



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Maísa Teodoro Celestino

ESTUDO DO USO RACIONAL DE ANTIOXIDANTES EM FORMULAÇÕES DE
SÓLIDOS ORAIS

Rio de Janeiro
2011

Maísa Teodoro Celestino

**ESTUDO DO USO RACIONAL DE
ANTIOXIDANTES EM FORMULAÇÕES
DE SÓLIDOS ORAIS**

**Dissertação de Mestrado apresentada
ao Programa de Pós - Graduação em
Ciências Farmacêuticas, Faculdade de
Farmácia, Universidade Federal do Rio
de Janeiro, como requisitos parciais a
obtenção do título de Mestre em
Ciências Farmacêuticas.**

Orientador: Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral

Rio de Janeiro
2011

C392e Celestino, Maisa Teodoro.

Estudo do uso racional de antioxidantes em formulações de sólidos orais / Maisa Teodoro Celestino; orientador Lúcio Mendes Cabral — Rio de Janeiro: UFRJ, Faculdade de Farmácia, 2011.
107f. : il. col.; 30cm.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia, 2011.
Inclui bibliografia.

1. Estabilidade. 2. Antioxidantes. 3. Sólidos orais. 4. Estatinas.
5. Excipientes. 6. DPPH. 7. Simulação computacional. I. Cabral, Lúcio Mendes. II. Título.

CDD 615.19

Maísa Teodoro Celestino

**ESTUDO DO USO RACIONAL DE
ANTIOXIDANTES EM FORMULAÇÕES DE
SÓLIDOS ORAIS**

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

Aprovada em:

Orientador:

Lúcio Mendes Cabral, Prof. Dr. , Faculdade de Farmácia – UFRJ

Banca Examinadora:

Luiza Rosaria Sousa Dias, Prof^a. Dr^a, Faculdade de Farmácia – UFF

Marcelo de Pádula, Prof. Dr., Faculdade de Farmácia – UFRJ

Valéria Pereira de Sousa, Prof^a. Dr^a, Faculdade de Farmácia – UFRJ

Dedico especialmente este trabalho à memória de meus pais, Maria Amália Teodoro Celestino e Genésio Celestino pelo amor e ensinamentos que muito me enriqueceram e iluminaram a minha alma pela minha vida inteira. Amarei sempre vocês!

Ao meu esposo Jocler do Nascimento, meu amor! Agradeço pela sua compreensão, cumplicidade e companheirismo, enfim, por toda ajuda. Por todo seu amor, carinho e dedicação, a você muito obrigada por tudo! Te amo!

AGRADECIMENTOS

Agradeço acima de tudo a Deus, pelo amparo que tem me dado nos momentos mais difíceis da minha jornada.

Ao meu orientador Prof. Dr. Lúcio Mendes Cabral que acreditou e confiou em mim, muito obrigada pelos seus ensinamentos e exemplo de profissionalismo que me tem transmitido, pela oportunidade concedida, pela paciência, a você meu sincero e profundo respeito e admiração! Obrigada pela realização deste sonho, seu apoio foi fundamental para mim. Muito obrigada por tudo!

Agradeço aos professores Carlos Rangel Rodrigues e Marcelo de Pádula da banca de acompanhamento do meu projeto pelos aconselhamentos e sugestões relevantes que fizeram a diferença no desenvolvimento do nosso trabalho. Agradeço também à minha colaboradora Giani Alexandre por toda ajuda.

Agradeço à Prof^a Dr^a Gisela Dellamora Ortiz, Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Faculdade de Farmácia pelo apoio e compreensão e a todos os professores que fazem parte do programa pela contribuição e ensinamentos que muito me ajudaram na composição deste trabalho. Às nossas bibliotecárias Floripes (Flor) e Aline, muito obrigada pela atenção e ajuda que vocês me deram.

Agradeço a uma amiga em especial, Maria do Carmo de Carvalho pela sua amizade e companheirismo nas horas boas e difíceis da minha vida. Agradeço também à Maritza Florence Privato Guedes, minha amiga e companheira de sempre. A todas vocês eu desejo tudo de melhor que Deus possa lhes oferecer! Obrigada pelo perfume que aspirei de sua rosa - amizade!

Agradeço aos meus amigos e companheiros do Laboratório de Tecnologia Industrial Farmacêutica (TIF/ UFRJ) por toda ajuda: em especial à Flavinha (Flávia Almada) muito obrigada! Obrigada a Alex, Arídio, Carol Pupe, Bianca Aloise, Daniel Savignon, Jacqueline (Jacque), Lidiane, Luiza, Lula (Luiz Cláudio), Mariane, Marcos Giovani, Thiago Honório, Túlio Elisiário, Uiaran Magalhães (Uil), Viviane Lione e a você Maria Cristina Reis Mansur por dispor do seu precioso tempo para me ouvir, muito obrigada!

Agradeço a toda minha família, meu irmão Sebastião César e à minha irmã Marilda pelo apoio emocional e carinhoso que me deram por todo o tempo. Agradeço também à D. Therezinha Nascimento pelo apoio e a torcida por mim. Obrigada.

Agradeço em especial, ao meu esposo Jocler do Nascimento pela sua dedicação, carinho, cumplicidade, compreensão, apoio e a ajuda nos momentos em que eu mais precisava. Obrigada por compreender as minhas ausências e estar sempre ao meu lado nos momentos mais oportunos da minha vida e mais ainda, por me encorajar sempre nesta busca, mostrando-me que através do amor, da perseverança e do trabalho, nós sempre realizaremos os nossos sonhos. Meu amor, muito obrigada por existir! Eu te amo.

À memória de meus pais Maria Amália Teodoro Celestino e Genésio Celestino por toda ajuda que me deram em vida e quando sonhávamos juntos. Sei o quão felizes vocês estão com esta conquista, onde quer que estejam!

Obrigada a todos pelo convívio maravilhoso de aprendizagem, trabalho e amizade!

“A melhor maneira de ter uma boa idéia,
é ter muitas idéias.”

Linus Pauling

RESUMO

CELESTINO, Maisa Teodoro. Estudo do uso Racional de Antioxidantes em Formulações de Sólidos Orais.

Rio de Janeiro, 2011. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

A sinvastatina é uma estatina semi-sintética e um potente inibidor específico e competitivo da enzima 3 - hidroximetil glutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, que tem por ação clínica, o combate à hipercolesterolemia. O cetoconazol é um fármaco imidazólico de primeira escolha nos tratamentos de infecções fúngicas da pele. Esses fármacos são suscetíveis a reações oxidativas. A utilização de antioxidantes torna-se necessário na formulação destes fármacos. Foram preparadas formulações de comprimidos por compressão direta empregando-se a sinvastatina e o cetoconazol como fármacos modelo, utilizando os antioxidantes BHA (hidroxibutirato de anisol), BHT (hidroxibutirato de tolueno), CIS (cisteína), GDP (galato de propila), e MBS (metabissulfito de sódio). Neste intuito, o objetivo principal deste trabalho foi desenvolver bases racionais para o uso de diferentes antioxidantes na preparação de formulações sólidas orais, avaliando-se a concentração e o tipo. Para este estudo, foram realizados testes de DPPH visando à avaliação da atividade antioxidante destes excipientes em solução e estudos de estabilidade acelerada em fase sólida e, posteriormente, estudos de modelagem molecular, utilizando a simulação computacional como uma ferramenta auxiliar para avaliação da eficiência destas substâncias na fase líquida. Pelo estudo de estabilidade acelerada foi escolhido o antioxidante ideal para a manutenção da estabilidade do fármaco sinvastatina, sendo demonstrado que este fármaco não mostrou redução de suas propriedades. Dessa forma, os resultados obtidos neste trabalho foram correlacionados criando as bases racionais para o estudo do uso dos antioxidantes e, a escolha correta da concentração e o tipo de antioxidante foram definidos, sendo que esses excipientes poderão ser utilizados para a conservação de ativos lábeis, tornando-se os fármacos sinvastatina e o cetoconazol como protótipos para uma nova formulação de medicamentos genéricos.

Palavras-Chave: DPPH, Estabilidade, Antioxidantes, Excipientes, Simulação Computacional, Sinvastatina, Cetoconazol

ABSTRACT

CELESTINO, Maisa Teodoro. Rio de Janeiro, 2011. **Study of Rational Use of Antioxidants in Solid Oral Formulations.** Dissertation (Master's in Pharmaceutical Sciences) – Department of Pharmacy, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2011.

Simvastatin is a semisynthetic statin and a potent competitive and specific inhibitor of the enzyme 3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase, which has clinical action, the anti-hypercholesterolemia. Ketoconazole is an imidazole drug of first choice in treating fungal infections of the skin. These drugs are susceptible to oxidative reactions. The use of antioxidants, it is necessary in the formulation of these drugs. Formulations were prepared by direct compression of tablets employing drugs simvastatin and ketoconazole as a model, using the antioxidants BHA (hydroxybutyrate of anisole), BHT (hydroxybutyrate of toluene), CIS (cysteine), GDP (propyl gallate), and MBS (sodium metabisulfite). To this end, the main objective of the study was to develop a rational basis for the use the different antioxidants in the preparation of solid oral formulations, evaluating the concentration and type. For the study, DPPH test were performed in order to evaluation the antioxidant activity of these excipients in solution and accelerated stability studies in solid phase and, later, molecular modeling studies using computer simulation as an auxiliary tool to evaluate the effectiveness of these substances in the liquid phase. By accelerated stability study was chosen as the ideal antioxidant for the maintenance of the stability of the drug simvastatin, which demonstrated that this drug showed no reduction in their properties. Thus, the results obtained in this work were correlated by creating the rationale for the study the use of antioxidants and, choosing the correct concentration and type of antioxidants has been defined, and these excipients may be used for the preservation of labile active, making to the drugs simvastatin and ketoconazole as prototypes for a new formulation of generic drugs.

Keywords: DPPH, Stability, Antioxidants, Excipients, Computational Simulation, Simvastatin, Ketoconazole.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Procedimento geral do processo de granulação	pág. 27
Figura 2 -	Processo geral dos mecanismos da reação de autooxidação	33
Figura 3 -	Demonstração da reação de hidrólise de um éster	34
Figura 4 -	Reação de oxidação do colesterol pelo oxigênio singlete	37
Figura 5 -	Fórmula estrutural da anfotericina B	39
Figura 6 -	Análise de teor da sinvastatina no medicamento de referência Zocor®	67
Figura 7 -	Curva de calibração do reagente DPPH	87
Figura 8 -	Representação 3D dos antioxidantes estudados: BHA, BHT, CIS e GDP.	92

LISTA DE GRÁFICOS

	pág.
Gráfico 01- Avaliação do teor e dissolução da formulação contendo sinvastatina 20 mg e BHT a 0,9%	72
Gráfico 02 - Avaliação do teor e dissolução da formulação contendo sinvastatina 20 mg e CIS a 0,9%	73
Gráfico 03 - Avaliação do teor e dissolução da formulação contendo sinvastatina 20 mg e GDP a 0,9%	75
Gráfico 04 - Avaliação do teor e dissolução da formulação contendo sinvastatina 20 mg e MBS a 0,9%	76
Gráfico 05 - Avaliação do teor e dissolução da formulação contendo sinvastatina mg e BHA a 0,9%	77
Gráfico 06 - Variação de teor e dissolução encontrados nos tempos T0, T2 e T3 indicando a possível ordem de eficiência, onde BHT foi o mais eficiente com uma variação de teor e dissolução não maior a 10%.	79
Gráfico 07 - Teor e dissolução de sinvastatina 20 mg-BHT a 0,5%	81
Gráfico 08 - Teor e dissolução de sinvastatina 20 mg-BHT a 0,1%	82
Gráfico 09 - Teor e dissolução de sinvastatina 20 mg-BHT a 0,05%	83

LISTA DE TABELAS

	pág.
Tabela 1 - Formulação base para a preparação de comprimidos	57
Tabela 2 - Formulação de sinvastatina produzida para a escolha do antioxidante ideal	63
Tabela 3 - Formulação de cetoconazol produzida para escolha do antioxidante ideal	64
Tabela 4 - Proposta para formulação S1 de comprimidos de sinvastatina 20 mg	69
Tabela 5 - Proposta para formulação S2 de comprimidos de sinvastatina 20 mg	69
Tabela 6 - Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg referentes à formulação com BHT a 0,9% p/p	71
Tabela 7 - Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg referentes à formulação com cisteína a 0,9 % p/p	73
Tabela 8 - Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg referentes à formulação com galato de propila a 0,9% p/p	74
Tabela 9- Dados dos testes de caracterização referentes à formulação com metabissulfito de sódio a 0,9% p/p	75
Tabela 10- Dados dos testes de caracterização referentes à formulação padrão de sinvastatina com BHA a 0,9% p/p	76
Tabela 11- Estudos de estabilidade acelerada dos comprimidos de sinvastatina 20 mg	77

Tabela 12-	Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg referentes à formulação com BHT 0,5% p/p	80
Tabela 13-	Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20mg com BHT a 0,1% p/p	81
Tabela 14-	Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg com BHT a 0,05% p/p	82
Tabela 15-	Formulação usual de comprimidos de cetoconazol 200mg com 0,1% p/p de MBS	84
Tabela 16-	Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de cetoconazol 200mg com 0,1% p/p de MBS	85
Tabela 17	Formulações dos comprimidos de cetoconazol C1(BHT) e C2 (MBS)	85
Tabela 18	Estudos de estabilidade dos comprimidos de cetoconazol contendo BHT (C1) e MBS (C2) em 0, 3 e 6 meses	86
Tabela 19	Avaliação comparativa da atividade antioxidante dos excipientes utilizados frente ao DPPH	88
Tabela 20	Propriedades teóricas dos antioxidantes testados	91

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AR	Área
BHT	Butilhidroxitolueno
BHA	Butilhidroxianisol
BM	Banho-maria
CIS	Cisteína
CF	Concentração Final
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (do inglês <i>high performance liquid chromatograph</i> – HPLC)
DPPH	(2, 2 – Diphenyl - 1- picryl – hidrazil)
EDTANa	Sal sódico do ácido etilenodiaminotetracético
GDP	Galato de propila
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
IFA	Ingrediente Farmacêutico Ativo
INPI	Instituto Nacional de Propriedade Industrial
LSS	Lauril sulfato de sódio
MBS	Metabissulfito de sódio
OMS	Organização Mundial da Saúde
PD	Padrão
PM	Peso médio
p/p	Peso por peso
p/v	Peso por volume
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica (do inglês <i>Biopharmaceutics Classification Systems</i>)
SQR	Substância Química de Referência (substância padrão de sinvastatina)
T0	Tempo Inicial

T1	Tempo 3 meses
T2	Tempo 6 meses
UR	Umidade Relativa
UV	Ultravioleta
USP	<i>United States Pharmacopoeia</i>

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	xi
LISTA DE GRÁFICOS	xii
LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	xv
1 - INTRODUÇÃO	21
1.1 – FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS	21
1.1.2 – FORMAS FARMACÊUTICAS DE USO ORAL	25
1.2 – COMPRIMIDOS	25
1.2.1- Processos Mais Comuns de Fabricação de Comprimidos	26
1.2.1.1- Granulação	26
1.2.1.2 – Granulação a Seco	27
1.2.1.3 – Granulação Úmida	28
1.2.1.4 – Compressão Direta	28
1.3 – MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS	29
1.3.1- Incompatibilidades	31
1.3.2 – Reações de Oxidação/ Redução	31
1.3.2.1 – Reações de Hidrólise	34

1.3.2.2 – Reações de Descarboxilação	34
1.3.2.3 – Reações de Racemização	35
1.3.2.4 – Reações de Degradação Fitolítica	35
1.4 – ATIVOS SUSCETÍVEIS A PROCESSOS OXIDATIVOS	35
1.5 – EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS	39
1.6–ESTABILIDADE FARMACÊUTICA	42
1.7 - ANTIOXIDANTES	43
1.8 - MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	46
1.9 - ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR E RELAÇÃO ESTRUTURA - ATIVIDADE (SAR) DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE	47
1.10 – JUSTIFICATIVA	49
2.0 – OBJETIVOS	52
2.1 – OBJETIVOS GERAIS	52
2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS	52
3.0–MATERIAL E MÉTODOS	54
3.1 – EQUIPAMENTOS	54
3.2– REAGENTES E INSUMOS	55
4.0 – MÉTODOS	56
4.1–PREPARO DA FORMULAÇÃO PROTÓTIPO DOS COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA	56

4.1.1 - Determinação de Peso Médio	57
4.1.2 – Avaliação da Dureza dos Comprimidos	57
4.1.3 – Teste de Friabilidade	57
4.1.4 – Teste de Desintegração	57
4.1.5 – Ensaio de Dissolução	58
4.1.6 - Preparo da Amostra e Meio de Dissolução	58
4.2–METODOLOGIA DE ANÁLISE DE TEOR DOS COMPRIMIDOS	59
4.2.1 – Preparo da Amostra de Sinvastatina	60
4.2.2 – Método de Dosagem dos Comprimidos de Cetoconazol	60
4.3–ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES	62
4.3.1–Escolha do Antioxidante Ideal	
4.4–DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXCIPIENTES ANTIOXIDANTES UTILIZADOS EM SOLUÇÃO	64
4.4.1- Método do sequestro de radicais livres com o reagente DPPH (2,2- difeníl-1-picril-hidrazil	
4.5 – ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR	65
5.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO	67
5.1–ANÁLISE DO TEOR DOS COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA NO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA	67
5.2–ESCOLHA DA FORMULAÇÃO PROTÓTIPO DE SINVASTATINA	67
5.3–ESCOLHA DO ANTIOXIDANTE IDEAL	71

5.4–AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM SOLUÇÃO	86
5.5 – ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR	89
5.6– PERSPECTIVAS	92
6.0 – CONCLUSÃO	93
7.0–REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94

1 – INTRODUÇÃO

1.1 – FORMULAÇÕES FARMACÊUTICAS:

Os fármacos raramente são administrados isoladamente. São fornecidos como parte de uma formulação, em combinação com uma ou mais substâncias inativas que possuem funções diversas e específicas (ANSEL *et al.*, 2007). O uso seletivo desses agentes não medicinais, denominados **adjuvantes** e/ou **excipientes**, resulta na obtenção de vários tipos de formas farmacêuticas. Cada forma é única em suas características físicas e farmacêuticas. O desenvolvimento e a correta formulação de uma forma farmacêutica, do ponto de vista farmacológico, requerem o conhecimento das características físicas, químicas e biológicas e farmacotécnicas de todas as substâncias ativas. Fármacos e excipientes devem ser compatíveis uns com os outros para produzir um medicamento que seja estável, eficaz, atrativo, de fácil administração e seguro, de acordo com a via de administração desejada (ANSEL *et al.*, 2007; LE HIR, 1997; GENNARO, 2004).

Durante a etapa de desenvolvimento das formulações de comprimidos, no início dos estudos de pré-formulação, torna-se relevante avaliar as interações físico-químicas entre um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) e excipientes de interesse, como as incompatibilidades entre o fármaco e os adjuvantes (PERES-FILHO *et al.*, 2011). Essas incompatibilidades podem afetar negativamente a estabilidade e a biodisponibilidade dos medicamentos, interferindo dessa forma na eficácia e segurança do fármaco (ROWLAND & TOZER, 2009). A formulação adequada deve incluir uma seleção cuidadosa de excipientes, levando em consideração que substâncias consideradas supostamente “inertes” comumente apresentam interações com os ingredientes farmacêuticos ativos (IFAs) (Idem, 2011).

As substâncias medicamentosas são administradas principalmente por via oral pelo uso de formas farmacêuticas em comprimidos e cápsulas (REMYNGTON, 2004). Ingredientes considerados “inertes” são incluídos nas formulações para facilitar a manipulação, realçar a aparência física, melhorar a estabilidade e ajudar na liberação, bem como auxiliar os métodos de produção empregados. Isso mostra que em alguns casos, podem influenciar a absorção ou a biodisponibilidade dos fármacos (AULTON, 2005). A solubilidade do fármaco e outras características físico-químicas influenciam em sua atividade farmacológica a partir de uma forma

farmacêutica sólida, que podem ser moduladas pelos excipientes (RUDNIC *et al.*, 2004).

Inicialmente, os excipientes eram conceituados como adjuvantes farmacotécnicos, com simples função de suportes inertes do princípio ativo, uma substância química sem ação farmacológica (PIFFERI & RESTANI, 2003). Reconhece-se que os excipientes possuem um papel fundamental na obtenção do efeito farmacológico esperado, interferindo na velocidade de liberação do fármaco e em sua estabilidade. Em tempos atuais, não se podem classificar os excipientes simplesmente como diluentes, apenas como forma de adicionar peso, consistência e volume ou mesmo como adjuvantes, com a função de promover a estabilidade, velocidade de desintegração e dissolução (PIFFERI & RESTANI, 2003). Os excipientes são definidos de acordo com sua classe e a função química que pode contribuir para sua reatividade. Assim como os fármacos, os excipientes também apresentam atividades físico-químicas e mecânicas, às quais podem contribuir para as reações que levam à degradação do fármaco (CROWLEY & MARTINI, 2001).

O conhecimento físico-químico da interação entre excipiente e ativos tem importância vital quando se propõem novas formulações visto que a sua utilização de forma racional contribui para evitar interações indesejáveis que possam influenciar na perda de estabilidade física e química do medicamento (PIFFERI *et al.*, 1999). Este raciocínio direciona o pesquisador que pretende criar uma nova formulação a ter um conhecimento suficiente da interatividade entre princípio ativo e excipientes, como: diluentes (lactose, amido de milho, manitol) que são amplamente utilizados em formulações de sólidos orais e influenciam na liberação do fármaco, assim como, os desintegrantes (celulose microcristalina, croscarmelose sódica e glicolato sódico de amido “explosol”). Esses excipientes facilitam a desagregação e aumentam a área superficial; os tensoativos (polissorbatos “Tweens” 20, 60 e 80, lauril sulfato de sódio) aumentam a molhabilidade do fármaco e melhoram a velocidade de dissolução ou lubrificantes (talco, estearato de magnésio) que retardam a molhabilidade e o processo de absorção influenciando na biodisponibilidade dos fármacos (PIFFERI & RESTANI, 2003).

A ineficácia clínica observada com o uso de alguns medicamentos, além de episódios de intoxicação, deram origem às investigações relacionadas à biodisponibilidade de produtos farmacêuticos (STORPIRTIS *et al.*, 2007). Estudos

mostraram que variações na formulação ou na técnica de fabricação podem gerar diferenças substanciais na absorção e, conseqüentemente, na resposta terapêutica dos fármacos veiculados (ROUGE *et al.*, 1996).

Durante o desenvolvimento de formas farmacêuticas, um dos maiores desafios é assegurar a estabilidade dos componentes de uma formulação evitando a degradação dos mesmos. A estabilidade refere-se à capacidade de resistir à perda de um produto químico devido à decomposição (WATERMAN & ADAMI, 2005). No universo farmacêutico, o termo "estabilidade" refere-se mais frequentemente ao tempo de armazenamento antes que qualquer produto de degradação na formulação alcance um nível suficiente para representar riscos ao paciente e, baseado neste tempo, o prazo de validade (*shelf-life*) de um produto é determinado. O nível permitido de qualquer impureza dependerá da dose e do risco de toxicidade. A *International Conference on Harmonisation* (ICH) especifica a quantidade de impurezas permitidas para formar durante o período de armazenamento do produto (ICH, 2003).

Analisando-se o comportamento dos excipientes pode-se considerar que numa formulação, os aspectos químicos, a interação entre seus componentes e, conseqüentemente a compatibilidade entre os mesmos, diante de condições adversas de acondicionamento e transporte que devem ser avaliadas. Assim, a integridade química e física do fármaco durante todo seu tempo de vida útil é garantida. Ainda que seja inevitável que os componentes ativos venham a se degradar dentro dos parâmetros aceitáveis, pode-se, dessa forma, pelo uso de uma correta formulação e condições adequadas de armazenamento e transporte, garantir a longevidade dos princípios ativos de um medicamento (WATERMAN *et al.*, 2002). Fármacos contidos em formas farmacêuticas sólidas devem ter solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal adequadas para serem bem absorvidos após a administração oral. A velocidade e a extensão com as quais um fármaco é absorvido podem variar em função das suas características físico-químicas e dos fatores relacionados à desintegração e dissolução (STORPIRTIS *et al.*, 2007). De acordo com os excipientes utilizados e considerando o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), a dissolução e a permeação intestinal podem limitar a absorção do fármaco e, conseqüentemente a ação terapêutica. O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) correlaciona a dissolução *in vitro* e a

biodisponibilidade *in vivo*. Ter o conhecimento dos aspectos da solubilidade e da permeabilidade gastrointestinal é muito importante devido ao controle que exercem sob a taxa e a extensão da absorção dos fármacos, os quais podem variar em função de suas características físico-químicas, evidenciando que a eficácia e a segurança estão intimamente relacionadas a esses mesmos fatores.

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;

Classe IV – fármaco com baixa solubilidade e baixa permeabilidade (AMIDON *et al.*, 1995).

Os fármacos sinvastatina e cetoconazol pertencem à classe II do SCB. São exemplos de fármacos suscetíveis a processos oxidativos com a presença de grupamentos lábeis. A sinvastatina apresenta grupamentos ésteres alifático e cíclico (lactona); grupamento hidroxila ligado ao anel lactônico sujeitos à oxidação e reação de adição ao radical dieno conjugado. O cetoconazol pode sofrer reação de hidrólise de grupos amida e imidazol presentes em sua estrutura molecular e reação de oxidação que pode ser iniciada pelos grupos peróxidos, os quais são formados na presença de luz. Necessitam, dessa forma durante o processo de produção do controle de luz e da temperatura e da adição de quantidades apropriadas de antioxidantes durante a fabricação.

Assim, a eficácia e a segurança de um medicamento estão intimamente relacionadas à estabilidade de sua formulação e à sua dissolução, sendo relevante a realização de estudos durante todo o processo de desenvolvimento, para que se possam prever possíveis problemas a serem contornados. Um dos objetivos seria verificar se as características físicas, químicas e microbiológicas dos componentes da formulação serão mantidas sob condições normais e adversas de armazenagem e, identificar e quantificar os produtos de degradação, escolher o material de embalagem primária mais adequada e definir seu prazo de validade (BRASIL, 2005).

1.1.2 - FORMAS FARMACÊUTICAS DE USO ORAL

A via oral é a mais comumente utilizada e a mais segura para a administração de fármacos numa variedade de formas farmacêuticas (AULTON, 2005). As formas farmacêuticas mais comuns de uso oral são os comprimidos, as cápsulas, as suspensões e as várias soluções farmacêuticas como xaropes, sendo que os comprimidos e cápsulas apresentam mais amplo emprego, devido a sua facilidade em administrar ao paciente (ANSEL *et al.*, 2007).

Existem diversos tipos de comprimidos, cuja forma farmacêutica obtida por compressão de um material particulado. Em 1843, foi concedida a primeira patente para a máquina de comprimir com acionamento manual, o que já neste período despertou interesse, onde durante a revolução industrial com surgimento de novas máquinas, melhorias na produção e o grande crescimento da indústria farmacêutica no mundo receberam um novo impulso (apud AULTON, 2005, p.403).

1.2 – COMPRIMIDOS

Um comprimido é constituído de um ou mais fármacos e por um conjunto de outras substâncias denominadas excipientes compondo uma formulação completa. Na Farmacopéia Européia (3ª edição, 1997) os comprimidos são definidos como formas farmacêuticas sólidas constituídas de uma dose única de um ou mais componentes ativos, obtidas pela compressão de volumes uniformes de partículas e são destinados à administração oral, sendo uns deglutidos intactos, outros após mastigação e alguns dissolvidos ou dispersos na água antes de serem administrados. Dessa forma, existe uma variedade de comprimidos e tipos de adjuvantes, no qual é variado o modo de sua incorporação entre os diferentes tipos. (AULTON, 2005; ANSEL *et al.*, 2007). São preparados por compressão com o componente ativo e os adjuvantes farmacêuticos, sendo necessário que a substância medicamentosa a ser produzida em formas farmacêuticas sólidas, na forma cristalina ou em pó possua características físicas como: capacidade de fluir livremente, capacidade de coesão e lubrificação (RUDNIC, *et al.*, 2004).

Os comprimidos, assim como as demais formas farmacêuticas devem apresentar características de qualidade e, portanto, preencher um número de especificações relacionadas com suas propriedades químicas, físicas e biológicas. Estes testes e especificações físicas são os métodos empregados contidos em

farmacopéias que garantem a qualidade dessas propriedades, sendo os mais importantes a dosagem, variação de peso, uniformidade de conteúdo, espessura, dureza, friabilidade, tempo de desintegração e velocidade de dissolução para que por fim, o comprimido possa alcançar o critério de qualidade de acordo com as especificações e, permanecer em condições estáveis em caráter químico, físico e microbiológico durante a vida útil do produto (AULTON, 2005; ANSEL *et al.*, 2007).

1.2.1- Processos Mais Comuns de Fabricação de Comprimidos

1.2.1.1- Granulação

A granulação tem por objetivo transformar partículas de pó cristalino ou amorfo em agregados sólidos de resistência e porosidade variadas. Em comparação a uma mistura simples de pós, o granulado apresenta algumas vantagens (LE HIR, 1997):

- Melhor conservação da homogeneidade de distribuição dos componentes e das fases granulométricas;
- Maior densidade;
- Facilidade superior de escoamento;
- Maior reprodutibilidade em medições volumétricas;
- Maior compressibilidade; e
- Resistência mecânica superior.

O granulado representa um produto intermediário decisivo na elaboração de formas farmacêuticas sólidas, sendo que o conhecimento das características ligadas às diversas metodologias de produção constitui, portanto, o fator necessário no momento da escolha da técnica a ser utilizada para a produção de comprimidos. O granulado ideal deve apresentar forma e cor os mais regulares possíveis, um estreito grau de distribuição granulométrica, com menos que 10% de partículas primárias livres ou aglomeradas de baixa granulometria, boa fluidez, suficiente resistência mecânica, um determinado grau de umidade, não inferior a 3%, e solubilidade em água ou fluidos biológicos (PETROVICK *et al.*, 2000).

Essas características, bem como a forma e a textura da superfície e a porosidade do granulado são influenciadas pelos constituintes da formulação e pelas metodologias e equipamentos utilizados (VOIGT & FAHR, 2000). As metodologias da granulação podem ser classificadas quanto aos passos tecnológicos, nas quais se considera ou não a formação de um produto intermediário agregado e quanto à

utilização de um agente de aglutinação. O processo de granulação por desagregação conduz à obtenção de uma massa que será dividida em granulados, enquanto que a granulação produzida da agregação leva à formação do granulado a partir da mistura de pós. O processo de granulação pode ser representado pela (Figura 1):

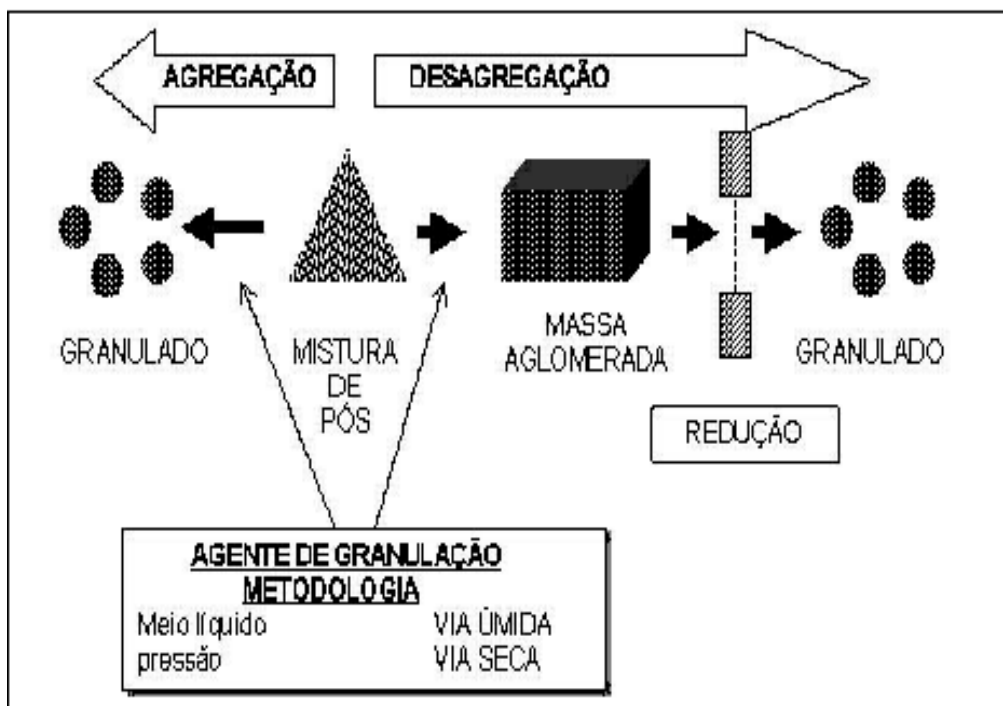


Figura 1- Procedimento geral do processo de granulação. (Adaptada de PETROVICK, 2000).

1.2.1.2 – Granulação a Seco

O processo também designado como o método da via seca ou da dupla compressão. Numa primeira fase, a partir dos pós que constituem a formulação e sem a adição de lubrificantes, obtêm-se comprimidos sem a necessidade de quaisquer cuidados especiais quanto à regularidade ou peso. Depois, os comprimidos imperfeitos assim que preparados são fragmentados, conseguindo-se assim um granulado, o qual irá ser comprimido em definitivo após a adição de lubrificantes e posteriormente a calibração dos grânulos. Já não é um processo tão utilizado em função do uso do método da compressão direta (GENNARO, 2004; LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001). Também podem ser utilizados compactadores de rolos para a preparação destes granulados primários.

1.2.1.3 - Granulação Úmida

As etapas do método incluem processos de pesagem, mistura, granulação, calibração da massa úmida, secagem, calibração a seco, lubrificação e compressão (RUDNIC *et al.*, 2004).

Podemos dividir a operação nas seguintes fases:

- 1^a - Umedecimento dos pós;
- 2^a - Granulação da massa úmida;
- 3^a - Secagem do granulado obtido;
- 4^a - Calibração do granulado seco em grânulos de tamanho uniforme.

O processo caracteriza-se pelo aumento da coesão dos pós em decorrência do uso de um líquido de granulação (LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001).

1.2.1.4 - Compressão Direta

Consiste na compressão de pós sem modificação da natureza física do material, ou seja, sem pré-compactação ou umedecimento. Particularmente, este processo é reservado para pequenos grupos de substâncias químicas cristalinas, as quais necessitam de requisitos físico-mecânicos para a produção de comprimidos, obtidos dentro dos padrões de qualidade, de acordo com as exigências legais. Estes materiais possuem propriedades de coesão e fluxo, as quais permitem ser de compressão direta. Os excipientes para compressão direta também devem possuir características de boa compressibilidade e fluidez. Estas propriedades são conferidas a eles por processos específicos, tais como granulação, *spray-drying*, esferonização, cristalização, etc. O uso destes materiais viabiliza a compressão de fármacos não compressíveis diretamente (TERASHIBA & IMATURA, 2002).

Os excipientes são escolhidos para exercer uma variedade de funções e garantir a estabilidade e a biodisponibilidade do fármaco a partir da fabricação do medicamento em escala de produção (ARMSTRONG, 2002). Observa-se que para uma substância farmacologicamente ativa, no momento do estudo de pré-formulação procura-se avaliar as propriedades físico-químicas e físico-mecânicas dos excipientes utilizados em uma formulação farmacêutica e a influência destas no desempenho da formulação final. Verifica-se, em cada caso, a influência da solubilidade, distribuição granulométrica, cristalinidade, polimorfismo, higroscopicidade, da densidade real e densidade aparente e na compactabilidade e,

por fim na biodisponibilidade do produto fabricado, chamando-se a este processo de estudo de funcionalidade de excipientes (PIFFERI *et al.*, 1999). No caso da preparação de comprimidos, este estudo apresenta um caráter ainda mais relevante, visto que os problemas de compactação e dissolução são inerentes a este tipo de formulação (ARMSTRONG, 1997).

1.3 – MECANISMOS DE DEGRADAÇÃO DE FÁRMACOS

A estabilidade de um medicamento pode ser afetada pela estabilidade do fármaco isoladamente; interações entre o fármaco e os demais excipientes; processo de fabricação; embalagens empregadas; e condições de transporte e armazenamento. Fatores físicos como luz, calor e umidade podem iniciar ou acelerar reações químicas indesejáveis, como oxidação, hidrólise, descarboxilação, racemização e degradação fotolítica, das quais, a oxidação é a principal causa de instabilidade de formulações farmacêuticas, cujo mecanismo envolve a formação de radicais livres e reações em cadeia. Esses são os principais processos que classificam os mecanismos de degradação (SINKO, 2008).

A taxa de oxidação sofre influência direta de fatores como temperatura, radiação, pH (íons hidrônio e hidroxilas) e catalisadores, como íons crômicos, cúprico, ferroso e férrico. Assim, durante o processo de pesquisa e desenvolvimento e produção de um fármaco estudos de estabilidade mobiliza o pesquisador para encontrar possíveis soluções que minimizem ou retardem a ocorrência dos processos de degradação. Em formas farmacêuticas, as reações de oxidação, hidrólise e fotólise, geralmente causam perda de conteúdo do fármaco, não fornecendo conteúdo óbvio visual ou olfativo como prova da sua ocorrência (VADAS, 2004).

As estruturas moleculares com maior probabilidade para oxidação são aquelas que apresentam um grupo hidroxila diretamente ligado a um anel aromático (por exemplo, especificamente aromáticos substituídos, como fenóis, anisóis, tioanisóis, tiofenóis são suscetíveis à abstração do hidrogênio, porque o grupo aromático pode estabilizar os radicais resultantes da ressonância, tais como catecolaminas e morfina), dienos conjugados (por exemplo, a vitamina A e ácidos graxos insaturados livres), heterocíclicos e anéis aromáticos nitrosos e nitrito derivados, e aldeídos (por exemplo, flavonóides). A formação de produtos de oxidação geralmente reduz a atividade terapêutica do fármaco (HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

A reação de oxidação é catalisada com valores acima do pH ótimo, como por exemplo, íons polivalentes de metais pesados de cobre e ferro, e a exposição ao oxigênio e luz ultravioleta. As duas últimas causas do processo de oxidação justificam a utilização de substâncias antioxidantes e o uso e embalagem externa opaca e vidro âmbar ou plástico de mesma característica numa formulação (WATERMAN & ADAMI, 2005). A decomposição fotoquímica expositiva, principalmente por iluminação UV pode causar oxidação (foto-oxidação) e cisão (fotólise) de ligações covalentes. Fármacos como nifedipina, nitroprussiato, riboflavina, e fenotiazinas são muito lábeis à foto-oxidação. Em compostos suscetíveis à reação de oxidação, a energia fotoquímica leva à formação de radicais livres intermediários e ao qual perpetuam reações em cadeia (WATERMAN & ADAMI, 2005).

A degradação química de muitos fármacos em solução acelera ou desacelera exponencialmente quando o pH aumenta ou diminui ao longo de um determinado intervalo de valor. A influência do pH sobre a degradação envolve a velocidade de reação. O valor da velocidade das reações hidrolíticas, catalizadas por prótons ou por íons hidroxila pode variar consideravelmente com o pH (LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001). A exposição a um pH e temperatura elevados também representa mais um fator para perda significativa do fármaco, resultando dessa forma, em reações de oxidação e hidrólise. A hidroquinona (1,4-benzenodiol) é um fármaco que atua como um agente despigmentador da pele, de uso tópico em manchas dermatológicas como melasmas, sardas, lentigos senis, hiperpigmentação pós-inflamatória, dermatite de berloque (causada por determinados tipos de perfumes), e possui uma velocidade de oxidação que aumenta em solução de pH mais altos, apresentando maior estabilidade em meio ácido, na faixa de 4,5 a 5,0 (WELLS, 2005). Assim, preparações com hidroquinona são suscetíveis à oxidação, o que justifica a importância do uso de antioxidantes para evitar o escurecimento da formulação. Os antioxidantes usados em sistemas aquosos são bissulfito de sódio, metabissulfito de sódio, ditionito de sódio ou a combinações destes com antioxidantes utilizados em sistemas oleosos tais como bissulfito de sódio + BHT (Hidroxibutirato de Tolueno), metabissulfito de sódio + BHT (Hidroxibutirato de Tolueno), vitamina C + vitamina E, que são normalmente utilizados em preparações que contem hidroquinona (WATERMAN *et al*, 2005). O uso de agentes

sequestrantes, tal como o EDTANa é também recomendado para a quelação eventual de íons metálicos contaminantes, presentes na formulação que poderiam favorecer cataliticamente a oxidação da hidroquinona (SOUZA, 2003).

O cetoconazol é um derivado imidazólico que representa um avanço significativo na terapia de micoses sistêmicas. Em relação às características físico-químicas do fármaco, torna-se bastante importante conservá-lo em recipientes hermeticamente fechados e ao abrigo da luz, por ser facilmente oxidável e fotossensível (SKIBA *et al.*, 2000). Utiliza-se frequentemente, para este tipo de formulação, um sistema antioxidante que contenha compostos de sulfito de sódio 0,2% ou metabissulfito de sódio 0,2%, levando em consideração a avaliação do tipo de embalagem utilizada (PAN *et al.*, 2011). Além disso, deve ser conservado à temperatura ambiente (25°C) e protegido de temperaturas superiores a 40°C (USP 31).

1.3.1 – Incompatibilidades

As incompatibilidades dos vários ingredientes dentro de uma formulação farmacêutica, como por exemplo, entre os fármacos e os excipientes, se caracterizam como causas da diminuição da resposta farmacológica. Reações indesejáveis podem ocorrer entre os componentes de uma formulação e resultar em incompatibilidade física, química e terapêutica. Uma interação física ou química entre dois ou mais componentes conduz a uma visível modificação reconhecida, podendo aparecer na forma de um precipitado grosso, turvação, ou mudança de cor. Por outro lado, uma incompatibilidade química é classificada como uma reação na qual uma mudança molecular ocorre. Já uma incompatibilidade terapêutica é definida como uma interação farmacológica indesejável entre dois ingredientes que conduz a uma potenciação dos efeitos terapêuticos, destruição da eficácia de um ou mais ingredientes, e também à ocorrência de uma manifestação tóxica no paciente (VADAS, 2004). Para isso, é necessário realizar estudos específicos de estabilidade na intenção de prevenir as incompatibilidades entre os componentes da formulação.

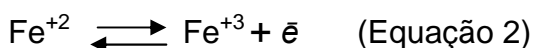
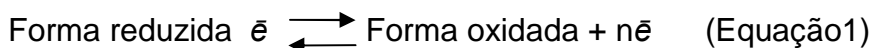
1.3.2 – Reações de Oxidação/ Redução

Estruturalmente, os fármacos são alcoóis, fenóis, aldeídos, cetonas, ésteres, éteres, ácidos, sais, alcalóides, glicosídeos, entre outros que apresentam diferentes

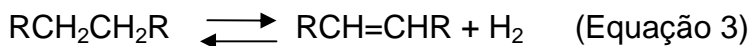
reatividades e diferentes suscetibilidades à degradação química (THOMPSON, 2006).

A decomposição das substâncias ativas nas formas farmacêuticas ocorre de várias vias de degradação, tais como, hidrólise, oxidação/redução, racemização, descarboxilação, clivagem de anéis ou fotólise (LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001). São processos que classificam a degradação química de medicamentos, os quais podem afetar a estabilidade dos fármacos em produtos líquidos, sólidos e semissólidos devido aos diferentes efeitos que os adjuvantes dessas formas farmacêuticas e os diferentes fatores do meio ambiente podem ter sobre a estabilidade química e física de preparações farmacêuticas (MOLLICA *et al.*, 1978).

Os processos destrutivos mais frequentes são a hidrólise e a oxidação/redução. Reações de oxidação/redução envolvem a transferência de um ou mais átomos de hidrogênio ou oxigênio ou a transferência de elétrons (\bar{e}) representada na forma de uma equação, no qual \bar{e} representa um elétron e n o número de elétrons (Equação 1). Dessa forma, reação de oxidação pode ocorrer pela perda de \bar{e} de um átomo ou molécula, na qual cada \bar{e} perdido é aceito por outro átomo ou molécula reduzindo o receptor (Equação 2). A oxidação é acompanhada pelo aumento de valência:



Outro tipo de reação de oxidação (deidrogenação) pode ocorrer também pela perda de hidrogênio (Equação 3):



(THOMPSON, 2006).

As reações de oxidação envolvem frequentemente a adição de oxigênio ou a remoção de hidrogênio e também a formação de radicais livres. Moléculas ou átomos contendo um ou mais elétrons desemparelhados, tais como o oxigênio molecular (atmosférico): ($\bullet\text{O}-\text{O}\bullet$) e o radical livre hidroxila ($\bullet\text{OH}$). Esses radicais livres captam elétrons de outras substâncias oxidando assim, o doador (*Idem*).

A forma mais comum do processo de decomposição oxidativa que ocorre em preparações farmacêuticas é a auto-oxidação (HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

A auto-oxidação envolve a formação de radicais livres num processo de reação em cadeia. São reações de oxidações que ocorrem espontaneamente sob condições normais de preparação, acondicionamento e estocagem. O radical livre é uma espécie química que apresenta um elétron desemparelhado na sua camada de valência. O oxigênio [O₂] possui uma configuração eletrônica com dois elétrons desemparelhados em sua camada de valência. O material farmacêutico reage com o oxigênio molecular, produzindo radicais em reações que envolvem a cisão de ligações covalentes de forma que cada átomo, do grupo envolvido, retém elétrons da ligação covalente original.

Pode se observar na Fig. 2, que o mecanismo da reação de auto-oxidação de substância de uso farmacêutico ocorre por uma série de reações de radicais livres em cadeia em etapas de reação de iniciação (Equação 4), propagação (Equação 5) e de terminação (Equação 6):

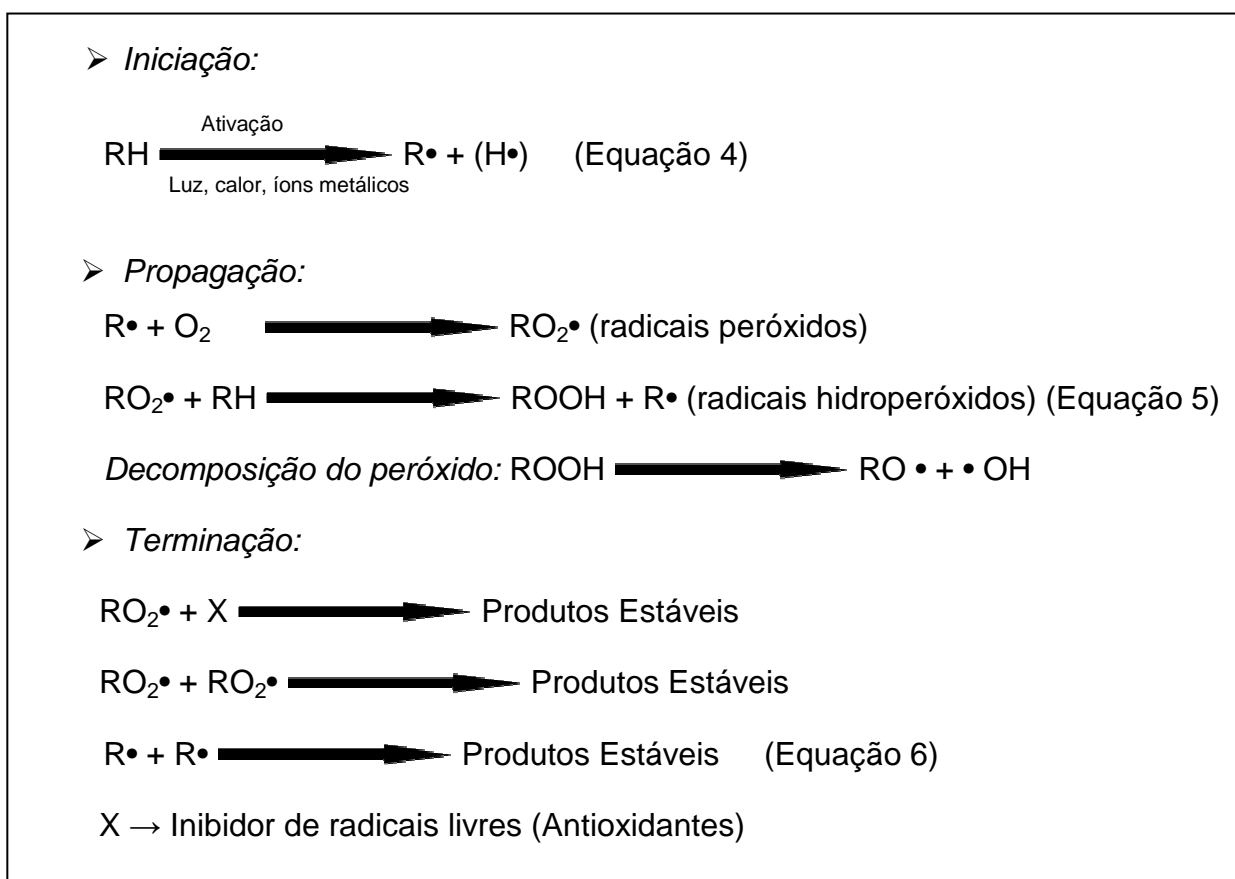


Figura 2 - Processo geral dos mecanismos da reação de autooxidação

(LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001).

1.3.2.1 – Reações de Hidrólise

A reação de hidrólise envolve ataque nucleofílico de grupos funcionais lábeis das moléculas do fármaco que interagem com moléculas de H₂O originando produto de clivagem. Compreende-se que a hidrólise seja uma das mais importantes causas de degradação dos fármacos, principalmente porque a grande maioria dos agentes medicinais são ésteres ou contêm outros grupos funcionais como amidas, imidas, lactonas, e lactamas bem suscetíveis ao processo hidrolítico como os anestésicos, antibióticos, vitaminas e barbitúricos, como podemos observar em exemplo da Figura 3:

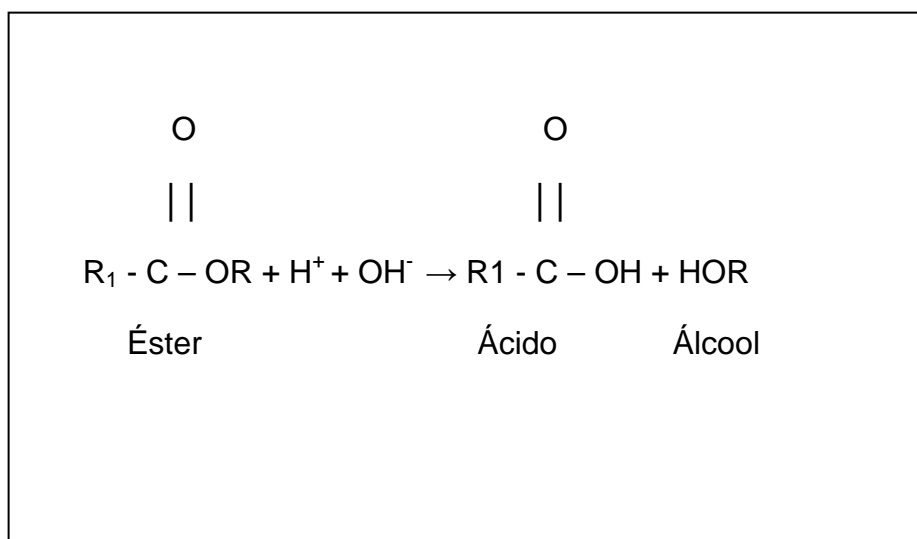


Figura 3 – Demonstração da reação de hidrólise de um éster. (Modificada de Morrisson & Boyd, 1996)

Assim, várias condições catalisam a degradação como a presença de grupamentos OH⁻, de íons H₃O⁺, de íons metálicos bivalentes, as reações de hidrólise iônica (protólise) são mais rápidas que as moleculares, a presença de luz e calor, a polaridade da solução e a força iônica e, por fim as altas concentrações de fármaco também influenciam durante o processo.

1.3.2.2 – Reações de Descarboxilação

A reação de descarboxilação ocorre pela degradação pirolítica do estado sólido não sendo habitual em produtos farmacêuticos, por necessitar de temperaturas de ativação relativamente altas para a reação. Contudo, o ácido *p*-aminossalicílico sólido sofre degradação pirolítica a *m*-aminofenol e dióxido de carbono. A reação segue a cinética de primeira ordem e é altamente dependente do pH, catalisada pelo

ion hidrônio. A descarboxilação do ácido p-aminobenzóico ocorre somente em valores de pH extremamente baixos e a temperaturas altas (VADAS, 2004).

1.3.2.3 – Reações de Racemização

A racemização, ou o processo de modificar um composto opticamente ativo para um composto racêmico ou mistura opticamente inativa é um importante fator na estabilidade farmacêutica. Frequentemente a forma (l-) é mais estável farmacologicamente do que a forma (d-). Em geral, a reação de racemização segue uma cinética de primeira ordem e depende da temperatura, solvente, do catalisador e da presença ou da ausência de luz e, parece depender também da ligação do grupo funcional ao átomo de carbono assimétrico (LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001; VADAS, 2004).

1.3.2.4 – Reações de Degradação Fotolítica

A degradação fotolítica pode ser um fator limitante na decomposição de fármacos na estabilidade de produtos farmacêuticos. As radiações absorvidas na faixa do ultravioleta e visível contribuem mais facilmente para o início de reações químicas. As reações de degradação, tais como as reações de oxidação e redução, rearranjo de anéis, a modificação ou polimerização, podem ocorrer por exposição à luz para determinados comprimentos de onda (MORRISSON & BOYD, 1996).

Para sistemas suscetíveis à fotólise, os radicais livres são produtos intermediários que dão origem a reações subsequentes. Em moléculas que absorvem a radiação e são reagentes na reação principal, o tipo de reação que ocorre é fotoquímico. Por outro lado, quando as moléculas absorventes não participam diretamente da reação, mas transfere a sua energia para outras moléculas reativas, a substância absorvente é classificada como um fotossensibilizador (LACHMAN, LIEBERMAN & KANING, 2001; VADAS, 2004).

1.4 – ATIVOS SUSCETÍVEIS A PROCESSOS OXIDATIVOS

As reações de oxidação representam uma importante via de degradação de produtos orgânicos e farmacêuticos em geral (CONNORS *et al.*, 1986; JOHNSON & Gu, 1988). Devido a potencial de toxicidade dos produtos de degradação, as reações de oxidação são prejudiciais ao organismo e causam problemas de estabilidade. A degradação oxidativa de produtos farmacêuticos pode ser dividida

em dois tipos: reação molecular com oxigênio e reação com outros agentes oxidantes presentes na formulação. Estes agentes oxidantes podem ser distinguidos dentro da formulação, pela dependência da degradação na presença de oxigênio. Eles são gerados a partir da decomposição de moléculas de oxigênio dos excipientes como impurezas, por exemplo, peróxidos (WATERMAN & ADAMI, 2005).

O número de fármacos sensíveis à oxidação ou à redução é bastante extenso. Quimicamente, a oxidação envolve a perda de elétrons (e^-) de um átomo ou de uma molécula. Cada elétron perdido é aceito por outro átomo ou molécula, de maneira a promover a redução do átomo ou molécula receptor. Em química orgânica e, portanto para a maioria dos fármacos, a reação de oxidação ocorre pela perda de hidrogênio da molécula (dehidrogenação). O processo oxidativo envolve a formação de radicais livres, moléculas ou átomos contendo um ou mais elétrons desemparelhados, assim como o oxigênio molecular [$O_2(O-O^-)$ e hidroxila livre (OH^\cdot)] e estruturas moleculares com grupo hidroxila diretamente ligados ao anel aromático como os fenóis e seus derivados. O processo tem sido descrito como um tipo de reação em cadeia que consiste em três reações concorrentes: iniciação, propagação e terminação. Dependendo das concentrações dos radicais e da velocidade de reação, cada uma dessas domina dentro de um determinado tempo, levando às três fases distintas: iniciação, propagação e terminação (HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

Exemplos de fármacos suscetíveis à oxidação:

A conversão da adrenalina para adenocromo fornece um conhecido exemplo farmacêutico de oxidação (HEACOCK, 1959).

- Substâncias Fenólicas: ex. fenilefrina, morfina.
- Olefinas (alcenos): compostos alifáticos com duplas ligações.

Grupamentos dienos conjugados como presentes na a vitamina A e ácidos graxos insaturados livres. Formulações contendo alto teor de óleos vegetais são suscetíveis à oxidação, como as formulações estudadas por Halbault e colaboradores (1997).

- Esteróis e esteróides proporcionam múltiplos exemplos de oxidação de monoalcenos e rearranjo de radicais. Na estrutura colesterol, o mecanismo de ação da reação de degradação química ocorre quando uma parte do radical alil sofre

uma reação com o oxigênio singlete, passando ao radical eno para produzir o 5 α – hidroxil peroxi-3 β -hidroxicolesterol-6-eno. Em seguida, a molécula se rearranja a 7 α -hidroxiperoxi- 3 β -hidroxicolesterol-5-eno (Figura 4- Reação de oxidação do colesterol pelo oxigênio singlete) e finalmente isomeriza 7 β -hidroxiperoxi (isômero), formando o produto de oxidação primária do colesterol (BECKWITH *et al.*, 1989). Devido à exclusiva retenção de configuração e pela natureza do primeiro rearranjo alilperoxil deduziu-se que poderia ser uma reação concertada [2,3], em que há a formação e ruptura simultânea de várias ligações – na qual um grupo migra, com os elétrons da respectiva ligação σ , dentro de uma cadeia com ligações π – um eno ou polieno – que se denomina rearranjo sigmatrópico (MORRISON & BOYD, 1996; HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

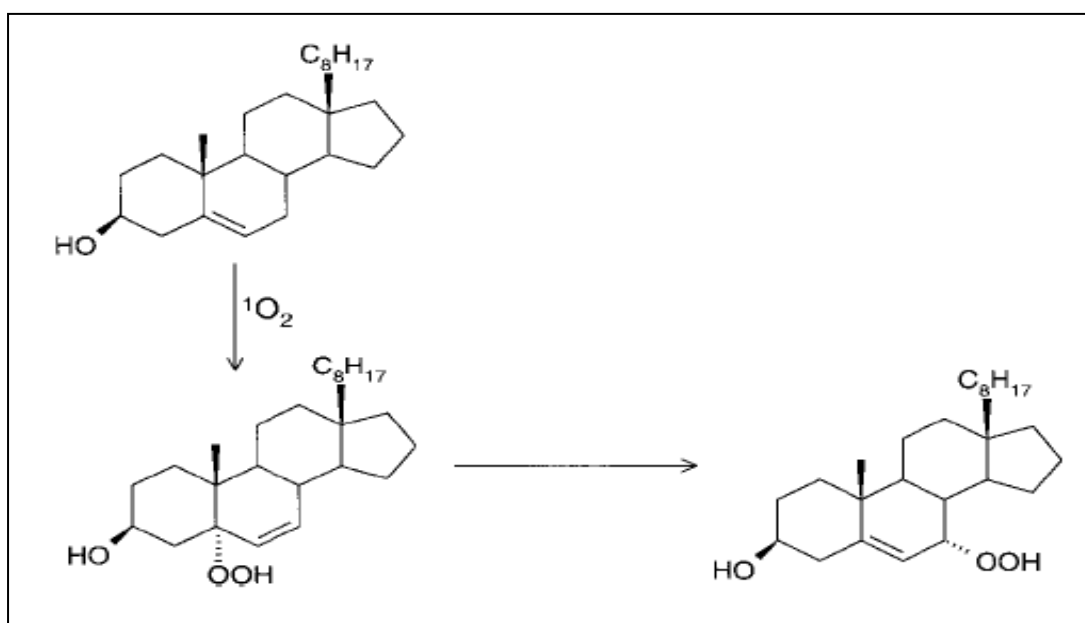


Figura 4 – Reação de oxidação do colesterol pelo oxigênio singlete. (Adaptada de HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

Esse tipo de reação de adição ao radical peroxil e o subsequente rearranjo pela reação de polimerização têm sido demonstrados por fármacos que contêm alcenos paralelamente conjugados.

A sinvastatina é uma estatina semi-sintética, sendo um potente, específico e inibidor competitivo da 3-hidroxi -3-metil glutaril coenzima A (HMG-CoA) redutase, principal enzima que catalisa a conversão de HMG-CoA a mevalonato um agente redutor do colesterol que é oligomerizado a um pentâmero tendo como resultado, reação de adição ao radical peroxil. A correspondente clivagem dos oligômeros ligados ao radical peróxido leva a produtos que contêm epóxidos (SMITH *et al.*,

1993). Produtos com grupamentos cetona e álcool são formados pela maior degradação do epóxido. Esse medicamento é muito suscetível a alterações oxidativas em sua estrutura molecular, o que torna fundamental e de caráter extremamente relevante a comprovação da eficácia e estudos de estabilidade.

Outros fármacos suscetíveis à degradação:

- Fármacos fenotiazínicos: ex. clorpromazina, prometazina;
- Fármacos tricíclicos: ex. nortriptilina, maprotilina;
- Substâncias com grupo sulfidril (R-SH): ex. captopril;
- Fármacos aldeídicos: ex. flavonóides;
- Heterocíclicos e anéis aromáticos, nitroso e nitrito derivados, nitrofurantoína, tetraciclina, furosemida, ergotamina, sulfacetamida, e outros.

Outro exemplo, a anfotericina B (Figura 5) é uma classe de antibióticos poliênicos que são especialmente sensíveis à reação de oxidação. A porção do poliêno deste fármaco interage com a membrana celular *in vivo*, sendo assim, há a possibilidade dos radicais peroxil presentes nas membranas celulares de atacarem esta classe de antibióticos. A anfotericina B contém uma cadeia de heptaeno conjugado, a qual é sensível ao processo de oxidação e induzido pela reação com o radical peroxil, podendo dessa forma, levar à formação de produtos de degradação contribuindo para a perda de atividade (HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

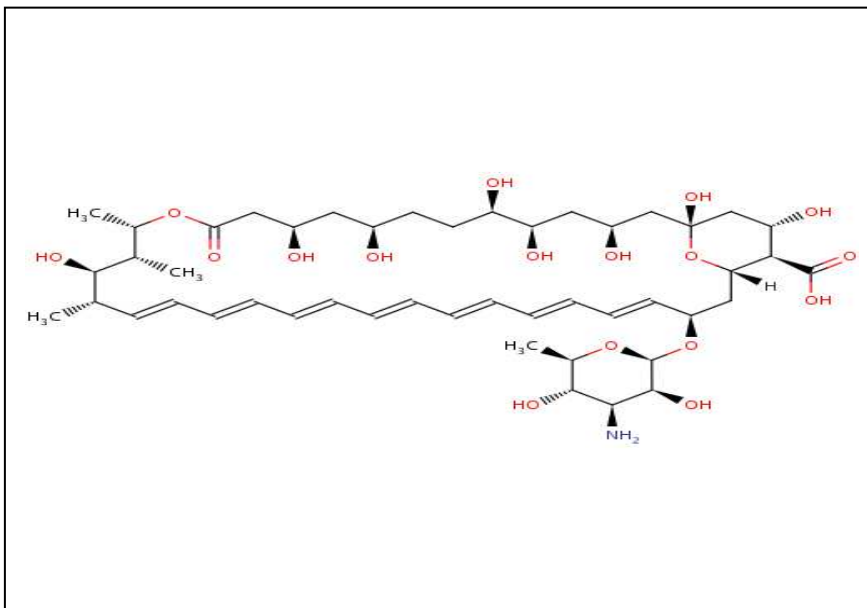


Figura 5 - Estrutura Química da Anfotericina B. Disponível em http://www.drugbank.ca/structure_viewer. (1R, 3S, 5R, 6R, 9R, 11R, 15S, 16R, 17R, 18S, 19E, 21E, 23E, 25E, 27E, 29E, 31E, 33R, 35S, 36R, 37S)-33-[[[(2R, 3S, 4S, 5S, 6R)-4-amino-3,5-dihydroxy-6-methyloxan-2-yl]oxy]-1,3,5,6,9,11,17,37-octahydroxy-15,16,18-trimethyl-13-oxo-14,39-dioxabicyclo[33.3.1]nonatriaconta-19,21,23,25,27,29,31-heptaene-36-carboxylic acid.

1.5 – EXCIPIENTES FARMACÊUTICOS

Alguns estudos mostram que variações na formulação ou na técnica de fabricação podem gerar diferenças substanciais na absorção e, conseqüentemente, na resposta terapêutica dos fármacos. A introdução de um fármaco em uma forma farmacêutica final requer o uso de adjuvantes farmacêuticos (ANSEL *et al.*, 2007).

O conceito de excipiente farmacêutico é dito como substâncias inócuas inseridas em uma formulação para facilitar a administração e preservação dos fármacos em formas farmacêuticas. São substâncias destinadas a entrar na composição das preparações farmacêuticas com uma função diferente dos princípios ativos e têm como objetivo modelar as preparações a serem incorporadas nelas (LE HIR, 1997). Em relação aos excipientes farmacêuticos, o termo inocuidade ou inércia deve ser analisado mais profundamente. Assim como os fármacos – princípios ativos – os excipientes possuem energia termodinâmica própria (PIFFERI, SANTORO & PEDRANI, 1999), o que pode acarretar durante a fase farmacotécnica de fabricação alterações com a exposição à luz e altas temperaturas, levando a efeitos adversos na formulação. Alguns excipientes utilizados como álcool etílico, EDTA, óxido de ferro, flavorizantes e outros podem reagir adversamente na formulação. A inatividade farmacológica e toxicológica também são fatores a serem levados em conta. O Álcool etílico, corante como a tartrazina, o ácido bórico entre

outros podem, em quantidades inadequadas, apresentar efeitos adversos se absorvidos (TANAKA, 2008).

Além de adjuvantes farmacotécnicos, reconhece-se que atualmente, os excipientes farmacêuticos possuem papel fundamental na obtenção do efeito farmacológico esperado, interferindo na velocidade de liberação do fármaco e na sua estabilidade. Em tempos atuais, os excipientes farmacêuticos não são simplesmente classificados como, por exemplo; diluentes, apenas com a finalidade de adicionar peso, consistência e volume ou mesmo excipientes adjuvantes, no auxílio a promover a estabilidade, velocidade de desintegração e dissolução (BALDRICK, 2000). Os excipientes devem facilitar a administração dos princípios ativos, ajudar a melhorar a eficácia e assegurar a sua estabilidade e, conseqüentemente, a sua conservação até o limite de utilização fixado, como é o caso dos conservantes, antissépticos, antifúngicos, quelantes e também ácidos, bases e tampões que possibilitam o ajuste do pH (LE HIR, 1997). Regulamentações e orientações já existentes indicam que os excipientes devem ser tratados como substâncias químicas: componentes com avaliação toxicológica completa. Conclui-se, portanto, que se deve buscar mecanismos para avaliar a segurança dos excipientes dentro da formulação. Apesar de serem considerados farmacologicamente inertes podem iniciar, propagar ou participar de interações físicas ou químicas com os componentes da formulação, podendo comprometer a eficácia do medicamento (CROWLEY & MARTINI, 2001).

Os excipientes são incluídos na formulação para desempenhar funções. No preparo de soluções, um ou mais solventes são utilizados para dissolver fármacos; flavorizantes e edulcorantes são usados para tornar o produto mais agradável ao paladar; corantes são adicionados para melhorar a aparência; conservantes podem ser adicionados para prevenir crescimento microbiano; e estabilizantes, tais como antioxidantes e agentes quelantes, podem ser utilizados para prevenir a decomposição. No preparo de comprimidos, diluentes são comumente adicionados para aumentar o volume da formulação; aglutinantes adicionados para produzir a adesão dos pós do fármaco às outras substâncias; antiaderentes ou lubrificantes acrescentados à formulação para auxiliar na formação de comprimidos mais lisos; desintegrantes utilizados para promover a desagregação do comprimido; e os revestimentos para melhorar a estabilidade, controlar a desintegração ou melhorar a

aparência (ANSEL *et al.*, 2007). Os excipientes também podem conter impurezas ou produtos de degradação de forma que, em contrapartida, podem causar a decomposição das substâncias medicamentosas (CROWLEY & MARTINI, 2001).

A reatividade dos fármacos com os excipientes, incluindo os co-solventes, açúcares ou estabilizadores, muitas vezes envolve a reação de fármacos nucleofílicos, como por exemplo, aminas, sulfetos e compostos fenólicos, com excipientes eletrofílicos como os ácidos carboxílicos, ésteres, amidas ou haletos de alquila (WATERMAN & ADAMI, 2005). É imprescindível a realização de estudos de estabilidade no desenvolvimento de novas formulações, a fim de prever possíveis incompatibilidades entre os componentes, para verificar a manutenção das características microbiológicas e físico-químicas sob condições normais e adversas de armazenamento, para identificar e quantificar os produtos de degradação, escolher embalagens primárias mais adequadas e finalmente, definir o prazo de validade (ICH, 2010).

Durante o processo de desenvolvimento de formas farmacêuticas, um dos desafios persistentes é assegurar a estabilidade dos componentes de uma formulação, evitando a interação entre os mesmos, embora classicamente a estabilidade se refira à capacidade para resistir a perda de um fármaco, devido à decomposição (WATERMAN & ADAMI, 2005). O termo "estabilidade" mais frequentemente se refere ao tempo de armazenamento antes que qualquer produto de degradação na formulação alcance um nível suficiente para representar um risco para o paciente e baseada neste período a data de validade de um produto é determinada. Existem excipientes novos, os quais podem até modular a liberação de um fármaco na sua forma farmacêutica em termos de dissolução e, portanto não podem ser considerados "inertes". Em termos de funcionalidade o conceito de excipiente sem função farmacotécnica já não vigora há tempos (PIFFERI *et al.*, 1999). Existem nos tipos mais diversos de formulações várias formas farmacêuticas – em medicamentos que são basicamente sólidos, líquidos e semissólidos – excipientes que têm por função somente diluir, dissolver ou avolumar os princípios ativos em suas respectivas formas farmacêuticas, sendo inseridos na concepção tradicional de excipiente. Entretanto, existe uma função mais importante de alguns excipientes, os quais são colocados "intencionalmente" nas formulações para melhorar o desempenho do princípio ativo no medicamento, em termos de

liberação, absorção, estabilidade ou características organolépticas, destacando-se neste sentido os antioxidantes (WATERMAN & ADAMI, 2005).

No caso dos comprimidos, alguns excipientes influenciam diretamente seu desempenho terapêutico. Dentre eles, podem ser citados os desintegrantes, ligantes e promotores de fluxo, cuja funcionalidade está intimamente ligada à técnica de fabricação dos comprimidos, em que são necessários excipientes com densidade, fluxo e compactação ideais. Além daqueles, que facilitam o acesso do princípio ativo aos líquidos no trato gastrointestinal como os desintegrantes e incrementadores de dissolução, ressalta-se os que mantêm íntegra a estrutura do fármaco, como antioxidantes já anteriormente citados e adsorventes como o aerosil (dióxido de sílica coloidal), que apresenta uma capacidade de adsorção em até 200 vezes do seu peso em água (PIFFERI, 1999). Do ponto de vista funcional dos excipientes, o fato é que se conclui que a qualidade dos mesmos deve ser igual ou maior à do princípio ativo, nos quesitos pureza e inocuidade.

1.6–ESTABILIDADE FARMACÊUTICA

Para realização de estudos de estabilidade torna-se necessário estabelecer critérios para a escolha de um método a ser utilizado (ICH, 2003; SHABIR, 2003). O método selecionado deverá ser o procedimento que fará a determinação seletiva do fármaco na presença de seus produtos de degradação (SILVA *et al.*, 2008 ; BAKSHI, 2002). A estabilidade dos produtos farmacêuticos depende de fatores ambientais como temperatura, umidade, luz e de outros fatores relacionados ao próprio produto como propriedades físicas e químicas, de substâncias ativas e excipientes farmacêuticos, forma farmacêutica e sua composição, processo de fabricação, tipo e propriedades dos materiais de embalagem (BRASIL, 2005).

O estudo da estabilidade de medicamentos está regulamentado pela resolução RE nº 01, de 29 de julho de 2005, e tem como função principal, prever, acompanhar e determinar o prazo de validade, bem como o período de utilização em embalagem destes produtos (GARRET, 1962; SIMIC, 1994) No Brasil, o prazo de validade de um produto a ser comercializado é determinado por um estudo de estabilidade de longa duração e acelerado de acordo com os parâmetros definidos nesta resolução. (BRASIL, 2005).

1.7 – ANTIOXIDANTES

Em geral, existem duas categorias básicas de antioxidantes: os naturais e os sintéticos (RAMALHO & JORGE, 2006). Os antioxidantes são compostos que retardam ou inibem a oxidação de moléculas orgânicas e inorgânicas, impedindo o surgimento ou a propagação das reações de oxidação, os quais são degradados preferencialmente em função de seus potenciais de oxidação que são inferiores em relação aos demais componentes da formulação (GULÇIN *et al.*, 2010). Estes têm por objetivo a diminuição da perda de teor e da vida útil do medicamento, aumentando seu prazo de validade e conseqüentemente, o prolongamento trazendo dessa forma, segurança para o paciente e economia para indústria farmacêutica que terá diminuições significativas em termos de perdas quando se trata de formas farmacêuticas instáveis frente às condições adversas de armazenamento e transporte.

O retardamento das reações oxidativas por certos compostos foi primeiramente registrado por Berthollet, em 1797, e depois esclarecido por DAVY, em 1817. Na seleção de antioxidantes, são desejáveis as seguintes propriedades: eficácia em baixas concentrações (0, 001 a 0,01% p/p); ausência de efeitos indesejáveis na cor, no odor, no sabor e em outras características do produto; boa compatibilidade e fácil aplicação; estabilidade nas condições de processo e armazenamento; o antioxidante e seus produtos de oxidação não podem ser tóxicos, mesmo em doses muito maiores das que normalmente seriam ingeridas (BAILEY, 1996).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários, sinergistas, removedores de oxigênio, biológicos, agentes quelantes e antioxidantes mistos (BAILEY, 1996).

Além disso, diante da escolha de um antioxidante deve-se considerar também outros fatores, incluindo a legislação vigente que regulamenta o seu uso, o custo e preferência do consumidor por antioxidantes naturais (RAFECAS *et al.*, 1998).

Diferentes antioxidantes são utilizados nas mais variadas formulações farmacêuticas (SHIRZAD, 2007). Entretanto, apesar de se conhecer de forma genérica seus mecanismos de ação, os quais se encontram diretamente relacionados à estrutura molecular destes excipientes, esta teoria se baseia na

grande maioria das vezes em reações que ocorrem em fase líquida, com os ativos e excipientes dissolvidos (PEZZINI, 2007). Desta forma, quando se considera a mudança da fase líquida para um sistema sólido, estes passariam, a assumir um caráter de aproximação, sem que se considerem inequívocos, os conceitos teóricos que governam a ação destas moléculas. Diferentes exemplos são encontrados em literatura no que tange a utilização de substâncias antioxidantes para a estabilização de comprimidos.

A cisteína, se mostra efetiva no controle de processos oxidativos em cápsulas gelatinosas duras com diferentes ativos oxidáveis. Em geral, se utiliza a concentração de 2% p/p para a inibição efetiva da oxidação do fármaco veiculado (SKIBA *et al.*, 2000). Outro exemplo pode ser visto na utilização do metabissulfito de sódio em diferentes formulações líquidas, e, especificamente para sólidos orais, na concentração de 0,1% p/p em peso para a estabilização de formulações de comprimidos de enalapril, captopril, metildopa e cetoconazol (SIMONETTI *et al.*, 2000). O galato de propila, o BHT e BHA, também já foram utilizados com sucesso para formulação de ativos oxidáveis em comprimidos.

O Handbook de excipientes farmacêuticos, em sua 5ª Edição, relaciona as diferentes concentrações propostas para o uso de antioxidantes. Todavia, a base para tal proposição não é clara nem tão pouco se demonstra ser a mesma aplicável a todos os tipos de formulações. Assim sendo, torna-se fundamental racionalizar o uso de antioxidantes para formulações sólidas orais, de forma a tornar o processo de desenvolvimento de novas formulações menos empírico e dependente do processo de tentativa e erro. Compostos orgânicos formadores de complexos com metais podem ser associados à formulação, pois atuam sinergicamente aumentando a atividade antioxidante (VADAS, 2004). Em compostos fenólicos a atividade antioxidante ocorre, principalmente, devido às suas propriedades de óxido-redução, as quais podem desempenhar um importante papel na absorção e neutralização de radicais livres, quelando o oxigênio triplete e singlete ou decompondo peróxidos (RAMALHO & JORGE, 2006).

Alguns dos antioxidantes mais utilizados nas indústrias farmacêuticas e/ ou alimentícias são cisteína (CIS), metabissulfito de sódio (MBS), galato de propila (GDP), hidroxitolueno butilado (BHT) e hidroxianisol butilado (BHA) (ROWE,

SHESKEY & OWEN, 2006). Estes dois últimos são derivados polihidroxifenóis e possuem ação antioxidante pelo fornecimento de elétrons ou prótons H^+ lábeis aos radicais livres, que agem interrompendo as reações em cadeia (WELLS, 2005). Os antioxidantes BHT e BHA são rotineiramente utilizados na indústria farmacêutica e em produtos alimentícios, retardando ou inibindo a oxidação de lipídeos, principal causa de degradação em alimentos (GÜLÇİN *et al.*, 2010). Por outro lado, a segurança desses antioxidantes tem sido questionada recentemente, devido às suspeitas de serem responsáveis por carcinogênese e danos hepáticos (PACIFICO *et al.*, 2008).

Existem relatos de que o BHT pode causar hemorragia interna e externa, quando em doses elevadas, o suficiente para causar a morte de alguns animais em ensaios clínicos. Por conseguinte, tem sido observado um aumento no interesse por antioxidantes naturais e mais seguro, como ácido ascórbico, α -tocoferol (vitamina E), aminoácidos (cisteína), flavonóides e outros compostos fenólicos (GÜLÇİN *et al.*, 2010). Quanto ao uso do BHT na indústria farmacêutica, existem alguns relatos isolados de reações cutâneas adversas, que não são observadas quando se utiliza essa substância nas concentrações usuais em medicamentos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) preconiza a dose diária em até 125 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal. Estudos realizados mostram que a ingestão de 4g de BHT, embora cause fortes náuseas e vômitos, não é fatal (ROWE, SHESKEY & OWEN, 2006).

Os antioxidantes apresentam dois tipos de mecanismos de ação: atuam como sequestradores de oxigênio, mecanismo de ação dos sulfitos, ácido ascórbico e monoglicérol, ou como agentes que atuam pela interrupção da reação em cadeia e apresentam um átomo de hidrogênio ou um elétron disponível e, durante o processo, convertem-se em radicais livres não suficientemente reativos para dar continuidade à reação em cadeia. Esses radicais livres formados são intrinsecamente estáveis ou combinam-se com outros radicais, dando início à etapa de terminação. Os agentes quelantes, como o EDTANA, o ácido cítrico e tartárico, agem por associação com íons metálicos por meio de complexação. Os íons metálicos como Fe^{+3} , Cu^{+2} , Co^{+3} , Ni^{+2} e Mn^{+2} podem atuar com iniciadores da reação de oxidação porque têm um elétron desemparelhado em sua camada de valência.

1.8 – MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

Vários métodos de análise da atividade antioxidante foram desenvolvidos para a avaliação do potencial antioxidante de alimentos, fluidos biológicos e produtos farmacêuticos (SCOTTI *et al.*, 2007). Com a finalidade inibir ou retardar processos de reações de oxidação tem sido observado um aumento interessante na pesquisa e consumo de antioxidantes, visando buscar seus efeitos benéficos. A utilização de antioxidantes tem como finalidade a proteção de sistemas biológicos contra o efeito nocivo de processos ou reações que podem causar oxidação excessiva (KRINSKY, 1994). Estudos mostram que evidências epidemiológicas crescentes da função de alimentos antioxidantes na prevenção de certas doenças têm conduzido ao desenvolvimento de grandes números de métodos para determinar a capacidade antioxidante (PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006). Efeitos benéficos dos antioxidantes obtidos de fontes naturais ou sintéticas, utilizados em doenças coronárias e cancerígenas têm despertado o interesse nestas pesquisas. Existem vários métodos para a avaliação da atividade antioxidante. Estes métodos são baseados na captura do radical peroxila (ORAC, TRAP), no poder de redução do metal (FRAP, CUPRAC), captura do radical hidroxila (método de desoxirribose), captura do radical orgânico (ABTS) ou a quantificação de produtos formados durante peroxidação de lipídeos (TBARS, oxidação do LDL, co-oxidação do β – caroteno) (FRANKEL & MEYER, 2000; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; ARUOMA, 2003). Dentre estes métodos, ABTS, DPPH, FRAP e ORAC alguns são mais usuais (PÉREZ-JIMÉNEZ & SAURA-CALIXTO, 2006).

Os ensaios químicos para a determinação da atividade antioxidante se baseiam principalmente na capacidade de capturar vários tipos de radicais livres. São métodos descritos na literatura que utilizam a espectrofotometria UV- visível e técnicas específicas para medir a atividade anti-radicalar desenvolvida em contato com os radicais formados com esses reagentes (ADOM *et al.*, 2002) Os mais conhecidos usualmente expressam a capacidade antioxidante total para alimentos ou produtos químicos, como capacidade equivalente do Trolox (6- hidroxil-2, 5, 7,8-tetrametilcroman-2-ácido carboxílico); é um ensaio antioxidante de captura do parâmetro radical total (TRAP) em solução. O método é demorado e, expressa o valor da atividade antioxidante como equivalente Trolox. Trolox é um análogo da

vitamina E que possui atividade antioxidante em potencial e, é um composto não-natural encontrado em alimentos (KIM *et al*, 2002).

Os métodos dos reagentes ABTS (2,2'- azino -bis (3-etilbenzotiazol-6-ácido sulfônico) e o DPPH (2,2-Difenil -1-picril-hidrazil), respectivamente são entre todos, os métodos mais populares para determinação espectrofotométrica da capacidade antioxidante em solução. O radical DPPH é violeta e o ânion radical ABTS azul-esverdeado, ambos são cromógenos simples e estáveis, fáceis de usar e apresentam um alto nível de sensibilidade. O método DPPH (BRAND-WILLIAMS *et al*,1995) é baseado na captura do radical DPPH(2,2-Difenil -1-picril-hidrazil) por antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância a 515 nm (MOLYNEUX, 2004; MARQUELE *et al*. 2005). O DPPH é um radical livre que pode ser obtido diretamente por dissolução do reagente em meio orgânico (RUFINO *et al*.,2007). Este método é bastante utilizado em compostos fenólicos por apresentar propriedades eletrônicas do cátion radicalar em doar elétrons. A atividade antioxidante está relacionado com capacidade de doação de elétrons (SCOTTI *et al*., 2007). O resultado da análise depende da especificidade do radical pelos reagentes de cada método. Os antioxidantes podem ser hidrossolúveis , lipossolúveis ou ambos, dessa forma a escolha do método de análise deve ser feita conforme a natureza do composto a ser investigado (ADOM *et al*., 2002 ; SCOTTI *et al*., 2007). As estruturas químicas de um composto podem ser avaliadas pelo estudo das relações estrutura-atividade (SAR).

1.9 – ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR E A RELAÇÃO ESTRUTURA-ATIVIDADE (SAR) DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A idéia da utilização de inovações científicas e tecnológicas necessita da otimização de tempo e custos, sendo assim o uso de conhecimentos de informática como ferramenta de pesquisa no planejamento de fármacos torna-se necessário para auxiliar no desenvolvimento de fármacos. Planejamento de fármacos pode ser executado com o auxílio do computador e da utilização de programas que possibilitam a construção, visualização, manipulação e estocagem de modelos moleculares tridimensionais, o qual inclui também análise conformacional, cálculo de propriedades estéricas, eletrônicas, físicas entre outras (TANG *et al*.,2006).

O grande desenvolvimento da modelagem molecular deve-se, em grande parte, ao avanço dos recursos computacionais em termos de *hardware* (velocidade de

cálculo) e *software* (programas de modelagem molecular). A maioria do programa de modelagem molecular é capaz de realizar cálculo de otimização geométrica e estudos de análise conformacional. Um programa de modelagem permite a representação, visualização, manipulação e determinação de parâmetros geométricos (comprimento e ângulo de ligação) e eletrônicos (energia dos orbitais de fronteira, momento de dipolo, potencial de ionização) de uma molécula isolada, além de realizar estudos em macromoléculas (proteínas) e em complexo fármaco-receptor (RODRIGUES, 2001).

Pode-se, dessa forma, realizar estudos das relações estrutura-atividade de moléculas antioxidantes. As relações estrutura-atividade são elaboradas pelas alterações de partes das estruturas químicas de compostos protótipos, observando qual a influência na atividade sob o ponto de vista qualitativo e quantitativo (THOMAS, 2000). Assim estudos das relações estrutura-relatividade possibilitam os cálculos das propriedades físico-químicas, como: características de energias e coeficientes dos orbitais moleculares de fronteira HOMO (*Highest Occupied Molecular Orbital*) e LUMO (*Lowest Unoccupied Molecular Orbital*), propriedades eletrônicas, atômicas e de ligações, coeficiente de Partição (cLogP), polarizabilidade das moléculas e interação a nível molecular, mapa de potencial eletrostático utilizando conjuntos de técnicas computacionais (RODRIGUES, 2001).

A maioria dos programas de modelagem molecular é capaz de desenhar a estrutura molecular e realizar os cálculos de otimização geométrica e estudos de análise conformacional realizando cálculos pela utilização de métodos teóricos, como: métodos empíricos (mecânica molecular), métodos semi-empíricos (repulsão de elétrons de diferentes orbitais) e cálculos *ab initio* (Teoria de Huckel). Pelo cálculo das energias de HOMO e de LUMO pode-se realizar a predição da atividade antioxidante de uma molécula qualquer e, simulando de forma mais precisa reações em solução, fazer uma correlação com métodos químicos para avaliação da atividade antioxidante. A modelagem molecular é um método mais adequado a moléculas simples do que macromoléculas.

1.10 - JUSTIFICATIVA

Diariamente o homem é exposto a misturas de agentes carcinógenos, presentes em alimentos e medicamentos usados de forma crônica, levando ao aparecimento de tumores oriundos de efeitos sinérgicos e aditivos, como comprovado em estudo efetuado com um grupo de cinco antioxidantes fenólicos, dentre eles o BHA (butilhidroxianisol), que foram administrados isoladamente e combinados, em doses reduzidas e elevadas, na dieta de ratos por um período de dois anos. Dentre os resultados, foi observado aumento na incidência de carcinomas e papilomas de pré-estômago, após administração de BHA (SIMIC, 1994), em doses reduzidas, combinado com outros antioxidantes, assim como, isoladamente, em doses elevadas (HIROSE *et al.*, 1997). Resultado similar foi registrado por Williams e colaboradores (1999) para doses de BHA acima de 3000 ppm. Recentemente, (IATROPOULOS & WILLIAMS, 2009) relataram que, submetido a ensaios clínicos, o BHA induziu neoplasia no pré-estômago de ratos e camundongos. Esse antioxidante pode, também, induzir a morte celular, por intermédio da condensação e fragmentação nuclear, produção de danos estruturais na mitocôndria, pelo decréscimo do potencial transmembrana, e clivagem do DNA, cujo mecanismo molecular foi elucidado por Okubo e colaboradores (2004), empregando em seu trabalho células humanas leucêmicas U937.

Embora amplamente usado como antioxidante nas indústrias alimentícias e farmacêuticas, o MBS (metabissulfito de sódio) está associado à ocorrência de reações adversas muito severas e até mesmo fatais. A ingestão de pequenas quantidades resulta em irritação gástrica, enquanto que em grandes proporções pode causar cólica, diarreia, distúrbios circulatórios e depressão do sistema nervoso central, podendo até ocasionar o óbito, motivo pelo qual a Organização Mundial de Saúde (OMS) preconiza uma dose diária aceitável de até 7,0 mg/kg de peso corporal, calculado como dióxido de enxofre (ROWE; SHESKEY; OWEN, 2006).

Este trabalho tem como objetivo principal desenvolver o estudo do uso racional dos antioxidantes BHA, BHT, MBS, GDP e CIS, em formulações de comprimidos de sólidos orais, utilizando como modelo para o estudo, os fármacos sinvastatina e cetozonazol, os quais apresentam grupamentos suscetíveis a processos oxidativos e hidrolíticos. Fármacos sensíveis a processos oxidativos necessitam de estudos dos parâmetros de estabilidade, do isolamento, caracterização e quantificação dos

produtos de degradação. Os processos de oxidação de matérias-prima, ativos e excipientes são uma das principais causas da redução da vida de prateleira dos produtos farmacêuticos. Portanto, o conhecimento e compreensão dos mecanismos de reação e as formas de controle para os mesmos são de importância econômica para a indústria. Neste sentido, pode se propor um estudo de estabilidade de formulações contendo um ativo sensível à oxidação, no caso a sinvastatina, a racionalização do uso deste tipo de excipiente, ao mesmo tempo em que, se possibilita a obtenção de uma formulação com qualidade de um medicamento considerado como essencial para o Ministério da Saúde.

Assim, diante de relatos anteriores na literatura, justifica-se o estudo atual do uso racional dos antioxidantes, sendo consideradas duas abordagens: A primeira referente a potencial toxicidade dos mesmos quando empregados isoladamente ou combinados, seja em doses reduzidas ou elevadas, utilizando a concentração mínima efetiva; Uma segunda abordagem refere-se à redução de sua eficácia quando empregados em concentrações muito reduzidas ou possíveis incompatibilidades em sua formulação.

OBJETIVOS

2.0 - OBJETIVOS:

2.1- OBJETIVO GERAL:

Este trabalho teve como objetivo principal o desenvolvimento de bases racionais para o uso de diferentes antioxidantes, avaliando-se a concentração e tipo.

2.2 – OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Preparar as formulações orais por compressão direta utilizando os antioxidantes BHA (Hidroxianisol butilado), BHT (Hidroxitolueno butilado), MBS (Metabissulfito de sódio), GDP (Galato de propila) e CIS (Cisteína), nas formulações de comprimidos, empregando-se a sinvastatina e o cetoconazol como fármacos modelo;
- Avaliar a capacidade antioxidante destas substâncias com o uso do teste do DPPH em solução e por modelagem molecular, de forma a se antecipar sua eficiência;
- Caracterizar os comprimidos obtidos e conduzir estudos de estabilidade dos mesmos segundo a RE nº 01 de 29 de Julho de 2005 (BRASIL, 2005);
- Correlacionar os resultados obtidos em fase sólida com a eficiência destes antioxidantes em solução, pela técnica de DPPH e por modelagem molecular criando bases racionais para se utilizar esses excipientes;
- Propor uma teoria racional para o uso de antioxidantes em formulação de sólidos orais.

MATERIAL E MÉTODOS

3.0-MATERIAL E MÉTODOS

3.1 – EQUIPAMENTOS:

Foram utilizados os equipamentos:

- Agitador magnético multiponto (IKA– E0A9);
- Balança para determinação de umidade (SARTORIUS MA 30);
- Balança analítica (SARTORIUS-BP 210s);
- Banho de ultrassom (QUIMIS–Q3350);
- Câmara climática (NOVA ÉTICA 420 - CLD 300);
- Centrífuga (QUIMIS–Q222D);
- Compressora galênica excêntrica (FABBE);
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência MERCK, bomba modelo L6000 – A, detector de UV-visível modelo L4250, auto amostrador modelo AS 2000A;
- Cronômetro (TECHNOS-TEC 426);
- Desintegrador (NOVA ÉTICA 301- AC);
- Dissolutor (DISTEK-2100 A); durômetro automático (NOVA ÉTICA 298-ATTS);
- Espectrofotômetro UV-visível (SHIMADZU UV-2401PC);
- Estufa (MARCONI MAO 035/5);
- Friabilômetro (ERWEKA–TAR 10);
- Misturador em V (MARCONI);
- Placa de aquecimento e agitação (CORNING PC 230);
- Placa de aquecedora com agitação-(IKA-RCT BASIC);
- Purificador de água por osmose reversa (MILLIPORE-Rios 5);
- Potenciômetro (INOLAB-WTW LEVEL 2);
- Ultra-purificador de água (MILLIPORE-Milli Q gradient);

- Ultrassom (THORNTON–T50);
- Pipetador automático (DRUMMOND–Pipet-aid).

3.2 - REAGENTES E INSUMOS:

Todos os reagentes e insumos utilizados no desenvolvimento deste trabalho se encontravam dentro do prazo de validade. Foram utilizados os reagentes e insumos:

- Ácido acético glacial P. A. (MERCK);
- BHA (Butilhidroxianisol) (SIGMA);
- BHT (Butilhidroxitolueno) (SIGMA - ALDRICH);
- Celulose microcristalina PH 102 (AVICEL - FMC);
- Cloridrato de Cisteína (VETEC);
- Croscarmelose sódica (ACDISO-LFMC);
- DPPH (2,2 – difenil-1- picril hidrazil) (SIGMA-ALDRICH);
- Dióxido de silício coloidal (WYNDALE);
- Estearato de magnésio (WYNDALE);
- Fosfato monobásico de potássio (MERCK);
- Galato de Propila (VETEC);
- Lactose monohidratada spray dried e malha 200 (WYNDALE);
- Laurilsulfato de sódio (MERCK);
- Metabissulfito de sódio (VETEC);
- Sinvastatina (EVERS, lote IF080125); Zocor®;
- Soluções tampão pH 4,0 e 7,0 (QM Reagentes);
- Padrão de cetoconazol (lote IP080305);
- Padrão de sinvastatina (lote LRJ05122);
- Padrão de lovastatina (lote LRJ06153);
- Acetonitrila (TEDIA BRAZIL);

- Sinvastatina matéria-prima (Farmex-México) – teor 99,5% e
- Cetoconazol matéria-prima (Farmex-México) – teor 101,5%.

4.0-MÉTODOS

4.1-PREPARO DA FORMULAÇÃO PROTÓTIPO DOS COMPRIMIDOS DE SINVASTATINA

Duas formulações básicas foram investigadas, sendo estas preparadas pela técnica da compressão direta (AULTON, 2005).

A diferença entre as formulações S1 e S2 fundamentou-se na retirada da lactose, objetivamente para buscar uma redução na perda de fluxo e adesão aos punções, devendo se considerar, entretanto, um possível comprometimento na dissolução do ativo pela retirada de um excipiente solúvel, no caso a lactose (AULTON, 2005).

Posteriormente, a concentração de antioxidante foi variada em peso nos núcleos de 0,1 a 0,9%, em cada formulação produzida, utilizando como antioxidantes BHT (butilhidroxitolueno), BHA (butilhidroxianisol), cisteína, metabissulfito de sódio (MBS) e galato de propila (GDP). Foram utilizados para o preparo dos comprimidos os fármacos sinvastatina (S) e cetoconazol (C).

Para a escolha da formulação base ideal S1 ou S2 foi utilizada a concentração de BHT a 0,9%, visto que essa concentração do referido antioxidante ter sido descrita anteriormente na literatura e, de utilização bem sucedida em diversas formulações (Srinivasu e colaboradores, 2002), e em função de ser a concentração de antioxidante utilizada na formulação do medicamento de referência princípio ativo sinvastatina, o Zocor®. Os comprimidos de ambos os fármacos obtidos foram caracterizados, analisando-se seu peso médio, friabilidade, dureza, dissolução e desintegração (FARMACOPÉIA BRAS., 5ª ed., 2010).

Abaixo, descreve-se a proposta de formulação a ser utilizada neste estudo (tabela 1).

Tabela 1-Formulação Base para a preparação dos comprimidos

INGREDIENTES	P (%)
Ativo	20,00
Aglutinante	76,40 a 77,20
Antioxidante	0,1 a 0,9
Lubrificante	2,70
Total	100,00

4.1.1 – Determinação de Peso Médio:

Foram pesados individualmente 20 comprimidos, retirando-se o excesso de pó dos mesmos. O peso individual de cada um foi determinado. O peso médio foi calculado como média das 20 medidas individuais. Pode-se tolerar não mais que duas unidades fora dos limites de variação de 5%, em vista do peso teórico esperado, e em relação ao peso médio, porém nenhuma unidade poderá estar acima ou abaixo de 10% (FARMACOPÉIA BRAS., 5ª ed., 2010).

4.1.2 – Avaliação da Dureza dos Comprimidos:

O ensaio consistiu em submeter os comprimidos à ação do aparelho para mensuração da força aplicada diametralmente, até esmagá-lo, no qual o mínimo aceitável é de 30 N ou 3,0 kgf (FARMACOPÉIA BRAS., 5ª ed. 2010).

4.1.3 – Teste de Friabilidade:

O ensaio consistiu em pesar com exatidão 10 comprimidos e colocá-los no aparelho friabilômetro tipo Roche. Os comprimidos foram retirados após 25 rotações por minuto num período de teste para 4 minutos. Após remoção dos resíduos de pó da superfície dos comprimidos, eles foram novamente pesados. Verificou-se uma diferença entre o peso inicial e peso final. No teste são considerados aceitáveis comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso (FARMACOPÉIA BRAS., 5ª ed., 2010).

4.1.4 – Teste de Desintegração:

Consiste em inserir 01 comprimido em cada tubo, totalizando 6 tubos, ligando-se o aparelho, mantendo-se os comprimidos em água a $37 \pm 2^\circ\text{C}$, como líquido de imersão, até total desintegração, anotando-se o tempo obtido (USP 31, 2008).

Se 1 ou 2 comprimidos não sofrerem total desintegração, repete-se o ensaio com mais 12 unidades, sendo que não menos que 16 do total de 18 comprimidos devem sofrer total desintegração em menos de 30 minutos (USP 31, 2008).

4.1.5 - Ensaio de Dissolução:

O ensaio de dissolução mede a velocidade e a extensão da quantidade de fármaco que se dissolve, em um meio aquoso, na presença de diferentes excipientes contidos na forma farmacêutica avaliada (CDER/FDA, 2002a).

Os perfis de liberação dos ativos de sinvastatina e cetoconazol nos comprimidos preparados e obtidos do experimento de dissolução foram comparados com os resultados encontrados nas formulações desenvolvidas neste trabalho e com aqueles observados para a formulação de referência. Os experimentos de dissolução foram executados com aparato II, a 37°C com 900 mL de meio dissolutor descritos para os fármacos (USP 31, 2008) e, após um intervalo de tempo fixo de 30 min, foram coletadas amostras da solução para análise. Esta solução foi avaliada espectrofotometricamente, após diluição apropriada em espectrofotômetro UV.

4.1.6- Preparo da Amostra e Meio de Dissolução

O meio de dissolução para o fármaco sinvastatina consistiu de uma solução tampão de 0,5% de dodecil sulfato de sódio em uma solução 0,01 M de fosfato de sódio de pH 7,0 que foram preparados pela dissolução de 30 g de dodecil sulfato de sódio e 8,28 g de fosfato de sódio monobásico em 6000 mL de água. O pH da solução tampão foi ajustado com uma solução 50% (w/v) de hidróxido de sódio (USP 31, 2008). A solução foi adicionada em cada cuba do equipamento de dissolução com capacidade para 900 mL de meio dissolutor, sendo montado com o aparato II (pá) funcionando a uma rotação de 50 rpm, durante 30 minutos.

Para iniciar a leitura das amostras de sinvastatina em espectrofotômetro é necessário tratar as mesmas com bi-óxido de manganês, primeiramente fazendo uma pré-lavagem e transferindo-se 10 g de dióxido de manganês para um recipiente adequado. Em seguida foram adicionados 50 mL de meio de dissolução previamente preparados sob agitação vigorosa durante 5 minutos. Em seguida, submeteu-se a mistura à centrifugação e, logo após decantação, sendo a camada do sobrenadante descartada. Esta operação foi repetida duas vezes; primeiramente com o meio de dissolução e, em seguida, com água. Posteriormente, o sólido obtido

foi seco a 100°C durante 1 hora e em seguida procedeu-se à leitura das amostras adicionando 10 mg de manganês pré-lavado para cada ml das amostras coletadas no dissolutor, as quais foram agitadas vigorosamente por 5 minutos e, em seguida, centrifugadas retirando-se o sobrenadante e utilizando-se o mesmo para realizar a leitura em espectrofotômetro.

A quantidade de sinvastatina foi determinada da diferença entre a absorbância do UV no comprimento mínimo e máximo de 247 nm e 257 nm, respectivamente, em porções do filtrado da solução de ensaio, em comparação com uma solução padrão a uma concentração conhecida da USP Sinvastatina (RS) preparada da mesma forma que a solução em ensaio, cada solução corrigida para o branco, admitindo-se tolerâncias, não inferiores a 75% (Q) do montante de sinvastatina rotulada sendo dissolvida em 30 minutos (USP 31, 2008).

Para o ensaio de dissolução do cetoconazol foram utilizados 900 mL de solução de ácido clorídrico 0,1 N como meio dissolutor, seguindo a metodologia da Farmacopéia Americana USP 31. A análise foi realizada de acordo com a referida monografia, no qual os limites de tolerância para os comprimidos de cetoconazol deveriam conter não menos que 90% e não mais que 110% da quantidade utilizada de cetoconazol (USP 31, 2008).

4.2–METODOLOGIA DE ANÁLISE DE TEOR DOS COMPRIMIDOS

Essa análise foi realizada em conformidade com a Farmacopéia Americana (USP 31, 2008) e o sistema cromatográfico composto por detector para 238 nm, coluna 4.6 mm x 25 cm, material de enchimento L1 (C18, octadecil e sílica gel) para CLAE, a uma temperatura de 45°C, fluxo de 1,5 mL por minuto em cromatógrafo líquido de alta eficiência, marca MERCK – bomba modelo L6000 – A, detector de UV - visível modelo L4250, auto amostrador modelo AS 2000^a e foram utilizadas as soluções de diluição da amostra (**Sol A**), solução tampão (**SOL B**), fase móvel (**SOL C**), solução padrão (**SOL D**), conforme descrito a seguir:

Solução de diluição (Sol A): Obteve-se do preparo de uma solução contendo 3,0 mL de ácido acético glacial em 900 mL de água, ajustada em pH 4,0 com hidróxido de sódio a 5 N e, em seguida completados em seu volume total para 1000 mL.

Solução Tampão (Sol B): Obtida do preparo de 3,9 g de fosfato de sódio monobásico em 900 mL de água em pH 4,5, ajustados com hidróxido de sódio 5N e em seguida completado seu volume total com água para 1000 mL.

Fase móvel (Sol C): Obteve-se da mistura de acetonitrila e solução tampão na proporção de (65:35), respectivamente.

Solução Padrão de sinvastatina (Sol D): Uma pesada de 100 mg de Substância Padrão de sinvastatina foram transferidas para um balão volumétrico de 100 mL, completando-se seu volume com solução de diluição obtendo uma concentração de 1,0 mg/mL. Em seguida, foi retirada uma alíquota de 10 mL da solução para um balão volumétrico de 100 mL e o volume completado, a fim de obter-se uma solução a 0,1 mg /mL da Substância Padrão de sinvastatina.

4.2.1 - Preparo da Amostra de Sinvastatina

A amostra foi preparada pela diluição de uma massa referente a 200 mg de sinvastatina obtida da trituração de 10 comprimidos de 20 mg em balão volumétrico de 200 mL, adicionando-se uma pequena quantidade de água, não mais que 10 mL necessários para a desintegração dos mesmos, completando-se o volume com a solução de diluição (**Sol. A**), obtendo uma solução de concentração de 1,0 mg/mL de sinvastatina. Em seguida, foi transferida uma alíquota de 20 mL para um balão volumétrico de 200 mL e seu volume completado com solução de diluição (**Sol. A**), obtendo assim uma concentração de 0,1 mg /mL de sinvastatina.

Para análise das amostras foi utilizada CLAE, cuja análise foi realizada com volumes iguais de 10 µL da solução padrão de sinvastatina (**SOL D**) e do preparo do ensaio no aparelho referente a cada lote piloto com diferentes antioxidantes. Os cromatogramas foram registrados e as áreas de maior pico foram mensuradas, respeitando-se as especificações do sistema descrito pela Farmacopéia Americana 31^a edição (USP 31).

4.2.2- Método de Dosagem dos Comprimidos de Cetoconazol

A análise dos comprimidos de cetoconazol foi realizada seguindo a metodologia da Farmacopéia Americana (USP 31, 2008) e o sistema cromatográfico composto por detector para 225 nm, coluna 3.9 mm x 30 cm contendo o material de enchimento L1 (C18, octadecil e sílica gel) para CLAE, velocidade de fluxo de 3,0

mL por minuto, em cromatógrafo líquido de alta eficiência, marca MERCK – bomba modelo L6000 – A, detector de UV - visível modelo L4250, auto amostrador modelo AS 2000^a. Foram misturados volumes iguais de metanol e diclorometano. A fase móvel foi obtida da mistura de uma solução de di-isopropilamina em metanol (1:500). e de acetato de amônia (1:200).

Solução de Padrão interno: A solução do padrão interno foi preparada com a substância padrão de terconazol dissolvida na solução de diluição metanol: diclorometano obtendo uma concentração de 5mg/ mL.

Solução Padrão de cetoconazol: O padrão de cetoconazol foi preparado transferindo cerca de 20 mg dessa substância para um balão volumétrico de 50 mL e adicionou-se 5 mL da solução de padrão interno de terconazol diluindo com a mistura metanol:diclorometano até completar o volume, homogeneizando no final.

Solução para doseamento: Cerca de 200 mg de pó de 20 comprimidos de cetoconazol finamente triturados foram pesados e transferidos para um frasco fechado, sendo adicionados 50,0 mL da mistura metanol:diclorometano e agitados mecanicamente durante 30 minutos. Transferiu-se 5,0 mL obtidos da mistura clara do sobrenadante para um balão volumétrico de 50,0 mL e, adicionou-se 5,0 mL da solução do padrão interno diluindo com metanol: diclorometano até completar o volume, e homogeneizando a mistura.

Para a análise das amostras de cetoconazol foi utilizada a CLAE, injetando separadamente volumes iguais, equivalentes a 20 µL da solução padrão do fármaco e da solução de doseamento, no cromatógrafo. Os cromatogramas foram registrados e as áreas de maior pico foram mensuradas, respeitando-se as especificações do sistema cromatográfico descrito pela Farmacopéia Americana (USP 31, 2008).

4.3-ESTUDO DE ESTABILIDADE DAS FORMULAÇÕES

O estudo da estabilidade de medicamentos está regulamentado pela resolução RE n.º 01, de 29 de julho de 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), a fim de prever, acompanhar ou determinar o prazo de validade, bem como o período de utilização em embalagem destes produtos. O prazo de validade de um produto a ser comercializado no Brasil é determinado por um estudo de estabilidade de longa duração e acelerado de acordo com os parâmetros definidos nesta resolução. Para a avaliação da eficácia dos antioxidantes estudados neste trabalho, as condições utilizadas no estudo de estabilidade acelerada foram as seguintes: $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $75\% \text{ UR} \pm 5\% \text{ UR}$. Todos os comprimidos fabricados foram analisados nestes parâmetros de estudos de estabilidade, nos tempos de 0,03, e 06 meses (T0, T1 e T2) em câmara climática utilizando frascos de polietileno.

4.3.1 - Escolha do Antioxidante Ideal

De forma a se escolher o antioxidante ideal para os comprimidos de Sinvastatina, foram fabricados 5 (cinco) lotes pilotos com a matéria - prima sinvastatina com base na formulação protótipo ideal (tabela 02) variando-se todavia, os antioxidantes utilizados, todos a 0,9% p/p, baseados na concentração utilizada pelo produto referência de mercado, Zocor®. Neste trabalho foi desenvolvido o estudo do uso racional dos antioxidantes BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), cisteína (CIS), galato de propila (GDP) e o metabissulfito de sódio (MBS) em formulações de sólidos orais. O excipiente que se apresentar como o mais eficiente no controle do conteúdo do fármaco na formulação deverá ter sua concentração variada, de forma a se racionalizar o uso desta categoria de excipientes em concentrações de 0,05, 0,1 e 0,5% p/p e encontrar as concentrações mais eficazes.

Tabela 2 - Formulação de sinvastatina produzida para escolha do antioxidante ideal

MATÉRIA-PRIMA	QU* (mg)	P (%)	QT**(g)
Sinvastatina	20,00	20,00	140,00
Croscarmelose sódica	3,00	3,00	21,00
Celulose microcristalina 102	74,60	74,60	522,20
Dióxido de silício coloidal	1,00	1,00	7,00
Antioxidantes *2	0,90	0,90	6,30
Estearato de magnésio	0,50	0,50	3,50
Total	100,00	100,00	700,00

*QU = quantidade unitária (mg); **QT = quantidade total (g); P = porcentagem.

Antioxidantes*2 utilizados: BHT (butilhidroxitolueno), CIS (cisteína), GDP (galato de propila), BHA (butilhidroxianisol) e

(MBS) metabissulfito de sódio.

Para a avaliação e escolha do antioxidante ideal para os comprimidos de cetoconazol um lote piloto foi fabricado usando 200 mg do princípio ativo, baseado na formulação do medicamento de referência Cetonax®. A utilização dos excipientes butilhidroxitolueno (BHT) para a formulação C1 e metabissulfito de sódio (MBS) para a formulação C2, como antioxidantes na concentração a 0,1% p/p fundamentou-se numa formulação reconhecidamente eficiente com MBS-cetoconazol na literatura e em trabalhos realizados pelo nosso grupo (VIÇOSA, 2003). Essas duas formulações foram produzidas de forma a se verificar se existe ou não, uma dependência entre a estrutura molecular do ativo e a eficácia do antioxidante, em função do metabissulfito de sódio ser reconhecidamente eficiente como inibidor de processos oxidativos em diferentes formulações, atuando com resultados bastante efetivos em formulações consagradas de cetoconazol (tabela 03) (STAUB *et al.*, 2005).

Tabela 3: Formulação de Cetoconazol produzida para escolha do antioxidante ideal

MATÉRIA-PRIMA	QU* (mg)	P (%)	QT**(g)
Cetoconazol	200,00	42,50	255,00
Lactose	225,00	47,90	287,40
Celulose microcristalina 102	25,00	5,30	31,80
Croscarmelose sódica	15,00	3,20	19,20
Metabissulfito de sódio – MBS	0,47	0,1	0,60
Dióxido de silício	2,50	0,53	3,18
Estearato de magnésio	2,50	0,53	3,18
Total	470,00	100,00	600,00

*QU = quantidade unitária (mg); **QT = quantidade total (g); P = porcentagem

4.4–DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXCIPIENTES UTILIZADOS EM SOLUÇÃO

4.4.1- Método do sequestro de radicais livres com o reagente DPPH (2,2–difeníl-1-picril-hidrazil):

A avaliação da atividade antioxidante utilizada para o estudo foi determinada pelo método de sequestro de radicais livres DPPH, adaptado por RUFINO e colaboradores (2007). Para avaliar a capacidade antioxidante dos excipientes utilizados foram preparadas soluções estoques de álcool metílico/água a 50%, acetona /água a 70% e solução controle preparada utilizando 40 mL de solução estoque de álcool metílico e 40 mL de solução estoque de acetona e completados o seu volume com água até 100 mL. A solução padrão do radical DPPH 0,06 mM foi preparada em solução metanólica ou em água. A reação ocorre pela deslocalização do elétron e quando o reagente DPPH (coloração violeta) entra em contato com a substância antioxidante doando um átomo de hidrogênio, o radical passa à forma reduzida, perde a coloração violeta e se torna amarelo claro ou violeta claro.

As amostras dos antioxidantes BHA, BHT, CIS, GDP e MBS foram dissolvidas em água destilada ou em metanol à concentração de 1 mg/mL. A uma alíquota de 0,1 mL da amostra do antioxidante (**A**) em um tubo de ensaio foram acrescentados 3,9 mL de solução de DPPH 0,06 mM. As reações transcorreram à temperatura

ambiente e no escuro e as leituras feitas a 515 nm monitoradas a cada minuto, quando foi observada a redução da absorvância em cada amostra até alcançar a estabilização. Uma alíquota de 0,1 mL da solução controle (**C**) foi utilizada com 3,9 mL de DPPH 0,06 mM para fins comparativos. O álcool metílico e água são utilizados como branco (**B**) para a calibração do espectrofotômetro. Os valores de absorvância obtidos foram comparados entre os diferentes antioxidantes utilizados no estudo a fim de indicar o mais eficiente entre eles. Uma curva de calibração do DPPH foi construída para a avaliação da linearidade do método espectrofotométrico.

Para construção da curva de calibração de DPPH foram preparadas soluções padrão inicial de DPPH 0,06 mM em balões volumétricos de 10 mL com soluções que variaram em concentração de 10 μ M a 60 μ M, com posterior leitura no UV.

4.5 – ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

Todas as estruturas moleculares dos antioxidantes BHA, BHT, CIS, MBS e GDP foram desenhadas e submetidas a cálculos computacionais para identificar as características eletrônicas que poderiam ser utilizadas para correlacionar as estruturas e a atividade antioxidante. Todos os cálculos foram realizados utilizando-se o programa Spartan'10 (Wavefunction, Inc) e submetidos à análise conformacional em método semi-empírico RM1 para identificar a melhor conformação. Estes confôrmeros foram submetidos à otimização e suas características eletrônicas de energia E_{HOMO} , E_{LUMO} , Gap (H-L), Densidade HOMO e Densidade LUMO de maneira a verificar a capacidade de doação de elétrons.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.0 – RESULTADOS E DISCUSSÃO:

5.1-ANÁLISE DE TEOR DO COMPRIMIDO DE SINVASTATINA NO MEDICAMENTO DE REFERÊNCIA

Para a análise de teor a metodologia da USP 31 foi escolhida. O tempo de corrida para análise de sinvastatina no medicamento de referência ficou em torno de 5,5 minutos, sem interferências visíveis. Assim, conclui-se que o revestimento não influencia na análise para a determinação do teor dos comprimidos, diferentemente do que ocorre em relação à dissolução, na qual é necessário uma pré-lavagem das amostras com bióxido de manganês, antes da introdução no espectrofotômetro com a função de precipitar algum interferente durante a leitura no aparelho. Cabe ressaltar que apenas os comprimidos com núcleo não sofrem esta interferência do revestimento durante a leitura no aparelho.

A Figura 6 ilustra o cromatograma representativo da análise do medicamento de referência, ZOCOR[®] utilizado em nosso estudo como base de comparação para propor uma possível formulação genérica.

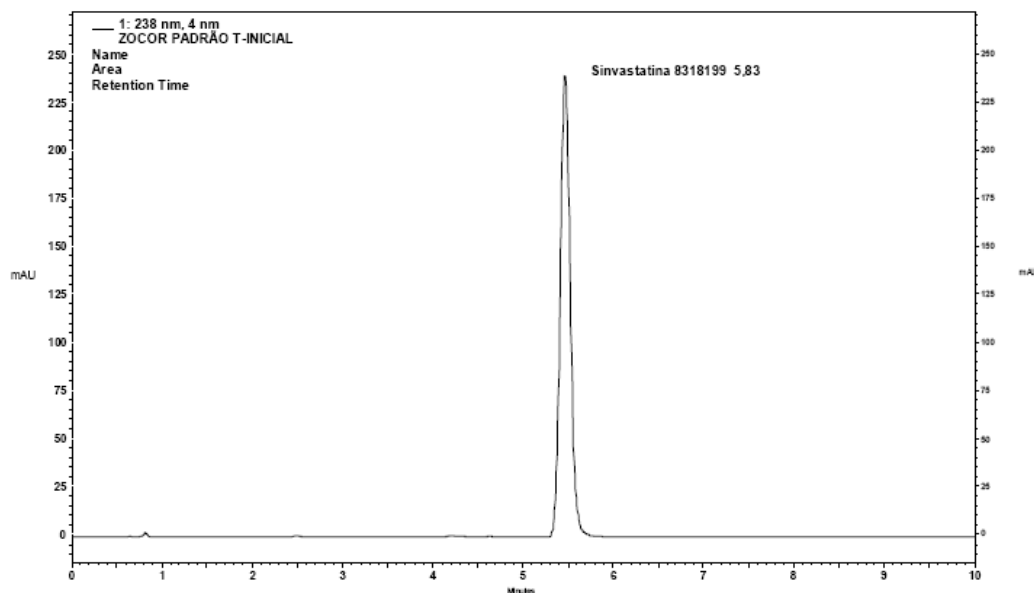


Figura 6 - Análise de teor de sinvastatina no medicamento de referência, Zocor[®]

5.2-ESCOLHA DA FORMULAÇÃO PROTÓTIPO DE SINVASTATINA

Entre os diferentes excipientes utilizados na tecnologia de sólidos orais, aqueles que visam modular a estabilidade do ativo veiculado exercem uma função primordial, visto que estas substâncias garantem a manutenção da estrutura

molecular do fármaco. Todavia, apesar da descrição desta categoria de excipientes em alguns textos técnicos, em relação às concentrações e formas de utilização deles, não se pode afirmar que haja uma indicação racional e cientificamente embasada de sua utilização tecnológica, e em especial, os antioxidantes (WATERMAN & ADAMI, 2005).

Dentre as substâncias antioxidantes mais utilizadas nas indústrias alimentícias e farmacêuticas pode-se, dessa forma, destacar o uso de agentes complexantes como o EDTA Na⁺² e antioxidantes tais como, o metabissulfito de sódio (MBS) utilizado na produção de soluções injetáveis e soluções parenterais e ainda, aqueles que capturam espécies eletronicamente ativadas como o butilhidroxitolueno (BHT) e o butilhidroxianisol (BHA).

Assim, para alguns destes excipientes encontram-se relatos na literatura da sua utilização também como antioxidantes para formulação de sólidos orais (TONNESEN, 2001) sem, contudo, se determinar efetivamente se todos se adequariam aos diferentes possíveis ativos a serem formulados (RAMALHO & JORGE, 2006). Para iniciar o estudo foi proposta uma formulação de comprimidos com a matéria-prima sinvastatina para a determinação da atividade antioxidante em fase sólida. Foram preparados 5 (cinco) lotes pilotos com os antioxidantes BHA (butilhidroxianisol), BHT(butilhidroxitolueno),CIS (cisteína),GDP (galato de propila) e MBS (metabissulfito de sódio) na mesma concentração de antioxidante da formulação do medicamento de referência Zocor® (todos na concentração a 0,9% p/p), o qual usa o antioxidante BHA (hidroxibutirato de anisol). Os comprimidos preparados não são revestidos e os antioxidantes fazem parte do núcleo dos mesmos.

Assim, para a escolha da formulação base foram produzidas duas formulações de comprimidos de sinvastatina, utilizando o antioxidante BHT (butilhidroxitolueno): formulação S1 com lactose e formulação S2 sem a presença da lactose, conforme evidenciam as tabelas 04 e 05.

Tabela 4 - Proposta para formulação S1 de comprimidos de sinvastatina

MATÉRIA-PRIMA	QU* (mg)	P (%)	QT**(g)
Sinvastatina	20,00	20,00	140,00
Lactose monohidratada aglomerada	37,40	37,40	261,80
Croscarmelose sódica	1,00	1,00	7,00
Celulose microcristalina 102	39,00	39,00	273,00
Dióxido de silício coloidal	1,00	1,00	7,00
Antioxidante – BHT	0,90	0,90	6,30
Estearato de magnésio	0,70	0,70	4,90
Total	100,00	100%	700,00

*QU = quantidade unitária (mg); QT **= quantidade total (g); P = porcentagem

Tabela 5 – Proposta para formulação S2 de comprimidos de sinvastatina

MATÉRIA-PRIMA	QU* (mg)	P (%)	QT**(g)
Sinvastatina	20,00	20,00	140,00
Croscarmelose sódica	3,00	3,00	21,00
Celulose microcristalina 102	74,60	74,60	522,20
Dióxido de silício coloidal	1,00	1,00	7,00
Antioxidante – BHT	0,90	0,90	9,00
Estearato de magnésio	0,50	0,50	5,00
Total	100,00	100%	704,20

*Q =quantidade unitária (mg); QT **= quantidade total (g); P = porcentagem

Considerando-se as duas formulações protótipos fabricadas S1 e S2 e suas propriedades farmacotécnicas derivadas em especial, as análises de teor e perfil de dissolução foram utilizadas como fatores de diferenciação e, como um método indicativo de escolha da formulação ideal. As análises dos comprimidos foram realizadas em conformidade com a (USP 31, 2008). Verificou-se, inicialmente, o índice de melhora na dissolução entre a formulação S2 em relação a S1, cujo

resultado foi obtido em torno de 6%, ($p = 0,0038$) com a retirada da lactose. Isto se deve a função do excipiente lactose ser um diluente solúvel e com propriedades redutoras (PIFFERI, 1999).

Outro fator de observação na formulação se refere à adição em maior proporção de celulose microcristalina de compressão direta PH 102, em função de ser um desintegrante mais eficiente, atuando de forma marcante no processo de desintegração da forma farmacêutica e na dissolução da sinvastatina (LÖBENBERG, 2007).

Ao mesmo tempo, se obteve como consequência da retirada da lactose, o desaparecimento da adesão aos punções observados na formulação S1, o que não seria usualmente esperado, visto que a lactose é utilizada especificamente, para processos em compressão direta (lactose α -spray dryer), cabendo-se especular sobre uma possível interação entre a lactose e a sinvastatina (PRISTA & MORGADO *et al.*, 2002).

O uso da lactose como excipiente de compressão direta pode levar em alguns casos, à incompatibilidade fármaco - excipiente, como é observado na reação de Maillard. Trata-se de uma reação que ocorre entre os aminoácidos ou proteínas e os açúcares (carboidratos) redutores, o que pode estar sendo verificado neste caso. Com isto, a formulação S2 se mostra como uma melhor alternativa de processo, sendo a mesma utilizada para o início do estudo do uso racional de antioxidantes para sólidos orais. A proporção de croscarmelose na formulação foi também aumentada de 1,0% para 3,0%, o que parece ter contribuído para a desintegração do comprimido e na liberação do princípio ativo, reforçando-se a hipótese da maior influência da desintegração do comprimido na dissolução do ativo. Desta forma, a formulação S2 foi considerada como mais adequada e desta forma, escolhida como protótipo para as demais formulações a serem estudadas, conforme pode se observar nos resultados de peso médio, dureza, friabilidade e desintegração, descritos na tabela 06 a 10.

5.3-ESCOLHA DO ANTIOXIDANTE IDEAL

Considerando que existe uma gama de informações sobre mecanismos oxidativos que podem ser encontrados na literatura química, poucos estudos detalhados têm sido desenvolvidos especificamente com fármacos.

A ausência de dados mesmo que farmacologicamente relevantes, somados a desinformação e à utilização largamente empírica dos antioxidantes nas formulações, conduz a uma capacidade preditiva de reações de oxidação de fármacos muito pequena (HOVORKA & SCHÖNEICH, 2000).

Para a construção do estudo de racionalização do uso desta categoria de excipientes, escolheu-se como fármaco modelo, a sinvastatina, tendo em vista o seu reconhecido processo de oxidação. Foi também avaliada a eficiência do metabissulfito de sódio (MBS) frente à oxidação do cetoconazol comparado ao BHT (butilhidroxitolueno) fornecendo desta forma, indicações da influência da molécula do ativo frente à escolha do antioxidante ideal. Foram realizadas análises de teor de todas as formulações preparadas como método indicativo de estabilidade.

Para o controle de processo dessas formulações, testes de caracterização dos comprimidos foram realizados a fim de verificar a adequação das propriedades farmacotécnicas de cada uma delas durante o período de estudo. Os resultados obtidos para a formulação S2 se encontram listados na tabela 06, sendo estes derivados dos estudos de estabilidade acelerada.

Tabela 6-Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina referentes à formulação com BHT a 0,9% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO (T0; T1; T2) MESES	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	100,20	100,20	100,20
Teor (%)	98,20	89,34	88,20
Dissolução (%)	86,20	82,00	77,40
Desintegração (seg)	30	30	33
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	6,50	5,00	5,00

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = 3º Mês; ***T2 = 6º Mês

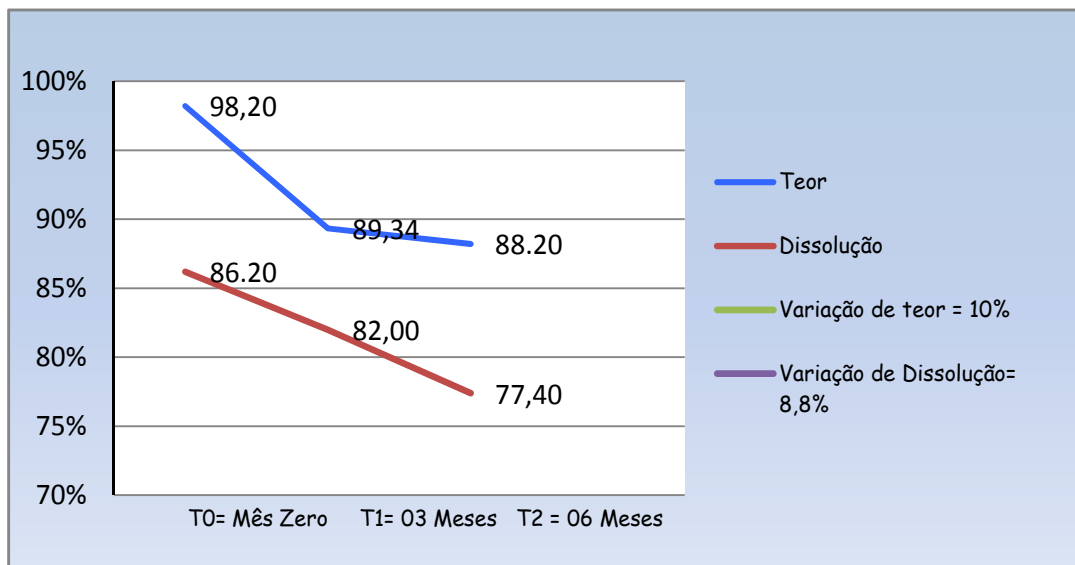


Gráfico 01- Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com BHT a 0,9% p/p. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0=mês zero) e dissolução final (no tempo T2 =06 meses).

Observa-se, no gráfico 01 que o antioxidante BHT(butilhidroxitolueno) durante o período de estudo de estabilidade acelerada apresentou valor de decaimento de teor (variação de teor) de 10% e variação de dissolução no valor 8,8%. Nessa análise foi observado pelos resultados deste estudo durante o período de seis meses, que a variação do teor acompanha a variação de dissolução e que o comprimido poderia ser considerado estável. Ao mesmo tempo foram preparadas formulações, tomando novamente por base a formulação S2, nas quais se substituiu o BHT a 0,9% p/p pelos antioxidantes selecionados para o estudo, na mesma concentração. Os resultados dos testes de caracterização dos comprimidos e dos estudos de estabilidade acelerada obtidos estão descritos nas tabelas de 07 a 10 e nos gráficos de 02 a 05, respectivamente.

Tabela 7-Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina referentes à formulação com Cisteína a 0,9% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO (T0; T1; T2) MESES	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	102,30	101,20	101,50
Teor (%)	95,20	86,75	63,50
Dissolução (%)	83,20	79,80	54,80
Desintegração (seg)	30	30	30
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	6,30	5,90	6,63

* T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise Mês 3; ***T2 = Tempo de análise 6º Mês

A análise do estudo de estabilidade acelerada com o antioxidante cisteína a 0,9% mostrou um valor de decaimento de teor de 31,7% e variação de dissolução de 28,4% durante o mesmo período de estudo de 06 meses. Apresentou, portanto uma grande perda no conteúdo deste fármaco (gráfico 02), com reprovação do comprimido.

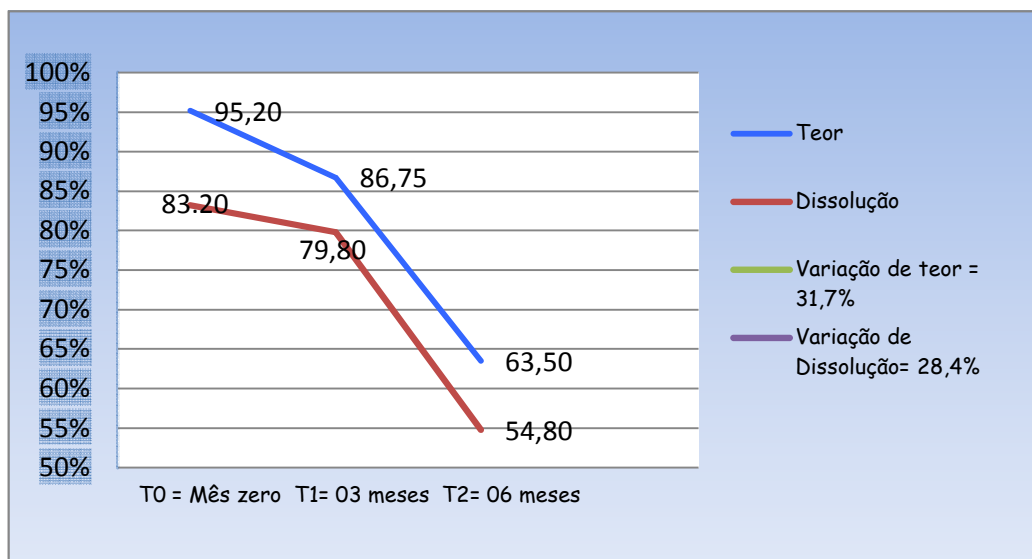


Gráfico 02 - Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com CIS a 0,9%. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0 =mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0=mês zero) e dissolução final (no tempo T2 =06 meses).

Tabela 8-Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina referentes à formulação com Galato de Propila a 0,9% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO (T0; T1; T2) MESES	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	101,70	100,00	101,80
Teor (%)	92,20	88,58	80,60
Dissolução (%)	82,50	77,50	72,44
Desintegração (seg)	30	31	30
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	6,00	6,00	7,00

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise Mês 3; ***T2 = Tempo de análise Mês 6.

OBS: Os comprimidos apresentaram no tempo final, em sua parte externa sinais de escurecimento

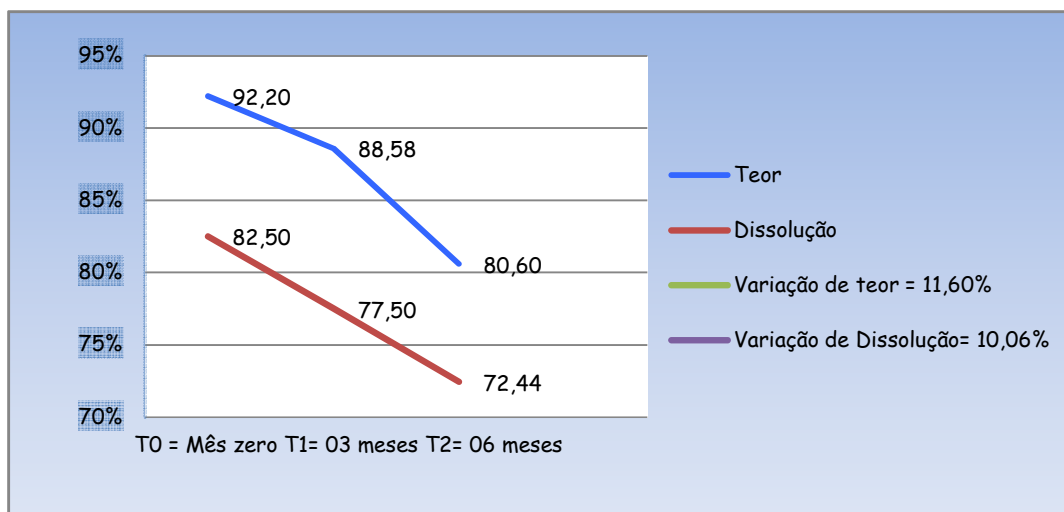


Gráfico 03 - Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com GDP a 0,9%. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0=mês zero) e dissolução final (no tempo T2 =06 meses).

A análise do estudo de estabilidade acelerada para o antioxidante galato de propila a 0,9% evidencia os valores de decaimento de teor e dissolução, alcançados até o final do estudo no valor de 11,60% para a variação de teor e variação de dissolução de 10,06%, como observados no gráfico 03, acima. Novamente, tais valores tornam esta formulação inadequada em termos de estabilidade.

Tabela 9-Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina referentes à formulação com Metabissulfito de Sódio a 0,9 % p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO (T0; T1; T2) MESES	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	101,00	100,30	100,80
Teor (%)	93,52	81,35	71,82
Dissolução (%)	84,40	72,30	68,30
Desintegração (seg)	30	28	30
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	9,50	8,80	8,31

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise Mês 3; ***T2 = Tempo de análise Mês 6

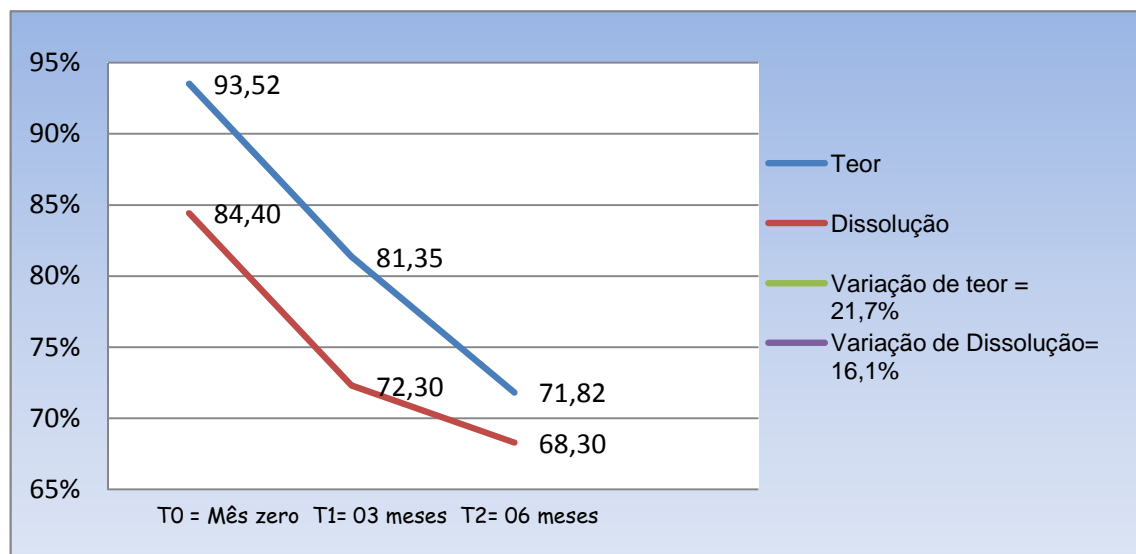


Gráfico 04 - Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com MBS a 0,9% p/p. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 = 06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0=mês zero) e dissolução final no (tempo T2= 06 meses).

O excipiente antioxidante metabissulfito de sódio (gráfico 04) também não manteve o conteúdo do fármaco para a sinvastatina, durante o estudo de estabilidade acelerada e apresentou uma variação de teor de 21,7% e variação de dissolução de 16,1% durante o período total de estudo, o que contraria sua eficiência previamente descrita em literatura (LAVOIE *et al.*, 1994).

Tabela 10-Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina referentes à formulação com BHA a 0,9 % p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO (T0; T1; T2) MESES	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	102,00	101,50	101,00
Teor (%)	94,30	89,20	83,15
Dissolução (%)	82,60	75,30	70,00
Desintegração (seg)	30	30	30
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	8,50	8,80	8,20

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise Mês 3; ***T2 = Tempo de análise Mês 6.

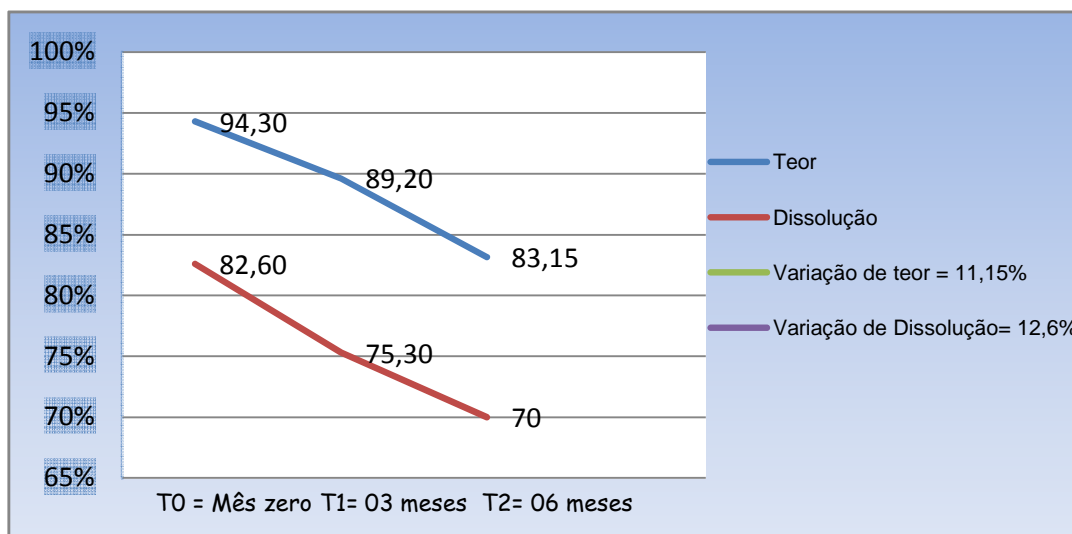


Gráfico 05 - Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com BHA a 0,9% p/p. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0=mês zero) e dissolução final (no tempo T2= 06 meses).

O estudo de estabilidade realizado com antioxidante BHA mostrou resultados em termos de teor e dissolução inferiores ao antioxidante BHT para manutenção do fármaco sinvastatina (tabela 10 e gráfico 05). Uma compilação de todos os resultados destes estudos evidenciada na tabela 11:

Tabela 11 – Estudos de estabilidade acelerada dos comprimidos de sinvastatina

Antioxidantes	Teor/dissolução T0=Mês zero	Teor/dissolução T1=03 meses	Teor/dissolução T2=06 meses	Variação de teor	Variação de dissolução
BHT	98,20%/86,20%	89,34%/82,00%	88,20%/77,40%	10,0%	8,80 %
BHA	94,30%/82,60%	89,20%/75,30%	83,15%/70,00%	11,15%	12,60%
CIS	95,20%/83,20%	86,75%/79,80%	63,50%/54,80%	31,70%	28,40%
GDP	92,20%/82,50%	88,58%/77,50%	80,60%/72,44%	11,60%	10,06%
MBS	93,52%/84,40%	81,35%/72,30%	71,82%/68,30%	21,70%	16,10%

Avaliando-se os resultados das análises de teor e dissolução, bem como, as demais propriedades farmacotécnicas dos comprimidos preparados com os diferentes antioxidantes, pôde ser observado pelo estudo de estabilidade acelerada (tabela 11) que o antioxidante butilhidroxitolueno (BHT) foi o antioxidante mais eficiente na manutenção do teor do fármaco sinvastatina, sendo eleito como o excipiente mais efetivo para a inibição da degradação dos comprimidos deste fármaco. Os valores das análises de teor e dissolução iniciais dos comprimidos com o excipiente BHT foram de 98,20% e de 86,20%, respectivamente, e estão em conformidade com os dados preconizados pela USP 31 para os comprimidos de sinvastatina.

Após 06 meses de estudo de estabilidade, o butilhidroxitolueno (BHT) teve o seu valor de teor reduzido para 88,20% e o valor de dissolução reduzido para 77,40%, estando ainda dentro dos limites de aprovação para comprimidos de sinvastatina (USP 31, 2008). Todos os demais antioxidantes mostraram resultados inferiores em termos de comparação ao BHT, observando-se, em alguns casos, a reprovação considerando os parâmetros farmacopeicos para os comprimidos preparados. Os antioxidantes estudados foram inseridos na formulação para manutenção da estabilidade e escolha do antioxidante ideal.

A cisteína (CIS) e o metabissulfito de sódio (MBS) foram os antioxidantes menos eficientes em fase sólida. A maior eficiência do butilhidroxitolueno (BHT) na manutenção do conteúdo da sinvastatina na formulação dos comprimidos, frente ao butilhidroxianisol (BHA), galato de propila (GDP) e cisteína (CIS) poderia ser esperada uma vez que, em diferentes relatos, o BHT demonstra elevada capacidade de retardar a degradação de ativos de estruturas moleculares variadas (ZHANG, 1999; SILVA *et al.*, 2008).

Todavia, a utilização de metabissulfito de sódio bem sucedida em diferentes situações (WATERMAN & ADAMI, 2005) não levou a resultados satisfatórios, considerando-se um teor inicial de 93,52% e 84,40% de dissolução inicial, reduzido para 71,82% e 68,30% de dissolução, o que reprovava o lote, evidenciando a ineficiência desse excipiente antioxidante para comprimidos de sinvastatina (gráfico 06).

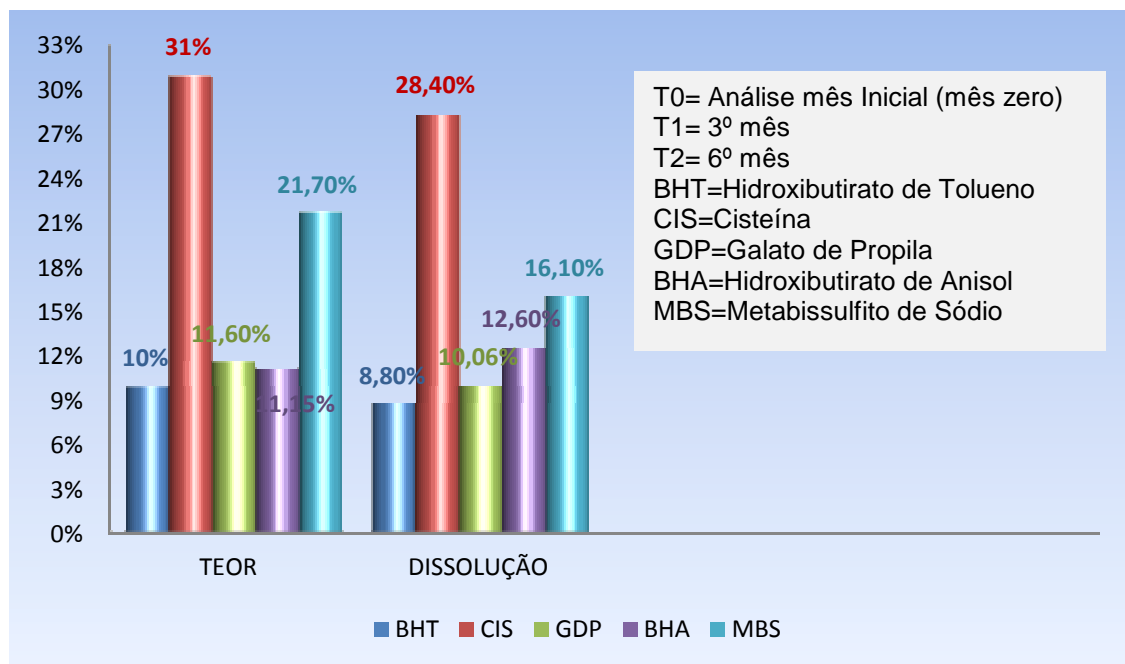


Gráfico 6 - Variação de teor e dissolução. Os dados acima foram obtidos no estudo de estabilidade acelerada nos tempos T0, T2 e T3 (tabela 12), durante 06 meses e indicam a possível ordem de eficiência entre os antioxidantes estudados, onde o BHT foi o mais eficiente, apresentando uma variação de teor e dissolução não maior que 10%.

De acordo com os resultados obtidos nos estudos de estabilidade acelerada dessas formulações, o BHT foi o excipiente antioxidante mais eficiente em relação à manutenção da estabilidade da sinvastatina, que teve uma variação média de conteúdo de 10% entre o início e o fim do estudo.

A escolha do antioxidante BHT a 0,9%, como o mais eficiente na manutenção do teor do fármaco sinvastatina nas formulações protótipos fez com que fossem realizados estudos para se encontrar a quantidade ideal do antioxidante a ser usada. Para o estudo do uso racional do antioxidante BHT foram preparados novos lotes pilotos em três diferentes concentrações, a saber: a 0,5, 0,1 e 0,05% p/p, respectivamente.

Neste teste, a concentração de BHT mais eficaz foi de 0,5% (**tabela 12 e gráfico 07**). Pela análise dos resultados, observou-se que os valores extremos de 0,05% (**tabela 14 e gráfico 09**) e 0,9% p/p (**tabela 06 e gráfico 01**) tinham sido menos eficazes na manutenção do conteúdo do fármaco sinvastatina e no perfil de dissolução, considerando os componentes da formulação e os parâmetros farmacotécnicos, conforme os dados mostrados na **tabela 11**.

Todos os resultados foram estatisticamente diferentes pelo conteúdo de sinvastatina ($p=0,0032$) e em termos de dissolução ($p=0,0023$). Isso demonstra o empirismo relacionado à escolha do tipo de antioxidante e sua concentração para diferentes tipos de formulações farmacêuticas.

A formulação de BHT de concentração 0,1% p/p (**tabela 13 e gráfico 08**) se mostrou mais eficiente na manutenção da estabilidade dos comprimidos de sinvastatina e estatisticamente ($p=0,0789$) similar à concentração de BHT a 0,5% p/p e, ambas mais eficientes que a formulação 0,05% p/p (a variação de teor se aproxima a 5,35%).

Conclui-se que, a formulação de BHT a 0,1% p/p é suficiente e mais adequada para os comprimidos de sinvastatina, uma vez que o teor final se aproxima a 90,0%, limite mínimo farmacopeico (T3 (6 meses) = 89,25%), como pode observar pelos resultados obtidos nos estudos de estabilidade na **tabela 13 e gráfico 08**.

Considerando-se, que os núcleos dos comprimidos de sinvastatina quando revestidos terão um incremento de estabilidade, seguramente os mesmos apresentariam um teor dentro dos limites estabelecidos quando na sua apresentação final (**tabelas 12 a 14 e gráficos 07 a 09**).

Tabela 12 – Dados dos testes de caracterização da formulação dos comprimidos de sinvastatina 20 mg com 0,5% p/p de BHT

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	101,30	100,80	101,60
Teor (%)	93,50	90,89	88,15
Dissolução (%)	87,40	83,00	79,20
Desintegração (seg)	31	30	32
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	7,00	6,20	7,30

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise Mês 3; ***T2 = Tempo de análise Mês 6

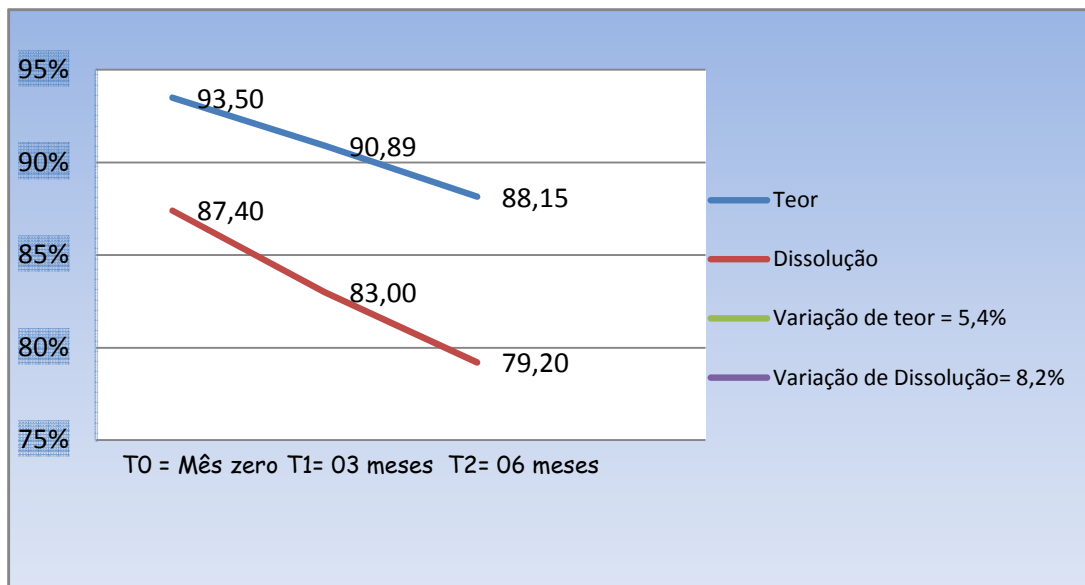


Gráfico 07- Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com BHT a 0,5% p/p. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0 = mês zero) e dissolução final (no tempo T2 =06 meses).

Tabela 13 – Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg com BHT a 0,1% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACCELERADO	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	101,80	101,30	100,60
Teor (%)	94,60	91,25	89,25
Dissolução (%)	85,20	82,00	77,40
Desintegração (seg)	31	30	32
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (Kgf)	6,50	5,00	5,00

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise mês 3; ***T2 = Tempo de análise mês 6.

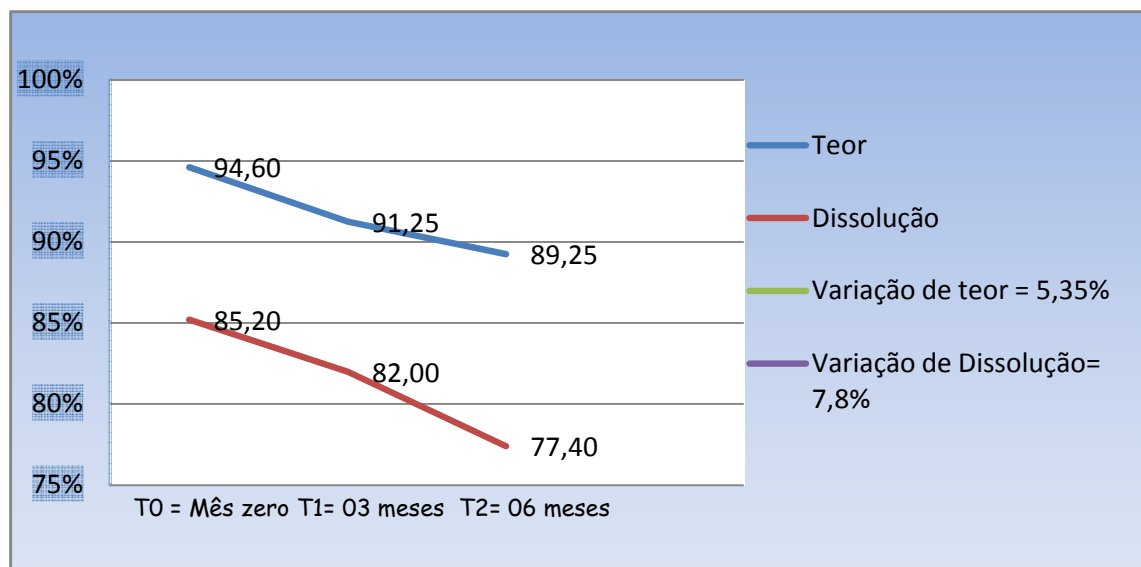


Gráfico 08 – Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com BHT a 0,1% p/p. Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0 = mês zero) e teor final (no tempo T2 = 06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0 = mês zero) e dissolução final (no tempo T2 = 06 meses).

Pelos resultados obtidos na tabela 13, pode-se apontar após estes estudos, um uso excessivo de BHA na formulação do medicamento de referência Zocor® (sobrecarga de antioxidante), considerando-se que seja possível utilizar a concentração de 0,1% p/p do excipiente com igual eficiência, o que confirma os limites propostos do BHT na literatura para seu emprego em formulações de diferentes medicamentos (LECLERCQ *et al.*, 2000).

Tabela 14 – Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de sinvastatina 20 mg comprimidos BHT 0,05% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	101,90	100,80	101,50
Teor (%)	95,90	92,85	85,62
Dissolução (%)	85,40	81,00	78,73
Desintegração (seg)	29	30	33
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (kgf)	7,30	6,80	7,10

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise mês 3; ***T2 = Tempo de análise mês 6

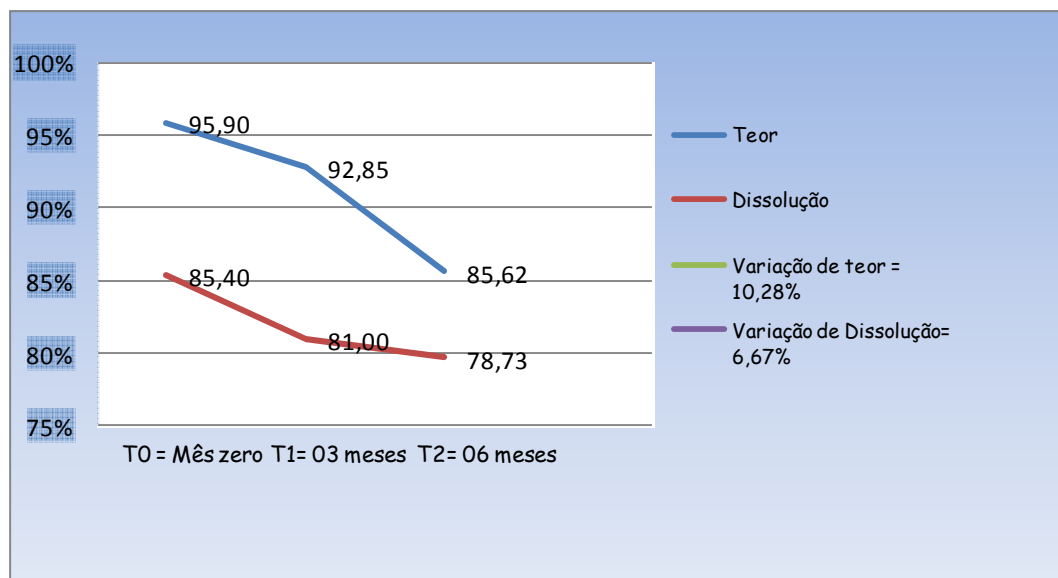


Gráfico 09 – Avaliação do teor e dissolução da formulação de sinvastatina 20 mg com 0,05% p/p de Butil Hidroxi Tolueno (BHT). Linha na cor em amarelo representa a variação entre o teor inicial (no tempo T0=mês zero) e teor final (no tempo T2 =06 meses). Linha na cor lilás representa a variação nos valores de dissolução inicial (no tempo T0= mês zero) e dissolução final (no tempo T2 = 06 meses).

Analisando os resultados da **tabela 14** e o **gráfico 09**, conclui-se que, a concentração de BHT não foi diretamente proporcional à sua eficácia na faixa de 0,05% a 0,9% p/p, evidenciando que concentrações intermediárias são mais eficazes na estabilização dos comprimidos de sinvastatina.

O metabissulfito de sódio foi previamente utilizado para produção dos comprimidos com o fármaco Cetoconazol (VIÇOSA *et al.*, 2009), na concentração de 0,1% p/p, a mesma concentração racionalizada nos testes com o fármaco sinvastatina, anteriormente. A fim de elucidar a influência da estrutura química do fármaco na eficácia do antioxidante foram realizados estudos de estabilidade com diferentes formulações de comprimidos de cetoconazol contendo tanto MBS quanto BHT a 0,1% p/p.

A avaliação do efeito da estrutura do fármaco foi realizada com formulações preparadas contendo 0,1% p/p de MBS e 0,1% p/p de BHT, empregando-se como ativo 200 mg de cetoconazol baseada na concentração de antioxidante no medicamento de referência Cetonax® (**tabelas 15, 16, 17 e 18**). Uma marcante redução de teor e de percentual dissolvido foi observada no estudo de estabilidade acelerada para os comprimidos contendo 0,1% de BHT, para o qual é o antioxidante ideal para a sinvastatina.

Observou-se que, para o cetoconazol o estudo de estabilidade com BHT apresentou marcante perda de 28,4% de teor e decaimento de 5,1% na dissolução após 06 meses de estudo (**tabela 18**). Com o metabissulfito de sódio (MBS) a variação de teor de 2,0% e variação de dissolução de 2,4% apontam para a influência da estrutura molecular do ativo na manutenção do conteúdo de cetoconazol.

Tabela 15- Fórmula usual de comprimidos de Cetoconazol 200 mg a 0,1% p/p de MBS

MATÉRIA-PRIMA	Q U* (mg)	P (%)	QT**(g)
Cetoconazol	200,00	42,50	255,00
Lactose	225,00	47,90	287,40
Celulose Microcristalina 102	25,00	5,30	31,80
Croscarmelose Sódica	15,00	3,20	19,20
Metabissulfito de Sódio – MBS ou BHT	0,47	0,10	0,60
Dióxido de Silício	2,50	0,53	3,18
Estearato de magnésio Total	2,50	0,53	3,18
Total	470,00	100,00	600,00

*QU = quantidade unitária (mg); **QT = quantidade total (g); P = porcentagem.

A avaliação da eficiência do metabissulfito de sódio (MBS) frente à reação de oxidação do cetoconazol indica que há uma forte relação entre a estrutura da molécula do ativo e a eficiência do antioxidante (**tabela 18**). Nota-se que para o cetoconazol o BHT não é eficiente em termos de proteção como o é para a sinvastatina. O mecanismo de ação do antioxidante BHT ocorre pela via de reação radicalar, enquanto que o metabissulfito de sódio (MBS) atua pela via do sequestro de oxigênio. Conclui-se que, deve se avaliar o tipo e a concentração do excipiente antioxidante, devendo ser determinado caso a caso, observando a correlação entre eles e a estrutura química do ativo.

Tabela 16 – Dados dos testes de caracterização dos comprimidos de Cetoconazol 200 mg com MBS a 0,1% p/p

ESTUDO DE ESTABILIDADE ACELERADO	T0*	T1**	T2***
Peso Médio (mg)	470,50	471,00	470,15
Teor (%)	99,70	98,50	97,70
Dissolução (%)	88,30	86,40	85,90
Desintegração (seg)	26	25	26
Friabilidade (%)	0,10	0,10	0,10
Dureza (Kgf)	7,00	6,40	7,20

*T0 = Tempo Inicial; **T1 = Tempo de análise mês 3 ; ***T2 = Tempo de análise mês 6

Tabela 17 – Formulações de Comprimidos de Cetoconazol C1 (BHT) e C2 (MBS)

MATÉRIA-PRIMA/EXCIPIENTES	BHT			MBS		
	UQ	P (%)	TQ	UQ	P (%)	TQ
Cetoconazol	200,0	42,5	255,0	200,0	42,5	255,0
Lactose Monohidratada spray dried	225,0	47,9	287,4	225,0	47,9	287,4
Croscarmelose Sódica	15,0	3,2	19,2	15,0	3,2	19,20
Cellulose Microcristalina pH 10.2	25,0	5,3	31,8	25,0	5,3	31,8
Dióxido de Silício Coloidal	2,50	0,53	3,18	2,5	0,53	3,18
Antioxidante*	0,47	0,1	0,6	0,47	0,1	0,6
Estearato de Magnésio	2,5	0,53	3,18	2,5	0,53	3,18
Total	470,0	100,0	600,0	470,0	100,0	600,0

QU (mg) = quantidade unitária;

P (%) = percentagem;

TQ (g) = quantidade total

*Antioxidantes: BHT e MBS

Os valores de dissolução durante 06 meses sofreram pequenas mudanças, para ambas as formulações, sustentados acima dos 80% exigidos pela USP31.

Tabela 18 – Estudos de Estabilidade dos Comprimidos de Cetoconazol contendo BHT (C1) e MBS (C2) para 0; 3 e 6 meses.

Excipientes	Estudos de Estabilidade	T0	T1	T2
BHT 0,1%	Teor (%) \pm d.p	98,1 \pm 0,3	83,6 \pm 0,3	69,7 \pm 1,5
	Dissolução (%) \pm d.p.	89,0 \pm 3,2	83,53 \pm 3,7	83,9 \pm 4,6
MBS 0,1%	Teor (%) \pm d.p	99,7 \pm 0,5	98,5 \pm 1,2	97,7 \pm 1,9
	Dissolução (%) \pm d.p.	88,3 \pm 4,5	86,4 \pm 3,7	85,9 \pm 3,5

Hidroxitolueno Butilado (BHT) and Metabissulfito de Sódio (MBS).

d.p. = desvio-padrão

5.4–AVALIAÇÃO DA CAPACIDADE ANTIOXIDANTE EM SOLUÇÃO

O termo oxidação pode ser definido como a incorporação de oxigênio na estrutura de um fármaco qualquer. Mais precisamente, como a conversão de uma substância química em outro derivado de menor número de elétrons. Muitos métodos baseados em atividades antioxidantes para determinação da eficiência destes excipientes têm sido publicados (RICE- EVANS, 1996; CAO, 1997; SANCHEZ-MORENO, 1998; FRANKEL, 2000). Métodos de revisão mostram que alguns resultados foram capazes de prever a atividade antioxidante, em especial nos termos de captura de elétrons de diferentes substâncias.

Assim, o estabelecimento de uma correlação entre um destes testes e a concomitante aplicação destes excipientes em formulações sólidas orais e, posteriormente a utilização dos parâmetros de estudos de estabilidade para sua avaliação, seria uma valiosa ferramenta para predição da eficiência da classe dos antioxidantes. Uma das maiores vantagens do método DPPH reside no fato de que este é um teste consagrado e largamente utilizado, tanto pela sua simplicidade e rapidez quanto pela sua reprodutibilidade (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995; RÖSCH, 2003).

O uso deste método é válido, desde que, o sequestro de radicais livres é o mecanismo geralmente aceito pelos antioxidantes para inibir a oxidação dos fármacos (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995). Vários estudos propõem uma correlação

entre a estrutura de antioxidantes e sua atividade. Estes estudos se restringem à compostos fenólicos, com relação aos quais se pode afirmar que o número de grupamentos hidroxila, sua posição na molécula e o potencial redox são fatores que influenciam na atividade antioxidante (RÖSCH *et al.*, 2003). Logo, avaliar diferentes antioxidantes com diferentes estruturas químicas nas reações em solução ou em fase sólida e ainda, por simulação computacional, poderia racionalizar o uso de antioxidantes, tanto na tecnologia de fabricação de formulações farmacêuticas como na manutenção da qualidade de alimento.

Desta forma, o estudo foi iniciado com a avaliação da atividade dos excipientes escolhidos (BHA, BHT, MBS, PG e CIS) pelo método adaptado de DPPH (RUFINO *et al.*, 2007). O antioxidante mais efetivo inibiria mais acentuadamente o decaimento da absorbância referente ao consumo de DPPH (número de moles de antioxidante /número de moles de DPPH).

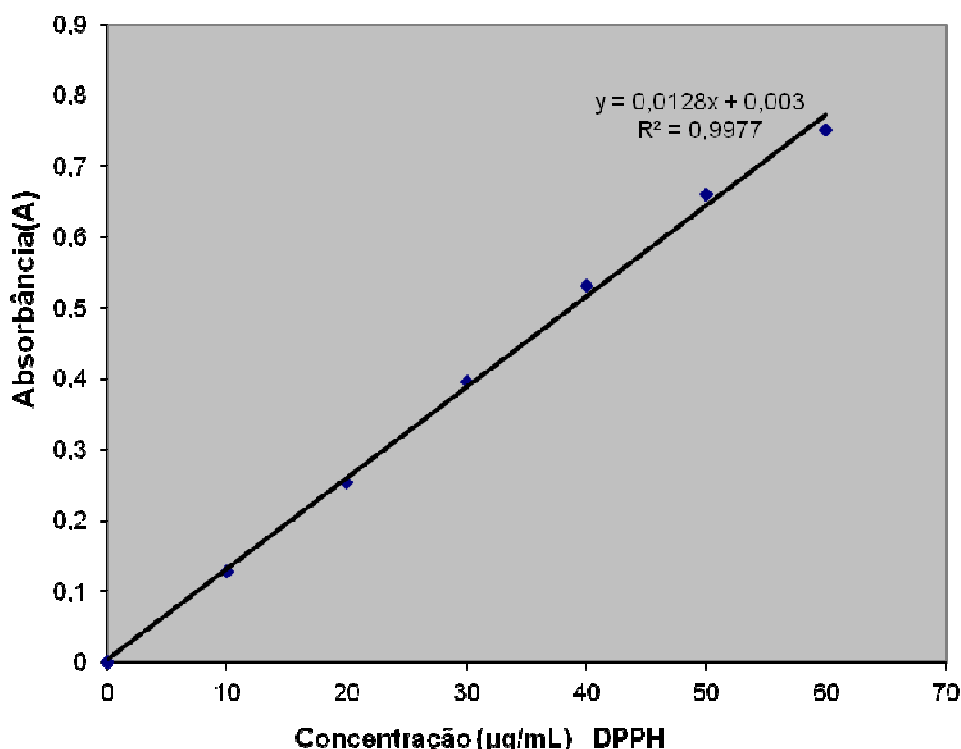


Figura 7- Curva de Calibração do reagente DPPH

A reta de calibração de DPPH obtida mostrou-se linear com coeficiente de correlação de 0,9977 e a seguinte equação: $y = 0,0128x + 0,003$ foi derivada da mesma (Figura 7).

Pela análise da tabela 19 abaixo pôde se observar que o maior percentual de

redução da absorbância alcançado para o galato de propila, que apresentou o valor de 98,95%, enquanto que o metabissulfito de sódio (MBS) se mostrou como o mais eficiente, com apenas 6,47% de percentual redução de absorbância e com menor consumo de DPPH. A mesma tendência de menor eficiência se observou para todos os demais antioxidantes lipofílicos, como o BHT e o BHA, o que indica uma estreita relação entre o efeito de solvatação e a eficácia do excipiente, indicando que a maior polarizabilidade da molécula, leva a uma maior estabilização eletrônica e efeitos de solvatação durante seu estado de transição quando em reação, levando a uma maior eficácia em solução, o que não necessariamente se reproduz em fase sólida. As análises espectrofotométricas foram realizadas em triplicata* ($n=3$).

Ao mesmo tempo, efeitos de ligações de hidrogênio entre o metanol ou outro solvente polar prótico e os antioxidantes fenólicos também podem levar à redução de sua atividade (BARCLAY *et al.*, 1990).

Nesta avaliação inicial, a cisteína e o metabissulfito seriam eleitos como antioxidantes mais efetivos.

Tabela 19: Avaliação comparativa da atividade antioxidante dos excipientes utilizados frente ao DPPH.

Antioxidantes	Abs Inicial	Abs Final	Abs Controle	% Relativo de redução da Abs	Excipiente/ solvente	Tempo para estabilização (min)
Cisteína	0,642	0,275	0,701	57,16	metanol	120
Galato de propila	0,383	0,004	0,702	98,95	metanol	2
Metabissulfito de sódio (água)	0,603	0,564	0,701	6,47	água	60
Hidroxibutirato de Anisol (BHA)	0,570	0,119	0,701	79,12	metanol	60
Hidroxibutirato de Tolueno (BHT)	0,606	0,139	0,701	77,06	metanol	160

* $n=3$

5.5 – ESTUDOS DE MODELAGEM MOLECULAR

Todos os compostos antioxidantes BHA (butilhidroxianisol), BHT (butilhidroxitolueno), CIS (cisteína), MBS (metabissulfito de sódio) e GDP (galato de propila) foram desenhados e submetidos a cálculos para identificar as características eletrônicas que possam correlacionar estrutura e atividade antioxidante.

A conformação de energia mínima de cada excipiente foi selecionada e usada para predição da atividade antioxidante (Figura 8 e tabela 20). Os cálculos foram realizados utilizando o programa Spartan'10 e submetidos à análise conformacional em método semi-empírico RM1 (ROCHA *et al.*,2006). Esses confôrmeros foram submetidos à otimização de geometria e cálculos das características eletrônicas E_{HOMO} , E_{LUMO} , Gap (H-L), densidade HOMO e densidade LUMO, a fim de verificar a capacidade de doar elétrons.

Pôde se observar nesta análise computacional que foram obtidos valores mais altos de (E_{HOMO}) para os antioxidantes MBS, BHA e BHT, nesta ordem, o que somado aos resultados dos nossos estudos em solução de DPPH e em fase sólida aponta de forma bem adequada à utilidade da aplicação desta ferramenta na predição da atividade antioxidante de excipientes farmacêuticos diversos. A conformação de menor energia de cada excipiente foi selecionada e utilizada para analisar a capacidade preditiva da atividade antioxidante.

No estudo de modelagem molecular foi avaliada a capacidade de doação de elétrons e a participação em reações radicalares no orbital de nível de energia mais alto no orbital molecular ocupado de (E_{HOMO}).

Foi constatado através deste estudo que a atividade antioxidante encontra-se diretamente relacionada às propriedades eletrônicas das substâncias antioxidantes, as quais são representadas nos estudos de modelagem molecular por meio de cálculos de parâmetros como:

E_{HOMO} → energia do orbital molecular ocupado de maior energia (HOMO- *Highest Occupied Molecular Orbital*). Parâmetro representativo da capacidade de doar elétrons.

E_{LUMO} → energia do orbital molecular desocupado de menor energia (LUMO- *Lowest Unoccupied Molecular Orbital*). Parâmetro relacionado à capacidade de receber elétrons de uma molécula.

(H-L) Gap → parâmetro que representa a **reatividade** do composto. Quanto mais reativo, menor o intervalo Gap. O parâmetro Gap é obtido pela diferença de energia entre os orbitais HOMO e LUMO.

Nesse estudo, observamos que o metabissulfito de sódio foi confirmado como o antioxidante mais efetivo, pois apresenta maior habilidade para doar elétrons com valor de energia de HOMO (-3,39). A energia de HOMO é o nível de energia mínima em que a molécula se encontra no orbital HOMO ocupado, onde é menos suscetível às variações estruturais. Neste estudo, a ordem dos resultados obtidos pelos antioxidantes é seguida pelos valores de energia mínima do BHA (-5,12), BHT (-5,73), GDP (-5,88) e CIS (-6,31), respectivamente.

As energias de HOMO e LUMO têm sido usadas como índice de reatividade química, a qual é comumente relacionada a outros índices como afinidade eletrônica e potencial de ionização. Propriedades moleculares relacionadas à polarizabilidade são muito importantes em estudos de estrutura-relatividade. Assim, os valores de GAP estão de acordo com os resultados obtidos no ensaio de DPPH, demonstrando que a atividade antioxidante está correlacionada com os estudos de modelagem molecular. Sendo assim, **quanto menor o GAP maior a reatividade** da molécula e mais fácil a sua participação em uma reação radicalar.

De acordo com estes estudos, os compostos antioxidantes BHA, BHT, CIS GDP e MBS foram submetidos à otimização geométrica utilizando o método semi-empírico AM1(Austin Model1) e submetidos à análise conformacional e o confômero de energia mínima foi selecionado e utilizado para prosseguir nos cálculos de parâmetros físico-químicos.

A tabela 20 evidencia os resultados com a matriz de correlação das propriedades teóricas:

Tabela 20- Propriedades teóricas dos antioxidantes testados

Antioxidantes	E_{HOMO}^1	E_{LUMO}^2	GAP (H-L) ³
BHT (Hidroxibutirato de Tolueno)	-5.73	0.26	-5.99
BHA (Hidroxibutirato de Anisol)	-5.12	0.18	-5.30
CIS (Cisteína)	-6.31	-0.18	-6.13
GDP (Galato de Propila)	-5.88	-0.89	-4.99
MBS (Metabissulfito de sódio)	-3.39	0.13	-3.44

1: Energia de Homo; 2: Energia de Lumo; 3: Gap: diferença entre orbitais HOMO e LUMO.

Observando o mapa de potencial eletrostático e a representação gráfica dos confôrmeros:

A representação 3D da superfície de potencial eletrostático (Figura 8) mostrou a distribuição de elétrons nas superfícies das moléculas dos antioxidantes BHA, BHT, CIS E GDP e os seus respectivos orbitais moleculares envolvidos. O mapa de potencial eletrostático caracteriza a região das moléculas onde estão concentradas as cargas positivas e negativas da molécula. As cargas negativas aparecem nas cores em vermelho e as positivas em azul. As cores laranja, amarelo e verde representam valores intermediários de potencial. Para os antioxidantes BHA, BHT, CIS e GDP, as regiões das moléculas que apresentam maior densidade eletrônica (maior probabilidade para doação de elétrons) estão em vermelho. A figura 8 mostra as estruturas (confôrmeros) resultantes dos cálculos das energias mínimas de HOMO e LUMO de cada antioxidante estudado (análises conformacionais).

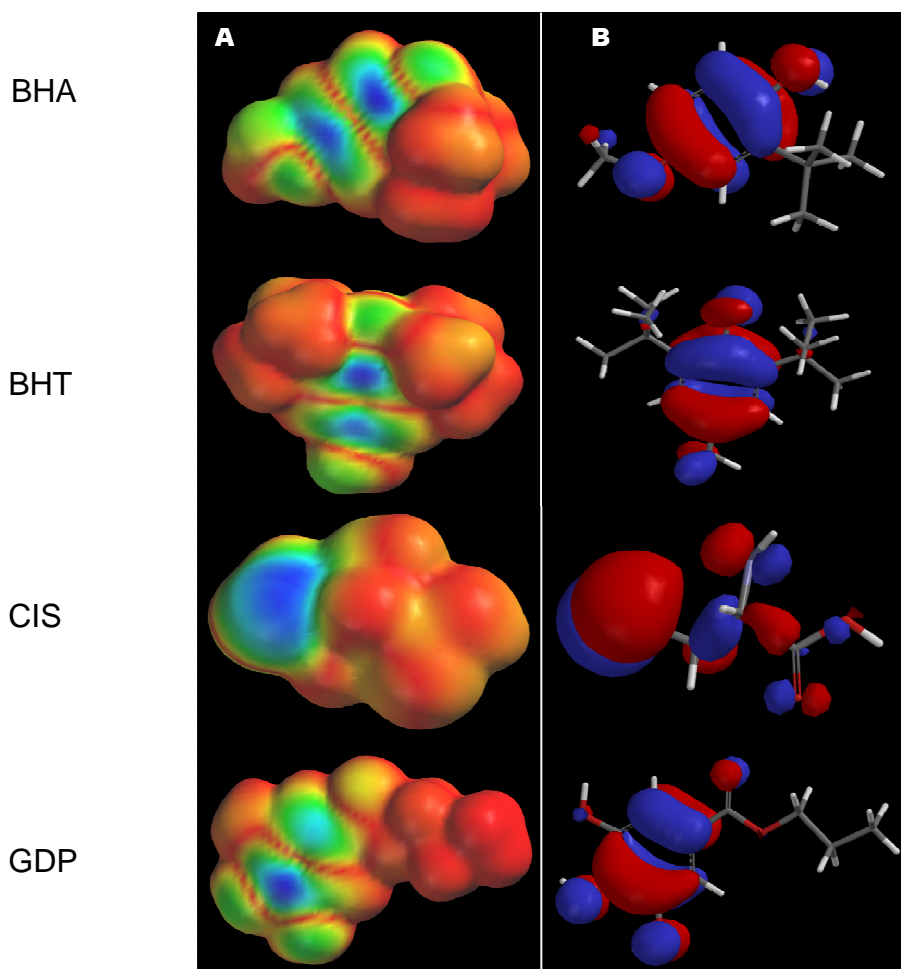


Figura 8 - Representação 3D para os antioxidantes BHA, BHT, CIS e GDP, respectivamente: (A) densidade HOMO, codificada em uma superfície de van der Waals; e coeficiente de densidade absoluta do orbital HOMO (B) mapeado do mais profundo vermelho ao mais profundo azul. Observa-se no mapa de potencial eletrostático que os antioxidantes BHA, BHT, GDP e CIS respectivamente, apresentam valores maiores de E_{HOMO} , nesta ordem evidenciando a habilidade de cada molécula para a doação de elétron demonstrada pela conformação de energia mínima calculada por modelagem molecular.

5.6– PERSPECTIVAS

Considerando-se a formulação S2 com o fármaco sinvastatina a formulação protótipo ideal e, a variação da concentração de antioxidante BHT de 0,9% para 0,1% p/p, como ideal para o estudo de desenvolvimento de um novo medicamento genérico de sinvastatina, cabe sugerir um sistema de revestimento para essa nova formulação. Fundamentando-se nas composições usuais para revestimento de ativos sensíveis a oxidação (CROTTS *et al.*, 2001).

6.0- CONCLUSÃO

- A formulação S2 com 0,1% p/p de BHT foi tecnicamente mais favorável para a manutenção da estabilidade, apresentando um índice de variação média menor que 10% entre o tempo inicial e final do estudo de estabilidade;
- O BHT poderia ser sugerido como o antioxidante de escolha para formulações sólidas orais de sinvastatina, com menor risco carcinogênico que o BHA, o qual é usado no medicamento de referência (Zocor®);
- A formulação do medicamento de referência (Zocor®) apresenta uma sobrecarga de antioxidante (0,9% p/p BHA) em comparação à formulação ideal padrão S2 a 0,1%p/p de BHT, a concentração suficiente para a atividade antioxidante;
- Há uma forte relação entre a estrutura química do fármaco e a eficiência do antioxidante, referentes à estabilidade do mesmo, demonstrado pela comparação entre a sinvastatina e o cetoconazol; O uso do revestimento (Zocor®) pode não ser necessário para a manutenção da estabilidade da formulação de comprimidos de sinvastatina;
- Nos estudos da atividade antioxidante em solução propõe uma correlação entre as estruturas químicas dos antioxidantes x eficácia em solução;
- Os resultados da atividade antioxidante em solução foram confirmados pelos estudos de Modelagem Molecular;
- O uso da Modelagem Molecular para predição dos fenômenos químicos da atividade antioxidante provou ser de grande importância para o desenvolvimento racional de formulações farmacêuticas líquidas;
- Os resultados obtidos sugerem que estudos de pré-formulação devem ser considerados em cada caso, incluindo a escolha do antioxidante através do estudo racional, onde as classes e as concentrações dos antioxidantes podem ser alteradas, ampliando variáveis e resultados.

7- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ADOM, K. K.; LIU, R. H. **Antioxidant activity of grains**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, v.50, n. 21, p.6182-618, 2002.

AMIDON, G. L.; LENNERNÅS, H.; SHAH, V. P. **A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and vivo bioavailability**. Pharmaceutical Research, v.12, n.3, p.413-420, 1995.

ANSEL, H. C.; ALLEN JR., L. V.; POPOVICH, N. G. **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação de Fármacos**. 8. ed., São Paulo: Artmed, 2007.

ARMSTRONG, N. A. **Functionality related test for excipients**. International Journal Pharmaceutics, v.155, p. 1-5, 1997.

ARMSTRONG, N. A.; AL-AGHABAR, M.R.A.K. **The repeated compression of powders**. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v.44, p.283-288, 1997.

ARUOMA, O.I. **Methodological characterizations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods**. Mutation Research, v. 9-20, p.523-524, 2003.

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

BAILEY, A. E. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. v. 3, 5th ed. New York: John Wiley, 1996.

BAKSHI M.; SINGH S. **Development of validated stability-indicating assay methods- critical review**. Journal of Pharmaceutics and Biological Analysis, v. 28, p. 1011-1040, 2002.

BALDRICK, P. **Pharmaceutical Excipient Development**. The Need for Preclinical Guidance. Covance Laboratories Ltd., Harrogate, England, United Kingdom Regulatory Toxicology and Pharmacology v. 32, p. 210–218, 2000.

BARCLAY L. R.; BASKIN K.A.; DAKIN K. A.; LOCKE S. J.; VINQVIST M.R. **The antioxidant activities of phenolic antioxidants in free radical peroxidation of phospholipids membranes**. Canadian Journal Chemistry, v.68, p.2258-2269, 1990.

BERTACCHE V.; MILANESE, A.; NAVA, D.; PINI, E. ; STRADI, R. **Structural elucidation of an unknown Simvastatin by – product in industrial synthesis starting from Lovastatin**. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v.45, p.642- 647, 2007.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. **Use of free radical method to evaluate antioxidant activity**. Lebensmittel Wissermann & Technologies, v. 28, n.3, p.25-30, 1995.

BRASIL. FARMACOPEIA BRASILEIRA, volume 2 – 5. ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010. 904p. , 2v/il.

BRASIL. **Resolução RE nº 1, de 29 de julho de 2005**. Autoriza ad referendum, a publicação do Guia para a Realização de Estudos de Estabilidade. D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 01 de agosto de 2005. Disponível em: <http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php>. Acesso em 10/04/2011.

BONDET, V.; BRAND – WILLIAMS, W.; BERSET, C. **Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH* free radical method**. Lebensmittel Wissermann & Technologies, v. 30, n. 6, p. 609-615, 1997.

CAO, G.; SOFIC, E.; PRIOR, R. L. **Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: Structure-activity relationship**. Free Radical Biological Medicinal, v.22, p.749-760, 1997.

CAMPO V. L.; CARVALHO I. **Estatinas hipolipêmicas e novas tendências terapêuticas.** Química Nova, v. 30, n. 2, p.425-430, 2007.

CONNORS, K. A.; AMIDON, G. L.; STELLA, V.J. **Oxidation and Photolysis.** In: **Chemical stability of pharmaceutical.** 2nd ed., New York: John Wiley & Sons, 1986.

CORVELEYN S.; VANDENBOSSCHE G.M.R.; REMON, J.P. **Near infrared (NIR) monitoring of H₂O₂ vapor concentration during vapor hydrogen peroxide (VHP) sterilization.** Pharmaceutical Research, v.14, n.3, p.294-298, 1997.

CROTTS,G.; SHETH, A.; TWIST, J.; GHEBRE-SELLASSIE, I. **Development of a enteric coating formulation and process for tablets primarily composed of highly water soluble organic acid.** European Journal Pharmaceutics and Biopharmaceutic, v. 51, n.1, p. 71-76, 2001.

CROWLEY, P.J.; MARTINI, L. G. **Drug-exciipient interaction.** Pharmaceutical Technology Europe, v.13, n.3, p. 26-34, 2001.

DRUGBANK; **Estruturas químicas do cetoconazol e da anfotericina B.** Disponível em: [<http://www.drugbank.ca/structure_viewer>](http://www.drugbank.ca/structure_viewer). Acesso em 17de junho de 2011.

FRANKEL, E. N.; MEYER, A. S. **The problem of using onedimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants.** Journal of Science and Food Agricultural, v.80, p.1925-1941, 2000.

GARRET, E. R. **Prediction of stability of drugs and pharmaceutical preparations.** Journal Pharmaceutical Science, v.51, p. 811-833, 1962.

GENNARO, A. R. Remington in: **A Ciência e a Prática da Farmácia**. 20. ed. Tradução Penildon Silva *et al.*, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 2004.

GILMAN A. G.; HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L.E. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 11. ed., Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2007.

GREENHILL, J.V.; MCLELLAND M.A. **Photodecomposition of Drugs**. Progress in Medicinal Chemistry, v. 27, p. 51-121, 1990.

GÜLÇİN I.; HUYUT, Z.; ELMASTAS, M.; ABOUL-ENEIN, H.I. **Radical scavenging antioxidant activity of tannic acid**. Arabian Journal of Chemistry v.3, p.43-53, 2010.

GÜLÇİN I. **Antioxidant properties of resveratrol: A structure-activity insight**. Innovative Food Science and Emerging Technologies, v.11, p.210-218, 2010.

HALBAUT L.; BARBÈ C. ; ARÓZTEGUI, M.; de la TORRE C. **Oxidative stability of semi-solid excipient mixtures with corn oil and its implication in the degradation of vitamin A**. International Journal Pharmaceuticals, v. 147, p.31-40, 1997.

HAYNES, J.D. **Worldwide virtual temperatures for product stability testing**. Journal Pharmaceutical Science, v.6, n.1, p.927-929, 1971.

HEACOCK, R. A. **The chemistry of adenochrome and related compounds: Chemistry Reviews**, v. 59, p.181- 237, 1959.

HIROSE, M.; TAKESADA, Y.; TANAKA, H.; TAMANO, S.; KATO, T.; SHIRAI, T. **Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model**. Carcinogenesis, v.19, n.1, p. 207-212, 1997.

HOVORKA, S.W.; SCHÖNEICH, C. **Minireview: Oxidative degradation of pharmaceuticals: Theory, Mechanisms and Inhibition.** Department of Pharmaceutical Chemistry, 2000.

ICH (International Conference on Harmonisation). **Harmonised tripartite guideline stability testing of new drug substances and products Q1A (R2).** Current step 4 version, 2003.

IATROPOULOS, M. J.; WILLIAMS, G.M. **Evaluation of potencial human carcinogenicity of synthetic monomer ethyl acrylate.** Regulatory Toxicology Pharmacology, v. 53, p.6-15, 2009.

IATROPOULOS, M. J.; WILLIAMS, G. M.; WHYSNER, J. **Safety Assessment of Butylated Hydroxyanisole and Butylated Hydroxytoluene as Antioxidant.** (Food Aditives). Food Chemistry Toxicology, v.37, p.1027-1038, 1999.

JOHNSON, D. M.; Gu, L.C. **Autoxidation and Antioxidants.** Swarbrick, J., BOYLAN, J.C., editors. In: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, v.1: New York, Marcel Dekker, 2004.

KATZUNG, B. G., **Farmacologia Básica e Clínica.** 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

KEHRER, J. P.; SMITH, C. V. **Em Natural antioxidants in human health and disease;** Frei, B., 4.ed., Academic Press: San Diego, 1992.

KIM , D. ; LEE, K. W. ;LEE, H. J. ;LEE, C. Y. **Vitamin C Equivalent Antioxidant Capacity (VEAC) of Phenolic Phytochemicals.** Journal Agricultural Food and Chemistry, v.50, p.3713-717, 2002.

KRINSKY, N.I. **The biological properties of carotenoids. Pure and Applied Chemistry,** v. 66, p. 1003-1010, 1994.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**. Vol I e II. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LAVOIE, JEAN-CLAUDE; LACHANCE, C.; CHESSEX, P. **Antiperoxide activity of sodium metabisulfite: A double-edged sword**. *Biochemical Pharmacology*, v. 47, Issue 5, p. 871-876, 1994.

LECLERCQ, C.; ACERLLA, D. TURRINI, A. **Estimates of theoretical maximum daily intake of ethorbic acid, gallates, butylated hydroxylanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT)**. In Italy: a stepwise approach. *Food and Chemical Toxicology*, v.38, p.1075 -1084, 2000.

LE HIR, A. **Noções de Farmácia Galênica**. 6. ed. São Paulo: Andrei, 1997, p. 262-265.

LÖBENBERG, R., DONAUER, N. **A mini review of scientific and pharmacopeial requirements for the disintegration test**. *International Journal of Pharmaceutics*, v.345, p. 2–8, 2007.

MARQUELE-OLIVEIRA, F.; FONSECA, Y.M.; FREITAS, O. DE; FONSECA, M.J.V. **Development of topical functionalized formulations added with propolis extract: stability, cutaneous absorption and *in vivo* studies**. *International Journal of Pharmaceutics*, v.342, p.40–48, 2007.

MOLLICA, J. A.; AHUJA, S.; COHEN, J. **Stability of Pharmaceutical**. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v.67, n. 4, p.443-465, 1978.

MOLYNEUX, P. **The use of stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity**. *Journal Science & Technology*, v. 26, n. 2, 2004.

MORRISON, R. T.; BOYD, R. N. **Química Orgânica**. Tradução M. Alves da Silva. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1996, p. 484-558; 978-1028.

NASH, D.B.; NASH, MD, MBA AND STEPHEN A., MPH. **Reclassification of Simvastatin to Over-the-Counter Status in the United Kingdom: A Primary Prevention Strategy**. American Journal Cardiology, v.94 supplement 1, p.35F–39F, 2004.

NELSON, S. D. **Molecular mechanisms of adverse drug reactions**. Current Therapeutic Research v. 62, n.12, p.885-899, 2001.

OKUBO T.; YOKOYAMA, Y.; KANO, K.; KANO, I. **Molecular Mechanism of Cell Death Induced by the Antioxidant tert-Butylhydroxyanisole in Human Monocytic Leukemia**. U937 Cells Biological Pharmaceutical Bulletin v.27, n.3, p.295-302, 2004.

PACIFICO S.; D'ABROSCA B.; GOLINO, A.; MASTELLONE, C.; PICCOLELLA, S.; FIORENTINO, A. ; MONACO, P. **Antioxidant evaluation of polyhydroxylated nerolidols from redroot pigweed (*Amaranthus retroflexus*) leaves**. Food Science and Technology, v. 41, n.1, p.665-1671, 2008.

PAN, C.; LIU, F.; MOTTON M. **Identification of Pharmaceutical Impurities in Formulated Dosage Forms**. Pharmaceutical and Analytical Development , Novartis Pharmaceuticals Corporation, One Health Plaza, East Hanover, New Jersey 07936 – Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 100, n.4, p.1228-1259, 2011.

PERES-FILHO, M.J.; GAETTI, M.P.N.; OLIVEIRA, S. R. DE; MARRETO, R. N.; LIMA, E. M. **Thermoanalytical investigation of olanzapine compatibility with excipients used in solid oral dosage forms**. Journal Thermoanalytical Calorimetric, v.104, p. 256 – 260, 2011.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. **Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays.** Food Research International, v.39, p.791-800, 2006.

PETROVICK, P.R.; COUTO, A. G.; GONZÁLEZ ORTEGA, G. **Granulação.** Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Cadernos de Farmácia, v. 16, n.1, p. 13-20, 2000.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M.A.S.; FERRAZ, H.G. **Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados.** Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas, v.43 n.4, Out./Dez. 2007.

PIFFERI, G.; RESTANI, P. **The safety of pharmaceutical excipients Institute of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry. "Review",** V.le Abruzzi 42, Milan, Italy, IL Farmaco 58, p.541- 550, 2003.

PIFFERI, G.; SANTORO P.; PEDRANI, M. **Quality and functionality of excipients "REVIEW".** Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, v.le Abruzzi 42, I-20132 Milan, Italy, IL Farmaco, v.54 , p. 1–14, 1999.

PRISTA, L. N.; ALVES, A.C.; MORGADO, R. M. R. **Tecnologia Farmacêutica.** 6. ed., v.1. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2002.

RAFECAS, M.; GUARDIOLA, F.; ILLERA, M.; CODONY, R.; BOATELLA, J. **Liquid Chromatographic determination of phenolic antioxidants in bakery products.** Journal of Chromatography A, v.822, p. 305 – 309, 1998.

RAMALHO, V. C.; JORGE, N. **Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos.** Química Nova, v.29, n.4, p.755-760, 2006.

RANG H.P.; DALE M. M.; RITTER, J. M. **Farmacologia.** 3. ed. , Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

RICE-EVANS, C. A.; MILLER, N. J.; PAGANGA, G. **Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids**. *Free Radical Biological Medicinal*, v.20, p. 933-956, 1996.

RODRIGUES, C. R. **Processos Modernos no Desenvolvimento de Fármacos: Modelagem Molecular**. *Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola*, n.3, p.43-49, 2001.

ROGER, C.K. **Stability Pharmaceutical**. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 293, p.101–125, 2005.

RÖSCH DANIEL, MEIKE BERGMANN, DIETRICH KNORR, LOTHAR W. KROH. **Structure Antioxidant Efficiency Relationships of Phenolic Compounds and Their Contribution to the Antioxidant Activity of Sea Buckthorn Juice**. *Journal Agricultural Food and Chemistry*, v.51, p. 4233-4239, 2003.

ROUGE, N.; BURI, P.; DOELKER, E. **Drug absorption sites in the gastrointestinal tract and dosage forms for site-specific delivery**. *International Journal Pharmaceutics*, v. 136, p. 117-139, 1996.

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

ROWLAND, M.; TOZER, T. N. **Introdução à Farmacocinética e à Farmacodinâmica- As bases Quantitativas da Terapia Farmacológica**. São Paulo: Artmed, 2009, p.142- 143.

RUDNIC, E. M.; SCHWARTZ, J. D. **Formas Farmacêuticas Sólidas de via Oral**. In: GENNARO, A. G. *Remington: A Ciência e a Prática da Farmácia*. Tradução Penildon Silva *et al.* Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, p.885–891.

RUFINO M. S. M.; ALVES, R. E. ; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M. **Metodologia Científica: Determinação da Atividade Antioxidante Total em Frutas pela**

Captura do Radical Livre DPPH. Comunicado Técnico On Line, Nº 127–EMBRAPA, 2007.

SANCHEZ-MORENO C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A. **Procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols.** Journal Science of Food and Chemistry, v. 76, p. 270-276, 1998.

SÁNCHEZ-MORENO, C. **Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems.** Food Science and Technology International, v. 8, p.121-137, 2002.

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, J. Chrom. A. v.987, p.57-66, 2003.

SCOTTI, L.; SCOTTI, M. T.; CARDOSO, C.; PAULETTI, P.; CASTRO-GAMBOA, I. ; BOLZANI, V.S.; VELASCO, M. V. R.; MENEZES, C. M. S.; FERREIRA, E. I. **Modelagem molecular aplicada ao desenvolvimento de moléculas com atividade antioxidante visando ao uso cosmético.** Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 43, n.2, abr/jun, 2007.

SHIRZAD, A.; ROA, W.; LÖBENBERG, RAIMAR. **Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms “Review”.** International Journal of Pharmaceutics, v. 328, p.12–21, 2007.

SILVA, K. E. R.; ALVES, L. D. S.; SOARES, M. F. R.; PASSOS, R. C. S.; FARIA, A.; ROLIM NETO, P. J. **Modelos de Avaliação da Estabilidade de Fármacos e Medicamentos para a Indústria Farmacêutica.** Revista Farmacêutica Básica e Aplicada, v.2, n. 30, p.129-135, 2008.

SIMIC, M. G.; JAVANOVIC, S. V. In: **An Inactivation of oxygen radicals by dietary phenolic compounds in anticarcinogenesis**. Ho, C. T.; Osawa, T.; Huang, T. M.; ROSEN, R. T. Food Phytochemicals for Cancer Prevention: Washington, p. 20, 1994.

SIMONETTI, G.; STRIPPOLI V. F.D.; D'AURIA, F.D.; M. TECCA, M.; A. CALLARI, A. **Propyl gallate increases in vitro antifungal imidazole activity against *Candida albicans***. International Journal of Antimicrobial Agents, v.16, p.73–76, 2000.

SINKO, P. J. In: **MARTIN - Físico-Farmácia e Ciências Farmacêuticas**, 5. ed. ,São Paulo: Artmed, 2008.

SKIBA, M.; LAHIANI-SKIBA, M. M.; MARCHAIS, H.; DUCLOS, R.; ARNAUD, P. **Stability assessment of ketoconazole in aqueous formulations**. International Journal Pharmaceutics, v.198, p.1-6, 2000.

SMITH, G. B.; DiMICHELE, L. ; COLWELL Jr. L. F. ; DEZENY, G. C. ; DOUGLAS, A. W. ; REAMER, R.A. ; VERHOEVEN, T.R. **Autooxidation of simvastatin**. Tetrahedron, v.49, p.4447-4462, 1993.

SOUZA, V. M. **Ativos Dermatológicos**. Vol.1, São Paulo: Tecnopress, 2003.

SRINIVASU M. K.; RAJU A. N.; REDDY G O. **Determination of lovastatin and simvastatin in pharmaceutical dosage forms by MEKC**. Journal Pharmaceutical Biomedical Analytical, v.29, p.715-721, 2002.

STAUB, I.; SCHAPOVAL, E. E.S.; BERGOLD, A. M. **Microbiological assay of ketoconazole in shampoo**. International Journal of Pharmaceutics, v.292, p.195–199, 2005.

STORPIRTIS, S.; SOUZA, J. ; FREITAS, Z. F. **Modelos *in vitro* para determinação da absorção de fármacos e previsão da relação dissolução/absorção.** Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas, v.43, n.4, Out. /Dez. 2007.

TANAKA, T.; TAKAHASHI, O. I.; OISHI, S.; OGATA, A. **Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation, toxicity study in mice.** Reproductive Toxicology, v. 26, p.156–163, 2008.

TANG Y.; ZHU, W.; CHEN, K.; JIANG, H. **New technologies in computer-aided drug design: Toward target identification and new chemical entity discovery.** Drug Discovery Today Technologies, v.3 , n.3, p. 307- 313, 2006.

TERASHIBA, K.; IMATURA, K. **Preparation of antipiretic analgesic by direct compression and its evaluation.** Chemical Pharmaceutical Bulletin, Tokyo, v.50, n.12, p.1542-1549, 2002.

THOMAS, G. **Medicinal Chemistry: An introduction.** Chichester, New York: Wiley and Sons, 2000.

THOMPSON, J. E. **A prática farmacêutica na manipulação de medicamentos.** São Paulo: Artmed, 2006.

TONNESEN, H. H. **Formulation and stability testing of photolabile drugs – Review.** International Journal of Pharmaceutics, v.225, n.1-2, p.1-14, 2001.

UNITED STATES PHARMACOPEIA–USP, 27. ed. Rockville: **The United States Pharmacopeial Convention**, p.1692-1694, 2004.

_____, 31. ed. Rockville: **The United States Pharmacopeial Convention, INC.** , v. 2, p.2460, 2008.

_____, 31. ed. Rockville: **The United States Pharmacopeial Convention, INC.**
Ketoconazole Tablet monographie, v. 2, p.2489-90, 2008.

_____, 31. ed. Rockville: **The United States Pharmacopeial Convention, INC.**
Simvastatin Tablet monographie, v. 3, p.3235, 2008.

VADAS, E. B. **Estabilidade de Produtos Farmacêuticos**. In: GENNARO, A. G.
Remington: A Ciência e a Prática da Farmácia. Tradução Penildon Silva *et al.* Rio de
Janeiro: Guanabara Koogan, p.1022-1031, 2004.

VIÇOSA, A. L. **Estudo da utilização de incrementadores de dissolução para
compressão direta: enfoque no desenvolvimento de medicamentos genéricos**.
Rio de Janeiro, 2003. 129 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) –
Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2003.

VIÇOSA, A. L.; CHATAH, EN; SANTOS, TC; JONES, LF JR; DANTAS, CB;
DORNELAS, CB; RODRIGUES, CR; CASTRO, HC; SOUSA, VP; DIAS, LR;
CABRAL, LM. **Bioequivalence studies and sugar-based excipients effects on
the properties of new generic ketoconazole tablets formulations and stability
evaluation by using direct compression method**. *Pharmaceutical Development
Technology*, v.14, p.530-539, 2009.

VOIGT, R. & FAHR, A. **Pharmazeutische Technologie** 9. überarb Aufl, Stuttgart:
Ed. Deutscher Apotheker, 2000.

WANG, L.; ASGHRNEJD, M. **Second-derivative UV spectrometric determination
of simvastatin in its tablet dosage form**. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical
Analysis*, v. 21, p.1243–1248, 2000.

WATERMAN, K. C.; ADAMI, R.C.; ALSANTE, M. K.; HONG, J.; LANDIS, M. S.; LOMBARDO, F.; ROBERTS, C. J. **Stabilization of Pharmaceuticals of Oxidative Degradation**. *Pharmaceutical Development and Technology*, v.7, n.1, p. 1-32, 2002.

WATERMAN, K. C.; ADAMI, R.C. **Accelerated aging: Prediction of chemical stability of pharmaceuticals**. *International of Journal of Pharmaceutics*, v.293, p. 101-125, 2005.

WELLS, J. **Pré-formulação farmacêutica: as propriedades físico-químicas dos fármacos**. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Tradução George G. Ortega *et al.*, 2.ed. Porto Alegre : Artmed ,2005, p.124-148.

ZHANG, Y. Theoretical methods used in elucidating activity differences of phenolic antioxidants. *Journal American Oil Chemistry Society*, v. 76, p. 745-748, 1999.