



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Alex Moura da Silva

ESTUDOS PARA O DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS DOSE FIXA
COMBINADA (DFC) 3 EM 1 PARA O TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Rio de Janeiro

2010

S586e

Silva, Alex Moura da.

Estudo para o desenvolvimento de comprimidos dose fixa combinada (DFC) 3 em 1 para o tratamento da tuberculose / Alex Moura da Silva; orientadores Lucio Mendes Cabral, Eduardo Ricci Júnior. – Rio de Janeiro : UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2010.

xxxii, 156f. : il. col. ; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – UFRJ / Faculdade de Farmácia, 2010.

Inclui bibliografia.

1. Dose Fixa Combinada. 2. Análise Térmica. 3. Difração de Raios-X.
4. Estudo de Compatibilidade. 5. Rifampicina. 6. Tuberculose.
I. Cabral, Lucio Mendes. II. Ricci Júnior, Eduardo. III. Título.

CDD 615.19

Alex Moura da Silva

ESTUDOS PARA O DESENVOLVIMENTO
DE COMPRIMIDOS DOSE FIXA
COMBINADA (DFC) 3 EM 1 PARA O
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE.

Dissertação de mestrado apresentada ao
programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como requisitos parcial à obtenção do título
de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadores: Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral e
Prof. Dr. Eduardo Ricci Júnior

Rio de Janeiro
Abril de 2010

Alex Moura da Silva

ESTUDOS PARA O DESENVOLVIMENTO
DE COMPRIMIDOS DOSE FIXA
COMBINADA (DFC) 3 EM 1 PARA O
TRATAMENTO DA TUBERCULOSE.

Dissertação de mestrado apresentada ao
programa de Pós-Graduação em Ciências
Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia,
Universidade Federal do Rio de Janeiro,
como requisitos parcial à obtenção do título
de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Aprovada em: 30 de abril de 2010.

Lúcio Mendes Cabral, Prof. Dr., DMED – UFRJ

Alexandre Pyhrro, Prof. Dr., DACT – UFRJ

Antônio Jorge Ribeiro da Silva, Prof. Dr., NPPN - UFRJ

Carlos Rangel Rodrigues, Prof. Dr., DMED - UFRJ

À minha esposa Eliane. Te amo!

Aos meus filhos, Thiago e Isabele, forças motrizes para a minha vida e fontes de muitas felicidades, prazeres e emoções (indescritíveis) que, até o presente momento, a vida me proporcionou. Viva ao amor incondicional que nos une!

AGRADECIMENTOS

À Marinha do Brasil que, através do Laboratório Farmacêutico da Marinha, em muito contribuiu para a realização deste projeto.

Aos comandantes Jayme, Nabuco e Átila e a Tenente Elisângela, responsáveis diretos pela minha indicação para realizar a seleção do mestrado. Obrigado!

Aos professores Lúcio Cabral e Eduardo Ricci, orientadores e co-responsáveis por esta conquista. Obrigado pelo apoio, ensinamentos (muitos) e respeito profissional.

Aos comandantes Arruda e Giovani, aos Tenentes Gouvêa e Raquel e ao corpo técnico do LFM, especialmente à Ana Campion, Armando, Fabíola, Maria de Fátima e Vinícius, sempre prontos a ajudar e a ensinar. Obrigado!

Aos amigos do Lab.TIF/UFRJ: Arídio, Carla, Carol, Cide, Flávia, Jacque(line), Lidiane, Luiza, Lula, Maísa, Mariane, Michele, Tarek e Túlio. Obrigado por toda ajuda! Vocês sabem onde me encontrar, se precisarem de algo, não hesitem em fazer contato! Já estou com saudades...

Aos meus pais, João e Maria, duas pessoas extraordinárias e que sempre apoiam as minhas decisões. Sinto muita saudade de vocês. Obrigado por tudo! Amo vocês!

À avó Arlette, bisavó, avó e segunda mãe dos meus filhos, agradeço por todo seu apoio, companheirismo e amor. Sem a sua presença muita coisa não teria acontecido em nossas (minha, da Eliane, do Thiago e da Isabele) vidas...

Ao meu sogro e amigo João Batista. Agradeço todo o ensinamento, incentivo e... João, admiro muito a sua forma otimista de encarar a vida. Você é uma pessoa de luz! Obrigado por tudo que tem feito pela nossa família.

A memória do meu avô José. Vô, sei o quanto você está feliz com essa conquista.

RESUMO

SILVA, Alex Moura da. Estudos para o desenvolvimento de comprimidos Dose Fixa Combinada (DFC) 3 em 1 para o tratamento da tuberculose
Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010

O presente estudo teve por objetivo desenvolver uma formulação inédita com os fármacos isoniazida (H), pirazinamida (Z) e rifampicina (R), associados em comprimidos dose fixa combinada (DFC) e constituídos por uma camada de liberação entérica (controle de liberação de H) e outra de liberação gástrica (liberação de R + Z) para serem utilizados no tratamento dos casos novos da tuberculose. As técnicas de difração de raios X (DRX), espectroscopia no infravermelho (IV) e calorimetria exploratória diferencial (DSC) foram empregadas nos estudos de pré-formulação para caracterização dos ativos, dos excipientes e dos ensaios de compatibilidade e de estabilidade da mistura física (1:1) e dos empastamentos alcoólicos (EA) entre R + Z (1:1) e R + Z com docusato de sódio (DS) e metabissulfito de sódio (MbS). A espectroscopia de ultravioleta (UV) e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram utilizadas para doseamento dos insumos, dos ativos nos comprimidos DFC 3 em 1 e nos ensaios de dissolução. O acetofalato de celulose (AFC), a goma laca (GL), o Viscogel[®] B8, a hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) 100.000 cps e os Eudragit[®] L100 e S100 foram estudados como matrizes para liberação prolongada de H. A interpretação conjunta dos resultados das análises de DRX, IV e DSC sugerem interações químicas entre R + Z, entretanto, nos ensaios dos doseamentos dos comprimidos DFC 3 em 1 os resultados dos teores desses ativos estavam dentro das especificações

farmacopeicas, não impedindo a associação desses ativos na camada de liberação imediata. Outra provável incompatibilidade observada, por apresentar deslocamento das curvas endotérmicas de fusão na DSC, foi no EA de R + Z + DS. Nos ensaios de dissolução em suco gástrico simulado (SGS), todos os comprimidos DFC 3 em 1 testados apresentaram resultados satisfatórios para liberação de R e Z e resultados acima do limite máximo de 15% (em 30 minutos) para liberação de H, resultado que reprova os comprimidos DFC 3 em 1 desenvolvidos e evidenciam a necessidade de pesquisa de outras substâncias para serem utilizadas como matrizes de liberação controlada ou de ajustes na metodologia utilizada. Entretanto, comprimidos DFC 3 em 1 de liberação imediata para R, H e Z foram desenvolvidos e apresentaram resultados satisfatórios para os três ativos nos ensaios de dissolução em SGS, fato que flexibiliza o uso da formulação proposta para a produção de comprimidos DFC 2 em 1 de R + Z e comprimidos DFC 4 em 1 de R + Z + H + etambutol (E), ambos com duas camadas de liberação de liberação imediata.

Palavras-chave: Dose Fixa Combinada. Análise Térmica. Difração de Raios X. Estudo de Compatibilidade. Rifampicina. Tuberculose.

ABSTRACT

SILVA, Alex Moura da. Estudos para o desenvolvimento de comprimidos Dose Fixa Combinada (DFC) 3 em 1 para o tratamento da tuberculose
Rio de Janeiro, 2010. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas)-Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010

This study aimed to develop a novel formulation with isoniazid (H), pyrazinamide (Z) and rifampicin (R) combined in a two layer fixed dose combination (FDC) tablets. One layer formed by H in enteric controlled matrix and the other layer formed by the combination of R + Z (gastric release) to be used in tuberculosis (TB) new cases treatment. The techniques of X-ray diffraction (XRD), infrared (IR) and differential scanning calorimetry (DSC) were used in pre-formulation studies to characterize the drugs, the excipients and the tests of compatibility and stability of the physical mixture (1:1) and alcoholic kneading (AK) of R + Z (1:1) and R + Z with docusate sodium (DS) + sodium metabisulfite (SM). The spectroscopy of ultraviolet (UV) and high performance liquid chromatography (HPLC) was used for drugs assay on tablets FDC 3 in 1 and in dissolution tests. The cellulose acetatephthalate (AFC), shellac (GL), Viscogel[®] B8, hydroxypropylmethylcellulose (HPMC) 100,000 cps and Eudragit[®] L100 and S100 were studied as controlled release matrix for H. The results of XRD, IR and DSC suggest chemical interactions between R + Z, however, the drugs results on FDC 3 in 1 tablets assay were in accordance with pharmacopoeia's specifications and do not prevents the association of both drugs in a immediate release layer. Another possible incompatibility refer to displacement of DSC endothermic melting curves for AK of R + Z + DS. The dissolution tests in simulated gastric fluid (SGF) showed satisfactory results for release of R and Z in all FDC 3 in 1

tablets, but the results above the upper limit of 15% (in 30 minutes) to H release, resulted in disapproval of all developed DFC 3 in 1 tablets. This fact indicates that the controlled release matrix used must be changed or that adjustments in the manufacturing methodology are required. However, FDC 3 in 1 tablets of immediate release to R, H and Z were developed and showed satisfactory results for the three drugs in SGF dissolution's tests and eases the use of the proposed formulation for the production of FDC 2 in 1 tablets with R + Z and DFC 4 in 1 tablets with R + H + Z + ethambutol (E), both with two layers of release immediate release.

Keywords: Fixed Dose Combination. Thermal Analysis. X-ray Diffraction. Compatibility Study. Rifampicin. Tuberculosis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	33
1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A TUBERCULOSE.....	33
1.2 TRATAMENTO DA TUBERCULOSE.....	36
1.2.1 Isoniazida	37
1.2.2 Rifampicina.....	39
1.2.3 Pirazinamida.....	39
1.2.4 Uso dos comprimidos dose fixa combinada (DFC).....	40
1.2.5 Esquemas.....	41
1.2.5.1 Básico 2(RHZE)/4(RH) para adultos e adolescentes.....	41
1.2.5.2 2(RHZE)/7(RH) para tuberculose meningoencefálica em adultos e Adolescentes.....	42
1.2.5.3 Para tratamento de MDR-TB e XDR-TB.....	43
1.2.5.4 Análise comparativa entre a utilização da terapia individualizada e a terapia de comprimidos DFC.....	43
1.3 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO.....	43
1.3.1 Incompatibilidades entre fármaco-excipiente e fármaco-fármaco para desenvolvimento de formulações DFC	44
1.3.2 Excipientes utilizados na liberação prolongada.....	47
1.3.2.1 O Acetofalato de Celulose (AFC).....	48
1.3.2.2 A Goma Laca (GL).....	49
1.3.2.3 Os Eudragies®.....	49
1.3.2.4 A Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC).....	50
1.3.2.5 O Viscogel® B8.....	51
1.3.3 Estudo de estabilidade de formas farmacêuticas.....	52
1.4 INFORMAÇÕES TÉCNICAS SOBRE OS FÁRMACOS UTILIZADOS NAS FORMULAÇÕES DE COMPRIMIDOS DFC.....	54
1.4.1 Isoniazida (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP 31, 2008; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009)	54
1.4.2 Rifampicina (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP 31, 2008b; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009b).....	55

1.4.3 Pirazinamida (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP 31, 2008c; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009c).....	56
1.5 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO.....	57
1.5.1 Difração de raios-X (DRX).....	57
1.5.2 Espectroscopia de Infravermelho (IV).....	59
1.5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	60
2 OBJETIVOS.....	64
2.1 OBJETIVO GERAL.....	64
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	64
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	65
3.1 MATERIAL.....	65
3.1.1 Insumos.....	65
3.1.2 Reagentes/Solventes.....	66
3.1.3 Equipamentos.....	67
3.1.4 Acessórios.....	68
3.2 MÉTODOS.....	68
3.2.1 Estudos de estabilidade e de compatibilidade.....	68
3.2.2 Doseamento dos ativos (insumos).....	69
3.2.2.1 Isoniazida.....	69
3.2.2.2 Pirazinamida.....	70
3.2.2.3 Rifampicina.....	71
3.3 PRODUÇÃO DAS CAMADAS DOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM	72
3.3.1 Produção das camadas de liberação gástrica (Rifampicina + Pirazinamida).....	72
3.3.2 Produção da camada de liberação prolongada (Isoniazida).....	73
3.3.2.1 Formulações preparadas com o Acetoftalato de Celulose.....	74
3.3.2.2 Formulações preparadas com o Eudragit® L100 e S100.....	75
3.3.2.3 Formulações preparadas com o Viscogel® B8.....	76
3.3.2.4 Formulações preparadas com a Goma Laca	77
3.3.2.5 Formulações preparadas com a Hidroxipropilmetilcelulose.....	77
3.3.3 Ensaios de controle de processos dos comprimidos obtidos.....	78
3.3.3.1 Peso Médio.....	78

3.3.3.2 Dureza.....	79
3.3.3.3 Friabilidade.....	79
3.3.3.4 Desintegração.....	79
3.3.4 Produção de comprimidos DFC 3 em 1.....	80
3.3.4.1 Doseamento dos ativos (USP 31, 2008).....	81
3.3.4.2 Ensaio de dissolução (USP 31, 2008).....	82
3.3.4.2.1 Metodologia para determinação da rifampicina.....	83
3.3.4.2.2 Metodologia para determinação da isoniazida e da pirazinamida.....	84
3.3.4.3 Ensaio de dissolução por dispersão da rifampicina.....	86
3.3.4.4 Perfil de liberação	86
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	87
4.1 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO.....	87
4.1.1 Caracterização dos insumos.....	87
4.1.1.1 Isoniazida.....	87
4.1.1.2 Rifampicina.....	90
4.1.1.3 Pirazinamida.....	97
4.1.1.4 Docusato de sódio.....	100
4.1.1.5 Metabissulfito de sódio.....	101
4.1.2 Ensaio de estabilidade da <u>formulação 01</u>: rifampicina lote	
200610049.....	101
4.1.3 Ensaio de compatibilidade.....	104
4.1.3.1 <u>Formulação 02</u> : compatibilidade da rifampicina com a pirazinamida	
no EA.....	104
4.1.3.2 <u>Formulação 03</u> : compatibilidade entre a rifampicina e a pirazinamida na	
MF.....	107
4.1.3.3 <u>Formulação 04</u> : compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida e docusato	
de sódio no EA.....	109
4.1.3.4 <u>Formulação 05</u> : compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida e	
metabissulfito de sódio.....	111
4.1.3.5 <u>Formulação 06</u> : compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida, docusato	
de sódio e metabissulfito de sódio EA.....	113
4.1.4 Estabilidade física da camada de liberação imediata: <u>formulação 07</u>.....	115
4.2 PRODUÇÃO DAS CAMADAS DOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM 1.....	118

4.2.1 Produção da camada de liberação imediata (rifampicina + pirazinamida).....	118
4.2.2 Produção da camada de liberação prolongada (Isoniazida).....	119
4.2.2.1 Utilizando o Acetofalato de Celulose.....	119
4.2.2.2 Utilizando o Eudragit® L100 e Eudragit® S100.....	122
4.2.2.3 Utilizando o Viscogel® B8	124
4.2.2.4 Utilizando a Goma Laca.....	124
4.2.2.5 Utilizando a HPMC e preparação da formulação 50 (sem agente prolongador de liberação).....	126
4.3 CONTROLE DE PROCESSOS NA PRODUÇÃO DO DFC 3 EM 1.....	128
4.4 DOSEAMENTO DOS ATIVOS NOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM 1.....	129
4.5 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO.....	133
4.5.1 Determinação da isoniazida e da pirazinamida.....	134
4.5.2 Determinação da rifampicina.....	140
4.6 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO POR DIPERSÃO DAS AMOSTRAS DE RIFAMPICINA.....	141
4.7 PERFIL DE LIBERAÇÃO DO DFC 3 EM 1.....	142
5 CONCLUSÕES.....	145
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	147

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

Aa	ácido aminosalicílico
acn	acetonitrila
AFC	acetofalato de celulose
Am	amicacina
BK	bacilo de Koch
CLAE	cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês <i>high performance liquid chromatograph</i> - HPLC)
CM	celulose microcristalina
Cn	canamicina
Cp	capreomicina
Cs	ciclosserina
CS	croscarmelose sódica
D	dosagem do fármaco no medicamento
d	fator de diluição
DFC	dose fixa combinada
DOTS	Estratégia do Tratamento Supervisionado (do inglês <i>Directly Observed Treatment Short</i>)
DRX	difração de raios-X
DS	Docusato de Sódio
DSC	calorimetria exploratória diferencial
DTG	termogravimetria derivada
E	etambutol
EA	empastamento alcoólico
EMg	estearato de magnésio
Et	etionamida
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
GL	goma laca
Gx	gatifloxacino
H	isoniazida
HPMC	hidroxipropilmetilcelulose
HYD	isonicotinoil hidrazona
ICH	<i>International Conference on Harmonization</i>

IR	esquema básico reforçado
IV	espectrofotometria de infravermelho
L	linezolida
La	média da leitura da amostra
LabTIF	Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica
Lp	média da leitura do padrão
LSS	lauril sulfato de sódio
Lv	levofloxacino
MbS	metabissulfito de sódio
MDR-TB	tuberculose multirresistente (do inglês <i>multi-drug resistant tuberculosis</i>)
MF	mistura física
MR	multirresistência
MS	Ministério da Saúde (Brasil)
Mx	moxifloxacino
NIAID	<i>National Institute of Allergy and Infectious Diseases</i>
NT	nota técnica
OMS	Organização Mundial da Saúde
pa	peso da amostra
PEG	polietilenoglicol
PM	peso médio
PNCT	Programa Nacional de Controle da Tuberculose
pp	peso dos padrões
PVP	polivinilpirrolidona
R	rifampicina
Ra	média das respostas das amostras
RA	retorno após abandono
RC	recidiva após cura
Rp	média das respostas dos padrões
S	estreptomicina
SCB	sistema de classificação biofarmacêutica (do inglês <i>Biopharmaceutics Classification Systems</i>)
SES	suco entérico simulado
SGS	suco gástrico simulado

SIDA	Síndrome da Imuno Deficiência Adquirida
TB	tuberculose
TG	termogravimetria
TGA	análise termogravimétrica
Tp	teor do padrão
Tz	terizidona
UR	umidade relativa
USP	<i>United States Pharmacopeia</i>
UV	ultravioleta
W	<i>Watts</i>
WHO	<i>World Health Organization</i>
XDR-TB	tuberculose extensivamente resistente (do inglês extensively drug-resistant)
Z	pirazinamida

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 ilustração do *Mycobacterium tuberculosis*. Disponível em: 33
<http://static.hsw.com.br/gif/tuberculose-bacilo-de-koch.jpg>. Acesso em: 29 fev. 2010.
- Figura 2 distribuição da tuberculose no Brasil, segundo idade e formas 35
clínicas. (Ministério da Saude – Brasil).
- Figura 3 países (em vermelho) que diagnosticaram pelo menos um caso de 37
XDR-TB em setembro de 2009. Disponível em:
http://www.who.int/tb/challenges/xdr/xdr_map_sep09.pdf, adaptado.
Acesso em: 28 nov.2009.
- Figura 4 esquema representativo dos mecanismos de ação dos fármacos de 38
“primeira linha” utilizados no tratamento da tuberculose. Adaptado da
NIAID (*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*).
Disponível em:
<http://www3.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/Understanding/WhatIsTB/ScientificIllustrations/>. Acesso em 27 fev. 2010.
- Figura 5 padrões de difração de raios-X das dispersões sólidas de (A) 53
felodipina e felodipina-PVP e (B) felodipina e felodipina-PEG
(KARAVAS et al, 2007, adaptado).
- Figura 6 padrões de difração de raios-X da co-moagem de naproxeno- 54
ranitidina armazenados sobre condições secas (sílica gel). Os picos
que surgem a 40,0 °C são da cristalização do naproxeno (ALLESO et
al, 2007, adaptado).
- Figura 7 fórmula estrutural da isoniazida. Disponível em: 55
http://www.drugbank.ca/structure_viewer. Acesso em 28 nov.2009.
- Figura 8 fórmula estrutural da rifampicina. Disponível em: 56
http://www.drugbank.ca/structure_viewer. Acesso em 28 nov.2009.
- Figura 9 fórmula estrutural da pirazinamida. Disponível em: 57
http://www.drugbank.ca/structure_viewer. Acesso em 28 nov.2009.
- Figura 10 difração de raios-X por um cristal (SKOOG, HOLLER; NIELMAN, 58
1998).

Figura 11	padrões de difração de raios-X das formas sólidas do celecoxib, onde A) celecoxib; B) celecoxib-DMA; C) celecoxib-DMS e D) celecoxib amorfo (CHAWLA et al, 2003, adaptado).	58
Figura 12	espectros de IV com transformada de Fourier das formas de rifampicina. O duplo pico em 1712 e 1734 cm^{-1} da furanona é característico da isoforma II (AGRAWAL et al, 2004, adaptado).	60
Figura 13	curva de DSC do medicamento cetoconazol com os seguintes eventos: A) curva endotérmica de desidratação da lactose; B) curva endotérmica de fusão do cetoconazol; C) curva endotérmica de fusão da lactose; D) curva endotérmica da decomposição da lactose; E) curva exotérmica da decomposição da lactose e F) curva exotérmica da decomposição do cetoconazol. (SANTOS et al, 2009. Adaptado)	61
Figura 14	curvas de DSC dos polimorfos I e II de rifampicina e da sua forma amorfa (AGRAWAL et al, 2004. Adaptado) com os eventos térmicos observados para cada amostra	62
Figura 15	curvas de DSC para uma substância cristalina. Curva 1: deflexão inicial proporcional à capacidade calorífica da amostra; curva 2: evaporação da umidade; curva 3: linha basal (sem efeito térmico); curva 4: pico de fusão; curva 5: início da oxidação no ar, (METTLER TOLEDO, 2009).	63
Figura 16	padrões da DRX dos três lotes de isoniazida: A) lote 107/08; B) lote 050/07 e C) lote 001/07.	88
Figura 17	espectros das absorções máximas de IV dos lotes de isoniazida. A) lote 107/08; B) lote 050/07 e C) lote 001/07.	88
Figura 18	curvas de DSC de: A) isoniazida padrão USP; B) isoniazida lote 001/07; C) isoniazida lote 050/07 e D) isoniazida lote 107/08.	89
Figura 19	padrões da DRX dos três dos três lotes de rifampicina: A) lote 0805045M, onde as setas pontilhas vermelhas apontam para ângulos exclusivos desta amostra e as elipses azuis destacam os principais ângulos comuns às quatro amostras; B) lote 0710046M; C) lote 200610049 e D) lote 200610029.	90
Figura 20	espectros de IV dos lotes de rifampicina. A) lote 0805045M; B) lote 0710046M; C) 200610049 e D) 200610029.	91

Figura 21	espectro de IV do lote de rifampicina 200610029. Principais bandas de absorção no IV observadas: em 3446 cm^{-1} –OH da cadeia ansa, em 1716 cm^{-1} do acetil e 734 cm^{-1} da furanona.	92
Figura 22	espectro de IV do lote de rifampicina 0805045M. Principais bandas de absorção no IV observadas: em 3442 cm^{-1} –OH da cadeia ansa, em 1724 cm^{-1} do acetil e 1637 cm^{-1} da furanona.	92
Figura 23	curvas de DSC de: A) rifampicina padrão USP; B) rifampicina lote 0710046M; C) rifampicina lote 0805045M; D) rifampicina lote 200610029; E) rifampicina lote 200610049 e F) rifampicina lote 200610038. Os números 1, 2 e 3 destacados na curva A) correspondem aos evento endotérmico de fusão e eventos exotérmicos de recristalização e decomposição, respectivamente, para todos os lotes (B, C, D, E e F) analisados de rifampicina. Esta sequência de eventos é característica do polimorfo II.	93
Figura 24	cromatogramas das soluções A e B do gradiente de eluição da fase móvel (letras B e C) e do diluente utilizados nos ensaios de CLAE para o doseamento dos ativos no DFC 3 em 1. O intervalo de tempo entre 5 e 16 minutos destaca a inversão do gradiente de eluição (passagem de isocrático para linear) e suas respectivas interferências na coluna até atingir o equilíbrio novamente (20 minutos).	95
Figura 25	cromatogramas do padrão USP de rifampicina.	95
Figura 26	cromatogramas de rifampicina lote 200610038.	96
Figura 27	cromatograma de fotodiodos de rifampicina lote 200610038. A) vista em três dimensões e B) vista no plano.	97
Figura 28	padrões da DRX dos três lotes de pirazinamida: A) lote 030/08; B) lote 078/07 e C) lote 140/05.	97
Figura 29	espectros de IV dos lotes de pirazinamida. A) lote 030/08; B) lote 078/07 e C) lote 140/05.	98
Figura 30	curvas de DSC de: A) pirazinamida padrão USP; B) pirazinamida lote 030/08; C) pirazinamida lote 078/07 e D) pirazinamida lote 140/05.	99
Figura 31	padrão da DRX do docusato de sódio.	100
Figura 32	padrão da DRX do metabissulfito de sódio.	101

- Figura 33 padrões da DRX de rifampicina lote 200610049 mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias. 102
- Figura 34 espectros de absorção de IV de rifampicina lote 200610049 (formulação 01) mantida em câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias. 103
- Figura 35 curvas de DSC de rifampicina lote 200610049 para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR. 103
- Figura 36 padrões da DRX dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial. Os retângulos vermelhos destacam os sinais que coalesceram durante o empastamento alcoólico; B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) pirazinamida lote 030/08. 105
- Figura 37 espectros de IV dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial. B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) pirazinamida lote 030/08. 106
- Figura 38 curvas de DSC dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias, onde: A) análise inicial e B) análise após 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) pirazinamida lote 030/08. 106
- Figura 39 padrões da DRX da MF de rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 mantida em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) MF de 30 dias; C) MF de 60 dias e D) MF de 90 dias. 108

- Figura 40 espectros de absorção de IV da MF entre rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 (formulação 03) mantida em câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias. 108
- Figura 41 curvas de DSC da MF de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR. 109
- Figura 42 padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e docusato de sódio mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049, D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio. 110
- Figura 43 espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e docusato de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio. 110
- Figura 44 curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + docusato de sódio para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio. 111
- Figura 45 padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e o metabissulfito de sódio mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio. 112

- Figura 46 espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio. 112
- Figura 47 curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + metabissulfito de sódio para: A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio. Acondicionamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR. 113
- Figura 48 padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08, docusato de sódio e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio. As setas do padrão de DRX A indicam os sinais de pirazinamida preservados logo após o empastamento alcoólico e a coalescência dos picos em 2θ a 11,35°, 16,1° e 21,75°. 114
- Figura 49 espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08, docusato de sódio e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio. 114

- Figura 50 curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + docusato de sódio + metabissulfito de sódio para: A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio. Acondicionamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR. 115
- Figura 51 padrões da DRX para estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 (letras A, B C, D, E e F) frente aos ativos rifampicina e pirazinamida (letras G e H) puros. Condições de armazenamento: câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. 116
- Figura 52 espectros de absorção de IV para estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 frente aos ativos rifampicina e pirazinamida puros, onde: A) formulação 07 – camada de liberação gástrica; B) formulação 06 – empastamento alcoólico de rifampicina, pirazinamida, docusato de sódio e metabissulfito de sódio; C) formulação 05 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida e metabissulfito de sódio; D) formulação 04 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida e docusato de sódio; E) formulação 03 – MF de rifampicina com pirazinamida; F) formulação 02 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida; G) pirazinamida lote 030/08 e H) rifampicina lote 200610049. Condições de armazenamento: câmara climática por 90 dias a 40,0 °C e 75,0% de UR. 117
- Figura 53 curvas de DSC do estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 (letras A, B C, D, E e F) frente aos ativos pirazinamida lote 030/08 e rifampicina lote 200610049 (letras G e H) puros. Condições de armazenamento: câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 90 dias. 118
- Figura 54 comprimidos testes do DFC 3 em 1, contendo isoniazida com HPMC (camada branca) e rifampicina + pirazinamida (camada laranja), produzidos no LabTIF/UFRJ. 129

Figura 55	cromatogramas de: A) padrão secundário de isoniazida; B) padrão secundário de pirazinamida e C) padrão USP de rifampicina.	129
Figura 56	cromatogramas das formulações 55 a 57 de comprimidos DFC 3 em 1 frente aos padrões de isoniazida, pirazinamida e rifampicina. As respostas A, B e C correspondem a isoniazida; pirazinamida e a rifampicina, respectivamente.	133
Figura 57	cromatogramas da solução de adequação ao sistema onde: A) pico do tampão fosfato; B) resposta do ácido isonicotínico; C) resposta do padrão secundário de isoniazida e D) resposta do padrão secundário de pirazinamida.	134
Figura 58	cromatogramas de injeções triplicatas das soluções padrões de isoniazida e pirazinamida, onde: A) resposta do tampão fosfato; B) resposta do padrão secundário de isoniazida e C) resposta do padrão secundário de pirazinamida.	135
Figura 59	cromatogramas da dissolução, em SES, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: (I) formulação 08 da Tabela 3 com HPMC nas proporções 1:0,8 e 1:1 e (II) formulação 09 da Tabela 3 com HPMC nas proporções 1:0,8 e 1:1. As letras A, B e C são as respostas do tampão fosfato, de isoniazida e de pirazinamida, respectivamente.	138
Figura 60	ensaio de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: A) comprimido DFC com HPMC 1:1; B) comprimido DFC com HPMC 1:0,7; C) comprimido DFC com HPMC 1:0,8 e D) comprimido DFC com AFC. As setas sinalizam para os comprimidos íntegros (antes do ensaio) e dissolvidos (após o ensaio). Foto realizada no LFM.	141
Figura 61	ensaio do perfil de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: A, B e C são as curvas de pirazinamida para as formulações 55, 56 e 57, respectivamente, e D, E e F referem-se as curvas de rifampicina para àqueles mesmas formulações.	142
Figura 62	cromatograma da formulação 56 no ensaio do perfil de dissolução. As letras A, B e C correspondem, respectivamente, as respostas do tampão fosfato, de isoniazida e de pirazinamida.	143
Figura 63	ensaio do perfil de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1 da formulação 57 (sem agentes moduladores de liberação).	144

LISTA DE QUADROS

Quadro 1	esquema básico para o tratamento de casos novos de todas as formas de TB pulmonar e extrapulmonar (exceto meningite) e retratamento – Ministério da Saúde – Brasil.	42
Quadro 2	esquema para tratamento da tuberculose meningoencefálica em adultos e adolescentes. Ministério da Saúde – Brasil.	42
Quadro 3	esquema comparativo entre as administrações de comprimidos DFC e doses individualizadas para pacientes na fase intensa de tratamento da TB e com massa corporal de 50,0 kg (WHO, 2001c).	43
Quadro 4	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação gástrica contendo rifampicina e pirazinamida.	118
Quadro 5	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 1,0% e com peso médio dos comprimidos de 168,0 mg.	120
Quadro 6	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 1,0% e com peso médio dos comprimidos de 260,0 mg.	121
Quadro 7	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 2,0% e e com peso médio dos comprimidos de 168,0 mg.	122
Quadro 8	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 2,0% e e com peso médio dos comprimidos de 260,0 mg.	122
Quadro 9	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Eudragit® L100 pelo método da compressão direta.	123

Quadro 10	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Eudragit® S100 pelo método da compressão direta.	123
Quadro 11	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Viscogel B8® pelo método da compressão direta.	124
Quadro 12	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com GL pela via de granulação úmida com solução aglutinante de GL a 2,0%.	125
Quadro 13	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com GL via compressão direta.	125
Quadro 14	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com HPMC via compressão direta.	127
Quadro 15	resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para os comprimidos DFC 3 em 1.	128
Quadro 16	resultados dos parâmetros cromatográficos do doseamento dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com lote 200610049 (teor de 92,6%) de rifampicina e as formulações 55 a 60 foram produzidas com o lote 200610038 (teor 98,2%).	131
Quadro 17	resultados dos parâmetros cromatográficos da dissolução em SGS dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com rifampicina lote 200610049 (teor de 92,6%) enquanto as formulações 55 a 60 foram desenvolvidas com rifampicina 200610038 (teor 98,2%).	137
Quadro 18	resultados dos parâmetros cromatográficos da dissolução em SES dos DFC 3 em 1. As formulações foram desenvolvidas com rifampicina 200610038 (teor 98,2%).	139

Quadro 19	resultados dos parâmetros de UV da dissolução em SGS dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com rifampicina lote 200610049 (teor de 92,6%) enquanto as formulações 55 a 60 foram desenvolvidas com a rifampicina 200610038 (teor 98,2%).	140
Quadro 20	resultados dos parâmetros de UV para dispersão dos lotes amostras de rifampicina.	141
Quadro 21	resultados dos parâmetros do perfil de liberação, em SGS, para as formulações 55 a 57 e da amostra de DFC 3 em 1 da Maneesh/Sanobiol de comprimidos DFC 3 em 1.	144

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	composição das formulações para estudos de estabilidade de rifampicina lote 200610049 (formulação 01); mistura física rifampicina + pirazinamida (formulação 03) e empastamentos alcoólicos (formulações 02, 04, 05, 06 e 07) para acompanhamento em câmara climática a 40,0 °C e 75,0% de UR por 3 meses.	69
Tabela 2	gradiente de eluição da fase móvel para análise dos teores de rifampicina (USP 31, adaptado).	71
Tabela 3	formulações estudadas para o desenvolvimento da camada de liberação imediata de rifampicina + pirazinamida. Formulação 08: utilização da croscarmelose sódica na fase interna. Formulação 09: utilização de toda croscarmelose sódica e do aerosil [®] na fase externa. Formulação 10: utilização de toda MC-102 e de metade da croscarmelose sódica na fase externa. Peso proposto para a camada: 720,0 mg.	73
Tabela 4	formulações preparadas através da granulação úmida solução aglutinante de AFC 1,0% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 11), 1:0,5 (formulação 12) e 1:1 (formulação 13). Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 168,0 mg.	74
Tabela 5	formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 1,0% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 14), 1:0,5 (formulação 15) e 1:1 (formulação 16). Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 260,0 mg.	74
Tabela 6	formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 2,0% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 17), 1:0,5 (formulação 18) e 1:1 (formulação 19), Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 168,0 mg.	75
Tabela 7	formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 2,0% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 20), 1:0,5 (formulação 21) e 1:1 (formulação 22), Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 260,0 mg.	75

Tabela 8	formulações preparadas através da compressão direta utilizando o Eudragit [®] L100 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções 1:0,1 (formulação 23), 1:0,2 (formulação 24), 1:1 (formulação 25) e 1:2 (formulação 26). Proporções H:Eudragit [®] L100. Peso médio teórico: 260,0 mg.	76
Tabela 9	formulações preparadas através da compressão direta utilizando o Eudragit [®] S100 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções 1:0,1 (formulação 27), 1:0,2 (formulação 28), 1:1 (formulação 29) e 1:2 (formulação 30). Proporções H:Eudragit [®] S100. Peso médio teórico: 260,0 mg.	76
Tabela 10	formulações preparadas através da compressão direta compressão direta utilizando o Viscogel [®] B8 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções 1:0,1 (formulação 31), 1:0,2 (formulação 32), 1:1 (formulação 33) e 1:2 (formulação 34). Proporções H:Viscogel [®] B8.	76
Tabela 11	formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de GL 2,0% e GL como constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação35), 1:0,5 (formulação 36) e 1:1 (formulação 37). Proporções H:GL.	77
Tabela12	formulações preparadas através da compressão direta utilizando a GL como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções 1:0,1 (formulação 38), 1:0,2 (formulação 39), 1:1 (formulação 40) e 1:2 (formulação 41). Proporções H:GL.	77
Tabela 13	formulações preparadas através da compressão direta utilizando o HPMC 100.000 cps como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções (H:HPMC) 1:0,2 (formulação 42), 1:0,3 (formulação 43), 1:0,4 (formulação 44), 1:0,5 (formulação 45), 1:0,6 (formulação 46), 1:0,7 (formulação 47), 1:0,8 (formulação 48) e 1:1 (formulação 49). O formulação 50 não contém HPMC 100.000 cps.	78

Tabela 14	combinações das camadas de liberação gástrica (formulação 08 – sem aerosil [®] e com croscarmelose sódica exclusivamente na fase interna) e entéricas utilizadas na produção do DFC 3 em 1. A formulação 50 não contém matriz para liberação prolongada.	80
Tabela 15	combinações das camadas de liberação gástrica (formulação 09 – sem aerosil [®] e com 50,0% de croscarmelose sódica na fase externa) e entéricas utilizadas na produção do DFC 3 em 1. A formulação 50 não contém matriz para liberação prolongada.	81
Tabela 16	teores dos lotes amostras de isoniazida. Determinação realizada por absorção no UV em 265,0 nm.	89
Tabela 17	valores dos ângulos 2 θ característicos dos polimorfos I e II de rifampicina nas análises da DRX.	91
Tabela 18	pontos de fusão das amostras de rifampicina obtidos através da DSC.	94
Tabela 19	resultados das análises por CLAE de rifampicina padrão USP e das amostras de rifampicina.	94
Tabela 20	valores dos ângulos 2 θ dos sinais de maiores intensidades para as amostras de pirazinamida.	98
Tabela 21	pontos de fusão das amostras de pirazinamida obtidos através da DSC.	99
Tabela 22	teores dos princípios ativos de pirazinamida. Determinação realizada por absorção no UV em 268,0 nm.	100
Tabela 23	valores dos ângulos 2 θ das análises de DRX encontrados para o ensaio de estabilidade de rifampicina lote 200610049 em câmara climática a 40,0 °C \pm 75,0% de UR por 90 dias.	102
Tabela 24	resultados das análises por CLAE de isoniazida e pirazinamida (padrões secundários) e rifampicina (padrão USP) utilizados no doseamento dos ativos do DFC 3 em 1 produzidos no LabTIF/UFRJ. Os valores representam a média de 3 injeções.	130
Tabela 25	resultados das análises por CLAE dos padrões secundários de isoniazida e pirazinamida utilizados na adequação do sistema cromatográfico para os ensaios de dissolução dos DFC 3 em 1 produzidos no LabTIF/UFRJ. Os valores representam a média de 3	135

injeções.

Tabela 26 resultados dos ensaios de dissolução por CLAE dos DFC 3 em 1 139
para liberação de isoniazida nos meios SGS e SES.

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A TUBERCULOSE

A tuberculose (TB) é uma doença milenar causada pelo *Mycobacterium tuberculosis* e continua sendo a principal causa de morte por doença infecciosa no mundo (JUNIOR, 2007).

O *Mycobacterium tuberculosis* foi descoberto e identificado em 1882 por Robert Koch e, em sua homenagem, também é chamado de bacilo de Koch (BK) (PASCUZZO, 2008). O BK (Figura 1) é uma bactéria anaeróbica que se aloja principalmente nos pulmões, possui um envelope celular altamente hidrofílico e produz enzimas hidrolíticas ou enzimas modificadoras como as beta-lactamases e as acetil transferases que lhe conferem extrema resistência aos fármacos utilizados no seu combate (ROSSETI et al, 2002).

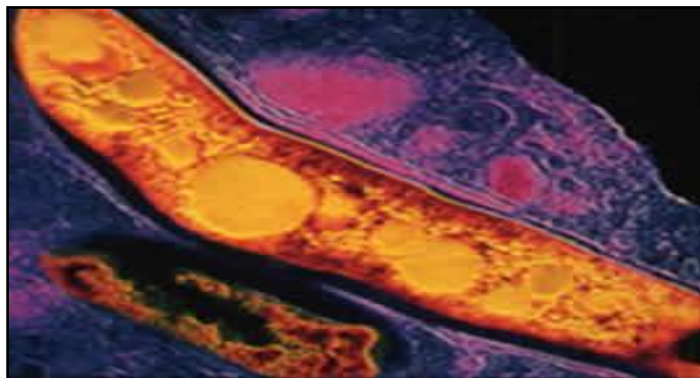


Figura 1 - ilustração do *Mycobacterium tuberculosis*. Disponível em: <http://static.hsw.com.br/gif/tuberculose-bacilo-de-koch.jpg>. Acesso em: 29 fev. 2010.

Até a década de 80, a TB estava sob controle e era considerada uma enfermidade dos países em desenvolvimento porque se relacionava diretamente com a pobreza (PASCUZZO, 2008). Entretanto, com o advento da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), esta doença voltou a ser uma preocupação mundial e, aproximadamente, um terço da população do globo terrestre está infectada com o BK. Este fato levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a declarar, em 1993, a TB como caso de emergência global, propondo o emprego da estratégia do tratamento supervisionado - DOTS (do inglês *Directly Observed Treatment Short*) como alternativa para combater a disseminação da doença e para

aumentar os níveis de detecção e taxas de cura da TB (SILVA et al, 1998; STOP TB PARTNERSHIP, 2006).

Seguindo orientações emanadas da OMS, o Ministério da Saúde (MS) criou o Programa Nacional de Controle da Tuberculose (PNCT) cujo objetivo é o de atingir as metas mundiais de controle da tuberculose, ou seja, localizar no mínimo 70% dos casos estimados anualmente e curar, no mínimo, 85% deles.

No PNCT encontram-se elencadas às diretrizes do DOTS, a saber:

- a) Compromisso político sustentado;
- b) Detecções de casos, por meio de baciloscopia de escarro, entre sintomáticos respiratórios da demanda dos serviços gerais de saúde;
- c) Tratamento padronizado, de curta duração, diretamente observado e monitorado quanto à sua evolução, para todos os casos com baciloscopia de escarro positiva;
- d) Provisão regular de medicamentos tuberculostáticos; e
- e) Sistema de informação que permita avaliar a detecção de casos, o resultado do tratamento de casos individuais e o desempenho do programa (BRASIL, 2009; WHO, 2006).

A aplicação das diretrizes do DOTS à realidade brasileira tem mantido um controle efetivo da doença e, nos últimos três anos, o Brasil passou da 14^a para a 18^a posição no *ranking* mundial de casos de TB reduzindo à 8% o número de pacientes que iniciam o tratamento e abandonam a terapia (BRASIL, 2009a; 2009b)

Para identificar doentes com risco de desenvolver resistência aos fármacos e permitir a escolha do regime terapêutico adequado, um caso de TB tem que ser definido a partir do recebimento ou não de tratamento prévio. A OMS e o MS definem os seguintes parâmetros no diagnóstico da TB (WHO, 2006; BRASIL, 2009):

- a) Caso novo ou sem tratamento anterior: paciente que nunca recebeu tratamento para a TB por período igual ou superior a um mês;
- b) Retratamento: paciente já tratado por mais de trinta dias, que venha a necessitar de nova terapia por recidiva após cura (RC), retorno após abandono (RA), ou por falência do esquema básico;
- c) Abandono: paciente que, após iniciado o tratamento, deixa de comparecer à unidade de saúde por mais de trinta dias consecutivos, após a data marcada para seu retorno;

- d) Retratamento após abandono: paciente bacteriologicamente positivo, que reinicia o tratamento após interrupção por período igual ou superior a dois meses;
- e) Recidiva: paciente com TB em atividade, que já se tratou anteriormente, e recebeu alta por cura;
- f) Transferido de outro serviço: paciente que foi transferido de outro serviço, onde já havia sido registrado e notificado, para continuar tratamento; e
- g) Outros: todos os casos que não se enquadram nas definições anteriores. Este grupo inclui o caso crônico ou doente que tem microscopia positiva no fim de um regime de retratamento.

Na Figura 2, o MS esquematiza o quadro de distribuição da tuberculose no Brasil, de acordo com a idade e suas formas clínicas. Observa-se que a TB tem maior incidência (95%) entre os maiores de quinze anos e que as formas pulmonares são as que mais se manifestam, atingindo taxas de 80% para os maiores de 15 anos e 85% para os menores de 15 anos (BRASIL, 2009).

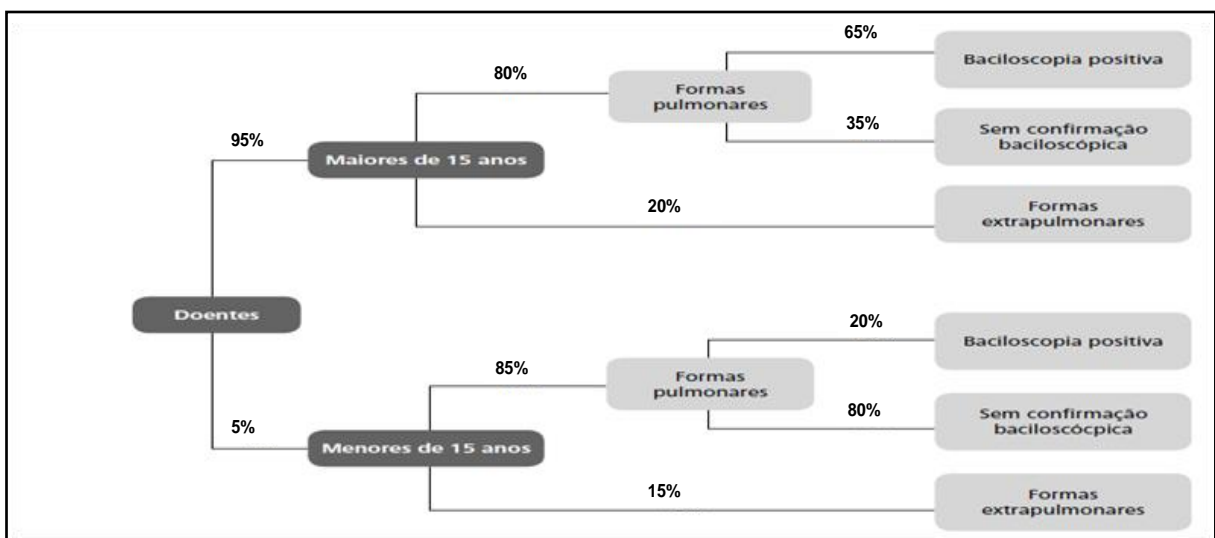


Figura 2 – distribuição da tuberculose no Brasil, segundo idade e formas clínicas (BRASIL – Brasil).

A transmissão da TB ocorre de pessoa a pessoa, principalmente, através do ar. Ao tossir, falar ou espirrar, o doente lança ao ar gotículas que contém o bacilo em seu interior e que poderão ser inaladas por outras pessoas (WHO, 2009a).

O período de incubação do BK dura de 4 a 12 semanas para identificação das lesões primárias. A probabilidade de que o indivíduo infectado evolua para a doença propriamente dita, depende de múltiplas causas, destacando-se, dentre estas, a

idade avançada, as condições sócio-econômicas e algumas condições médicas (diabetes *mellitus*, alcoolismo, infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida, etc.). De modo geral, a evolução ocorre quando o sistema imune debilitado e não consegue manter o bacilo sob controle (BRASIL, 2009).

1.2 TRATAMENTO DA TUBERCULOSE

Os fármacos utilizados no tratamento da TB podem ser divididos em duas categorias principais: os agentes de “primeira linha” que combinam o maior nível de eficácia com um grau aceitável de toxicidade incluem a isoniazida (H), a rifampicina (R), o etambutol (E), a estreptomicina (S) e a pirazinamida (Z); e, os agentes de “segunda linha”, incluem o moxifloxacino (Mx) ou gatifloxacino (Gx), a etionamida (Et), o ácido aminosalicílico (Aa), a ciclosserina (Cs), a amicacina (Am), a canamicina (Cn), a capreomicina (Cp) e a linezolida (L) (JUNIOR, 2007).

A multirresistência (MR) aos fármacos utilizados no tratamento da TB geralmente ocorre quando o esquema prescrito não é o correto ou quando ocorre falha/interrupção no uso dos medicamentos (WHO, 2009a). Quando esta resistência se refere à H e R simultaneamente, dizemos que a tuberculose é resistente à multifármacos (do inglês *multi-drug resistant tuberculosis* – MDR-TB) e o tratamento é mais demorado e o paciente precisa fazer uso de ativos de “segunda linha” (mais caros e com mais efeitos tóxicos) (BRASIL, 2009; WHO, 2009a).

Caso exista outra falha na prescrição ou no uso do medicamento para a MDR-TB, nova resistência é observada e a doença recebe a denominação de tuberculose extensivamente resistente a fármacos (do inglês *extensively drug-resistant tuberculosis* – XDR-TB). A XDR-TB, além de ser MDR-TB, é resistente a qualquer das fluoroquinolonas e a pelo menos um dos três agentes quimioterápicos injetáveis de “segunda linha” (capreomicina, canamicina e amicacina) (WHO, 2009a).

O mapa abaixo (Figura 3) mostra os países que diagnosticaram pelo menos um caso de XDR-TB em setembro de 2009, dentre eles, o Brasil (WHO, 2009b).



Figura 3 – países (em vermelho) que diagnosticaram pelo menos um caso de XDR-TB em setembro de 2009. Disponível em: http://www.who.int/tb/challenges/xdr/xdr_map_sep09.pdf, adaptado. Acesso em: 28 nov. 2009.

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) correlaciona a dissolução *in vitro* e a biodisponibilidade *in vivo*. O conhecimento da solubilidade e da permeabilidade gastrointestinal dos fármacos é muito importante porque eles controlam a taxa e a extensão da absorção dos mesmos. As classes biofarmacêuticas estão divididas em: Classe I – fármaco com alta solubilidade e alta permeabilidade; Classe II – fármaco com baixa solubilidade e alta permeabilidade; Classe III – fármaco com alta solubilidade e baixa permeabilidade; e Classe IV – fármaco com baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON et al, 1995). No que tange os tuberculostáticos de primeira linha, R pertence à classe II e H e Z pertencem à classe III do SCB.

1.2.1 Isoniazida

A H é um pró-fármaco que continua sendo o principal agente para a quimioterapia da TB. A enzima catalase-peroxidase micobacteriana converte a H em um metabólito ativo que age inibindo a síntese do ácido micólico (Figura 4), peculiar na formação da parede celular do bacilo (JUNIOR, 2007).

O crescimento micobacteriano é lento e muitos desses microorganismos vivem, por um longo período, em estado de latência no hospedeiro. As principais barreiras a serem vencidas pelos agentes antimicrobianos no combate às micobactérias são: sua espessa parede celular, que inibe a penetração de muitos

fármacos, e o fato de que uma quantidade desses microorganismos pode residir no interior dos macrófagos (JUNIOR, 2007).

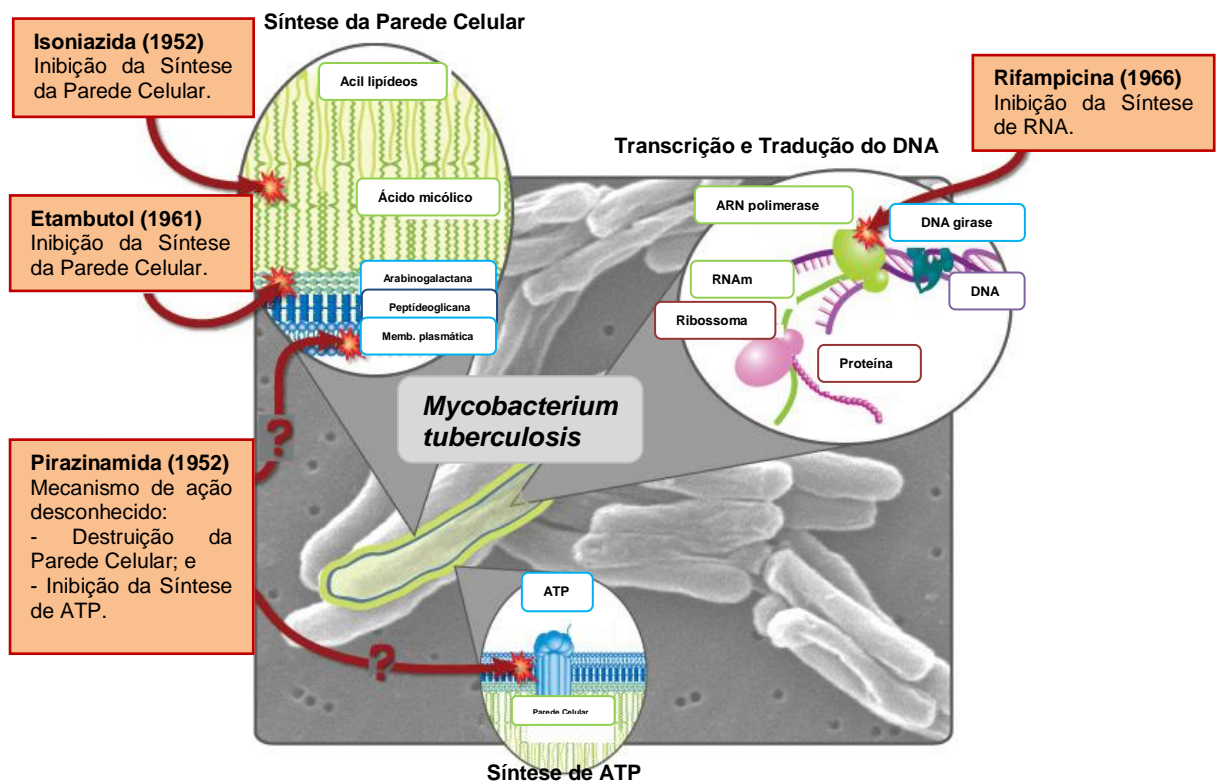


Figura 4 – esquema representativo dos mecanismos de ação dos fármacos de “primeira linha” utilizados no tratamento da tuberculose. Adaptado da NIAID (*National Institute of Allergy and Infectious Diseases*). Disponível em: <http://www3.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/Understanding/WhatIsTB/ScientificIllustrations/>. Acesso em 27 fev. 2010.

A H age intracelularmente nos macrófagos que possuem a micobactéria em seu estado de latência (portadores assintomáticos ou em fase final da terapia) e no *Mycobacterium* extracelular do tecido necrosado (fase aguda da doença) reduzindo rapidamente a quantidade de bacilos presentes nesses locais (SILVA, 1998; LOENHOUT; VEEN, 1998).

Com relação à absorção, a H é rapidamente absorvida e se difunde por todos os tecidos e fluidos do corpo humano. Nos acetiladores rápidos, a meia-vida é de menos de uma hora e nos acetiladores mais lentos, pode superar 3 horas (WHO, 2006). A frequência de cada fenótipo de acetilação depende da raça, porém não é influenciada nem pelo sexo e nem pela idade. A H é excretada principalmente na urina sob a forma de metabólitos pela acetilação (acetilisoniazida) ou pela hidrólise (ácido isonicotínico) (JUNIOR, 2007).

1.2.2 Rifampicina

R é um bactericida que inibe a RNA polimerase dependente do DNA das micobactérias através da formação de um complexo fármaco-enzima estável que acarreta na supressão da formação da cadeia de RNA (Figura 4, página 38). Administrada oralmente, R atinge concentrações plasmáticas máximas entre duas a quatro horas após sua ingestão e é mais bem absorvida quando o paciente está em jejum. Em presença de ácido aminosalicílico, R apresenta retardo na sua absorção e a concentração plasmática adequada do fármaco pode não ser alcançada. R é rapidamente eliminada pela bile (circulação êntero-hepática) e sua meia-vida varia entre uma hora e meia a cinco horas. A principal via de excreção é a fecal (60 a 65%) (SILVA, 1998; JUNIOR, 2007).

Pelizza e outros (1977) caracterizaram a existência de R nas formas amorfa, cristalina (duas) e de solvatos (quatro). Entretanto, Henwood e outros (2001) constataram que, além daquelas, R existe na forma de hidrato e que, após a dessolvatação, tanto a forma de solvato quanto a forma de hidrato se convertem na forma amorfa.

R ainda apresenta duas isoformas que foram caracterizadas por Agrawal e outros (2004). Eles demonstraram que essas isoformas cristalinas possuem diferenças conformacionais que podem ser explicadas pelas ligações de hidrogênio intramoleculares. Enquanto o polimorfo I apresenta cinco ligações de hidrogênio intramoleculares, três das quais, aparecem no polimorfo II, este apresenta apenas quatro ligações de hidrogênio intramoleculares.

1.2.3 Pirazinamida

Z é um pró-fármaco e derivado sintético da nicotinamida cuja atividade sobre as micobactérias latentes localizadas nos macrófagos é muito potente. Sua forma ativa é o ácido pirazinóico que é obtido pela ação da enzima pirazinamidase bacteriana. O ácido pirazinóico altera a síntese do ácido micólico bacteriano (Figura 4, página 38), resultando na destruição da sua parede celular (SILVA, 1998; PASCUIZZO, 2008).

A atividade antibacteriana de Z, *in vitro*, ocorre na presença de pH levemente ácido. No trato gastrintestinal o fármaco é bem absorvido e sua concentração plasmática máxima é atingida cerca de duas horas após a administração oral. O

fármaco se difunde por todos os líquidos corporais. A meia-vida é de nove a dez horas em pacientes com função renal normal. Sua excreção ocorre por filtração glomerular. Com os esquemas terapêuticos atuais para o tratamento da TB, os efeitos hepatóxicos de Z são pouco freqüentes. Raramente ocorrem exantema e reações de fotosensibilidade durante a terapia com Z (SILVA, 1998; JUNIOR, 2007; PASCUZZO, 2008).

1.2.4 Uso dos comprimidos dose fixa combinada (DFC)

Os comprimidos de DFC possuem diversas vantagens sobre os fármacos utilizados isoladamente (monoterapia). Dentre elas, destaca-se a diminuição dos erros de prescrição porque as doses recomendadas são padronizadas pela OMS; a quantidade de comprimidos ingeridos é menor, fato que favorece a adesão do paciente ao tratamento e, havendo falha (esquecimento) na ingestão do DFC, os pacientes não podem escolher qual fármaco irão ingerir evitando-se assim o risco da monoterapia e o conseqüente desenvolvimento da resistência aos quimioterápicos (o BK rapidamente se torna resistente aos fármacos quando eles são utilizados separadamente) (WHO, 2006). Além disso, Agrawal e outros (2002) comprovaram que os DFC são bioequivalentes aos comprimidos de H, R e Z em formulações isoladas.

Em agosto de 2009 o MS divulgou em Nota Técnica (NT) duas alterações no sistema de tratamento da TB que já foram implantadas no PNCT. A primeira alteração ocorreu em virtude da constatação do aumento da resistência primária à H (de 4,4 para 6%) e a resistência primária à H associada à R (de 1,1 para 1,4%) e consistiu na introdução do quarto fármaco na fase intensiva de tratamento (dois primeiros meses) do esquema básico. A segunda alteração, apontada na NT, foi a adoção da apresentação farmacêutica de comprimidos DFC com quatro ativos, DFC 4 em 1, para o tratamento da fase intensiva da TB. Os esquemas até então denominados IR (básico reforçado) e III foram descartados pelo MS (BRASIL, 2009c). A adoção da apresentação de DFC 4 em 1 pelo MS não impede o uso de outras combinações.

A prescrição médica dos medicamentos utilizados no tratamento da TB segue uma codificação que emana da OMS e que pode ser assim compreendida: cada fármaco anti-TB possui uma abreviatura (Z = pirazinamida, por exemplo) e um

regime de tratamento da TB compreende uma fase inicial e uma fase de manutenção. O número que antecede cada uma das fases corresponde à duração da mesma em meses e as letras entre parênteses indicam a DFC desses fármacos (WHO, 2006).

A existência de um número em *subscript* após a letra ou letras entre parênteses indica o número de ingestões do DFC por semana. Caso não exista número após a(s) letra(s) entre parênteses, tratamento é diário. Exemplos:

a) 2(HRZE)/4(HR)₄ – a fase inicial do tratamento é 2(HRZE); sua duração é de 2 meses com ingestões diárias de DFC de H, R, Z e E. A fase de manutenção é 4(HR)₄; sua duração é de 4 meses, com ingestões de DFC de H e R 4 vezes por semana; e

b) 2(HR)ZE/6(HE) – a fase inicial do tratamento é 2(HR)ZE; sua duração é de 2 meses com ingestões diárias de DFC de H e R mais Z e E administrados isoladamente. A fase de manutenção é 6(HE); sua duração é de 6 meses, com ingestões diárias de DFC de H e E.

1.2.5 Esquemas

1.2.5.1 Básico 2(RHZE)/4(RH) para adultos e adolescentes

O Quadro 1 exibe o esquema básico 2(RHZE)/4(RH) de tratamento da TB com comprimidos DFC (BRASIL, 2009) para:

a) Casos novos de todas as formas de TB pulmonar e extrapulmonar (exceto meningoencefalites) infectados ou não pelo vírus da imunodeficiência humana; e

b) Retratamento: recidiva, independentemente do tempo decorrido do primeiro episódio, ou retorno após abandono com doença ativa

O regime tem duração de seis meses, sendo o DFC 4 em 1 (RHZE) utilizado para o tratamento nos dois meses de fase intensiva e o DFC 2 em 1 (HR) empregado nos quatro meses subseqüentes (fase de manutenção). Em ambas fases, as ingestões são diárias.

Quadro 1: esquema básico para o tratamento de casos novos de todas as formas de TB pulmonar e extrapulmonar (exceto meningite) e retratamento – Ministério da Saúde – Brasil.

Regime	Fármacos	Faixa de peso	Unidades/dose	Meses
2(RHZE) (fase intensiva)	RHZE (150/75/400/275 mg) comprimido DFC	20 a 35 kg 36 a 50 kg >50 kg	2 comprimidos 3 comprimidos 4 comprimidos	2
4(HR) (fase de manutenção)	RH (300/200 ou 150/100 mg) Cápsula	20 a 35 kg 36 a 50 kg >50 kg	1 cápsula 300/200 mg 1 cáp. 300/200 mg + 1 cáp. 150/100 mg 2 cápsulas 300/200 mg	4

É importante ressaltar que o abandono do tratamento é o principal problema encontrado na cura da TB e, como relatado anteriormente, a diminuição da quantidade de comprimidos a ser ingerida com a utilização dos DFC, proporciona maior adesão do paciente ao mesmo. Os comprimidos devem ser administrados, preferencialmente, em jejum, em única tomada, ou, em caso de intolerância digestiva, junto com uma refeição leve (BRASIL, 2009).

1.2.5.2 2(RHZE)/7(RH) para tuberculose meningoencefálica em adultos e adolescentes

O Quadro 2 apresenta o esquema de tratamento com comprimidos DFC para tuberculose meningoencefálica em adultos e adolescentes (BRASIL, 2009).

O regime tem duração de nove meses, sendo o DFC 4 em 1 (RHZE) utilizado para o tratamento nos dois meses de fase intensiva e o DFC 2 em 1 (HR) empregado nos sete meses subseqüentes (fase de manutenção). Em ambas fases, as ingestões são diárias.

Na meningoencefalite se associa os seguintes corticosteróide ao esquema anti-TB: prednisona oral (1,0 a 2,0 mg/kg/dia) por quatro semanas ou dexametasona intra-venoso nos casos graves (0,3 a 0,4 mg/kg/dia), por 4 a 8 semanas, com redução gradual da dose nas quatro semanas subseqüentes.

Quadro 2: esquema para tratamento da tuberculose meningoencefálica em adultos e adolescentes. Ministério da Saúde – Brasil.

Regime	Fármacos	Faixa de peso	Unidades/dose	Meses
2(RHZE) (fase intensiva)	RHZE 150/75/400/275 mg comprimido em DFC	20 a 35 kg 36 a 50 kg >50 kg	2 comprimidos 3 comprimidos 4 comprimidos	2
7(HR) (fase de manutenção)	RH 300/200 ou 150/100 mg Cápsula	20 a 35 kg 36 a 50 kg >50 kg	1 cápsula 300/200 mg 1 cáp. 300/200 mg + 1 cáp. 150/100 mg 2 cápsulas 300/200 mg	7

1.2.5.3 Para tratamento de MDR-TB e XDR-TB

No tratamento da MDR-TB utiliza-se também a levofloxacina (Lv) e a terizidona (Tz) e regime proposto é: 2S₅ELZT/4S₃ELZT/12ELT, ou seja, esquema com duração de 18 meses, sendo utilizada a terapia individualizada (não é DFC) durante todo o tratamento da doença (BRASIL, 2009c).

Para tratar a XDR-TB são necessários esquemas individualizados com fármacos de reserva avaliados por profissionais experientes no manejo deste tipo de paciente (BRASIL, 2009).

1.2.5.4 Análise comparativa entre a utilização da terapia individualizada e a terapia de comprimidos DFC

Pode-se observar no Quadro 3 que na terapia individualizada da fase intensa da doença, o paciente ingere entre nove a dezesseis comprimidos de RHZE e, quando da adoção dos comprimidos DFC, a quantidade máxima ingerida não passa de três (WHO, 2001c).

Quadro 3: esquema comparativo entre as administrações de comprimidos DFC e doses individualizadas para pacientes na fase intensa de tratamento da TB e com massa corporal de 50,0 kg (WHO, 2001c).

Comprimidos com doses individualizadas	Quantidade de comprimidos administrados	Comprimidos DFC	Quantidade de comprimidos administrados
R 150 mg	3	RHZE (150 + 75 + 400 + 275 mg)	3
H 300 mg (100 mg)	1(3)		
Z 400 mg	3		
E 400 mg (100 mg)	2(7)		
Total	9 (16)	Total	3

Nota: números entre parênteses referem-se às doses alternativas com suas respectivas quantidades de comprimidos administradas.

1.3 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

O estudo de pré-formulação para o desenvolvimento de sistemas DFC tem foco na pesquisa de incompatibilidades fármaco-fármaco e fármaco-excipiente, na caracterização dos ativos e no estudo de estabilidade acelerada das possíveis formulações de DFC propostos e das misturas ativos-excipientes. As técnicas analíticas empregadas neste estudo são, em geral, a calorimetria exploratória diferencial (DSC), a difração de raios X (DRX), a espectrofotometria de infravermelho

(IV), a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e a espectrofotometria no ultravioleta (UV).

Conhecendo as vantagens da utilização dos comprimidos DFC (WHO, 2006) e que a liberação dos fármacos deve ser controlada e ocorrer em locais diferentes (MARIAPPAN; SIGHN, 2003) para se evitar a interação entre R e H (SHISHOO et al, 2001; GOHEL; SARVAIYA, 2007), pode se considerar como um dos alvos mais relevantes desenvolver uma formulação que promova a liberação da H no intestino e a liberação de R e Z no estômago.

1.3.1 Incompatibilidades entre fármaco-excipiente e fármaco-fármaco para desenvolvimento de formulações DFC

Com o intuito de evitar que reações degradativas indesejáveis ocorram e que elas possam gerar perigos ao uso de um medicamento, todo estudo de pré-formulação deve ser precedido de uma análise criteriosa das características físico-químicas dos fármacos e dos excipientes envolvidos na formulação. Após consulta a literatura, as seguintes incompatibilidades/ressalvas foram encontradas:

a) A utilização de excipientes aniônicos tais como o docusato de sódio (DS) e o lauril sulfato de sódio (LSS), deve ser evitada no desenvolvimento de formulações que contenham R porque ocorrem interações entre o fármaco-excipiente formando um complexo insolúvel em pH ácido. Entretanto, este mesmo complexo dissocia-se rapidamente em pH entérico (AGRAWAL; PANCHAGNULA, 2004).

b) Hipóteses como polimorfismo de R, ausência das boas práticas de fabricação, adsorção do fármaco nos excipientes (agentes aglutinantes, bentonita, talco e caolim), fatores da formulação (PANCHAGNULA; AGRAWAL, 2004) e decomposição do fármaco no estômago (SINGH et al, 2001) foram citadas na tentativa de explicar a diminuição da biodisponibilidade de R quando associada a outros fármacos em formulações DFC 2 em 1, 3 em 1 e 4 em 1. Entretanto, em uma revisão crítica sobre tais possibilidades, Singh e outros (2001) evidenciaram que, *in situ*, R se decompõe na presença de H e que Z é muito estável, e, praticamente, não influencia na degradação de R. Outra evidencia importante no trabalho desses pesquisadores foi a de que a H interage com açúcares formando o isonicotinoil hidrazona, que é pouco absorvido no trato gastrointestinal. Logo, formulações DFC

devem ser livres de açúcares e possuírem liberações controladas (em locais diferentes) de H e de R.

c) Shishoo e outros (2001) comprovaram que a biodisponibilidade de R é consideravelmente reduzida quando administrada em presença de H (como nos comprimidos DFC). Ensaios *in vitro* mostraram que R sofre hidrólise e forma a 3-formil-rifamicina, metabólito insolúvel e pouco absorvido no ambiente ácido do estômago e que, na presença de H, forma, reversivelmente, a 3-formil-rifamicina hidrazona. A redução da biodisponibilidade de R pode estar relacionada ao desenvolvimento da resistência microbiana à este fármaco (baixas concentrações são absorvidas, impedindo o efeito desejado). Os autores ainda sugerem para que as formulações DFC fossem desenvolvidas com liberação estomacal da H e liberação entérica de R.

d) Entretanto, Mariappan e Singh (2003), comprovaram, *in vivo*, que R é bem absorvida no estômago devido a sua solubilidade máxima em pH 1 a 2 e que a H é bem absorvida nos três segmentos do intestino delgado. Os pesquisadores também constataram que na associação destes dois fármacos, ocorre diminuição da absorção de R no estômago e no jejuno e concluíram que, por apresentarem permeabilidades regionais específicas, os DFC devem ser desenvolvidos com liberação controlada dos fármacos, sendo R de liberação gástrica e H de liberação entérica.

e) Em ensaios da comparação de bioequivalência de H, R e Z em comprimidos DFC com amostras de comprimidos monoterápicos nas mesmas dosagens, Agrawal e outros (2004b) concluíram que, *in vitro*, as interações entre R e H são insignificantes clinicamente e que os DFC reduzem os riscos da resistência bacteriana aos fármacos quando estes são utilizados isoladamente.

f) Bhutani, Mariappan e Singh (2004) identificaram em seus ensaios de estabilidade que tanto comprimidos de DFC embalados (blisteres) quanto comprimidos DFC fora de embalagem apresentaram sinais de degradação e sugerem para que os comprimidos DFC sejam embalados com barreiras eficientes, principalmente com relação ao efeito da luz.

g) Os comprimidos DFC devem ser desenvolvidos com liberação estomacal de E, R e Z e liberação entérica de H porque E e Z podem catalisar a reação entre H e R, (BHUTANI et al, 2005; SINGH; BHUTANI; MARIAPPAN, 2006).

h) H, Z e o E não apresentam problemas de biodisponibilidade porque pertencem à classe I (alta solubilidade e alta permeabilidade) do SCB. R é o único fármaco hidrofóbico utilizado nos comprimidos DFC e que pertence à classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) do SCB. A aprovação no ensaio de dissolução de R é prerrogativa para o sucesso na biodisponibilidade de uma formulação DFC e as formulações desenvolvidas devem apresentar alta dissolução em meio ácido (pH 2,0) e em pH 6,8 tamponado para assegurar que R apresentará aceitável biodisponibilidade (PANCHAGNULA; AGRAWAL, 2004; AGRAWAL; PANCHAGNULA, 2004).

i) Somente DFC com biodisponibilidade de R comprovada pode ser comercializado. A aprovação no ensaio de dissolução não garante que R terá biodisponibilidade assegurada (WHO, 2001c).

j) Wollinger (2008) constatou em seus estudos que nas associações de R com a H que continham o LSS como agente tensoativo ou a polivinilpirrolidona (PVP) como agente agregante, a formação expressiva da isonicotinoil hidrazona (HYD), produto da reação entre a 3-formilrifamicina e a H era observado. Após seis meses de ensaio em câmara climática, foram detectados 16% de HYD na amostra que continha LSS e 3,2% na que continha o PVP. A formação do HYD na amostra controle (R mais H sem excipientes) foi de 1,5%.

k) Analisando o comportamento termoanalítico de alguns excipientes farmacêuticos e da H frente aos polimorfos I e II de R, Alves (2007) observou que o amido de milho, a celulose microcristalina (CM), a CS, a HPMC, a PVP, o Eudragit® L100, a lactose e o manitol não interagem com nenhum dos dois polimorfos de R. Entretanto, o pesquisador constatou que o polimorfo II de R interage com o polietilenoglicol (PEG) 6000 e Lutrol F68. A interação da H com os polimorfos de R foi comentada no item 1.3.1 deste trabalho.

l) Através dos resultados da técnica de DSC, El Bary e outros (2004), evidenciaram que R pode interagir quimicamente com manitol, amido solúvel, metilparabeno, ácido cítrico monoidratado, sulfato de magnésio, α -lactose monoidratada e fosfato de potássio monobásico. Entretanto, não foram observados sinais de interação com CS, celulose microcristalina (CM), benzoato de sódio, propilparabeno, lactose anidra, sacarina sódica, amido de milho e sacarose.

m) Analisando a solubilidade e a dissolução de produtos genéricos de R, Henwood e outros (2000) observaram que a principal diferença entre as amostras

era a quantidade de R amorfa presente nas mesmas e que com o aumento da sua concentração, ocorria uma significativa redução no índice de dissolução em água e tampão pH 7,4.

1.3.2 Excipientes utilizados em liberação prolongada

Um sistema matricial, tecnologicamente, pode ser definido como aquele que controla a liberação da substância ativa, molecularmente dispersa ou dissolvida num suporte resistente à desintegração, geralmente um polímero ou um agente formador de matriz (LOPES; LOBO; COSTA, 2005).

Os materiais que promovem o retardo na liberação dos ativos podem ser classificados em classes distintas e cada uma delas demonstra uma diferente proposta para o conceito de matriz. O polietileno, o cloreto de polivinila, o copolímero metacrilato/metil acrilato e a etilcelulose formam a classe matrizes insolúveis (LORDI, 2001).

O polietilenoglicol, o monoestearato de polietilenoglicol e os triglicerídeos representam a classe de materiais insolúveis em água, mas que são potencialmente erosíveis (LORDI, 2001).

A hidroxietilcelulose, o HPMC, o quitosano, o ácido poliacrílico, o álcool polivinílico, a carboximetilcelulose sódica, a goma xantana e o amido modificado formam a classe das matrizes hidrofílicas (LORDI, 2001).

As formas farmacêuticas de liberação prolongada oferecem algumas vantagens sobre as de liberação imediata do mesmo fármaco (ABDUL; PODDAR, 2004). Dentre elas destacam-se: o conforto do paciente, em virtude da redução no número e na frequência de doses necessárias para manter a resposta terapêutica desejada; manutenção da concentração plasmática mínima eficaz no tratamento de doenças crônicas; manutenção da ação terapêutica durante os períodos noturnos; redução na incidência e na gravidade de efeitos adversos sistêmicos, quando relacionados às altas concentrações plasmáticas do fármaco e redução na quantidade total de fármaco administrado durante o período de tratamento (AULTON, 2005). Entretanto, Streubel e outros (2000) relatam que *in vivo* o desempenho das formulações de liberação controlada depende da variação de pH no trato gastrointestinal de cada indivíduo.

Em ensaios de desenvolvimento de comprimidos com matrizes hidrofílicas em ambiente de pH controlado, Siepe e colaboradores (2006) observaram que a incorporação de ácidos fracos (fumárico e succínico, por exemplo) faz com que esses funcionem como promotores de liberação dos fármacos de bases fracas.

Dentre as diferentes matrizes utilizadas para prolongar a liberação de um fármaco, destacam-se como matrizes insolúveis (o acetofalato de celulose, Eudragit® L100, Eudragit® S100 e a goma laca), matrizes hidrofílicas como a HPMC e lipídicas como o Viscogel® B8).

Os sistemas desenvolvidos para liberar o ativo de acordo com o pH no trato gastrointestinal procuram fazê-lo de forma que o fármaco seja liberado no cólon e utilizam polímeros insolúveis em pH ácidos e solúveis em pH ligeiramente alcalino ou neutro (YANG; CHU; FIX, 2002). Dentre os polímeros mais utilizados na liberação seletiva da substância, destacam-se o Eudragit® L100-55 (pH 5,5), o Eudragit® S (pH 7,0), o AFC e o ftalato de hidroxipropilmetilcelulose (COLLET; MORETTON, 2005).

1.3.2.1 O Acetofalato de Celulose (AFC)

O AFC possui cerca de metade dos grupos hidroxilas acetilado e cerca de um quarto desse mesmo grupamento funcional esterificado onde um dos ácidos é o ftálico. Ele é utilizado como material de revestimento para liberação entérica ou para núcleo de matrizes de comprimidos ou cápsulas. É altamente resistente ao pH do suco gástrico, mas se dissolve prontamente em pH ligeiramente básico ou no ambiente de neutralidade intestinal. Incompatibilidades conhecidas: sulfato ferroso, cloreto de ferro, nitrato de prata, citrato de sódio, sulfato de alumínio, cloreto de sódio, cloreto de mercúrio, nitrato de bário, acetato básico de chumbo e agentes oxidantes, ácidos e bases fortes (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

O AFC foi o primeiro polímero produzido com características de solubilidade que permitiu o seu uso em soluções de revestimento entérico de cápsulas (PODCZECK; JONES, 2004).

Marvolla e outros (1999) observaram, *in vitro*, o efeito modulador do AFC na liberação de fármacos mediante variação de pH. *Pellets* de ibuprofeno revestidos com AFC apresentaram mínima liberação do ativo em pH 5,0 durante as oito horas de teste. Já em pH (6,8), os *pellets* apresentaram liberação de 80% do ativo em três horas e, em pH (7,4), 80% do fármaco foi liberado entre 50 a 60 minutos. Estes

resultados serviram de orientação na escolha do AFC como excipiente para ser testado no uso inédito da liberação entérica da H em comprimidos DFC 3 em 1.

1.3.2.2 A Goma Laca (GL)

A GL é um produto natural à base de uma complexa mistura de substâncias e pode ser obtido por várias extrações e de várias formas. Sua composição química ainda não está totalmente conhecida, mas 95% dela correspondem a uma resina que em meio básico sofre hidrólise resultando em uma mistura de ácidos alifáticos e alicíclicos e poliésteres. Sua aplicação farmacotécnica é direcionada para revestimento entérico de comprimidos. A GL reage quimicamente com soluções alcalinas, bases orgânicas, alcoóis e agentes com grupos hidroxilas esterificados (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

Limmatvampirat e outros (2007) promoveram ganhos nas propriedades entéricas da GL através da formação de sais de GL com 2-amino-2-metil-1-propanol (AMP) e hidróxido de amônio (AMN). As melhores proporções de uso foram 40:60 e 80:20 (AMP:AMN), entretanto, cuidados especiais com a estabilidade, higroscopicidade e solubilidade devem ser observados.

Em estudo utilizando a GL como matriz de liberação controlada Limmatvampirat e seus colaboradores (2008) avaliaram a cinética de liberação do metronidazol em comprimidos preparados com a GL e comprovaram sua eficiência nos sistemas de liberação controlada de fármacos.

1.3.2.3 Os Eudragites®

O Eudragit® é o nome genérico para polímeros de metacrilato muito utilizados como agentes de revestimento na produção de cápsulas e comprimidos. Os tipos de Eudragit® L e S são resistentes ao pH ácido e, por isso, são utilizados quando deseja-se uma formulação com liberação entérica do ativo. O Eudragit® L100 – poli(ácido metacrílico, metacrilato de metila) 1:1 – é solúvel em pH > 6,0, enquanto o Eudragit® S 100 – poli(ácido metacrílico, metacrilato de metila) 1:2 – solubilizará-se em pH > 7,0. Farmacotecnicamente, os polimetacrilatos são ainda utilizados como aglutinantes nos processos de granulação úmida (aquosa ou orgânica), como matriz de comprimidos em concentrações de 5 a 20% e na compressão direta em concentrações que variam de 10 a 50% (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006). Nas

formulações desenvolvidas, foi utilizado tanto o Eudragit® L100 quanto o Eudragit® S100 na compressão direta.

Em estudo para desenvolver sistemas carreadores microparticulados para o tratamento de doenças inflamatórias do intestino, o Eudragit® S100 foi utilizado na preparação de partículas de alginato de sódio com quitosana contendo budenosida. Os resultados obtidos foram os de liberação sustentada do fármaco no trato gastrointestinal superior (pH 2,0 a 6,8) muito maior do que para os comprimidos sem revestimento (CRCAREVSKA; DODOV; GORACINOVA, 2008).

Os Eudragit® L e S são os mais utilizados para liberação em nível de cólon porque se dissolvem em pH superiores a 7,0 e 6,0, respectivamente (FREIRE et al, 2006).

Sarigüllü, Ertan e Güneri (2004) desenvolveram um estudo para produção de comprimidos utilizando apenas o Eudragit® L100 e o Eudragit® RL100 para obter comprimidos de liberação controlada de naproxeno de sódio com cinética de ordem zero. Os resultados obtidos foram satisfatórios para administrações com intervalos de 12 e 24 horas.

Um sistema de liberação colônico foi desenvolvido por Piao, Lee e Lee (2008) com a utilização de polímero pH-dependente Eudragit® S100 e pH-independente Eudragit® RS100. Os comprimidos revestidos continham naproxeno complexado com ciclodextrina. Os resultados mostraram que o Eudragit® S100 liberou o fármaco entre 4 e 6 horas após início dos ensaios.

1.3.2.4 A Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)

Desde a década de 60 a HPMC é um dos derivados da celulose mais utilizados como retardantes da liberação de fármacos em formulações orais. Trata-se de um polímero de natureza não-tóxica que possui a capacidade de incorporar elevadas quantidades de substâncias ativas. O HPMC apresenta, ainda, boas características de compressão, fato que permite o seu uso em processos de compressão direta (LOPES; LOBO; COSTA, 2005). A hidratação da HPMC não é afetada pela variação do pH ao longo do trato gastrointestinal, parecendo exercer certo poder tamponante (FEELY; DAVIS, 1988).

A HPMC é descrita como uma a celulose parcialmente O-metilada e O-(2-hidroxipropilada) e que se encontra disponível com variados graus de viscosidade e

substituições. Suas principais aplicações farmacêuticas ou tecnológicas são como agente aglutinante, agente para revestimento e como matriz para liberação controlada de comprimidos e cápsulas, sendo que para estes, a HPMC de alta viscosidade é utilizada em concentrações que variam entre 10 a 80% p/p (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006) e justifica a escolha da HPMC 100.000 cps no desenvolvimento de formulações de liberação prolongada.

Hiremath e Saha (2008) desenvolveram comprimidos de R + H utilizando HPMC como matriz para liberação controlada, onde R seguiu perfil de liberação linear enquanto H foi liberada, predominantemente por difusão. A proporção de HPMC utilizada foi de 20, 40 e 80% peso/peso em relação a H. Entretanto, a melhor formulação obtida pelos pesquisadores foi a que utilizava 80% de hidroxipropilcelulose (HPC) e 60% de Eudragit® L100-55, com cerca 100,0 mg de liberação de R e 34% do peso de H nas duas primeiras horas. A liberação dos ativos estendeu-se de 18 a 24 horas após o início da análise, fato que possibilita a administração do comprimido apenas uma vez por dia.

Ortiz e outros (2009) estudaram o comportamento da liberação de H na mistura física com HPMC (20 e 40%) via compressão direta. Os resultados mostraram que menor quantidade de HPMC na formulação, produz menos variabilidade nos ensaios de dissolução.

1.3.2.5 O Viscogel® B8

O Viscogel® B8 é uma bentonita (silicato lamelar) modificada organicamente pela intercalação de um sal de octadecilamina e sua propriedade de intumescimento e lipofilicidade permitem modular a liberação de fármacos por erosão e/ou difusão (COUTINHO et al, 2004).

Em virtude de sua alta capacidade adsortiva, a bentonita tem sido utilizada para o preparo de sistemas de liberação prolongada de fármacos (MCGINITY; LACH, 1977).

A intercalação da montmorilonita (constituente mais significativo da bentonita) com maleato de timolol ocasionou um perfil de liberação controlada, tanto em suco gástrico, quanto em suco entérico, quando este sistema foi submetido a ensaios de liberação *in vitro* (JOSHI et al, 2009).

Coutinho et al (2004) comprovaram que o Viscogel[®] é um excipiente que pode ser utilizado na compressão direta para liberação controlada de fármacos com vantagens sobre o uso da HPMC por possuir melhor habilidade para retardo, sofrer menor influência do pH na liberação e ter melhores características de compactação.

1.3.3 Estudo de estabilidade de formas farmacêuticas

Para o estudo de estabilidade de medicamentos é necessária a seleção de um método indicador de estabilidade, que pode ser definido como procedimento que permite a determinação seletiva do fármaco na presença de seus produtos de decomposição. Um medicamento pode ser considerado uma dispersão de um fármaco com outras substâncias, o que torna mais complexa a seleção de um método analítico indicativo de sua estabilidade. A confiabilidade dos resultados analíticos é garantida através da validação dos métodos empregados, pois indica que estes métodos atendem as exigências das aplicações analíticas. Três fontes estabelecem os critérios requeridos para validação: *Food and Drug Administration* (FDA), *United States Pharmacopeia* (USP) e a *International Conference on Harmonisation* (ICH) (SHABIR, 2003; BRASIL, 2005).

Os fatores ambientais, tais como temperatura, umidade, luz e calor, os fatores relacionados ao próprio produto (propriedades físico-químicas das substâncias ativas e dos excipientes), a forma farmacêutica e sua composição, o processo de fabricação e o tipo e as propriedades dos materiais de embalagem têm ação direta sobre a estabilidade dos produtos farmacêuticos (BRASIL, 2005).

As técnicas de análise termoanalítica (DSC, por exemplo) são muito úteis nos estudos de pré-formulação para investigar e prever incompatibilidades físico-químicas entre fármacos e excipientes que afetam a estabilidade, a dissolução e a biodisponibilidade dos ativos nos medicamentos (ALVES, 2007).

Alteração na estabilidade de um fármaco ou medicamento pode ser detectada através do emprego das técnicas de DSC, DRX e IV. Bazzo e Silva (2005) estudaram o comportamento termoanalítico, através do uso da técnica de DSC, em comprimidos de captopril revestidos e sugeriram a incompatibilidade entre o ativo com estearato de magnésio devido a mudança no ponto de fusão do captopril e a compatibilidade com celulose microcristalina, lactose, talco e croscarmelose sódica

porque não houve mudança nas curvas térmicas das misturas quando comparadas as curvas das amostras puras.

Através do uso das técnicas da DRX e DSC Chieng e outros (2009) comprovaram que em um sistema binário indometacina-ranitidina, a estabilidade física da mistura é preservada com o aumento da proporção de ranitidina na mistura. Já Karavas e outros (2007) mostraram através do emprego da técnica da DRX que a felodipina tem seu estado físico controlado de acordo com o tipo do polímero utilizado na preparação de dispersões sólidas, ou seja, eles observaram que o fármaco permanece solúvel em solução aquosa de PVP (Figura 5A) e cristaliza quando o mesmo é submetido à solução aquosa de polietilenoglicol (PEG) (Figura 5B).

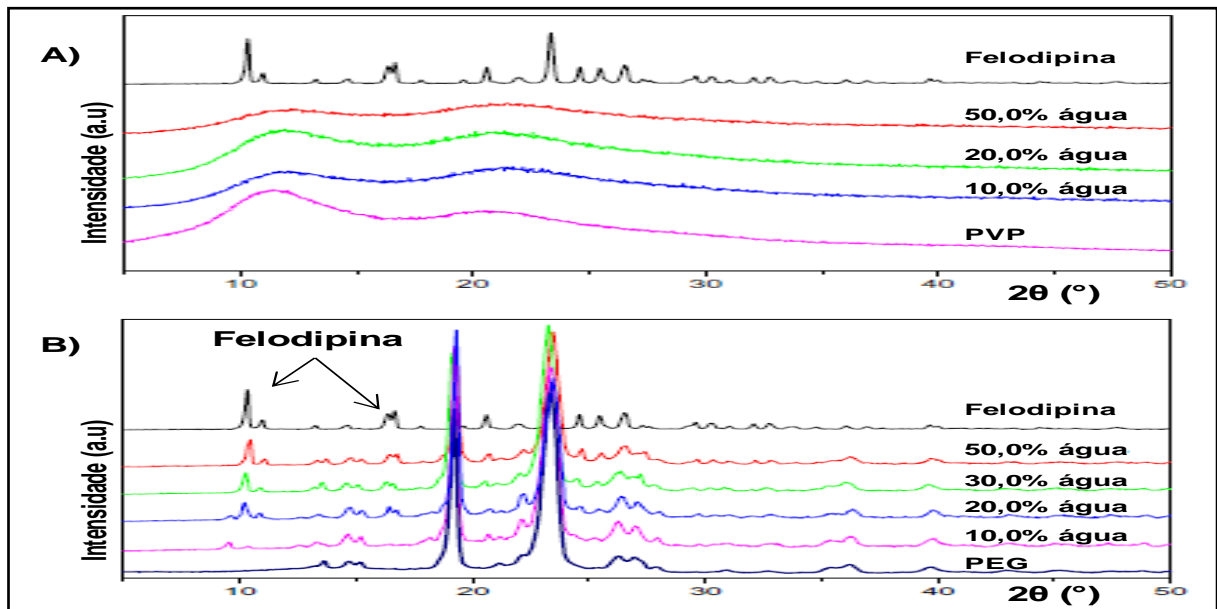


Figura 5 – padrões de difração de raios-X das dispersões sólidas de (A) felodipina e felodipina-PVP e (B) felodipina e felodipina-PEG (KARAVAS et al, 2007, adaptado).

O estudo da DRX da estabilidade binária naproxeno-cimetidina comprovou que a mistura 1:1 é fisicamente mais estável que as misturas 1:2 e 2:1 (naproxeno-cimetidina) após trinta e três dias a 4, 25 e 40 °C porque não houve cristalização do naproxeno (Figura 6) (ALLESO et al, 2009).

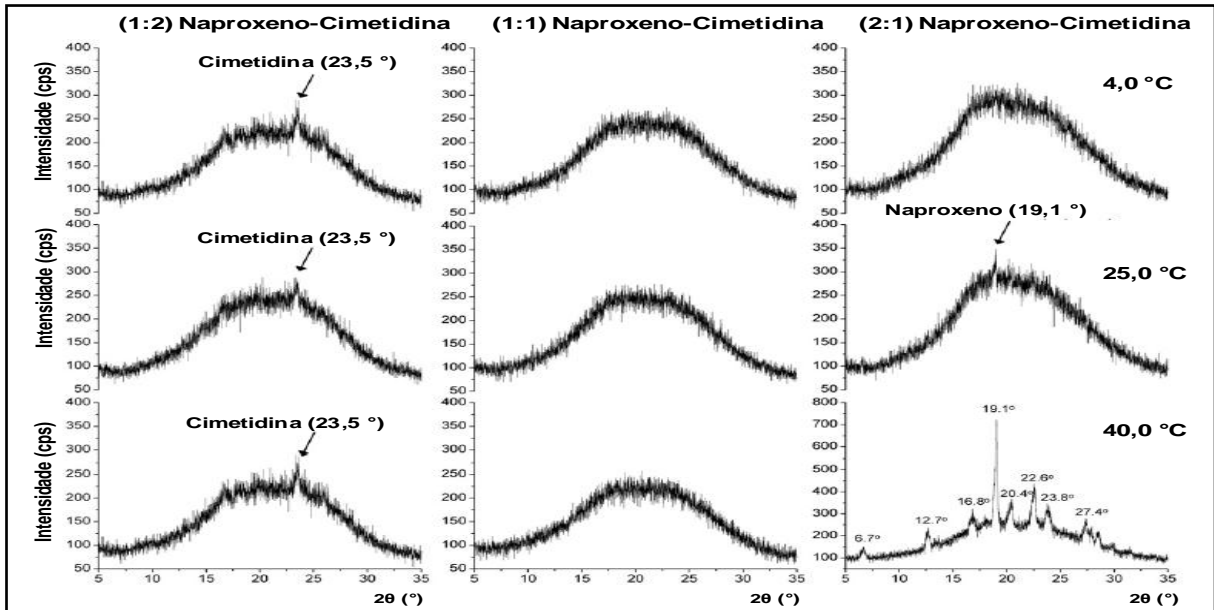


Figura 6 – padrões de difração de raios-X da co-moagem de naproxeno-cimetidina armazenados sobre condições secas (sílica gel). Os picos que surgem a 40,0 °C são da cristalização do naproxeno (ALLESO et al, 2007, adaptado).

Atualmente, as formulações DFC existentes no mercado para o tratamento de casos novos da TB são combinações de 2 (R + H), 3 (R + H + Z) ou 4 (R + H + Z + E) ativos de liberação gástrica e, até a presente data, não existe comercialização de DFC que segregue a liberação de R com H para evitar a interação, já comprovada, entre os fármacos e com possível melhora da biodisponibilidade de R e da estabilidade do DFC (SINGH et al, 2001; SHISHOO et al, 2001; MARIAPPAN; SINGH, 2003; BHUTANI et al, 2005; SINGH; BHUTANI; MARIAPPAN, 2006).

1.4 INFORMAÇÕES TÉCNICAS SOBRE OS FÁRMACOS UTILIZADOS NAS FORMULAÇÕES DE COMPRIMIDOS DFC

1.4.1 Isoniazida (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP, 2008; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009)

Denominação Comum Internacional (DCI): isoniazid.

Denominação química: ácido hidrazida 4-piridinocarboxílico.

Outros nomes químicos: ácido hidrazida isonicotínico, Isonicotinoil hidrazina e Isonicotinil hidrazina.

Nomes farmacopeicos: isoniazid - Farmacopéias Britânica e Americana.

Chemical Abstract Service (CAS): [54-85-3].

Fórmula química: $C_6H_7N_3O$.

Peso molecular: 137,14.

Solubilidade: em água: 14% a 25°C e 26% a 40 °C. Em álcool 96° GL: 1:18.

Ponto de fusão: 170 a 173 °C

Composição elementar:

C = 52,55% H = 5,14% N = 30,64% O = 11,67%

Fórmula estrutural (Figura 7):

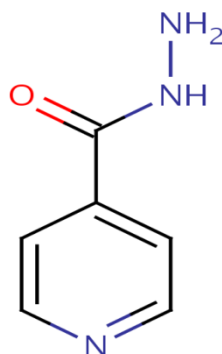


Figura 7 – fórmula estrutural da isoniazida. Disponível em: http://129.128.185.122/drugbank2/drugs/DB00951/structure_image. Acesso em 28 nov.2009.

1.4.2 Rifampicina (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP 31, 2008b; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009b)

DCI: Rifamycin.

Nomes farmacopeicos: rifampicin - Farmacopéia Britânica; rifampin - Farmacopéia Americana.

CAS: [13292-46-1].

Fórmula química: C₄₃H₅₈N₄O₁₂

Peso molecular: 822,94.

Solubilidade: em dimetilsulfóxido: infinitamente solúvel. Em metanol e tetraidrofurano: solúvel. Em acetona, água, álcool 96 °GL e éter: pouco solúvel.

Ponto de fusão: 183 a 188 °C

Composição elementar:

C = 62,76% H = 7,10% N = 6,81% O = 23,33%

Fórmula estrutural (Figura 8):

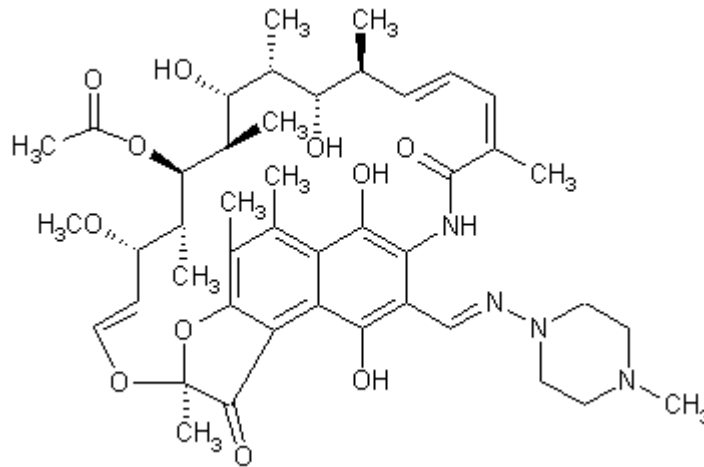


Figura 8 – fórmula estrutural da rifampicina. Disponível em: http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/SeminarioAntibioticos2_archivos/image021.gif. Acesso em 28 nov.2009.

1.4.3 Pirazinamida (THE MERCK INDEX, 2006; MARTINDALE, 1993; USP, 2008c; BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009c)

DCI: pirazinamida.

Denominação química: ácido amido pirazinóico.

Outros nomes químicos: pirazinocarboxiamida, pirazinocarboxil-amida.

Nomes farmacopeicos: pirazinamida - Farmacopéia Britânica; pirazinamida - Farmacopéia Americana.

CAS: [98-96-4]

Fórmula química: $C_5H_5N_3O$

Peso molecular: 123,11.

Solubilidade: em água: 1:67 (15,0 mg/mL). Em álcool absoluto: 1:175 (5,7 mg/ml).

Ponto de fusão: 188 a 191 °C

Composição elementar:

C = 48,78%

H = 4,09%

N = 34,13%

O = 13,00%

Fórmula estrutural (Figura 9):

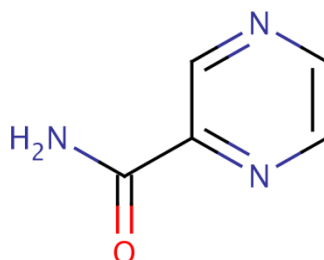


Figura 9 – fórmula estrutural da pirazinamida. Disponível em: http://129.128.185.122/drugbank2/drugs/DB00339/structure_image. Acesso em 28 nov.2009.

1.5 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

1.5.1 Difração de raios-X (DRX)

Os difratogramas de raios-X das amostras foram obtidos através do método do pó no difratômetro de raios-X Rigaku Miniflex, operado a 40,0kV e 30,0mA. O ângulo de difração 2θ foi de 2,0 a 60,0° à temperatura ambiente e a radiação Cu-K α ($\lambda = 1,542$ Angstrom) com um passo de 0,05 (2θ) e 1 segundo/passos. As análises foram realizadas no Instituto de Macromoléculas (IMA) da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

A técnica da DRX emprega o espalhamento coerente da radiação X por estruturas organizadas (cristais), possibilitando um estudo morfológico das substâncias, ou seja, sua estrutura cristalina e/ou sua fração (percentual) cristalina. A determinação de uma célula unitária (menor componente de um cristal) só pode ser obtida pela DRX (JUNIOR, 2004).

Quando um feixe de raios-X atinge uma superfície cristalina a um mesmo ângulo θ , uma parte destes raios é dispersa pela camada de átomos na superfície e a porção do feixe que não sofreu dispersão penetra na segunda camada de átomos onde, novamente, é dispersa e uma parte remanescente passa para uma terceira camada (Figura 10). O efeito cumulativo desse espalhamento nos centros regularmente espaçados do cristal resulta na difração do feixe em sua grande parte, do mesmo modo que a radiação é difratada pela reflexão reticular (SKOOG; HOLLER; NIELMAN, 1998).

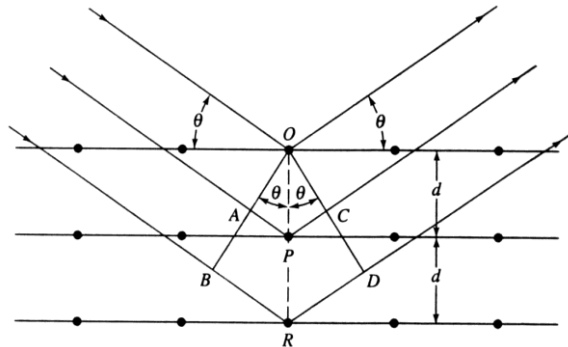


Figura 10 – difração de raios-X por um cristal (SKOOG, HOLLER; NIELMAN, 1998).

Segundo Alves (2007), cada composto cristalino possui único padrão da DRX e o emprego da técnica neste trabalho, objetivou a verificação de isoformas nas matérias-primas analisadas, principalmente em R, e a detecção de prováveis incompatibilidades entre fármaco-excipiente e fármaco-fármaco.

No estudo realizado por Chawla e outros (2003) foi caracterizado quatro formas de celecoxib pela técnica DRX, fato que comprova a eficiência da técnica na caracterização dos fármacos para pesquisa de polimorfos (Figura 11).

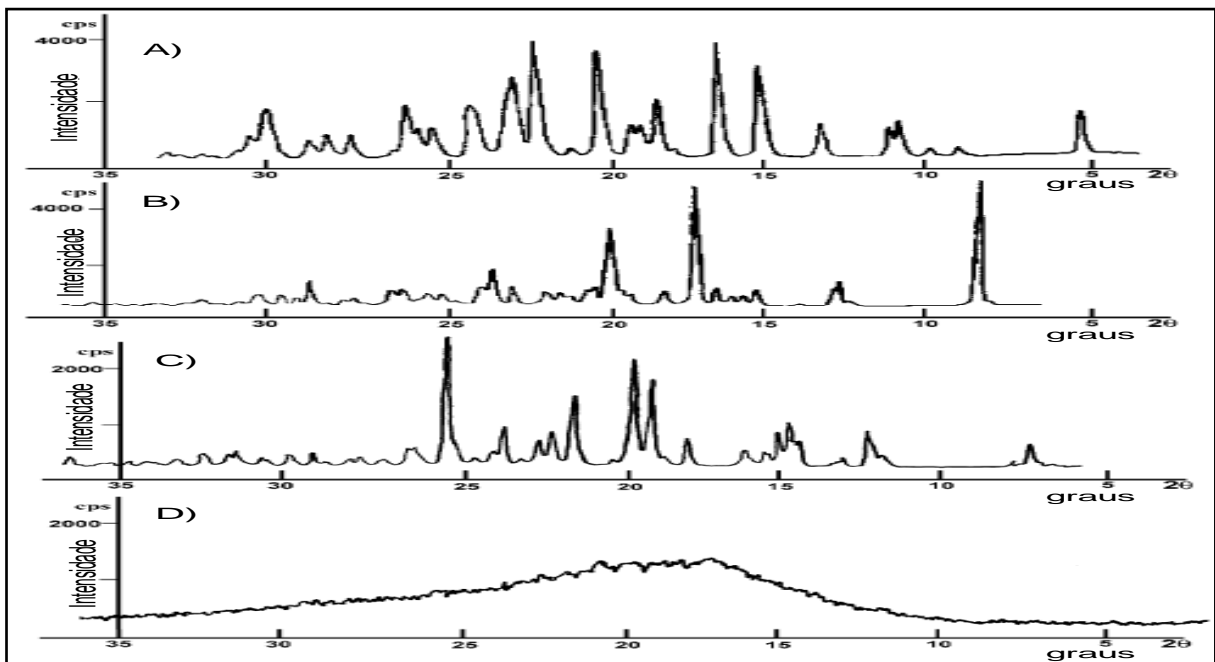


Figura 11 – padrões de difração de raios-X das formas sólidas do celecoxib, onde A) celocoxib; B) celecoxib-DMA; C) celecoxib-DMS e D) celecoxib amorfo (CHAWLA et al, 2003, adaptado).

Através do uso da técnica da DRX, Agrawal e outros (2004) caracterizaram as formas da R (polimorfo I, polimorfo II e a forma amorfa) e concluíram que os *bulks*

comerciais de R utilizados para na produção de medicamentos para o tratamento da TB são formados por variações de mistura da forma I, forma II e amorfa.

1.5.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

Os espectros de absorção das amostras foram obtidos no espectrofotômetro FT-IR (SHIMADZU IR PRESTIGE-21), na região de 4000 a 400 cm^{-1} utilizando pastilha de KBr (previamente dessecado) a 1%. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Controle da Qualidade da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LabCQ/UFRJ).

A espectroscopia no infravermelho é um ensaio de identificação por excelência, onde pequenas quantidades de impurezas não afetam significativamente o espectro, mas alguns fatores como polimorfismo, variação no tamanho e orientação dos cristais, técnica de trituração e formação de hidratos, podem originar diferenças (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

As posições das bandas nos espectros de IV são apresentadas em número de ondas (ν) cuja unidade é o centímetro inverso (cm^{-1}) e as intensidades das bandas estão expressas como transmitância (T). A chamada radiação infravermelha corresponde à parte do espectro situada entre as regiões do visível e das microondas e a região de maior interesse na identificação de estruturas está situado entre 4.000 e 400 cm^{-1} (SILVERSTEIN; WEBSTER; KIEMLE, 2006).

O uso da técnica de IV para o desenvolvimento do DFC tem por objetivo caracterizar as amostras de R utilizadas nos ensaios e detectar prováveis incompatibilidades entre fármaco-excipiente e fármaco-fármaco.

A técnica de IV foi utilizada por Kenawi, Barsoum e Youssef (2005) na detecção da interação entre diclofenaco, cetirizina e ranitidina. No trabalho os autores constataram que, em solução aquosa, a interação ocorre somente entre o diclofenaco e a cetirizina devido ao surgimento de bandas não comuns aos dois fármacos, através da comparação dos espectros das amostras puras com suas respectivas misturas.

Na análise das isoformas e da forma amorfa de R, o IV com transformada de Fourier foi utilizado por Agrawal e outros (2004) e os resultados obtidos foram bastante contundentes na classificação das substâncias. Na Figura 12 pode-se

observar que a isoforma II possui um duplo pico característico da furanona em 1712 e 1734 cm^{-1} .

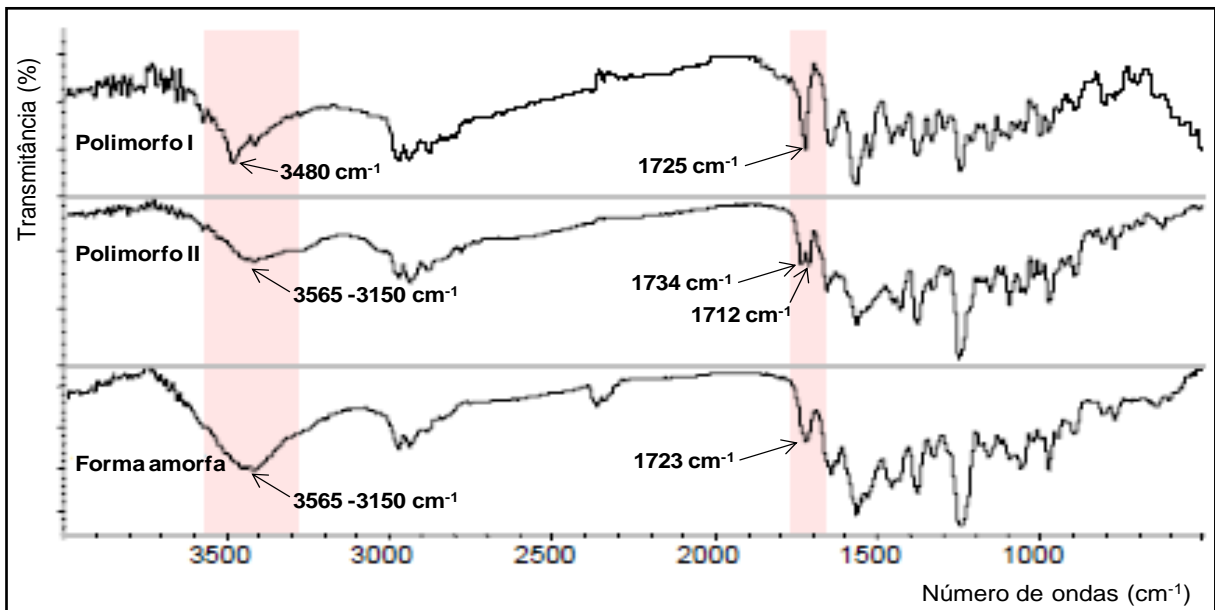


Figura 12 – espectros de IV com transformada de Fourier das formas de rifampicina. O duplo pico em 1712 e 1734 cm^{-1} da furanona é característico da isoforma II (AGRAWAL et al, 2004, adaptado).

1.5.3 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas de DSC das amostras foram obtidas no aparelho SHIMADZU, modelo DSC 60, sob atmosfera dinâmica de nitrogênio (50 mL/min) e taxa de aquecimento de 15 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$, na faixa de temperatura 35 a 500 $^{\circ}\text{C}$, em cadinhos de alumínio parcialmente fechados. Massa das amostras: 3 mg. O aparelho foi calibrado utilizando os padrões índio e zinco metálicos. Os ensaios foram realizados no LFM.

A análise térmica e os métodos calorimétricos fornecem excelentes informações sobre o estudo do polimorfismo e pseudo polimorfismo dos fármacos. A DSC associada à técnica de termogravimetria (TGA) é de muita utilidade nos estudos de pré-formulação para a escolha da forma do fármaco a ser utilizado, na investigação e predição de incompatibilidades físico-químicas entre fármaco-fármaco e fármaco-excipiente. Ensaios recentes, utilizando-se a DSC, o TGA e a termogravimetria derivada (DTG) de R com a H mostraram que existe interação química da H com os polimorfos I e II de R (ALVES, 2007).

A DSC pode ser dividida em DSC de fluxo de calor e DSC de compensação de potência.

Na DSC de fluxo de calor, a amostra e a referência são colocadas em cápsulas idênticas, que se alojam em um disco termoeletrico e são aquecidas por uma mesma fonte de calor. A transferência de calor que ocorre do disco para as cápsulas é controlada por meio de termopares conectados ao disco. A variação da temperatura, em um dado momento, é proporcional à variação da entalpia, à capacidade calorífica e à resistência térmica total ao fluxo calórico (JUNIOR, 2004).

Na DSC de compensação de potência um calorímetro mede diretamente a energia envolvida nos eventos térmicos e a amostra e a referência sofre resfriamento ou aquecimento em fornos idênticos, mas separados, em condições sempre isotérmicas. Quando a amostra sofre alteração temperatura (evento endotérmico ou exotérmico) os termopares detectam esta diferença entre ela e a referência e o equipamento, automaticamente, modifica a potência de entrada de um dos fornos de modo a igualar a temperatura de ambos (JUNIOR, 2004).

Santos e outros (2009) utilizaram a DSC na análise do medicamento cetozazol. Na Figura 13 observam-se os sinais endotérmicos de perda da água da lactose (letra A) a 148 °C, fusão do cetozazol em 151 °C (letra B), fusão da lactose em 220 °C (letra C), decomposição da lactose em 243 °C (letra D) e decomposição do cetozazol em 361 °C (letra F). O único evento térmico exotérmico observado é o de decomposição da lactose em 315 °C (letra E).

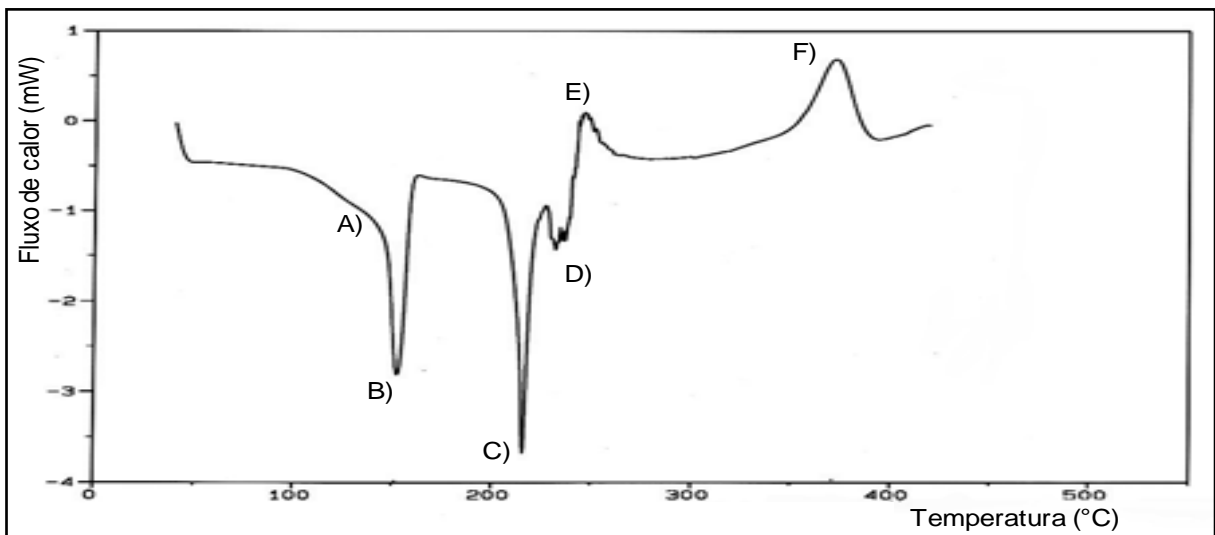


Figura 13 – curva de DSC do medicamento cetozazol com os seguintes eventos: A) curva endotérmica de desidratação da lactose; B) curva endotérmica de fusão do cetozazol; C) curva endotérmica de fusão da lactose; D) curva endotérmica da decomposição da lactose; E) curva exotérmica da decomposição da lactose e F) curva exotérmica da decomposição do cetozazol. (SANTOS et al, 2009. Adaptado).

Em trabalho para determinação da pureza de fármacos (captopril, diclofenaco sódico e diclofenaco potássico) Moreira e outros (2010) utilizaram a técnica de DSC comparada com a técnica cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e concluíram que para fármacos que não degradam logo após a fusão e que não possuam perfil de impurezas desconhecido, os resultados das duas técnicas são equivalentes.

Transição vítrea, temperatura e tempo de cristalização, ponto de fusão, calor específico, oxidação, pureza, estabilidade térmica, ponto de ebulição entre outros, são eventos que podem ser observados pela técnica da DSC (MOTHÉ; AZEVEDO, 2002).

Em estudo de compatibilidade do fosinopril e da nefazodona com os excipientes lactose e estearato de magnésio, conduzido por Balestriere e outros (1996), ficou comprovado que a técnica de DSC fornece informações úteis a respeito da interação fármacos-excipientes nos casos em que as curvas da mistura se completam com as curvas de cada substância isolada (não há interação), um novo pico surge (interação) e quando a entalpia da mistura estocada por algum tempo demonstra significativa diferença da mistura recém preparada.

Agrawal e outros (2004) caracterizaram as curvas de R (polimorfo I, polimorfo II e a forma amorfa) através da técnica de DSC. Neste estudo, distinguem-se claramente as diferenças entre as curvas para cada tipo de substância (Figura 14).

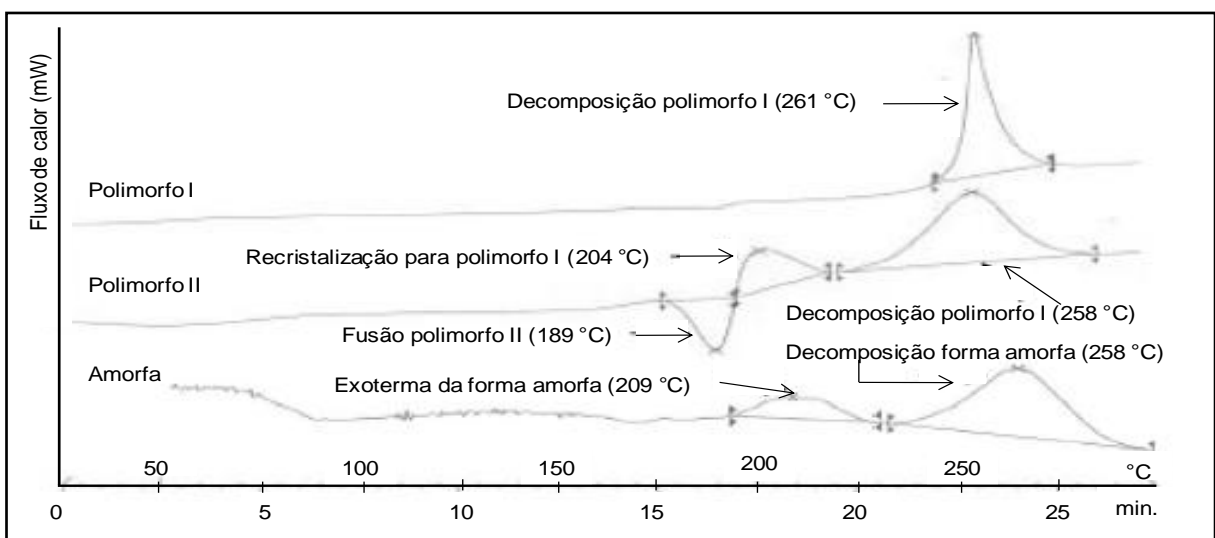


Figura 14 – curvas de DSC dos polimorfos I e II de rifampicina e da sua forma amorfa (AGRAWAL et al, 2004. Adaptado) com os eventos térmicos observados para cada amostra.

A Figura 15 destaca os principais eventos térmicos observados em uma amostra cristalina quando esta é submetida à análise da DSC. A saber: curva 1: deflexão inicial proporcional à capacidade calorífica da amostra; curva 2: evaporação da umidade; curva 3: linha basal (sem efeito térmico); curva 4: pico de fusão; curva 5: início da oxidação no ar (METTLER TOLEDO, 2009).

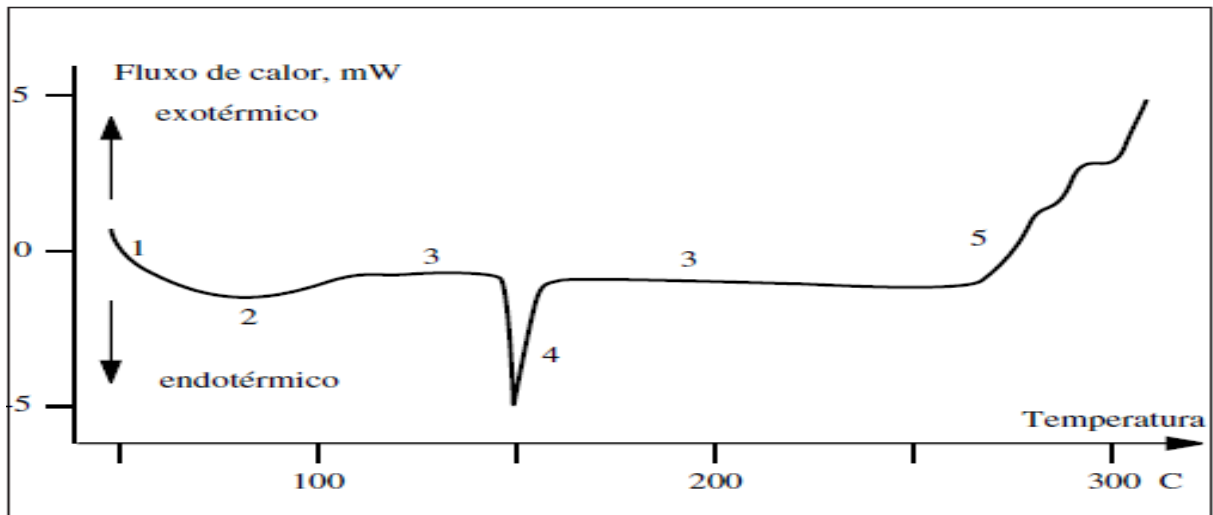


Figura 15 – curvas de DSC para uma substância cristalina. Curva 1: deflexão inicial proporcional à capacidade calorífica da amostra; curva 2: evaporação da umidade; curva 3: linha basal (sem efeito térmico); curva 4: pico de fusão; curva 5: início da oxidação no ar, (METTLER TOLEDO, 2009).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve por objetivo o desenvolvimento de uma formulação de comprimidos DFC 3 em 1 (H, Z e R) com duas camadas, sendo uma formada pela associação de R com Z (liberação gástrica) e a outra constituída por H em uma matriz de liberação entérica para o tratamento da tuberculose, base para o desenvolvimento de novas formulações DFC 2 em 1 ou 4 em 1.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Selecionar matrizes poliméricas de liberação entérica a serem utilizadas na formulação para a H;
- b) Caracterizar os ativos e os excipientes;
- c) Identificar prováveis incompatibilidades entre os ativos/excipientes e ativos/ativos nas formulações propostas;
- d) Realizar ensaios de estabilidade prévia para as formulações propostas;
- e) Dosar os ativos isoladamente e nos comprimidos dose fixa combinada desenvolvidos;
- f) Realizar ensaios de dissolução; e
- g) Desenvolver uma formulação de liberação imediata (gástrica) dos comprimidos DFC 3 em 1 para realização do ensaio de perfil comparativo de dissolução com o medicamento comercial e com o DFC 3 em 1 controle (sem matriz de prolongadora de liberação).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Insumos

As amostras de R foram cedidas pela PharmaNostra (lote 0805045M), por FarManguinhos (lotes 200610029 e 200610038), pelo Laboratório Químico Farmacêutico do Exército (lotes 200610049 e 0710046M) e pela Nortec Química S.A (lotes RB0903029, RB0806125 e RB0812335).

As amostras de H, Z e todos os padrões primários e secundários utilizados no desenvolvimento deste trabalho foram cedidos pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha (LFM).

A amostra comercial de comprimidos DFC 3 em 1 foi doada pela Maneesh/Sanobiol (fabricado pela Svizera Labs – Mumbai - Índia).

Os demais insumos foram disponibilizados pelo Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (LabTIF/UFRJ).

Todos os insumos utilizados estavam dentro do prazo de validade e se apresentavam como grau analítico ou farmacêutico.

- ✓ Acetofalato de celulose (Fluka Analytical – EUA);
- ✓ Dióxido de Silício Coloidal (Aerosil®200) Degussa (Alemanha);
- ✓ Docusato de sódio (Aldrich Chemical Company- EUA);
- ✓ Celulose microcristalina 102 Blanver (Itapevi (SP), Brasil);
- ✓ Croscarmelose sódica (FMC Biopolymer – EUA);
- ✓ Eudragit® L100 e S100 (Degussa - Alemanha);
- ✓ Estearato de magnésio (AMC do Brasil - Guarulhos (SP), Brasil);
- ✓ Goma laca Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Hidroxipropilmetilcelulose (Shin-Etsu Chemical Co. Ltd – Japão);
- ✓ Isoniazida lote 06211/INH (001/07 lote LFM) G. Amphray Laboratories (Índia);
- ✓ Isoniazida lote 20061003 (050/07 lote LFM) Excechem International Limited (China);
- ✓ Isoniazida lote IZ/20070736 (107/08 lote LFM) Calyx Chemicals (Índia);
- ✓ Lauril sulfato de sódio Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Metabissulfito de Sódio Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);

- ✓ Padrão primário de rifampicina USP (*United States Pharmacopeia*) teor 98,3%;
- ✓ Padrão secundário de isoniazida, quantificado e padronizado pelo Laboratório Farmacêutico da Marinha (LFM), teor 100,5%;
- ✓ Padrão secundário de pirazinamida, quantificado e padronizado pelo LFM, teor 100%;
- ✓ Padrão secundário de rifampicina, quantificado e padronizado pelo LFM, teor 98%;
- ✓ Pirazinamida lote 20070111 (078/07 lote LFM) Unipharm (EUA);
- ✓ Pirazinamida lote PZ/20050273 (140/05 lote LFM) Euresian (Índia);
- ✓ Pirazinamida lote PZ/200705120 (030/08 lote LFM) Calyx Chemicals (Índia);
- ✓ Polivinilpirrolidona (PVP) K30 Boai New Kaiyuan Pharmaceutical Com. Ltda (China);
- ✓ Rifampicina lotes 0710046M e 0805045M Luohe Nanjiecun (China);
- ✓ Rifampicina lotes RB0903029 (não compactada), RB0806125 (micronizada) e RB0812335 (compactada) Sandoz Private Limited (Maharashtra – Índia);
- ✓ Rifampicina lotes 200610029, 200610038 e 200610049 Shenyang (China); e
- ✓ Viscogel[®] B8 Bentec (Itália).

3.1.2 Reagentes/Solventes

A disponibilização dos reagentes utilizados nas análises das formulações deste trabalho foi realizada através de uma parceria do LabTIF/UFRJ com o LFM. Todos os reagentes estavam dentro do prazo de validade.

- ✓ Acetonitrila (acn) grau UV/CLAE Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Acetona P.A grau UV/CLAE Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Ácido clorídrico P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Ácido fosfórico P.A Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Ácido isonicotínico (Carlo Erba – Itália);
- ✓ Água purificada “Milli-Q” Millipore previamente filtrada (EUA);
- ✓ Brometo de potássio Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Cloreto de sódio Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Etanol 96 °GL Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Fosfato de potássio monobásico Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);

- ✓ Fosfato de potássio dibásico anidro Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Fosfato de sódio dibásico anidro Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil);
- ✓ Metanol grau UV/CLAE Vetec (Duque de Caxias (RJ), Brasil).

3.1.3 Equipamentos

- ✓ Balança analítica METTLER TOLEDO – AG 204;
- ✓ Balança para determinação de umidade SARTORIUS MA 30;
- ✓ Balança SHIMADZU AUX220;
- ✓ Banho de ultrassom QUIMIS – Q3350;
- ✓ Calorímetro de varredura diferencial SHIMADZU - DSC 60;
- ✓ Câmara climática NOVA ÉTICA 420/CLD-150;
- ✓ Compressora galênica excêntrica FABBE;
- ✓ Cromatógrafo líquido de alta eficiência YOUNG LIN CLARITY – YL9100 - bomba modelo YL9110 – detector de UV - modelo YL 9160 e auto-amostrador modelo YL 9150;
- ✓ Cronômetro TECHNOS-TEC 426;
- ✓ Desintegrador NOVA ÉTICA 301-AC;
- ✓ Difrátômetro de Raios-X RIGAKU MINIFLEX;
- ✓ Dissolutor HANSON RESEARCH SR8PLUS;
- ✓ Durômetro automático NOVA ÉTICA 298-ATTS;
- ✓ Espectrofotômetro de infravermelho SHIMADZU IR-PRESTIGE-21;
- ✓ Espectrofotômetro UV - SHIMADZU UV-2401PC;
- ✓ Estufa MARCONI MA035/5;
- ✓ Friabilômetro SOTAX F1 600-01;
- ✓ Moinho de bolas SPLABOR Q298;
- ✓ Placa de aquecimento e agitação CORNING PC 230;
- ✓ Potenciômetro INOLAB - WTW LEVEL 2 ; e
- ✓ Ultra-purificador de água MILLIPORE - MILLI Q GRADIENT.

3.1.4 Acessórios

- ✓ Balões volumétricos Quimex (Cotia (SP) Brasil) calibrados e certificados;
- ✓ Coluna C8 4,6 x 250 mm 5µm – WATERS XBRIDGE ;
- ✓ Gral e pistilo de ágata;

- ✓ Gral e pistilo de porcelana;
- ✓ Membrana filtrante de acetato de celulose 0,45 μ , diâmetro 47 mm Millipore (EUA);
- ✓ Naveta de pyrex;
- ✓ Peneiras manuais 5,0, 0,8 e 0,5 mm ABROZINOX;
- ✓ Pipetas volumétricas Pyrex (Brasil) calibradas e certificadas;
- ✓ Provetas Quimex (Cotia (SP) Brasil) calibradas e certificadas;
- ✓ Vials de 1,0 mL com tampa de rosca e septo de Teflon Yang Lee (China).

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Estudo de estabilidade e de compatibilidade

Os ensaios de compatibilidade (formulações 02 a 06) e de estabilidade (formulações 01 e 07) foram realizados em câmara climática Nova Ética, modelo 420/CLD-150 nas condições de 40 ± 2 °C / $75 \pm 5\%$ UR (Tabela 1, página 69) (BRASIL, 2005).

As amostras foram preparadas segundo os seguintes critérios:

- a) Formulação 01: R lote 200610049. Foram pesados 20 g da amostra e colocadas em frasco de vidro âmbar;
- b) Formulação 02: empastamento alcoólico (EA), proporção 1:1, dos ativos R com Z;
- c) Formulação 03: mistura física (MF), proporção 1:1, dos ativos R com Z;
- d) Formulações 04 a 06: EA na proporção 1:0,1 (ativos-excipientes), com metabissulfito de sódio (MbS) e DS – formulações 04, 05 e 06; e
- e) Formulação 07: as proporções: R 20,8%; Z 55,6%; MbS 1%; CM-102 16,2%; CS 3%; PVP K-30 10%; DS 1%; estearato de magnésio (EMg) 1% e etanol 10mL.

Os processos de mistura e empastamento alcoólico foram realizados com auxílio de gral e pistilo. Após secagem a 40 °C por 1 hora em estufa, as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro âmbar e submetidas à câmara climática. Exceção ocorreu para a formulação 07 que antes de ser levado ao ensaio de

estabilidade, foi granulado e comprimido com punções bicôncavos de 10 mm de diâmetro.

Os ensaios de estabilidade acelerada de três meses objetivam o acompanhamento da degradação química e/ou mudança física dos comprimidos de DFC, da mistura física e dos empastamentos alcoólicos entre excipientes-ativos e ativo-ativo (R + Z), em condições forçadas de armazenamento (BRASIL, 2005). Para tanto, foram empregadas técnicas de espectroscopia no IV, DSC, DRX e CLAE.

Tabela 1 - composição das formulações para estudos de compatibilidade e de estabilidade de rifampicina lote 200610049 (formulação 01); mistura física rifampicina + pirazinamida (formulação 03) e empastamentos alcoólicos (formulações 02, 04, 05, 06 e 07) para acompanhamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 3 meses.

Formulação 01	Formulação 02	Formulação 03	Formulação 04
Rifampicina 20 g	Rifampicina 10 g	Rifampicina 10 g	Rifampicina 150 mg
-	Pirazinamida 10 g	Pirazinamida 10 g	Pirazinamida 400 mg
-	Etanol	-	DS 55 mg
-	-	-	Etanol
Formulação 05	Formulação 06	Formulação 07	-
Rifampicina 150 mg	Rifampicina 150 mg	Rifampicina 150 mg	-
Pirazinamida 400 mg	Pirazinamida 400 mg	Pirazinamida 400 mg	-
MbS 55 mg	MbS 55 mg	MbS 3,3 mg	-
Etanol	DS 55 mg	DS 3,3 mg	-
-	Etanol	CM-102 116,8 mg	-
-	-	EMg 6,6 mg	-
-	-	PVP K30 20 mg	-
-	-	CS 20 mg	-
		Etanol	

3.2.2 Doseamento dos ativos (insumos)

3.2.2.1 Isoniazida

O ensaio de teor da H foi realizado pela técnica de espectrofotometria no UV, aparelho SHIMADZU UV-2401PC, a 265 nm no LFM (FARMACOPEIA BRASILEIRA IV, 2005).

A solução padrão de H foi preparada com 25,0 mg de padrão secundário previamente dessecado a 105 °C/4 h e 25 mg transferido para balão volumétrico de 250 mL e avolumado com solução de HCl 0,01 M. Uma alíquota de 10 mL foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e diluída ao volume com solução de HCl 0,01 M.

As soluções amostras foram preparadas conforme descrito na preparação da solução padrão. As absorbâncias foram medidas em 265 nm utilizando o HCl 0,01 M para ajuste do zero.

O cálculo do teor foi realizado através da seguinte fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{La \times pp \times Tp}{Lp \times pa} \quad (1)$$

Onde: La é a média da leitura da amostra;
pp é o peso do padrão (mg);
Tp é o teor do padrão;
Lp é a média da leitura do padrão; e
pa é o peso da amostra (mg).

3.2.2.2 Pirazinamida

O ensaio de teor de Z foi realizado pela técnica de espectrofotometria no UV, aparelho SHIMADZU UV-2401PC, a 268 nm no LFM (FARAMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 2002).

A solução padrão de Z foi preparada com 20 mg de padrão secundário previamente dessecado e transferido para balão volumétrico de 100 mL e avolumado com água ultra pura. Uma alíquota de 5 mL foi transferida para balão volumétrico de 100 mL e diluída ao volume com água ultra pura.

As soluções amostras foram preparadas conforme descrito na preparação da solução padrão. As absorbâncias foram medidas em 268 nm utilizando água ultra pura para ajuste do zero.

O cálculo do teor foi realizado através da seguinte fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{La \times pp \times Tp}{Lp \times pa} \quad (2)$$

Onde: La é a média da leitura da amostra;
pp é o peso do padrão (mg);
Tp é o teor do padrão;
Lp é a média da leitura do padrão; e
pa é o peso da amostra (mg).

3.2.2.3 Rifampicina

O ensaio para determinar o teor de R foi através da utilização da cromatografia líquida de alta eficiência com arranjo de fotodiodos (CLAE-DAD) conforme método descrito na USP 31, adaptado com desenvolvimento local: coluna C8, 4,6 mm x 25 cm, partículas de 5 µm; fluxo de 1,5 mL/min; detecção a 238 nm; volume de injeção de 20 µL e gradiente de fase móvel conforme Tabela 2: As análises foram realizadas no LFM.

Tabela 2 - gradiente de eluição da fase móvel para análise dos teores de rifampicina (USP 31, 2008, adaptado).

Tempo (min.)	Solução A (%) (tampão:acn) 96:4	Solução B (%) (tampão:acn) 55:45	Eluição
0	100	0	Equilíbrio
5	100	0	Isocrático
6	0	100	Gradiente linear
15	0	100	Isocrático
16 ^a	100	0	Equilíbrio
26 ^a	100	0	Isocrático

^aOs últimos 10 minutos do gradiente foram acrescentados para estabilização da coluna (MOHAN et al, 2003).

A solução tampão fosfato 0,01 M foi preparada solubilizando 1,4 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 1,0 L de água purificada. O pH da solução foi ajustado para 6,8 ± 0,1 com ácido fosfórico P.A. A solução foi filtrada em membrana de 0,45µm de porosidade.

A solução padrão de R foi preparada com 16 mg de padrão USP, pesada em naveta e transferida para balão volumétrico de 100 mL contendo 10 mL de metanol em seu interior. A naveta foi cuidadosamente rinsada com 4 mL de metanol para arraste de R remanescente. O balão foi levado ao ultrassom por 5 minutos e avolumado com solução tampão fosfato. A solução foi filtrada em filtro de 0,45µm de porosidade e imediatamente analisada no aparelho de CLAE.

A solução amostra foi preparada conforme descrito para a solução padrão.

A eficiência da coluna é no mínimo de 50.000 pratos teóricos para R, o fator caudal (*tailing*) não pode ser superior 2 e o desvio padrão relativo, para injeções replicadas, é de no máximo 2%.

O cálculo do teor foi realizado através da seguinte fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{R_a \times p_p \times T_p \times d}{100 \times R_p \times p_a} \quad (3)$$

Onde: Ra é a média das respostas da amostra;
pp é o peso do padrão (mg);
Tp é o teor do padrão;
d é o fator de diluição (100);
Rp é a média das respostas do padrão; e
pa é o peso da amostra (mg).

3.3 PRODUÇÃO DAS CAMADAS DOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM 1

3.3.1 Produção da camada de liberação gástrica (Rifampicina + Pirazinamida)

Na Tabela 3 observam-se as três formulações (08, 09 e 10) desenvolvidas para a camada de liberação imediata. O peso médio sugerido dessa camada ficou em 720 mg. O DS foi utilizado como agente promotor da dissolução, embora constatado *à posteriori*, que este excipiente poderia exibir incompatibilidade química sem degradação com R. O MbS foi utilizado como agente antioxidante para proteção de R; a CS como agente desintegrante e a solução etanólica 10% de PVP K30 como agente aglutinante.

A formulação 08 possui a mesma composição da formulação 02 (estudo de estabilidade) porque era a que inicialmente se utilizaria na produção do DFC 3 em 1. Entretanto, com o objetivo de diminuir o tempo de desintegração, foi acrescentado o aerosil[®] levando a formulação 09 a ter toda a CS e o aerosil[®] na fase externa. Já a formulação 10 foi elaborada sem CM-102 na fase interna e com metade da CS em cada fase. A CM-102 e o aerosil[®] foram adicionados, em sua totalidade, na fase externa.

A solução aglutinante de PVP K30 a 10% foi preparada com 10 mL etanol, sendo também dissolvido nesta solução o DS. O uso EMg restringiu-se à fase externa das formulações e o processo seguiu a via tradicional de granulação úmida, sendo o granulado seco em estufa a 40 °C por 1 hora e umidade máxima residual do mesmo de 3%. O processo de mistura e ocorreu em gral e pistilo e os granulados foram comprimidos em compressora excêntrica FABBE com punções bicôncavos de 10 mm de diâmetro.

Tabela 3 - formulações estudadas para o desenvolvimento da camada de liberação imediata de rifampicina + pirazinamida. Formulação 08: utilização da croscarmelose sódica na fase interna. Formulação 09: utilização de toda croscarmelose sódica e do aerosil® na fase externa. Formulação 10: utilização de toda CM-102 e de metade da croscarmelose sódica na fase externa. Peso proposto para a camada: 720 mg.

	Formulação 08	Formulação 09	Formulação 10
Fase interna	Rifampicina 150 mg	Rifampicina 150 mg	Rifampicina 150 mg
	Pirazinamida 400 mg	Pirazinamida 400 mg	Pirazinamida 400 mg
	CM-102 114 mg	CM-102 117,6 mg	-
	CS 21,6 mg	-	CS 7,2 mg
	MbS 3,6 mg	MbS 3,6 mg	MbS 3,6 mg
Sol. Aglutinante	-	-	-
	PVP K30 20 mg	PVP K30 20 mg	PVP K30 20 mg
	DS 3,6 mg	DS 3,6 mg	DS 3,6 mg
	Etanol	Etanol	Etanol
	-	-	-
Fase externa	-	-	CM-102 117,6 mg
	-	CS 14,4 mg	CS 7,2 mg
	EMg 7,2 mg	EMg 7,2 mg	EMg 7,2 mg
	-	Aerosil 3,6 mg	Aerosil 3,6 mg
	-	-	-
	720 mg	720 mg	720 mg

3.3.2 Produção da camada de liberação prolongada (Isoniazida)

A importância na modulação da liberação da H a nível entérico já foi discutida no item 1.3.1 deste trabalho.

No total foram preparadas 40 formulações que envolveram a liberação prolongada de H. Assim como nos estudos da camada de liberação imediata, procura-se priorizar formulações que pudessem ser produzidas via compressão direta. O AFC, o Eudragit® L100 e S100, o Viscogel® B8, a GL e o HPMC foram os excipientes escolhidos para os ensaios do desenvolvimento da camada de liberação controlada de H dos comprimidos DFC 3 em 1.

O processo de mistura e ocorreu em gral e pistilo. Os granulados obtidos via granulação úmida foram secos em estufa a 40 °C por 1 hora. A umidade máxima residual permitida foi de 3% e os comprimidos foram obtidos em compressora excêntrica FABBE com punções bicôncavos de 8 mm de diâmetro.

3.3.2.1 Formulações preparadas com o Acetofalato de Celulose

O AFC foi previamente processado em moinho de bolas para ser reduzido a pó fino visando facilitar o processo de compressão direta e a solubilização do mesmo na via de granulação úmida.

Foram produzidas doze formulações para esta matriz, sendo: Tabela 4 - comprimidos desenvolvidos utilizando o AFC como solução aglutinante a 1% e peso médio de 168 mg e como constituinte interno da formulação (matriz) nas proporções de 1:0,25, 1:0,5 e 1:1 (H:AFC).

Tabela 4 - formulações preparadas através da granulação úmida solução aglutinante de AFC 1% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 11), 1:0,5 (formulação 12) e 1:1 (formulação 13). Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 168 mg.

Formulação 11	Formulação 12	Formulação 13
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
AFC 24,7 ^a MG	AFC 43,5 ^a MG	AFC 81 ^a mg
CM-102 66,6 mg	CM-102 47,8 mg	CM-102 10,3 mg
EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg
Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)
168 mg	168 mg	168 mg

^aincluídos 6 mg utilizados na preparação da solução aglutinante a 1%.

Tabela 5: comprimidos desenvolvidos utilizando o AFC como solução aglutinante a 1% e peso médio de 260 mg e como constituinte interno da formulação (matriz) nas proporções de 1:0,25, 1:0,5 e 1:1 (H:AFC).

Tabela 5: formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 1% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 14), 1:0,5 (formulação 15) e 1:1 (formulação 16). Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 260 mg.

Formulação 14	Formulação 15	Formulação 16
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
AFC 24,7 ^a MG	AFC 43,5 ^a MG	AFC 81 ^a mg
CM-102 158,6 mg	CM-102 139,8 mg	CM-102 102,3 mg
EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg
Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)
260 mg	260 mg	260 mg

^aincluídos 6 mg utilizados na preparação da solução aglutinante a 1%.

Tabela 6: comprimidos desenvolvidos utilizando o AFC como solução aglutinante a 2% e peso médio de 168 mg e como constituinte interno da formulação (matriz) nas proporções de 1:0,25, 1:0,5 e 1:1 (H:AFC).

Tabela 6 - formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 2% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 17), 1:0,5 (formulação 18) e 1:1 (formulação 19), Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 168 mg.

Formulação 17	Formulação 18	Formulação 19 ^b
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
AFC 30,8 ^a MG	AFC 49,5 ^a MG	AFC 87 ^a mg
CM-102 60,5 mg	CM-102 41,8 mg	-
EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg
Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)
168 mg	168 mg	163,7 mg

^aincluídos 12 mg utilizados na preparação da solução aglutinante a 2%.

^bnão foi acrescentado CM-102.

Tabela 7: comprimidos desenvolvidos utilizando o AFC como solução aglutinante a 2% e peso médio de 260 mg e como constituinte interno da formulação (matriz) nas proporções de 1:0,25, 1:0,5 e 1:1 (H:AFC).

Tabela 7 - formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de AFC 2% e AFC constituinte na fase interna nas proporções 1:0,25 (formulação 20), 1:0,5 (formulação 21) e 1:1 (formulação 22), Proporções H:AFC. Peso médio teórico: 260 mg.

Formulação 20	Formulação 21	Formulação 22
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
AFC 30,8 ^a MG	AFC 49,5 ^a MG	AFC 87 ^a MG
CM-102 152,5 mg	CM-102 133,8 mg	-
EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg	EMg 1,7 mg
Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)	Etanol/acetona (1:1)
260 mg	260 mg	163,7 mg

^aincluídos 12 mg utilizados na preparação da solução aglutinante a 2%.

^bnesta formulação não foi adicionada CM-102.

As soluções aglutinantes de AFC foram preparadas numa mistura 1:1 dos solventes etanol e acetona com auxílio do ultrassom até completa solubilização do AFC. Entretanto, para evitar a formação de uma camada muito delgada elevou-se o seu peso médio para 260 mg. Esta ação foi aplicada às outras matrizes de liberação prolongada e as formulações 19 e 22 foram desenvolvidas sem CM-102 (Tabelas 6 e 7).

3.3.2.2 Formulações preparadas com Eudragit[®] L100 e Eudragit[®] S100

Os ensaios com o dois tipos de Eudragit[®] foram utilizados no processo de compressão direta. No total, foram estudadas oito formulações assim classificadas:

Tabela 8: quatro formulações para os ensaios com o Eudragit[®] L100.

Tabela 8 - formulações preparadas através da compressão direta utilizando o Eudragit® L100 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções: 1:0,1 (formulação 23), 1:0,2 (formulação 24), 1:1 (formulação 25) e 1:2 (formulação 26). Proporções H: Eudragit® L100. Peso médio teórico: 260 mg.

Formulação 23	Formulação 24	Formulação 25	Formulação 26
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
Eudragit® L100 7,5 mg	Eudragit® L100 15 mg	Eudragit® L100 75 mg	Eudragit® L100 150 mg
CM-102 174,9 mg	CM-102 167,4 mg	CM-102 107,4 mg	CM-102 32,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg	260 mg

Tabela 9: quatro formulações para os ensaios com Eudragit® S100. As proporções (H:Eudragit) de uso foram: 1:0,1 (formulações 23 e 27), 1:0,2 (formulações 24 e 28), 1:1 (formulações 25 e 29) e 1:2 (formulações 26 e 30).

Tabela 9 - formulações preparadas através da compressão direta utilizando o Eudragit® S100 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções: 1:0,1 (formulação 27), 1:0,2 (formulação 28), 1:1 (formulação 29) e 1:2 (formulação 30). Proporções H: Eudragit® S100. Peso médio teórico: 260 mg.

Formulação 27	Formulação 28	Formulação 29	Formulação 30
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
Eudragit® S100 7,5 mg	Eudragit® S100 15 mg	Eudragit® S100 75 mg	Eudragit® S100 150 mg
CM-102 174,9 mg	CM-102 167,4 mg	CM-102 107,4 mg	CM-102 32,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg	260 mg

3.3.2.3 Formulações preparadas com Viscogel® B8

No total foram preparadas quatro formulações com Viscogel® B8 (Tabela 10). A via de produção foi por compressão direta e as proporções (H:Viscogel® B8) de uso foram 1:0,1 (formulação 31), 1:0,2 (formulação 32), 1:1 (formulação 33) e 1:2 (formulação 34).

Tabela 10 - formulações preparadas através da compressão direta utilizando o Viscogel® B8 como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções: 1:0,1 (formulação 31), 1:0,2 (formulação 32), 1:1 (formulação 33) e 1:2 (formulação 34). Proporções H: Viscogel® B8.

Formulação 31	Formulação 32	Formulação 33	Formulação 34
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
Viscogel® B 7,5 mg	Viscogel® B8 15 mg	Viscogel® B8 75 mg	Viscogel® B8 150 mg
CM-102 174,9 mg	CM-102 167,4 mg	CM-102 107,4 mg	CM-102 32,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg	260 mg

3.3.2.4 Formulações preparadas com Goma Laca

Foram propostas sete formulações utilizando a GL como matriz para liberação prolongada de H. Os ensaios utilizaram tanto a granulação úmida quanto à compressão direta.

Na granulação úmida os critérios de formulação foram os mesmos daqueles adotados na granulação com o AFC, ou seja, a GL foi utilizada como solução aglutinante a 2% e como constituinte interno da formulação nas proporções (H:GL) de 1:0,25, 1:0,5 e 1:1 (Tabela 11).

Tabela 11 - formulações preparadas através da granulação úmida com solução aglutinante de GL 2% e GL como constituinte na fase interna nas proporções: 1:0,25 (formulação 35), 1:0,5 (formulação 36) e 1:1 (formulação 37). Proporções H: GL.

Formulação 35	Formulação 36	Formulação 37
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
GL 30,1 ^a mg	GL 49,5 ^a MG	GL 87 ^a mg
CM-102 152,3 mg	CM-102 132,9 mg	CM-102 95,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
Etanol/água (1:1) ^b	Etanol/água (1:1) ^b	Etanol/água (1:1) ^b
260 mg	260 mg	260 mg

^aincluídos 12 mg utilizados na preparação da solução aglutinante a 2%.

^bcondição favorável a solubilização da GL e que reduz a quantidade de álcool na formulação.

A compressão direta foi desenvolvida nas seguintes proporções (H:GL): 1:0,1 (formulação 38), 1:0,2 (formulação 39), 1:1 (formulação 40) e 1:2 (formulação 41) (Tabela 12).

Tabela 12 - formulações preparadas através da compressão direta utilizando a GL como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções: 1:0,1 (formulação 38), 1:0,2 (formulação 39), 1:1 (formulação 40) e 1:2 (formulação 41). Proporções H: GL.

Formulação 38	Formulação 39	Formulação 40	Formulação 41
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
GL 7,5 mg	GL15 mg	GL 75 mg	GL 150 mg
CM-102 174,9 mg	CM-102 167,4 mg	CM-102 107,4 mg	CM-102 32,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg	260 mg

3.3.2.5 Formulações preparadas com a Hidroxipropilmetilcelulose

As oito formulações (Tabela 13) desenvolvidas com HPMC de 100.000 cps foram preparadas pelo processo de compressão direta. As proporções (H:HPMC) de trabalho foram 1:0,2; 1:0,3; 1:0,4; 1:0,5; 1:0,6; 1:0,7; 1:0,8 e 1:1.

Para o estudo do perfil de dissolução comparativo foi preparada a formulação 50 (Tabela 13) que se caracteriza pela ausência de agentes retardantes de liberação e proporciona, dessa maneira, uma formulação com liberação imediata dos três ativos. Outra função desta formulação seria a de monitorar o comportamento das matrizes na liberação prolongada de H. O processo de obtenção desses comprimidos foi pela compressão direta.

Tabela 13 - formulações preparadas através da compressão direta utilizando o HPMC 100.000 cps como matriz de liberação controlada nas seguintes proporções (H: HPMC): 1:0,2 (formulação 42), 1:0,3 (formulação 43), 1:0,4 (formulação 44), 1:0,5 (formulação 45), 1:0,6 (formulação 46), 1:0,7 (formulação 47), 1:0,8 (formulação 48) e 1:1 (formulação 49). A formulação 50 não contém HPMC 100.000 cps.

Formulação 42	Formulação 43	Formulação 44
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
HPMC 15 mg	HPMC 22,5 mg	HPMC 30 mg
CM-102 167,4 mg	CM-102 159,9 mg	CM-102 152,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg
Formulação 45	Formulação 46	Formulação 47
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
HPMC 37,5 mg	HPMC 45 mg	HPMC 52,5 mg
CM-102 144,9 mg	CM-102 137,4 mg	CM-102 129,9 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg
Formulação 48	Formulação 49	Formulação 50^a
Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg	Isoniazida 75 mg
HPMC 60 mg	HPMC 75 mg	-
CM-102 122,4 mg	CM-102 107,4 mg	CM-102 182,4 mg
EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg	EMg 2,6 mg
260 mg	260 mg	260 mg

^aformulação desenvolvida para estudo comparativo do perfil de dissolução com o DFC 3 em 1 comercial e para controle da ação das matrizes sobre a liberação da isoniazida.

3.3.3 Ensaios de controle de processos dos comprimidos obtidos

3.3.3.1 Peso Médio

Os ensaios de peso médio foram realizados em balança eletrônica digital da marca SHIMADZU modelo AUX220.

No total, vinte comprimidos de cada formulação foram pesados individualmente para fins de cálculo do peso médio. Não mais do que duas unidades fora do limite de variação de 260 mg \pm 7,5% (para a camada de liberação

prolongada), 720 mg \pm 5% (para a camada de liberação imediata) e 980 mg \pm 5% foram toleradas para o comprimido DFC 3 em 1 (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988).

3.3.3.2 Dureza

Os comprimidos produzidos foram analisados em durômetro automático Nova Ética 298 ATTS e o valor mínimo aceitável é de 3 kgf (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988a).

A média da dureza foi obtida a partir da medição da dureza individual de dez comprimidos e o desvio padrão da medida calculado.

3.3.3.3 Friabilidade

A friabilidade é um ensaio importante porque informa a capacidade dos comprimidos de resistirem à abrasão ao manuseio, embalagem e transporte (ANSEL; ALLEN; POPOVICH, 2000).

Os ensaios foram realizados no friabilômetro da marca SOTAX F1 modelo Y-600-01 e submetidos a vinte rotações por minuto por 5 minutos. Transcorrido o tempo de ensaio, os comprimidos foram recolhidos, desempoeirados e pesados.

A porcentagem da diferença entre o peso inicial e o peso final dos 20 comprimidos nos fornece o valor da friabilidade (perda do pó). São aceitáveis as amostras de comprimidos com perda inferior a 1,5% do seu peso (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988a).

3.3.3.4 Desintegração

Os testes de desintegração dos comprimidos foram realizados no desintegrador Nova Ética 301-AC. Foram realizados ensaios sobre os comprimidos de cada camada individualmente (liberação imediata e liberação prolongada) e sobre os comprimidos DFC 3 em 1.

Para os comprimidos de liberação imediata os ensaios foram realizados em suco gástrico simulado (SGS) a 37 °C por 30 minutos. Nos comprimidos de liberação prolongada e nos DFC 3 em 1 propriamente ditos, os testes foram realizados em SGS, a 37 °C por 30 minutos e, em seguida, suco entérico simulado (SES) a 37 °C por 45 minutos (FARMACOPÉIA BRASILEIRA IV, 1988b).

3.3.4 Produção dos comprimidos DFC 3 em 1

Para o desenvolvimento dos comprimidos DFC 3 em 1, suas camadas foram pesadas individualmente, e colocadas na compressora excêntrica galênica FABBE de forma que uma pré-compressão fosse realizada na camada de liberação imediata, seguida de compressão após adição da camada de liberação prolongada sobre a mesma.

A granulação úmida foi utilizada para a produção da camada de liberação imediata e para os comprimidos com matrizes de AFC. O processo de compressão direta foi empregado para o desenvolvimento da camada de liberação controlada com HPMC.

O peso teórico estudado para o comprimido DFC 3 em 1 foi de 980 mg, sendo 260 mg da camada de liberação prolongada e de 720 mg para a camada de liberação imediata.

Foram preparadas dez formulações (Tabelas 14 e 15) de comprimidos DFC 3 em 1 no decorrer deste trabalho. Desse quantitativo, sete formulações (51 a 57) foram associações da formulação 08 (liberação imediata, sem aerosil[®] e com CS exclusivamente na fase interna - Tabela 3, página 74) com as formulações 15, 33 e 46 a 49 (liberação entérica, com AFC, Viscogel[®] B8, HPMC, respectivamente) e com a formulação controle (50). Na Tabela 14, de modo sintético, são listadas as combinações preparadas com as camadas estudadas.

Tabela 14 - combinações das camadas de liberação gástrica (formulação 08 – sem aerosil[®] e com croscarmelose sódica exclusivamente na fase interna) e entéricas utilizadas na produção do DFC 3 em 1. A formulação 50 não contém matriz para liberação prolongada.

Formulação 51	Formulação 52	Formulação 53	Formulação 54
Formulação 08	Formulação 08	Formulação 08	Formulação 08
Formulação 15 (AFC)	Formulação 33 (Viscogel B[®])	Formulação 46 (HPMC 1:0,6)	Formulação 47 (HPMC 1:0,7)
980 mg	980 mg	980 mg	980 mg
Formulação 55	Formulação 56	Formulação 57	-
Formulação 08	Formulação 08	Formulação 08	-
Formulação 48 (HPMC 1:0,8)	Formulação 49 (HPMC 1:1)	Formulação 50 ^a (Controle)	-
980 mg	980 mg	980 mg	-

^a não contém HPMC.

As outras três formulações (58 a 60) correspondem à associação da formulação 09 (liberação imediata – com aerosil[®] e 50% de CS na fase externa) com as formulações 48 e 49 da camada de liberação entérica utilizando o HPMC e com a

formulação 50 (controle). Na Tabela 15, de modo sintético, estão listadas as combinações preparadas com as camadas estudadas.

Tabela 15 - combinações das camadas de liberação gástrica (formulação 09 – sem aerosil® e com 50% de croscarmelose sódica na fase externa) e entéricas utilizadas na produção do DFC 3 em 1. A formulação 50 não contém matriz para liberação prolongada.

Formulação 58	Formulação 59	Formulação 60
Formulação 09	Formulação 09	Formulação 09
Formulação 48 (HPMC 1:0,8)	Formulação 49 (HPMC 1:1)	Formulação 50 ^a (Controle)
980 mg	980 mg	980 mg

^anão contém HPMC.

As formulações 51 a 54 foram produzidas com R lote 200610049 (teor 92,6%) e as formulações 55 a 60 com R lote 200610038 (teor 98,2%).

3.3.4.1 Doseamento dos ativos (USP 31, 2008)

A metodologia e as condições de doseamento dos ativos nos comprimidos DFC 3 em 1 são as mesmas utilizadas para o doseamento do insumo R (item 3.2.2). Entretanto, os preparos das soluções padrões e amostras são diferentes e estão descritos abaixo.

A solução padrão de análise foi preparada com 16 mg de R padrão USP, 8 mg de H e 43 mg de Z (padrões secundários) pesados em navetas e transferidos para balão volumétrico de 100 mL contendo 10 mL de metanol. As navetas foram cuidadosamente rinsadas com 2 mL de metanol para arraste dos padrões remanescentes. O balão foi levado ao ultrassom por 5 minutos e avolumado com solução tampão fosfato. A solução foi filtrada em filtro de 0,45µm de porosidade e imediatamente analisada.

A solução amostra foi preparada pesando-se vinte comprimidos do DFC 3 em 1, que foram pesados individualmente e após a determinação do peso médio, os mesmos foram triturados e levados a pó fino. Em seguida, 104,5 mg da amostra foram pesados em naveta e transferidos para balão volumétrico de 100 mL contendo 10 mL de metanol em seu interior. A naveta foi cuidadosamente rinsada com 4 mL de metanol para arraste da amostra remanescente. O balão foi levado ao ultrassom por 5 minutos e após esfriamento, avolumado com solução tampão fosfato. A solução foi filtrada em filtro de 0,45µm de porosidade e analisada no aparelho de CLAE.

A eficiência (pratos teóricos) da coluna é no mínimo de 50.000 para R, 6.000 para H e 10.000 para Z, o fator caudal (*tailing*) não pode ser superior 2 e o desvio padrão relativo, para injeções replicadas, é de no máximo 2%.

Os teores dos fármacos foram obtidos a partir da seguinte fórmula:

$$\text{Teor (\%)} = \frac{R_a \times p_p \times T_p \times P_M}{R_p \times p_a \times D} \quad (4)$$

Onde: Ra é a média das respostas da amostra;

pp é o peso dos padrão (mg);

Tp é o teor do padrão;

PM é o peso médio (mg) dos comprimidos;

Rp é a média das respostas do padrão;

pa é o peso da amostra (mg); e

D é a dosagem do fármaco no medicamento (75 mg para H, 150 mg para R e 400 mg para Z).

3.3.4.2 Ensaio de dissolução (USP 31, 2008)

Os ensaios de dissolução foram realizados no aparelho Hanson Research SR8PLUS, com cestas a 100 rpm, meios SGS e SES, volume de 900 mL e tempo de análise de 30 minutos no SGS e 45 minutos no SES. As análises foram realizadas no LFM.

As concentrações de R nas formulações de DFC 3 em 1 foram determinadas pela espectroscopia de ultra violeta no aparelho Shimadzu UV-2401PC do LFM, com leitura a 475 nm, utilizando o meio para ajuste do zero.

As concentrações de H e Z nas formulações de DFC 3 em 1 foram determinadas pela técnica de CLAE no aparelho Young Lin Clarity – YL9100, bomba YL9110 – detector de UV - YL 9160 e auto-amostrador YL 9150, coluna C8 4,6 x 250 mm 5µm – Waters Xbridge, fluxo de 1 mL/min. e detector a 254 nm. Volume de injeção de 50 µmL. As análises foram realizadas no LFM.

O meio gástrico simulado (SGS) foi preparado com 6 g de cloreto de sódio em 100 mL de água ultra pura e 21 mL de ácido clorídrico R. O pH foi ajustado para 1,2.

O meio entérico simulado (SES) foi preparado com 8,5 g de fosfato de sódio dibásico anidro em 6 litros de água ultra pura e o pH final ajustado a 6,8 com ácido fosfórico.

3.3.4.2.1 Metodologia para determinação da rifampicina

A solução padrão estoque foi preparada com 176 mg de Z e 32 mg de H, ambas padrões secundários, pesadas em navetas e transferidos para balão volumétrico de 100 mL e avolumadas com SGS.

A solução padrão intermediária foi preparada 33 mg de R padrão USP, pesada em naveta e transferida para balão volumétrico de 200 mL. Em seguida, 50 mL da solução padrão estoque foram adicionados a este balão que teve seu volume completado com SGS.

A solução padrão foi preparada a partir de uma alíquota de 10 mL da solução padrão intermediária transferida para balão volumétrico de 50 mL e avolumada com SGS.

A solução amostra dos comprimidos DFC 3 em 1 foi obtida após coleta de 60 mL da cuba de dissolução que foram filtrados em papel de filtro. Em seguida, 10 mL do filtrado foram coletados e transferidos para balão volumétrico âmbar de 50 mL e avolumado com SGS.

O cálculo da quantidade de R dissolvida foi realizado através da seguinte fórmula:

$$R (\%) = \frac{L_a \times p_p \times T_p \times F_d}{L_p \times D} \quad (5)$$

Onde:

- R é rifampicina;
- L_a é a média das leituras da amostra;
- p_p é o peso dos padrão (mg);
- T_p é o teor do padrão;
- $F_d = 4,5$;
- L_p é a média das leituras do padrão; e
- D é dosagem do fármaco no medicamento (150 mg).

Os critérios de aceitação para R são:

- a) S1 – nenhum dos seis comprimidos é menor que 85%;
- b) S2 – nenhum comprimido de um total de 12 unidades (S1 + S2) é menor que 65% e a média é no mínimo 80%; e
- c) S3 – A média de 24 unidades (S1 + S2 + S3) é no mínimo 80% e, no máximo, dois comprimidos são menores que 65% e nenhuma unidade é menor que 55%.

3.3.4.2.2 Metodologia para determinação da isoniazida e pirazinamida

A solução tampão fosfato de potássio monobásico 1 M foi preparada com 13,79 g fosfato de potássio monobásico anidro dissolvidos em 100 L de água ultra pura e a solução tampão fosfato de potássio dibásico foi preparada 17,42 g fosfato de potássio dibásico anidro em 100 mL de água ultra pura.

A fase móvel é uma mistura água purificada, solução tampão de fosfato de potássio monobásico 1 M e acetonitrila UV/CLAE (860:100:40), filtrada em membrana de 0,45µm de porosidade.

A solução de adequação ao sistema foi preparada com 12,5 mg de ácido isonicotínico dissolvidos em 100 mL de SGS, seguido de diluição de 10 mL desta solução e 4 mL da solução padrão estoque para balão volumétrico de 100 mL contendo 15 mL de solução tampão de fosfato de potássio dibásico 1 M e 30 mL da fase móvel. O balão foi avolumado com fase móvel.

A solução padrão foi preparada com a diluição de 15 mL da solução padrão intermediária para um balão volumétrico de 100,0 mL, contendo 15 mL de solução tampão de fosfato de potássio dibásico 1 M e 30 mL de fase móvel. Após homogeneização, a solução foi avolumada com fase móvel.

A solução amostra dos comprimidos DFC 3 em 1 foi obtida após coleta de 60 mL da cuba de dissolução seguida de filtração em papel de filtro. Em seguida, 15 mL do filtrado foram transferidos para balão volumétrico de 100 mL contendo 15 mL de solução tampão fosfato de potássio dibásico 1 M e 30 mL de fase móvel. Após homogeneização, a solução foi avolumada com fase móvel e filtrada em filtro de porosidade de 0,45µm.

A resolução entre a Z e o ácido isonicotínico é de no mínimo 2,5 e entre Z e H é de no mínimo 4; o desvio padrão relativo, determinado para injeções triplicadas para os ativos, é no máximo 1,5%.

As percentagens de dissolução dos fármacos foram obtidas através da seguinte fórmula:

$$H \text{ ou } Z (\%) = \frac{Ra \times pp \times Tp \times Fd}{Rp \times D} \quad (6)$$

Onde: H é isoniazida;
 Z é pirazinamida;
 Ra é a média das respostas da amostra;
 pp é o peso dos padrão (mg);
 Tp é o teor do padrão;
 Fd = 2,25;
 Rp é a média das respostas do padrão; e
 D é dosagem do fármaco no medicamento (75 mg para H e 400 mg para Z).

Os critérios de aceitação para a Z são:

- a) S1 – nenhum dos seis comprimidos é menor que 80%;
- b) S2 – nenhum comprimido de um total de 12 unidades (S1 + S2) é menor que 60% e a média é no mínimo 75%; e
- c) S3 – A média de 24 unidades (S1 + S2 + S3) é no mínimo 75% e, no máximo, dois comprimidos são menores que 60% e nenhuma unidade é menor que 50%.

Os critérios de aceitação para H são:

Meio gástrico (SGS) – no máximo 15% de liberação.

Meio entérico (SES):

- a) S1 – nenhum dos seis comprimidos é menor que 85%;
- b) S2 – nenhum comprimido de um total de 12 unidades (S1 + S2) é menor que 65% e a média é no mínimo 80%; e
- c) S3 – A média de 24 unidades (S1 + S2 + S3) é no mínimo 80% e, no máximo, dois comprimidos são menores que 60% e nenhuma unidade é menor que 55%

3.3.4.3 Ensaio de dissolução por dispersão da rifampicina

O ensaio de dissolução por dispersão de R foi realizado em SGS, sendo pesados 150 mg de cada lote amostra. Os critérios das análises e condução do ensaio são os mesmos utilizados no item 3.2.2.3 e a metodologia a mesma do item 3.3.4.2.

3.3.4.4 Perfil de liberação

Os ensaios de dissolução para verificação da liberação do ativo ao longo do tempo foram realizados nos comprimidos obtidos a partir das formulações propostas e comparadas com o perfil de liberação do DFC 3 em 1 de referência. Para este fim, utilizam-se as mesmas condições e metodologias aplicadas no ensaio de dissolução (item 3.3.4.2).

Os ensaios foram realizados em triplicata tanto em SGS quanto em SES sem reposição dos meios. Foram amostrados 5 pontos de coleta com intervalos de 5 minutos entre eles (USP 31, 2008 adaptado).

Os fatores f1 (fator de diferença – calcula a porcentagem de diferença entre os dois perfis avaliados a cada tempo de coleta e corresponde a uma medida do erro relativo entre os perfis) e f2 (fator de semelhança – corresponde a uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de ambos os perfis) foram calculados e os critérios para que os perfis sejam considerados semelhantes são: $f1 = 0$ a 15 e $f2 = 50$ a 100 (BRASIL, 2004).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os estudos de pré-formulações desenvolvidos abrangeram a caracterização dos ativos através das técnicas da DRX, IV e DSC, estudo de estabilidade, levantamento das características físico-químicas de todos os excipientes e doseamento dos insumos. Testes complementares como dureza, friabilidade, peso médio, desintegração, doseamento dos ativos nos DFC 3 em 1, dissolução e perfil de liberação foram conduzidos nas formulações propostas.

Em agosto de 2009, o Ministério da Saúde divulgou NT onde detalhou a mudança inesperada no esquema para o tratamento da TB no Brasil. A partir daquele mês, a conduta de tratamento para pacientes adultos e adolescentes na fase aguda da doença, é a administração de comprimido DFC 4 em 1 nos dois primeiros meses e o DFC 2 em 1 para os quatro meses subseqüentes. Todavia, o desenvolvimento de uma formulação DFC 3 em 1 de liberação imediata para os três ativos, está pronta para o desenvolvimento em escala piloto e poderia acomodar o E como quarto componente ativo da formulação. Outra opção seria a fácil remoção de Z, gerando-se com este trabalho comprimidos DFC 2 em 1 com liberação prolongada de H, uma alternativa potencialmente mais eficiente para o tratamento da TB.

4.1 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

4.1.1 Caracterização dos insumos

4.1.1.1 Isoniazida

A utilização da DRX na análise das amostras de H evidenciou que as substâncias possuem padrões da DRX únicos (Figura 16), com estrutura cristalina bem definida e com sinais característicos da H em 15,6 °, 16,8 °, 19,6 ° e 24,2 ° para os três lotes estudados, fato que caracteriza ausência de polimorfismo (ALVES, 2007; TIBOLA, 2009).

Na Figura 16 observar-se grande variação na intensidade dos picos do lote 001/07 quando comparado com os lotes 050/07 e 107/08. Este fenômeno pode ser explicado pelas diferentes estruturas organizacionais dos cristais de H, isto é, quanto mais espacialmente organizado, maior a intensidade do pico (JUNIOR, 2004).

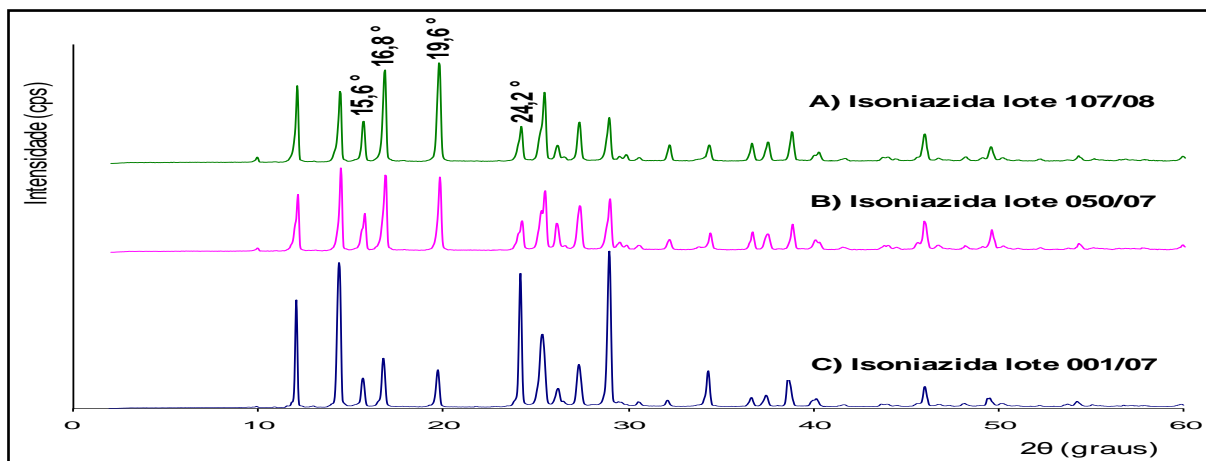


Figura 16 – padrões da DRX dos três lotes de isoniazida: A) lote 107/08; B) lote 050/07 e C) lote 001/07.

Quando da comparação com a literatura, observa-se que os resultados obtidos nos ensaios com IV dos três lotes de H estão similares, com espectros bem definidos, sobreponíveis e cujas absorções máximas ocorrem em 3304, 3217, 3147 e 3111 cm^{-1} (vibrações de estiramento -NH do grupo hidrazida), 1664 cm^{-1} (C=O da carboxila azida), 1636 cm^{-1} (deformação -NH₂ do grupamento hidrazida), 1602 cm^{-1} (estiramento assimétrico do anel) e em 1557 cm^{-1} (estiramento simétrico do anel) (Figura 17, espectro A) (AKALIN; AKYUZ, 2006; AKYUZ, S; AKYUZ, T, 2008; YILMAZ; BOLUKBASI; BAKILER, 2008).

Alterações observadas no IV, como o surgimento de novas bandas, ampliação ou modificações na intensidade ou posição das bandas, devem ser associadas aos resultados da DRX. Como os três espectros são similares entre si, as bandas de máximas absorções correspondem às da literatura e não se observa alterações nos padrões da DRX das amostras, considera-se que os três lotes analisados correspondem a H (KALINKOVA, 1999; JUNIOR, 2004).

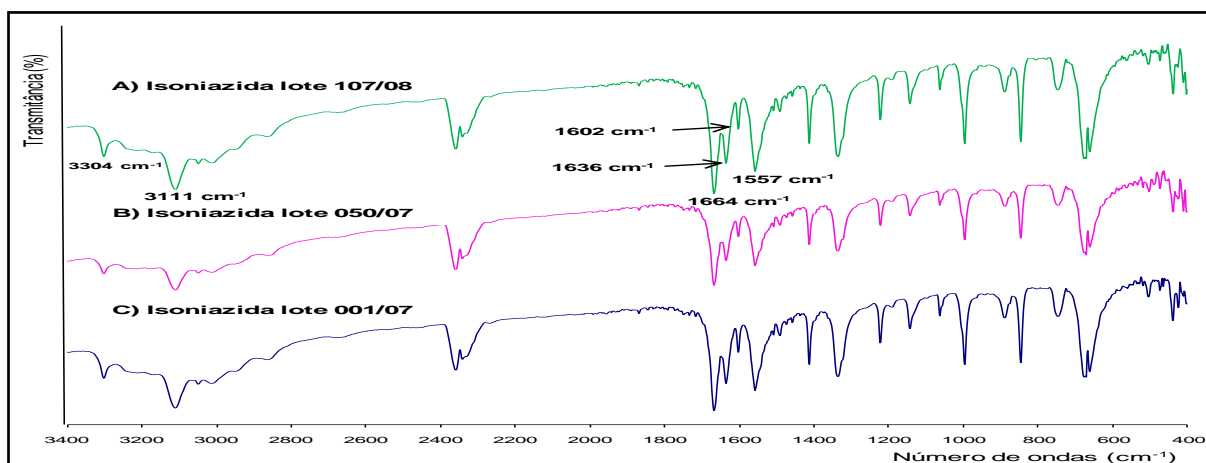


Figura 17 – espectros das absorções máximas de IV dos lotes de isoniazida. A) lote 107/08; B) lote 050/07 e C) lote 001/07.

Os resultados das curvas de DSC (Figura 18) mostram que todas as amostras analisadas possuem curva endotérmica de fusão dentro do intervalo de 170 a 173 °C, (USP, 2008), sendo 170, 3 °C para o padrão USP (curva A); 170 °C para os lotes 001/07 e 050/07 (curvas B e C) e 170,5 °C para lote 107/08 (curva D). Outro evento térmico observado são as curvas endotérmicas de decomposição entre 237 e 264 °C.

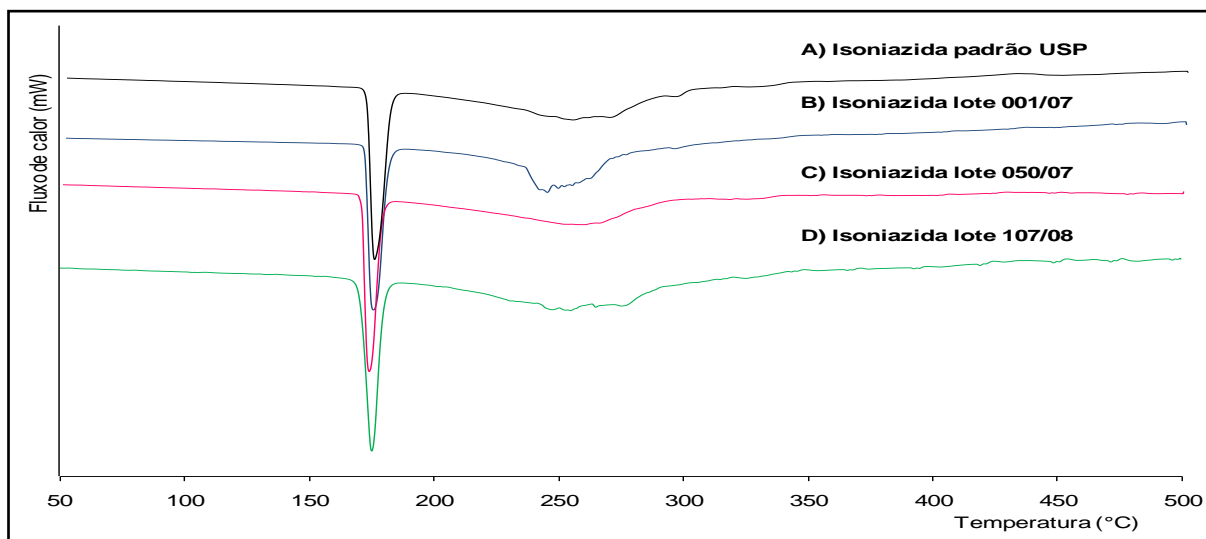


Figura 18 – curvas de DSC de: A) isoniazida padrão USP; B) isoniazida lote 001/07; C) isoniazida lote 050/07 e D) isoniazida lote 107/08.

As determinações dos teores das amostras dos lotes de H foram realizadas através da absorção de UV. Os resultados apresentados na Tabela 16 atendem as especificações da Farmacopéia Brasileira IV (98 a 102%, em base seca).

Tabela 16 - teores dos lotes amostras de isoniazida. Determinação realizada por absorção no UV em 265 nm.

Ativo	Lote	Teor
Isoniazida	001/07	99 %
Isoniazida	050/07	99,1%
Isoniazida	107/08	100 %

Através da associação das técnicas de DSC, DRX e IV, conclui-se que as amostras de H analisadas não exibem polimorfismo. Foi escolhido o lote 001/07 para o desenvolvimento das formulações DFC 3 em 1 porque era a amostra disponível em maior quantidade.

4.1.1.2 Rifampicina

É de conhecimento que a R pode ser encontrada em várias formas polimórficas e que a solubilidade entre elas varia principalmente pelo tamanho de sua partícula, grau de pureza dos cristais, interações eletrostáticas e pH do meio – em pH 6,8 a forma amorfa apresenta maior dissolução intrínseca do que as isoformas I e II e, em pH 2,0 a isoforma II apresenta menor dissolução intrínseca do que a forma amorfa e esta é ligeiramente menor do que a isoforma I (AGRAWAL et al, 2004).

O emprego da DRX evidencia, para as quatro amostras analisadas de R, que as substâncias são predominantemente cristalinas, possuem padrões da DRX semelhantes, mas com picos em posição de ângulo 2θ diferentes e que podem caracterizar presença de polimorfos (Figura 19).

O lote 0805045M possui padrão de DRX distinto dos demais lotes de R. Na Figura 19 as setas destacam os principais picos que diferenciam esta amostra das outras, enquanto as elipses evidenciam os picos em comum.

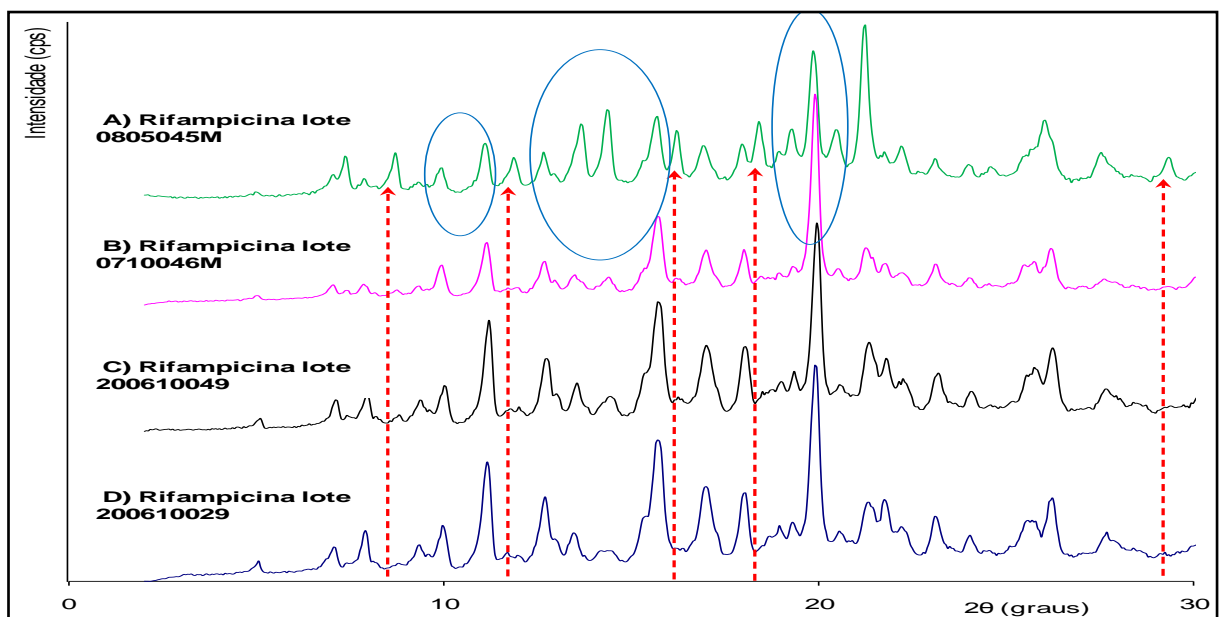


Figura 19 – padrões da DRX dos três dos três lotes de rifampicina: A) lote 0805045M, onde as setas pontilhadas vermelhas apontam para ângulos exclusivos desta amostra e as elipses azuis destacam os principais ângulos comuns às quatro amostras; B) lote 0710046M; C) lote 200610049 e D) lote 200610029.

O polimorfo I da R é caracterizado pela presença de picos nos ângulos 2θ de 13,65 e 14,65° enquanto o polimorfo II possui ângulos 2θ de 9,93 e 11,1° (AGRAWAL et al, 2004). Na Figura 19 os ângulos 2θ de 8,65°, 11,8°, 16,2°, 18,4° e 29,25° (setas pontilhadas vermelhas) pertencem exclusivamente ao lote 0805045M

e os ângulos 2θ de $9,95^\circ$, $11,1^\circ$, $12,65^\circ$, $13,6^\circ$, $14,35^\circ$, $15,6^\circ$ e $19,85^\circ$ (elipses azuis) são comuns aos quatro lotes.

A presença dos ângulos 2θ de $9,95^\circ$, $11,1^\circ$ e $13,6^\circ$ no lote 0805045M permite classificá-lo como polimorfo II, contendo mistura da forma amorfa ou do polimorfo I (forma metaestável), fato que explica os diferentes picos encontrados para o lote 0805045M (Tabela 17) (AGRAWAL et al, 2004).

Tabela 17: valores dos ângulos 2θ característicos dos polimorfos I e II de rifampicina nas análises da DRX.

Forma	Valor de 2θ ($^\circ$)	Valor de 2θ ($^\circ$)
	literatura	rifampicina lote 0805045M
Polimorfo I	13,65 e 14,65	-
Polimorfo II	9,93 e 11,1	-
Rifampicina 0805045M (setas)	-	8,65 e 11,8
Rifampicina 0805045M (elipses)	-	9,95; 11,1; 13,6 e 14,35

Nota: descrições entre parênteses referem-se à Figura 19.

Os resultados dos espectros de IV das amostras de R podem ser observados na Figura 20. Nota-se claramente que o lote 0805045M (letra A) possui espectro que difere dos demais lotes na faixa entre 1700 a 1800 cm^{-1} . Segundo Pelizza e outros (1977) e Agrawal e outros (2004) o espectro de IV do polimorfo II de R apresenta absorções máximas em 3443 cm^{-1} para a $-\text{OH}$ da cadeia ansa, 1713 cm^{-1} para o grupo acetil e em 1734 cm^{-1} para o grupo furanona de R enquanto o polimorfo I possui bandas de absorção máxima na análise de IV em 3480 , 1725 e 1644 cm^{-1} , respectivamente, para estes grupos químicos.

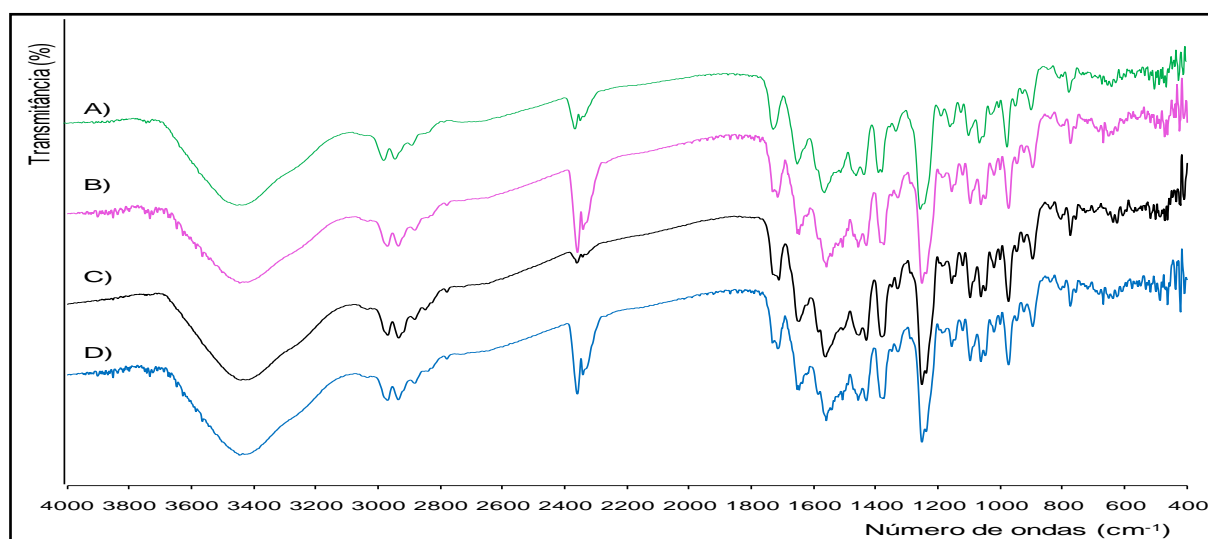


Figura 20 – espectros de IV dos lotes de rifampicina. A) lote 0805045M; B) lote 0710046M; C) 200610049 e D) 200610029.

Na análise do espectro do lote 200610029, que é análoga para os espectros dos lotes 200610049 e 0710046M, se observa máximas absorções em 3446, 1716 e 1734 cm^{-1} para a $-\text{OH}$ da cadeia ansa, para o grupo acetil e para o grupo furanona, respectivamente, que permite caracterizar estas amostras como polimorfo II de R (Figura 21) (PELIZZA et al, 1977; AGRAWAL et al, 2004).

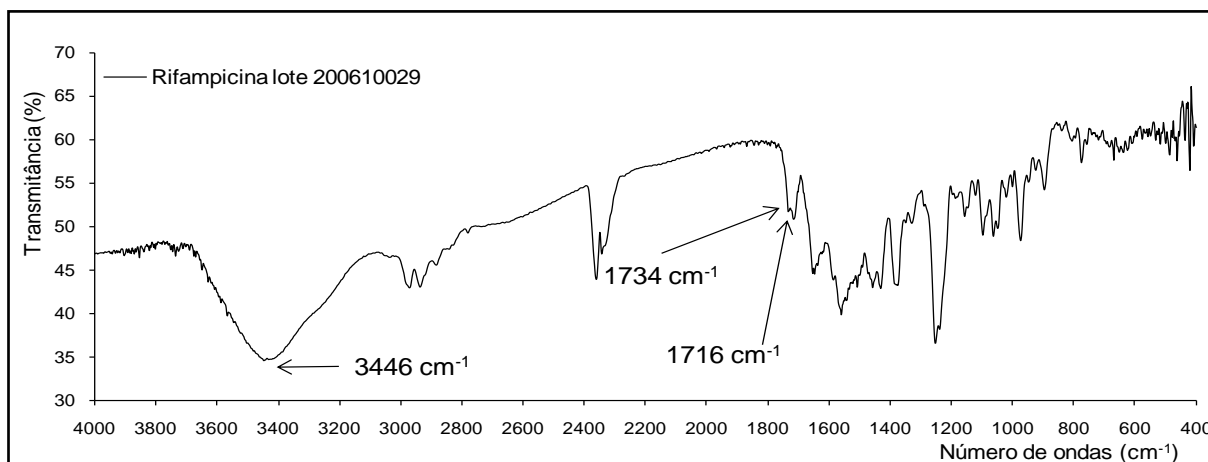


Figura 21 – espectro de IV do lote de rifampicina 200610029. Principais bandas de absorção no IV observadas: em 3446 cm^{-1} $-\text{OH}$ da cadeia ansa, em 1716 cm^{-1} do acetil e 734 cm^{-1} da furanona.

Na análise espectral de IV do lote 0805045M as absorções máximas ocorrem em 3442 cm^{-1} para $-\text{OH}$ da ligação ansa, 1724 cm^{-1} o acetil e 1637 cm^{-1} para a furanona e conforme relatado no item 1.2.2 deste projeto, R também é encontrada na amorfa, que por sua vez, possui faixa de absorção máxima no IV de 3565 a 3150 cm^{-1} para a $-\text{OH}$, além de absorções em 1723 cm^{-1} para o acetil e em 1644 cm^{-1} para a furanona (Figura 22) (AGRAWAL et al, 2004).

Portanto, a amostra 0805045M de R é, na realidade, uma mistura do polimorfo II com a forma amorfa de R.

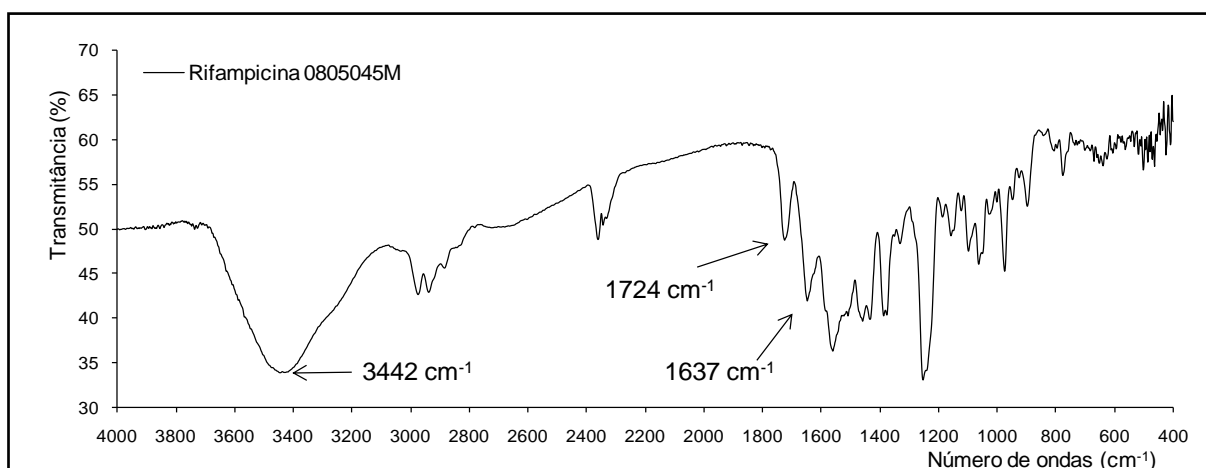


Figura 22 – espectro de IV do lote de rifampicina 0805045M. Principais bandas de absorção no IV observadas: em 3442 cm^{-1} $-\text{OH}$ da cadeia ansa, em 1724 cm^{-1} do acetil e 1637 cm^{-1} da furanona.

Na caracterização das amostras de R pela técnica de DSC, Agrawal e outros (2004) comprovaram que o polimorfo I apresenta curva endotérmica de fusão entre 183 e 197 °C e uma curva exotérmica de decomposição entre 255 e 256 °C e, o polimorfo II, mostra curva endotérmica de fusão entre 184 e 197 °C, imediatamente seguida de curva exotérmica de recristalização (polimorfo II passando a polimorfo I) entre 197 e 203 °C, decompondo-se entre 255 a 266 °C.

A faixa do ponto de fusão de R da literatura é de 183 a 188 °C (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009).

A Figura 23 representa as curvas de DSC das amostras de R, incluindo o lote 200610038 que não fez parte no início dos ensaios pelo motivo explicado no item 4.4. Nota-se que todas as amostras possuem o mesmo padrão de curvas. Os números 1, 2 e 3, destacados na curva A, correspondem ao evento endotérmico de fusão e aos eventos exotérmicos de recristalização e decomposição, respectivamente, para todos os lotes (letras B, C, D, E e F) analisados de R. Esta sequência de eventos, conforme discutido anteriormente, é característica do polimorfo II de R (AGRAWAL et al, 2004).

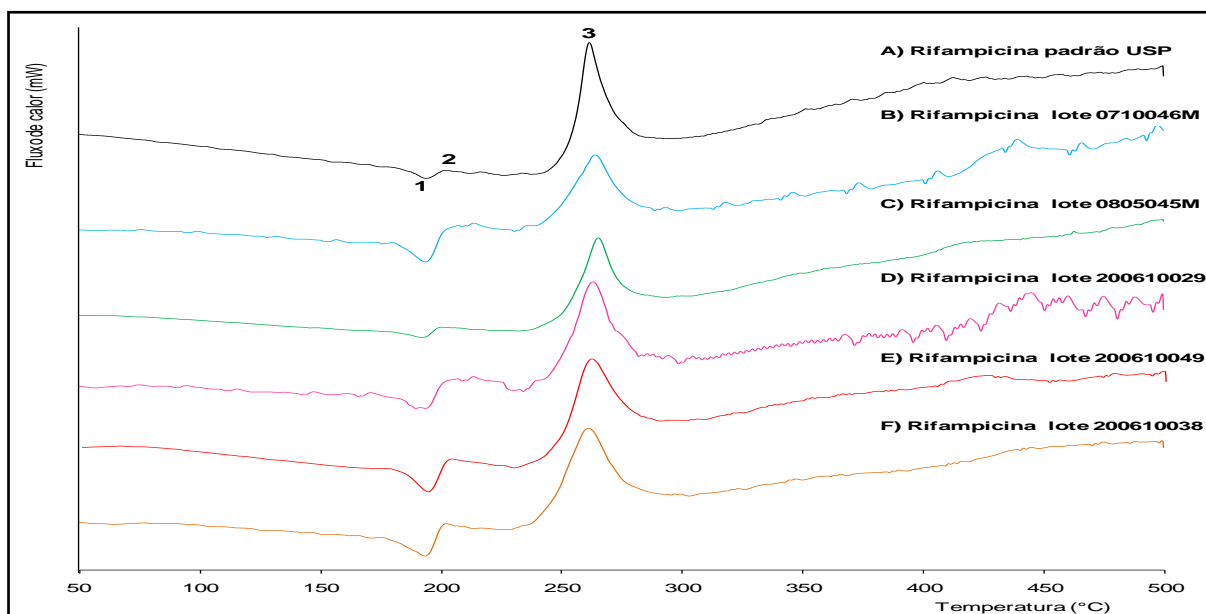


Figura 23 – curvas de DSC de: A) rifampicina padrão USP; B) rifampicina lote 0710046M; C) rifampicina lote 0805045M; D) rifampicina lote 200610029; E) rifampicina lote 200610049 e F) rifampicina lote 200610038. Os números 1, 2 e 3 destacados na curva A) correspondem aos eventos endotérmicos de fusão e eventos exotérmicos de recristalização e decomposição, respectivamente, para todos os lotes (B, C, D, E e F) analisados de rifampicina. Esta sequência de eventos é característica do polimorfo II.

Os pontos de fusão encontrados para as amostras de R na análise por DSC estão listados na Tabela 18 e todos estão dentro da faixa descrita na literatura para R.

Tabela 18 - pontos de fusão das amostras de rifampicina obtidos através da DSC.

Amostra	Ponto de Fusão (°C)
Teórico	183 a 188
Rifampicina padrão USP	188,6
Rifampicina 0710046M	184,4
Rifampicina 0805045M	187,8
Rifampicina 200610029	184,3
Rifampicina 200610049	185,6
Rifampicina 200610038	183,1

As análises conjuntas da DRX, do IV e da DSC confirmam que todas as amostras de R estudadas são do polimorfo II, sendo o lote 0805045M uma mistura com a forma. A investigação da forma polimórfica é importante porque o grau de solubilidade de uma substância polimórfica varia significativamente para um mesmo composto. Em geral, para R, a forma amorfa é a mais solúvel (HALEBLIAN; MCCRONE, 1969).

R foi doseada pela utilização da CLAE. O gradiente de eluição da fase móvel (Tabela 2, página 71) recomendado pela USP 31 não prevê intervalo para estabilização da coluna entre as injeções das amostras, sendo assim, os resultados inicialmente obtidos foram ruins (picos sobrepostos). Entretanto, com o acréscimo de 10 minutos de corrida entre as injeções (MOHAN et al, 2003), os sinais apresentaram boa resolução, baixo fator caudal e alto número de pratos teóricos (Tabela 19).

Tabela 19 - resultados das análises, por CLAE, das amostras de rifampicina.

Amostra	Tempo de retenção (min)	Área (mVs)	Peso (%)	Pratos Teóricos	Fator <i>Tailing</i>	Desvio padrão relativo	Teor (%)
Padrão USP	11,6	4334,5	605,9	58071,0	1,1	0,4	98,3
Rifampicina 200610029	11,6	3986,2	551,3	58038,0	1,1	1,4	92,3
Rifampicina 200610038	11,6	4313,6	597,3	54958,0	1,4	1,6	98,2
Rifampicina 200610049	11,6	3997,4	559,6	57971,0	1,1	1,1	92,6
Rifampicina 0805045M	11,6	4248,1	574,2	54832,0	1,1	1,3	98,5
Rifampicina 0710046M	11,6	3936,0	530,1	54643,0	1,1	1,8	91,2

Observando o cromatograma da Figura 24, nota-se que a mudança de eluição do gradiente (intervalo de tempo entre 5 e 16 minutos) acarreta em fortes interferências, fato que justifica o tempo para estabilização da coluna entre as injeções e que não está descrito na USP 31.

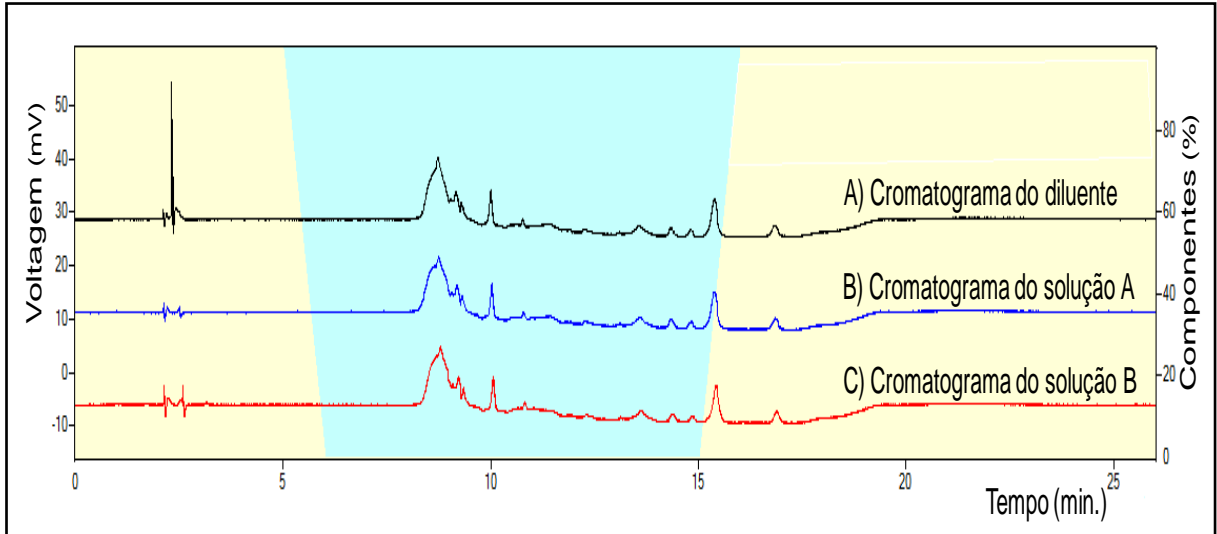


Figura 24 – cromatogramas das soluções A e B do gradiente de eluição da fase móvel (letras B e C) e do diluente utilizados nos ensaios de CLAE para o doseamento dos ativos no DFC 3 em 1. O intervalo de tempo entre 5 e 16 minutos destaca a inversão do gradiente de eluição (passagem de isocrático para linear) e suas respectivas interferências na coluna até atingir o equilíbrio novamente (20 minutos).

A Figura 25 representa os cromatogramas das injeções em triplicata do padrão USP de R. Observa-se que os sinais são sobreponíveis (mesmo tempo de retenção) e apresentam boa resolução, fatos que sinalizam a aplicabilidade do método nas análises de teor de R.

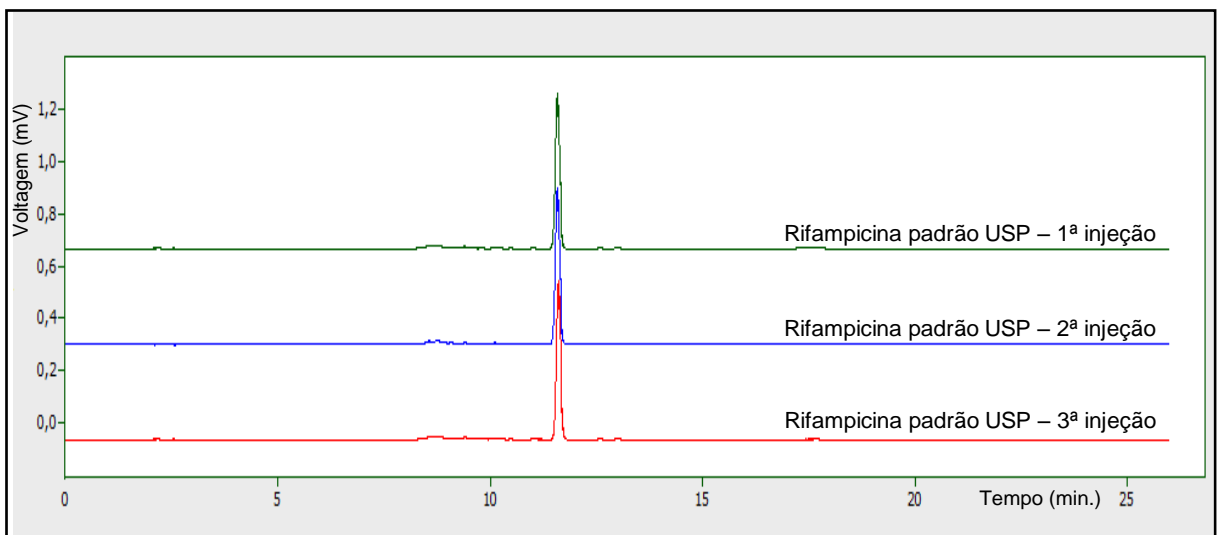


Figura 25 – cromatogramas do padrão USP de rifampicina.

Os resultados das respostas cromatográficas do padrão USP e dos lotes amostras de R, média de três injeções, estão apresentados na Tabela 19 (página 94) e atendem aos parâmetros requisitados pela USP 31.

A Figura 26 representa os cromatogramas do lote 200610038 de R. Nota-se que suas respostas são equivalentes, ficando evidente a instabilidade da coluna

frente à mudança no gradiente de eluição da fase móvel, mas que pelos resultados obtidos no doseamento do ativo, não afetam na sua análise quando se utiliza o intervalo de estabilização de 10 minutos.

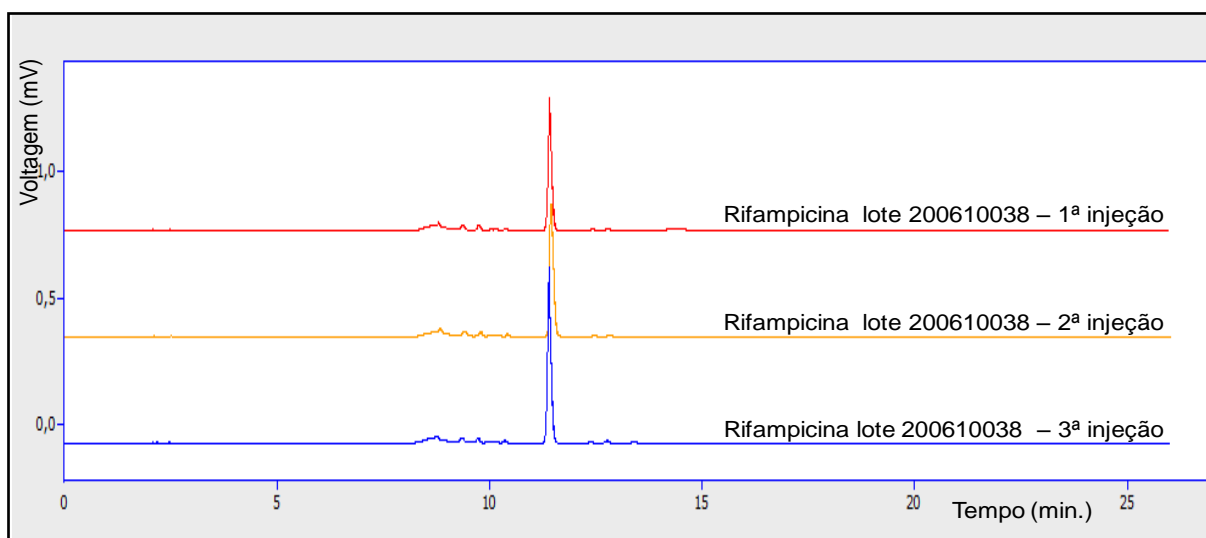


Figura 26 – cromatogramas de rifampicina lote 200610038.

O lote 200610049, apesar de apresentar menor grau de pureza (92,6%, Tabela 19 da página 94), foi o escolhido para o desenvolvimento dos primeiros comprimidos DFC 3 em 1 de duas camadas porque era a disponível em maior quantidade. Entretanto, como será visto no item 4.5, estes comprimidos apresentaram baixos índices de dissolução. Apesar do lote 0805045M ser uma mistura do polimorfo II com a forma amorfa de R (mais solúvel) e apresentar maior grau de pureza (98,5%, Tabela 19, página 94), ele não foi utilizado na produção dos DFC 3 em 1 porque foi disponibilizado em quantidade suficiente apenas para a caracterização do ativo. O lote 200610038 (grau de pureza 98,2%, Tabela 19, página 94), recebido posteriormente, foi o utilizado no desenvolvimento dos novos comprimidos DFC 3 em 1, cujos resultados nos ensaios de dissolução foram satisfatórios (item 4.5).

Na análise do cromatograma com detector de fotodiodos observa-se que o lote 200610038 não apresenta produtos de degradação, ficando visíveis as três bandas de absorção máxima de R que ocorrem em 471,1; 335,1 e 255,1nm (Figura 27) (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2009).

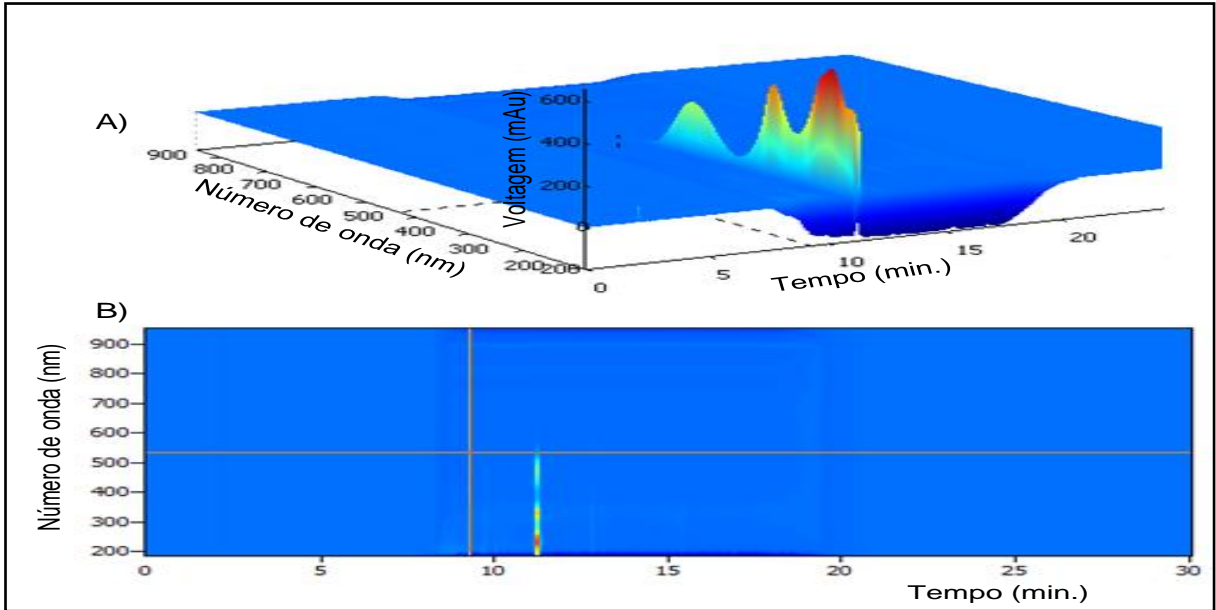


Figura 27 – detector de fotodiodos da rifampicina lote 200610038. A) vista em três dimensões e B) vista no plano.

4.1.1.3 Pirazinamida

Chis e outros (2005) comprovaram através da utilização das técnicas de ressonância magnética nuclear e IV de Raman que Z existe em duas conformações espaciais diferentes. Frente a esta informação surgiu uma expectativa de que no uso da técnica da DRX pudessem ser encontrados polimorfos de Z entre as três amostras analisadas. Castro e outros (2009) relatam a existência de quatro polimorfos já identificados de Z. Entretanto, como observado na Figura 28 (letras A, B e C) os resultados dos padrões da DRX são únicos para todos os lotes com estruturas cristalinas bem definidas, fato que caracteriza ausência de polimorfismo para as amostras analisadas (ALVES, 2007) e que é corroborado através dos resultados das técnicas de IV e DSC discutidas mais adiante.

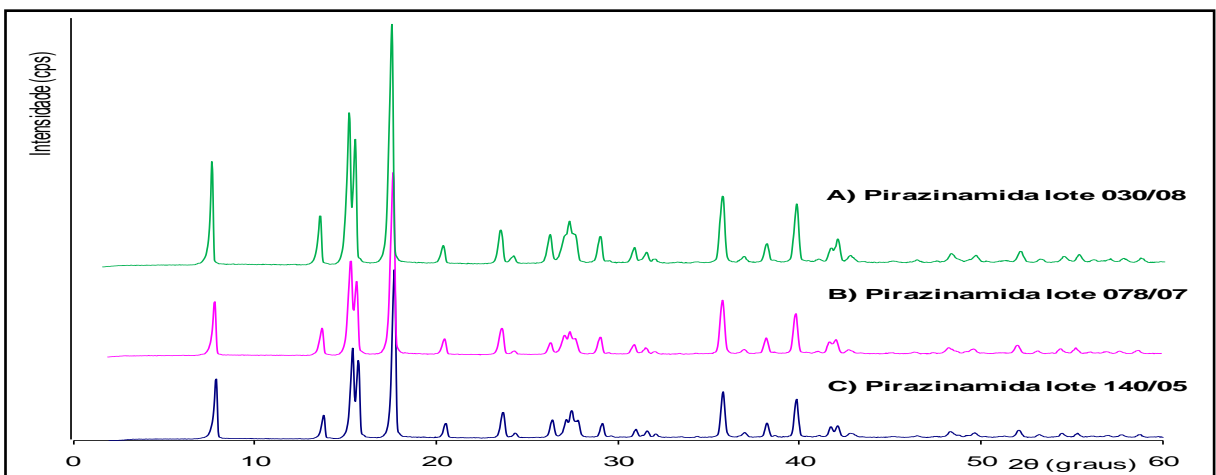


Figura 28 – padrões da DRX dos três lotes de pirazinamida: A) lote 030/08; B) lote 078/07 e C) lote 140/05.

A Tabela 20 contém os valores do ângulo 2θ dos picos de maiores intensidades para as amostras de Z. Observa-se que o lote Z 030/08 apresenta picos com intensidades semelhantes aos lotes Z 140/05 e 078/07 para ângulos 2θ iguais ou muito próximos.

Tabela 20: valores dos ângulos 2θ dos sinais de maiores intensidades para as amostras de pirazinamida.

Pirazinamida 140/05		Pirazinamida 078/07		Pirazinamida 030/08	
2θ (°)	cps	2θ (°)	Cps	2θ (°)	Cps
7,90	8705	7,90	7826	7,95	11682
15,40	13121	15,40	13610	15,45	17133
17,70	24186	17,70	26173	17,80	26788

Os resultados dos ensaios com IV dos três lotes de Z exibem espectros definidos e sobreponíveis com absorções máximas (Figura 29, espectro A) em 3412 cm^{-1} (deformação assimétrica do $-\text{NH}_2$), 3280 e 3153 cm^{-1} (deformação simétrica $-\text{NH}_2$), 1710 cm^{-1} (carbonila do grupamento amida), 1608 , 1577 e 1523 cm^{-1} (estiramento do anel) e em 1377 cm^{-1} (vibrações de estiramento $-\text{CN}$ da amida) (AKYUZ, S; AKYUZ, T, 2006). Como os três espectros possuem similaridade, suas bandas de máximas absorções correspondem às da literatura e não se observa alterações nos padrões da DRX das amostras, considera-se que os três lotes analisados correspondem a Z (KALINKOVA, 1999; JUNIOR, 2004).

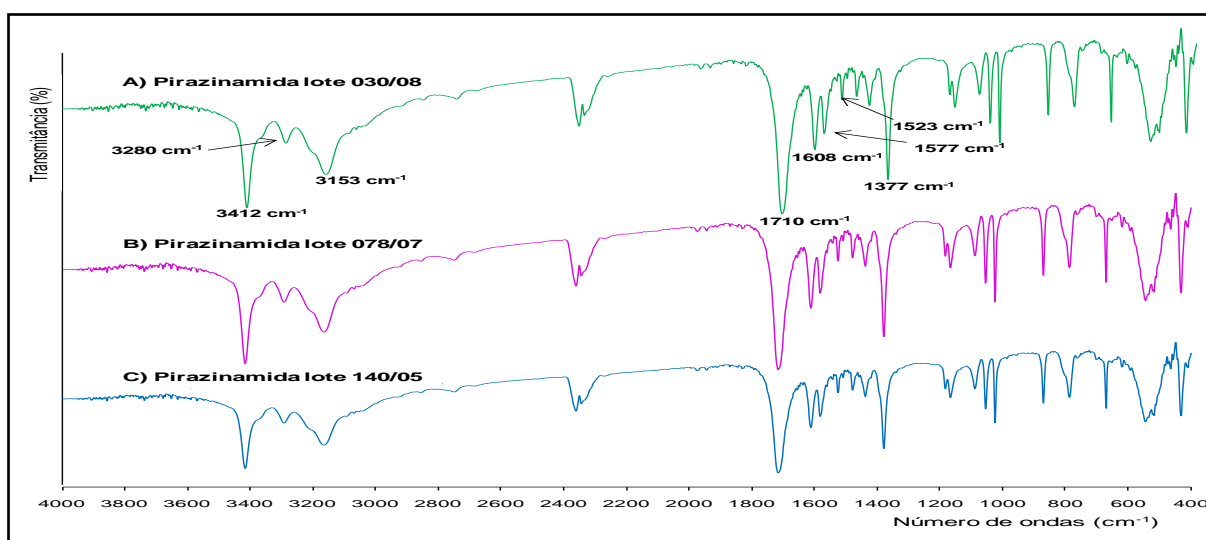


Figura 29 – espectros de IV dos lotes de pirazinamida. A) lote 030/08; B) lote 078/07 e C) lote 140/05.

A análise dos resultados das curvas de DSC (Figura 30) mostra que todos os lotes analisados de Z possuem curva endotérmica de fusão (Tabela 21) dentro do intervalo de 188 a 191 °C (USP 31, 2008). Nota-se ainda que uma pequena curva

endotérmica é observada em torno de 150 °C em todas as amostras, inclusive para o padrão USP. Este evento térmico pode estar relacionado à perda de água de hidratação ou com a vaporização de componentes da amostra ou de produtos voláteis formados durante as reações que envolvam calor (GIRON, 1994; JUNIOR, 2004).

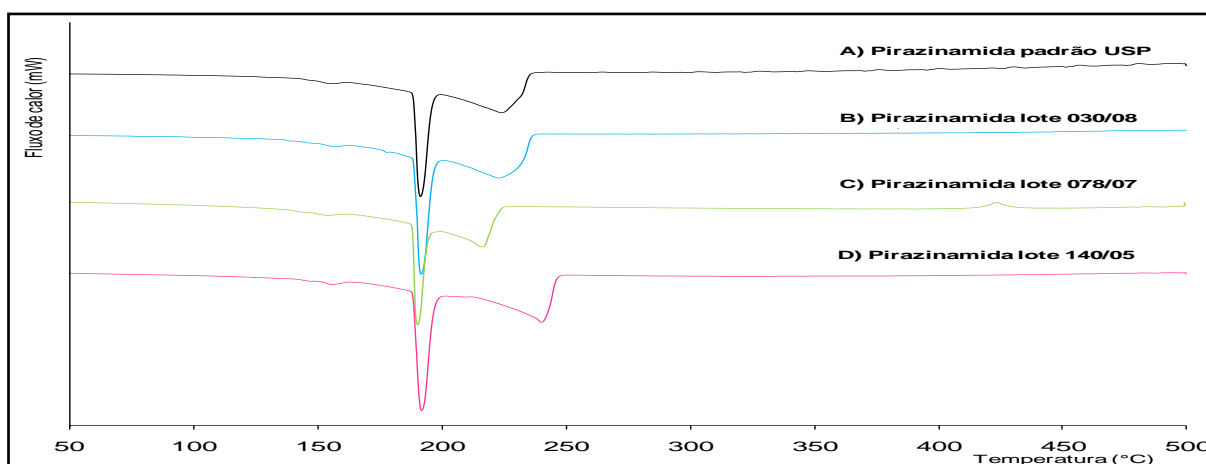


Figura 30 – curvas de DSC de: A) pirazinamida padrão USP; B) pirazinamida lote 030/08; C) pirazinamida lote 078/07 e D) pirazinamida lote 140/05.

Os últimos eventos térmicos observados são as endotermas de decomposição das amostras na faixa de 209 a 237 °C. Como nenhum outro tipo de transição física foi observado, constata-se que amostras analisadas possuem estados cristalinos únicos. Entretanto, Castro e outros (2010) relatam em sua pesquisa que a técnica de DSC não é adequada para identificar os polimorfos de Z porque todas as quatro formas poliméricas de Z fundem em torno de 188 °C.

Tabela 21 - pontos de fusão das amostras de pirazinamida obtidos através da DSC.

Amostra	Ponto de Fusão (°C)
Teórico	189 a 191
Pirazinamida padrão USP	189,4
Pirazinamida 030/08	189,0
Pirazinamida 078/07	189,1
Pirazinamida 140/05	189,5

A determinação do teor dos lotes de Z foi realizada através da técnica de absorção no UV e os resultados estão apresentados na Tabela 22, com exceção do lote 078/07, as demais amostras atendem as especificações da Farmacopéia Brasileira IV (99 a 101%, em base seca).

Tabela 22 - teores dos princípios ativos de pirazinamida. Determinação realizada por absorção no UV em 268 nm.

Ativo	Lote	Teor
Pirazinamida	140/05	99,1%
Pirazinamida	078/07	97,6%
Pirazinamida	030/08	99,5%

Os resultados obtidos no doseamento de Z atendem as especificações da Farmacopéia Brasileira IV. Os ensaios da DRX, IV e DSC foram satisfatórios na caracterização de Z, sendo selecionado o lote 030/08 para o desenvolvimento das formulações DFC 3 em 1 porque apresentou maior de pureza (99,5%, Tabela 22) quando comparado aos lotes 140/05 e 078/07. Além disso, era amostra disponível em maior quantidade.

4.1.1.4 Docusato de sódio

O DS faz parte das formulações propostas como agente promotor de dissolução de R. Foi encontrado, *a posteriori*, na literatura que este excipiente pode interagir com R provocando sua precipitação (AGRAWAL; PANCHAGNULA, 2004). Entretanto, as análises da DRX e IV para os ensaios de estabilidade não evidenciaram qualquer tipo de interação para as concentrações utilizadas nas formulações propostas (item 3.2.1). Todavia, o emprego da técnica de DSC demonstrou instabilidade para a associação. Ainda segundo Agrawal e Panchagnula (2004) o complexo insolúvel formado da interação de R com o DS, em meio ácido, se dissolve facilmente em pH alcalino e contribui para o aumento da dissolução de R, não sendo considerado portanto uma incompatibilidade.

O padrão da DRX do DS apresenta único sinal a 2θ 4,5 ° e 11.895 cps indicando ser a substância amorfa (Figura 31).

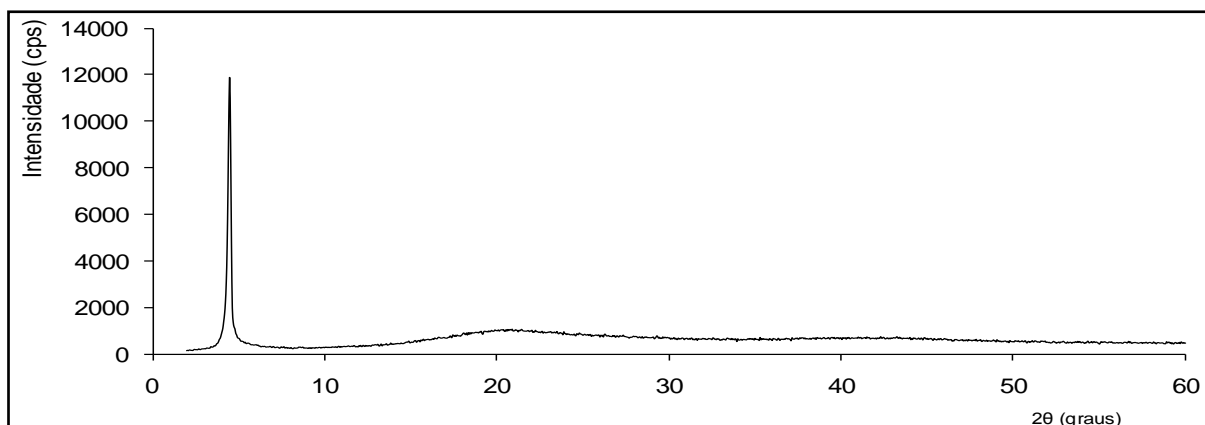


Figura 31 – padrão da DRX do docusato de sódio.

4.1.1.5 Metabissulfito de sódio

O MbS foi escolhido como agente antioxidante da formulação em virtude do conhecimento da rápida degradação de R frente a agentes oxidantes (oxigênio, por exemplo) e por não ter sido encontrado nenhuma referência literária que relatasse incompatibilidade desse excipiente com os ativos ou demais componentes da formulação.

O padrão da DRX do MbS mostra picos bem definidos que evidenciam uma organização da rede cristalina. Os picos com maiores intensidades ocorreram em 29,9°, 34,6°, 46,5° e 50,1° (Figura 32) (JUNIOR, 2004; ALVES, 2007; TIBOLA, 2009).

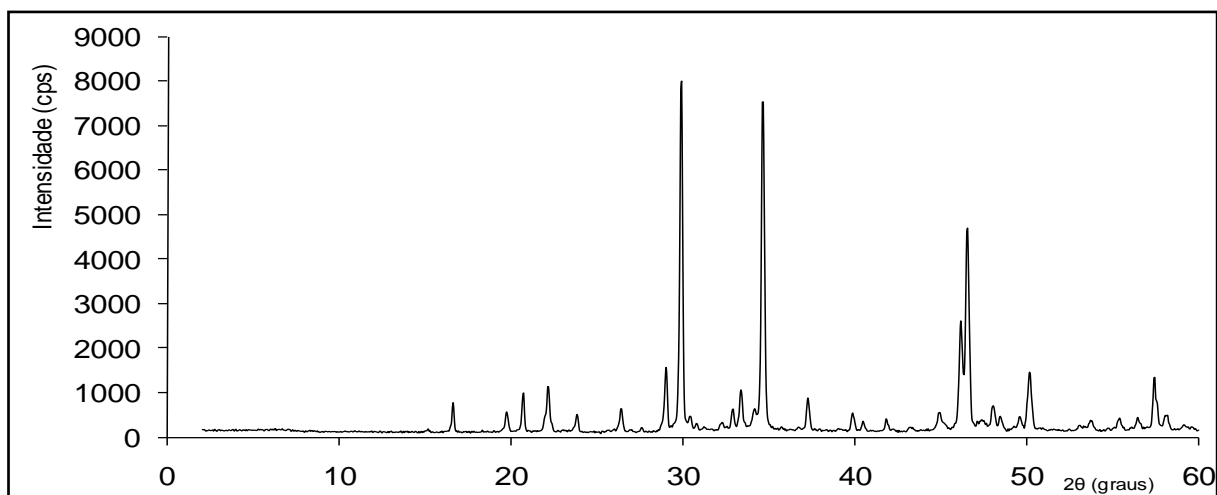


Figura 32 – padrão da DRX do metabissulfito de sódio.

4.1.2 Ensaio de estabilidade da formulação 01: rifampicina lote 200610049

É descrito em literatura que os produtos de degradação de R em soluções ácidas são o 3-formil-rifamicina e o 1-amino 4-metil piperazina e, em soluções alcalinas, em presença de oxigênio, forma-se riampicina quinona (GALLO; RADAELLI, 1976; SINGH et al, 2001). Apesar de não ter sido estudado soluções, a possibilidade da formação de alguns desses produtos de degradação, frente as condições impostas na câmara climática, era possível e, dependendo da sua concentração, poderia ser detectada através dos ensaios da DRX, IV ou CLAE.

O emprego da técnica da DRX não evidencia o surgimento ou desaparecimento de picos durante os 90 dias de estudo (Figura 33). Neste período R manteve sua cristalinidade mesmo sob as condições adversas (40 °C e 75% UR) da câmara climática. Cabe ressaltar que a degradação pode ter ocorrido em

pequena proporção, fato que pode inviabilizar sua detecção nos ensaios com DRX e IV. O ensaio foi realizado conforme detalhado no item 1.5.1.

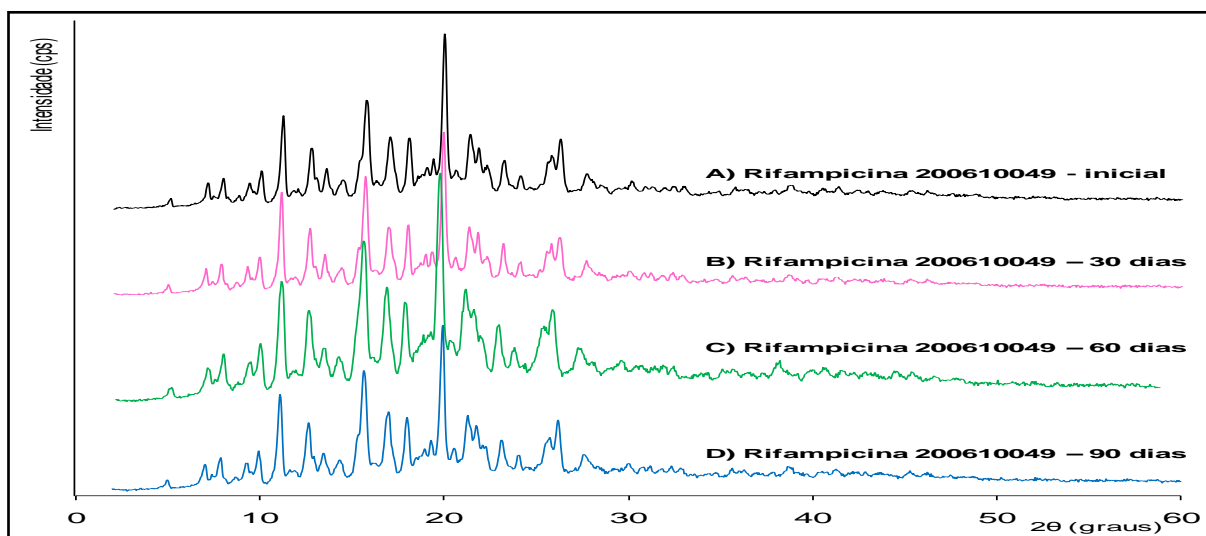


Figura 33 – padrões da DRX de rifampicina lote 200610049 mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias.

Na Tabela 23 encontra-se os valores dos sinais mais intensos em 2θ para as análises dos ensaios de estabilidade de R 200610049. Nota-se que os picos resultantes da análise após 90 dias são equivalentes aos da análise inicial, fato que demonstra a estabilidade do ativo nas condições de ensaio.

Tabela 23 - valores dos ângulos 2θ das análises de DRX encontrados para o ensaio de estabilidade de rifampicina lote 200610049 em câmara climática a 40 °C \pm 75% de UR por 90 dias.

Rifampicina lote 200610049							
Análise inicial		Análise após 30 dias		Análise após 60 dias		Análise após 90 dias	
2θ (°)	Cps	2θ (°)	cps	2θ (°)	cps	2θ (°)	Cps
11,2	3833	11,1	3743	11,25	2932	11,1	3493
15,7	4440	15,75	4262	15,75	3924	15,65	4312
19,95	7052	19,9	5818	20,05	5501	19,95	5861

Na Figura 34 estão representados os espectros de IV de R lote 200610049 que não exibem alterações das bandas da $-OH$ da cadeia ansa (3446 cm^{-1}), do grupamento acetil (1716 cm^{-1}) e do grupamento furanona (1734 cm^{-1}) durante os 90 dias em que ficaram armazenados na câmara climática. Esses resultados complementam as análises da DRX, corroborando com a afirmativa de que a amostra é estável nas condições empregadas na formulação.

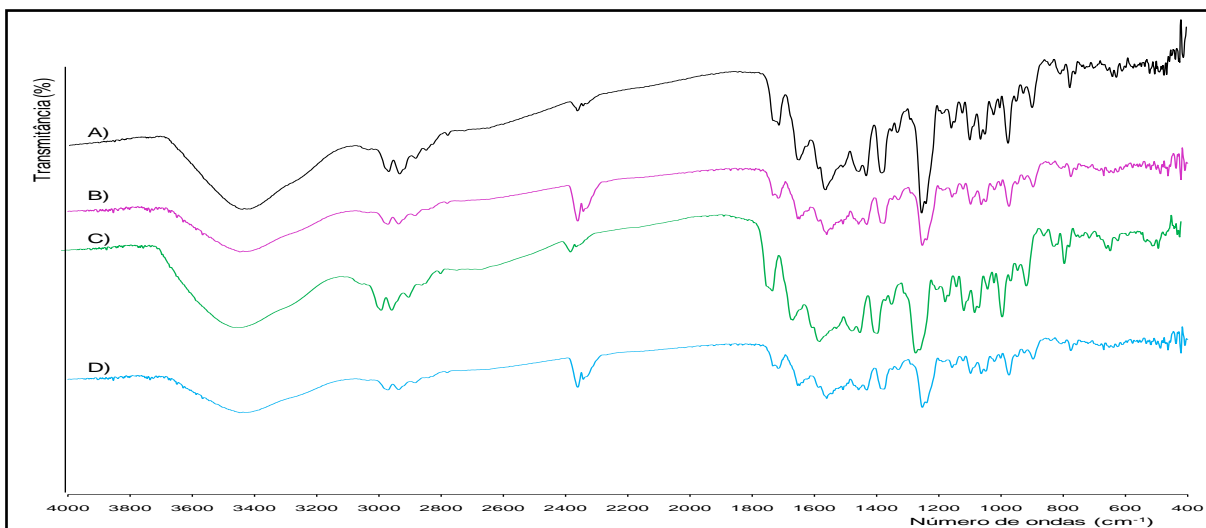


Figura 34 – espectros de absorção de IV de rifampicina lote 200610049 (formulação 01) mantida em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias.

Para finalizar os ensaios de estabilidade da amostra de R lote 200610049 foi empregado a técnica de DSC. Os resultados das curvas estão apresentados na Figura 35. Nota-se que a endoterma de fusão (185,6 °C) da análise inicial é a mesma após os 90 dias de acondicionamento em câmara climática. Durante este período não se observa qualquer outro tipo de evento térmico sobre a amostra. As curvas de DSC (fusão, recristalização e decomposição) são as mesmas para as duas análises e coincidem com as análises da DRX e do IV de que a amostra é estável nas condições do ensaio.

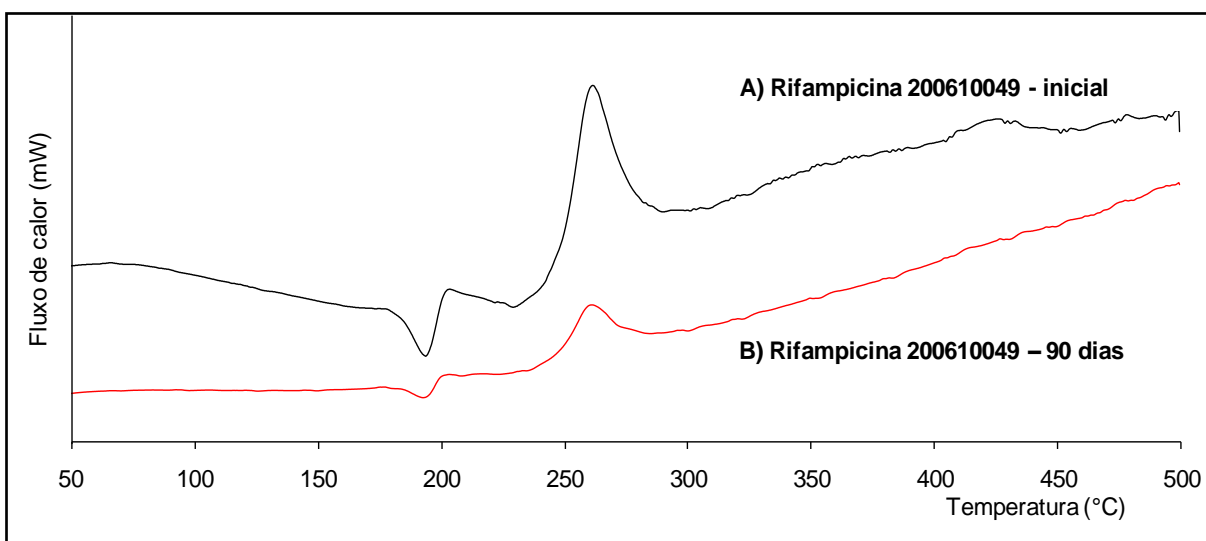


Figura 35 – curvas de DSC de rifampicina lote 200610049 para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR.

4.1.3 Ensaios de compatibilidade

4.1.3.1 Formulação 02: compatibilidade da rifampicina com a pirazinamida no EA

O EA desses dois ativos é importante para descartar interações químicas e/ou físicas de R com Z. Como a via de produção do DFC 3 em 1 para a camada de liberação imediata é a granulação com solução alcoólica de PVP a 10%, todos os empastamentos foram realizados com etanol para manter as características originais de produção. Não foram encontrados na literatura pesquisada relatos sobre a incompatibilidade desses dois ativos. Pelo contrário, Singh e outros (2001) afirmam que a degradação de R na presença de Z é insignificante.

Para identificação de produtos cristalinos a DRX é de aplicação muito útil, e, numa mistura de pó, cada fase cristalina produz o seu padrão da DRX independente dos outros componentes da mistura, e sem a necessidade de separação do fármaco dos excipientes (PHADNIS, 1997).

A análise dos padrões da DRX A e B do EA de R lote 200610049 com Z lote 030/08 mostra que a formulação é estável por não apresentar novos sinais e por manter a cristalinidade das amostras (Figura 36). Os retângulos vermelhos destacam as coalescências dos sinais em 2θ a $4,85^\circ$, $11,65^\circ$, $12,6^\circ$, $15,5^\circ$ e $18,45^\circ$ ocorridas na análise de 90 dias (padrão da DRX B). Este fato pode estar relacionado ao pequeno grau de amorfização dos ativos que ocorre durante a fase de empastamento (1:1) com o etanol ou a uma pequena degradação. Estudo de estabilidade com tempo maior deve ser realizado para a confirmação do fato (BRASIL, 2005).

A comparação dos padrões da DRX dos ativos isolados (C e D) com os EA (A e B) mostra que há uma predominância dos sinais de Z sobre R após o EA. Este fato pode ter acontecido em função da recristalização simultânea dos dois fármacos após evaporação do etanol, o que não é indício de degradação das substâncias porque no ensaio de doseamento dos ativos nos comprimidos DFC 3 em 1, tanto R quanto Z apresentaram resultados dentro dos limites compendiais, não sendo detectado picos diferentes nos cromatogramas (Quadro 16, página 131).

Por outro lado, nota-se claramente que enquanto houve desaparecimento do pico mais intenso de R ($19,85^\circ$), os picos em 2θ a $26,35^\circ$ e $27,2^\circ$ de Z tiveram aumento de intensidade, ou seja, saíram de 1861 e 3588 cps para 3329 e 5386 cps,

respectivamente. Este acontecimento pode estar relacionado a algum tipo de interação química entre os ativos porque não está ocorrendo a sobreposição dos difratogramas da DRX das substâncias puras com a mistura (empastamento) (PHADNIS, 1997).

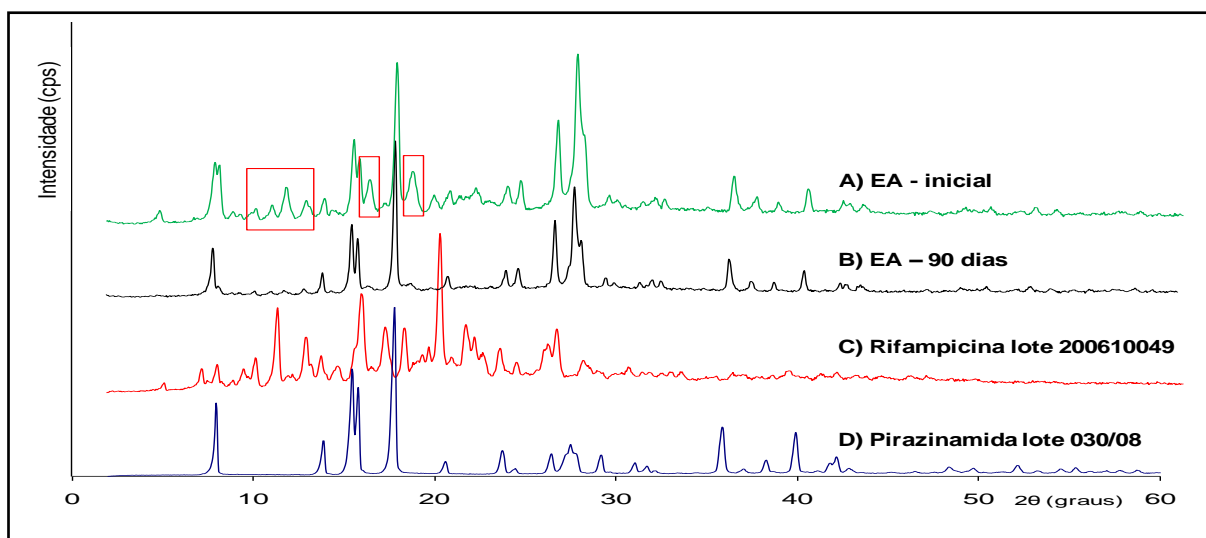


Figura 36 – padrões da DRX dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 com Pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial. Os retângulos vermelhos destacam os sinais que coalesceram durante o empastamento alcoólico; B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) Pirazinamida lote 030/08.

Os resultados da aplicação da técnica de IV no ensaio de compatibilidade entre R + Z estão apresentados na Figura 37. Os espectros A e B dos EA inicial e com 90 dias, respectivamente, não exibem desaparecimento ou surgimento de bandas durante o período de ensaio, mostrando que as substâncias são estáveis nos ensaios realizados.

Entretanto, analogamente aos resultados da DRX, quando ocorre a sobreposição dos espectros C e D (ativos isolados) sobre os espectros A ou B (EA 1:1) se observa a predominância das bandas de Z sobre R. Não se verifica mais a banda em 3443 cm^{-1} característica da $-\text{OH}$ da cadeia ansa, nem as bandas em 1713 e 1734 cm^{-1} (dublete) dos grupamentos acetil e furanona de R. Como Z possui bandas características (3412 cm^{-1} da deformação assimétrica de $-\text{NH}_2$ e 1710 cm^{-1} da carbonila do grupamento amida) muito próximas das de R e os espectros do EA (A e B) possuem bandas bem definidas em 3412 e 1708 cm^{-1} (praticamente idênticas a de Z isolada), a possibilidade de interação entre os fármacos é viável, mas o mais provável é que o fato refere-se a predominância das características químicas de Z sobre R.

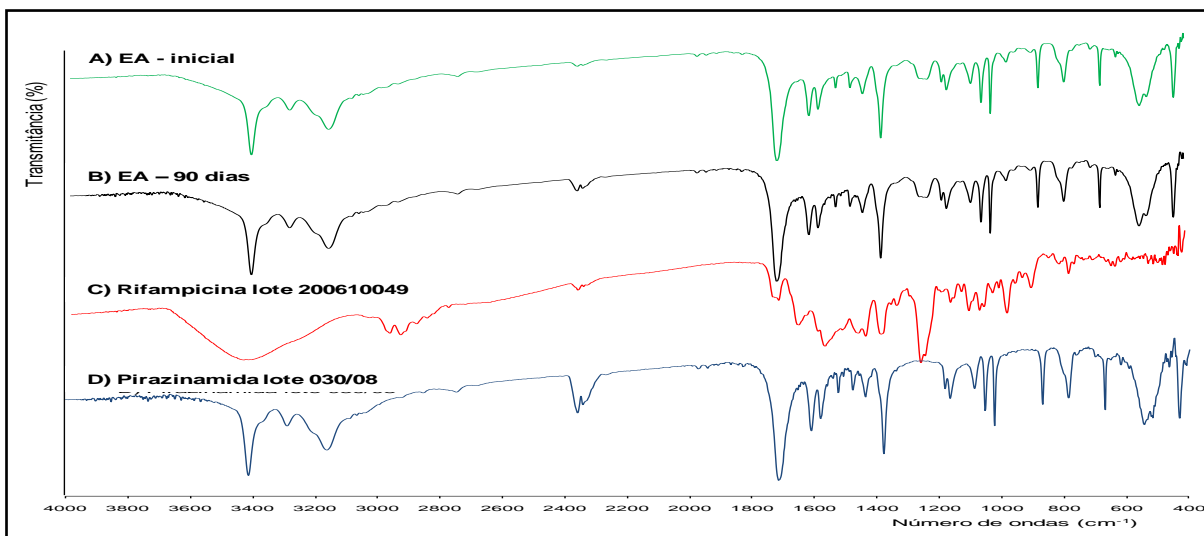


Figura 37 – espectros de IV dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial. B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) pirazinamida lote 030/08.

Na Figura 38 estão apresentados os resultados das curvas de DSC do EA de R + Z. Cabe ressaltar que o ensaio de estabilidade foi conduzido com uma amostra de R constituída pelo polimorfo II e que sua solubilização em etanol pode favorecer a formação do polimorfo I que possui características químicas e físicas completamente diferentes da do polimorfo II (PELLIZZA, 1977; AGRAWAL et al, 2004; ALVES, 2007).

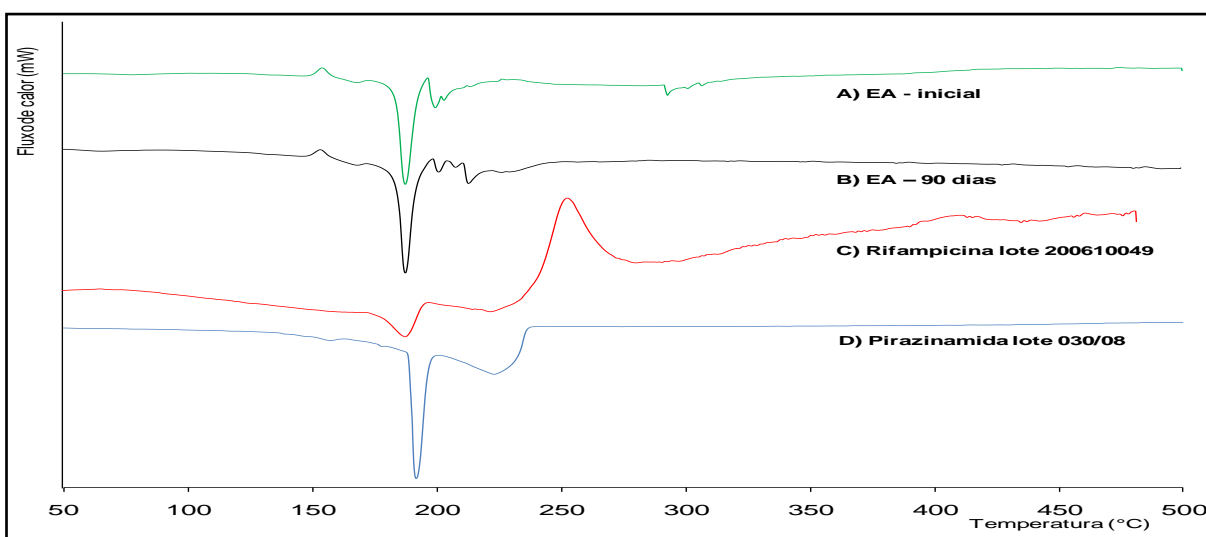


Figura 38 – curvas de DSC dos ensaios de compatibilidade do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias, onde: A) análise inicial e B) análise após 90 dias; C) rifampicina lote 200610049 e D) pirazinamida lote 030/08.

Alves (2007) comprovou que o polimorfo I não possui endoterma de fusão característica e a curva de DSC deste composto é caracterizada apenas por duas curvas exotérmicas de decomposição (268,6 e 420,9 °C).

O comportamento térmico de uma mistura de fármacos é o somatório dos eventos térmicos que ocorrem para os fármacos isoladamente (ALVES, 2007). Como consequência, a sobreposição das curvas C e D sobre A ou B (Figura 38) evidencia que seu resultado é diferente das curvas isoladamente. O primeiro evento térmico observado e invertido são as exotermas de desidratação de Z em 149,5 °C (curva A) e 148,7 °C (curva B). Giron (1995) explica que esta inversão pode acontecer com substâncias que exibem polimorfismos, como são os casos de Z e R (PELIZZA, 1977; CASTRO et al, 2010).

Em seguida ocorre evento endotérmico de fusão de R em 183,7 °C (curva A) e 184,2 °C (curva B) com deslocamento do ponto de fusão em relação a amostra pura (185,6 °C). O próximo evento térmico observado é em 198,2 °C e refere-se a endoterma de fusão de Z.

As curvas em 204,9 °C e 208,4 °C podem estar relacionados a uma mistura da forma amorfa, do polimorfo I e do polimorfo II de R ou a interações químicas entre os fármacos visto que após 90 dias (curva B) um novo evento endotérmico acontece em 211,3 °C.

Após análises dos resultados das técnicas da DRX, IV e DSC associada ao doseamento dos ativos, de uma forma geral, pode-se inferir que a formulação mostra-se instável nas condições de análise porque há evidências de interações químicas nas três técnicas analíticas utilizadas. Entretanto, como não houve sinais de decaimento de teor nos DFC 3 em 1 analisados, a associação R + Z pode ser utilizada e um monitoramento através de estudo de estabilidade mais prolongado e de outras técnicas analíticas deve ser feito.

4.1.3.2 Formulação 03: compatibilidade entre rifampicina e a pirazinamida na MF

Na Figura 39 estão os padrões da DRX da MF (1:1) de R + Z. Os resultados são bastante similares àqueles observados no EA (item 4.1.3.1) dos dois ativos. Destaca-se uma maior estabilidade para a MF porque não ocorreu a coalescências dos picos em 2θ a 4,85°, 11,65°, 12,6°, 15,5° e 18,45 ° após 90 dias (curva B) e não houve ganho de intensidade dos picos de Z em 2θ a 26,35 e 27,2°. A mistura mantém seu estado cristalino mesmo após 90 dias em câmara climática.

Estes resultados corroboram com a interpretação de que a solubilização dos ativos no etanol é responsável pela amorfização observada na formulação 02 (item

4.1.3.1) e que os dois ativos podem ser utilizados juntos, em uma mesma camada, no desenvolvimento dos comprimidos DFC 3 em 1.

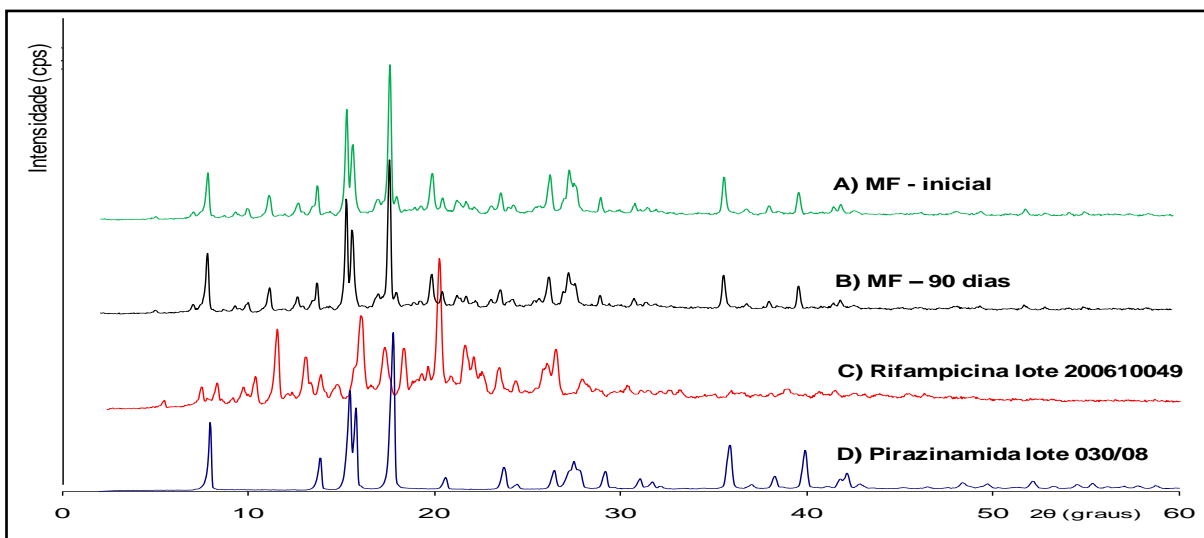


Figura 39 – padrões da DRX da MF de rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 mantida em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) MF de 30 dias; C) MF de 60 dias e D) MF de 90 dias.

A interpretação dos resultados do IV para a MF (1:1) de R + Z (Figura 40) é bastante similar àquela empregada no EA (item 4.1.3.1). Ocorreu a supressão das banda em 3443 cm^{-1} , característica da $-\text{OH}$ da cadeia ansa e as bandas em 1713 e 1734 cm^{-1} (dublete) dos grupamentos acetil e furanona de R, eventos que deram aos espectros A e B semelhança apenas com o espectro D.

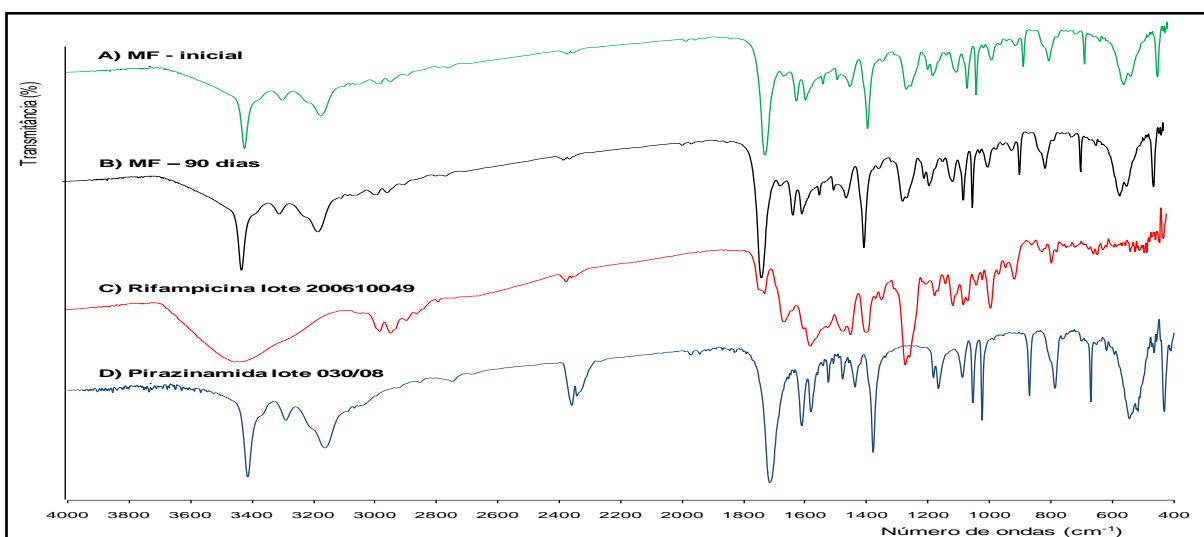


Figura 40 – espectros de absorção de IV da MF entre rifampicina lote 200610049 com pirazinamida lote 030/08 (formulação O3) mantida em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) análise com 30 dias; C) análise com 60 dias e D) análise com 90 dias.

A análise dos resultados das curvas de DSC para a MF (1:1) de R + Z evidencia o deslocamento dos pontos de fusão de R + Z tanto na análise inicial

(tempo zero) quanto após 90 dias de armazenamento em câmara climática (sobreposição das curvas C e D sobre as curvas A e B) (Figura 41). Os eventos endotérmicos de fusão ocorreram em 181,8 °C (curva A) e 184,2 °C (curva B) para a R, que, pura, funde-se em 185,6 °C (curva C) e, em 193,8 °C (curva A) e 194 °C (curva B) para Z que, isolada, funde-se em 189,0 °C). Estes resultados são sugestivos de que ocorre interação química entre as substâncias porque no somatório dos eventos térmicos ocorrem deslocamentos dos pontos de fusão tanto de R quanto de Z.

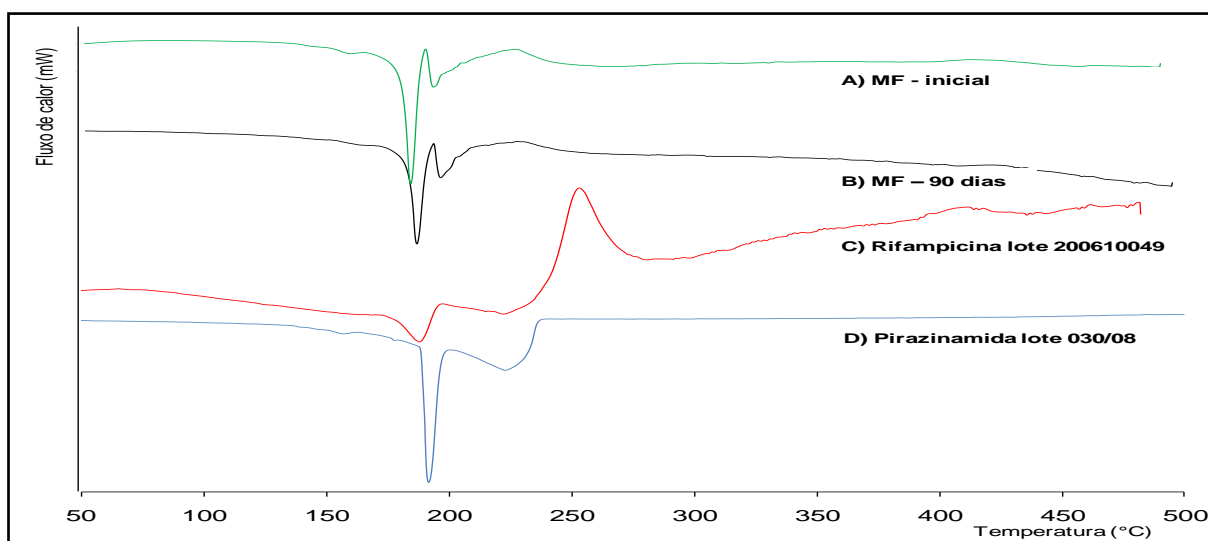


Figura 41 – curvas de DSC da MF de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR.

4.1.3.3 Formulação 04: compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida e docusato de sódio no EA

As considerações a respeito da utilização do DS na formulação já foram discutidas no item 4.1.1.4.

Os resultados da Figura 42 não evidenciam qualquer tipo de interação entre os ativos e o DS que teve o sinal suprimido em 2θ 4,5 ° durante o empastamento etanólico. Os padrões da DRX são típicos de uma substância cristalina que não sofreu deterioração nos 90 dias de ensaio. Entretanto, as mesmas interpretações realizadas no EA de R + Z (item 4.1.3.1) se repetem nesta formulação.

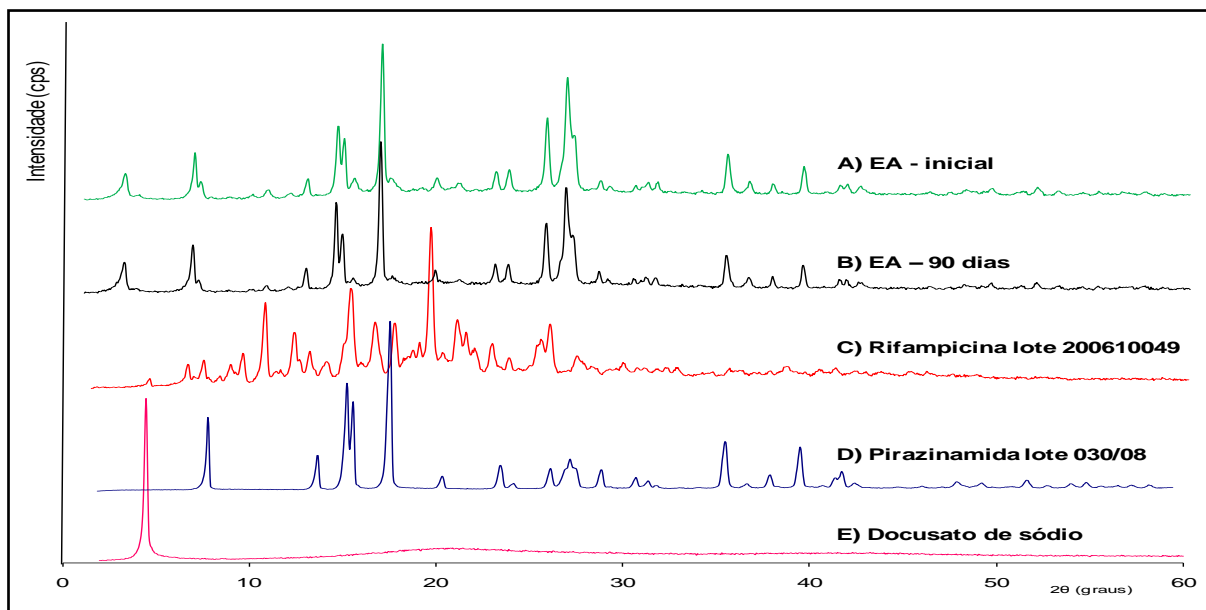


Figura 42 – padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e docusato de sódio mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico de 90 dias; C) rifampicina lote 200610049, D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio.

O DS apresenta bandas de absorção máximas em 2954, 2922, 1732 e 1045 cm^{-1} que não puderam ser observadas na sobreposição dos espectros A e B da Figura 43. As únicas observações com relação a esta formulação são referentes ao EA de R + Z discutidas no item 4.1.3.1.

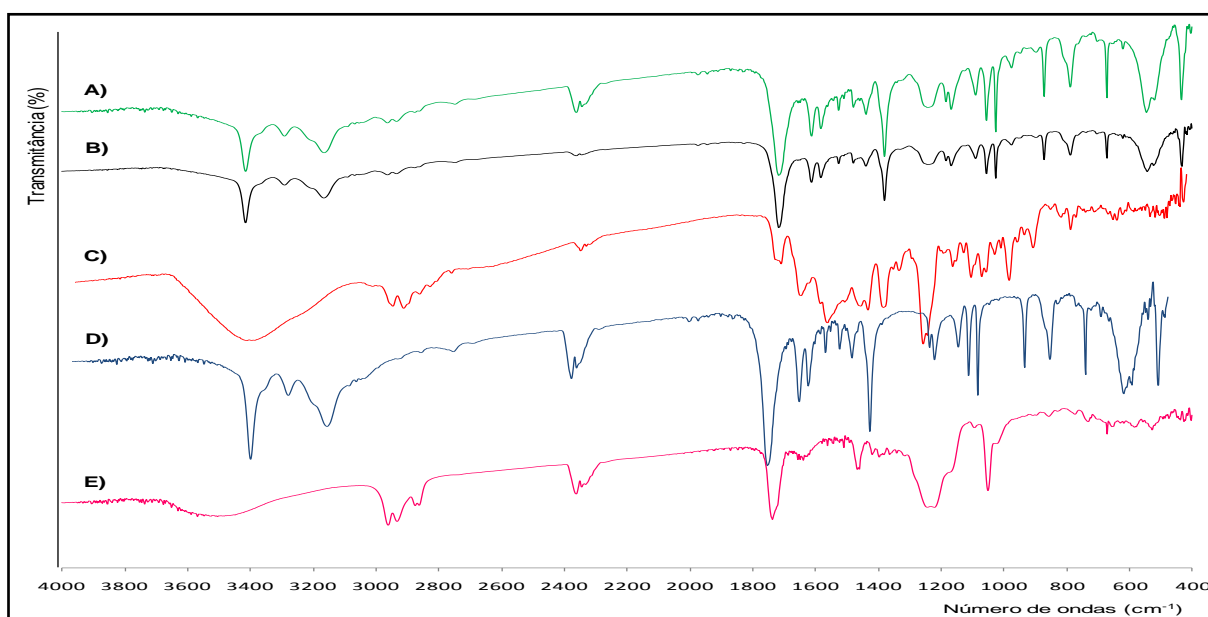


Figura 43 – espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e docusato de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio.

A curva de DSC do DS apresenta um pequeno evento endotérmico de desidratação em 154,7 °C, seguido de outra exoterma a 276,2 °C referente a sua decomposição (GIRON, 1995) (Figura 44). Entretanto, a associação deste excipiente com a R + Z no EA (1:0,1) acarreta em eventos exotérmicos bem distintos nas curvas A e B quando da sobreposição das curvas C, D e E. Nota-se, claramente, um grande deslocamento das curvas do ponto de fusão para R (de 185,6 para 174,9 °C) e para Z (de 189,0 para 186,1 °C) na análise inicial (curva A).

A formulação não se mostra estável e observa-se que na análise com 90 dias (curva B) o registro de fusão para R é de 173,3 °C e de 197 °C para Z com curva exotérmica de maior resolução. Cabe ressaltar que o peso das amostras é de 3 mg para todos os ensaios, fato que descarta a possibilidade da variação da massa estar interferindo nos resultados. Agrawal e Panchagnula (2004) já descreveram sobre a provável interação do DS com a R na forma um complexo que pode estar sendo o responsável pela instabilidade da formulação.

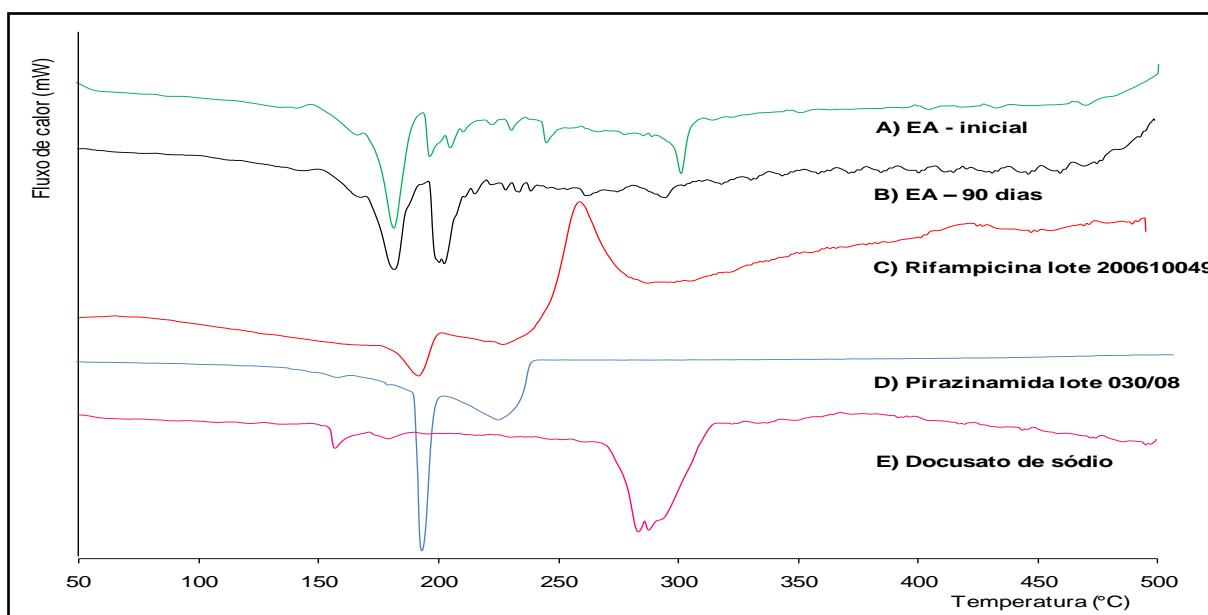


Figura 44 – curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + docusato de sódio para: A) análise inicial e B) análise após 90 dias de acondicionamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) docusato de sódio.

4.1.3.4 Formulação 05: compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida e metabissulfito de sódio no EA.

A análise dos padrões da DRX (Figura 45) evidencia que os picos característicos do MbS em 29,9°, 34,6°, 46,5° e 50,1° não aparecem nos padrões da

DRX A e B (EA 1:0,1) e estes mantêm as características do EA (1:1) de R + Z. Dessa forma, não há incompatibilidade entre o MbS e os ativos estudados.

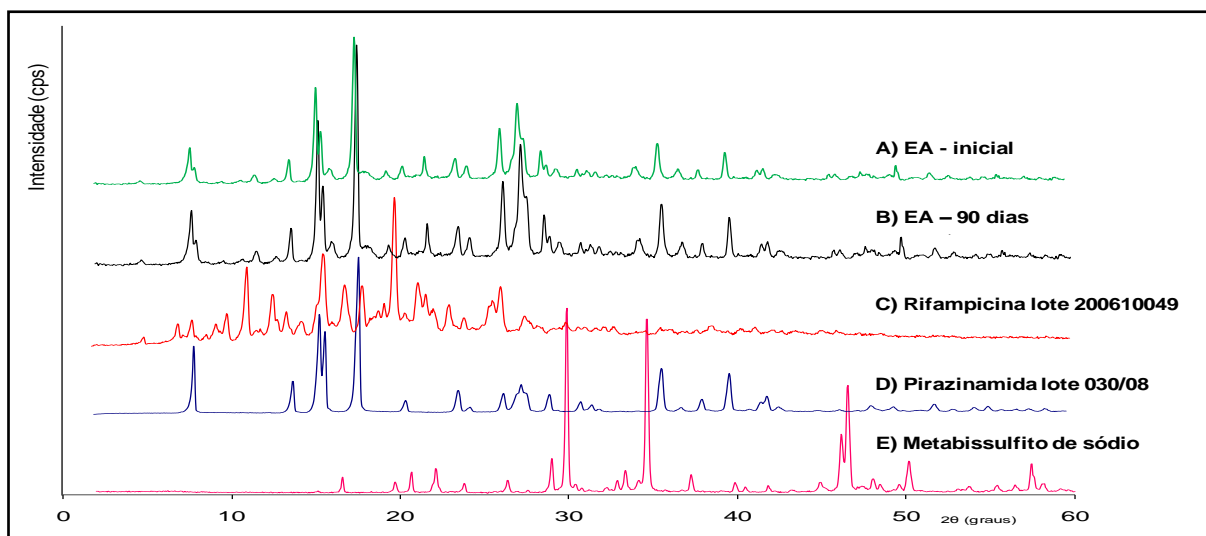


Figura 45 – padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e o metabissulfito de sódio mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio.

Os resultados dos espectros de absorção do IV do MbS mostram que as bandas características desse excipiente em 1176, 968 e 648 cm^{-1} (Figura 46, espectro E) não são observadas nos espectros A e B (EA inicial e com 90 dias, respectivamente). Também não foi observado o surgimento de novas bandas nos espectros A e B e esta formulação mantém as características das curvas A e B do item 4.1.3.1 (EA de R + Z).

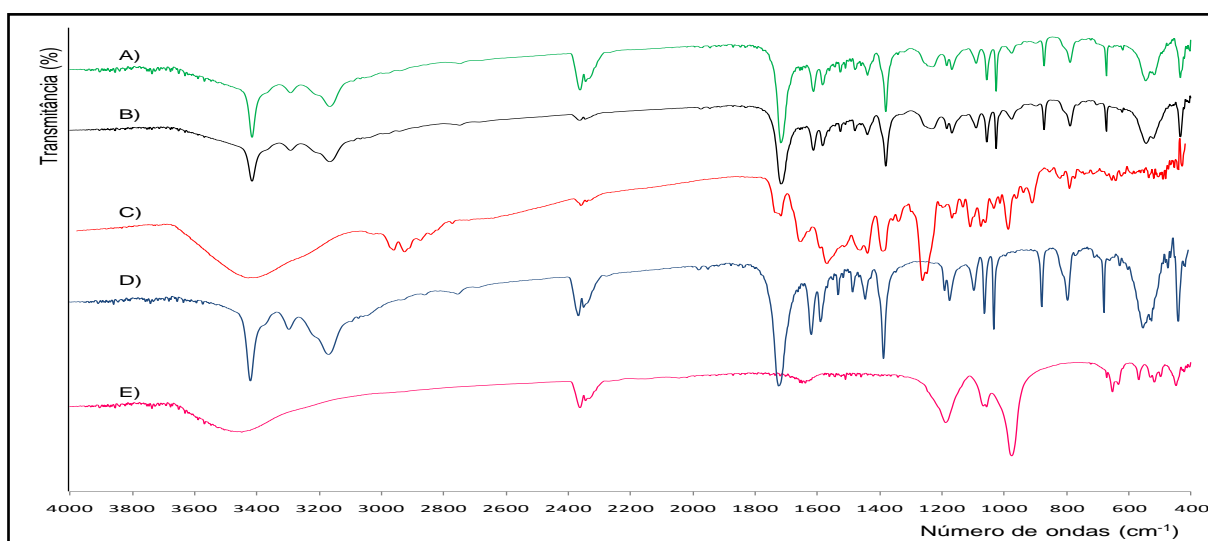


Figura 46 – espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08 e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio.

O evento térmico observado na DSC para o MbS é uma exoterma de fusão a 138,2 °C seguida de imediata degradação (Figura 47) (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006). A sobreposição das curvas C, D e E sobre as curvas A e B mostra que o MbS não impede o deslocamento do ponto de fusão dos ativos R e Z provocado pelo EA dos mesmos (item 4.1.3.1). Os pontos de fusão encontrados para a curva A (análise inicial) são: 152,9 °C (exotérmica de perda de água por Z), 181,1 °C (endoterma de fusão de R) e 188 °C (endoterma de fusão de Z). Para a curva B (análise com 90 dias) os valores encontrados são 152,3° C, 182 °C e 190,8 °C, respectivamente. Frente aos resultados obtidos, o MbS não mostra sinais de incompatibilidades com os fármacos da formulação.

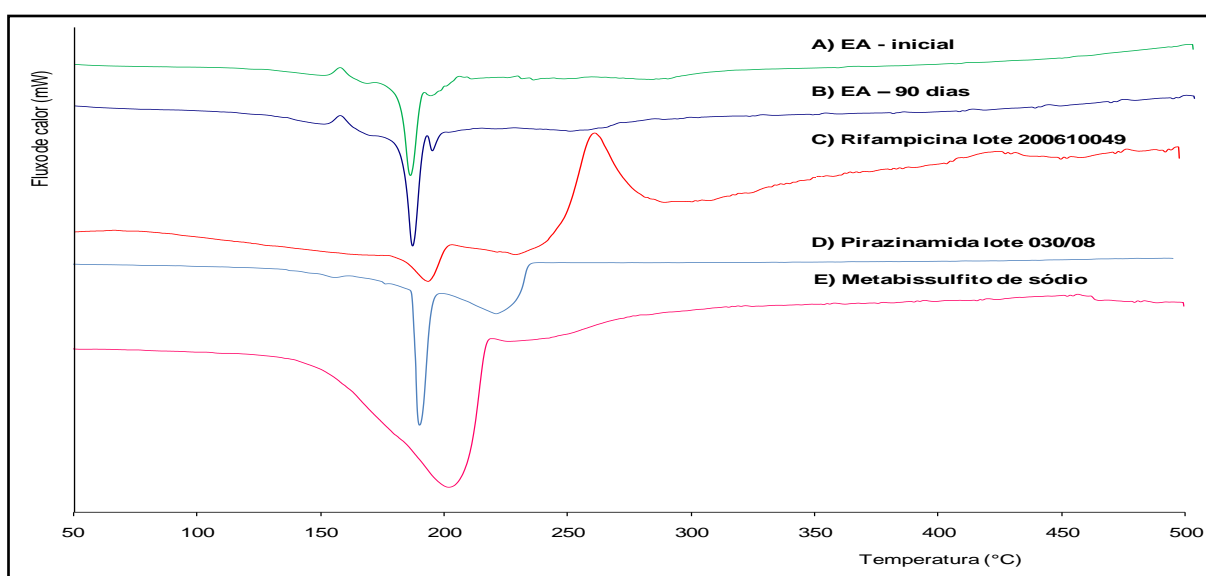


Figura 47 – curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + metabissulfito de sódio para: A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08 e E) metabissulfito de sódio. Acondicionamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR.

4.1.3.5 Formulação 06: compatibilidade entre rifampicina, pirazinamida, docusato de sódio e metabissulfito de sódio EA

A análise dos resultados dos padrões da DRX da Figura 48 é o somatório dos eventos ocorridos e já discutidos dos itens 4.1.3.1 ao 4.1.3.4. Entretanto, neste ensaio, a associação do DS com o MbS promove uma melhora da interação que ocorre entre R + Z porque pode ser observado a preservação de alguns picos de R (2θ em 11,35°, 13,65°, 16,1°, 20,45°, 21,75°, 23,6°, 24,25° e 26,35°, setas do padrão da DRX A). Todavia, na análise com 90 dias de armazenamento em câmara climática (padrão da DRX B), ocorre a coalescência dos picos em 2θ a 11,35°,

16,1° e 21,75°, comprovando a necessidade de ser realizado um estudo de estabilidade mais aprofundado da associação dos R + Z em uma mesma camada de liberação dos fármacos sem que os mesmos sofram algum tipo de proteção.

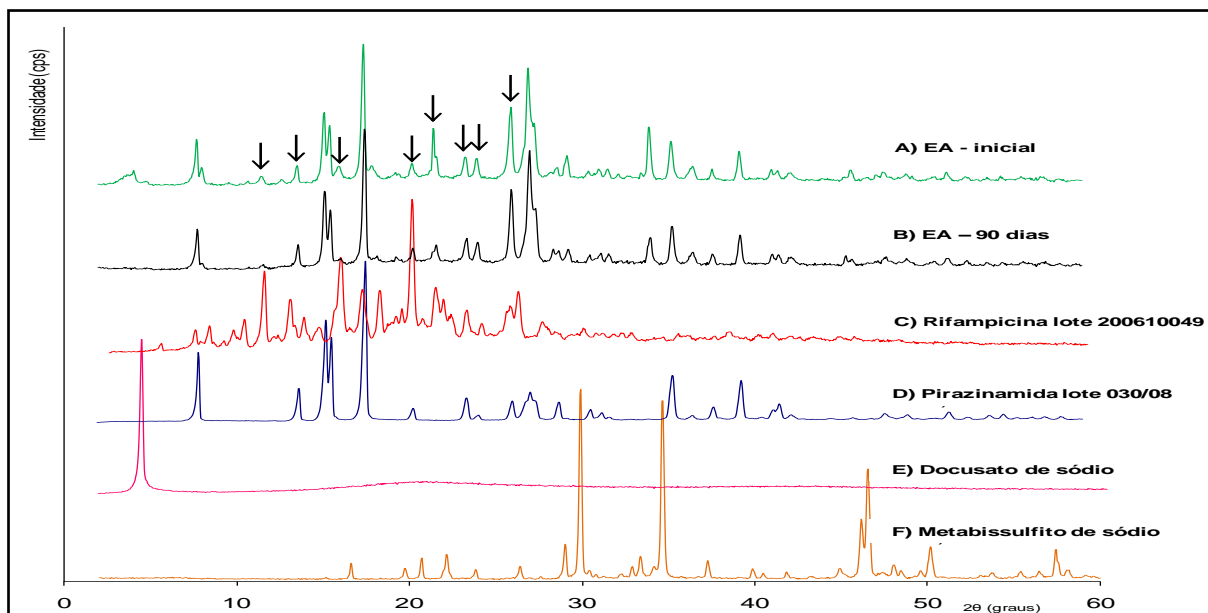


Figura 48 – padrões da DRX do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08, docusato de sódio e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio. As setas do padrão de DRX A indicam os sinais de rifampicina preservados logo após o empastamento alcoólico e a coalescência dos picos em 2θ a 11,35°, 16,1° e 21,75° com 90 dias de ensaio.

A análise dos resultados dos espectros de IV (Figura 49) da formulação 06 não fornece resultados diferentes daqueles já discutidos dos itens 4.1.3.1 ao 4.1.3.4.

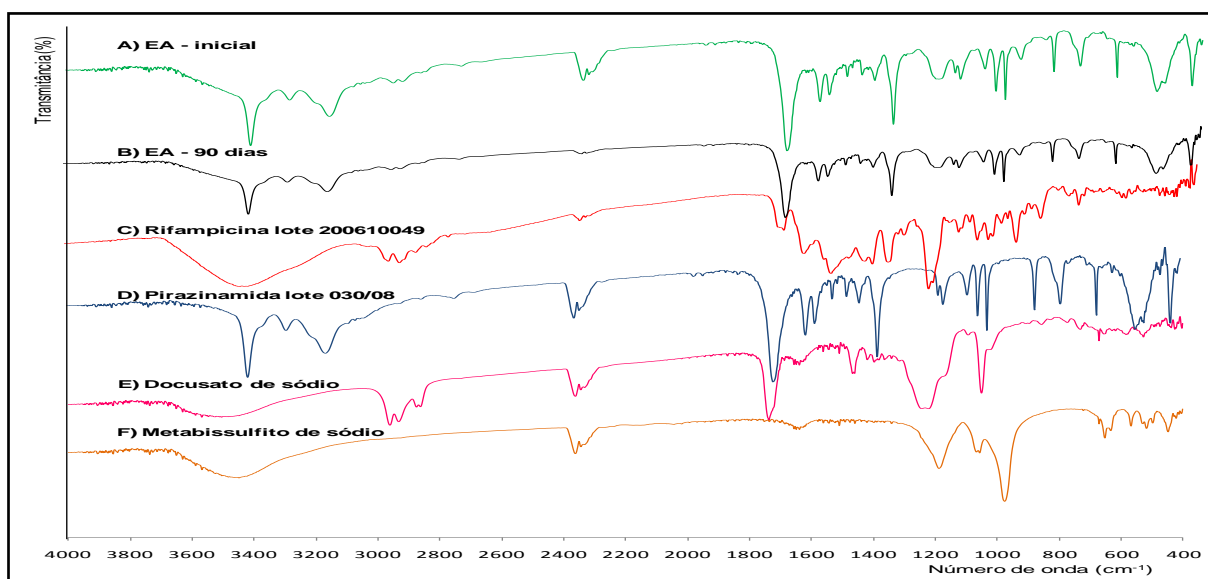


Figura 49 – espectros de absorção de IV do empastamento alcoólico entre rifampicina lote 200610049, pirazinamida lote 030/08, docusato de sódio e metabissulfito de sódio mantido em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio.

O somatório de eventos térmicos observados nas curvas da DSC do EA entre R + Z + DS + MbS (Figura 50) mostra endotermas de fusão não definidas que dificultam a determinação exata do ponto de fusão das substâncias envolvidas no EA. Entretanto, nota-se que há deslocamento da posição (mudança do ponto de fusão) das curvas para ambos para ambos ativos. A fusão do MbS em 138,2 °C (curva F da Figura 50) seguida de decomposição até 209,8 °C pode estar interferindo na resolução das curvas de fusão de R e Z.

Com relação a estabilidade do EA da formulação 06, observa-se que, além do deslocamento, dois eventos térmicos de fusão da curva B (90 dias) para temperaturas maiores que na curva A (análise inicial). Este fato está em concordância com a DRX no sentido de que há a necessidade de um estudo mais minucioso da estabilidade da associação de R + Z em uma mesma camada de liberação dos fármacos sem que os mesmos sofram algum tipo de proteção.

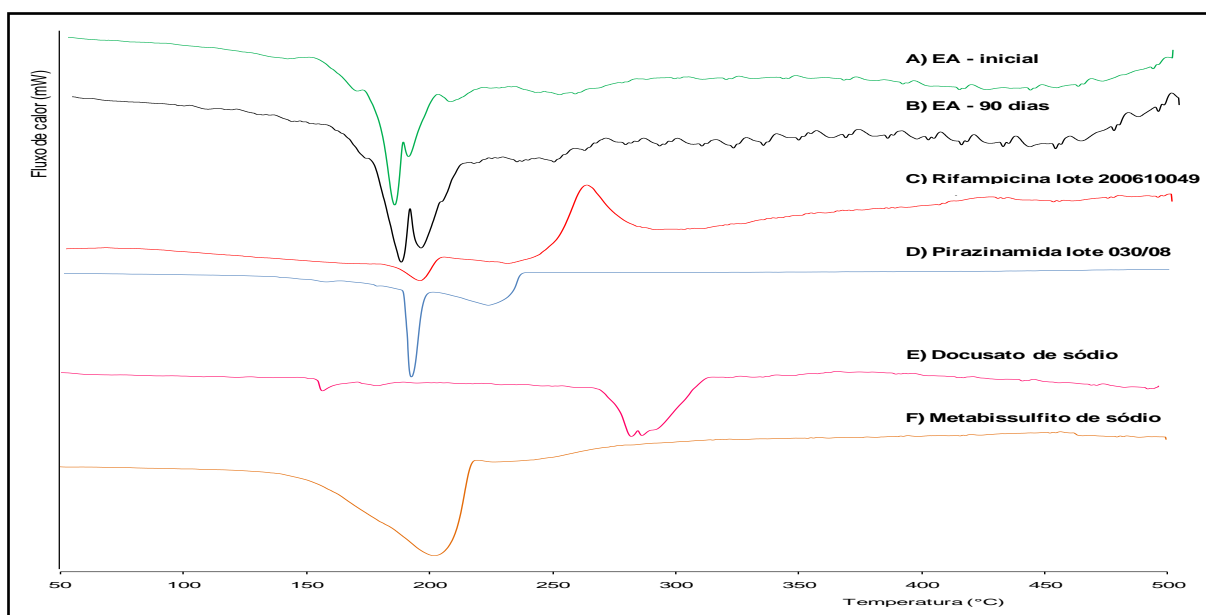


Figura 50 – curvas de DSC do empastamento alcoólico de rifampicina lote 200610049 + pirazinamida lote 030/08 + docusato de sódio + metabissulfito de sódio para: A) análise inicial; B) empastamento alcoólico com 90 dias; C) rifampicina lote 200610049; D) pirazinamida lote 030/08; E) docusato de sódio e F) metabissulfito de sódio. Acondicionamento em câmara climática a 40 °C e 75% de UR.

4.1.4 Estabilidade física da camada de liberação imediata: formulação 07

Este ensaio foi realizado com a fórmula base de liberação imediata para o desenvolvimento dos comprimidos DFC 3 em 1. Foram utilizados excipientes que, durante a fase de revisão literária, não relatam incompatibilidades, exceção para o DS, com os ativos H, Z e R.

A Figura 51 apresenta um somatório de todos os eventos já discutidos anteriormente para a técnica da DRX. Nela pode ser observado, de forma mais individualizada, o comportamento das formulações frente ao EA após 90 dias em câmara climática. Nota-se uma mudança mais significativa no padrão da DRX do EA entre R + Z (letra F da Figura 51) do que com a MF (letra E da Figura 51). Este acontecimento é esperado, uma vez que a solubilização dos ativos em etanol proporciona meios para uma recristalização diferente da inicial, inclusive, com a formação de polimorfos I de R (forma estável). As mudanças ocorridas nos padrões de DRX para a formulação 07 são as mesmas observadas com todos EA anteriores. Não houve formação de novos picos, mas há predominância de picos de Z sobre os de R, sendo observado para este a coalescência de alguns picos no ensaio com 90 dias, fato que requer um estudo mais aprofundado da estabilidade da formulação proposta.

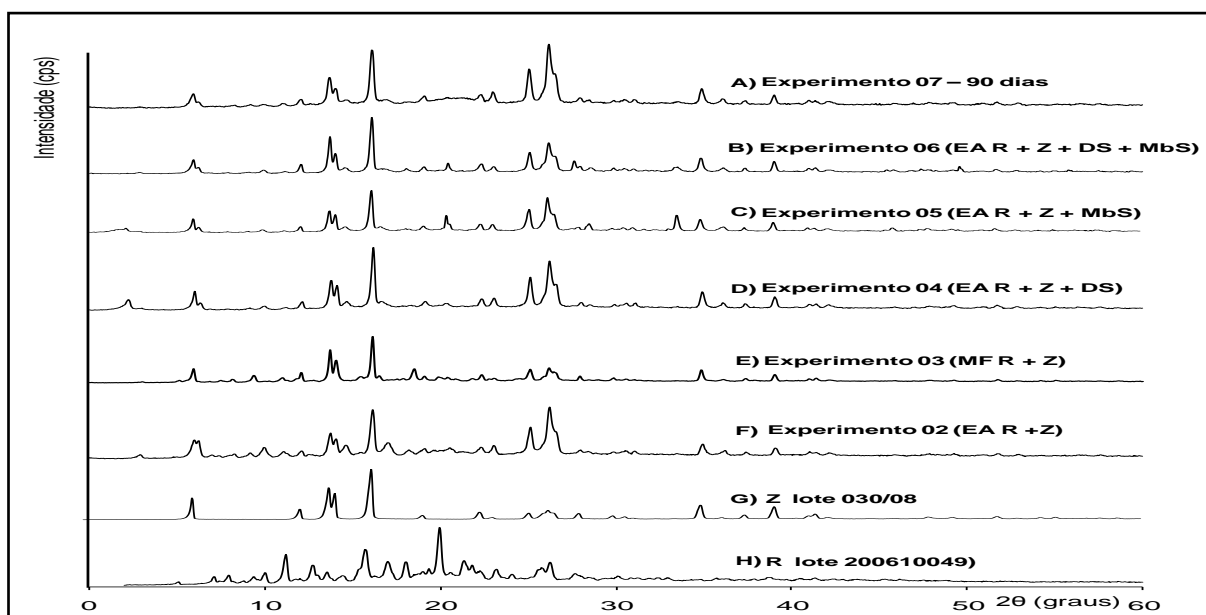


Figura 51 – padrões da DRX para estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 (letras A, B C, D, E e F) frente aos ativos rifampicina e pirazinamida (letras G e H) puros. Condições de armazenamento: câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias.

Assim como na interpretação dos resultados das análises da formulação 07 pela DRX, o resultado do espectro F de absorção no IV da Figura 52 não evidencia diferentes resultados daqueles já discutidos para as outras formulações (02 a 06). No espectro F da Figura 52 há predomínio das bandas de IV de Z sobre as de R e dos demais excipientes utilizados na formulação. Análises complementares com a DRX e a DSC indicam a necessidade de estudo de estabilidade mais prolongado para a formulação proposta.

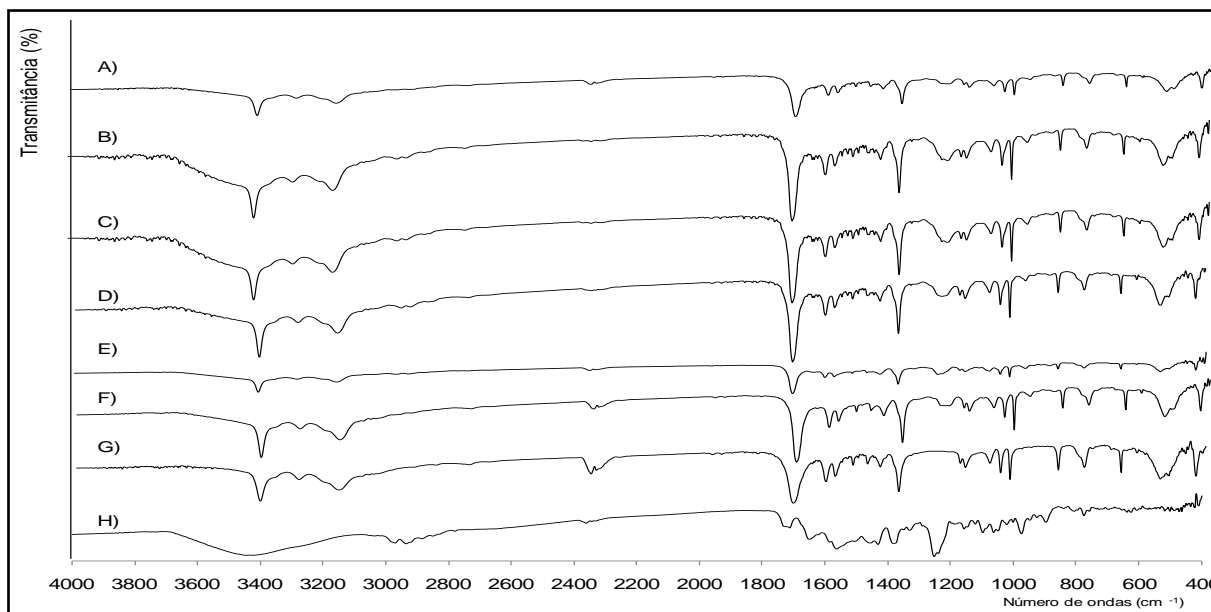


Figura 52 – espectros de absorção de IV para estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 frente aos ativos rifampicina e pirazinamida puros, onde: A) formulação 07 – camada de liberação gástrica; B) formulação 06 – empastamento alcoólico de rifampicina, pirazinamida, docusato de sódio e metabissulfito de sódio; C) formulação 05 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida e metabissulfito de sódio; D) formulação 04 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida e docusato de sódio; E) formulação 03 – MF de rifampicina com pirazinamida; F) formulação 02 – empastamento alcoólico de rifampicina com pirazinamida; G) pirazinamida lote 030/08 e H) rifampicina lote 200610049. Condições de armazenamento: câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR.

Os resultados da DSC (Figura 53) da formulação 07 evidenciam três eventos térmicos bem distintos. O primeiro ocorre em 149 °C e é uma exoterma de desidratação da amostra (GIRON, 1995). O segundo evento ocorrido é uma endoterma de fusão em 181,9 °C que pode ser tanto de R quanto de Z porque ambos ativos apresentaram ponto de fusão (185,6 e 189 °C, respectivamente) próximo ao da formulação proposta. O terceiro e último evento é uma curva endotérmica de fusão que se inicia em 245 °C.

Como a interpretação dos resultados das curvas da DSC para uma mistura de substâncias é o somatório dos eventos térmicos isolados de cada uma (ALVES, 2007; TIBOLA, 2009), era esperado a observação de pelo menos duas curvas bem distintas para as fusões de R + Z. Entretanto, a resultante de somente uma curva e com deslocamento do ponto de fusão abaixo da fusão de R (possui menor ponto de fusão dos ativos) sugere interação química entre os componentes da formulação proposta para a camada de liberação imediata e que esta deve ser reavaliada antes da fabricação do DFC 3 em 1.

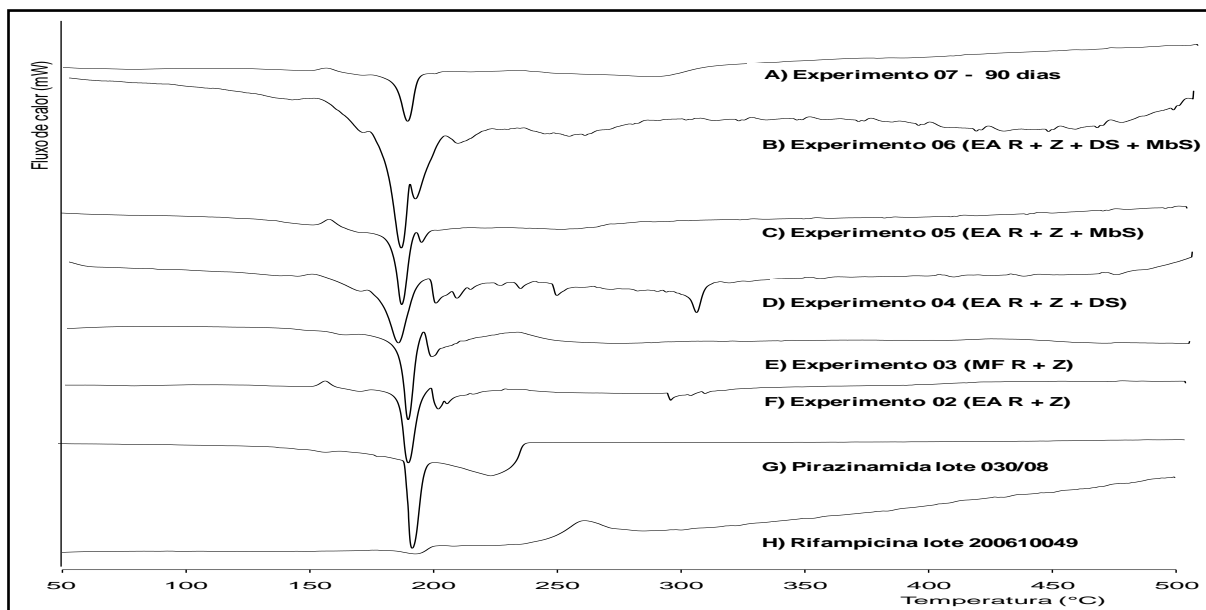


Figura 53 – curvas de DSC do estudo comparativo da estabilidade das formulações do DFC 3 em 1 (letras A, B, C, D, E e F) frente aos ativos pirazinamida lote 030/08 e rifampicina lote 200610049 (letras G e H) puros. Condições de armazenamento: câmara climática a 40 °C e 75% de UR por 90 dias.

4.2 PRODUÇÃO DAS CAMADAS DOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM 1

4.2.1 Produção da camada de liberação imediata (rifampicina + pirazinamida)

O foco no desenvolvimento desta camada é promover sua rápida desintegração de modo que R seja solubilizada e absorvida em grandes concentrações no estômago e na parte proximal do intestino (duodeno) para diminuir, consideravelmente, as reações químicas deste ativo com H e que terminam por comprometer a biodisponibilidade de R. No Quadro 4 estão relacionados os resultados da dureza, peso médio, friabilidade e desintegração da camada de liberação imediata (R e Z).

Quadro 4: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação gástrica contendo rifampicina e pirazinamida.

FORMULAÇÃO	ENSAIO				
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)	
				ÁGUA	SGS
02	10,2	550,8	0,2	-	-
08	9,8	720,3	0,3	4'	19'
09	9,7	719,3	0,2	4'	12'
10	10,1	720,9	0,2	6'	22'

A formulação 02 foi desenvolvida, por granulação via úmida, para teste de compressibilidade dos dois ativos juntos. Os comprimidos resultantes foram submetidos aos ensaios descritos no Quadro 4 e não apresentaram problemas com relação à fluidez na máquina de compressão, sendo atingida a dureza média de 10,2 kgf e friabilidade de 0,2%, resultados que atendem Farmacopéia Brasileira IV (dureza mínima de 3 kgf e friabilidade máxima de 1,5%).

A dureza mínima desejada para a camada de liberação imediata era de 9 kgf e a desintegração de no máximo 30 minutos em SGS e água (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 1988c). O peso médio proposto para a camada é de 720 mg.

As formulações 08, 09 e 10 apresentaram resultados de dureza, média de 10 comprimidos, de 9,8, 9,7 e 10,1 kgf, respectivamente, atendendo às especificações desejadas. O peso médio foi de 720,9 mg e a friabilidade de 0,2%, sendo ambos ensaios tomados sobre 20 comprimidos.

O ensaio de desintegração em água resultou em 4 minutos para as formulações 08 e 09 e 6 minutos para a formulação 10. Em SGS os resultados foram de 19 minutos para a formulação 08, 12 minutos para a formulação 09 e de 22 minutos para a formulação 10. Todos os resultados de desintegração atendem ao compêndio oficial, sendo que a formulação 10 foi a que apresentou maiores tempos de desintegração tanto em água quanto em SGS.

As formulações 08 e 09 (Tabela 3, página 73) foram utilizadas no desenvolvimento dos comprimidos DFC 3 em 1 porque foram as que forneceram melhores resultados no ensaio de desintegração no SGS.

4.2.2. Produção da camada de liberação prolongada (isoniazida)

Neste ensaio buscou-se assegurar a não desintegração da camada contendo H em SGS ou liberação imediata do ativo no SGS pelo motivo exposto no item 1.3.1, utilizando matrizes de proteção gástrica e liberação/desintegração entérica.

4.2.2.1 Utilizando o Acetofalato de Celulose

O AFC foi primeiro excipiente utilizado nos nossos ensaios como matriz para liberação prolongada de H devido sua alta resistência ao pH ácido, por sua fácil dissolução em pH alcalino (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006) e pelas bons

resultados obtidos em ensaios de liberação entérica de fármacos (MARVOLLA et al, 1999; PODCZECK; JONES, 2004).

O peso proposto, preliminarmente, para esta camada foi de 168 mg, mas quando da produção do primeiro comprimido DFC 3 em 1 ficou constatado que a camada ficou muito delgada e, conforme vasta descrição literária, este fato não era desejado porque o maior contato entre R e H favoreceria interações químicas entre os ativos coma a consequente redução da estabilidade obtida com a separação das camadas, sendo, por esse motivo, recalculado o peso para 260 mg (SHISHOO et al; 2003; MARIAPPAN; SINGH, 2003; BHUTANI et al, 2005; SINGH; BHUTANI; MARIAPPAN, 2006; ALVES, 2007).

O AFC foi testado na compressão direta com H, entretanto, os comprimidos resultantes não apresentaram dureza mínima exigida (3 kgf) (FARMACOPEIA BRASILEIRA IV, 1988b). Foi iniciado então o ensaio de granulação via úmida utilizando o AFC como constituinte da solução aglutinante (1 e 2%) e fazendo parte da fase interna da granulação nas proporções de 1:0,25; 1:0,5 e 1:1 (H:AFC).

No Quadro 5 estão apresentados os resultados dos ensaios de dureza desejada (mínimo 6 kgf), peso médio, friabilidade e desintegração para as formulações com solução aglutinante de AFC 1% e 168 mg de peso médio.

As formulações 11 a 13 apresentaram os resultados de dureza, peso médio e friabilidade dentro dos parâmetros estipulados pela Farmacopéia Brasileira e requeridos pelo projeto. Entretanto, pode ser observado que à medida que a proporção do AFC aumentou, houve aumento também no índice de friabilidade, sendo o maior de 1,2% para a proporção 1:1 (formulação 13).

No ensaio de desintegração em SGS somente a formulação 12 (1:0,5 – H:AFC) obteve aprovação no teste. A não resistência ao SGS apresentada pela formulação 13, com maior proporção de AFC – H:AFC), pode ser explicada pela alta friabilidade apresentada pela formulação (1,2%).

Quadro 5: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 1% e com peso médio dos comprimidos de 168 mg.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
11 (1:0,25)	6,7	169,0	0,6	parcial	29'	23'
12 (1:0,5)	6,9	167,4	0,8	25'	não houve	27'
13 (1:1)	6,7	169,4	1,2	parcial	29'	23'

No Quadro 6 estão apresentados os resultados dos ensaios de dureza desejada (mínimo 6 kgf), peso médio, friabilidade e desintegração para as formulações com solução aglutinante de AFC 1% e 260 mg de peso médio.

As formulações 14 a 16 apresentaram os resultados de dureza, peso médio e friabilidade dentro dos parâmetros estipulados pela Farmacopéia Brasileira e requeridos pelo projeto. Entretanto, conforme constatado anteriormente, à medida que a proporção do AFC aumentou, houve aumento também no índice de friabilidade, sendo o maior de 1% para a proporção 1:1 (formulação 16).

No ensaio de desintegração em SGS somente a formulação 15 (1:0,5 – H:AFC) obteve aprovação no teste. Conforme observado para o ensaio da formulação 13 (Quadro 5), a alta friabilidade apresentada pela formulação 16 (1%) pode ter sido a responsável pela não resistência desta formulação ao SGS, fato corroborado também pelo menor tempo de dissolução apresentado no ensaio com SES (22 minutos enquanto a formulação 15 apresentou 24 minutos de resistência).

Quadro 6: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 1% e com peso médio dos comprimidos de 260 mg.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
14 (1:0,25)	5,9	260,9	0,4	parcial	23'	20'
15 (1:0,5)	6,1	259,7	0,6	24'	não houve	24'
16 (1:1)	6,0	259,5	1,0	Parcial	27'	22'

Os resultados para os ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para as formulações 17 a 19 com solução aglutinante de AFC 2% e 260 mg de peso médio estão apresentados no Quadro 7. Apesar das formulações 17 e 18 apresentarem resultados satisfatórios nos ensaios de dureza, peso médio e friabilidade, ambas foram reprovadas nos ensaios de desintegração. A formulação 17 por apresentar rápida desintegração em todos os meios, ou seja, 11 segundos em água, 26 segundos em SGS e 21 segundos em SES e, a formulação 18 por ter se desintegrado parcialmente no SES. A formulação 19 não foi analisada porque durante a fase de manipulação o granulado assumia aspecto de borracha à medida que se adicionava a solução aglutinante de AFC 2%.

Quadro 7: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 2% e e com peso médio dos comprimidos de 168 mg.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
17 (1:0,25)	6,8	160,2	0,6	11"	26"	21" s
18 (1:0,5)	6,3	153,2	0,9	Parcial	não houve	Parcial
19 (1:1)	não realizado					

No Quadro 8 estão apresentados os resultados para os ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para as formulações 20 a 22 com solução aglutinante de AFC 2% e 260 mg de peso médio. A interpretação dos resultados para estes ensaios é análoga a utilizada com as formulações 17 a 19, sendo todas reprovadas.

Quadro 8: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com solução de AFC 2% e e com peso médio dos comprimidos de 260 mg.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
20 (1:0,25)	6,2	260,7	0,5	15"	29"	25"
21 (1:0,5)	6,0	260,2	0,9	parcial	não houve	Parcial
22 (1:1)	não realizado					

Uma observação importante com relação ao uso do AFC é que ele é praticamente insolúvel na água, álcool, hidrocarbonetos clorados e não clorado e em tolueno; solúvel em 4 partes de acetona, em dietilenoglicol e no dioxano. Dissolve-se em soluções diluídas de álcalis e em soluções aquosas tamponadas em pH superior a 6,0. O AFC tem a solubilidade menor ou igual a 10% (p/p) nas seguintes misturas de solventes: acetona:álcool (1:1); acetona:água (97:3); benzeno:metanol (1:1); acetato de etila:etanol (1:1); cloreto de metileno:etanol (3:1) (ROWE; SHESKEY; QWEN, 2006).

4.2.2.2 Utilizando o Eudragit® L100 e Eudragit® S100

Apesar da utilização do Eudragit® ser recomendada em literatura como matriz de comprimidos e na compressão direta (SARIGÜLLÜ; ERTAN; GÜNERI, 2004;

ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006) os testes com este tipo de polímero não lograram êxito nos ensaios de desintegração. Ainda de acordo com o levantamento bibliográfico, foi observado que seu emprego mais usual é no revestimento de grânulos e comprimidos para liberação entérica (FREIRE et al, 2006; CRCAREVSKA; DODOV; GORACINOVA, 2008; PIAO; LEE, M; LEE, B, 2008; DÉO, 2009).

No Quadro 9 estão apresentados os resultados para os ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para as formulações 23 a 26 com Eudragit[®] L100 e 260 mg de peso médio. Apesar dos ensaios para dureza, peso médio e friabilidade atenderem ao preconizado da Farmacopéia Brasileira, as formulações foram reprovadas no ensaio de desintegração em água e SGS, meios onde os comprimidos se desintegraram em segundos. Os ensaios em SES não foram realizados em virtude da prévia reprovação no SGS.

Quadro 9: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Eudragit[®] L100 pelo método da compressão direta.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
23 (1:0,1)	6,1	261,3	0,5	20"	20"	não realizado
24 (1:0,2)	6,0	260,5	0,5	25"	29"	
25 (1:1)	6,3	260,9	0,4	45"	55"	
26 (1:2)	6,1	260,7	0,5	40"	45"	

Os resultados dos ensaios das formulações 27 a 30 com o Eudragit[®] S100 estão apresentados no Quadro 10. Os ensaios de dureza, friabilidade e peso médio ficaram dentro dos limites aceitos pela Farmacopéia Brasileira. Entretanto, os ensaios de desintegração apresentaram resultados semelhantes aos do Eudragit[®] L100, sendo todas as formulações reprovadas.

Quadro 10: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Eudragit[®] S100 pelo método da compressão direta.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
27 (1:0,1)	6,2	260,3	0,3	28"	33"	não realizado
28 (1:0,2)	6,1	260,7	0,5	29"	40"	
29 (1:1)	6,2	259,9	0,3	38"	47"	
30 (1:2)	6,3	259,5	0,3	44"	50"	

Frente a estes resultados, os Eudragit[®] L100 e S100 não foram utilizados nos ensaios de produção dos comprimidos DFC 3 em 1.

4.2.2.3 Utilizando o Viscogel[®] B8

O Viscogel[®] B8 já foi utilizado com sucesso em trabalhos de liberação controlada de fármacos (MCGINITY; LACH, 1977, COUTINHO et al, 2004; JOSHI et al, 2009), entretanto os ensaios de desintegração das formulações 31 a 34 (Quadro 11) não foram satisfatórios em SGS, fato que dispensou os ensaios em água e SES, visto que os comprimidos testados deviam ser resistentes ao meio ácido. Os ensaios de dureza, peso médio e friabilidade atenderam ao preconizado na literatura oficial.

Quadro 11: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com Viscogel B8[®] pelo método da compressão direta.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
31 (1:0,1)	6,3	260,1	0,2	não realizado	33"	não realizado
32 (1:0,2)	6,0	260,3	0,4		40"	
33 (1:1)	6,2	259,9	0,4		50"	
34 (1:2)	6,1	259,7	0,7		58"	

4.2.2.4 Utilizando a Goma Laca

A GL já foi utilizada com sucesso por Limmatvapirat e outros (2007) em associações que promoveram das propriedades entérica da GL. Em outro estudo Limmatvapirat e outros (2008) utilizaram a GL para avaliar a cinética de liberação do metronidazol e os resultados obtidos foram satisfatórios.

Entretanto, os ensaios de dureza, peso médio e friabilidade realizados com a formulação 37 (Quadro 12), obtida pela granulação via úmida com solução aglutinante a 2% de GL, foram aprovados segundo a Farmacopéia Brasileira, mas, a extrema rapidez (10 segundos) para desintegração em SGS reprovou esta formulação para ensaios nos comprimidos DFC 3 em 1.

Nenhum ensaio foi realizado com os granulados das formulações 35 e 36 porque a reprovação da formulação 37, que continha a maior concentração de GL (1:1 – H:GL), significou prévia reprovação das concentrações inferiores (1:0,25 e

1:0,5, formulações 35 e 36, respectivamente). A reprovação da formulação 37 também acarretou na desistência dos ensaios com solução aglutinante de GL a 1%.

Quadro 12: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com GL pela via de granulação úmida com solução aglutinante de GL a 2%.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
35 (1:0,25)	não realizado					
36 (1:0,5)	não realizado					
37 (1:1)	6,2	260,9	0,4	não realizado	10"	não realizado

Nos ensaios de compressão direta (Quadro 13) a GL foi utilizada nas proporções 1:0,1; 1:0,2; 1:0,5 e 1:1 (formulações 38 a 41, respectivamente). Os resultados de dureza, peso médio e friabilidade foram satisfatórios para todas as formulações e, cabe ressaltar que, à medida que houve aumento da concentração da GL a taxa de friabilidade diminuiu atingindo o seu ótimo na formulação 40 (1:1).

Quadro 13: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com GL via compressão direta.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
38 (1:0,1)	6,1	260,7	0,7	não realizado	45"	não realizado
39 (1:0,2)	6,0	259,3	0,7		48"	
40 (1:1)	6,1	259,8	0,2		15"	
41 (1:2)	6,1	260,2	0,4		> 30'	

Com relação aos ensaios de desintegração pode se observar que a formulação 41 resistiu aos ensaios com SGS e com SES, contudo, a mesma foi reprovada, pois durante a verificação do umedecimento interior dos comprimidos os seus interiores estavam completamente secos, significando ausência ou pouca penetração do SES para promover a desintegração do comprimido. As demais formulações (38 a 40) foram reprovadas no ensaio de resistência gástrica com SGS, apresentando desintegração muito rápida (segundos).

Diante destes estes resultados, a GL não foi utilizada nos ensaios de produção dos comprimidos DFC 3 em 1.

4.2.2.5 Utilizando a HPMC e preparação da formulação 50 (sem agente prolongador de liberação)

A HPMC é um dos derivados da celulose mais utilizados como retardantes de liberação de fármacos, sendo utilizada tanto como agente aglutinante quanto na compressão direta (LOPES; LOBO; COSTA, 2005; ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

Vários são os ensaios científicos que obtiveram sucesso com o uso da HPMC na liberação controlada de fármacos, dentre eles, Hiremath e Saha (2008) desenvolveram comprimidos de R + H utilizando HPMC como matriz para liberação controlada, onde R seguiu perfil de liberação linear enquanto H foi liberada, predominantemente por difusão e Ortiz e outros (2009) estudaram o comportamento da liberação de H na mistura física com HPMC (20 e 40%) via compressão direta.

Os ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração com o HPMC 10.000 cps foram conduzidos via compressão direta nas formulações 42 a 49 e os resultados estão expressos no Quadro 14. A exceção, neste Quadro, refere-se à formulação 50 que não possui agente prolongador de liberação em sua composição. Esta formulação foi desenvolvida para se obter um controle mais efetivo sobre a eficiência das matrizes testadas e para condução dos ensaios de perfil de dissolução comparativo com a amostra do DFC 3 em 1, disponível no mercado.

Todas as formulações testadas apresentaram resultados de dureza, peso médio e friabilidade dentro dos parâmetros exigidos pela Farmacopéia Brasileira. Nota-se que os índices de friabilidade diminuíram à medida que a concentração da HPMC aumentava, partindo de 0,8% (formulação 42, proporção H:HPMC de 1:0,2) e chegando a 0,3% (formulação 48, proporção H:HPMC de 1:0,8). Todavia, houve uma inversão nessa escalada quando a proporção da HPMC atingiu 1:1 em relação ao peso de H (formulação 49) e a friabilidade registrada foi a mais alta entre todas as formulações com HPMC, atingindo 1,1%. Não foi encontrado nada na literatura explicando este comportamento da HPMC na compressão direta. Apenas a recomendação de Rowe, Sheskey e Owen (2006) de que as concentrações de uso de uso da HPMC em compressão direta variam entre 10 e 80% (1:0,1 e 1:0,8).

No ensaio de desintegração se observa que das proporções 1:0,2 até 1:0,5 (formulações 42 a 45) não há resistência gástrica (SGS) aceitável para os comprimidos e, dessa forma, os ensaios em SES não foram realizados. Entretanto,

para as formulações 46 a 49 (proporções da HPMC de 1:0,6 a 1:1) os testes de desintegração foram aprovados tanto em SGS quanto em SES.

Os ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração aplicados a formulação 50 (sem agente prolongador de liberação) foram aprovados, sendo a camada selecionada para produção do DFC 3 em 1 com 2 camadas de liberação imediata.

Quadro 14: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para a camada de liberação entérica de isoniazida com HPMC via compressão direta.

FORMULAÇÃO	ENSAIO					
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO (37 °C/30 min.)		
				ÁGUA	SGS	SES
42 (1:0,2)	6,3	261,1	0,8	30"	30"	não realizado
43 (1:0,3)	6,2	260,4	0,7	30"	38"	
44 (1:0,4)	6,0	260,5	0,8	50"	1'	
45 (1:0,5)	6,0	260,1	0,5	2'	7'	
46 (1:0,6)	6,1	261,0	0,6	4'	não houve	2'
47 (1:0,7)	5,9	259,5	0,4	4'	não houve	3'
48 (1:0,8)	6,2	259,9	0,3	8'	não houve	5'
49 (1:1)	5,8	258,3	1,1	15'	não houve	17'
50 ^a (controle)	6,0	260,2	0,2	30"	30"	30"

^aformulação desenvolvida para estudo comparativo do perfil de dissolução com o DFC 3 em 1 comercial e para controle da ação das matrizes sobre a liberação de isoniazida.

A partir dos resultados obtidos nos ensaios de desintegração em água, SGS e SES, foram selecionadas as formulações 08 e 09 (liberação imediata, Tabela 3, página 73) combinadas com as formulações 15, 33, 46, 47, 48, 49 e 50 (liberação prolongada e controle, Tabelas 14 e 15 das páginas 80 e 81, respectivamente) para o desenvolvimento de uma formulação sem registro no mercado comercial de DFC 3 em 1 com 2 camadas, sendo uma de liberação prolongada para H e outra de liberação imediata R + Z. A segregação dos ativos visa impedir ou diminuir as reações químicas de incompatibilidades entre R e H e promover, dessa maneira, aumento da estabilidade dos ativos e na biodisponibilidade de R (SHISHOO et al, 2001; MARIAPPAN; SINGH, 2003; BHUTANI et al, 2005; SINGH; BHUTANI; MARIAPPAN, 2006).

4.3 CONTROLE DE PROCESSOS NA PRODUÇÃO DO DFC 3 EM 1

Os resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração realizados nas formulações 51 a 60 dos comprimidos DFC 3 em 1 estão apresentados no Quadro 15. Nota-se que todas as formulações apresentaram resultados dentro das especificações da Farmacopéia Brasileira. Cabe informar que a média da dureza desejada para os 10 comprimidos DFC 3 em 1 era de, no mínimo 10 kgf, e o peso médio teórico dos comprimidos era de 980 mg.

Nos ensaios de desintegração as formulações 52 (Viscogel[®] B8), 57 (controle com a formulação 08 da camada de R + Z e H sem agente prolongador de liberação) e 60 (controle com a formulação 09 da camada de R + Z e H sem agente prolongador de liberação) apresentaram resultados dentro do esperado, ou seja, desintegração completa das duas camadas em menos de 30 minutos em SGS (13 minutos para a formulação 52 e 2 minutos para as formulações 57 e 60).

No ensaio de desintegração em SES as formulações 51, 53 a 56, 58 e 59 que continham agente prolongador de liberação também apresentaram resultados que atendiam as especificações da Farmacopéia Brasileira, estando todas aprovadas para o ensaio de dissolução.

Quadro 15: resultados dos ensaios de dureza, peso médio, friabilidade e desintegração para os comprimidos DFC 3 em 1.

FORMULAÇÃO	ENSAIO				
	DUREZA (kgf) média de 10 comprimidos	PESO MÉDIO (mg) média de 20 comprimidos	FRIABILIDADE (%) sobre 20 comprimidos	DESINTEGRAÇÃO	
				SGS (liberação imediate: 37 °C/30 min.)	SES (liberação controlada: 37 °C/45 min.)
51 (AFC)	11,1	980,2	0,7	não houve	27'
52 (Viscogel B [®])	10,6	979,3	0,9	13,0'	-
53 (HPMC 1:0,6)	12,0	979,9	1,0	não houve	3'
54 (HPMC 1:0,7)	9,7	980,7	1,2	não houve	10'
55 (HPMC 1:0,8)	9,8	978,0	1,3	não houve	17'
56 (HPMC 1:1)	9,8	979,2	1,2	não houve	28'
57 (Controle)	10,1	979,7	1,1	2'	-
58 (HPMC 1:0,8)	9,8	978,6	1,2	não houve	23'
59 (HPMC 1:1)	10,1	981,1	1,1	não houve	29'
60 (Controle)	9,9	979,3	1,3	2,0'	-

4.4 DOSEAMENTO DOS ATIVOS NOS COMPRIMIDOS DFC 3 EM 1

Inicialmente os comprimidos DFC 3 em 1 foram desenvolvidos com R 200610049 (teor 92,6%) porque era a amostra disponível em maior quantidade (Figura 54). Entretanto, frente aos resultados inadequados obtidos no ensaio de dissolução (item 4.5), outros DFC 3 em 1 foram produzidos com a nova amostra de R lote 200610038 (teor 98,2%).



Figura 54 – comprimidos testes do DFC 3 em 1, contendo isoniazida com HPMC (camada branca) e rifampicina + pirazinamida (camada laranja), produzidos no LabTIF/UFRJ.

O doseamento dos ativos nos comprimidos DFC 3 em 1 foi realizado pela técnica de CLAE utilizando acréscimo de 10 minutos de corrida entre as injeções (MOHAN et al, 2003), fato não recomendado pela USP 31 e que se não realizado resulta em sinais sobrepostos, conforme visto no item 4.1.1.2.

Os cromatogramas da Figura 55 são injeções em triplicata dos padrões secundários de H (letra A) e de Z (letra B) e do padrão USP de R (letra C). Nota-se que os sinais apresentam boa resolução e que há forte interferência na linha de base na faixa situada entre 8 e 14 minutos provocada pela entrada abrupta da acetonitrila no gradiente, mas que não interfere na detecção do sinal de R.

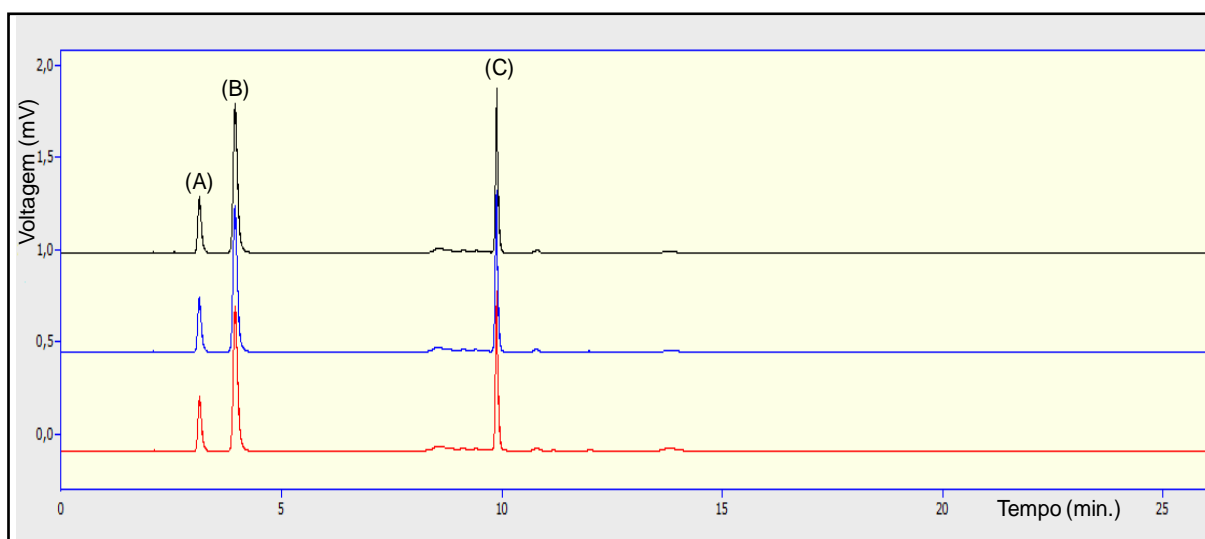


Figura 55 – cromatogramas de: A) padrão secundário de isoniazida; B) padrão secundário de pirazinamida e C) padrão USP de rifampicina.

Na Tabela 24 estão apresentados os valores das respostas cromatográficas dos tempos de retenção, área do sinal, número de pratos teóricos, fator *Tailing* e desvio padrão relativo dos padrões utilizados no doseamento dos DFC 3 em 1. O valor mínimo de 10.000 pratos teóricos para Z é o preconizado pela USP 31 e foi o único parâmetro não alcançado pelo método de análise utilizado, mas que não influenciou no doseamento do fármaco nos comprimidos DFC 3 em 1. Os resultados dos demais parâmetros estão em conformidade com o preconizado pela USP 31.

Tabela 24 - resultados das análises por CLAE de isoniazida e pirazinamida (padrões secundários) e rifampicina (padrão USP) utilizados no doseamento dos ativos do DFC 3 em 1 produzidos no LabTIF/UFRJ. Os valores representam a média de 3 injeções.

Amostra	Tempo de retenção (min)	Área (mVs)	Pratos Teóricos	Fator <i>Tailing</i>	Desvio padrão relativo
Isoniazida padrão secundário	3,1	1645,7	7630	1,3	0,1
Pirazinamida padrão secundário	4,0	5336,3	8104	1,3	0,2
Rifampicina padrão USP	9,9	4253,0	86982	1,2	0,2

No Quadro 16 estão relacionados os resultados dos doseamentos de todos os DFC 3 em 1 produzidos.

Quadro 16: resultados dos parâmetros cromatográficos do doseamento dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com lote 200610049 (teor de 92,6%) de rifampicina e as formulações 55 a 60 foram produzidas com o lote 200610038 (teor 98,2%).

Formulação	Isoniazida						Pirazinamida						Rifampicina					
	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Teor (%)	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Teor (%)	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Teor (%)
51 (AFC)	3,1	1133,3	11240,0	1,2	0,9	75,0	4,0	4867,1	13055,5	1,1	0,7	95,1	11,2	3181,2	69556,0	1,1	0,6	73,2
52 (Viscogel B [®])	3,1	1594,0	11195,0	1,2	1,9	104,0	4,0	4942,3	13643,5	1,1	0,04	96,1	11,2	3099,8	69618,0	1,1	0,5	78,5
53 (HPMC 1:0,6)	3,1	1583,8	11669,0	1,2	0,3	104,2	4,0	5183,6	13042,0	1,1	0,4	100,7	11,2	3199,5	69515,0	1,1	0,4	73,2
54 (HPMC 1:0,7)	3,1	1667,7	12225,0	1,2	0,1	110,2	4,0	5087,6	14143,0	1,1	0,3	99,2	11,2	3164,6	74435,5	1,1	0,7	72,7
55 (HPMC 1:0,8)	3,1	1612,5	8480,0	1,3	0,5	102,0	3,9	5250,7	9235,0	1,3	0,6	96,7	9,9	4227,1	100200,0	1,2	0,8	94,6
56 (HPMC 1:1)	3,1	1532,9	8462,0	1,3	0,6	95,3	3,9	5269,8	9873,0	1,3	0,3	95,3	9,9	3743,2	110290,0	1,2	1,6	82,3
57 (Controle)	3,1	1552,6	9195,0	1,3	0,4	97,2	3,9	5247,8	10635,0	1,3	0,3	95,7	9,9	4274,3	100288,0	1,2	0,7	94,7
58 (HPMC 1:0,8)	3,1	1425,5	8444,0	1,3	1,1	89,5	4,0	5219,4	9939,0	1,3	0,3	95,3	9,9	4189,1	99949,0	1,2	0,2	93,1
59 (HPMC 1:1)	3,1	1621,6	9254,0	1,3	0,4	100,4	3,9	5115,5	9889,0	1,3	0,5	94,3	9,9	4184,4	110141,0	1,2	0,4	93,8
60 (Controle)	3,1	1579,1	9234,0	1,3	0,6	101,4	4,0	5249,6	9250,0	1,3	0,2	98,1	9,9	4158,5	100356,0	1,2	0,4	94,5
DFC 3 em 1 Comercial	3,1	1567,2	9246,7	1,3	0,06	101,4	3,9	5333,5	9667,3	1,3	0,2	100,5	9,9	4780,6	107342,8	1,2	0,03	109,5

Notas: ^aTR igual a tempo de retenção; ^bPT igual a prazos teóricos; ^cFT igual a fator *Tailing* e ^dDPR igual a desvio padrão relativo.

Parâmetros USP 31: PT: mínimo para isoniazida: 6000; mínimo para pirazinamida: 10000; mínimo para rifampicina: 50000; DPR: máximo 2; Fator *Tailing* máximo: 2% e faixa de teor (rifampicina/isoniazida/pirazinamida): 90 a 110%.

Com relação a análise dos teores de R as formulações 51 a 54 apresentaram baixos teores (73,2, 78,5, 73,2 e 72,7%) provavelmente porque o insumo R lote 200610049, utilizado na produção desses comprimidos DFC 3 em 1, estava com grau de pureza baixo (92,6%). Esta interpretação está fundamentada no fato de que, quando foi utilizada nova amostra de R (lote 200610038), doada por Farmanguinhos e cujo teor de pureza era de 98,2%, as análises dos DFC 3 em 1 das formulações 55 e 57 a 59 apresentaram resultados dentro das exigências da USP 31 (90 a 100%), sendo 94,6, 94,7, 93,1, 93,8 e 94,5%, respectivamente. A formulação 56 foi a única das seis formulações que utilizaram a nova R a apresentar baixo teor de R (82,3%). Este fato pode estar relacionado a um erro de pesagem de R durante a manipulação do granulado.

Na interpretação dos resultados para doseamento de H as formulações 51 e 58 foram as únicas que apresentaram respostas abaixo das especificações da USP 31 (90 a 110%), sendo os valores de 75 e 89,5%, respectivamente, e que podem estar relacionados a problemas de pesagem dos ativos visto que houve variação para valores superiores ao preconizado pela referência, ou seja, a formulação 54 apresentou teor de H de 110,2%. Problemas com a técnica de análise pode ser descartado porque para as outras sete formulações de DFC 3 em 1 analisadas os valores de H estão dentro da faixa delimitada pela USP 31 (Quadro 16).

A análise dos resultados do doseamento para Z mostram que todas as formulações (51 a 60) apresentaram teores dentro da faixa (90 a 110) especificada pela USP 31 com menor valor de 95,1% para a formulação 51 e maior valor para a formulação 53 com 100,7% de Z (Quadro 16).

Entretanto, em termos farmacopeicos (USP 31), as formulações 51, 52, 53, 54 e 56 estariam reprovadas.

Os parâmetros cromatográficos de tempo de retenção, área do sinal, pratos teóricos, fator *Tailing* e desvio padrão relativo estão elencados no Quadro 16 e, com exceção do número mínimo de pratos teóricos exigidos, atendem ao preconizado pela USP 31. Não foi percebida nenhuma alteração nos valores de Z em virtude de algumas análises, apresentarem valores de pratos teóricos abaixo de 10.000 (formulações 55, 56 e 58 a 60).

Os resultados dos doseamentos dos comprimidos DFC 3 em 1 doados pela Maneesh/Sanobiol também estão relacionados no Quadro 16 e apresentam valores de 101,4% para H, 100,5% para Z e 109,5% para R.

As formulações controle (57 e 60) apresentaram todos os resultados em conformidade com a USP 31 e tornaram-se uma opção flexível para comercialização como DFC 3 em 1 de liberação imediata dos três ativos. Adicionalmente, existe vantagem de manter R e H separadas até a hora do uso pelo paciente e, evitar assim, interações durante o processo de estocagem e promover ganhos de estabilidade no DFC 3 em 1 (BHUTANI; MARIAPPAN; SINGH, 2004) ou ainda, comercializá-lo como um DFC 2 em 1 com a retirada de Z da formulação.

A Figura 56 ilustra os cromatogramas dos comprimidos DFC 3 em 1 das formulações 55 a 57 frente as respostas dos padrões dos ativos. As letras A, B e C são as respostas de H, de Z e de R, respectivamente. Como observado no Quadro 15, às respostas cromatográficas das amostras são equivalentes às respostas dos padrões de H, Z e R e o método analítico mostra-se adequado para realização das análises.

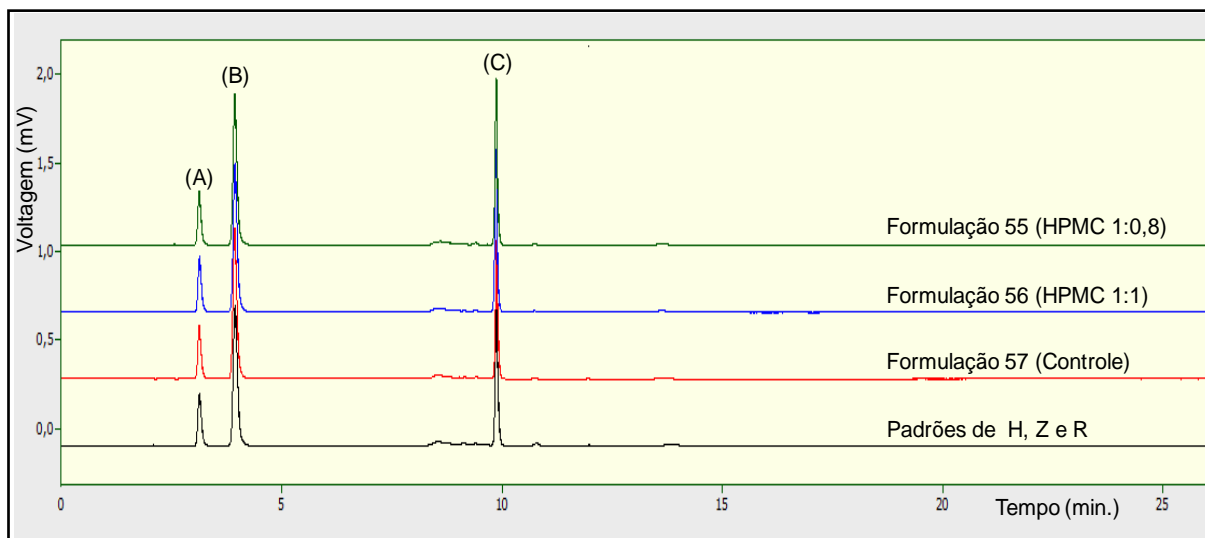


Figura 56 – cromatogramas das formulações 55 a 57 de comprimidos DFC 3 em 1 frente aos padrões de isoniazida, pirazinamida e rifampicina. As respostas A, B e C correspondem a isoniazida; pirazinamida e a rifampicina, respectivamente.

4.5 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

Os ensaios de dissolução nos comprimidos DFC 3 em 1 foram realizados pela técnica de CLAE para quantificação de H e de Z e pela técnica da espectrofotometria de UV na dosagem de R, conforme descrito no item 3.3.4.2 deste projeto. Os meios utilizados foram o SGS e o SES porque os comprimidos DFC 3 em 1 desenvolvidos possuem uma camada com matriz para liberação prolongada (entérica).

4.5.1 Determinação da isoniazida e da pirazinamida

Os cromatogramas da Figura 57 são injeções em triplicata dos padrões secundários de H (letra C) e de Z (letra D) e do ácido isonicotínico (letra B), utilizado para o ensaio de adequação do sistema. A letra “A” refere-se ao pico do tampão fosfato.

Os requisitos de adequação do sistema utilizados pela USP 31 são: resolução entre Z e o ácido isonicotínico de, no mínimo, 2,5; entre Z e H de, no mínimo, 4 e o desvio padrão relativo, determinado para injeções triplicadas para os ativos, é no máximo 1,5%. Entretanto, por não estar disponível no momento dos ensaios, não foi utilizada a coluna descrita na USP 31 e os resultados apresentaram inversão na saída dos picos, ou seja, H saiu antes de Z, sendo o parâmetro de resolução obtido de: H x ácido isonicotínico com resolução igual a 7,7 e H x Z com resolução igual a 7,6 (valores acima do mínimo solicitado pela USP 31. Estas alterações não influenciaram na aplicação da técnica analítica adaptada a partir da USP 31, resultando em cromatogramas com sinais de boa resolução. Vale ressaltar que todas as soluções padrões foram injetadas individualmente, inclusive, com corrida apenas do tampão fosfato para confirmação do sinal “A” (Figura 57).

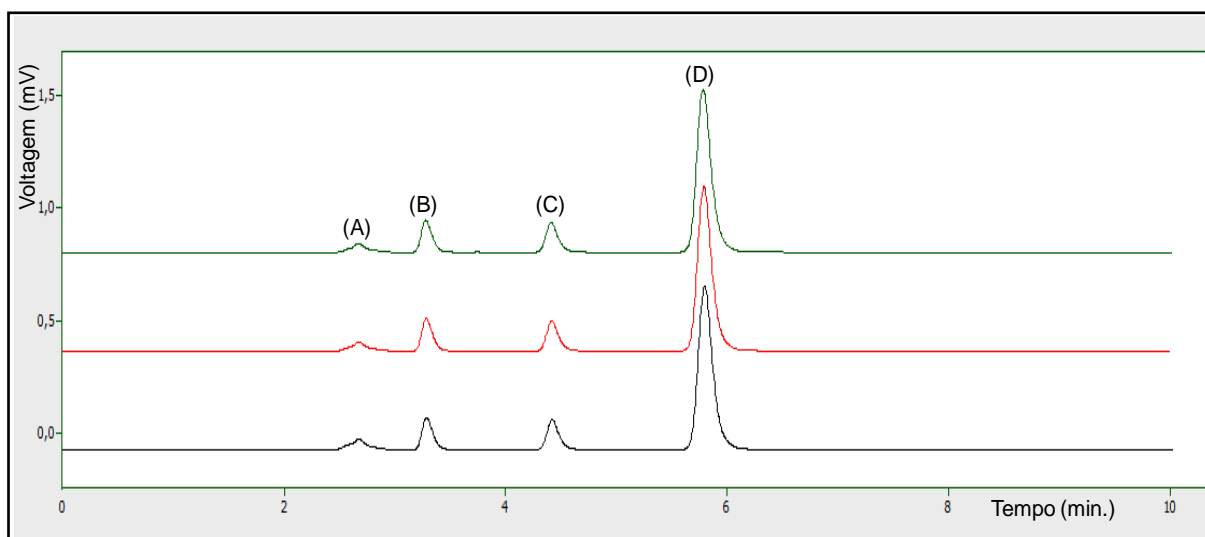


Figura 57 – cromatogramas da solução de adequação ao sistema onde: A) pico do tampão fosfato; B) resposta do ácido isonicotínico; C) resposta do padrão secundário de isoniazida e D) resposta do padrão secundário de pirazinamida.

Os cromatogramas da Figura 58 são as respostas das injeções, em triplicata, das soluções padrões de H e Z. Nota-se que os sinais apresentam boa resolução e

são equivalentes, fato que permite afirmar que a metodologia desenvolvida pode ser empregada nos ensaios de dissolução dos DFC 3 em 1.

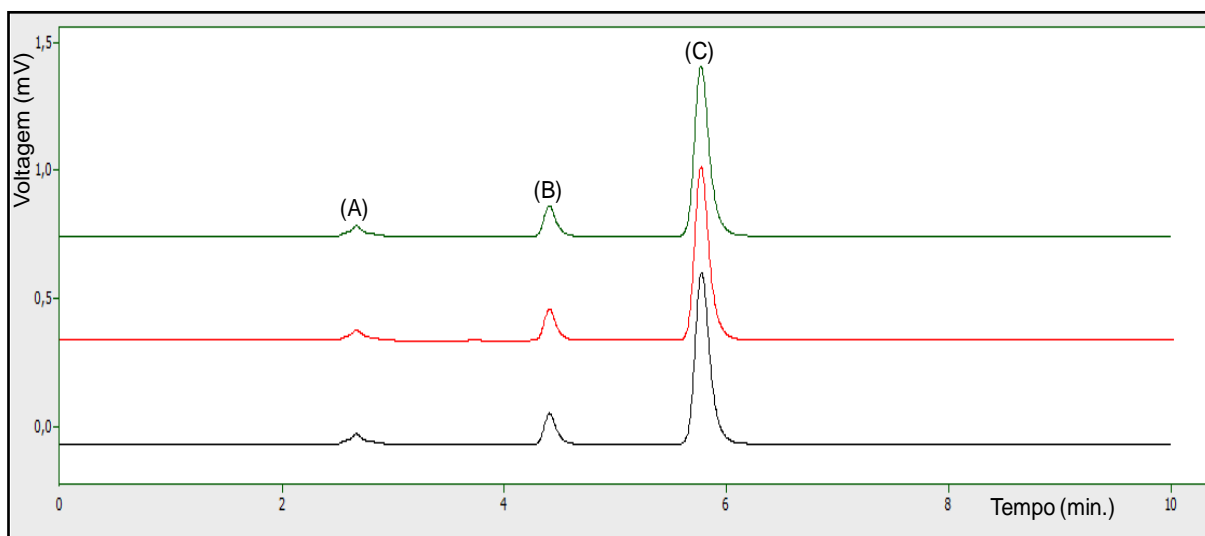


Figura 58 – cromatogramas de injeções triplicatas das soluções padrões de isoniazida e pirazinamida, onde: A) resposta do tampão fosfato; B) resposta do padrão secundário de isoniazida e C) resposta do padrão secundário de pirazinamida.

Os resultados dos tempos de retenção, das áreas dos sinais, dos pratos teóricos, do fator *Tailing* e dos desvios padrões relativos para as análises dos padrões de R e Z estão apresentados na Tabela 25 e se enquadram nos limites exigidos pela USP 31.

Tabela 25 - resultados das análises por CLAE dos padrões secundários de isoniazida e pirazinamida utilizados na adequação do sistema cromatográfico para os ensaios de dissolução dos DFC 3 em 1 produzidos no LabTIF/UFRJ. Os valores representam a média de 3 injeções.

Amostra	Tempo de retenção (min)	Área (mVs)	Pratos Teóricos	Fator <i>Tailing</i>	Desvio padrão relativo
Isoniazida padrão secundário	4,7	1092,0	10028	1,2	1,8
Pirazinamida padrão secundário	6,3	6783,9	12401	1,2	0,5

Após adequação do sistema cromatográfico, foi realizado os ensaios de dissolução com os primeiros DFC 3 em 1. Os resultados das análises, em SGS utilizado para o doseamento dos ativos H e Z, estão expressos no Quadro 17. Nota-se que a formulação que menos liberou H no meio foi a de número 56 (30,2%), que utiliza o HPMC na proporção 1:1 associada com a formulação 08 (camada de liberação imediata da Tabela 3, página 73). Todavia, quando é realizada análise da taxa de dissolução de Z, percebe-se que o pior comportamento foi para a formulação

59 que liberou 89,5% do ativo, seguida da própria formulação 56 com 93,7% de liberação. Fato comum a estas formulações é que ambas utilizam a HPMC na proporção 1:1 (maior que a máxima de 1:0,8 recomendada por Rowe, Sheskey e Owen (2006)) e a concentração mais elevada deste excipiente, parece interferir na liberação do(s) ativo(s) da camada de liberação imediata, muito provavelmente devido contato forçado entre as camadas quando ocorre a compressão dos punções sobre os granulados. Não foram encontradas referências literárias que fundamentem esta argumentação, entretanto ao se observar a letra A da Figura 60 da página 141, percebe-se claramente a existência de resíduos de R (cor alaranjada) e, conseqüentemente, de Z podem contidos no gel de HPMC resultante no final do ensaio de dissolução em SGS.

As formulações 51 (com AFC), 53 e 54 (com HPMC 1:0,6 e 1:0,7, respectivamente) retiveram H em proporções menores, mas não interferiram na liberação ácida de Z (Quadro 17).

As formulações controles (57 e 60) apresentaram resultados de dissolução de liberação de H e de Z com índices próximos a 100% (Quadro 17) ratificando a opção flexível de usá-lo como um medicamento DFC 3 em 1 ou 2 em 1 de liberação imediata.

Os resultados da análise do DFC 3 em 1 comercial foram de 106,9% para H e de 104% para Z.

Com relação aos critérios de aceitação todos os valores de liberação de Z atenderam ao preconizado na USP 31 (mínimo de 80%). Entretanto o critério de aceitação para H (máximo de 15% em SGS) não foi conseguido por nenhuma formulação (Quadro 18) sendo necessário desenvolver outra formulação para que o índice possa ser alcançado. Pode-se pensar em granulação por via úmida com Eudragit[®] L100 ou Eudragit[®] S100 ou HPMC 100.000 cps

No Quadro 17 ainda se observa desvios padrões relativos altos para as formulações 51 e 53 a 55.

Quadro 17: resultados dos parâmetros cromatográficos da dissolução em SGS dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com rifampicina lote 200610049 (teor de 92,6%) enquanto as formulações 55 a 60 foram desenvolvidas com rifampicina 200610038 (teor 98,2%).

Formulação	Isoniazida						Pirazinamida					
	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Liberação (%)	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Liberação (%)
Padrão isoniazida	4,6	1031,2	10298,3	1,2	0,4	-	-	-	-	-	-	-
Padrão pirazinamida	-	-	-	-	-	-	6,1	6266,9	12230,0	1,2	0,3	-
51 (AFC)	4,6	507,	10310,3	1,2	7,8	48,2	6,0	6119,2	13055,5	1,1	0,4	96,7
52 (Viscogel B [®])	4,6	1108,3	10139,7	1,2	1,8	105,1	6,0	6122,9	12583,0	1,2	0,5	96,7
53 (HPMC 1:0,6)	4,6	746,0	10305,7	1,2	5,0	69,4	6,0	6034,5	12315,0	1,2	0,3	95,2
54 (HPMC 1:0,7)	4,6	689,4	10325,7	1,2	2,2	63,5	6,0	6489,4	12126,7	1,2	0,2	102,4
55 (HPMC 1:0,8)	4,4	343,1	7584	1,3	5,1	32,5	5,8	6508,7	9155	1,3	0,2	100,1
56 (HPMC 1:1)	4,4	318,1	7584	1,3	2,0	30,2	5,8	6090,7	9155	1,2	0,3	93,7
57 (Controle)	4,4	1074,8	7596	1,3	2,0	102,0	5,8	6403,2	7596	1,3	2,0	98,5
58 (HPMC 1:0,8)	4,4	333,4	7562	1,3	1,9	31,6	5,8	6140,7	9113,0	1,3	0,2	94,4
59 (HPMC 1:1)	4,4	355,0	7550	1,3	1,6	33,7	5,8	5822,0	9103,0	1,3	1,3	89,5
60 (Controle)	4,4	1116,7	7573	1,3	1,4	105,9	5,8	6227,7	7573	1,3	0,7	95,8
Comercial	4,4	1017,5	7471	1,3	1,1	106,9	5,8	6761,6	9050	1,3	0,4	104,0

Notas: ^aTR igual a tempo de retenção; ^bPT igual a pratos teóricos; ^cFT igual a fator *Tailling* e ^dDPR igual a desvio padrão relativo.

Parâmetros USP 31: PT: mínimo para isoniazida: 6000; mínimo para pirazinamida: 10000; mínimo para rifampicina: 50000; DPR: máximo 2; Fator *Tailling* máximo: 2% e faixa de teor (rifmpicina/isoniazida/pirazinamida): 90 a 110%.

Os ensaios de dissolução em SES foram realizados com as formulações 56 e 57 (formulação 08 da Tabela 3, página 73, com HPMC 1:0,8 e 1:1, respectivamente) e as formulações 58 e 59 (formulação 09 da Tabela 3, página 73, com HPMC 1:0,8 e 1:1, respectivamente). Na Figura 59, se observa os cromatogramas dessas amostras frente aos padrões de H e Z. As letras A, B e C são as respostas do tampão fosfato, de H e de Z, respectivamente.

A interpretação dos cromatogramas da Figura 59 é importante porque ratifica a argumentação realizada no ensaio de doseamento dos ativos sobre a interação da HPMC na proporção 1:1 com a camada de liberação imediata que acaba por diminuir a liberação dos ativos R e Z no SGS, ou seja, no cromatograma da formulação 59 (Figura 59 (I)), nota-se uma pequena resposta de Z (letra C). Fato que se repete com a formulação 59 (Figura 59 (II)).

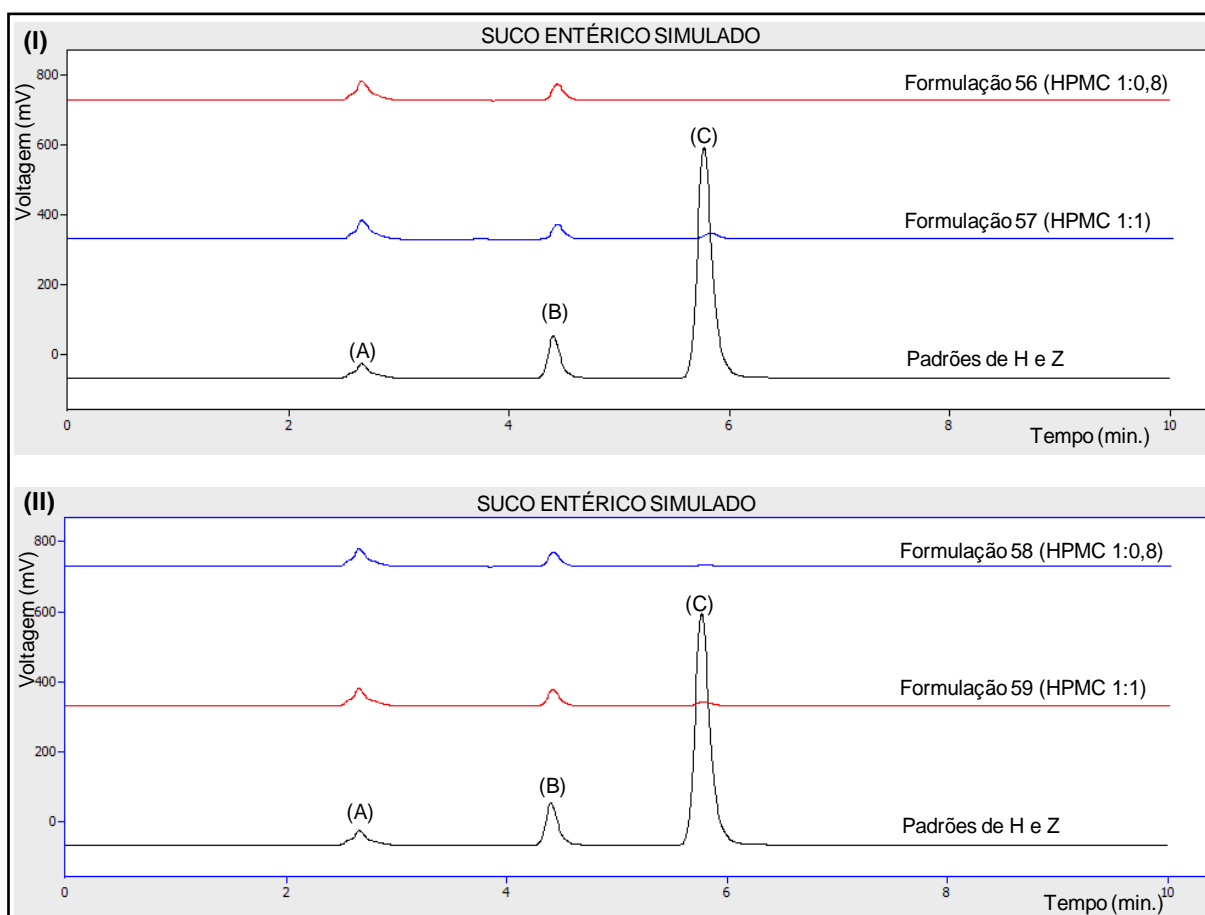


Figura 59 – cromatogramas da dissolução, em SES, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: (I) formulação 08 da Tabela 3, página 73, com HPMC nas proporções 1:0,8 e 1:1 e (II) formulação 09 da Tabela 3, página 73, com HPMC nas proporções 1:0,8 e 1:1. As letras A, B e C são as respostas do tampão fosfato, de isoniazida e de pirazinamida, respectivamente.

No Quadro 18 estão apontados os resultados dos parâmetros cromatográficos da dissolução das amostras de DFC 3 em 1 em SES. Analisando os dados, pode-se

observar que o índice de liberação do ativo parece não depender da variação do pH porque os valores encontrados para o meio entérico são, em termos quantitativos, muito próximos aos do meio gástrico. O maior índice de liberação em SGS foi de 33,7% em 30 minutos, para a formulação 59 enquanto para o SES, em 45 minutos, este valor foi de 37,9% e para esta mesma formulação (Tabela 26, página 139). Este ensaio é um desenvolvimento local baseado nas informações da USP 31 para a dissolução do DFC 4 em 1.

Quadro 18: resultados dos parâmetros cromatográficos da dissolução em SES dos DFC 3 em 1. As formulações foram desenvolvidas com rifampicina 200610038 (teor 98,2%).

Formulação	Isoniazida					
	TR ^a (min)	Área (mVs)	PT ^b	FT ^c	DPR ^d	Liberação (%)
Padrão isoniazida	4,6	1031,2	10298,3	1,2	0,4	-
55 (HPMC 1:0,8)	4,4	392,4	7584	1,3	2,5	37,2
56 (HPMC 1:1)	4,4	396,6	7191	1,3	0,5	37,6
58 (HPMC 1:0,8)	4,4	378,8	7126	1,3	2,0	35,9
59 (HPMC 1:1)	4,4	399,7	7539	1,3	0,4	37,9

Nota: ^aTR igual a tempo de retenção; ^bPT igual a pratos teóricos; ^cFT igual a fator *Tailing* e ^dDPR igual a desvio padrão relativo

A Tabela 26 (página 139) elucida os índices de liberação de H nos meios SGS e SES. Apesar da liberação de H não ter ocorrido da forma desejada, isto é, máximo de 15% de liberação do ativo em SGS e liberação restante em SES, a formulação DFC 3 em 1 atinge seu objetivo em reduzir a concentração de H presente de forma concomitante com R no SGS, contribuindo dessa forma, para reduzir a degradação da mesma. O somatório das liberações de H (SGS e SES) com maior índice foi de 71,6% para a formulação 59 e o somatório das liberações com menor valor foi de 67,5% para a formulação 58.

Tabela 26 - resultados dos ensaios de dissolução por CLAE dos DFC 3 em 1 para liberação de isoniazida nos meios SGS e SES.

Formulação	Liberação de isoniazida		
	SGS (30 min.)	SES (45 min.)	Total
55 (HPMC 1:0,8)	32,5%	37,2%	69,7%
56 (HPMC 1:1)	30,2%	37,6%	67,8%
58 (HPMC 1:0,8)	31,6%	35,9%	67,5%
59 (HPMC 1:1)	33,7%	37,9%	71,6%

4.5.2 Determinação da rifampicina

Os resultados dos ensaios de dissolução para determinação dos índices de liberação de R estão apresentados no Quadro 19. Todos os comprimidos DFC 3 em 1 produzidos com R lote 200610038 (formulações 55 a 60) apresentaram índices de dissolução dentro do mínimo especificado (85%). As formulações 51 a 54 foram desenvolvidas com o lote 200610049 (teor 92,6%) e os resultados de liberação do ativo estão abaixo de 85%. As formulações controle (57 e 60), de liberação imediata dos para os três ativos, apresentaram índices dentro dos limites desejados.

O valor do ensaio de dissolução para o DFC 3 em 1 comercial observados para R foi de 108,1%.

Quadro 19: resultados dos parâmetros de UV da dissolução em SGS dos DFC 3 em 1. As formulações 51 a 54 foram produzidas com rifampicina lote 200610049 (teor de 92,6%) enquanto as formulações 55 a 60 foram desenvolvidas com a rifampicina 200610038 (teor 98,2%).

Formulação	Absorção no UV	Liberação de rifampicina em SGS (30 min.)
Rifampicina padrão USP	0,347	-
51 (AFC)	0,223	65,7%
52 (Viscogel B [®])	0,225	66,3%
53 (HPMC 1:0,6)	0,252	74,2%
54 (HPMC 1:0,7)	0,263	77,5%
55 (HPMC 1:0,8)	0,327	91,3%
56 (HPMC 1:1)	0,321	89,7%
57 (Controle)	0,335	93,4%
58 (HPMC 1:0,8)	0,320	89,4%
59 (HPMC 1:1)	0,308	86,0%
60 (Controle)	0,326	91,1%
Comercial	0,387	108,1%

Durante os ensaios de dissolução foi observado que durante a troca do meio (SGS para SES) uma pequena parte da camada de liberação imediata fica adsorvida na camada de liberação entérica (Figura 60), fato que pode acarretar em pequenas baixas nos índices de dissolução, em SGS, para os ativos Z e R. As amostras dos comprimidos DFC 3 em 1 da Figura 60 correspondem a: letra A – comprimido DFC com HPMC 1:1; letra B – comprimido DFC com HPMC 1:0,7; letra C - comprimido DFC com HPMC 1:0,8 e letra D comprimido DFC com AFC. As setas apontam para os comprimidos íntegros (antes do ensaio) e dissolvidos (após o ensaio).

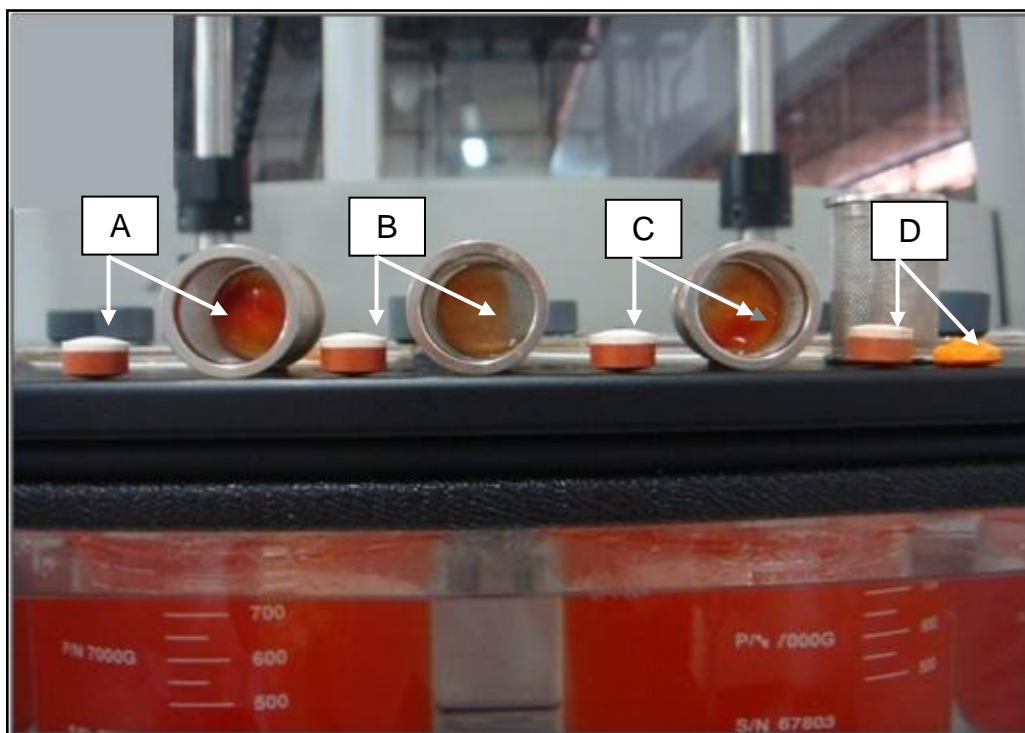


Figura 60 – ensaio de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: A) comprimido DFC com HPMC 1:1; B) comprimido DFC com HPMC 1:0,7; C) comprimido DFC com HPMC 1:0,8 e D) comprimido DFC com AFC. As setas sinalizam para os comprimidos íntegros (antes do ensaio) e dissolvidos (após o ensaio). Foto realizada no LFM.

4.6 ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO POR DISPERSÃO DAS AMOSTRAS DE RIFAMPICINA

Os resultados das análises de dispersão para os lotes amostras de R estão apresentados no Quadro 20. Nota-se que todos os lotes analisados apresentaram teores próximos a 100% e que entre as amostras que com descrição da forma de apresentação dos grânulos em micronizada, não compactada e compactada, esta foi a que melhor resultado apresentou (99,5%)

Quadro 20: resultados dos parâmetros de UV para dispersão dos lotes amostras de rifampicina.

Amostra	Absorção no UV	Teor
Rifampicina padrão USP	0,347	-
Rifampicina lote 200610029	0,340	98,0%
Rifampicina lote 200610038	0,340	98,1%
Rifampicina lote 200610049	0,344	99,1%
Rifampicina lote 0805045M	0,344	99,1%
Rifampicina lote 0710046M	0,327	94,3%
Rifampicina lote RB0903029 não compactada	0,357	99,3%
Rifampicina lote RB0806125 micronizada	0,347	96,8%
Rifampicina lote RB0812335 compactada	0,358	99,5%

4.7 PERFIL DE LIBERAÇÃO DO DFC 3 EM 1

Os perfis de liberação ao longo do tempo dos comprimidos DFC 3 em 1 das formulações 55 a 57 e do comprimido DFC 3 em 1 comercial para os ativos Z e R em SGS, podem ser observados na Figura 61.

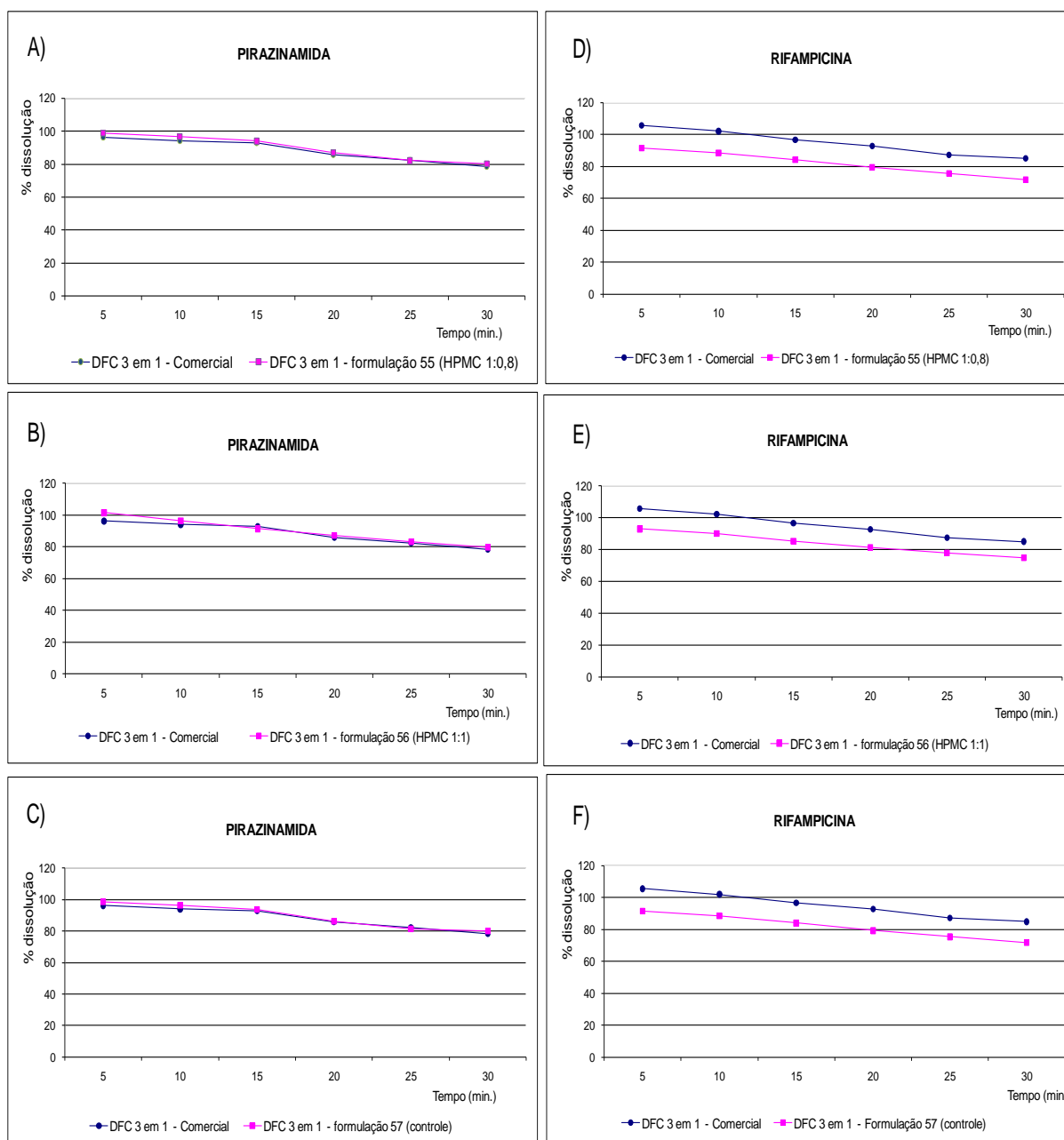


Figura 61 – ensaio do perfil de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1, onde: A, B e C são as curvas de pirazinamida para as formulações 55, 56 e 57, respectivamente, e D, E e F referem-se as curvas de rifampicina para àqueles mesmas formulações.

As amostras de Z (letras A, B e C) e de R (letras E e F) apresentaram valores de dissolução (Quadro 21, página 144) maiores ou iguais a 85% nos primeiros 15

minutos dos ensaios, descartando a necessidade dos cálculos de f_1 e f_2 . O mesmo critério não pôde ser adotado para R da letra D porque, com 15 minutos de análise, a sua dissolução ficou em 84,1% gerando fator de diferença (f_1) de 13,8 (faixa aceitável 0 a 15) e fator de semelhança (f_2) de 44,1 (faixa aceitável 50 a 100). Com a utilização do fator de correção, f_1 passou para 13,3 e f_2 para 41,4. Também nota-se que os perfis de liberação de Z são equivalentes e o de R não, mas que todas as amostras possuem um efeito de “*burst effect*” da liberação dos ativos.

Na Figura 62 observam-se as respostas cromatográficas do ensaio de perfil de dissolução em SGS para a formulação 56 (HPMC 1:1). As letras A, B e C referem-se aos sinais do tampão fosfato, de H e de Z, respectivamente. Com o decorrer da análise, nota-se gradativo aumento (letra B) na concentração de H (liberação prolongada) e diminuição na intensidade da resposta de Z (letra C) no SGS.

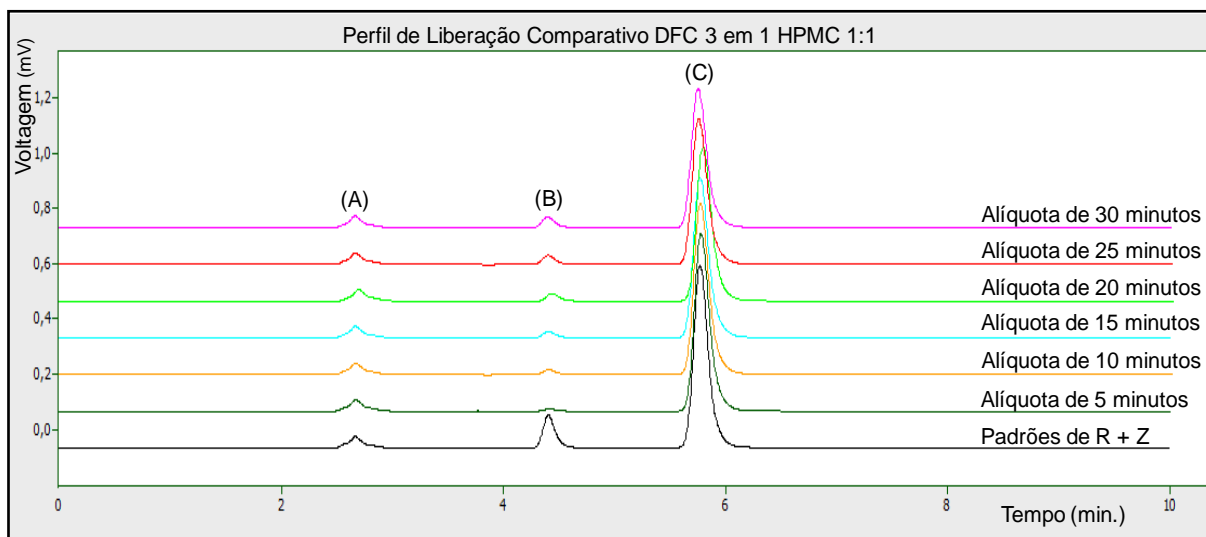


Figura 62 – cromatograma da formulação 56 no ensaio do perfil de dissolução. As letras A, B e C correspondem, respectivamente, as respostas do tampão fosfato, de isoniazida e de pirazinamida.

O perfil de dissolução comparativo de H foi realizado em SGS com a formulação 57 que não possui matriz prolongadora de liberação, sendo, então, uma formulação de liberação imediata dos três ativos. Também não houve necessidade dos cálculos de f_1 e f_2 para este ativo. Os valores da dissolução estão no Quadro 21.

Quadro 21: resultados dos parâmetros do perfil de liberação, em SGS, para as formulações 55 a 57 e da amostra de DFC 3 em 1 da Maneesh/Sanobiol de comprimidos DFC 3 em 1.

Tempo (min.)	Rifampicina			
	Comercial	Formulação 55	Formulação 56	Formulação 57 (controle)
5	105,6%	91,5%	92,9%	91,2%
10	102,1%	88,6%	90,1%	89,1%
15	96,7%	84,1%	85,3%	85,0%
20	92,7%	79,3%	81,3%	80,0%
25	87,3%	75,5%	77,7%	76,3%
30	84,9%	71,8%	74,7%	72,2%
Tempo (min.)	Pirazinamida			
	Comercial	Formulação 55	Formulação 56	Formulação 57 (controle)
5	96,2%	98,8%	101,5%	98,5%
10	94,0%	96,8%	96,4%	96,5%
15	93,0%	94,0%	91,4%	93,8%
20	85,8%	86,7%	87,2%	86,3%
25	82,4%	82,2%	83,1%	81,4%
30	78,5%	80,3%	79,9%	80,2%
Tempo (min.)	Isoniazida			
	Comercial	Formulação 57 (controle)		
5	105,3%	99,1%		
10	99,4%	95,8%		
15	94,1%	92,1%		
20	90,5%	88,9%		
25	90,2%	87,5%		
30	83,1%	82,7%		

A equivalência das curvas do perfil de liberação de H pode ser observada na Figura 63.

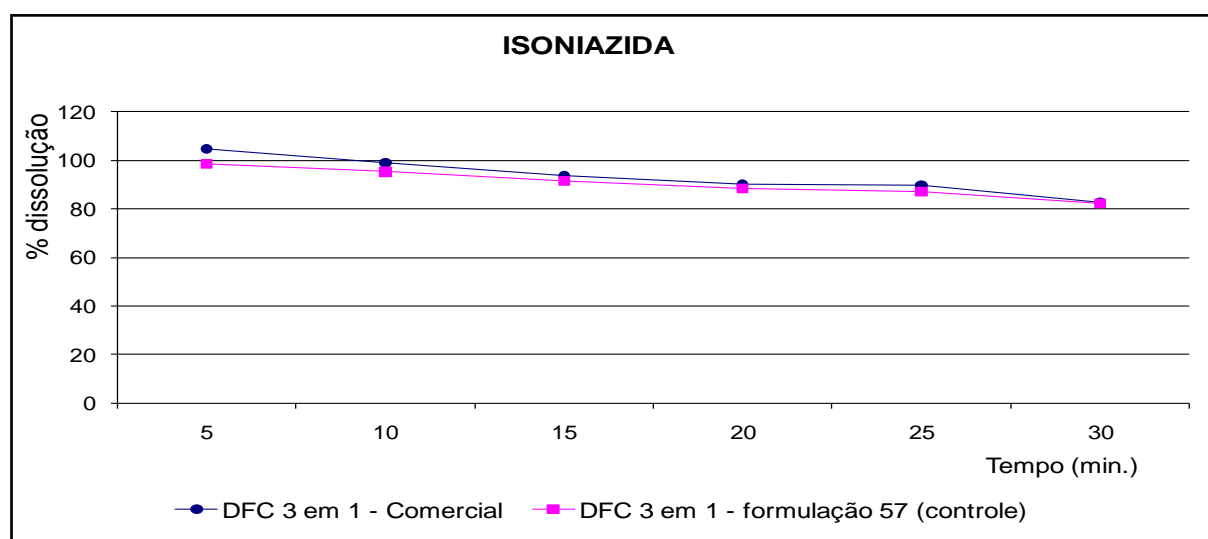


Figura 63 – ensaio do perfil de dissolução, em SGS, dos comprimidos DFC 3 em 1 da formulação 57 (sem agentes moduladores de liberação).

5 CONCLUSÕES

O desenvolvimento de comprimidos DFC 3 em 1 com duas camadas com liberação imediata para a rifampicina (R) e a pirazinamida (Z) e com liberação prolongada ou controlada para isoniazida (H) é uma alternativa para minimizar as interações químicas que ocorrem entre R e H. Os comprimidos DFC 3 em 1 desenvolvidos neste projeto não lograram êxito na liberação controlada da H (os índices de liberação do fármaco no SGS ficaram acima do valor máximo de 15% em 30 minutos), mas permitem uma flexibilização do seu uso como comprimidos DFC 3 em 1 com duas camadas de liberação imediata para os três ativos ou ainda como comprimidos DFC 2 em 1 com duas camadas de liberação imediata para a R e H, com a vantagem de que o contato entre estes dois ativos seria mínimo para ambas apresentações até a ingestão pelo paciente.

A matriz polimérica que apresentou melhores resultados no controle de liberação de H foi a HPMC 100.000 cps que reteve até 69,8% do fármaco no ensaio de dissolução com SGS, mas apresentou liberação máxima em SES de 37,9% do ativo disponível após o ensaio com SGS.

A associação das técnicas de difração de raios-X (DRX), de espectroscopia no infravermelho (IV) e de calorimetria exploratória diferencial (DSC) mostrou-se muito útil para a caracterização das substâncias, para os ensaios de compatibilidade e de estabilidade das formulações propostas. Ficou constatado a provável interação de R com Z tanto na mistura física (MF) quanto no empastamento alcoólico (EA) com desaparecimento de picos característicos de R na análise por DRX que foi confirmada pela alteração das bandas no IV e pelo deslocamento das curvas térmicas de ponto de fusão na DSC.

Outra provável interferência observada na DSC diz respeito à associação de R + Z no EA com o docusato de sódio (DS). As curvas da DSC registraram deslocamentos das endotermas de fusão de R + Z quando comparadas a estas mesmas substâncias puras.

O ensaio de estabilidade foi aplicado no ativo puro (R), na MF de R + Z e nos EA de R + Z com o DS e o metabisulfito de sódio (MbS) e conduzido em câmara climática por 90 dias a 40 °C e 75% de UR. Foram observadas coalescência de alguns sinais de DRX, alterações de algumas bandas de IV e deslocamento das curvas de fusão na DSC na comparação dos resultados entre as análises iniciais (tempo zero) e com 30, 60 e 90 dias, principalmente para nos EA.

Nos ensaios para doseamento dos insumos ativos e dos comprimidos DFC 3 em 1 foram empregadas as técnicas de espectroscopia no ultravioleta (UV) e de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os métodos analíticos foram baseados na Farmacopeia Americana edição 31 com adaptação local para o emprego da CLAE e, frente aos resultados obtidos, pode-se inferir que a metodologia analítica utilizada atende a proposta de trabalho.

O perfil comparativo de dissolução dos ativos Z + R nos comprimidos DFC 3 em 1 desenvolvidos no Lab.TIF/UFRJ comparado com a amostra do DFC 3 em 1 de comercial, revela equivalência para as curvas para Z e não semelhança para as curvas de R. Quando é realizado perfil comparativo do DFC 3 em 1 do Lab.TIF/UFRJ com a formulação controle (57) para avaliação de H, nota-se que as curvas são equivalentes.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL, S.; PODDAR, S.S. A flexible technology for modified release of drugs: multi layered tablets. **Journal of Controlled Release**, 97, p.393-405, 2004.

AGRAWAL, S. et al. Assessment of bioequivalence of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide in a four drug fixed combination with separate formulations at the same dose levels. **International Journal of Pharmaceutics**, 233, p.169-177, 2002.

AGRAWAL, S. et al. Solid-state characterization of rifampicin samples and its biopharmaceutic relevance. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 22, p.127-144, 2004.

AGRAWAL, S. et al. Comparative bioavailability of rifampicin, isoniazid and pyrazinamide from a four drug fixed dose combination with separate formulations at the same dose levels. **International Journal of Pharmaceutics**, 276, p.41-49, 2004b.

AGRAWAL, S.; PANCHAGNULA, R. Dissolution test as a surrogate for quality evaluation of rifampicin containing fixed dose combination formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, 287(1-2), p.97-112, 2004.

AKALIN, E.; AKYUZ, S. Vibrational structure of free and hydrogen bonded complexes of isoniazid: FT-IR, FT-Raman and DFT study. **Journal of Molecular Structure**, (834–836), p. 492–497, 2007.

AKYUZ, S.; AKYUZ, T. FT-IR spectroscopic investigations adsorptions of pyrazinamide and 4-aminopyrimidine by clas. **Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry**, v.48, p. 78-80, 2006.

AKYUZ, S.; AKYUZ, T. FT-IR and FT-Raman spectroscopic studies of adsorption of isoniazid by montmorillonite and saponite. **Vibrational Spectroscopy**, v.48, p. 229-232, 2008.

ALLESO, M. et al. Enhanced dissolution rate and synchronized release of drugs in binary systems through formulation: Amorphous naproxen–cimetidine mixtures prepared by mechanical activation. **Journal of Controlled Release**, v.136, p.45–53, 2009.

ALVES, Ricardo. **Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose**. 2007. 90f. Dissertação (Ciências Farmacêuticas)–Área de Produção e Controle Farmacêuticos, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

AMIDON, G. L.; LENNERNÄS, H.; SHAH, V.P. A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, p. 413-420, 1995.

ANSEL, H. C.; ALLEN, L.V.; POPOVICH, N. G. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 6.ed. São Paulo: Editorial Premier, 2000. p. 236-249.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Tradução de George G. Ortega *et al.* 2. ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. p. 298-313.

BALESTRIERI, F. et al. Application of differential scanning calorimetry to the study of drug-excipient compatibility. **Thermochimica Acta**, v. 285, p.337-345, 1996.

BAZZO, G.C.; SILVA, M.A.S. Estudo termoanalítico de comprimidos revestidos contendo captopril através de termogravimetria (TG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.3, p.315-322, 2005.

BHUTANI, H.; MARIAPPAN, T.T.; SINGH, S. The physical and chemical stability of anti-tuberculosis fixed-dose combination products under accelerated climatic conditions. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease** 8(9), p. 1073-1080, 2004.

BHUTANI, H. et al. Mechanistic explanation to the catalyses by pyrazinamide and ethambutol of reaction between rifampicin and isoniazid in anti-TB FDCs. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analyses**, 39, p.892-899, 2005.

BRASIL. RE n.310, de primeiro de setembro de 2004. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução, 2004.

_____. RE n.1, de 29 de julho de 2005. **Agência Nacional de Vigilância Sanitária**. Guia para a realização de estudos de estabilidade. Diário Oficial da União, Brasília, 1 ago. 2005.

_____. Guia de Vigilância Epidemiológica – Normas e Manuais Técnicos. **Ministério da Saúde**, série A, 7 ed., cad.7, p.39-60, Brasil, 2009.

_____. Ministério da Saúde. Notícia 10504, 2009a. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=10504> Acesso em: 12 fev.2010.

_____. Notícia 10470, 2009b. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/aplicacoes/noticias/default.cfm?pg=dspDetalheNoticia&id_area=124&CO_NOTICIA=10470>. Acesso em: 12 fev.2010.

_____. Nota Técnica (SN), 2009c. Disponível em: <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/nota_tecnica_versao_28_de_agosto_v_5.pdf>. Acesso em: 12 fev.2010

BRITISH PHARMACOPOEIA. Ed. Stationery Office, v.I, p.1107-1108, 2009.

_____. Ed. Stationery Office, v.II, p.1784-1785, 2009b.

_____. Ed. Stationery Office, v.II, p.1745, 2009c.

CASTRO, R.A.E. et al. A new insight into pyrazinamide polymorphic forms and their thermodynamic relationships. **Crystal Growth & Design**, v.10, p.274-282, 2010.

CHAWLA, G. et al. Characterization of solid-state forms of celecoxib. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.20, p.305-317, 2003.

CHIENG, N. et al. Physical characterization and stability of amorphous indomethacin and ranitidine hydrochloride binary systems prepared by mechanical activation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 71, p.47-54, 2009.

CHIS, S. et al. Experimental and DFT study of pyrazinamide. **Chemical Physics**, 316, p.153-163, 2005.

COLLET, J.; MORETTON, C. Formas farmacêuticas perorais de liberação modificada. In: AULTON, M.E. **Delineamento de formas farmacêuticas**, 2ed. Porto Alegre: Artemed, 2005.

COUTINHO, Sandra S. **Avaliação do uso de nanocompósitos Bentonita – Polissacarídeo como novas matrizes de liberação prolongada**. 2004. 136f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

CRCAREVSKA; M.S.; DODOV, M.G.; GORACINOVA, K. Chitosan coated Ca-alginate microparticles loaded with budenosid for delivery to the inflamed colonic mucosa. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.68(3), p.565-578, 2008.

DRUGBANK. Estruturas químicas da isoniazida, da rifampicina e da pirazinamida. Disponível em: <http://www.drugbank.ca/structure_viewer>. Acesso em: 28 nov.2009.

EL-BARY, A.A. et al. A stability study of rifampicin – **Bulletin of the Faculty of Pharmacy** (Cairo University), v.42, n-2, p.69-83, 2004.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA. 4 ed. São Paulo: Ed. Atheneu. São Paulo, 2005, parte 2, sexto fascículo, ensaio 295.1. **Isoniazida comprimidos**.

_____. 4 ed. São Paulo: Ed. Atheneu. São Paulo, 2002, parte 2, quarto fascículo, ensaio 207.1. **Pirazinamida comprimidos**.

_____. 4 ed. São Paulo: Ed. Atheneu. São Paulo, 1988. Parte 1, V.1.1. **Determinação de peso em formas farmacêuticas**.

_____. 4 ed. São Paulo: Ed. Atheneu. São Paulo, 1988a. Parte 1, V.1.3, **Determinação de resistência mecânica em comprimidos**.

_____. 4 ed. São Paulo: Ed. Atheneu. São Paulo, 1988b. Parte 1, V.1.4, **Testes de desintegração**.

FREIRE, A.C. et al. Liberação específica de fármacos no cólon por via oral. II – Tipos de sistemas utilizados. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.42, n.3, p.337-355, 2006.

FEEELY, L.S.; DAVIS, S.S. The influence of polymeric excipients on drug release from hydroxypropylmethylcellulose matrices. **International Journal of Pharmaceutics**, v.44, n.1-3, p.131-139, 1998.

GALLO, G.G, RADAELLI, P. Rifampicin in: FLOREY K (Ed.), Analytical Profile of Substances, London: **Academic Press**, p.468-513, 1976.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in characterization of polymorphs and solvates, **Thermochimica Acta**, 248, p.1-59, 1995.

GOHEL, M.C.; SARVAIYA, K.G. A novel solid dosage form of rifampicin and isoniazid with improved functionality. **American Association of Pharmaceutical Scientists**, PharmSciTech, 8(3), 68 art., 2007.

HALEBLIAN, J.; MCCRONE, W.J. Pharmaceutical applications of polymorphism. **Journal of Pharmaceutical Science**, v.58, p. 911-929, 1969.

HENWOOD, S.Q. et al. Solubility and dissolution properties of generic rifampicin raw material. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v.26, n.4, p.403-408, 2000.

HENWOOD, S.Q. et al. Characterization of solubility and dissolution properties of several new rifampicin polymorphs, solvates and hydrates. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, 27 (10), p.1017-1030, 2001.

HIREMATH, P.S.; SAHA, R.N. Oral matrix tablet formulations for concomitant controlled release of anti-tubercular drugs: Design and in vitro evaluations. **International Journal of Pharmaceutics**, v.362, p.118–125, 2008.

JOSHI, G.V. et al. Montmorillonite as a drug delivery system: Intercalation and in vitro release of timolol maleate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 374, p. 53–57, 2009.

JUNIOR, S.V.C. **Técnicas de caracterização de polímeros**. Editora Artiber, 2004, p.17-261.

JUNIOR, W.A.P. **Quimioterapia da tuberculose, complexo *Mycobacterium avium* e hanseníase**. In: Goodman & Gilman: As Bases Farmacológicas da Terapêutica. Tradução Brunton, L.L. *et al.* 11 ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2007. p.1083-1102.

KALINKOVA, G. N. Studies of beneficial interactions between active medicaments and excipients in pharmaceutical formulations. **International Journal of Pharmaceutics**, v.187, p.1-15, 1999.

KARAVAS, E. et al. Investigation of the release mechanism of a sparingly water-soluble drug from solid dispersions in hydrophilic carriers based on physical state of drug, particle size distribution and drug-polymer interactions. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.66, p.334-347, 2007.

KENAWI, I.M.; BARSOUM, B.N.; YOUSSEF, M.A. Drug-drug interaction between diclofenac, cetirizine and ranitidine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.37, p.655-661, 2005.

LIMMATVAPIRAT, S. et al. Enhanced enteric properties and stability of shellac films through composite salts formation. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.67, p.690-698, 2007.

LIMMATVAPIRAT, S. et al. Modulation of drug release kinetics of shellac-based matrix tablets by in-situ polymerization through annealing process. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v.69, p.1004-1013, 2008.

LOENHOUT-ROOYACKERS, J.H.; VEE, J.H. Treatment of pulmonary tuberculosis. **The Netherlands Journal of Medicine**, v.53(1), p.7-14, 2004.

LOPES, C.M.; LOBO, J.M.S.; COSTA, P. Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v.41, n.2, abr./jun. p. 143-154, 2005.

LORDI, N.G. Formas farmacêuticas de liberação prolongada. In: LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H.A.; KANIG, J.L. **Teoria e prática na indústria farmacêutica**. 3 ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, p. 737-782, 2001.

MARIAPPAN, T.T.; SINGH, S. Regional gastrointestinal permeability of rifampicin and isoniazid (alone and their combination) in the rat. **International Journal of Tuberculosis and Lung Disease**, 7(8), p.797-803, 2003.

MARTINDALE. **The Extra Pharmacopoeia** – The Universally Acclaimed Source of Drug Information. 30ed, The Pharmaceutical Press, 1993.

MARVOLA, M. et al. Enteric polymers as binders and coating materials in multiple-unit site-specific drug delivery systems. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, 7, p.259-267, 1999.

MCGINITY, J. W., LACH, J. L. Sustained release applications of montmorillonite interaction with amphetamine sulfate. **Journal of Pharmaceutical Science**, v. 66, n. 1, p. 63-66, 1977.

METTELER TOLEDO. **A indústria farmacêutica e a análise térmica**. Aplicações Reunidas T.A, cat. 2009.

MOHAM, B.; SHARDA, N.; SINGH, S. Evaluation of recently USP gradient HPLC method for analyses of anti-tuberculosis drugs for its ability to resolve degradation products of rifampicin. **J. Pharm. Biomed. Anal.**, v.31, p.607-612, 2003.

MOREIRA, G.F. et al. Aplicação calorimétrica diferencial (DSC) para pureza de fármacos. **Produção e Produção**, v.11, n.1, p.22-29, 2010.

MOTHÉ, C.G.; AZEVEDO, A.D. **Análise Térmica de Materiais**. Ieditora, p.301, 2002.

NIAID. NATIONAL INSTITUTE OF ALLERGY AND INFECTIOUS DISEASE. Esquema representativo dos mecanismos de ação, adaptado, dos fármacos de “primeira linha” utilizados para o tratamento da tuberculose. Disponível em: <<http://www3.niaid.nih.gov/topics/tuberculosis/Understanding/WhatIsTB/ScientificIllustrations/>>. Acesso em: 27 fev. 2010.

ORTIZ, R.S. et al. Desenvolvimento e avaliação de comprimidos matriciais hidrofílicos contendo elevada carga de fármaco muito solúvel via delineamento estatístico experimental. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.28(5), p.668-74, 2009.

PANCHAGNULA, R.; AGRAWAL, S. Biopharmaceutical and pharmacokinetic aspects of variable bioavailability of rifampicin. **International Journal of Pharmaceutics**, 217, p.1-4, 2004.

PASCUZZO, L.C. **Farmacología Básica 2008**, v.4, p. 345–347. Disponível em: <<http://www.livrodegraca.com/2009/05/farmacologia-basica-2008.html>>. Acesso em: 25 nov. 2009.

PELIZZA, G. et al. Polymorphism of rifampicin. **II Farmaco**. Edizione Scientifica, ano 32, n.7, p 471-481, 1977.

PHADNIS, N.V.; CAVATUR, R.K.; SURYANARAYANAN, R. Identification of drugs in pharmaceutical dosage forms by X-ray powder difratometry. **Journal of Pharmacuetical and Biomedical Analysis**, v.15, p.929-943, 1997.

PIAO, Z.Z.; LEE, M.K.; LEE, B.J. Colonic release and reduced intestinal tissue damage of coated tablets containing naproxen inclusion complex. **International Journal of Pharmaceutics**, v.350(1-2), p.205-211, 2008.

PODCZECK, F.; JONES, B.E. Pharmaceutical capsules. 2ed, **Pharmaceutical Press**, p. 272, 2004.

ROSSETI, M.L.R. et al. Tuberculose resistente: revisão molecular. **Revista de Saúde Pública**, v.36, n. 4, p.525-532, 2002.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P.J.; OWEN, S. C. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. 5 ed. American Pharmaceutical Association, 2006.

SANTOS, J.L. et al. Estudo de metodologia analítica para a determinação do cetoconazol em formulações farmacêuticas. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.30(2), p.33-38, 2009.

SARIGÜLLÜ, I.Ö.; ERTAN, G.; GÜNERI, T. Dissolution characteristics of megaloporus tablets prepared with two kinds of matrix granules. **II Farmaco**, v.59, p.549-555, 2004.

SHABIR, G. Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis Understanding the differences and similarities between validation requirements of US Food and Drug Administration. The US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization, **Journal of Chromatography A**, v.987, p.57-66, 2003.

SHISHOO, C.J. et al. Impaired bioavailability of rifampicin in presence of isoniazid from fixed dose combination (FDC) formulation. **International Journal of Pharmaceutics**, 228, p.53 -67, 2001.

SIEPE, S. et al. Strategies for the design of hydrophilic matrix tablets with controlled microenvironmental pH. **International Journal of Pharmaceutics**, v.316 (1-2), p.14-20, 2006.

SILVA, P. **Farmacologia – Quimioterapia da tuberculose e micobactérias atípicas**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p.1060-1064.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. Tradução de Ricardo Bicca de Alencastro. 7. ed. Rio de Janeiro: LTC Editora, 2006.

SINGH, S. et al. A critical review of probable reasons for the poor/variable bioavailability of rifampicin from anti-tubercular fixed-dose combination (FDC) products, and the likely solutions to the problem. **International Journal of Pharmaceutics**, 228, p.5-17, 2001.

SINGH S.; BHUTANI, H.; MARIAPPAN, T.T. Quality problems of anti-tuberculosis fixed-dose combinations (FDCS): a way forward. **Indian Journal of Tuberculosis**, 53, p.201-205, 2006.

SKOOG, D.A.; HOLLER, F.J.; NIELMAN, T.A. Principles of Instrumental Analysis. Cap.12: **Atomic X-Ray Spectrometry**, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998, p.272-296.

STOP TB PARTNERSHIP. **The Global Plan to Stop TB, 2006 – 2015. Actions for life: towards a world free of tuberculosis**, p. 26, 2006.

STREUBEL, A. et al. Bimodal drugs release achieved with multi-layer matrix tablets: transport mechanisms and device design. **Journal of Controlled Release**, 69(3), p.455-468, 2000.

THE MERCK INDEX. **An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals**. Merck & Co, 4ed., p.5186-8217, 2006

TIBOLA, Ana Paula Oliveira Vilela. **Estudo de compatibilidade entre a isoniazida e excipientes farmacêuticos**. 2009. 140f. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Área de Concentração: Insumos, Medicamentos e Correlatos-Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2009.

USP. THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. 31.ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, INC., v.2, p.2460, 2008.

_____. _____. 31.ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, INC., v.3, p.3183-3188, 2008b.

_____. _____. 31.ed. Rockville: The United States Pharmacopeial Convention, INC., v.3, p.3134-3135, 2008c.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Tratamento da Tuberculose. Linhas orientadoras para programas nacionais**, 3 ed., Lisboa, 2006.

_____. _____. **Frequently asked questions – XDR-TB**. 2009a. Disponível em: <<http://www.who.int/tb/challenges/xdr/faqs/en/index.htm>>. Acesso em: 28 de nov.2009.

_____. _____. **Countries that reported at least one XDR-TB case by September 2009**. 2009b. Disponível em: <http://www.who.int/tb/challenges/xdr/xdr_map_sep09.pdf>. Acesso em: 26 nov.2009.

_____. _____. **The rationale for recommending fixed-dose combination tablets for the treatment of tuberculosis – Bulletin of the World Health Organization**, v.79(1), Geneva, 2001c.

WOLLINGER, Wagner. **Influência dos excipientes na degradação dos fármacos da associação dos tuberculostáticos isoniazida e rifampicina em comprimidos**. 2008. 138f. Dissertação (Mestrado em Ciências)-Departamento de Química Analítica, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

YANG, L.; CHU, J.S.; FIX, J.A. Colon-specific drug delivery: new approaches and in vitro/in vivo evaluation. **International Journal of Pharmaceutics**, v.235(1), p.1-15, 2002.

YILMAZ, A.; BOLUKBASI, O.; BAKILER, M. An experimental and theoretical vibration spectra of isoniazide. **Journal of Molecular Structure**, v.872, p.182-189, 2008.