecimento



Fonte: da autora.

Nota: coluna cromatográfica foi uma Eclipse XDP-Phenyl (Agilent), 4,6 mm×250 mm, com tamanho de partícula de 5 μm . A fase móvel consistiu em acetonitrila e Solução A na proporção de 50:50 (v/v), vazão de 1,0 mL min^{-1} .

Os valores da área do pico (mAU/min) e o teor relativo (%) do PAN e das misturas estão descritos na Tabela 10, expressos como média \pm desvio padrão com base em análises realizadas em triplicata. As diferenças entre as amostras foram avaliadas por meio do teste t de Student, considerando significância estatística para $p > 0,05$.

Tabela 10 - Área do pico e Teor Relativo do PAN em comparação com as misturas binárias (média \pm desvio padrão) (n=3)

	Área de Pico (mAU/min)	Teor Relativo (%)
PAN	44,06 \pm 0,77	99,1 \pm 1,9 (a)
PAN + CarS	44,20 \pm 0,65	99,5 \pm 1,7 (a)
PAN + HPMC	43,75 \pm 0,45	98,3 \pm 1,0 (a)
PAN + Mac	44,03 \pm 0,43	99,0 \pm 1,1 (a)
PAN + Man	43,64 \pm 0,44	98,1 \pm 1,1 (a)
PAN + PVP	43,59 \pm 0,34	97,9 \pm 0,8 (a)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$) de acordo com o teste t de Student.

Os resultados obtidos indicaram a ausência de interações químicas significativas entre o PAN e os excipientes avaliados. Isso foi evidenciado pelo fato de que, nas misturas

do fármaco com os excipientes selecionados, não houve perda de teor do PAN. A análise das áreas dos picos no cromatograma reforça que os excipientes CarS, HPMC, Mac, Man e PVP são compatíveis e adequados para utilização em formulações sólidas contendo PAN, garantindo a estabilidade e a integridade do fármaco nas condições analisadas.

4.4.3 Teste de estresse isotérmico para o PAN

O teste de estresse isotérmico foi realizado com o objetivo de investigar a compatibilidade do PAN com e todos os excipientes selecionados. Após a realização do teste, as amostras foram analisadas utilizando o método CLAE previamente estabelecido para quantificação do PAN.

O cromatograma da amostra controle de PAN apresentou um pico com tempo de retenção de 2,48 minutos, sem alterações observadas em comparação com as amostras de PAN que não foram submetidas ao teste de estresse isotérmico. Os resultados quantitativos das análises de PAN (controle) e da mistura deste fármaco com os excipientes selecionados estão apresentados na Tabela 11.

Tabela 11 - Teste de estresse isotérmico do PAN ($n=3$)

	Área de Pico (mAU/min)	Concentração relativa (%)
PAN controle	44,848±1,98	98±1 (a)
PAN + CarS	42,445±0,60	99±2 (a)
PAN + HPMC	42,345±0,56	98±2 (a)
PAN + Mac	42,086±0,73	98±2 (a)
PAN + Man	41,763±0,55	97±2 (a)
PAN + PVP	42,252±0,19	98±1 (a)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p>0,05$) de acordo com o teste t de Student.

Não foi observada qualquer redução no teor de PAN controle em relação à massa total inicial do teste. O mesmo resultado foi constatado para as misturas deste fármaco com os excipientes selecionados. Dessa forma, o teste de estresse isotérmico demonstrou a compatibilidade do PAN com todos os excipientes avaliados.

Após a realização de todos os estudos conduzidos para investigar a compatibilidade entre o PAN e os excipientes selecionados, concluiu-se que o PAN é compatível com todos os excipientes analisados. As interações observadas entre o PAN e o manitol durante o estudo de compatibilidade por TG foram identificadas como interações de natureza física. Os resultados obtidos indicam que as interações observadas não promoveram alterações na estrutura do fármaco, conforme evidenciado pelos dados fornecidos pela análise de FT-IR. Além disso, as análises realizadas por CLAE demonstraram que essas interações não resultaram em redução do teor de PAN, reforçando a estabilidade do fármaco nas condições avaliadas.

Nos estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, as interações físicas nem sempre são classificadas como incompatibilidades, a menos que impactem negativamente a estabilidade, biodisponibilidade ou eficácia do fármaco (Dave, *et al*, 2015). As incompatibilidades ocorrem principalmente em reações químicas que comprometem a eficácia e segurança do medicamento final.

As interações físicas entre o fármaco e os excipientes não envolvem a formação ou quebra de ligações químicas nem alteram a estrutura molecular do fármaco. No entanto, essas interações podem causar modificações nas propriedades organolépticas, nas formas polimórficas, no comportamento de cristalização, nos perfis de liberação e na estabilidade do fármaco (Dave, *et al*, 2015, Gorin, *et al*.2018).

4.5 CARACTERIZAÇÃO DA BROM

Os resultados referentes caracterização da BROM estão apresentados a seguir.

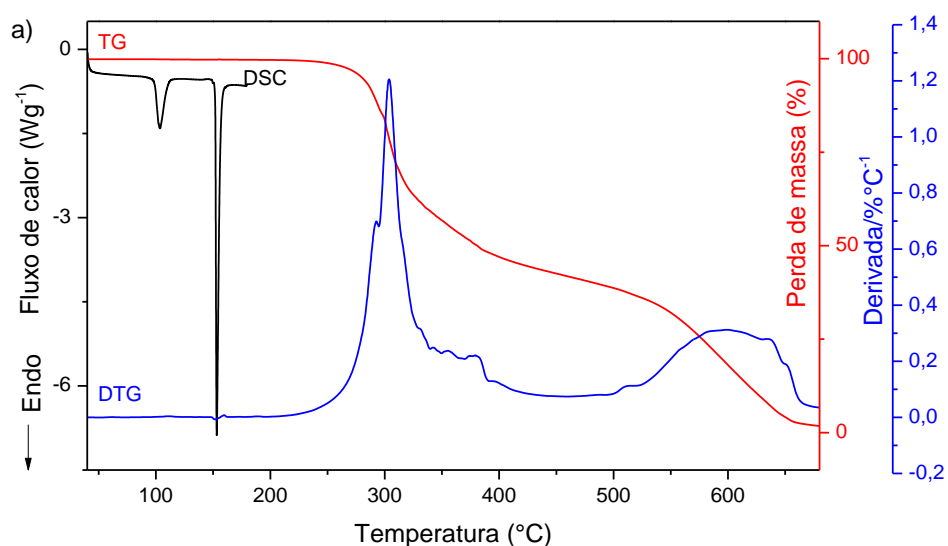
4.5.1 Análise térmica

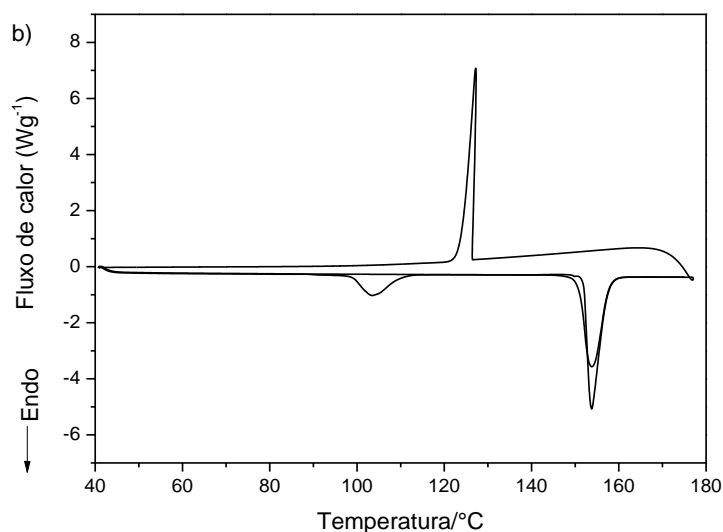
As curvas TG/DTG e DSC obtidas da BROM são mostradas na Figura 29a. O perfil térmico DSC revelou dois picos endotérmicos principais, sendo o primeiro com T_{onset} (temperatura de extrapolação do início do pico) de 99,0 °C, atribuído ao processo de transição polimórfica. O segundo pico com T_{onset} em 151,94 °C foi atribuído à fusão da

BROM, a entalpia de fusão (ΔH_f) encontrada foi de 107,4 J/g com faixa de temperatura de 148,0 a 162,0 °C que estão em concordância com dados da literatura (CARRER *et al.*, 2016). A curva TG não mostra perda de massa nesta faixa de temperatura, apenas a partir da temperatura de 218 °C.

A primeira derivada de TG mostra um evento de degradação ocorrendo aproximadamente entre 236,4 a 428,0 °C, com uma perda de massa de cerca de 56% correspondente à decomposição térmica da matéria orgânica e/ou liberação de produtos gasosos. Assim, o fármaco é termicamente estável até 236 °C. Uma segunda perda de massa pode ser considerada entre 428,0 e 700,0 °C correspondendo a uma perda de massa de cerca de 42% com 2% de resíduo.

Figura 29 - Análise térmica da BROM





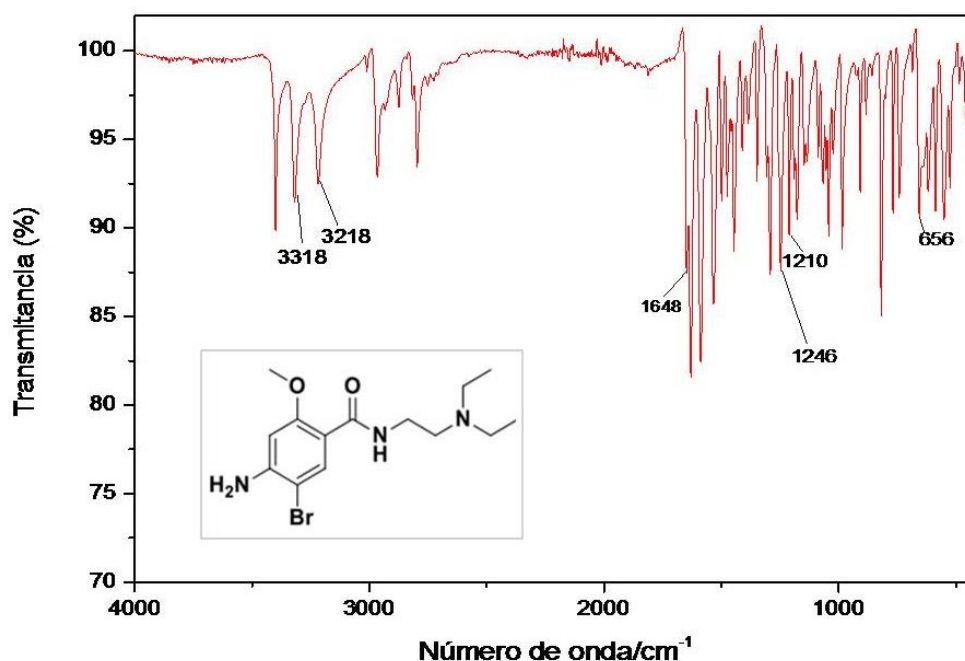
Fonte: da autora.
 Legenda: a) DSC, TG/DTG;
 b) DSC cíclica

Para confirmar se o primeiro evento tratava-se de uma transição polimórfica foi realizada a análise da BROM em DSC com dois ciclos de aquecimento com resfriamento controlado (FIGURA 29b). No primeiro aquecimento é observado o primeiro pico endotérmico indicando a transição polimórfica da fase um para fase dois, seguido do pico endotérmico de fusão. No resfriamento é observado um pico exotérmico, onde a fase líquida passa novamente a fase sólida, com T_{onset} em 126,64 °C e entalpia (ΔH_f) de 79,24 J/g. No segundo aquecimento o primeiro pico desapareceu, confirmando assim se tratar de uma transição polimórfica.

4.5.2 Espectroscopia no infravermelho

As bandas de absorção características da BROM são observadas no espectro do infravermelho (FIGURA 30). Indício da função amida está presente em 1648 cm^{-1} devido ao estiramento de C=O. As bandas de estiramento em 1042 e em 1210 cm^{-1} (C-N) confirmam a presença de amina primária e amina terciária, respectivamente. A absorção em 2874 cm^{-1} do C-H simétrico se refere ao grupo metil. As vibrações de estiramento 1629, 1587, 1532 e 1498 cm^{-1} são características da ligação C=C do anel aromático. A banda de absorção em 1246 cm^{-1} indica a presença do éter ligado ao anel aromático, enquanto 656 cm^{-1} indica a presença do Bromo na ligação C-Br (Nandiyanto *et al.*, 2019).

Figura 30 - Espectro infravermelho da BROM na faixa de 4000 cm^{-1} a 400 cm^{-1} , 32 varreduras com resolução de 4 cm^{-1}

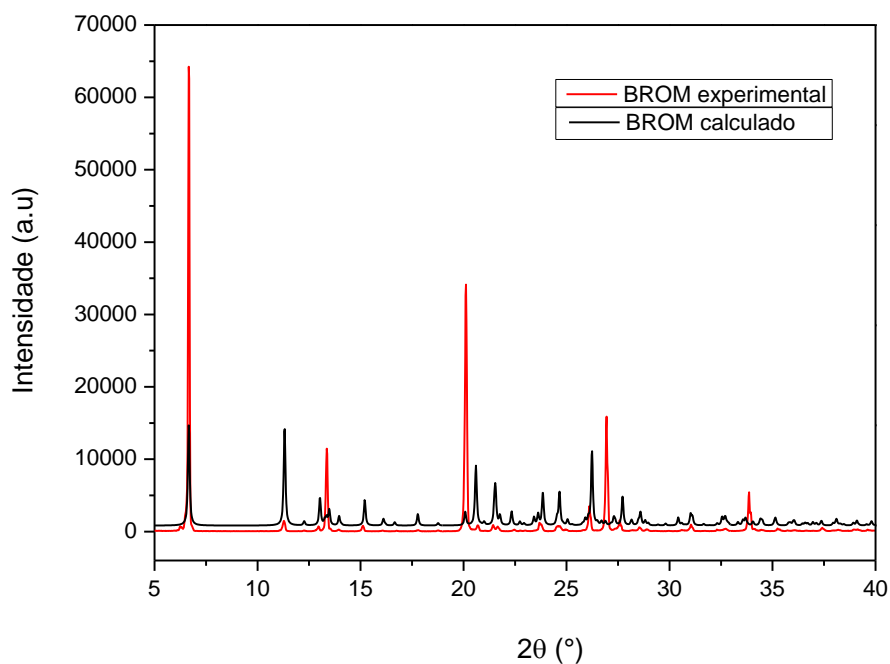


Fonte: da autora.

4.5.3 Difratometria de Raios-X

A Figura 31 apresenta o padrão de difração de raios-X do pó cristalino de BROM, bem como o difratograma calculado com base nas estruturas cristalográficas da substância. Comparando o difratograma calculado com o experimental, observa-se que os picos de Bragg exibem padrões semelhantes, sem diferenças significativas entre os dois perfis.

Figura 31 - Difração de Raios-X de pó da BROM



Fonte: da autora.

O padrão de difração de raios-X da BROM mostra picos bem definidos e ausência de halo, evidenciando a natureza cristalina do sólido. O difratograma experimental inclui picos de Bragg característicos que correspondem à única forma cristalográfica relatada na literatura, descrito por Tanaka e colaboradores (2004).

4.6 ESTUDOS DE COMPATIBILIDADE COM A BROM

Os resultados referentes ao estudo de compatibilidade feito com a BROM são mostrados a seguir.

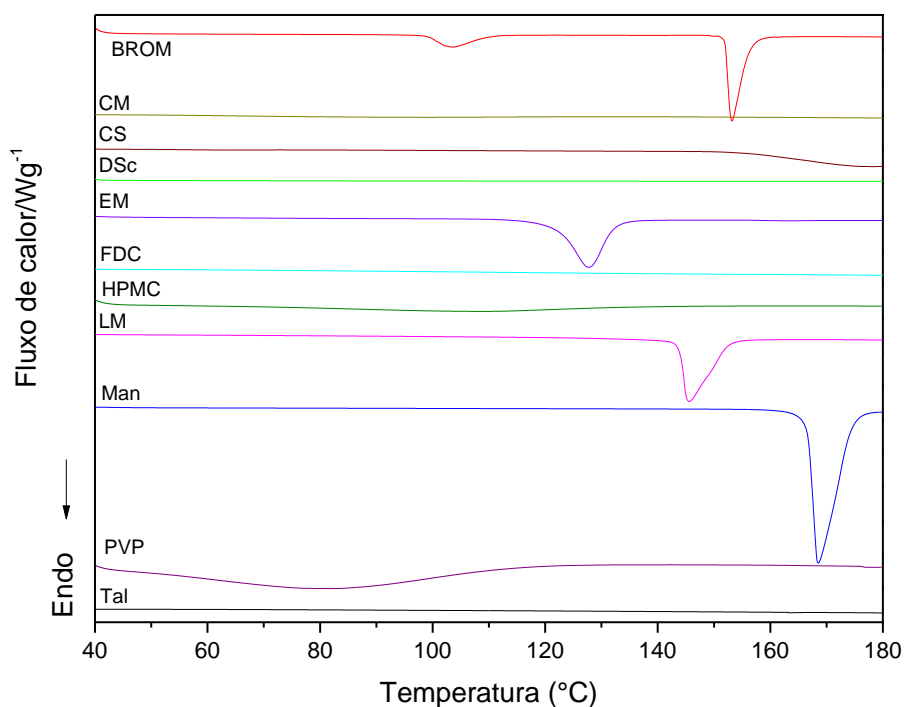
4.6.1 Análise térmica

A técnica de DSC foi selecionada como metodologia inicial nos estudos de compatibilidade da BROM. Durante a caracterização do fármaco, foi observado um evento de fusão bem definido na curva, o que facilita sua análise por essa técnica. O DSC permite

detectar alterações na temperatura de início de fusão (T_{onset}) e variações na entalpia de fusão nas misturas de fármaco e excipiente, fornecendo informações essenciais sobre possíveis interações. Destaca-se, ainda, que o DSC é amplamente utilizado como técnica preliminar na maioria dos estudos de compatibilidade entre fármacos e excipientes

A comparação das curvas térmicas da substância ativa, neste caso a BROM, com as curvas resultantes de cada excipiente isolado é mostrada na Figura 32. Ao examinar as curvas, é evidente que o segundo evento endotérmico, que reflete a faixa de fusão da BROM situada entre 148,0°C e 162,0°C apresenta um comportamento singular. A maioria dos excipientes não apresenta sobreposições nesse intervalo, exceto CS e LM. Assim, possíveis interações entre os componentes das misturas binárias foram analisadas comparando-se os perfis térmicos.

Figura 32 - Curvas DSC da BROM e dos excipientes isolados: temperatura de 40°C a 180°C; razão de aquecimento 10°C.min⁻¹ e atmosfera de N₂ com fluxo de 50 mL.min⁻¹



Fonte: da autora.

Um indicativo de compatibilidade acontece quando é observado um somatório dos perfis de cada componente individual no perfil da mistura binária. Diferentemente, um sinal que indica interação, portanto, de incompatibilidade entre os componentes, é identificado

quando ocorrem deslocamento da T_{onset} e desaparecimento do pico correspondente ao ponto de fusão, o aparecimento de um novo pico (exotérmico ou endotérmico) e/ou variações nas entalpias de reação e alterações na forma e área do pico principal relacionado ao IFA (Chadha; Bhandari 2014; Melchiades *et al.*, 2020). Desta forma, as possíveis interações fármaco-excipientes podem ser deduzidas das curvas DSC.

Os parâmetros DSC (T_{onset} e ΔH_f) do fármaco e de cada mistura binária são mostrados na Tabela 12. O primeiro evento (evento não detalhado na tabela) está relacionado à transição polimórfica (94,90-113,70°C), enquanto que o segundo evento refere-se a fusão, tanto do fármaco puro quanto do mesmo nas misturas binárias. O evento descrito na Tabela 12 como Evento^a está relacionado ao deslocamento do pico endotérmico observado em algumas misturas analisadas. Portanto, este pico apresenta-se em região diferente da faixa de fusão da BROM.

Tabela 12 - Temperatura inicial de fusão (T_{onset}) e variação da entalpia (ΔH_f) da BROM e das misturas binárias

Amostra	Evento		Evento ^a	
	$T_{\text{onset}}/^\circ\text{C}$	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$	$T_{\text{onset}}/^\circ\text{C}$	$\Delta H_f/\text{Jg}^{-1}$
BROM	151,94	53,6 ^b	-	-
BROM+ CM	-	-	123,5	41,37
BROM+ CS	-	-	131,76	27,53
BROM+ DSc	-	-	141,93	35,95
BROM+ EM	-	-	141,52	63,07
BROM+ FCD	150,05	41,64	-	-
BROM+HPMC	-	-	124,39	41,9
BROM+ LM	-	-	142,58	170,6
BROM+ Man	150,1	60,09	-	-
BROM+ PVP	-	-	106,41	19,67
BROM+ Tal	152,19	63,44	-	-

Fonte: da autora.

Nota: a) evento modificado devido à presença do excipiente

b) entalpia corrigida para 50% de massa

Em alguns casos, como nas misturas com FCD, Man e Tal, o pico de fusão do fármaco foi preservado com pequenas alterações de temperatura devido ao alargamento do pico. Relatos na literatura indicam que a quantidade de material utilizado na mistura fármaco-excipientes, influencia a forma do pico e a entalpia. Portanto, essas alterações na

fusão endotérmica do fármaco podem ser atribuídas à mistura com o excipiente, mas não necessariamente indica uma incompatibilidade em potencial (Gao; Yang, 2015).

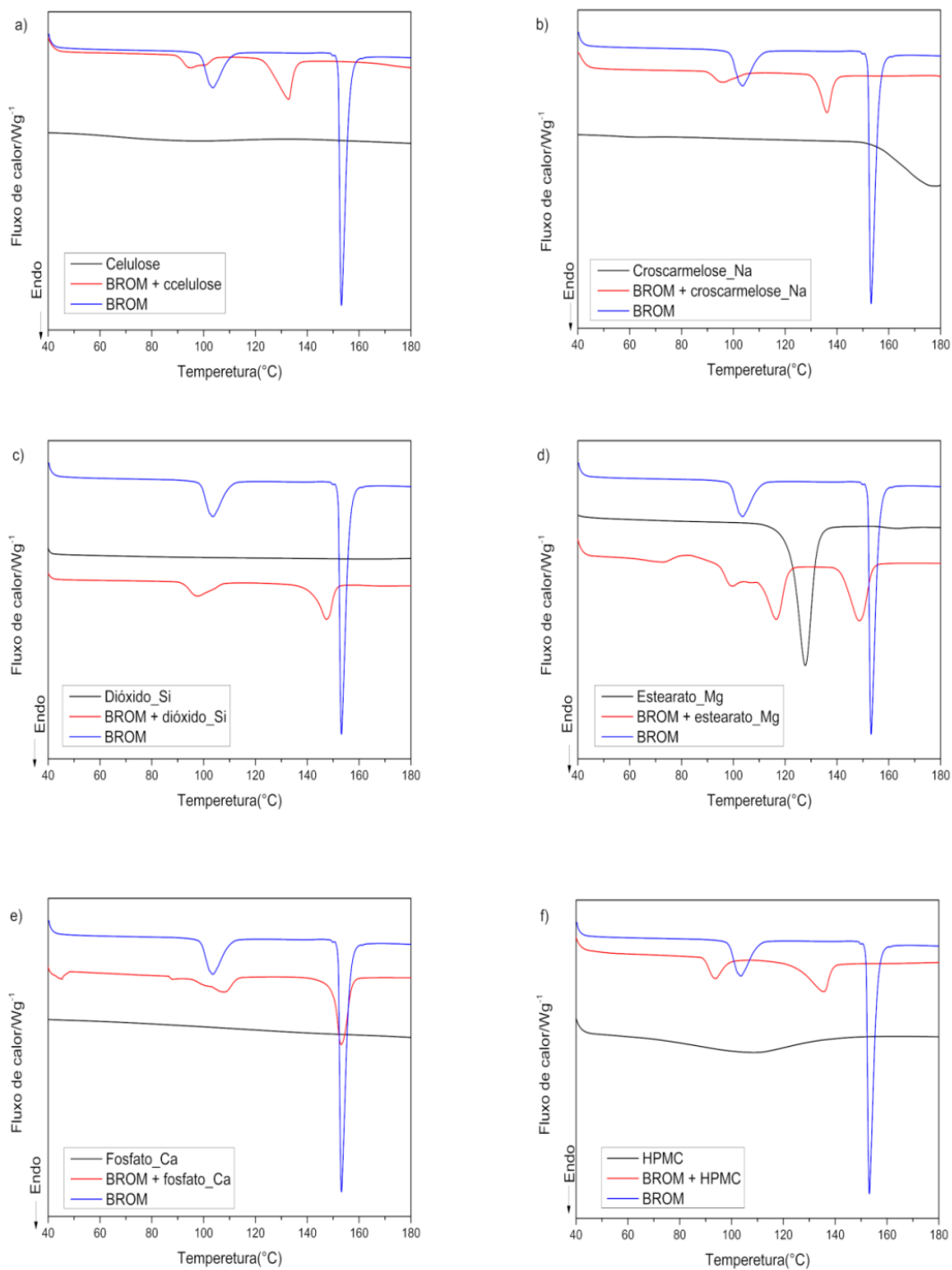
Para não ocorrer interação entre a BROM e os excipientes, o valor da T_{onset} na mistura deve ser equivalente ao do IFA e o valor da ΔH_f deve ser metade do valor do IFA. Deste modo, os valores esperados de T_{onset} e ΔH_f do fármaco nas misturas são 151,94°C e 53,6 Jg⁻¹, respectivamente, uma vez que cada mistura binária tinha uma proporção de 1:1(m/m).

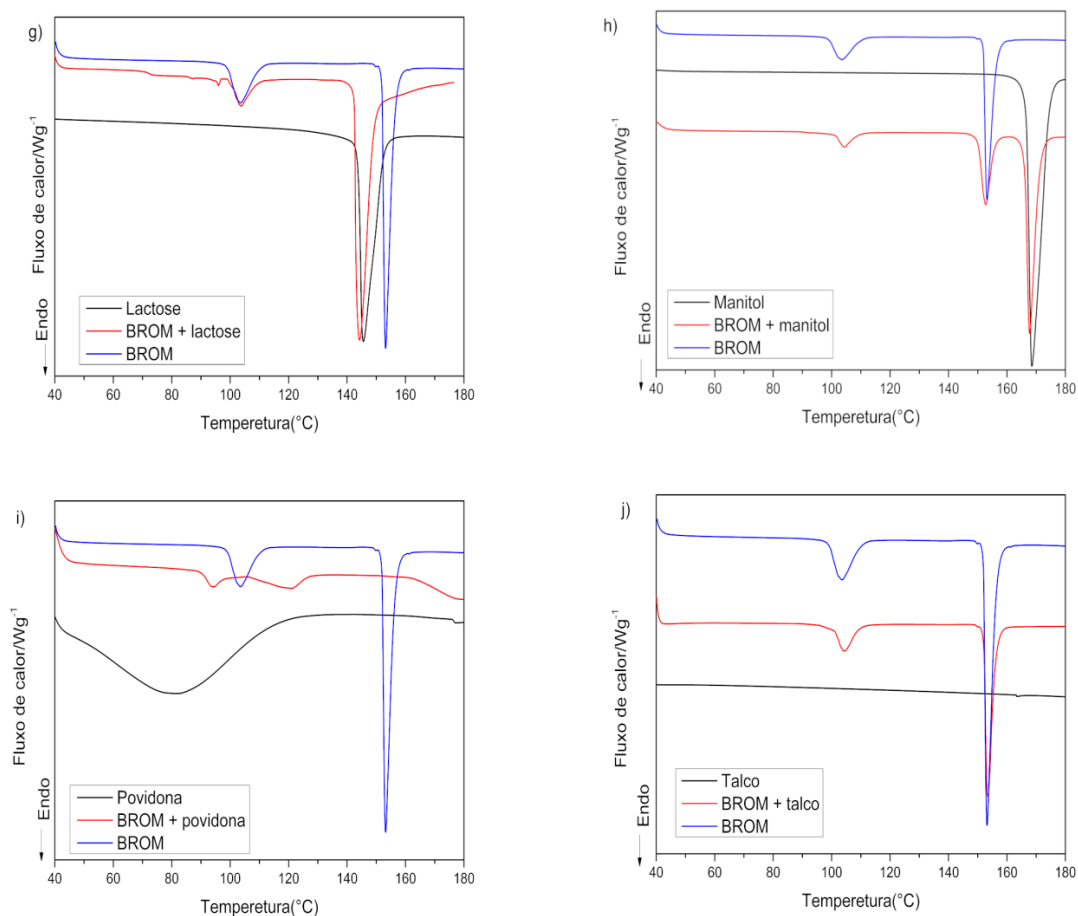
Na faixa de fusão da BROM (148,0-162,0°C) as misturas com excipientes FCD, Man e Tal não apresentaram variação significativa na T_{onset} , apesar disso a ΔH_f referente ao fosfato de cálcio di-hidratado foi menor que a esperada.

Nas demais misturas é possível observar que ocorreram deslocamentos deste evento para temperaturas menores, além de valores de ΔH_f diferentes do esperado. Estes comportamentos sugerem que pode ter ocorrido uma interação entre os componentes da mistura. No entanto, a mistura fármaco e excipiente podem diminuir a pureza de cada componente na mistura e não necessariamente indicar incompatibilidade (Pani *et al.*, 2012). Outra possibilidade ocorre em excipientes que apresentam ponto de fusão inferior ao IFA. Estes excipientes uma vez na forma líquida solubilizam parte do IFA, diminuindo a sua entalpia (Julio *et al.*, 2013). Desta forma, é importante que o estudo de compatibilidade seja feito por mais de uma técnica analítica. Neste trabalho optou-se por realizar análises por CLAE e FT-IR para complementar os resultados obtidos por DSC.

As curvas DSC de BROM, o excipiente isolado e misturas binárias 1:1 (m/m) BROM/excipiente são mostrados na Figura 33. O perfil térmico da mistura binária BROM e CM (FIGURA 33a) indica a diminuição no valor da entalpia de fusão em aproximadamente 22%, além de uma redução drástica na T_{onset} (de 151,94 para 123,50°C). Verma e Garg (2004b) estudaram a interação do mononitrato de isossorbida com celulose microcristalina e também observaram a redução destes parâmetros na mistura binária.

Figura 33 - Curvas DSC de BROM, excipiente e misturas binárias 1:1 (m/m)





Fonte: da autora.

Legenda: (a) CM; (b) CS; (c) DSc; (d) EM; (e) FCD; (f) HPMC; (g) LM; (h) Man; (i) PVP e (j) Tal.

A Figura 33b, mostra que a fusão da CS se inicia em 145 °C. A mistura com este excipiente não pôde ser avaliada pela técnica de DSC, uma vez que a fusão do mesmo encontra-se na faixa de temperatura da fusão da BROM (148,0-162,0 °C), sendo necessária outra técnica para avaliar a compatibilidade.

A curva DSC do dióxido de silício coloidal (DSc), Figura 33c, não apresenta nenhum evento na faixa de temperatura investigada, assim como descrito na literatura (PEREIRA *et al.*, 2014). O comportamento térmico apresentado por esta mistura mostrou que houve uma diminuição na T_{onset} e também na entalpia de fusão que foi aproximadamente 33% menor que a esperada. A diminuição da entalpia foi relatada anteriormente, no trabalho de Silva (2021) e colaboradores, onde a mistura do fármaco Azatioprina com este excipiente apresentou entalpia de fusão 88% menor que a esperada. Alguns autores atribuem esta diminuição na entalpia à possibilidade de parte da amostra não passar pelo processo de fusão devido à proteção térmica oferecida pelo DSc (Silva *et al.*, 2021). Lediti e colaboradores

investigaram a interação da Levodopa com o dióxido de silício coloidal. Os resultados comprovaram a incompatibilidade induzida termicamente por técnicas como TG e DTA, onde a mistura apresentou uma perda de massa maior que a esperada. A incompatibilidade também foi indicada por FT-IR e PXRD, realizadas em condições ambientais (Lediti *et al.*, 2017). Apesar de existir relatos na literatura sugerindo a incompatibilidade do DSc com alguns fármacos como Mononitrato de isossorbida, Cetoprofeno, Sinvastatina, Enalapril e Levodopa, ainda não há explicação de como este excipiente interfere na entalpia de fusão do fármaco, necessitando assim, a realização de estudos mais aprofundados (Matos *et al.*, 2017).

A curva do EM (FIGURA 33d) puro revela um pico endotérmico com T_{onset} 121,96 °C, condizente com relatos da literatura (Verma, Garg, 2005a). A BROM mostrou uma incompatibilidade com este excipiente, uma vez que a mistura binária apresenta dois picos endotérmicos sobrepostos na faixa de 83,15-124,60 °C. O pico de fusão da BROM nesta mistura apresenta-se deslocado para T_{onset} menor (141,52°C) e ΔH_f maior que a esperada. Estes dados revelam que o EM interferiu nas temperaturas, tanto de transição polimórfica, quanto da fusão do IFA. Muitos autores relatam a interação deste excipiente com fármacos como: Aciclovir, Ibuproxam, Cetoprofeno, Glipizida, Clorpropamida, Glimepirida, Captopril, Fosinopril, Penicilina G, entre outros. A explicação mais aceita sugere que a incompatibilidade ocorre devido à formação de um filme líquido superficial que contribui para a degradação do IFA, causando a redução do ponto de fusão do mesmo (Bharate *et al.*, 2010).

A curva DSC do FCD (FIGURA 33e) revela que não ocorreu nenhum evento até a temperatura de 180 °C. Na mistura com este excipiente a T_{onset} não apresentou deslocamento significativo em relação ao fármaco puro, porém a entalpia foi aproximadamente 22% menor que a esperada, sugerindo incompatibilidade. Existem relatos que mostram a interação deste excipiente com alguns fármacos. Uma possível justificativa para este comportamento é o fato do FCD ser suscetível à desidratação em temperaturas baixas na presença de vapor d'água (Bharate *et al.*, 2010). Um estudo realizado com o antitumoral β -lapachone mostrou incompatibilidade com o FCD. Neste caso, a água de cristalização deste excipiente dissolveu parcialmente o fármaco em ambiente básico resultando na decomposição do IFA (Cunha-Filho *et al.*, 2007).

A curva de HPMC (FIGURA 33f) apresenta um pico endotérmico largo (40,0 a 150,76°C) com T_{onset} 130,90 °C condizentes com relatos na literatura, devido à evaporação da umidade (Ding *et al.*, 2017). A mistura binária apresentou T_{onset} (124,39 °C) deslocada

para temperatura menor que o fármaco e a entalpia de fusão aproximadamente 21% menor que a esperada.

A Figura 33g mostrou o pico endotérmico da LM com entalpia de 150 Jg^{-1} e T_{onset} $143,94 \text{ }^\circ\text{C}$, correspondente à desidratação da água, os dados encontrados estão de acordo com relatos da literatura (Gao *et al.*, 2015). Este pico apresenta-se na mesma faixa de temperatura da fusão da BROM. A curva DSC desta mistura apresenta ponto de fusão em $142,58 \text{ }^\circ\text{C}$ e entalpia, aproximadamente, 3 vezes maior que a esperada. A mistura com LM não pode ser avaliada pela técnica de DSC, uma vez que apresenta eventos de sobreposição e um valor de entalpia de fusão superior ao esperado.

A Figura 33h mostra que entre 157 e $178 \text{ }^\circ\text{C}$ ocorre um evento endotérmico (T_{onset} $166,59 \text{ }^\circ\text{C}$ e ΔH_f $329,8 \text{ Jg}^{-1}$) correspondente ao processo de fusão do Man, que está de acordo com dados da literatura (Lima *et al.*, 2014). A curva DSC do Tal (FIGURA 33j) revela que não ocorreu nenhum evento até a temperatura de $180 \text{ }^\circ\text{C}$. As curvas DSC das misturas BROM- Man e BROM-Tal não apresentaram alteração no perfil térmico. Portanto, apenas as misturas de BROM com Man e Tal não apresentam evidências para supor que estes materiais são incompatíveis. O aumento na entalpia de fusão da BROM em ambientes contendo estas respectivas misturas sugere inclusive, um efeito protetor, pois mais calor é necessário para induzir a fusão.

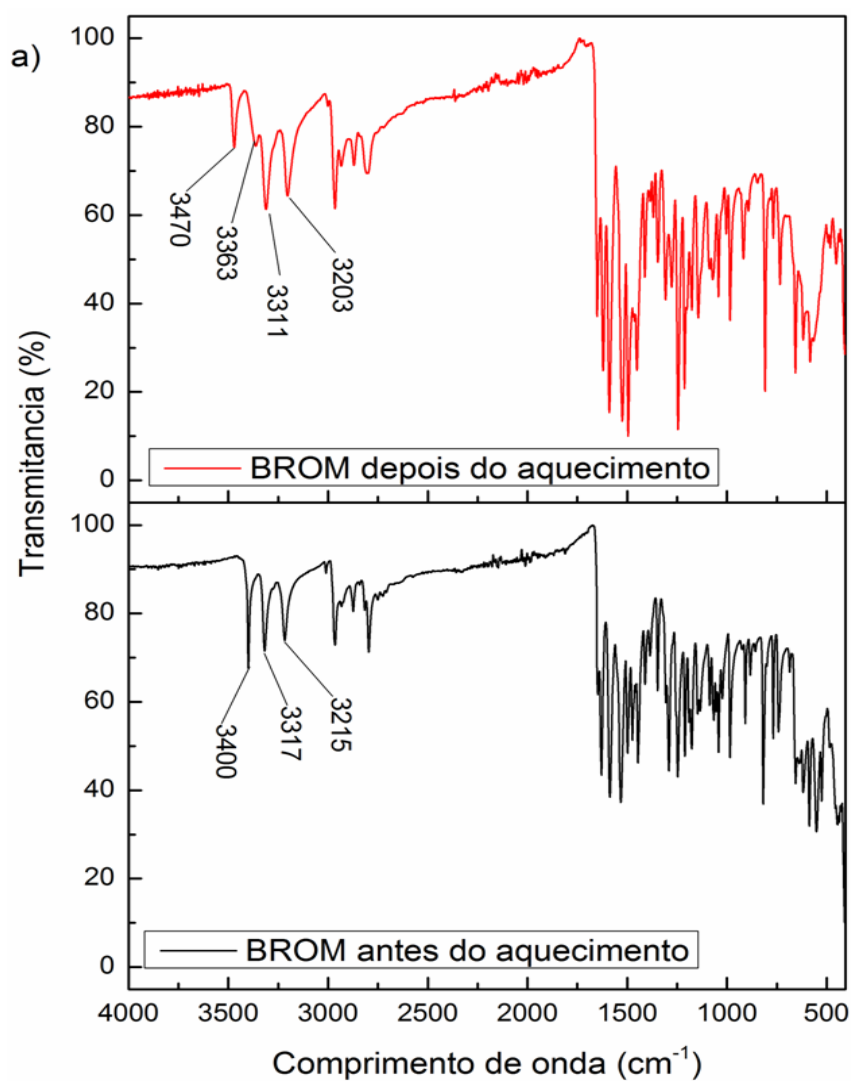
No caso da PVP, foi observado um pico endotérmico largo ($40,0$ a $129,51 \text{ }^\circ\text{C}$) devido à perda de umidade adsorvida (FIGURA 33i). A mistura BROM-PVP apresentou o deslocamento da T_{onset} para temperatura mais baixa ($106,41 \text{ }^\circ\text{C}$) e ΔH_f 63% menor. O dado mencionado, de acordo com a literatura, pode ser resultado da mistura direta do fármaco com o excipiente, o que leva à diminuição da pureza de ambos os componentes (PANI *et al.*, 2012).

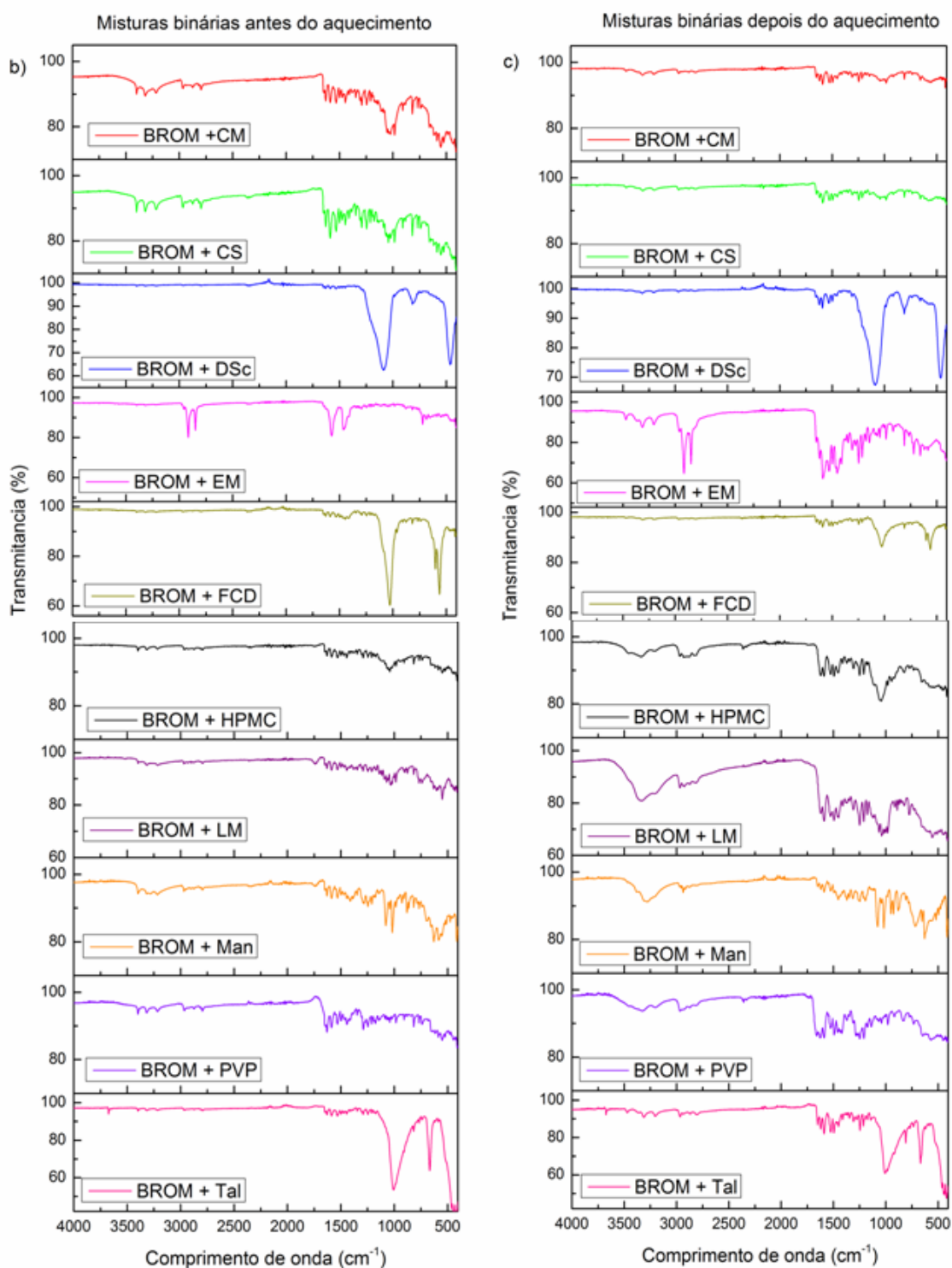
Em resumo, os resultados obtidos DSC indicaram uma provável interação da BROM com a maioria dos excipientes analisados, com exceção de Man e Tal. Contudo, as análises das misturas binárias exclusivamente pela técnica de DSC não são suficientes para confirmar se essas interações correspondem a uma incompatibilidade entre o fármaco e os excipientes. Isso se deve à limitação da técnica, que não permite diferenciar se as interações observadas são de natureza física ou química.

4.6.2 Estudo de compatibilidade por FT-IR

Os espectros das amostras contendo BROM, bem como das misturas binárias, foram obtidos e analisados por FT-IR. As análises foram realizadas tanto à temperatura ambiente quanto após o aquecimento das amostras a 180 °C por 20 minutos, conforme apresentado na Figura 34.

Figura 34 - Gráfico de espectro de IV da BROM e das misturas binárias antes e depois do aquecimento





Fonte: da autora.

Conforme apresentado na Figura 34a, o espectro da BROM submetida ao tratamento térmico apresenta diferenças em relação ao espectro da BROM utilizada como controle, analisada à temperatura ambiente. Algumas bandas específicas exibem alterações, como na

região entre 3.400 e 3.200 cm^{-1} , além de mudanças na intensidade, particularmente na região da impressão digital (400 a 1.800 cm^{-1}). Essas modificações podem estar associadas à transição da forma cristalina do controle para a forma amorfa da BROM, obtida após sua fusão devido ao tratamento térmico.

Ao analisar os espectros das misturas binárias antes e após o tratamento térmico (FIGURA 34b e 34c), não foram observadas novas bandas em nenhuma das misturas. Contudo, todas as amostras exibiram alterações, como o alargamento e variações na intensidade, seja aumento ou diminuição.

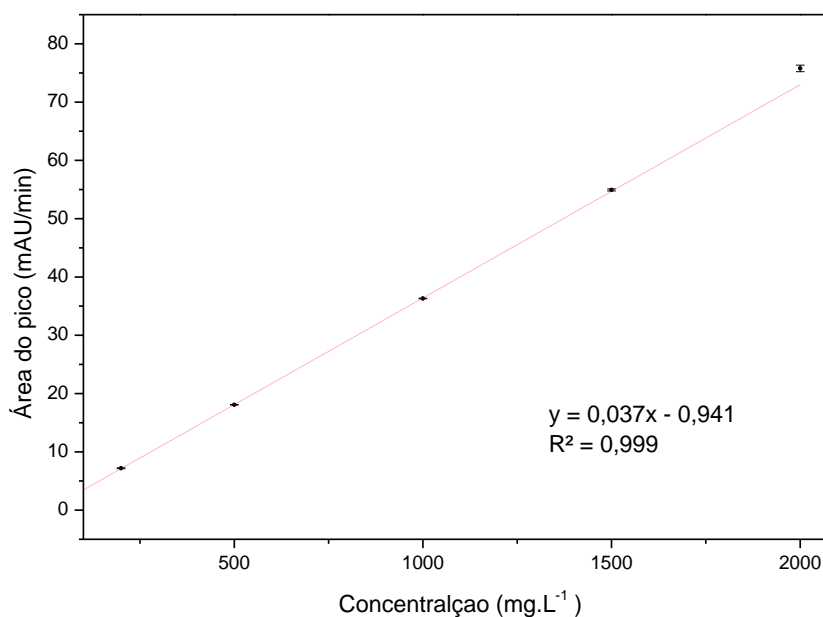
Após o tratamento térmico das misturas de BROM com HPMC, LM e Man, foi observada a ausência de bandas em 3400, 3320 e 3215 cm^{-1} , além do alargamento das bandas na região de 3600 a 3020 cm^{-1} , atribuídas ao estiramento do grupo N–H. Na região de impressão digital do BROM (600–1500 cm^{-1}), verificou-se aumento na intensidade das bandas em misturas com DSc, HPMC, LM, EM, PVP e Tal, enquanto outras misturas apresentaram diminuição na intensidade da banda, como aquelas contendo CS, FCD e CM.

Os resultados obtidos por meio da análise de FT-IR indicaram a presença de interações entre o BROM e todos os excipientes avaliados. Contudo, a espectroscopia no infravermelho não possui a capacidade de diferenciar se essas interações são de natureza química ou física, sendo necessário o uso de técnicas complementares para uma caracterização mais precisa dessas interações.

4.6.3 Validação analítica da BROM por CLAE

A avaliação da compatibilidade de BROM nas misturas foi realizada usando metodologia descrita na Farmacopeia brasileira (Brasil, 2024). A curva analítica com cinco pontos nas concentrações de 200,0, 500,0, 1000,0, 1500,0 e 2000,0 mg.L^{-1} realizadas em triplicata, foi construída para a BROM no comprimento de onda de 310 nm para detector UV conforme a Figura 35. O método foi considerado linear e a equação da reta obtida pela regressão linear do método dos mínimos quadrados ordinário foi de $y = 0,037x - 0,941$, com um valor de $r^2 = 0,999$.

Figura 35 - Gráfico de linearidade da BROM em 310 nm na faixa de 200,0 a 2000,0 mg.L⁻¹ (n=3)



Fonte: da autora.

A partir dos resultados de linearidade, foram realizadas análises estatísticas de regressão, cujos resultados estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13- Resultados da estatística de regressão da curva de linearidade

R múltiplo	0,999546
R-Quadrado	0,999092

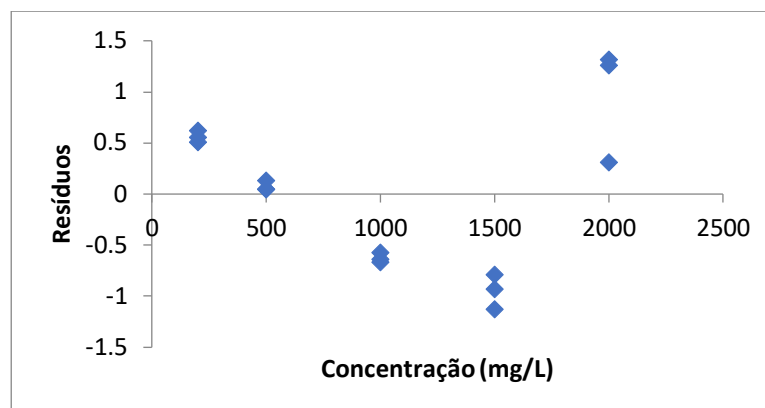
Fonte: Da autora.

A análise de regressão estatística apresentada na Tabela 13 evidenciou a linearidade do método. O coeficiente de correlação linear, indicado como "R múltiplo" na Tabela 13, apresentou valor superior ao limite mínimo de 0,990 estabelecido pela RDC 166 (Brasil, 2017).

Foi efetuada uma análise do gráfico de dispersão dos resíduos, apresentado na Figura 36. A partir desse gráfico, é possível observar de forma visual que os valores estão distribuídos de maneira aleatória. Além disso, foi realizada uma análise estatística utilizando

o teste de Shapiro-Wilk, que confirmou que os dados seguem uma distribuição normal ($p > 0,05$).

Figura 36 - Gráfico de dispersão dos resíduos



Fonte: da autora.

Foram realizadas análises de variância (ANOVA) para avaliar a significância do coeficiente angular, verificando se este é significativamente diferente de zero. Os resultados estão apresentados na Tabela 14. Conforme observado, o valor de F calculado é superior ao F tabelado para 13 graus de liberdade (F tabelado = 4,67). Assim, conclui-se que os coeficientes angulares das curvas de linearidade são estatisticamente diferentes de zero. O teste F da ANOVA confirmou a significância da regressão, demonstrando a ausência de desvio da linearidade dentro da faixa de trabalho analisada.

Tabela 14 – Análise de variância da curva de linearidade

	gl	SQ	MQ	F	F de significação
Regressão	1	9177,9452	9177,945204	14298,4	3,7E-21
Resíduo	13	8,3445412	0,641887784		
Total	14	9186,2897			

Fonte: da autora.

Nota: graus de liberdade (gl), soma dos quadrados (SQ), média dos quadrados (MQ) e estatística F de Fisher (F)

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) foram determinados com base nas fórmulas descritas no item 3.5.2.1.1, utilizando as médias das áreas correspondentes a cada ponto da curva analítica. Os valores obtidos foram $LD = 63,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ e $LQ = 191,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Os valores de LD e LQ apresentados são adequados para o intervalo de concentração esperado na análise.

Os resultados dos estudos de precisão por repetibilidade e exatidão estão demonstrados na Tabela 15.

Tabela 15 – Resultados de precisão e exatidão

Concentração (mg.L ⁻¹)	Recuperação (%)	DPR (%)
200,0	100,4	0,34
1000,0	100,7	0,01
2000,0	99,7	0,04

Fonte: da autora.

Nota: desvio padrão relativo (DPR)

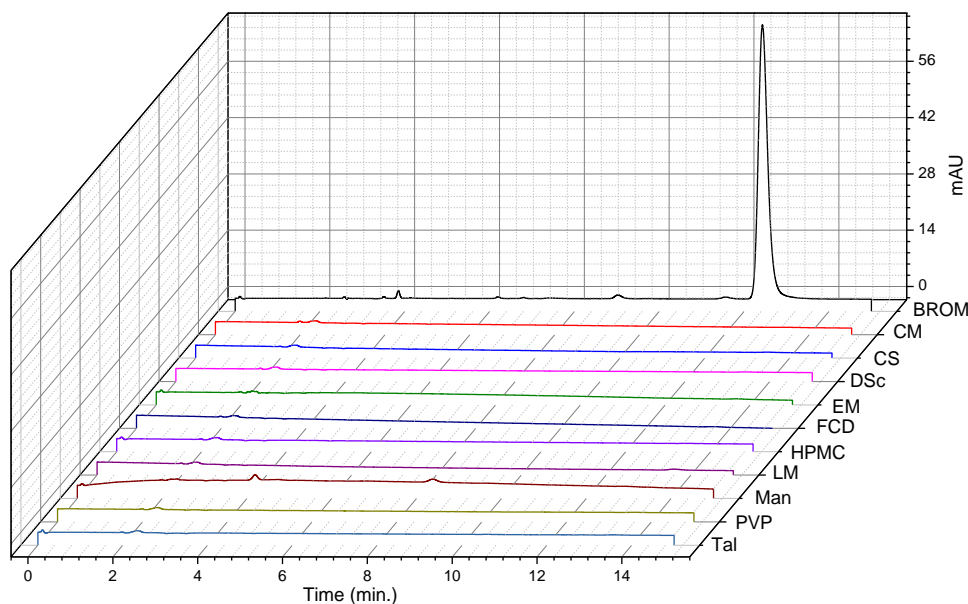
Os valores de desvio padrão relativo no ensaio de repetibilidade estão dentro do limite recomendado de 2%. Os valores de recuperação se demonstraram dentro da faixa aceitável de 98 a 102 % nas concentrações baixa, média e alta, correspondentes a 200,0, 1000,0 e 2000,0 mg.L⁻¹.

4.6.3.1 Compatibilidade fármaco-excipiente da BROM por CLAE

Foi realizado um estudo prévio do tempo de permanência das amostras na estufa a 180 °C (18 °C acima da fusão da BROM e 28 °C abaixo da sua temperatura de degradação térmica). Constatou-se que o período de 10 e 20 minutos não provocou a degradação do fármaco, já o tempo de 30 minutos gerou perda no teor de 44%. Desta forma, o tempo de aquecimento escolhido para esta avaliação foi de 20 min.

Após o período de aquecimento nas condições descritas acima, as soluções de BROM e dos excipientes selecionados para o estudo de compatibilidade foram preparadas e analisadas pelo método cromatográfico. Os resultados obtidos nesta análise estão apresentados na Figura 37. O cromatograma de BROM mostrou um pico com tempo de retenção de 12,43 minutos, não sendo observado nenhum pico referente aos excipientes avaliados nas mesmas condições em que o IFA foi submetido. Isso confirma que o método analítico é seletivo, permitindo a detecção e quantificação do fármaco sem interferências dos excipientes.

Figura 37 - Cromatogramas da BROM e dos excipientes após o aquecimento



Fonte: da autora.

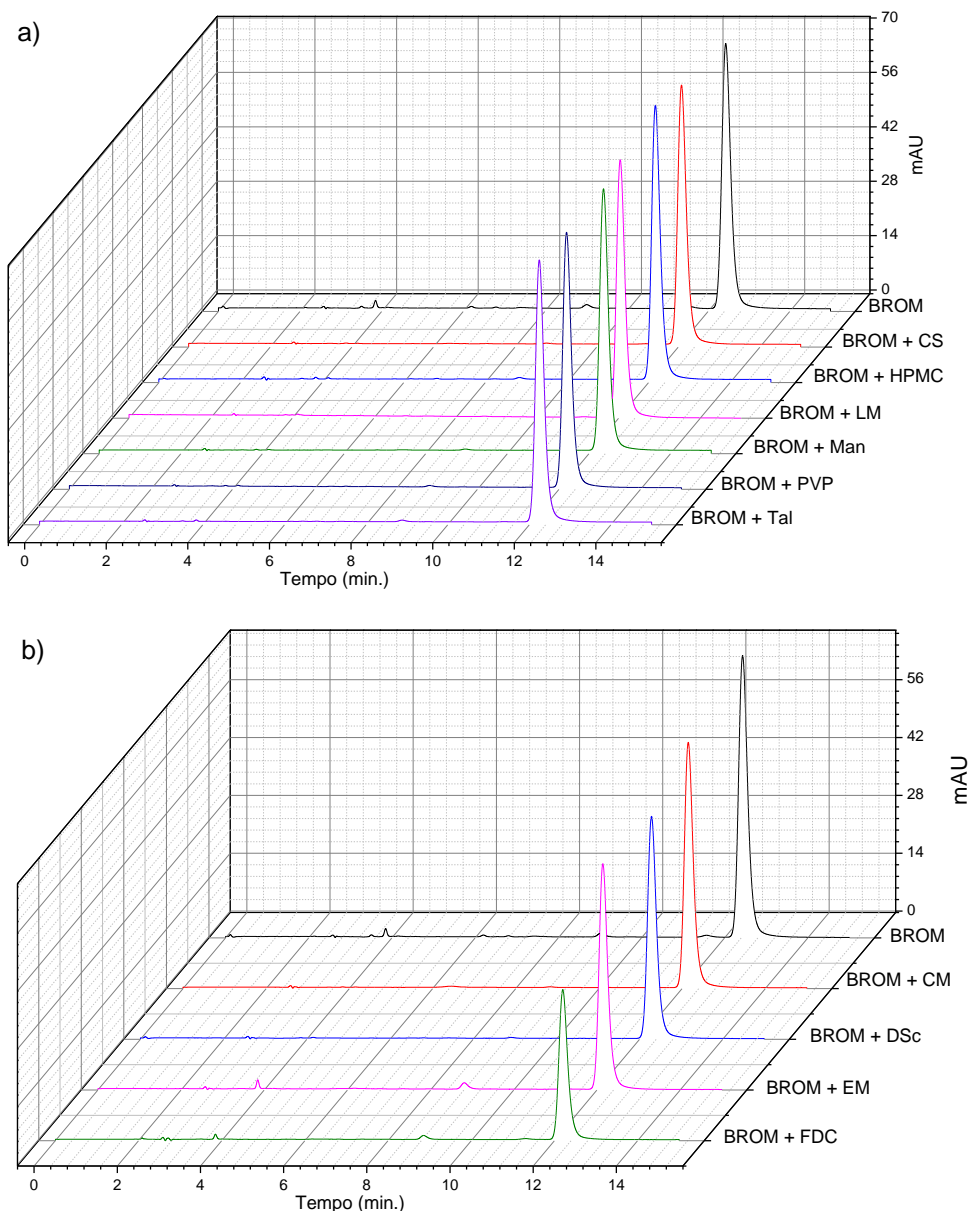
Nota: coluna Eclipse XDP-Phenyl, 4,6 mm×250 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel: tampão fosfato de potássio 0,01 M, pH 7,0:acetonitrila 60:40(v/v).

O aquecimento não provocou degradação térmica significativa da BROM, uma vez que a área do pico correspondeu a $98 \pm 4\%$ do teor inicial do fármaco na solução analisada. De acordo com a diretriz ICH Q1A, variações inferiores a 5% no teor do fármaco em relação ao valor inicial não são consideradas alterações significativas, o que confirma a estabilidade da BROM sob as condições avaliadas. Em relação ao tempo de retenção, Abrel e colaboradores (2021) apesar de adotarem condições diferentes (coluna cromatográfica YMC Triart Phenyl (100 mm x 2.0 mm x 1.9 µm) e fase móvel composta por tampão de bicarbonato de amônio 5 mM pH $8,9 \pm 0,1$ e solução de acetonitrila/tetra-hidrofurano, 7:3 (v/v), em programa de gradiente) encontraram o pico de retenção da BROM em tempo um pouco menor, em 11,26 min.

Conforme descrito na metodologia, as amostras controle foram preparadas para uma concentração esperada de fármaco de $500,0 \text{ mg.L}^{-1}$. Este valor corresponde a um teor de 100% de BROM.

A Figura 38 apresenta a representação gráfica das análises por CLAE das misturas binárias de BROM com os excipientes selecionados, após aquecimento a $180 \text{ }^\circ\text{C}$ por 20 minutos.

Figura 38 - Cromatogramas de BROM das misturas binárias após o aquecimento



Fonte: da autora.

Legenda: (a) sem alterações no teor após aquecimento; (b) que apresentaram alterações no teor após aquecimento.

Nota: coluna Eclipse XDP-Phenyl, 4,6 mm×250 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel: tampão fosfato de potássio 0,01 M, pH 7,0:acetonitrila 60:40(v/v).

As misturas BROM-excipientes foram preparadas contendo a mesma concentração usada na solução de BROM controle nas condições descritas na seção 3.5.2.1. Os valores da área do pico (mAU/min) e a teor relativo (%) da BROM e das misturas estão apresentados na Tabela 16 como média ± desvio padrão a partir das triplicatas de análise. Diferenças entre as amostras foram determinadas utilizando teste t de Student, com significância $p > 0,05$.

Tabela 16 - Área do pico e Teor Relativo da BROM controle e nas misturas binárias (média \pm desvio padrão) (n=3)

	Área de Pico (mAU/min)	Teor Relativo (%)
BROM	18,04 \pm 0,73	98,2 \pm 4,1 (a)
BROM + CM	11,92 \pm 0,27	64,9 \pm 1,4 (b)
BROM + CS	18,09 \pm 0,24	96,1 \pm 1,6 (a)
BROM + DSc	14,73 \pm 0,35	79,1 \pm 1,7 (b)
BROM + EM	14,46 \pm 0,41	77,8 \pm 2,1 (b)
BROM + FCD	9,83 \pm 0,33	53,8 \pm 2,1 (b)
BROM + HPMC	17,39 \pm 0,25	92,5 \pm 1,3 (a)
BROM + LM	16,87 \pm 0,25	93,7 \pm 1,8 (a)
BROM + Man	18,01 \pm 0,17	95,6 \pm 0,9 (a)
BROM + PVP	17,49 \pm 0,48	93,0 \pm 2,4 (a)
BROM + Tal	18,26 \pm 0,14	96,8 \pm 0,9 (a)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p > 0,05$) de acordo com o teste t de Student.

Os cromatogramas da BROM e misturas binárias com CS, HPMC, LM, Man, PVP e Tal não apresentaram alteração na área do pico (FIGURA 38a), indicando que esses excipientes possuem compatibilidade para uso em formulações sólidas de BROM. No entanto, as misturas de BROM com DSc, FCD, EM e CM (FIGURA 38b) apresentaram áreas menores, que correspondem a uma perda de teor de 19, 44, 20 e 33%, respectivamente.

Os resultados alcançados nas análises realizadas por CLAE sugerem que as interações entre a BROM e os excipientes CS, HPMC, LM, Man, PVP e Tal apresentadas nas análises por DSC são do tipo física. Enquanto que a presença de DSc, FCD, EM e CM geram interações químicas. Portanto, com base nos resultados de DSC e CLAE foi confirmada a interação química e, conseqüentemente, a incompatibilidade entre a BROM estes últimos quatro excipientes citados.

Apesar da notável perda o teor do fármaco nas misturas com que DSc, FCD, EM e CM, o método utilizado não foi capaz de detectar produtos de degradação. Isso sugere que a presença destes excipientes nas amostras pode ter modificado a interação dos produtos de degradação com a coluna e a fase móvel, não sendo possível sua detecção nas condições de análise utilizadas.

O DSc também demonstrou incompatibilidade com o sildenafil (Júlio *et al.*, 2013). Amostras contendo o sildenafil e as misturas binárias deste fármaco com alguns excipientes foram expostas por 1 mês a 40°C e 75% de umidade relativa foram analisadas por um

método de CLAE. Os resultados de CLAE revelaram a mistura do fármaco com DSc apresentou 15,6% de degradação, nível similar ao encontrado no atual estudo.

Vários fármacos tem sido considerados incompatíveis com o FCD incluindo partenolida (Jin *et al.*, 2007), β -lapachone (Cunha-Filho *et al.*, 2007), metronidazol (Kiss *et al.*, 2006), ceronapril (Serajuddin *et al.*, 1999). O FCD é descrito como um excipiente suscetível à desidratação a baixa temperatura na presença de vapor de água (Cunha-Filho *et al.*, 2007). Este excipiente tem sido relatado na literatura incompatível com fármacos de caráter ácido, sais de sódio e fármacos pouco solúveis em água, devido sua natureza alcalina (Bharate *et al.*, 2010).

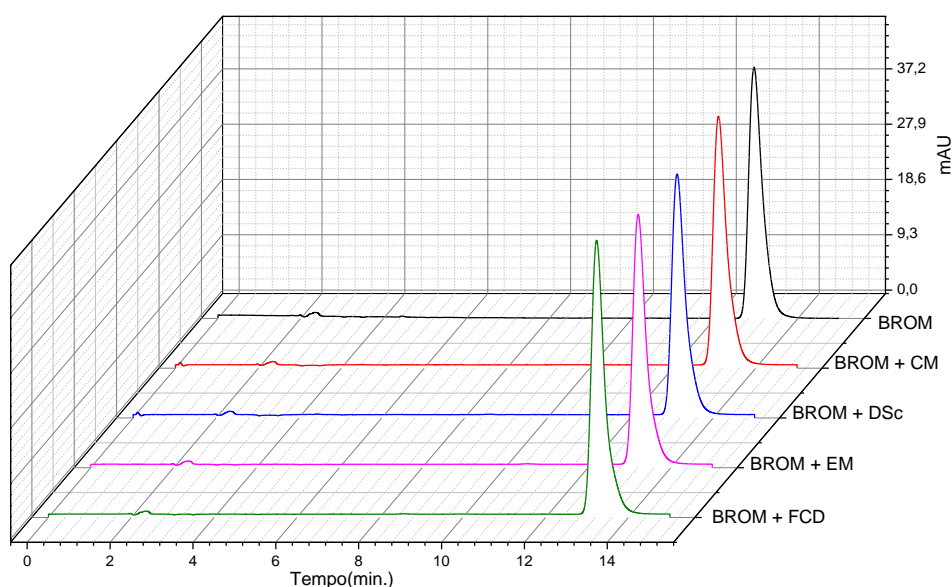
O EM tem sido relatado como incompatível em estudos com outros fármacos como, por exemplo, a Risperidona (Daniel *et al.*, 2013), ibuprofeno (Tita *et al.*, 2011b), ácido acetil salicílico (Tita *et al.*, 2013). Uma explicação que tem sido apontada para incompatibilidade deste excipiente com fármacos é a formação de uma película que pode muitas vezes retardar a libertação e dissolução do IFA (Risley *et al.*, 2013). TITA e colaboradores (2011a) destacam que o EM é uma mistura de sais de magnésio de diferentes ácidos graxos, tais como: ácido esteárico e ácido palmítico. Sendo assim, uma explicação para as incompatibilidades originadas pelo EM pode ser proveniente da reação entre o fármaco e este excipiente formando ácido graxo e o fármaco na forma de sal de magnésio (Aigner, *et al.*, 2011; Tita *et al.*, 2011b).

4.6.3 Teste de estresse isotérmico para a BROM

A mistura binária de BROM com os excipientes DSc, FCD, EM e CM, os quais apresentaram perda de teor no estudo de compatibilidade por CLAE, também foram submetidas ao teste de estresse isotérmico (FIGURA 39). A quantificação do fármaco foi realizada pelo mesmo método CLAE.

O cromatograma da BROM controle exibiu um pico com tempo de retenção de 12,43 minutos, o que foi consistente com os resultados obtidos no estudo de compatibilidade por CLAE realizado anteriormente.

Figura 39 - Cromatogramas representativos de BROM, BROM + CM, BROM + DSc, BROM + EM e BROM + FCD após teste de estresse isotérmico



Fonte: da autora.

Nota: coluna Eclipse XDP-Phenyl, 4,6 mm×250 mm, com um tamanho de partícula de 5 µm; fase móvel: tampão fosfato de potássio 0,01 M, pH 7,0:acetonitrila 60:40(v/v).

Os resultados quantitativos apresentados na Tabela 17 mostram uma perda de teor de BROM de aproximadamente 7% em relação à massa total inicial colocada no balão. As misturas de BROM com os excipientes apresentaram perda de teor do fármaco similar à da amostra controle de BROM. Os resultados do teste de estresse isotérmico para a mistura de BROM com esses excipientes indicam que a perda de teor observada no fármaco isolado é equivalente à das misturas fármaco-excipiente. Os dados da Tabela 17 foram analisados utilizando o teste t de Student, presumindo variâncias iguais.

Tabela 17 - Teste de estresse isotérmico para a BROM (n=3)

(Continua)

	Área de Pico (mAU/min)	Concentração relativa (%)
BROM controle	16,48±0,63	93,0±3,4 (a)

Tabela 17 - Teste de estresse isotérmico para a BROM (n=3)

	Área de Pico (mAU/min)	Concentração relativa (%)
LIS + CM	16,32±0,88	91,9±4,7 (a)
LIS + DSc	16,99±0,17	90,0±0,6 (a)
LIS + EM	16,21±0,33	91,5±1,8 (a)
LIS + FCD	15,33±0,54	87,1±2,9 (b)

(Conclusão)

Fonte: da autora.

Nota: Valores na mesma coluna, seguidos da mesma letra não apresentam diferenças significativas ($p>0,05$) de acordo com o teste t de Student.

No teste de estresse isotérmico da mistura de BROM com o excipiente FCD, a perda de teor foi aproximadamente 6% maior do que a observada para o fármaco isolado.

Após a realização de todos os estudos voltados à investigação das interações entre o BROM e os excipientes selecionados, foi possível evidenciar que as interações químicas, especialmente observadas nas misturas do fármaco com os excipientes DSc, FCD, EM e CM, podem ocasionar alterações na estabilidade da BROM. Essas mudanças têm o potencial de comprometer a qualidade do produto final, ressaltando a importância de avaliar cuidadosamente essas interações durante o desenvolvimento de formulações farmacêuticas contendo a BROM e tais excipientes.

De acordo com o *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2007), o DSc desempenha, principalmente, as funções de agente de suspensão e desintegrante de comprimidos em formulações farmacêuticas. Um excipiente alternativo com funções semelhantes é o talco, cuja substituição nas formulações contendo BROM mostrou-se viável, uma vez que não foram observadas incompatibilidades nos estudos realizados. Além disso, o EM, um lubrificante hidrofóbico comumente utilizado, também pode ser substituído pelo talco, que demonstrou ser compatível com a BROM nas condições avaliadas.

Seguindo esse raciocínio, o FCD e CM possuem como principal função serem diluentes em cápsulas e comprimidos, e podem ser substituídos pelo amido (Narang, *et al.*, 2016; Rowe, *et al.*, 2007).

4.7 RECRISTALIZAÇÃO E FORMAÇÃO DE SAIS DE BROM

A BROM é classificada como um medicamento da Classe II segundo o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS), o que indica que possui baixa solubilidade e alta permeabilidade. A baixa solubilidade, nesse contexto, pode ser prejudicial, pois dificulta a absorção do fármaco no trato gastrointestinal, resultando em concentrações plasmáticas insuficientes para alcançar efeitos terapêuticos eficazes (Silva *et al.*, 2015).

Tanto a recristalização quanto a formação de sal são alternativas viáveis para melhorar a solubilidade de fármacos com baixa solubilidade. A estrutura molecular da BROM contém dois grupos amina ionizáveis. A afinidade desses grupos com diferentes ânions, bem como a possibilidade de formar interações favoráveis, é fundamental.

Devido ao fato de a BROM possuir dois grupos amina ionizáveis, havia a expectativa de formação um monossal ou um composto dissal. Para investigar essa possibilidade, foram feitas tentativas de síntese dos sais de cloreto, brometo e nitrato de BROM. Entre os três, o brometo pode ser considerado o mais promissor, dado ao fato do íon ser maior, o que pode proporcionar um melhor empacotamento cristalino. Além disso, como a BROM já contém um átomo de bromo, o íon brometo pode favorecer a formação de interações específicas, como pontes halogenadas (Carvalho *et al.*, 2010).

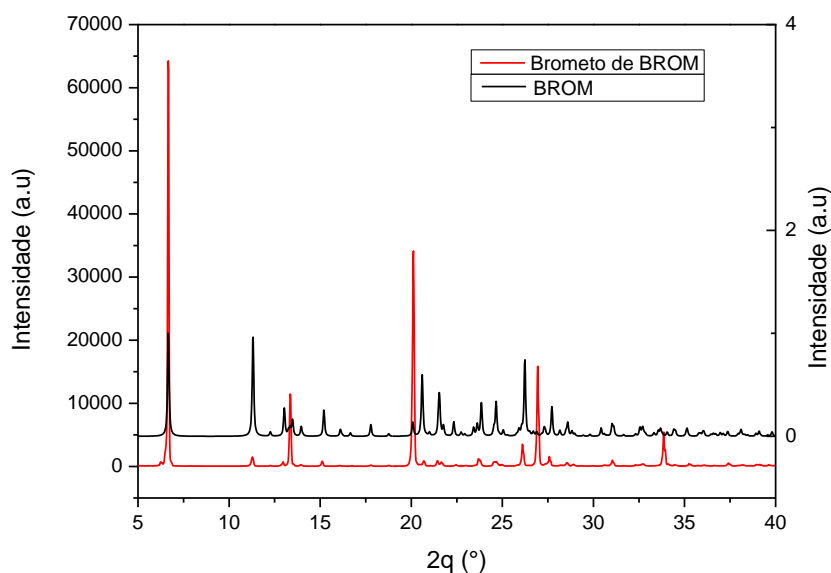
A recristalização do BROM foi conduzida em diversos solventes, incluindo acetonitrila, metanol, dimetilsulfóxido (DMSO), acetona e etanol, além da síntese de sais de cloreto, brometo e nitrato de BROM. Essas abordagens visaram promover modificações na estrutura cristalina do composto ou a formação de novas formas salinas. A Figura 40 ilustra a tentativa de formação do sal de brometo de BROM utilizando acetonitrila como solvente.

Figura 40 - Tentativa de formação de sal de brometo de BROM utilizando a acetonitrila após total evaporação deste solvente



A Figura 41 apresenta o difratograma referente à tentativa de formação do sal de brometo de BROM utilizando acetonitrila como solvente, em comparação com o difratograma do BROM de partida. Observa-se que ambos os difratogramas exibem picos de Bragg com padrões semelhantes, sem diferenças significativas entre os dois perfis. Esses resultados indicam a ausência de alterações estruturais detectáveis por difração de raios-X, sugerindo que o processo experimental não resultou na formação de uma nova forma salina do composto.

Figura 41 - Difração de Raios-X de pó da BROM e da tentativa de formação de sal de brometo de BROM utilizando a acetonitrila após total evaporação deste solvente



Fonte: da autora.

Apesar da expectativa de formação de um sal de BROM ou da recristalização do BROM em uma nova forma polimórfica, todas as análises realizadas não confirmaram a ocorrência dessas alterações. Nenhuma das amostras obtidas apresentou um perfil de difração de raios X distinto daquele correspondente ao BROM original, indicando a ausência de modificações estruturais detectáveis por essa técnica.

5 CONCLUSÃO

Um dos fármacos investigados neste estudo foi o LIS, sendo este devidamente caracterizado. Os resultados obtidos acerca de suas características térmicas orientaram a escolha da técnica de termogravimetria (TG) para os estudos de compatibilidade. Esse processo evidenciou a importância de compreender as propriedades do fármaco antes de iniciar o estudo de compatibilidade.

Para aprimorar a interpretação dos dados obtidos por TG no estudo de compatibilidade fármaco-excipiente, foram empregadas curvas simuladas e o coeficiente de Pearson. A comparação entre as curvas TG experimentais e as simuladas proporcionou uma análise mais precisa dos resultados, permitindo observar interações entre o LIS e os excipientes lactose monohidratada e manitol. Para complementar o estudo de compatibilidade do LIS, as amostras foram analisadas por FT-IR, CLAE e submetidas ao teste de estresse isotérmico. Os espectros obtidos por FT-IR evidenciaram interações entre este IFA e o manitol, enquanto os resultados de CLAE indicaram que o LIS apresenta incompatibilidade química com lactose monohidratada e manitol. No entanto, o teste de estresse isotérmico demonstrou que, nas misturas binárias do LIS com os excipientes manitol e lactose monohidratada, a perda de teor do fármaco foi equivalente à observada na amostra controle, indicando que esses excipientes não agravaram a degradação do fármaco.

Outro fármaco alvo deste estudo foi o PAN. Assim como no estudo de compatibilidade realizado com o LIS, as características térmicas do PAN indicaram a técnica de TG como sendo a ferramenta inicial para os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente.

Os resultados obtidos pela análise de TG indicaram a existência de interação entre este fármaco e o excipiente manitol. No entanto, como as demais técnicas empregadas (FT-IR, CLAE e teste de estresse isotérmico) não evidenciaram tal interação, sendo concluído que a mesma é de natureza física, e não química.

Este estudo também explorou o comportamento térmico das misturas binárias envolvendo a BROM em conjunto com alguns excipientes frequentemente utilizados em formas sólidas deste medicamento. Por meio da DSC, foi possível examinar as características de fusão das misturas e compará-las com as propriedades térmicas dos componentes individuais. Os resultados revelaram que, no caso das misturas binárias

contendo manitol e talco, as características de fusão permaneceram consistentes com as propriedades dos componentes individuais. Contudo, ao analisar as demais misturas, observaram-se mudanças nos perfis térmicos das curvas, sugerindo a possibilidade de alguma interação entre a BROM e tais excipientes.

A fim de confirmar e elucidar as interações observadas, as técnicas de FT-IR e CLAE foram empregadas. Os resultados obtidos por FT-IR indicaram que a BROM apresenta alterações em seu espectro após aquecimento, possivelmente atribuídas a uma transição polimórfica do fármaco. No que se refere às misturas binárias do fármaco com os excipientes, os espectros demonstraram a ocorrência de interações em todas as amostras analisadas. Com base nos dados da análise por CLAE, foi possível confirmar a incompatibilidade da BROM com dióxido de silício, fosfato de cálcio di-hidratado, estearato de magnésio e celulose microcristalina.

O estudo demonstrou que a combinação das técnicas de DSC, FT-IR e CLAE, juntamente com o teste de estresse isotérmico, foi eficaz para a avaliação abrangente da compatibilidade da BROM com diversos excipientes. A DSC forneceu informações iniciais valiosas sobre o comportamento térmico das misturas, enquanto a CLAE permitiu confirmar e identificar qual tipo de interação estava presente entre a BROM e os excipientes selecionados. Essa abordagem integrada destaca a importância de empregar múltiplas técnicas analíticas para obter uma compreensão abrangente das formulações farmacêuticas, garantindo a eficácia e segurança dos produtos destinados aos pacientes.

Diante do exposto, conclui-se que os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente são fundamentais para garantir a estabilidade e a eficácia dos medicamentos, ressaltando-se a importância do uso de técnicas multivariadas para compreender de forma abrangente as interações envolvidas em cada caso, considerando que não existe um protocolo único a ser seguido e que a escolha das técnicas deve ser orientada pelas características específicas de cada fármaco.

REFERENCIAS

- ABREU, J. C; MAHR, A. G; LAGO, C. L. Stability-indicating method development for quantification of bromopride, its impurities, and degradation products by ultra-high performance liquid chromatography applying Analytical Quality by Design principles. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 205, p. 1-9, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114306>.
- ABRANTES, C. G.; DUARTE, D.; REIS, C. P. An overview of pharmaceutical excipients: Safe or Not Safe? **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 105, p. 2019-2026, 2016.
- AIGNER, Z. *et al.* Compatibility studies of aceclofenac with retard tablet excipients by means of thermal and FT-IR spectroscopic methods. **J Therm Anal Calorim**, v. 104, p. 265–271, 2011.
- ABDULLAH, M. *et al.* Enhancement of solubility and dissolution characteristics of Ibuprofen by Solid Dispersion Technique. **Dhaka Univ. J. Pharm**, v. 11, p. 1-6, 2012.
- ARAYNE, M. S.; SULTANA, N., NAVEED S. RP-CLAE Method for the determination of lisinopril in active pharmaceutical ingredients, dosage forms and human serum. **Open Access Scientific Reports**, v. 3, p. 1-5, 2013. <http://dx.doi.org/10.4172/scientificreports.832>
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E537-12**: standard test method for measuring the compatibility of materials with food packaging. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2012.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM E2550-13**: standard guide for assessing the compatibility of materials with container/closure systems. West Conshohocken, PA: ASTM International, 2013.
- BELLO, M. L. *et al.* Development of novel montmorillonite-based sustained release system for oral bromopride delivery. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 175, p. 1-8, 2022.
- BHARATE, S. S.; BHARATE S. B.; BAJAJ, A. N. Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **J. Excipients and Food Chem.**, v. 3, p. 1-24, 2010.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). RDC nº 34, de 11 de junho de 2015: Aprova o regulamento sobre boas práticas de fabricação para medicamentos. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 2015. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/>. Acesso em: 07 maio 2025.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Farmacopeia brasileira**. 7. ed. Brasília, DF: ANVISA, 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). Resolução RDC nº166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências. 2017. Brasília, DF: **Diário Oficial da União**, 25 jul. 2017.

CARRER, H. *et al.* Thermal characterization of the bromopride recrystallized from different solvents and at different temperature conditions. **J Therm Anal Calorim.**, v. 123, p. 927–931 2016. <https://doi.org/10.1007/s10973-015-5027-9>

CAVALLO, G. *et al.* Halogen bonding: a general route in anion recognition and coordination. **Chemical Society Reviews**. v. 39, p. 3772–3783, 2010.

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

CHAURASIA, G. A review on pharmaceutical preformulation studies in formulation and development of new drug molecules. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 7, n. 6, p. 2313-2320, 2016.

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

CUNHA-FILHO, M. S. S; MARTÍNEZ-PACHECO, R.; LANDIN, M. Compatibility of the antitumoral β -lapachone with different solid dosage forms excipients. **J. Pharm. Biomed. Anal**, v .45, p. 590-598, 2007.

DANAFAR, H.; ROSTAMIZADEH, K.; DAVARAN, S; HAMIDI, M. Drug-conjugated PLA-PEG-PLA copolymers: a novel approach for controlled delivery of hydrophilic drugs by micelle formation. **Pharm Dev Technol**, v. 22, p. 947–957, 2017.

- DANIEL, J. S. P. *et al.* Erythromycin-excipients compatibility studies using the thermal analysis and dynamic thermal infrared spectroscopy coupled with chemometrics. **J Therm Anal Calorim.**, v. 143, p. 3127–3135, 2021 <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09691-y>.
- DANIEL, J. S. P. *et al.* Risperidone - solid-state characterization and pharmaceutical compatibility using thermal and non-thermal techniques. **Thermochimica Acta**, v. 568, p. 148-155, 2013.
- DAVE, V. S. *et al.* Excipient variability and its impact on dosage form functionality. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 104, p.109-115, 2014. <https://doi.org/10.1002/jps.24299>.
- DAVE, V. S. *et al.* Drug excipient compatibility studies in formulation development: current trends and techniques. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, v. 1, p. 9-15, 2015.
- DAVIT, B. M. *et al.* BCS biowaivers: similarities and differences among EMA, FDA, and WHO requirements. **The AAPS Journal**, v. 18, n. 3, p. 612-618, May 2016.
- DING, T. *et al.* Compatibility study of rivaroxaban and its pharmaceutical excipients. **J Therm Anal Calorim**, v. 130, p. 1569–1573, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6412-3>.
- ELDER, D. P.; KUENTZ, M.; HOLM, R. Pharmaceutical excipients—quality, regulatory and biopharmaceutical considerations. **Eur. J. Pharm. Sci**, v. 87, p. 88-99, 2016.
- ESLAMI, M., *et al.* Review - are probiotics useful for therapy of helicobacter pyloridiseases?. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 64, p. 99–108, 2019.
- FUJII, K. *et al.* Mechanism of dehydration–hydration processes of lisinopril dihydrate investigated by ab initio powder x-ray diffraction Analysis. **Cryst. Growth**, v. 12, p .6165–6172, 2012.
- GAO, R.; JIN, Y.; YANG, Q. Y. Study of stability and drug–excipient compatibility of estradiol and pharmaceutical excipients. **J Therm Anal Calorim**. v. 120, p. 839–45. 2015.

GHADERI, G.; MONAJJEMZADEH, F. Review of the physicochemical methods applied in the investigation of the maillard reaction in pharmaceutical preparations. **Journal of Drug Delivery Science and Technology**. v. 55, p. 1-9, 2020.

GONZÁLEZ, A. G.; HERRADOR, M. A. A practical guide to analytical method validation, including measurement uncertainty and accuracy profiles. **Trends Anal Chem**, v. 26, n. 3, p. 227-238, 2007.

GORAIN, B. *et al.* Drug-excipient interaction and incompatibilities. *In*: TEKADE, R. K. (Org.). **Advances in pharmaceutical product development and research**: dosage form design parameters. Cambridge, MA: Academic Press, 2018. p. 363-402.

GROSU, I. G. *et al.* Review- hydrogen-mediated noncovalent interactions in solids: what can NMR crystallography tell about? **Molecules**, v. 25, p.1-24, 2020.

GUL, W. *et al.* Methods of analysis of lisinopril: A Review. **J Bioequiv Availab**, v. 9, p. 331-335, 2017.

HANIF, M. *et al.* Raft-forming system for pantoprazole and domperidone delivery: in vitro and in vivo study. **Bioinspired, Biomimetic and Nanobiomaterials**, v. 9, p. 137–146, 2020.

HINOJOSA-TORRES, J. *et al.* Degradation of lisinopril: a physico-chemical study. **J. Mol. Struct.**, v. 886, p. 51–58, 2008.

INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. **Q2(R2): validation of analytical procedures: text and methodology**. [s.l.]: ICH, 2024. Disponível em: <https://www.ich.org>. Acesso em: 07 maio 2025.

JIN, P.; MADIEH, S.; AUGSBURGER, L. L. the solution and solid state stability and excipient compatibility of parthenolide in feverfew. **AAPS PharmSciTech**, v. 8, p. E1-E6, 2007.

JULIO, T. A. *et al.* Compatibility of sildenafil citrate and pharmaceutical excipients by thermal analysis and LC–UV. **J Therm Anal Calorim.**, v. 111, p. 2037–2044, 2013. <https://doi.org/10.1007/s10973-012-2292-8>

JUNGNICKEL, P. W. Pantoprazole: a new proton pump inhibitor. **Clin Ther**. v. 22, p. 1268-93, 2000.

- KAR, M. *et al.* Current developments in excipient science: implication of quantitative selection of each excipient in product development. In: KUMAR, V.; SINHA, S.; RAJABI-SIAHBOOMI, A. (Org.). *Basic fundamentals of drug delivery*. Amsterdam: Elsevier, 2019. p. 29-83.
- KISS, D. *et al.* Application of DSC and nirs to study the compatibility of metronidazole with different pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 84, p. 447–45, 2006.
- KURM, M. *et al.* Stability behavior of antiretroviral drugs and their combinations. 9: Identification of incompatible excipients. **J. Pharm Biomed Anal**, v. 166, p. 174–182, 2019.
- LACHI-SILVA, L. *et al.* Population pharmacokinetics of orally administrated bromopride: focus on the absorption process. **Eur J Pharm Sci**, v. 142, p. 1-9, 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2019.105081>.
- LEDETI, I. *et al.* Compatibility study between antiparkinsonian drug Levodopa and excipients by FT-IR spectroscopy, X-ray diffraction and thermal analysis. **J Therm Anal Calorim**, v. 130, p. 433–441, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6393-2>.
- LEDETI I, *et al.* Preformulation studies for nortriptyline solid-state compatibility with pharmaceutical excipients. **J Therm Anal Calorim**, v. 131, p. 191–199, 2018.
<https://doi.org/10.1007/s10973-017-6269-5>.
- LIMA, N. G. P. B. *et al.* Compatibility studies of trioxsalen with excipients by DSC, DTA, and FT-IR. **J Therm Anal Calorim**, v. 115, p. 2311–2318, 2014.
<https://doi.org/10.1007/s10973-013-3216-y>.
- LIMA, L. S. *et al.* Sensitive flow-injection spectrophotometric analysis of bromopride. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 133, p. 597–604, 2014.
- LIN, S.; WANG, S. Advances in simultaneous DSC–FT-IR microspectroscopy for rapid solid-state chemical stability studies: Some dipeptide drugs as examples. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 64, p. 461–478, 2012.

LOPES, M. S. *et al.* Ketoconazole: compatibility with pharmaceutical excipients using DSC and TG techniques. **J Therm Anal Calorim**, v. 141, p. 1371–1378, 2020.

MAROTHU, V. K. *et al.* Application of CLAE to assess the compatibility of bisoprolol fumarate with selected excipients in mixtures by isothermal stress testing. **Ann Pharm Fr.** v. 73, p. 408-417, 2015. <http://dx.doi.org/10.1016/j.pharma.2015.05.001>.

MATOS, A. P. S. *et al.* Compatibility study between diazepam and tablet excipients. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 127, p. 1675–1682, 2017. <https://doi.org/10.1007/s10973-016-5350-9>.

MELCHIADES, G. L. *et al.* Investigation of the compatibility between kaempferol and excipients by thermal, spectroscopic and chemometric methods. **J. Therm. Anal. Calorim**, v. 142, p. 1249–1260, 2020. <https://doi.org/10.1007/s10973-019-09092-w>

MELO, C. C. *et al.* Investigating the solubilities of the nitrate and isomorphous bromide and chloride salts of dapsone. **Cryst. Growth Des.** v. 20, p. 2313–2320, 2020. <https://dx.doi.org/10.1021/acs.cgd.9b01467>.

NANDIYANTO, A. B. D.; OKTIANI, R.; RAGADHITA, R. How to read and interpret FT-IR spectroscopy of organic material. **Indones. J. Sci. Technol.**, v. 4, p. 97-118, 2019.

NARANG, A. S.; DESAI, D.; BADAWY, S. Impact of excipient interactions on solid dosage form stability. **Pharm Res**, v. 29, p. 2660–2683, 2012.

NARANG, A. S.; MANTRI, R. V.; RAGHAVAN, K. S. **Excipient compatibility and functionality**. 2nd ed. Amsterdam, Países Baixos: Elsevier, 2017. p. 151-179.

NASEF, A. M.; GARDOUH, A. R.; GHORAB, M. M. Formulation and in-vitro evaluation of pantoprazole loaded pH-sensitive polymeric nanoparticles. **Future Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 3, p. 103-117 2017.

NIGURAM, P. *et al.* Update on compatibility assessment of empagliflozin with the selected pharmaceutical excipients employed in solid dosage forms by thermal, spectroscopic and chromatographic techniques. **Drug Dev Ind Pharm**, v. 46, p. 209-218, 2020. <https://doi.org/10.1080/03639045.2020.1716371>.

OLIVEIRA, M. A. *et al.* Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quim Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-30, 2011.

PAES, G. O. *et al.* Incompatibilidade medicamentosa em terapia intensiva: revisão sobre as implicações para a prática de enfermagem. **Revista Eletrônica De Enfermagem**, v. 19, p. 1-13, 2017.

PANI, N. R.; NATH, L. K.; ACHARYA, S.; BHUNIYA, B. Application of DSC, IST, and FT-IR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients. **J Therm Anal Calorim**, v. 108, p. 219–226, 2012.

<https://doi.org/10.1007/s10973-011-1299-x>

PATEL, S. A.; PATEL, N. G.; JOSHI, A. B. Multiple unit pellet system (MUPS) based fast disintegrating delayed-release tablets for pantoprazole delivery. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 10, p. 77-84, 2018.

PEREIRA, M. A. V. *et al.* Compatibility study between chitosan and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **J Therm Anal Calorim**, v. 116, p. 1091–1100, 2014. <https://doi.org/10.1007/s10973-014-3769-4>.

PHARMACEUTICAL INSPECTION CO-OPERATION SCHEME. **Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products – PE 009-14**. Geneva: PIC/S, 2018.

PINDELSKA, E.; SOKAL, A.; KOŁODZIEJSKI, W. Pharmaceutical cocrystals, salts and polymorphs: advanced characterization techniques. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 111–146, 2017.

PORTELA, J. L. *et al.* Tratamento para vômito por gastroenterite aguda: bromoprida, metoclopramida e ondansetron. **Rev Med Saude Brasilia**, v. 3, p. 102-110, 2014.

QIU, Z. *et al.* Kinetic study of the Maillard reaction between metoclopramide hydrochloride and lactose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 303, p. 20–30, 2005.

RAMADAN, N. K. *et al.* Simultaneous determination of a binary mixture of pantoprazole sodium and itopride hydrochloride by four spectrophotometric methods. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 137, p. 463–470, 2015.

REDDY, M. *et al.* Process for preparation of crystalline form-I of pantoprazole sodium sesquihydrate. **U.S. Patent 6,933,389 B2**, 2005.

RISLEY, D.S. *et al.* Analysis of magnesium from magnesium stearate in pharmaceutical tablet formulations using hydrophilic interaction liquid chromatography with nano quantity analyte detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.78, p.112–117, 2013.

ROJEK, R.; WESOLOWSKI, M. DSC supported by factor analysis as a reliable tool for compatibility study in pharmaceutical mixtures. **J Therm Anal Calorim.** v. 138, p. 4531–4539, 2019.

ROSASCO, M. A. *et al.* Compatibility study of tobramycin and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, FT-IR, DRX, and CLAE. **J Therm Anal Calorim.** v. 134, p. 1929–1941, 2018.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J. ; QUINN, M.E. **Handbook of pharmaceutical excipients.** 6nd ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

SANTOS, W. M. *et al.* Pharmaceutical compatibility of dexamethasone with excipients commonly used in solid oral dosage forms. **J Therm Anal Calorim**, v. 145, p. 361–378, 2021. <https://doi.org/10.1007/s10973-020-09753-1>.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **International Scholarly Research Network ISRN Pharmaceutics.** v. 2012, p. 1 -10, 2012.

SBÂRCEA, L. *et al.* β -Cyclodextrin inclusion complexes of lisinopril and zofenopril physicochemical characterization and compatibility study of lisinopril- β -cyclodextrin with lactose. **J Therm Anal Calorim.** v.123, p.2377–2390. 2016. <https://doi.org/10.1007/s10973-015-5045-7>.

SCOTT, M.; FLAHERTY, D.; CURRALL, J. Statistics: are we related? **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, p. 124–128, 2013.

SERAJUDDIN, *et al.* Selection of Solid Dosage Form Composition through Drug–Excipient Compatibility Testing. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, p. 696-704, 1999.

SILVA, M. G. R. *et al.* Development of a dissolution test for extended-release bromopride pellets with in vivo in vitro correlation. **Dissolution Technologies**, v. 22, p. 24-33, 2015. <https://doi.org/10.14227/DT220215P24>.

SILVA, C. R. G. *et al.* Compatibility by a nonisothermal kinetic study of azathioprine associated with usual excipients in the product quality review process. **J. Braz. Chem. Soc.** v. 32, p. 638-651; 2021. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20200218>.

SORRENTI, M. *et al.* Lisinopril dihydrate: single-crystal x-ray structure and physicochemical characterization of derived solid forms. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, p. 3596-3603, 2013.

SREBRO, J.; BRNIAK, K.; MENDYK, A. formulation of dosage forms with proton pump inhibitors: state of the art, challenges and future perspectives. **Pharmaceutics**, v. 14, p. 1-73, 2022.

SZALKA, M. *et al.* The Maillard reaction of bisoprolol fumarate with various reducing carbohydrates. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 59, p. 1–11, 2014.

TAN, W.; WIDJAJA, E. multivariate chemometric approach to thermal solid-state FT-IR monitoring of pharmaceutical drug compound. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 97, p. 3379- 3387, 2008.

TANAKA, R. HIRAYAMA, N. Structure of bromopride. **Analytical Sciences, Xray Structure Analysis Online**, v. 20, p. 79-80. 2004.

TIŢA, B. *et al.* Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Pharmaceutical And Biomedical Analysis**, v. 56, n. 2, p. 221-227, 2011a.

TITA, B., *et al.* Compatibility study between ibuprofen and excipients in their physical mixtures. **J Therm Anal Calorim**, v. 105, p. 517–527, 2011b.

TITA, B., *et al.* Compatibility study of the acetylsalicylic acid with different solid dosage forms excipients. **J Therm Anal Calorim**, v. 112, p. 407–419, 2013.

TODOROVIĆ, N. *et al.* compounding of liquid and solid dose adjustable formulations with pantoprazole: comparison of stability, applicability and suitability. **Pharmaceutics**, v. 15, p. 1-20, 2023.

TONINI, M *et al.* Clinical implications of enteric and central D2 receptor blockade by antidopaminergic gastrointestinal prokinetics. **Alimentary Pharmacology and Therapeutics**, v. 19, p. 379-390, 2004.

VERAS K. S. *et al.* Compatibility study of rosmarinic acid with excipients used in pharmaceutical solid dosage forms using thermal and non-thermal techniques. **Saudi Pharmaceutical Journal**. v. 27, p. 1138–1145, 2019.

VERMA, R. K.; GARG, S. Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug–excipient compatibility testing. **J. Pharm. Biomed. Anal**, v. 38, p. 633–644. 2005. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.02.026>.

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

VERONEZ, I. P. *et al.* Development, characterization, and stability studies of ethinyl estradiol solid dispersion. **J Therm Anal Calorim**. v. 120, p. 573–581, 2015. <https://doi.org/10.1007/s10973-015-4508-1>.

VIOGLIO, P. C.; CHIEROTTI, M. R.; GOBETTO, R. Pharmaceutical aspects of salt and cocrystal forms of APIs and characterization challenges. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 117, p. 86–110, 2017.

ZHANG, K. *et al.* Reactive impurities in large and small molecule pharmaceutical excipients-A review. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 101, p. 34-42, 2018.

ZHANG, H. *et al.* Review: effects of genetic polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of proton pump inhibitors. **Pharmacological Research**, v.152, p.1-11, 2020.

ZUPANCIC, V. *et al.* Physical characterization of pantoprazole sodium hydrates. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 291, p. 59–68, 2005.