

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para determinação quantitativa de anti-hipertensivos e estudo de interação entre componentes da formulação

Juliana Fontes Fernandes Anderson

Campo Grande – MS
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Desenvolvimento e validação de método analítico por CLAE para determinação quantitativa de anti-hipertensivos e estudo de interação entre componentes da formulação

Juliana Fontes Fernandes Anderson

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Farmácia da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dra. Nájla Mohamad Kassab
Co-orientador: Prof. Dr. Marcos Serrou do Amaral

Campo Grande – MS
2015

"O conhecimento torna a alma jovem e diminui a amargura da velhice. Colhe, pois, a sabedoria. Armazena suavidade para o amanhã."

(Leonardo da Vinci)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, que me permitiu estar aqui.

Aos meus filhos, Gustavo, Rodrigo e Lucas pela paciência e compreensão nos momentos difíceis e ausentes.

Ao meu marido Dener pelo companheirismo, apoio, incentivo e paciência em todos os momentos da vida.

Aos meus pais, Manoel e Eloisa, pelo amor e apoio incondicionais.

Meu eterno amor e gratidão a todos vocês!

Ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da UFMS, pela oportunidade de grande aprendizagem oferecida aos alunos.

À minha orientadora Prof.^a Dr.^a Nájla Mohamad Kassab, por tudo: apoio, orientação, compreensão, incentivo, confiança, paciência, dedicação e acima de tudo, sua amizade. Sem a sua ajuda, com certeza eu não teria realizado este estudo.

Ao meu co-orientador Prof. Dr. Marcos Serrou do Amaral, pela paciência, disponibilidade, apoio e orientação no decorrer do trabalho.

Às alunas de iniciação científica Mirella Carla Galana Gerlin e Cristiane Aparecida Cassol Vieira, pela imensa ajuda na realização dos procedimentos experimentais deste trabalho.

À técnica do LTF, Rúbia Adrieli Sversut, pelas contribuições durante as atividades.

A minha colega de sala Elaine de Oliveira Araújo, pela sua amizade e parceria, e por todas as contribuições no desenvolvimento e realização deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Lincoln Carlos Silva de Oliveira, do Instituto de Química da UFMS, por sua dedicação e orientação, e por disponibilizar os equipamentos de análise térmica e auxiliar na interpretação dos resultados.

Aos alunos do Laboratório de Química da UFMS, pela ajuda para realização do trabalho na área de análise térmica.

Ao Prof. Dr. Samuel L. de Oliveira, do Instituto de Física da UFMS, pela realização das análises de espectrofotometria no infravermelho.

Aos meus colegas de trabalho, pela compreensão durante a realização dos estudos.

Aos membros da banca examinadora pelo gentil aceite do convite de participação e suas contribuições pertinentes ao trabalho.

A todos que me ajudaram e me incentivaram neste período...

MEU MUITO OBRIGADA!

RESUMO

A hipertensão é a mais comum das doenças cardiovasculares, e atingir a pressão arterial ideal é o maior e mais importante objetivo de quem maneja pacientes hipertensos, porém na maioria dos casos não se consegue tal objetivo com o uso de um único fármaco anti-hipertensivo. A manipulação magistral permite a dosagem do fármaco de forma personalizada, a facilidade de aquisição do medicamento por um custo inferior ao praticado para o medicamento industrializado e também, a oportunidade de manipular medicamentos não existentes no mercado farmacêutico. Para garantir a qualidade de amostras comerciais, vários métodos analíticos foram descritos para a análise de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, de maneira isolada ou associados a outros fármacos, mas não foi encontrado na literatura científica nenhuma técnica capaz de quantificar simultaneamente esta associação, portanto, considerou-se necessário o desenvolvimento e validação de um método para determinação simultânea dos mesmos em preparações farmacêuticas magistrais, a identificação e caracterização das matérias-primas empregadas nas análises, a realização do controle de qualidade da formulação, bem como o estudo de compatibilidade entre fármaco-fármaco e fármaco-excipientes. As matérias-primas utilizadas no estudo foram caracterizadas por espectroscopia de absorção nas regiões do ultravioleta (UV) e infra-vermelho (IV). A determinação quantitativa e simultânea destes fármacos em associação foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em fase reversa. A validação do método analítico por CLAE foi efetuada de acordo com os parâmetros preconizados pelas diretrizes da AOAC e ICH: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ) e robustez. As técnicas de identificação e caracterização de matérias-primas utilizadas, permitiram em conjunto qualificá-las e torná-las aptas para serem utilizadas no controle de qualidade de medicamentos, estando de acordo com dados da literatura. Além disso, as curvas DSC e TG permitiram sugerir a forma polimórfica de losartana. O estudo de interação fármaco-fármaco realizado com o apoio das técnicas termoanalíticas, mostrou evidências de interação entre os fármacos, que deve ser confirmado por uma análise mais aprofundada. O método desenvolvido por CLAE permitiu a determinação quantitativa e simultânea dos medicamentos em estudo. Os resultados sugerem que o método cromatográfico desenvolvido e validado pode ser usado na rotina do controle de qualidade para análise de medicamentos contendo esta associação ou para cada fármaco isolado.

Palavras-chave: CLAE; anti-hipertensivos; controle de qualidade; quantitativo; interação.

ABSTRACT

Hypertension is the most common cardiovascular disease, and achieve optimal blood pressure is the biggest and most important objective of who wields hypertensive patients, but in most cases not achieved this goal with the use of a single antihypertensive drug. The masterful manipulation allows the dosage of the drug in a personalized way, ease of acquisition the drug for less than the cost charged to the industrialized medicine and also the opportunity to handle non existing drugs in the pharmaceutical market. To ensure the quality of commercial samples, several analytical methods have been described for atenolol analysis, spironolactone, furosemide and losartan, in isolation or with other drugs, but was not found in the literature any technique capable of simultaneously quantify this association, therefore, it was considered necessary the development and validation of a method for the simultaneous determination of the same in compounding pharmaceutical preparations, the identification and characterization of the raw materials used in the analysis, the completion of the formulation of quality control, and the study of compatibility between drug-drug and drug-excipients. The raw materials used in the study were characterized by absorption spectroscopy in the ultraviolet region (UV) and infrared (IR). The quantitative and simultaneous determination of these drugs in combination was performed by high performance liquid chromatography reverse phase (RP-HPLC). The validation of the analytical HPLC method was performed according to the parameters established by the AOAC and ICH guidelines, and they were: selectivity, linearity, precision, accuracy, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ) and robustness. The identification techniques and characterization of raw materials used, allowed classifying them together and make them suitable for use in quality control of medicines, which is consistent with literature data. In addition, the DSC and TG curves allowed to assume the polymorphic form of losartan. The study of drug-drug interaction carried out with the support of thermoanalytical techniques showed evidence of interaction between the drugs, which must be confirmed by further analysis. The method developed by HPLC allowed the quantitative and simultaneous determination of the drugs under study. The results suggest that the chromatographic method was developed and validated routine can be used in quality control for drug content analysis of this association or for each drug alone.

Keywords: HPLC; antihypertensives; quality control; quantitative; interaction.

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Estrutura química do atenolol.	26
Figura 3.2. Estrutura química da espironolactona.	27
Figura 3.3. Estrutura química da furosemida	28
Figura 3.4. Estrutura química da losartana.	29
Figura 4.1. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de atenolol.....	33
Figura 4.2. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de espironolactona.	34
Figura 4.3. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de furosemida.....	35
Figura 4.4. Espectro de absorção na região do infravermelho da matéria-prima de losartana.....	36
Figura 4.5. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de atenolol na concentração de 0,01% (p/v), utilizando metanol como solvente.	37
Figura 4.6. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de espironolactona na concentração de 0,001% (p/v), utilizando metanol como solvente.	38
Figura 4.7. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de furosemida na concentração de 0,0005% (p/v), utilizando hidróxido de sódio 0,1M como solvente.....	39
Figura 4.8. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de losartana na concentração de 0,001% (p/v), utilizando metanol como solvente	40
Figura 5.1. Cromatograma dos fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (80:20, v/v).	49
Figura 5.2. Cromatograma dos fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (80:20, v/v) como solvente, em pH 3,0 ajustado com H ₃ PO ₄	49
Figura 5.3. Cromatograma dos fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como solvente, em pH 3,0 ajustado com H ₃ PO ₄	50

Figura 5.4. Cromatograma da mistura de excipientes, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como solvente, em pH 3,0 ajustado com H ₃ PO ₄	51
Figura 5.5. Cromatograma da solução da mistura de excipientes (A) e da solução de amostra (B) com a seguinte ordem de eluição: atenolol, furosemida, losartana e espironolactona, obtido em 240 nm, empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase-móvel, em pH 3,0 ajustado com H ₃ PO ₄	52
Figura 5.6. Curva de calibração de atenolol obtida em 225 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.....	53
Figura 5.7. Curva de calibração de espironolactona obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.....	54
Figura 5.8. Curva de calibração de furosemida obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.....	54
Figura 5.9. Curva de calibração de losartana obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.....	55
Figura 6.1. Peso individual de 20 unidades de cápsulas, contendo 50 mg de atenolol, 25 mg de espironolactona, 20 mg de furosemida e 50 mg de losartana. Amostra comerciais 1,2,3.	64
Figura 7.1: Curvas TG-DSC do atenolol com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.	71
Figura 7.2: Curvas TG-DSC da espironolactona com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.....	72
Figura 7.3: Curvas TG-DSC da furosemida com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.....	73
Figura 7.4: Curvas TG-DSC da losartana com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.	74
Figura 7.5: Curvas TG-DSC da mistura de excipientes com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.....	75
Figura 7.6: Curva DSC dos fármacos isolados e da mistura de fármacos, proporção 1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio. Sendo 1 – losartana; 2 – espironolactona; 3 – atenolol; 4 – furosemida.....	76

Figura 7.7: Curva DSC dos excipientes, da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, e da mistura de fármacos e excipientes na proporção 1:1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.	77
Figura 7.8: Curva TG dos fármacos isolados, excipientes e da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio. Sendo 1 – furosemida; 2 – losartana; 3 – atenolol; 4 – espironolactona.	79
Figura 7.9: Curva DSC da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, e da mistura de fármacos e excipientes na proporção 1:1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min ⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 5.1: Métodos analíticos descritos na literatura para a análise de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana.....	43
Tabela 5.2: Parâmetros obtidos através do método cromatográfico proposto.	50
Tabela 5.3: Valores obtidos para curva de calibração de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, empregando metanol:água (75:25, v/v) como solvente, em pH 3,0.	53
Tabela 5.4: Resultados do ensaio de precisão através do método cromatográfico proposto	56
Tabela 5.5: Resultados do ensaio de recuperação através do método cromatográfico proposto	57
Tabela 5.6: Resultados do ensaio de robustez através do método cromatográfico proposto.	58
Tabela 6.1: Resultados obtidos no ensaio de determinação de peso de 20 unidades de cápsulas das amostras comerciais 1,2,3.....	63
Tabela 6.2: Análise da formulação comercial utilizando o método de CLAE proposto.....	65
Tabela 7.1. Eventos da curva DSC de atenolol, furosemida, espironolactona, losartana, excipientes, mistura de fármacos, mistura de fármacos e excipientes, faixas de temperatura e temperatura máxima em que ocorrem.	78

LISTA DE ABREVIATURAS

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANOVA – Análise de variância

AOAC – *Association of Official Analytical Chemists*

A_s- Fator de assimetria

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DAD – Detector de arranjo de diodos

DPR – Desvio Padrão Relativo

DSC – *Differential Scanning Calorimetry* (Calorimetria Exploratória Diferencial)

DTA – *Differential Thermal Analysis* (Análise Térmica Diferencial)

FTIR – *Fourier transform infrared spectroscopy* (Espectroscopia por transformada de Fourier)

ICH – *International Conference on Harmonization*

IV – Infravermelho

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

r – Coeficiente de correlação linear

R_f – *Retention factor* (Fator de retenção)

SQR – Substância Química de Referência

TG/DTG – *Thermogravimetry/Thermogravimetry Derivative*
(Termogravimetria/Termogravimetria derivada)

Tonset_{fusão} – Temperatura de fusão

t_R – Tempo de retenção

UV – ultravioleta

VIS – visível

ΔH – Variação de energia (entalpia)

ΔH_{fusão} – Variação de energia (entalpia) do processo de fusão

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1 OBJETIVO GERAL.....	20
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	21
3.1 HIPERTENSÃO E ANTI-HIPERTENSIVOS.....	22
3.2 FARMÁCIAS MAGISTRAIS	23
3.3 INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS DESTE ESTUDO	25
3.3.1 Atenolol.....	25
3.3.1.1 <i>Descrição</i>	25
3.3.1.2 <i>Características químicas</i>	26
3.3.2 Espironolactona	26
3.3.2.1 <i>Descrição</i>	26
3.3.2.2 <i>Características químicas</i>	27
3.3.3 Furosemida.....	27
3.3.3.1 <i>Descrição</i>	27
3.3.3.2 <i>Características químicas</i>	28
3.3.4 Losartana.....	28
3.3.4.1 <i>Descrição</i>	28
3.3.4.2 <i>Características químicas</i>	29
4. CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS.....	30
4.1 INTRODUÇÃO.....	31
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	32
4.2.1 Matérias-primas	32
4.2.2 Procedimento analítico.....	32
4.2.2.1 <i>Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</i>	32
4.2.2.2 <i>Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta (UV)</i>	33

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
4.3.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).....	33
4.3.1.1 <i>Atenolol</i>	33
4.3.1.2 <i>Espironolactona</i>	34
4.3.1.3 <i>Furosemida</i>	35
4.3.1.4 <i>Losartana</i>	36
4.3.2 Espectroscopia de absorção na região do Ultravioleta (UV)	36
4.3.2.1 <i>Atenolol</i>	36
4.3.2.2 <i>Espironolactona</i>	37
4.3.2.3 <i>Furosemida</i>	38
4.3.2.4 <i>Losartana</i>	39
4.4 CONCLUSÕES	40
5. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO	41
5.1 INTRODUÇÃO.....	42
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	44
5.2.1 Matérias-primas e amostras	44
5.2.2 Procedimento Analítico.....	45
5.2.3 Validação do método de HPLC –DAD	45
5.2.3.1 <i>Seletividade</i>	45
5.2.3.2 <i>Linearidade</i>	46
5.2.3.3 <i>Precisão</i>	46
5.2.3.4 <i>Exatidão</i>	46
5.2.3.5 <i>Robustez</i>	47
5.2.3.6 <i>Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)</i>	48
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	48
5.3.1 Otimização.....	48
5.3.2 Seletividade	51
5.3.3 Linearidade	52
5.3.4 Precisão.....	55
5.3.5 Exatidão.....	56

5.3.6 Robustez	57
5.3.7 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).....	59
5.4 CONCLUSÕES	59
6. CONTROLE DE QUALIDADE DAS AMOSTRAS COMERCIAIS	60
6.1 INTRODUÇÃO.....	61
6.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	62
6.2.1 Amostras.....	62
6.2.2 Controle de qualidade	62
6.2.2.1 Determinação de peso	62
6.2.2.2 Determinação de teor	62
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
6.3.1 Determinação de peso.....	63
6.3.2 Determinação de teor	63
6.4 CONCLUSÕES	65
7. AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO E FÁRMACO	
-EXCIPIENTE	67
7.1 INTRODUÇÃO.....	68
7.2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	69
7.2.1 Matérias-primas	69
7.2.2 Preparação das amostras	70
7.2.3 Procedimento analítico.....	70
7.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	70
7.2.3.2 Termogravimetria (TG)	70
7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	71
7.3.1 Atenolol.....	71
7.3.2 Espironolactona	72
7.3.3 Furosemida.....	73
7.3.4 Losartana.....	74
7.3.5 Mistura de excipientes.....	75
7.3.6 Análise por DSC da mistura de atenolol, espironolactona, furosemida e losartan	76

7.3.7 Análise por TG da mistura de atenolol, espironolactona, furosemida e losartan	79
7.4 CONCLUSÕES	80
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	82
8.1 IMPACTOS ESPERADOS COM ESTE ESTUDO.....	83
9. REFERÊNCIAS	84

1. INTRODUÇÃO

A hipertensão arterial (HA) é o mais importante fator de risco para doenças cardiovasculares e doenças renais, sendo responsável pelas principais causas de morte no Brasil e no mundo. Até a década de 50 não havia tratamento eficaz e o desenvolvimento de fármacos anti-hipertensivos estava começando. Entretanto, apesar dos extraordinários avanços que proporcionaram os novos fármacos com maior capacidade de redução da pressão arterial, a HA continua sendo o maior problema de saúde pública, com aumento de sua prevalência no mundo, além do maior número de pessoas com pressão arterial não controlada (ANVISA, 2010; V DIRETRIZES, 2006).

No caso da terapia anti-hipertensiva, a adesão ou fidelidade ao tratamento, que é o grau de coincidência entre a prescrição médica e o comportamento do paciente, é atualmente um dos grandes desafios no tratamento da HA. Estudos mostram que na medida em que aumentamos o número de comprimidos e/ou o número de doses diárias, diminuiu a adesão dos pacientes ao tratamento, e cerca de 2/3 dos pacientes portadores de HA necessitam de terapia anti-hipertensiva combinada para se atingir as metas pressóricas (ANVISA, 2010).

A manipulação magistral da forma farmacêutica cápsulas, permite a dosagem do fármaco de forma personalizada, a facilidade de aquisição do medicamento por um custo inferior ao praticado para o medicamento industrializado e, também a oportunidade de manipular associações de fármacos não existentes no mercado farmacêutico industrializado (AZEVEDO e RIBEIRO, 2008), e talvez por esses motivos, é que a procura por produtos manipulados tenha aumentado nos últimos anos (MARIA e SANTINHO, 2008).

A incompatibilidade entre fármacos anti-hipertensivos associados entre si na mesma formulação e com os diferentes excipientes tem sido frequentemente relatada na literatura (BAZZO e SILVA, 2005; BHARATE *et al.*, 2010; KUMAR *et al.*, 2012; LILTORG *et al.*, 2011; MORA *et al.*, 2006;) e as potenciais interações resultantes podem afetar a natureza química dos compostos, a solubilidade, a estabilidade das formulações e, conseqüentemente, a segurança, a biodisponibilidade e a eficácia terapêutica (LILTORG *et al.*, 2011; MORA *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A garantia da segurança e da eficácia dos medicamentos tem sido cada vez mais motivo de preocupação. Por isso, inúmeras pesquisas relacionadas ao controle de qualidade de produtos farmacêuticos vêm sendo realizadas mundialmente. Essas pesquisas incluem o desenvolvimento de métodos analíticos eficazes e confiáveis que possam ser implantados na rotina do controle de qualidade de medicamentos (LA ROCA *et al.*, 2007).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Desenvolver e validar método analítico para determinação quantitativa e simultânea de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana em formulações farmacêuticas magistrais sólidas de uso oral, bem como o estudo de compatibilidade entre os fármacos e entre os excipientes da formulação.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar as matérias primas dos fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana;
- Desenvolver e validar um método analítico empregando a CLAE para a determinação quantitativa e simultânea dos fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana associados em formulações farmacêuticas magistrais;
- Realizar o controle de qualidade das amostras comerciais empregando o método analítico desenvolvido e validado neste projeto;
- Avaliar a interação fármaco-fármaco e fármaco-excipiente empregando técnicas termo-analíticas (DSC e TG).

3.1 HIPERTENSÃO ARTERIAL E ANTI-HIPERTENSIVOS

HA é a mais comum das doenças cardiovasculares (GOODMAN & GILMAN, 2003). É uma condição clínica multifatorial caracterizada por níveis elevados e sustentados de pressão arterial. Associa-se frequentemente a alterações funcionais e/ou estruturais dos órgãos-alvo (coração, cérebro, rins e vasos sanguíneos) e a alterações metabólicas (V DIRETRIZES, 2006; VI DIRETRIZES, 2010).

A HA elevada provoca alterações patológicas na vasculatura do ventrículo esquerdo bem como hipertrofia do mesmo (GOODMAN & GILMAN, 2003). Em consequência, a HA constitui a principal causa de acidente vascular cerebral, leva a doenças das artérias coronárias e representa o principal fator contribuinte para a insuficiência cardíaca e insuficiência renal (GOODMAN & GILMAN, 2003; RANGE *et al.*, 2007).

O objetivo primordial do tratamento da HA é a redução da morbidade e da mortalidade cardiovasculares (V DIRETRIZES, 2006). Assim, os anti-hipertensivos devem não só reduzir a pressão arterial, mas também os eventos cardiovasculares fatais e não fatais.

Atingir pressão arterial ideal é o maior e mais importante objetivo de quem maneja pacientes hipertensos, porém na maioria dos casos não se consegue tal objetivo com o uso de um único fármaco anti-hipertensivo. As associações de fármacos anti-hipertensivos podem ser feitas por meio de medicamentos em separado ou por associações em doses fixas (SOUZA *et al.*, 2009).

A combinação medicamentosa no tratamento da HA constitui de algumas vantagens como aumento da eficácia anti-hipertensiva resultante da combinação entre fármacos, os quais agem por diferentes mecanismos, redução de efeitos adversos devido ao uso de doses menores, simplificação e melhoramento da adesão ao tratamento. (BORTOLOTTI, 2003, ANVISA, 2010).

A manipulação magistral da forma farmacêutica cápsulas, permite a dosagem do fármaco de forma personalizada, muitas vezes por um custo inferior ao praticado para o medicamento industrializado e também, oportuniza a manipulação de associações não existentes no mercado farmacêutico (AZEVEDO *et al.*, 2008). Embora o medicamento manipulado muitas vezes seja preferido por atender a individualidade de cada paciente, a Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC) não recomenda o seu uso, por falta de informação a respeito do controle de qualidade

desses produtos (V DIRETRIZES, 2006), bioequivalência e/ou de interação química dos compostos (VI DIRETRIZES, 2010).

3.2 FARMÁCIAS MAGISTRAIS

As farmácias magistrais ou de manipulação, como também são conhecidas, ressurgiram no Brasil no final da década de 80 após esta atividade ter quase desaparecido por completo com o advento da industrialização dos medicamentos no país a partir da década de 50 (BONFILIO *et al.*, 2010).

Até o final da década de 90, a atividade magistral se restringia à manipulação de formulações personalizadas prescritas por determinadas especialidades médicas como dermatologia, endocrinologia, ginecologia, entre outras. Posteriormente, coincidindo com a entrada dos medicamentos genéricos no mercado, o segmento passou a atender quase todas as especialidades, manipulando inúmeros medicamentos, inclusive as apresentações que também são disponibilizadas no mercado pela indústria farmacêutica (SILVA *et al.*, 2006).

Com o crescimento desta atividade no Brasil, houve maior preocupação com a qualidade dos medicamentos manipulados por parte da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), que em 19 de abril de 2000, publicou a primeira regulamentação específica para o setor, a Resolução de Diretoria Colegiada (RDC) nº 33. Esta resolução instituiu as boas práticas de manipulação em farmácias, garantindo evoluções na qualidade dos produtos magistrais (ANVISA, 2000; BONFILIO *et al.*, 2010).

Com o intuito de estabelecer critérios mais rígidos para manipulação no Brasil, a RDC nº 33 foi revogada pela RDC nº 214, em 12 de dezembro de 2006 (ANVISA, 2006), que posteriormente também foi revogada pela RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007 (ANVISA, 2007), que foi complementada pela RDC 87, de 21 de novembro de 2008 (ANVISA, 2008), encontra-se em vigor até o momento.

A RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007, que dispõe sobre as Boas Práticas de Manipulações Magistrais e Oficiais para Uso Humano, conceitua Garantia de Qualidade como esforço organizado e documentado dentro de uma empresa no sentido de assegurar as características do produto, de modo que cada unidade do mesmo esteja de acordo com suas especificações.

As Boas Práticas de Manipulação em Farmácias é a parte da Garantia da Qualidade que visa assegurar que os produtos manipulados sejam consistentemente produzidos e controlados, com padrões de qualidade apropriados para o uso pretendido e requerido na prescrição, e o controle de qualidade é o conjunto de operações (programação, coordenação e execução) com o objetivo de verificar a conformidade das matérias primas, materiais de embalagem e do produto acabado, com as especificações estabelecidas (ANVISA, 2007).

A RDC n° 67 determina que as farmácias magistrais devam realizar para todas as preparações magistrais de sólido (cápsulas) os seguintes ensaios: peso médio das cápsulas, desvio padrão e coeficientes de variação (ANVISA, 2007), que apesar de importantes, avaliam somente a uniformidade no preenchimento das cápsulas com a mistura de pós (fármacos + excipientes). Entretanto, estes testes não fornecem informação sobre a homogeneidade da mistura depois de encapsulada, uma vez que não há determinação de teor.

Com relação aos testes de quantificação (teor), a RDC n° 67 faculta às farmácias magistrais a terceirização do controle de qualidade (ANVISA, 2007), podendo estes ensaios serem executados por laboratórios de controle de qualidade, mediante estabelecimento de contrato entre as partes, o que não é permitido para a indústria farmacêutica (ANVISA, 2007).

A garantia da qualidade dos medicamentos manipulados frequentemente é questionada por profissionais da área da saúde, inclusive pela SBC (V DIRETRIZES, 2006). Os questionamentos com relação à impossibilidade da análise final do produto e a associação de fármacos sem estudo prévio de estabilidade são as dúvidas mais frequentes (ANVISA, 2005; BONFILIO *et al.*, 2010).

Hoje, o setor magistral representa um grande segmento do mercado brasileiro de medicamentos e desempenha importante papel no contexto da Política Nacional de Medicamentos que objetiva garantir a promoção do uso racional e o acesso da população a medicamentos essenciais. Entretanto, as farmácias magistrais somente terão credibilidade no mercado, com relação à produção de medicamentos seguros, eficazes e estáveis, se a qualidade for percebida como estratégia para a sustentabilidade do setor (ALMEIDA e FILHO, 2010).

Vários estudos citam a importância da farmácia magistral e seu papel atual na aquisição rotineira de medicamentos, mas ao mesmo tempo em que são visualizadas as vantagens, também é citado a questão da necessidade de um controle de qualidade mais completo e rígido neste setor (ALMEIDA e FILHO, 2010; SOUSA *et al.*, 2013; BONFILIO *et al.*, 2010; GIANOTTO *et al.*,

2008; MARIA e SANTINHO, 2008; MOTA e SOARES, 2012; PISSATO *et al.*, 2006; SILVA *et al.*, 2006).

3.3 INFORMAÇÕES GERAIS SOBRE OS FÁRMACOS ANTI-HIPERTENSIVOS DESTE ESTUDO

Os anti-hipertensivos podem ser classificados de acordo com seus locais de ação, ou pelo mecanismo de ação. Como a pressão arterial é o produto do débito cardíaco pela resistência vascular periférica, ela pode ser reduzida por ações de fármacos sobre a resistência periférica e/ou o débito cardíaco (GOODMAN & GILMAN, 2003).

Entre as formulações complexas de medicamentos anti-hipertensivos mais prescritos e aviados por farmácias de manipulação está a associação de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, a qual foi selecionada para o desenvolvimento deste estudo por conter vários fármacos para a mesma indicação clínica.

3.3.1 Atenolol

O atenolol é um fármaco classificado como antagonista de receptores β -adrenérgicos, que possui efeitos importantes no sistema cardiovascular, sendo utilizado por hipertensos com alguma indicação adicional como angina ou insuficiência cardíaca (RANGE *et al.*, 2007). Foi constatado que o atenolol exerce efeito cardioprotetor, e demonstrado sua eficácia como anti-hipertensivo quando usado em combinação com um diurético para pacientes idosos com hipertensão isolada (GOODMAN & GILMAN, 2003).

3.3.1.1 Descrição

Apresenta-se na forma de pó cristalino branco, ou quase branco. É muito pouco solúvel em água, facilmente solúvel em metanol, solúvel em ácido acético glacial e etanol, pouco solúvel em cloreto de metileno, muito pouco solúvel em acetona, praticamente insolúvel em acetonitrila. Sua faixa de fusão é de 152°C a 155°C (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

3.3.1.2 Características químicas

Possui fórmula molecular $C_{14}H_{22}N_2O_3$, e peso molecular de 266,3 (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

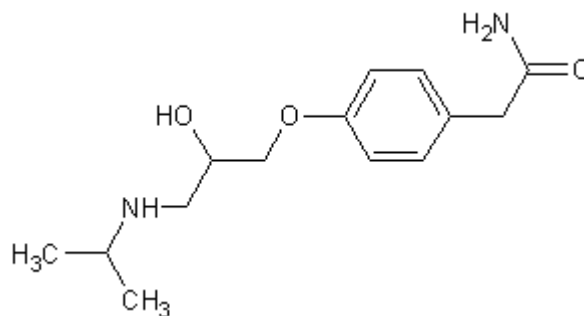


Figura 3.1. Estrutura química do atenolol (FONTE: elaborado no programa ChemSketch).

3.3.2 Espironolactona

A espironolactona é um diurético, mas com uma ação muito limitada quando usado isoladamente, sendo responsável pela reabsorção de apenas 2% do Na^+ filtrado (RANGE *et al.*, 2007), contudo possui acentuado efeito anti-hipertensivo, quando combinados com outros diuréticos, como os de alça. Essa combinação resulta em um aumento da mobilização do líquido corpóreo, enquanto provocam menos perturbação na homeostasia do K^+ . Estudos relataram que a espironolactona quando associada à terapia convencional, reduz substancialmente a morbidade e a mortalidade em pacientes com insuficiência cardíaca (GOODMAN & GILMAN, 2003; PITT *et al.*, 1999).

3.3.2.1 Descrição

Apresenta-se na forma de pó cristalino bege claro a castanho-amarelado. É praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em benzeno e clorofórmio, solúvel em acetato de etila e em etanol absoluto, e pouco solúvel em metanol. Sua faixa de fusão é de 198°C a 207°C (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

3.3.2.2 Características químicas

Possui fórmula molecular $C_{24}H_{32}O_4S$, e peso molecular de 416,6 (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

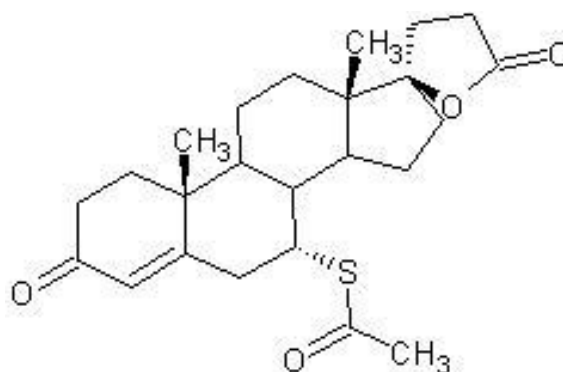


Figura 3.2. Estrutura química da espironolactona (FONTE: elaborado no programa ChemSketch).

3.3.3 Furosemida

A furosemida é um diurético de alça, capaz de causar a eliminação de 15-25% do Na^+ filtrado (RANGE *et al.*, 2007), sendo amplamente utilizada no tratamento da hipertensão (GOODMAN & GILMAN, 2003). Além disso, estudos relataram que este fármaco em comparação com outros diuréticos, como os tiazídicos, provocam perturbações menores no perfil lipídico (GOODMAN & GILMAN, 2003; VAN DER HEIJDEN *et al.*, 1998).

3.3.3.1 Descrição

Apresenta-se na forma de pó cristalino branco ou quase branco e inodoro. É praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em acetona e dimetilformamida, solúvel em metanol, ligeiramente solúvel em etanol, pouco solúvel em éter etílico e praticamente insolúvel em clorofórmio. Também é facilmente solúvel em soluções aquosas de hidróxidos alcalinos. Seu ponto de fusão é em torno de 210°C, seguido da decomposição do fármaco (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b ; FARMACOPEIA BRITANICA, 2009).

3.3.3.2 Características químicas

Possui fórmula molecular $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, e peso molecular de 330,7 (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

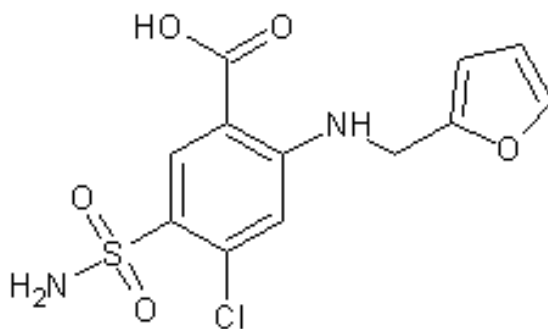


Figura 3.3. Estrutura química da furosemida (FONTE: elaborado no programa ChemSketch).

3.3.4 Losartana

A losartana é um antagonista de receptores de angiotensina II, que ao prevenir os efeitos da angiotensina II, relaxam o músculo liso e dessa maneira promovem a vasodilatação, aumentam a excreção renal de água e sal, reduzem o volume plasmático e diminuem a hipertrofia celular (GOODMAN & GILMAN, 2003), com efeito hipotensor satisfatório e indicado principalmente a pacientes jovens, diabéticos ou com insuficiência cardíaca (GOODMAN & GILMAN, 2003; RANGE *et al.*, 2007).

3.3.4.1 Descrição

Apresenta-se na forma de pó cristalino branco ou quase branco. É solúvel em água e etanol, praticamente insolúvel em acetato de etila, clorofórmio e cloreto de metileno. Também encontrado em forma de sal de potássio. Sua faixa de fusão é de 263°C a 265°C (CHEMICAL BOOK, 2014; U.S. PHARMACOPEIAL Convention, 2014).

3.3.4.2 Características químicas

Possui fórmula molecular $C_{22}H_{23}ClN_6O$, e peso molecular de 422,9 (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b; CLARKE'S, 2011).

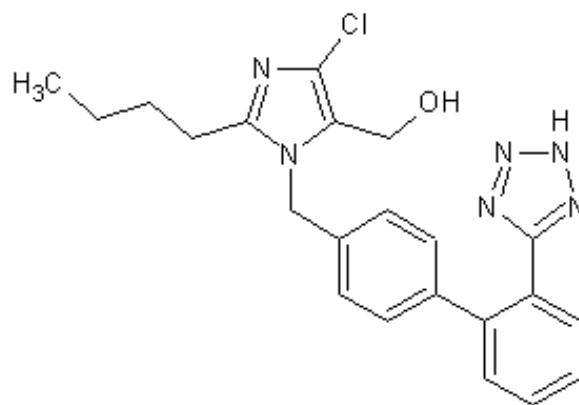


Figura 3.4. Estrutura química da losartana (FONTE: elaborado no programa ChemSketch).

4. CARACTERIZAÇÃO DAS MATÉRIAS-PRIMAS

4.1 INTRODUÇÃO

O controle de qualidade é um fator extremamente importante em todas as etapas da produção de um medicamento. A análise apropriada das matérias-primas até o produto acabado é essencial para que a qualidade do produto final seja confiável, segura e evite desvios que possam ocasionar riscos para a saúde dos pacientes (PUGENS *et al.*, 2008).

Foi proposta a caracterização preliminar das matérias-primas de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana com o objetivo de comprovar a qualificação das mesmas, para que pudessem ser utilizadas como Substâncias Químicas de Referência (SQR) e, para tanto, as técnicas espectroscópicas requeridas na monografia oficial de cada fármaco, descritas na Farmacopeia Brasileira 5ª edição, foram empregadas para alcançar este objetivo (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

A Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica qualitativa que utiliza a faixa do infravermelho (IV) do espectro magnético para identificar moléculas através dos grupamentos funcionais. Os grupos funcionais apresentam uma energia de vibração (pode ser deformação axial ou deformação angular) que ao ser absorvida, gera uma banda no espectro permitindo a identificação dos grupamentos presentes na molécula (GIL *et al.*, 2007; SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

É na região do IV, que se situa entre a faixa de $4000 - 1400 \text{ cm}^{-1}$, onde a maior parte dos grupos funcionais orgânicos mostram bandas de absorção. Já a região do espectro que se encontra entre $1400 - 600 \text{ cm}^{-1}$ é denominada de região da impressão digital (*fingerprint region*), pois é característica única de um composto, assim como a impressão digital é característica única de cada indivíduo (BRUICE, 2004).

Cada tipo de ligação tem sua própria frequência natural de vibração, e como ligações idênticas em diferentes compostos estão em ambientes levemente diferentes, os padrões de absorção no IV de moléculas de estruturas químicas diferentes nunca são exatamente idênticos. Sendo assim, o espectro IV pode servir para as moléculas da mesma forma que as impressões digitais servem para os seres humanos (PAVIA *et al.*, 2010).

A Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta (UV) é uma técnica analítica que faz uso da luz para medir as concentrações químicas. A espectrofotometria no UV ocorre em uma faixa muito reduzida de comprimento de onda, conferindo uma restrição para identificação

de grupos funcionais em relação a outros métodos espectroscópicos como o infravermelho e a ressonância magnética nuclear. Entretanto, a espectrofotometria no UV é uma técnica bastante empregada na identificação de substâncias químicas por ser um método simples, de fácil execução e baixo custo operacional. Também é bastante utilizada para a quantificação de substâncias, apesar de não ter sido empregada para esta finalidade durante este estudo (CORREA, 2006; PAVIA *et al.*, 2010).

A absorção de energia depende da estrutura da molécula, e é por isso também, que a espectroscopia de absorção na região do UV tem ampla aplicação na caracterização de espécies orgânicas e inorgânicas (SKOOG e LEARY, 1992).

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

4.2.1 Matérias-primas

As matérias-primas foram todas compradas de distribuidores licenciados pela ANVISA. O atenolol da marca Gemini, lote 2365A2RII, tem uma pureza declarada de 98,86%, a espironolactona da marca Pharmanostra, lote 12072113F, de 99,4%, a furosemida da marca Deg, lote 9063H2RI, de 100,75% e a losartana, da marca Gemini, lote BLTP/1207478, de 99,12%.

4.2.2 Procedimento analítico

4.2.2.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier

Os espectros de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR), realizados no Instituto de Física da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer, modelo Spectrum 1000 utilizando a técnica de Reflexão Total Atenuada (ATR), na faixa de 4000 a 650 cm^{-1} . Ao final das análises espectrofotométricas, foram comparados os dados espectrais obtidos com aqueles descritos na literatura.

4.2.2.2 Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta (UV)

De acordo com a Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b) foram preparadas soluções em metanol a 0,01% (p/v) de atenolol, 0,001% (p/v) de espironolactona e 0,001% (p/v) de losartana, e uma solução a 0,0005% (p/v) em hidróxido de sódio 0,1M de furosemida. Os espectros de absorção foram registrados numa faixa de comprimento de onda entre 200 e 400 nm, empregando o espectrofotômetro UV/Vis Thermo Scientific modelo Evolution 60[®]. Ao final das análises espectrofotométricas, foram comparados os perfis espectrais obtidos na região do UV com os descritos na literatura.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Espectroscopia de absorção na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

4.3.1.1 Atenolol

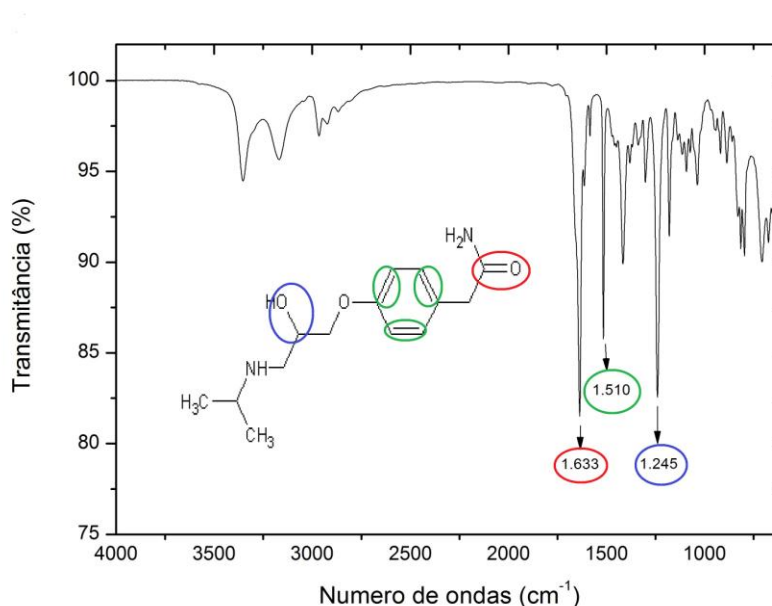


Figura 4.1. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de atenolol.

A Figura 4.1 representa o espectro de absorção na região do IV para a matéria-prima de atenolol. Essa substância apresentou várias vibrações moleculares no espectro de IV, que tornou possível sua caracterização: uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C=O da amida primária (1.633 cm^{-1}), uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C=C do anel aromático (1.510 cm^{-1}), e uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C-O do álcool secundário (1.245 cm^{-1}) (COATES, 2010; PAVIA *et al.*, 2010; SILVA, 2013; SILVERSTEIN *et al.*, 2005;).

4.3.1.2 Espironolactona

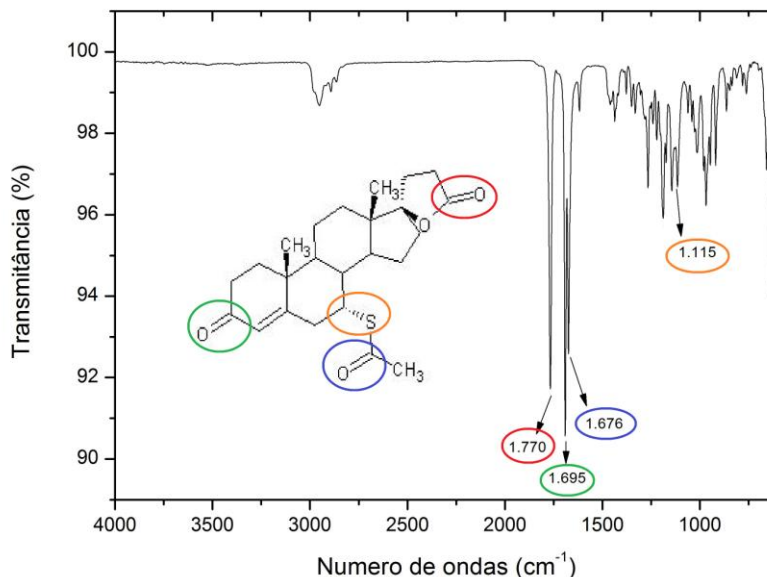


Figura 4.2. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de espironolactona.

O espectro de absorção na região do IV para a matéria-prima de espironolactona está representado na Figura 4.2. Essa substância apresentou várias vibrações moleculares no espectro de IV, que tornou possível sua caracterização: uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C=O da lactona (1.770 cm^{-1}), uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C=O da cetona cíclica (1.695 cm^{-1}), uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C=O da tiocarbonila (1.676 cm^{-1}),

e uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação S-C (1.115 cm^{-1}) (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

4.3.1.3 Furosemida

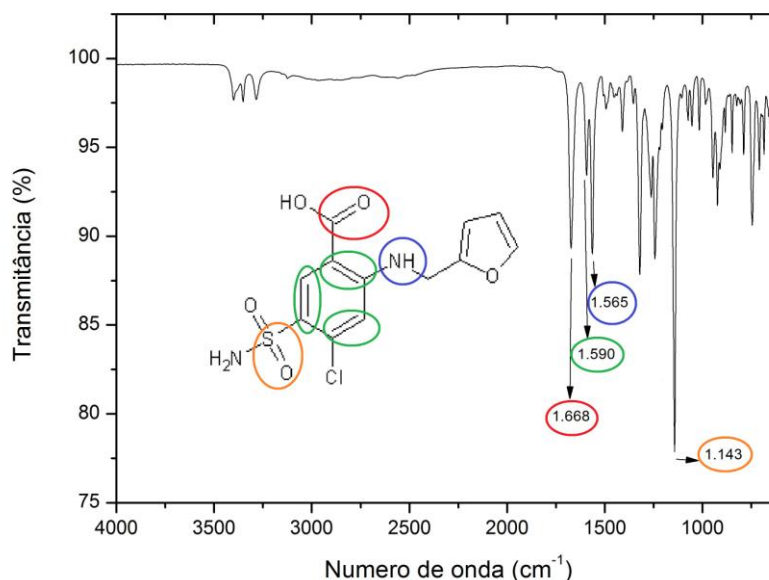


Figura 4.3. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de furosemida.

A furosemida apresentou várias vibrações moleculares no espectro de absorção na região do IV, representadas na Figura 4.3. Algumas destas vibrações tornaram possível sua caracterização: uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação C=O do ácido carboxílico ligado ao anel aromático (1.668 cm^{-1}), uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação C=C do anel aromático (1.590 cm^{-1}), uma banda de média intensidade característica da deformação angular da ligação N-H da amina secundária (1.565 cm^{-1}), e uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação S=O da sulfonamida (1.143 cm^{-1}) (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

4.3.1.4 Losartana

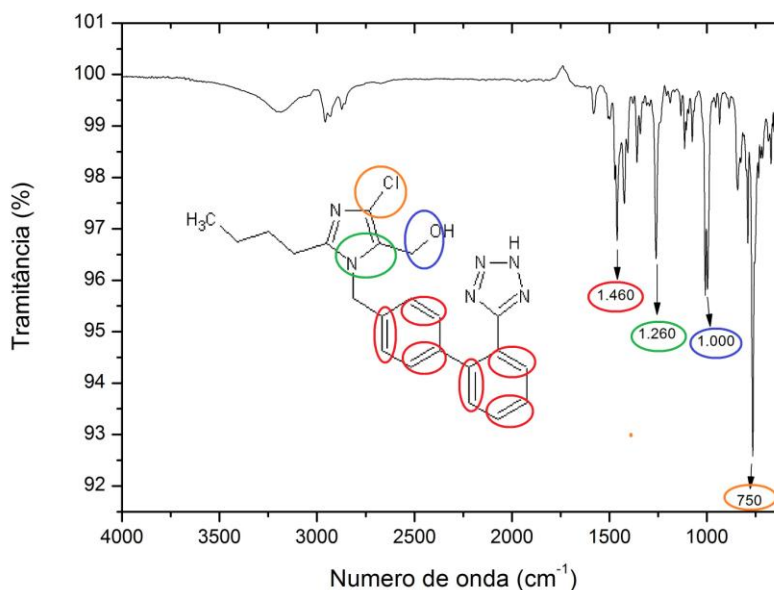


Figura 4.4. Espectro de absorção na região do infravermelho e estrutura química da matéria-prima de losartana.

A Figura 4.4 representa o espectro de absorção na região do IV para a matéria-prima de furosemida. Essa substância apresentou várias vibrações moleculares no espectro de IV, que tornou possível sua caracterização: uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação C=C do anel aromático (1.460 cm^{-1}), uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação C-N da amina aromática (1.260 cm^{-1}), uma banda de média intensidade característica da deformação axial da ligação C-O do álcool primário (1.000 cm^{-1}), e uma banda de forte intensidade característica da deformação axial da ligação C-Cl (750 cm^{-1}) (PAVIA *et al.*, 2010; SILVERSTEIN *et al.*, 2005).

4.3.2 Espectrofotometria de absorção na região do Ultravioleta (UV)

4.3.2.1 Atenolol

Foram observados picos de absorbância nos comprimentos de onda de 275 nm e 282 nm em solução de metanol, para a matéria-prima de atenolol, sendo que a razão entre os valores de absorbância medidos nestes comprimentos de onda é de 1,17, conforme descreve a literatura, que

preconiza que este valor deve estar compreendido entre 1,15 e 1,20 (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b). As características de seu espectro de absorção no UV estão apresentadas na Figura 4.5.

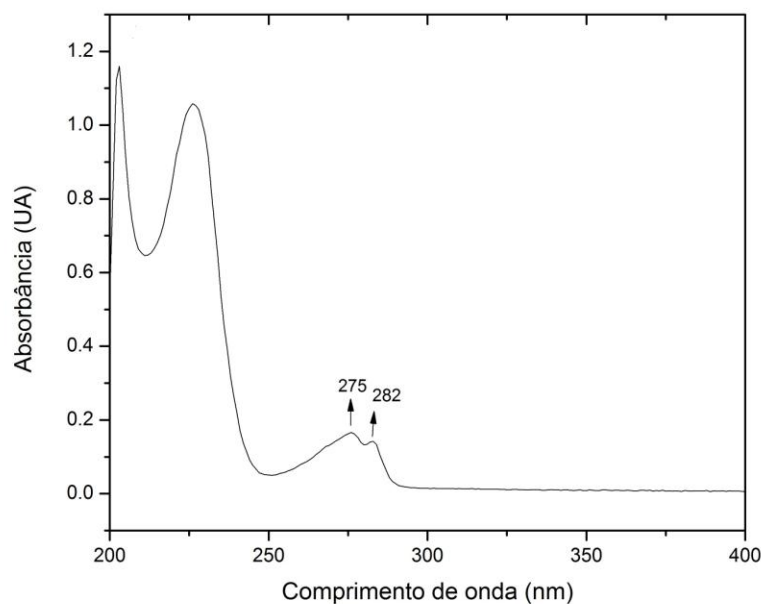


Figura 4.5. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de atenolol na concentração de 0,01% (p/v), utilizando metanol como solvente.

4.3.2.2 Espironolactona

A matéria-prima de espironolactona apresentou absorbância máxima no comprimento de onda de 238 nm em solução de metanol. As características de seu espectro de absorção no UV estão apresentadas na Figura 4.6. O perfil espectral no UV obtido para espironolactona coincide com o que está descrito na literatura (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b).

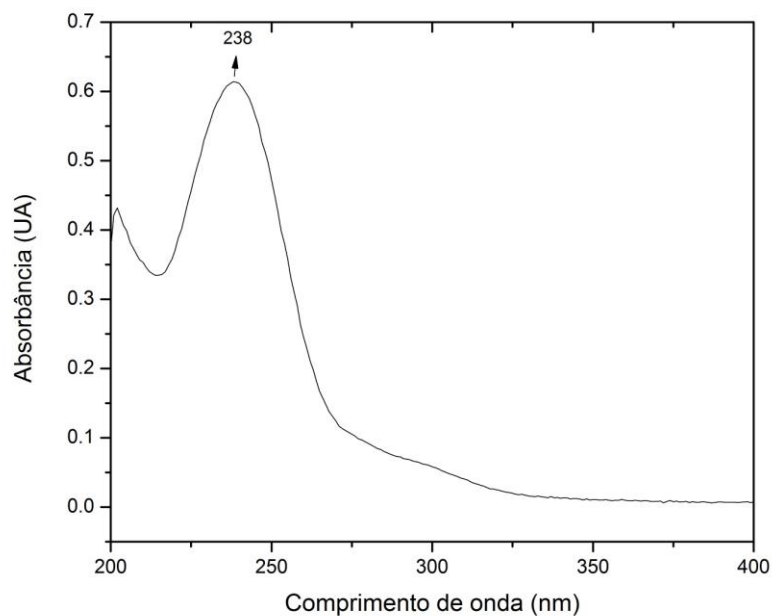


Figura 4.6. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de espironolactona na concentração de 0,001% (p/v), utilizando metanol como solvente.

4.3.2.3 Furosemida

A matéria-prima de furosemida apresentou absorbância nos comprimentos de onda de 228 nm, 271 nm e 333 nm em solução de hidróxido de sódio 0,1M, sendo que a absorbância máxima pode ser observada no comprimento de onda de 228 nm, conforme descrito na literatura consultada (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b). As características de seu espectro de absorção no UV estão apresentadas na Figura 4.7.

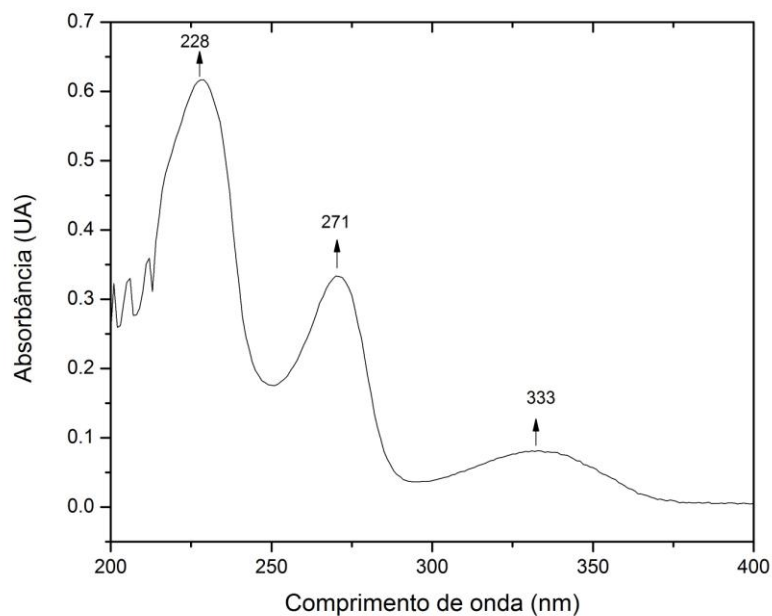


Figura 4.7. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de furosemida na concentração de 0,0005% (p/v), utilizando hidróxido de sódio 0,1M como solvente.

4.3.2.4 Losartana

A matéria-prima de losartana apresentou absorbância máxima no comprimento de onda de 205 nm em solução de metanol. O perfil espectrofotométrico encontrado está de acordo com a literatura consultada (CLARKE'S, 2011; FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b). As características de seu espectro de absorção no UV estão apresentadas na Figura 4.8.

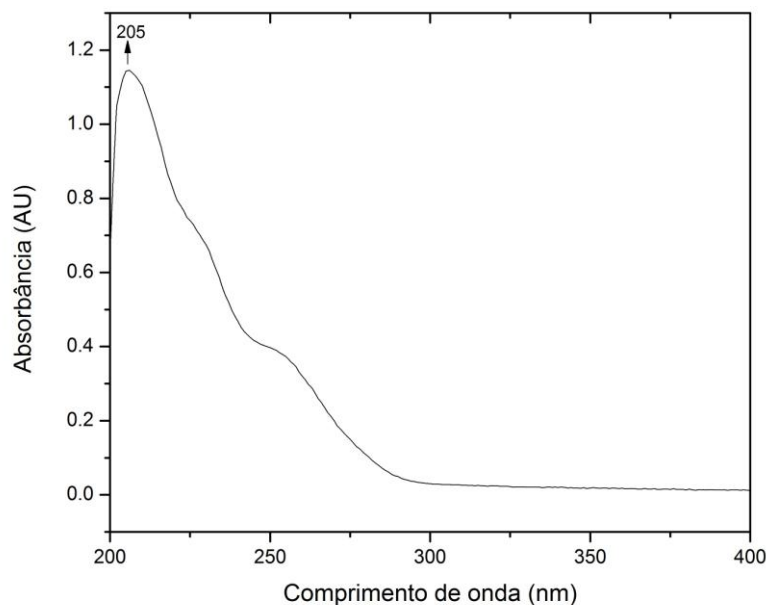


Figura 4.8. Espectro de absorção na região do ultravioleta da matéria-prima de losartana na concentração de 0,001% (p/v), utilizando metanol como solvente.

4.4 CONCLUSÕES

Apesar das técnicas analíticas (IV e UV) realizadas neste estudo não serem específicas, são as recomendadas pela Farmacopeia Brasileira 5ª edição (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b) para a caracterização destas matérias-primas, uma vez que juntas, são complementares e conclusivas.

Todos os ensaios espectroscópicos realizados, tanto na região do IV quanto do UV, apresentaram perfis de absorção conforme descrito na literatura consultada, sendo assim, possível confirmar a identidade das matérias-primas de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana.

Desta forma, após os ensaios de caracterização empregando a espectroscopia IV e espectrofotometria UV, as matérias-primas atenolol, espironolactona, furosemida e losartana puderam ser empregadas como padrão secundário das respectivas SQR, para o desenvolvimento e validação do método analítico proposto, sem necessidade de purificação prévia.

5.1 INTRODUÇÃO

A ANVISA exige altos padrões de qualidade dos medicamentos produzidos em escala industrial (ANVISA – 2010a), e a preocupação com os medicamentos manipulados levou este órgão a adotar medidas que resultaram também no aumento do rigor da qualidade com relação aos produtos magistrais (BONFILIO *et al.*, 2010).

Uma ferramenta indispensável para garantir a qualidade dos medicamentos manipulados é o controle de qualidade, mas que apresenta um alto custo para o estabelecimento, necessidade de adequação de área física, aquisição de equipamentos e treinamento contínuo de pessoas (MARTINELLI *et al.*, 2005). Estas características dificultam a execução do controle de qualidade nas farmácias de manipulação, que em muitos casos não dispõem de recursos suficientes para a execução de práticas onerosas, o que resulta em frequentes questionamentos em relação a qualidade dos produtos manipulados.

Uma consideração importante é que a farmácia magistral pode decidir realizar ou terceirizar os testes de controle de qualidade. Se terceirizado o controle de qualidade, isto é feito mediante contrato com uma empresa responsável pelo serviço, esta deve estar tecnicamente capacitada para esse fim (ANVISA, 2007).

O controle de qualidade de produtos farmacêuticos adquire grande importância, não apenas para avaliar os processos de produção, mas principalmente para assegurar o cumprimento de padrões qualitativos e quantitativos que garantam a eficácia e segurança dos medicamentos.

O desenvolvimento de um método analítico para quantificação de um único fármaco ou de vários, simultaneamente, em uma mesma formulação, é uma tarefa desafiadora e alguns métodos encontrados na literatura tratam desse assunto (IVANOVIS *et al.*, 2007; NIRUPA e TRIPATHI, 2012; NOVAKOVA *et al.*, 2008; SKEIKA *et al.*, 2008). O desafio é ainda maior quando se trata da análise simultânea de fármacos em formulações cujas concentrações de cada componente são bastante diferentes (KUMAR *et al.*, 2012).

Vários métodos analíticos foram descritos na literatura para a análise de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, de forma isolada ou associada a outros fármacos (Tabela 5.1), entretanto, não foi encontrado na literatura científica nenhuma técnica capaz de quantificar simultaneamente esta associação em uma mesma formulação farmacêutica.

Portanto, considerando que o medicamento magistral representa importante papel na saúde pública da população brasileira, foi desenvolvido e validado um método analítico quantitativo para determinação simultânea dos fármacos de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana associados entre si, com vistas ao controle de qualidade de preparações farmacêuticas magistrais.

Tabela 5.1: Métodos analíticos descritos na literatura para a análise de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana.

Método	Autor	Medicamentos	Tipo de material
CLAE ^a	BHATIA <i>et al.</i> , 2012	Atenolol / Atorvastatina/ Ácido acetil Salicílico/ Losartana	Formulação comercial
	DELAMOYE <i>et al.</i> , 2004	Atenolol / Sotalol/ Diacetolol/ Carteolol/ Nadolol/ Pindolol/ Acebutolol/ Metoprolol/ Celiprolol/ Oxprenolol/ Labetalol/ Propranolol/ Tertatolol e Betaxolol	Plasma Humano
	DESHPANDE <i>et al.</i> , 2012	Espironolactona / Torsemide	Matéria-prima e comprimido
	EBEID <i>et al.</i> , 2014	Combinações de Hidroclorotiazida com: Atenolol / Amlodipina/ Candesartana/ Moexipril/ Valsartana	Formulações farmacêuticas
	SOLTANI <i>et al.</i> , 2012	Carvedilol/ Losartana	Plasma e urina
	VISHNUVARDHAN <i>et al.</i> , 2014	Atenolol / Amlodipina/ Atorvastatina/ Enalapril/ Hidroclorotiazida/ Lisinopril/ Losartana	Formulações farmacêuticas
	WALASH <i>et al.</i> , 2013	Espironolactona / Metolazone	Comprimido e urina
	SMAJIC' <i>et al.</i> , 2013	Hidroclotiazida/ Losartana	Formulação comercial
	MASLANKA <i>et al.</i> , 2009	Espironolactona / Furosemida / Hidroclorotiazida / Triamterene	Formulações farmacêuticas
	AL AZZAM <i>et al.</i> , 2010	Atenolol / Amilorida	Formulações farmacêuticas
Espectrofotometria UV ^b	OBANDO <i>et al.</i> , 2008	Hidroclorotiazida / Losartana	Comprimido
HPTLC ^c	HUSSEIN <i>et al.</i> ,	Irbesartana/ Losartana /	Formulações

	2014	Olmesartana/ Valsartana	farmacêuticas e plasma humano
	LAKSHMI e LAKSHMI, 2012	Amlodipina/ Hidroclotiazida/ Losartana	Formulações farmacêuticas
	PANCHAL e SUHAGIA, 2010	Atorvastatina/ Losartana	Comprimido
LC ^d	ARAYNE <i>et al.</i> , 2009	Ácido tranexâmico/ Losartana	Formulações farmacêuticas e soro
LC-MS/MS ^e	GONZALEZ <i>et al.</i> , 2010	Ácido salicílico/ Atenolol / Bisoprolol/ Clortalidona/ Enalapril e seu metabólito ativo/ Fluvastatina/ Hidroclorotiazida/ Valsartana	Plasma
	KALLEM <i>et al.</i> , 2013	Atenolol / Nifedipina	Plasma

^aCromatografia líquida de alta eficiência. ^bEspectrofotometria na região do ultravioleta. ^cCromatografia em camada delgada. ^dCromatografia líquida. ^eCromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

5.2.1 Matérias-primas e amostras

As matérias-primas foram todas compradas de distribuidores licenciados pela ANVISA, com uma pureza declarada para o atenolol de 98,86%, espironolactona de 99,4%, furosemida de 100,75% e para losartana de 99,12%. O placebo constituído de 1% de dióxido de silício 59% celulose microcristalisada e 40% amido de milho também foi adquirido de distribuidores licenciados pela ANVISA. As amostras (1, 2, 3) foram adquiridas aleatoriamente de farmácias magistrais do mercado local. Todas as matérias-primas que foram utilizadas como SQR e as amostras foram mantidas ao abrigo da luz durante o desenvolvimento de todo o estudo. O Metanol grau HPLC (Vetec Química Fina Ltda, Brasil), ácido fosfórico grau analítico (Synth, Brasil) e água ultrapura obtida pelo sistema de filtração Millipore - Direct -Q3[®] foram utilizados em todas as análises.

5.2.2 Procedimento Analítico

As análises por CLAE foram realizadas no cromatógrafo modelo Dionex[®] Ultimate 3000 (Thermo Fisher Scientific, USA), equipado com detector de arranjo de diodos (DAD) Ultimate 3000 RS e bomba Ultimate 3000. O sistema foi conectado a um microcomputador com software Chromeleon[®] 7.1 - Chromatography Data System, com “loop” fixo de 20 μL .

As condições experimentais foram otimizados à temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) empregando uma coluna Kinetex[®] C-18 (100 mm x 4,6 mm, 2,6 μm) da Phenomenex, EUA. As separações foram obtidas do modo isocrático, utilizando uma fase móvel constituída por metanol:água (75:25 v/v, pH 3,0, ajustado com ácido fosfórico), com uma vazão de $0,4\text{mL min}^{-1}$. O detector de arranjo de diodos foi fixado em 225 nm para o atenolol e em 240 nm para espironolactona, furosemida e losartana.

5.2.3 Validação do método de CLAE–DAD

Para assegurar a confiabilidade dos resultados fornecidos pelo método analítico desenvolvido, é necessário que todo o procedimento experimental passe por uma avaliação denominada validação. O objetivo da validação é demonstrar que o método é apropriado para a finalidade pretendida.

A validação do método analítico por CLAE foi efetuada de acordo com os parâmetros de validação de métodos analíticos preconizados pelo International Conference on Harmonization (ICH) e AOAC Guidelines, e os parâmetros avaliados foram: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de quantificação e limite de detecção (sensibilidade) (ANVISA, 2003; ICH, 1994; ICH, 1996).

5.2.3.1 Seletividade

A seletividade foi avaliada por meio da análise de uma solução da mistura de excipientes utilizados na formulação farmacêutica magistral, na concentração de $10\text{ }\mu\text{g mL}^{-1}$, em comparação com o cromatograma obtido da solução de amostra, em 225 nm e 240 nm.

5.2.3.2 Linearidade

A linearidade do método para cada fármaco foi determinada através de curvas de calibração (área do pico versus concentração), preparadas a partir da solução-mãe de cada fármaco diluída em metanol. Posteriormente, diluições seriadas foram realizadas para obtenção do intervalo de concentração, empregando fase móvel como diluente. Para as curvas do atenolol e da espironolactona foram utilizados onze níveis de concentração, para se estabelecer as linhas de regressão linear pelo método dos mínimos quadrados, e doze para as curvas da furosemida e losartana. Todas as determinações cromatográficas foram realizadas em triplicata e à temperatura ambiente ($24 \pm 2^\circ\text{C}$). A avaliação estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA).

5.2.3.3 Precisão

A precisão do método foi avaliada através da precisão intra-dia (repetibilidade) e precisão inter-dia (precisão intermediária). A repetibilidade foi determinada através da análise de uma solução da amostra, nas concentrações de $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de atenolol, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de espironolactona, $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ de furosemida e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de losartana, contemplando o intervalo linear do método, e sendo realizadas em seis replicatas em um mesmo dia. Para avaliar a precisão intermediária, a solução da amostra foi preparada na mesma concentração utilizada na repetibilidade, sendo o procedimento realizado durante três dias consecutivos, e as absorbâncias registradas em seis replicatas. Os resultados do ensaio de precisão foram expressos em termos de desvio padrão relativo (%DPR).

5.2.3.4 Exatidão

A exatidão do método foi determinada por estudos de recuperação através da adição de quantidades conhecidas de soluções-padrão na solução da amostra, seguido por análise usando o método proposto.

Foi preparada uma solução de amostra na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de atenolol, $25 \mu\text{g mL}^{-1}$ de espironolactona, $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ de furosemida e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ de losartana. Em seguida, foram transferidas alíquotas da solução padrão de cada fármaco, nas concentrações de 2, 4 e $6 \mu\text{g}$

mL⁻¹ para diferentes balões volumétricos de 25 mL, nos quais continha um volume da solução de amostra que ao final da diluição resultaria em 4 µg mL⁻¹ de cada fármaco. Os volumes foram completados com fase móvel e as determinações espectrofotométricas foram realizadas em triplicata à temperatura ambiente (24 ± 2°C).

O percentual de recuperação (%R) foi calculado de acordo com o indicado pela Association of Official Analytical Chemists International (AOAC, 2005):

$$\%R = \frac{(Ca - Cna)}{Cp} \times 100$$

Onde:

Ca = Concentração de fármaco encontrada na amostra adicionada de padrão;

Cna = Concentração de fármaco encontrada na amostra não adicionada de padrão;

Cp = Concentração teórica de padrão.

5.2.3.5 Robustez

A robustez foi avaliada por mudanças sutis das condições cromatográficas e suas influências sobre a área do pico, o tempo de retenção (*t_R*) e fator de assimetria (*A_S*). Os fatores (condições cromatográficas) selecionados para análise da robustez foram a porcentagem de metanol na fase móvel, o pH da água na fase móvel e o fluxo. Cada elemento foi analisado em três níveis (-1, 0, e +1). O nível 0 refere-se às condições normais empregadas no método proposto. A partir deste nível, as condições cromatográficas foram modificadas para um nível mais elevado (+ 1) ou um nível mais baixo (- 1). Enquanto uma condição foi alterada, as outras permaneceram no nível 0. Para cada alteração foram feitas injeções em triplicata (*n* = 3) da solução de amostra nas concentrações de 10 µg mL⁻¹ de atenolol, 5 µg mL⁻¹ de espironolactona, 4 µg mL⁻¹ de furosemida e 10 µg mL⁻¹ de losartana. A análise estatística foi obtida pelo teste estatístico *t*.

5.2.3.6 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O LD foi calculado com base no desvio padrão e nos coeficientes angulares (inclinação) das curvas de calibração. Este parâmetro foi teoricamente obtido através da equação abaixo:

$$LD = 3,3 \sigma/s$$

Onde σ representa o desvio padrão do y-intercepto e s é o coeficiente angular (inclinação) da curva de calibração correspondente.

O LQ foi determinado experimentalmente através da injeção de soluções diluídas a partir de uma solução de padrão na concentração de $1,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, sendo considerados $\text{DPR} > 2\%$.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Otimização

Para estabelecer a fase móvel ideal para a separação simultânea e quantitativa dos quatro fármacos de interesse para este estudo, várias combinações de solventes foram empregadas em diferentes proporções, bem como o uso de modificadores orgânicos. As vazões experimentais foram as compatíveis com a coluna cromatográfica Kinetex[®] C18, e após estudos sistemáticos, verificou-se que a melhor condição cromatográfica foi obtida com metanol:água (75:25), pH 3,0, ajustado com ácido fosfórico.

Nos primeiros testes foi utilizada uma fase móvel constituída de metanol:água (80:20, v/v), mas não foi possível a separação completa e eficiente dos fármacos, como pode ser visualizado na Figura 5.1.

Baseando-se nas características ácido-base dos fármacos (BEALE e BLOCK, 2011; BORGES *et al.*, 2012), ajustou-se o pH para 3,0 da fase móvel metanol:água (80:20, v/v), com ácido fosfórico, o que resultou na separação dos quatro fármacos da formulação, entretanto os picos referentes ao atenolol e a furosemida apresentaram tempos de retenção muito próximos. O cromatograma obtido pode ser visualizado na Figura 5.2.

Posteriormente, foi feito um ajuste na quantidade do modificador orgânico (metanol), empregando a proporção de metanol:água (75:25, v/v, pH 3,0), e nesta condição otimizada foi possível obter picos simétricos, com pureza > 950 e parâmetros adequados (Tabela 5.2) durante a

separação dos quatro fármacos, na seguinte ordem de eluição: atenolol, furosemida, losartana e espironolactona, com tempos de retenção (t_R) de 2,11, 2,58, 3,23 e 3,88 minutos respectivamente (Figura 5.3).

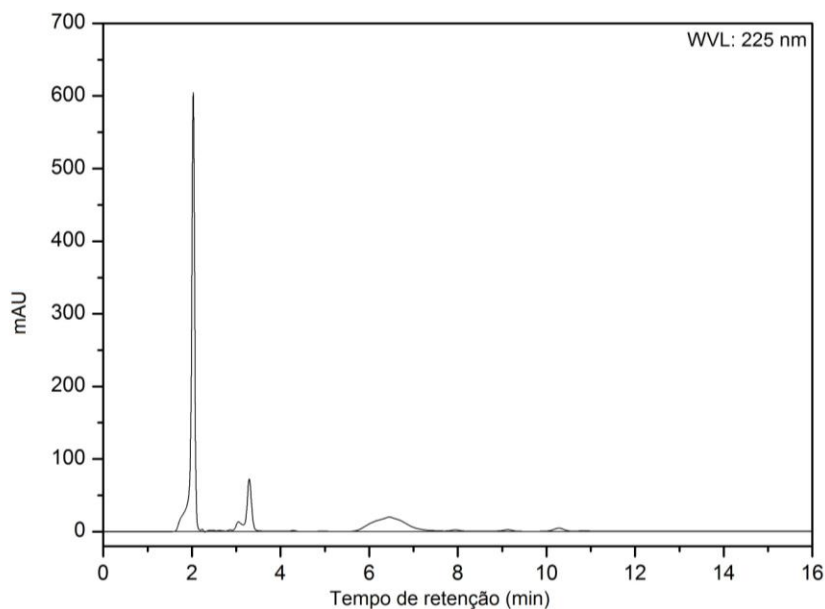


Figura 5.1. Cromatograma da solução dos padrões de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (80:20, v/v).

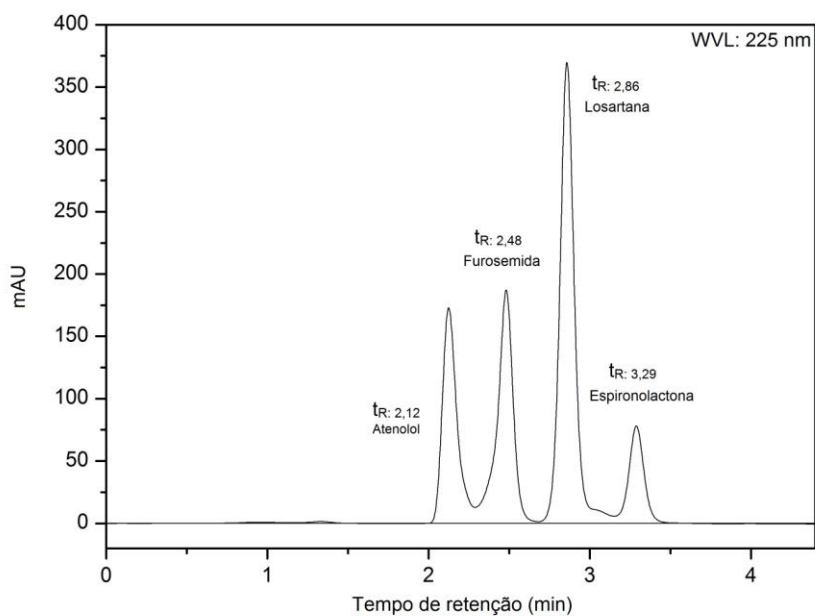


Figura 5.2. Crtograma da solução dos padrões de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (80:20, v/v) como fase-móvel, em pH 3,0 ajustado com H_3PO_4 .

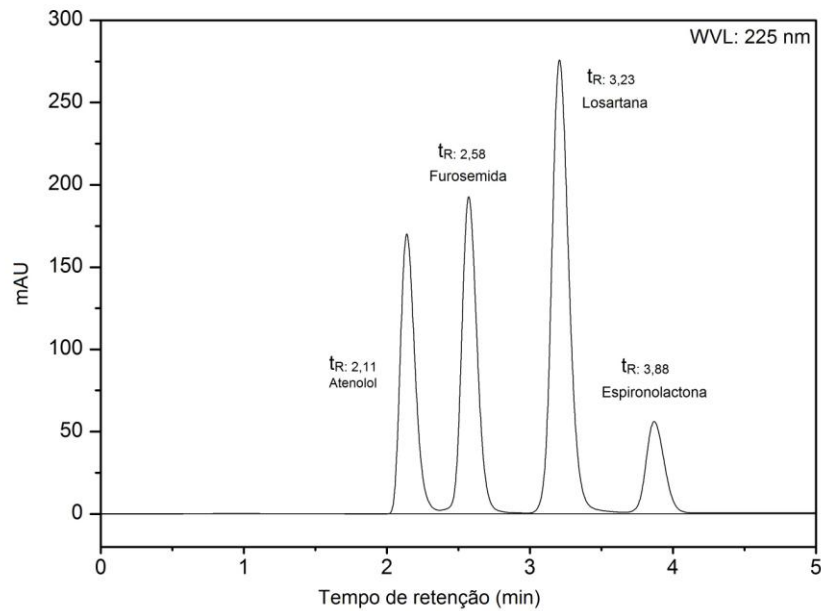


Figura 5.3. Cromatograma da solução dos padrões de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, obtido em 225 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase-móvel, em pH 3,0 ajustado com H_3PO_4 .

Tabela 5.2: Parâmetros obtidos através do método cromatográfico proposto.

Parâmetros	Valores obtidos	Valores de referência
Resolução (R)	$R_{1,2} = 2,23$ $R_{2,3} = 2,99$ $R_{3,4} = 2,71$	$R > 1,5$
Assimetria (T)	$T_1 = 1,08$ $T_2 = 1,15$ $T_3 = 1,14$ $T_4 = 1,16$	Valores aceitos de T entre (0,9 – 1,2)
Fator Capacidade (K)	$K_1 = 1,34$ $K_2 = 1,89$ $K_3 = 2,64$ $K_4 = 3,39$	Valores aceitos de K entre (1 – 10)
Número de Pratos Teóricos (N)	$N_1 = 2.470$ $N_2 = 3.266$ $N_3 = 4.164$ $N_4 = 5.170$	Aumenta conforme a eficiência da separação

Onde 1, 2, 3 e 4 são atenolol, furosemida, losartana e espironolactona, respectivamente.

5.3.2 Seletividade

Seletividade é a capacidade que um método possui de determinar um analito específico na presença de outras substâncias, sem que haja interferência dos demais componentes na análise (PAPADOYANNIS e SAMANIDOU, 2004).

A mistura de excipientes, que fazem parte da composição da formulação farmacêutica magistral analisada, não interferiu na separação e quantificação de atenolol, espironolactona, furosemda e losartana através do método proposto, uma vez que o único pico observado tem tempo de retenção (t_R) maior que o dos fármacos deste estudo, como pode ser verificado através da Figura 5.4 e Figura 5.5.

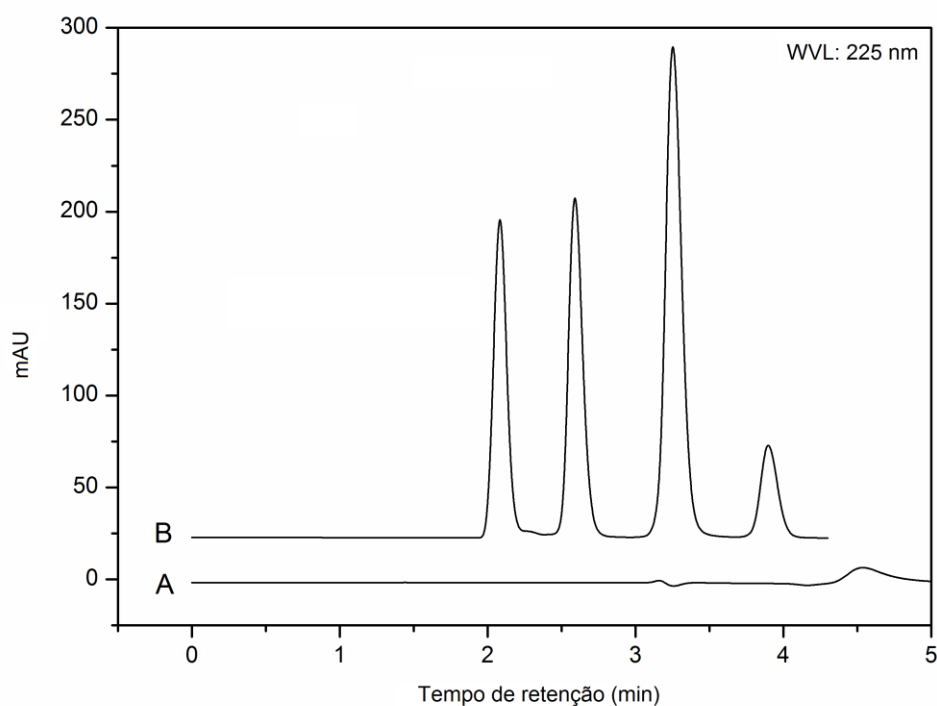


Figura 5.4. Cromatograma da solução da mistura de excipientes (A) e da solução de amostra (B) com a seguinte ordem de eluição: atenolol, furosemda, losartana e espironolactona, obtido em 225 nm, empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase-móvel, em pH 3,0 ajustado com H_3PO_4 .

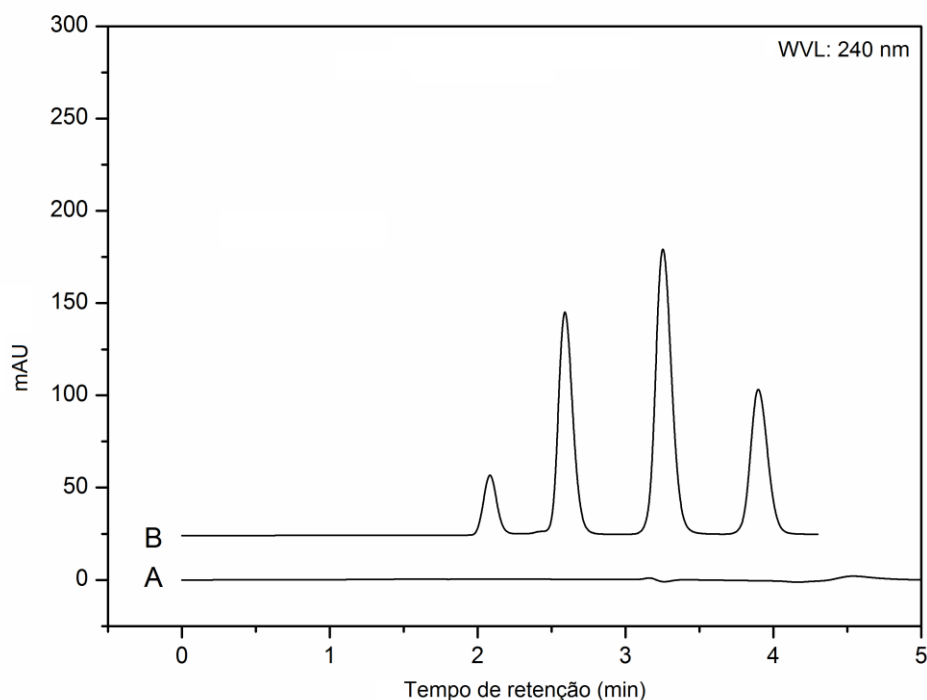


Figura 5.5. Cromatograma da solução da mistura de excipientes (A) e da solução de amostra (B) com a seguinte ordem de eluição: atenolol, furosemida, losartana e espironolactona, obtido em 240 nm, empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase-móvel, em pH 3,0 ajustado com H_3PO_4 .

5.3.3 Linearidade

A linearidade é a capacidade de uma metodologia analítica de demonstrar que os resultados obtidos são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo especificado (ANVISA, 2003a).

A linearidade do método foi avaliada no intervalo de concentração de $0,75\text{--}12,00\ \mu\text{g mL}^{-1}$ para atenolol, $0,45\text{--}12,00\ \mu\text{g mL}^{-1}$ para espironolactona, $0,30\text{--}12,00\ \mu\text{g mL}^{-1}$ para furosemida e $0,45\text{--}12,00\ \mu\text{g mL}^{-1}$ para losartana.

As curvas analíticas de cada fármacos estão ilustradas nas Figuras 5.6, 5.7, 5.8 e 5.9.

Para todos os fármacos o coeficiente de correlação (r) foram superiores a 0,999, o que indica uma correlação linear entre as áreas dos picos e as concentrações dos fármacos. A Tabela

5.3 ilustra os intervalos de concentração de cada uma das curvas de concentração, os coeficientes de correlação, interceptos e coeficientes angulares.

Tabela 5.3: Valores obtidos para curva de calibração de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.

Parâmetros	Atenolol (225 nm)	Espironolactona (240 nm)	Furosemida (240 nm)	Losartana (240 nm)
Intervalo de concentração*	0,75 – 12,00	0,45 – 12,00	0,30 – 12,00	0,45 – 12,00
Coeficiente de correlação	0,9995	0,9999	0,9997	0,9995
Intercepto (a)	1,9433	2,7421	3,5176	2,1472
Coeficiente angular (b)	0,5744	-0,1150	0,5750	0,9123
S _a	0,1406	0,0648	0,1762	0,1543
S _b	0,0217	0,0100	0,0284	0,0249

*Apresentado em $\mu\text{g mL}^{-1}$; S_a: desvio padrão do intercepto; S_b: desvio padrão do coeficiente angular.

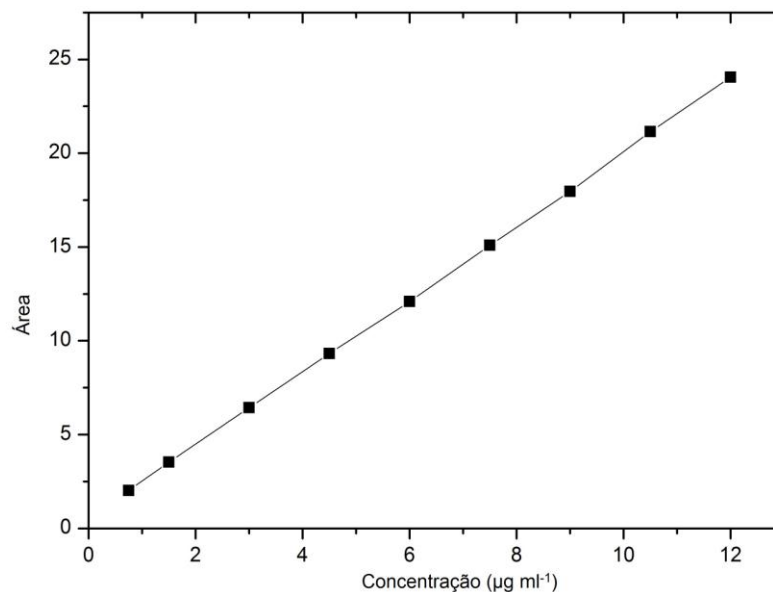


Figura 5.6. Curva de calibração de atenolol obtida em 225 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.

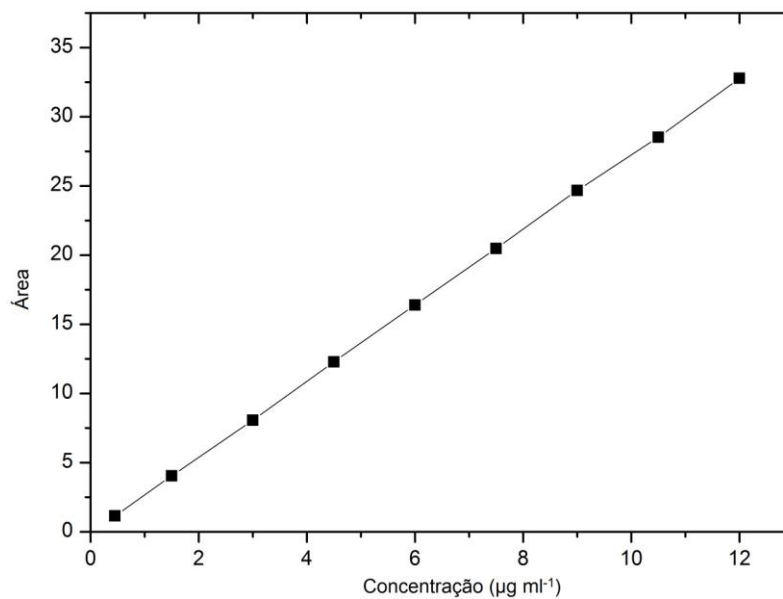


Figura 5.7. Curva de calibração de espironolactona obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.

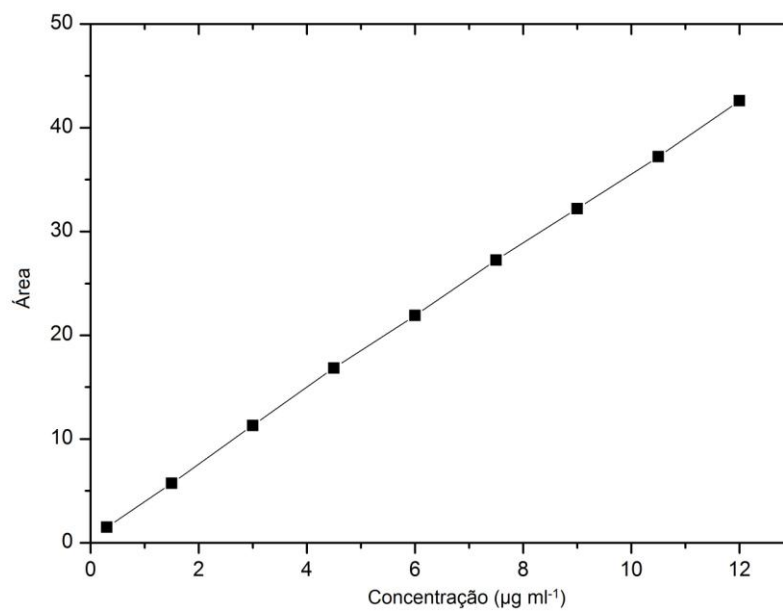


Figura 5.8. Curva de calibração de furosemida obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.

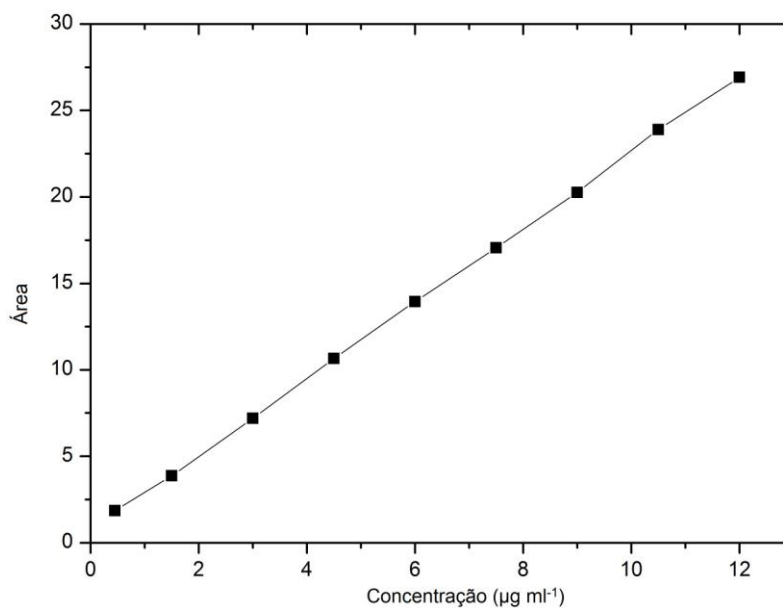


Figura 5.9. Curva de calibração de losartana obtida em 240 nm e empregando metanol:água (75:25, v/v) como fase móvel, em pH 3,0.

5.3.4 Precisão

A precisão é a avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma amostragem múltipla de uma mesma amostra (ANVISA, 2003a).

Os valores obtidos tanto para precisão intra-dia (repetibilidade) quanto para a inter-dia (precisão intermediária) de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, foram expressos em termos de DPR (%) e foram menores que 0,73% para repetibilidade e 1,5% para precisão intermediária, e estão descritos na Tabela 5.4. Estes resultados revelam que o método apresentou precisão para determinação simultânea destes fármacos em formulações farmacêuticas magistrais.

Tabela 5.4: Resultados do ensaio de precisão através do método cromatográfico proposto.

Fármacos	Concentração teórica ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração experimental $\pm$ DPR ^c (%)			
		Repetibilidade ^a			Precisão Intermediária ^b
		Dia 1	Dia 2	Dia3	
Atenolol	10	102,18 $\pm$ 0,45	101,08 $\pm$ 0,26	100,78 $\pm$ 0,71	101,34 $\pm$ 0,72
Espironolactona	5	97,98 $\pm$ 0,36	97,23 $\pm$ 0,29	96,36 $\pm$ 0,23	97,19 $\pm$ 0,83
Furosemida	4	96,58 $\pm$ 0,22	96,75 $\pm$ 0,58	94,18 $\pm$ 0,55	95,84 $\pm$ 1,50
Losartana	10	100,05 $\pm$ 0,73	98,93 $\pm$ 0,30	97,73 $\pm$ 0,29	98,90 $\pm$ 1,17

^a Média de 6 determinações.^b Média das 3 determinações realizadas em três dias diferentes.^c Desvio Padrão Relativo.

5.3.5 Exatidão

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos pelo método em estudo em relação ao valor verdadeiro (ANVISA, 2003a). A exatidão do método foi determinada por estudos de recuperação, utilizando o método de adição de padrão, tal como recomendado pelo AOAC (AOAC, 2005).

Os valores médios de recuperação foram 100,18 $\pm$ 1,2% para atenolol, 99,94 $\pm$ 0,93% para espironolactona, 99,83 $\pm$ 1,54% para furosemida e 100,07 $\pm$ 0,95% para losartana (Tabela 5.5). Estes resultados estão de acordo com os limites aceitáveis (100 $\pm$ 2%), e sugerem a exatidão do método proposto.

Tabela 5.5: Resultados do ensaio de recuperação através do método cromatográfico proposto.

Fármacos	Concentração final teórica do padrão ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentração experimental ^a ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperação (%)	
			Resultado	Média $\pm$ DPR ^b (%)
Atenolol	2,00	1,99	99,29	100,18 $\pm$ 1,2
	4,00	3,99	99,71	
	6,00	6,09	101,54	
Espironolactona	2,00	1,98	99,20	99,94 $\pm$ 0,93
	4,00	4,04	100,98	
	6,00	5,98	99,64	
Furosemida	2,00	1,97	98,26	99,83 $\pm$ 1,54
	4,00	3,99	99,87	
	6,00	6,08	101,35	
Losartana	2,00	1,98	99,00	100,07 $\pm$ 0,95
	4,00	4,02	100,45	
	6,00	6,05	100,78	

^a Média de 3 determinações. ^b Desvio Padrão Relativo.

5.3.6 Robustez

A robustez de um método analítico é a medida de sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações dos parâmetros analíticos. Indica sua confiança durante o uso normal (ANVISA, 2003a).

Os resultados obtidos para robustez indicaram que pequenas mudanças nas condições cromatográficas, não alteraram significativamente as áreas do pico, o tempo de retenção e assimetria do pico. Uma mudança de 1,3% na proporção de metanol na fase móvel e de 0,3% no pH da água da fase móvel e 2,5% no fluxo da fase móvel resultaram em pequenas alterações dos parâmetros analisados, como pode ser visto na Tabela 5.6, mas sem comprometer a separação e análise dos fármacos.

Tabela 5.6: Resultados do ensaio de robustez através do método cromatográfico proposto.

Fármacos	Condições Cromatográficas		Parâmetros		
	Fator ^a	Nível	Área do pico	TR ^b (min)	As ^c
A: % de metanol na fase móvel (v/v)					
Atenolol	74	-1	21,13	2,14	1,33
	75	0	19,99	2,11	1,33
	76	1	20,51	2,14	1,27
Espironolactona	74	-1	13,24	4,04	1,17
	75	0	12,96	3,88	1,19
	76	1	13,27	3,74	1,13
Furosemida	74	-1	15,48	2,60	1,14
	75	0	15,13	2,58	1,16
	76	1	15,39	2,55	1,17
Losartana	74	-1	22,78	3,31	1,14
	75	0	22,41	3,23	1,15
	76	1	22,83	3,12	1,14
B: pH da fase móvel					
Atenolol	2,99	-1	21,39	2,14	1,27
	3,00	0	19,99	2,11	1,33
	3,01	1	21,26	2,13	1,24
Espironolactona	2,99	-1	13,99	3,88	1,15
	3,00	0	12,96	3,88	1,19
	3,01	1	13,97	3,89	1,16
Furosemida	2,99	-1	16,30	2,58	1,16
	3,00	0	15,13	2,58	1,16
	3,01	1	16,39	2,58	1,16
Losartana	2,99	-1	24,05	3,21	1,14
	3,00	0	22,41	3,23	1,15
	3,01	1	23,95	3,23	1,15
C: Fluxo (mL min⁻¹)					
Atenolol	0,39	-1	20,91	2,23	1,37
	0,40	0	19,99	2,11	1,33
	0,41	1	18,84	2,13	1,25
Espironolactona	0,39	-1	13,20	3,95	1,19
	0,40	0	12,96	3,88	1,19
	0,41	1	12,01	3,75	1,13
Furosemida	0,39	-1	14,95	2,62	1,24
	0,40	0	15,13	2,58	1,16
	0,41	1	12,35	2,49	1,19
Losartana	0,39	-1	23,39	3,25	1,19
	0,40	0	22,41	3,23	1,15
	0,41	1	20,04	3,08	1,14

Três fatores^a (A,B,C) foram alterados em três níveis (-1, 0, 1). ^bTempo de retenção. ^cAssimetria.

5.3.7 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

LD é a menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas, enquanto que o LQ é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003a).

Os valores de LD foram $0,15 \mu\text{g mL}^{-1}$ para atenolol, $0,03 \mu\text{g mL}^{-1}$ para espironolactona, $0,15 \mu\text{g mL}^{-1}$ para furosemida e $0,04 \mu\text{g mL}^{-1}$ para losartana. Os valores de LQ foram $0,75 \mu\text{g mL}^{-1}$ para atenolol, $0,45 \mu\text{g mL}^{-1}$ para espironolactona, $0,30 \mu\text{g mL}^{-1}$ para furosemida e $0,45 \mu\text{g mL}^{-1}$ para losartana, indicando que o método proposto apresenta boa sensibilidade para determinação desses fármacos.

5.4 CONCLUSÕES

Um método de CLAE-DAD foi desenvolvido e validado para determinação simultânea de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana associados em formulações farmacêuticas.

Este método mostrou especificidade, precisão, exatidão, sensibilidade e robustez, além de ser simples, rápido, isocrático e utilizar reagentes de baixo custo. A principal vantagem do método proposto é a sua eficiência, podendo analisar estes fármacos em menos de 5 minutos.

Os resultados apresentados sugerem que o método proposto pode ser utilizado na rotina do controle de qualidade para análise de medicamentos contendo esta associação de fármacos, bem como para análise quantitativa de cada fármaco isoladamente.

6.1 INTRODUÇÃO

Acredita-se que hoje, o maior obstáculo das farmácias magistrais seja a falta de credibilidade junto à suposta falta de um rígido controle de qualidade se comparado à indústria, tanto das matérias-primas quanto dos produtos acabados, nas análises de teor e homogeneidade (uniformidade). Esta conquista de credibilidade é fundamental para a estabilidade e consolidação do setor magistral (ALMEIDA e FILHO, 2010).

A RDC n° 67, de 8 de outubro de 2007, que atualmente dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em farmácias, preconiza testes de controle de qualidade de acordo com o tipo de preparação magistral (ANVISA, 2007). A determinação de peso médio das cápsulas se aplica a formas farmacêuticas sólidas em dose unitária que incluem os comprimidos não revestidos, comprimidos revestidos, pastilhas, supositórios, e cápsulas moles e duras, dentre outras formas farmacêuticas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010a), e quando realizado o ensaio de peso médio, devem ser calculados também, o desvio padrão e o DPR em relação ao peso médio (ANVISA, 2007), através dos quais é possível avaliar a uniformidade no preenchimento das cápsulas com a mistura de pós (fármacos + excipientes) dentro de um mesmo lote.

A determinação do teor dos fármacos garante verificar a quantidade de cada fármaco presente em uma preparação farmacêutica. É um ensaio de extrema importância, uma vez que teores de princípio ativo abaixo dos limites especificados podem levar à ineficiência do efeito terapêutico, e por outro lado, teores acima dos limites podem resultar em efeitos tóxicos (PEZZINI *et al.*, 2004).

Os limites de teor dos fármacos nas formulações estão preconizados pelos compêndios oficiais, descritos nas respectivas monografias de cada fármaco, isto é, no mínimo 90% e no máximo 110% (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010a).

Com o objetivo de avaliar a qualidade dos medicamentos magistrais adquiridos durante este estudo, os mesmos foram submetidos aos dois testes: determinação de peso e determinação do teor dos fármacos.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

6.2.1 Amostras

As amostras comerciais (1, 2, 3) de cápsulas contendo 50 mg de atenolol, 25 mg de espironolactona, 20 mg de furosemida e 50 mg de losartana, foram adquiridas aleatoriamente de três farmácias de manipulação do município de Campo Grande -MS.

6.2.2 Controle de qualidade

6.2.2.1 *Determinação de peso*

Para determinação do peso médio, foram pesadas individualmente 20 unidades de cápsulas, removendo o conteúdo de cada uma posteriormente e pesando novamente a cápsula vazia. Foi determinado o peso do conteúdo de cada cápsula, pela diferença de peso entre a cápsula cheia e a vazia. Com os valores obtidos determinou-se o peso médio do conteúdo (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010a).

As determinações de peso foram obtidas em balança analítica da marca Shimadzu® AY 220.

6.2.2.2 *Determinação de teor*

Para determinação de teor, as amostras foram analisadas através do método de CLAE proposto, e a partir do valor do peso médio de cada amostra, foram preparadas soluções em fase móvel contendo teoricamente $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de atenolol, $5 \mu\text{g mL}^{-1}$ de espironolactona, $4 \mu\text{g mL}^{-1}$ de furosemida e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ de losartana, utilizando as respectivas curvas de calibração para o cálculo do teor dos fármacos.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.3.1 Determinação de peso

Para cápsulas duras, com peso médio inferior que 300 mg, o limite de variação aceitável é de $\pm 10,0\%$, e para aquelas com peso médio igual ou superior a 300 mg, é $\pm 7,5,0\%$, não sendo tolerado mais que duas unidades fora dos limites especificados, e nenhuma fora dos limites de exclusão, que trata-se do dobro da variação aceitável (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010a).

A determinação de peso médio das cápsulas das amostras 1, 2 e 3 apresentaram resultados muito satisfatórios, uma vez que todas as cápsulas pesadas mantiveram-se dentro da variação de peso aceitável, não apresentando nenhuma unidade fora dos limites especificados, tampouco fora dos limites de exclusão.

Para complementar a avaliação da qualidade das cápsulas, avaliou-se outros parâmetros estatísticos como DPR (%) e erro absoluto (%), tendo sido este último calculado pela equação abaixo (PALUDETTI, 2005).

$$E\% = [(PM / PT) - 1] \times 100$$

Onde PM é o peso médio obtido e PT é o peso teórico esperado.

Os resultados obtidos nos ensaio de determinação de peso das amostras comerciais 1, 2 e 3, podem ser visualizados na Tabela 6.1 e Figura 6.1.

Tabela 6.1: Resultados obtidos no ensaio de determinação de peso de 20 unidades de cápsulas das amostras comerciais 1,2,3.

Parâmetros	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
Desvio Padrão	5,48	6,77	7,00
DPR^a (%)	1,97	2,14	2,94
Erro absoluto (%)	1,12	-0,06	-7,11

^a Desvio Padrão Relativo

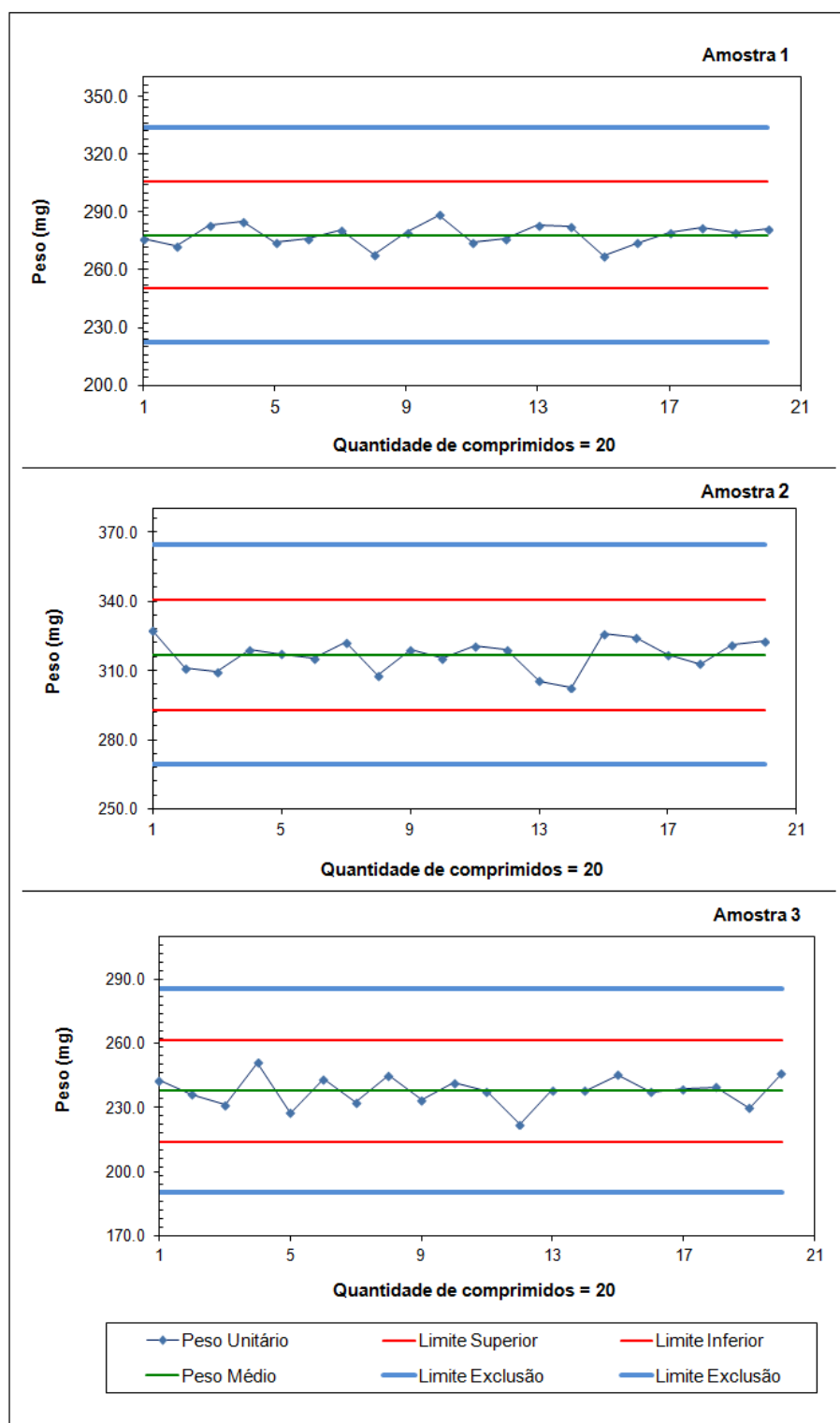


Figura 6.1. Peso individual de 20 unidades de cápsulas, contendo 50 mg de atenolol, 25 mg de espironolactona, 20 mg de furosemida e 50 mg de losartana. Amostra comerciais 1,2,3.

6.3.2 Determinação de teor

As amostras testadas (1, 2, 3) foram aprovadas no teste de determinação de teor, uma vez que todas permaneceram dentro dos limites preconizados pelos compêndios oficiais, indicando que os parâmetros de qualidade exigidos foram cumpridos.

Os resultados obtidos na análise das formulações farmacêuticas magistrais avaliadas são apresentados na Tabela 6.2.

Tabela 6.2: Análise da formulação comercial utilizando o método de CLAE proposto.

Formulação magistral ^a	Fármacos	Concentração teórica (µg mL ⁻¹)	Teor encontrado ^b (%) ± DPR ^c
Amostra 1	Atenolol	10,00	101,86 ± 1,25
	Espironolactona	5,00	96,36 ± 1,47
	Furosemida	4,00	96,91 ± 1,41
	Losartana	10,00	97,51 ± 0,28
Amostra 2	Atenolol	10,00	105,68 ± 0,31
	Espironolactona	5,00	100,61 ± 0,51
	Furosemida	4,00	100,37 ± 0,91
	Losartana	10,00	96,96 ± 0,44
Amostra 3	Atenolol	10,00	96,78 ± 0,94
	Espironolactona	5,00	92,72 ± 0,76
	Furosemida	4,00	92,23 ± 1,82
	Losartana	10,00	99,52 ± 0,66

^a Amostras comerciais (Formulações magistrais 1, 2, 3) contendo 10 mg de atenolol, 5 mg de espironolactona, 4 mg de furosemida e 10 mg de losartana. ^b Média de três determinações. ^c Desvio Padrão Relativo.

6.4 CONCLUSÕES

Com a determinação de peso das cápsulas das formulações magistrais, amostras 1, 2 e 3, observou-se que os parâmetros obtidos estão de acordo com os limites especificados, e que a amostra 2 foi a que mais se aproximou do valor teórico esperado, apresentando o menor valor erro absoluto, seguida pela 1 e 3.

Com relação ao teor dos fármacos nas formulações, estes permaneceram dentro dos limites preconizados pelos compêndios oficiais, descritos nas respectivas monografias de cada fármaco.

Pode-se concluir ainda, que o método de CLAE de fase reversa desenvolvido e validado, foi capaz de quantificar simultaneamente atenolol, espironolactona, furosemida e losartana em preparações magistrais, de maneira simples e adequada.

7. AVALIAÇÃO DA INTERAÇÃO FÁRMACO-FÁRMACO E FÁRMACO-EXCIPIENTE

7.1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a aplicação de técnicas de análise térmica para o conhecimento de interações físico-químicas entre fármacos, e entre fármacos e excipientes, tem aumentado muito (MURA, *et al.*, 1998), sendo importante o conhecimento destas interações, uma vez que as mesmas podem influenciar na segurança e eficácia do medicamento (MURA, *et al.*, 1998; DOUSA, *et al.*, 2011). Entretanto, a presença de uma interação sólido-sólido não indica, necessariamente, uma incompatibilidade farmacêutica (MURA *et al.*, 1998), e além disso, através da identificação das interações podem-se utilizar estratégias para minimizá-las, caso não seja possível evitá-las (NARANG, *et al.*, 2009).

Atualmente, a técnica de análise térmica mais utilizada para estes estudos é a Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), mas a Termogravimetria (TG) pode ser realizada de forma a complementar os dados obtidos (THOMAS e NAATH, 2008, OLIVEIRA, *et al.*, 2011). Estas análises são realizadas, porque, se o fármaco for compatível com os excipientes em altas temperaturas, é necessariamente compatível com os mesmos em temperatura ambiente (DESAI, *et al.*, 2003). A análise por DSC é um método rápido de verificar interações físico-químicas entre os componentes de uma formulação (MURA *et al.*, 1998, DESAI, *et al.*, 2003). Além disso, esta técnica requer uma quantidade pequena de amostra (LILTROP *et al.*, 2011), o que facilita sua utilização.

O estudo de interação pode ser feito através de diferentes desenhos, sendo que o mais tradicional é o que envolve misturas físicas entre os componentes de uma formulação. Estas misturas são expostas a condições altas de temperatura e umidade por um período de tempo determinado, tendo como controle o fármaco e os excipientes puros e sob as mesmas condições (NARANG, *et al.*, 2009).

Com o objetivo de evidenciar possíveis interações entre fármaco-fármaco e fármaco-excipiente da formulação deste estudo, as amostras foram analisadas através das técnicas termoanalíticas, DSC e TG.

A DSC consiste de uma técnica termoanalítica utilizada para constatar mudanças físicas ou químicas quando a substância é submetida a um programa controlado de temperatura e sob atmosfera específica (IONASHIRO, 2004). Estas mudanças envolvem absorção (processo endotérmico) ou liberação de calor (processo exotérmico). A DSC é empregada para caracterizar

materiais biológicos, orgânicos, inorgânicos, poliméricos e fornece informações como o comportamento de fusão, cristalização, transição sólido-sólido e reações químicas (SANTOS *et al.*, 2003).

Na área farmacêutica, a DSC é utilizada na caracterização térmica de fármacos ou matérias-primas, determinação da pureza de fármacos, estudos de interação e compatibilidade entre os constituintes da formulação e identificação de polimorfismo com determinação das entalpias de cada forma cristalina (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A TG é utilizada para medir a variação de massa em função da temperatura em uma atmosfera controlada sob um programa de aquecimento. Para fins farmacêuticos, é muito utilizada na caracterização, determinação de pureza e de umidade, na avaliação da estabilidade de fármacos e medicamentos e em estudos de cinética de degradação (ARAGÃO *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A TG é usada para avaliar de outra maneira uma possível interação identificada inicialmente por DSC entre componentes de uma mistura. Realiza-se uma curva para o fármaco, outra curva para o excipiente ou outro fármaco e uma terceira curva para a mistura física dos componentes. Assim, as curvas TG individuais somadas devem resultar na curva TG da mistura, para não caracterizar interação (OLIVEIRA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011).

7.2 MATERIAL E MÉTODOS

7.2.1 Matérias-primas

As matérias-primas foram todas compradas de distribuidores licenciados pela ANVISA, com uma pureza declarada para o atenolol de 98,86%, espironolactona de 99,4%, furosemida de 100,75% e para losartana de 99,12%. O excipiente constituído de 1% de dióxido de silício, 59% celulose microcristalizada e 40% amido de milho também foi adquirido de distribuidores licenciados pela ANVISA.

7.2.2 Preparação das amostras

Foram pesados 10 mg de cada padrão secundário de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana para preparo de cada amostra. Em seguida os fármacos foram submetidos à moagem com pistilo em gral de porcelana para maior homogeneização. As amostras foram acondicionadas em recipientes fechados, e foram preparadas para análise as amostras de atenolol, espironolactona, furosemida e losartan em pó isoladas e a mistura destes fármacos na proporção de 1:1:1:1, e a mistura dos fármacos com o excipiente, na proporção de 1:1:1:1:1.

7.2.3 Procedimento analítico

7.2.3.1 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

As curvas DSC foram obtidas no equipamento DSC-Q20, com sistema de refrigeração RDS-90 da TA Instruments em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 50 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10°C min⁻¹ na faixa de temperatura de -80°C à 500°C, em cadinhos de alumínio fechados e empregando cerca de 3,0 mg de amostra. O instrumento foi calibrado antes das análises para linha de base, fluxo de calor e temperatura, através do padrão de índio metálico ($T_{onset_{fusão}} = 156,6\text{ °C}$ e $\Delta H_{fusão} = 28,7\text{ J g}^{-1}$).

7.2.3.2 Termogravimetria (TG)

As curvas TG foram obtidas no sistema termoanalisador TGA-Q50 da TA Instruments, em atmosfera de nitrogênio com fluxo de 40 mL min⁻¹ e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹, de temperatura ambiente até 900 °C, em cadinhos de platina empregando amostras com massas em torno de 6,0 mg. O instrumento foi calibrado antes das análises para linha de base, massas com padrões e temperatura, através do ponto de Curie do padrão níquel (temperatura experimental de 373,29 °C).

7.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas as curvas termoanalíticas individuais de cada fármaco, e comparadas com as curvas obtidas das misturas preparadas entre os fármacos, e dos fármacos com excipientes.

7.3.1 Atenolol

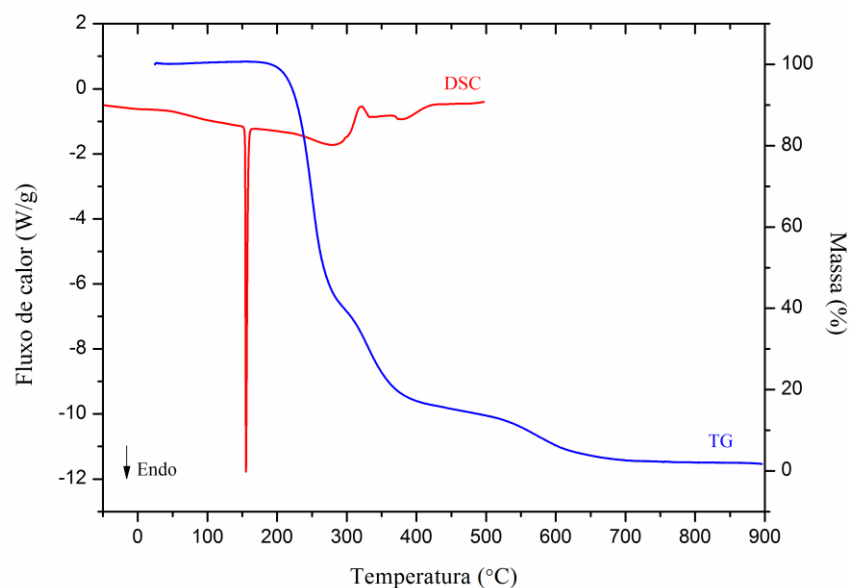


Figura 7.1: Curvas TG-DSC do atenolol com razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio.

A curva DSC do atenolol (Figura 7.1) mostra que o primeiro evento endotérmico ocorreu entre $151,7$ e $162,78\text{ }^{\circ}\text{C}$ com variação de entalpia (ΔH) de $164,70\text{ J g}^{-1}$, atribuído à fusão do fármaco ($T_{\text{onset}_{\text{fusão}}} = 154,07\text{ }^{\circ}\text{C}$). Este evento é confirmado pela curva TG, que não evidencia perda de massa neste intervalo de temperatura (Figura 7.1).

No estudo de KULKARNI e BHATIA, em 2009, também foi observado um pico endotérmico na curva DSC em torno de $154\text{ }^{\circ}\text{C}$, atribuído ao ponto de fusão do atenolol.

De acordo com PEREIRA *et al.*, 2007, a curva DSC do atenolol apresentou um pico endotérmico entre 152 e 157 °C, relacionado ao ponto de fusão do fármaco, que ocorreu em torno de 155,04 °C.

Na curva TG pode ser visualizado que o atenolol é estável termicamente até 186,07 °C, temperatura a partir da qual se inicia a decomposição, tendo uma perda de massa acentuada de 96,88% até 672,78 °C, com um resíduo carbonáceo de 1,76% em 900 °C.

7.3.2 Espironolactona

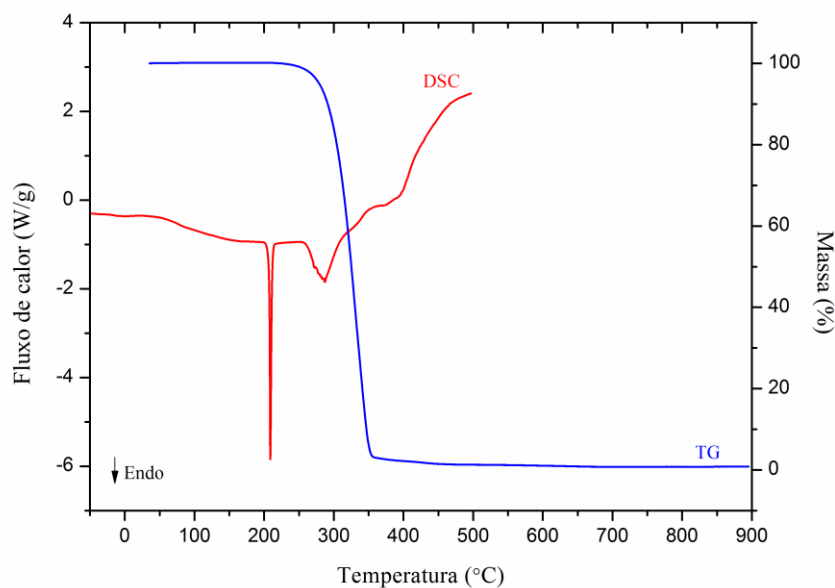


Figura 7.2: Curvas TG-DSC da espironolactona com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

Na curva DSC da espironolactona (Figura 7.2) pode ser visualizado que o primeiro evento endotérmico ocorreu entre 200,78 e 215,49 °C com variação de entalpia (ΔH) de 82,83 J g⁻¹, atribuído à fusão do fármaco ($T_{onset_{fusão}} = 207,54$ °C), o que pode ser confirmado pela curva TG (Figura 7.2) que não demonstra perda de massa neste intervalo de temperatura.

BRANDÃO *et al.*, 2009, visualizaram na curva DSC, de algumas formulações de espironolactona, um pico endotérmico entre as temperaturas de 194 e 220 °C, atribuído a fusão do fármaco.

Na curva TG pode ser visualizado que a espironolactona é estável termicamente até 226,53 °C, a partir da qual se inicia a decomposição, tendo uma perda de massa acentuada de 96,66% até 355,25 °C, com um resíduo de 0,83% em 900 °C.

7.3.3 Furosemida

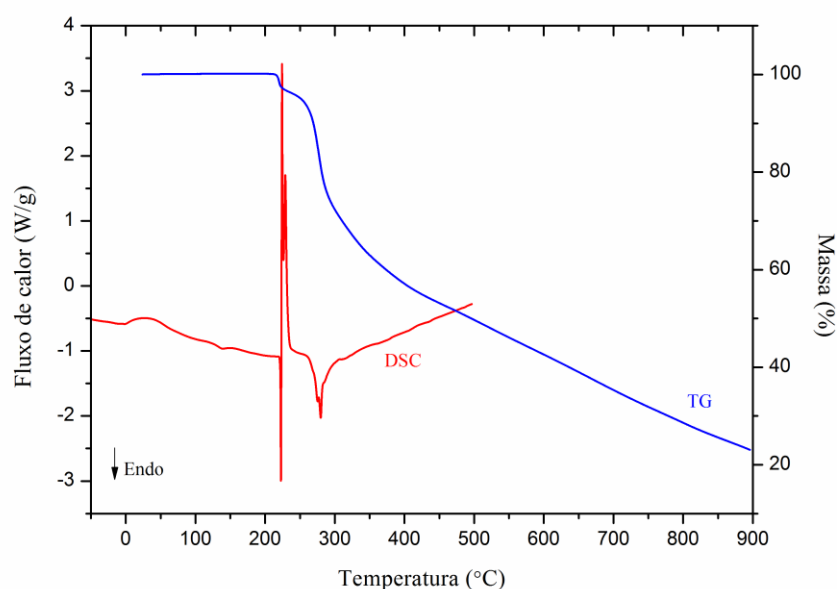


Figura 7.3: Curvas TG-DSC da furosemida com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

Pode-se verificar na curva DSC da furosemida (Figura 7.3) que a fusão do fármaco ($T_{onset_{fusão}} = 210,25$ °C) ocorre seguida da sua decomposição. Este evento pode ser confirmado pela curva TG, que evidencia a estabilidade térmica da furosemida até 211,82 °C, temperatura muito próxima ao ponto de fusão e a partir da qual se inicia a decomposição, que ocorre em duas etapas consecutivas, tendo uma perda de massa 76,95% até 900 °C (Figura 7.3).

ACEVES et al., 2000, também visualizaram na curva DSC da furosemida que sua decomposição ocorre logo em seguida da fusão deste fármaco. Foi considerado que a furosemida se decompõe em 217 °C. Já no estudo de SILVA et al., 2013, foi possível observar um pico endotérmico em 203 °C atribuído a fusão da furosemida, seguida de sua decomposição em torno

de 219 °C, estando todos estes valores de acordo com as literaturas consultadas (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 2010b ; FARMACOPEIA BRITANICA, 2009).

7.3.4 Losartana

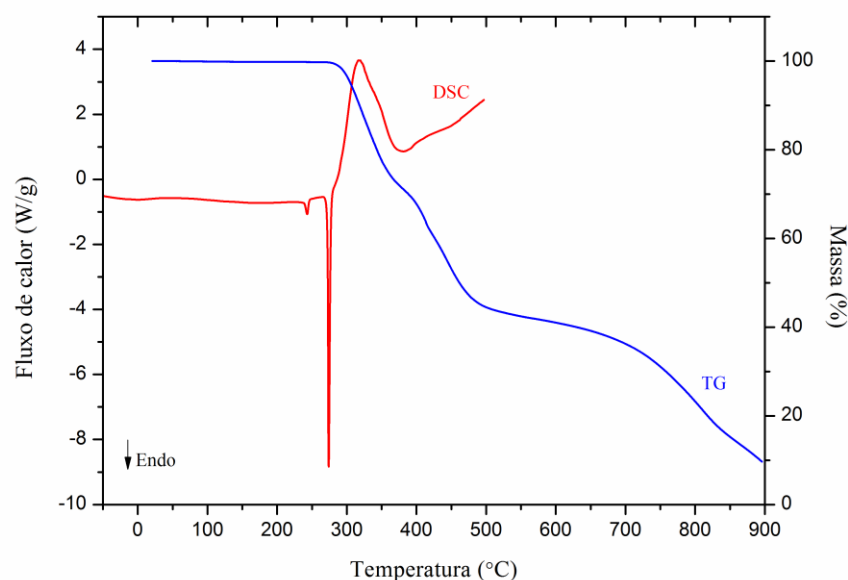


Figura 7.4: Curvas TG-DSC da losartana com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

Na curva DSC da losartana (Figura 7.4) foram observados inicialmente dois picos endotérmicos, sendo que o primeiro ocorreu entre 236,33 e 246,14 °C e foi atribuído à fusão de fase cristalina da losartana existente em menor quantidade, e o segundo atribuído à fusão de outra fase cristalina, existente em maior quantidade ($T_{onset_{fusão}} = 264,53$ °C). Wu *et al*, em 1993, encontrou esse mesmo perfil térmico para a losartana, e com auxílio de técnicas complementares, pôde atribuir características aos picos encontrados, confirmando a existência de polimorfismo neste fármaco.

O polimorfismo em fármacos pode ser caracterizado como a habilidade do componente em cristalizar-se em duas ou mais fases cristalinas com diferentes arranjos e/ou conformações da molécula na rede cristalina, e por isso tornou-se um tema de grande interesse na área de ciências

farmacêuticas, uma vez que alterações no arranjo cristalino podem alterar as propriedades físico-químicas dos fármacos e, conseqüentemente, pode afetar o desenvolvimento, a segurança e a eficácia de um medicamento. (LOHANI e GRANT, 2006; AALTONEN, *et al.*, 2009; SANTOS, *et al.*, 2014).

A curva TG evidenciou que a losartana é estável termicamente até 280,47 °C, a partir da qual se inicia sua decomposição, tendo uma perda de massa de 90,32% até 900 °C (Figura 7.4).

7.3.5 Mistura de excipientes

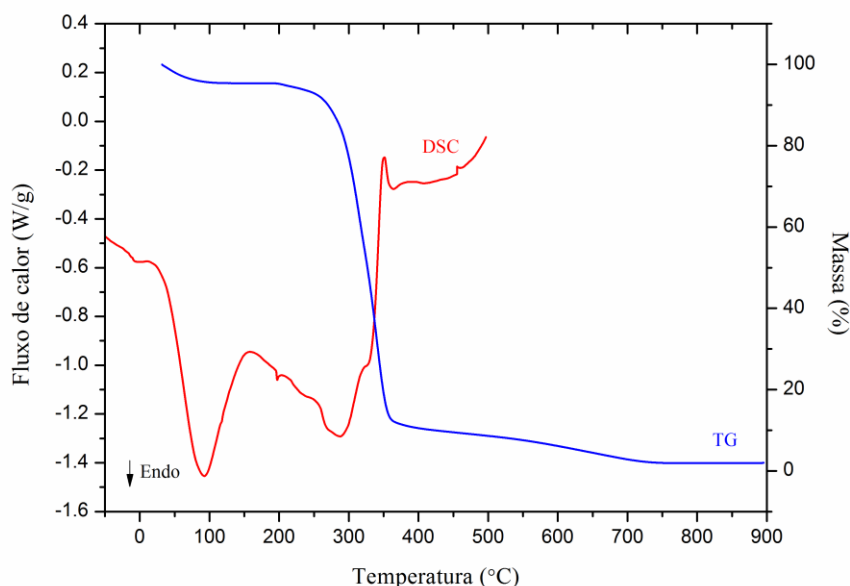


Figura 7.5: Curvas TG-DSC da mistura de excipientes com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

Na curva DSC da mistura de excipientes, que pode ser visualizada na Figura 7.5, o primeiro pico endotérmico foi atribuído a perda de água do material ($T_{onset} = 80,96$ °C), característico também na curva TG, onde pode ser visualizado uma pequena perda de massa da amostra (4,58%).

O segundo pico endotérmico ocorreu em $T_{onset} = 197$ °C, exatamente no ponto em que foi visualizado na curva TG a perda de estabilidade térmica desta mistura, portanto todos os demais picos foram atribuídos à decomposição do material.

A curva TG da mistura de excipientes mostrou que o material é estável termicamente até 197 °C, com uma perda acentuada de massa (87,89%) até 365,06 °C, com um resíduo de 1,96% em 900 °C.

7.3.6 Análise por DSC da mistura de atenolol, espironolactona, furosemida e losartan

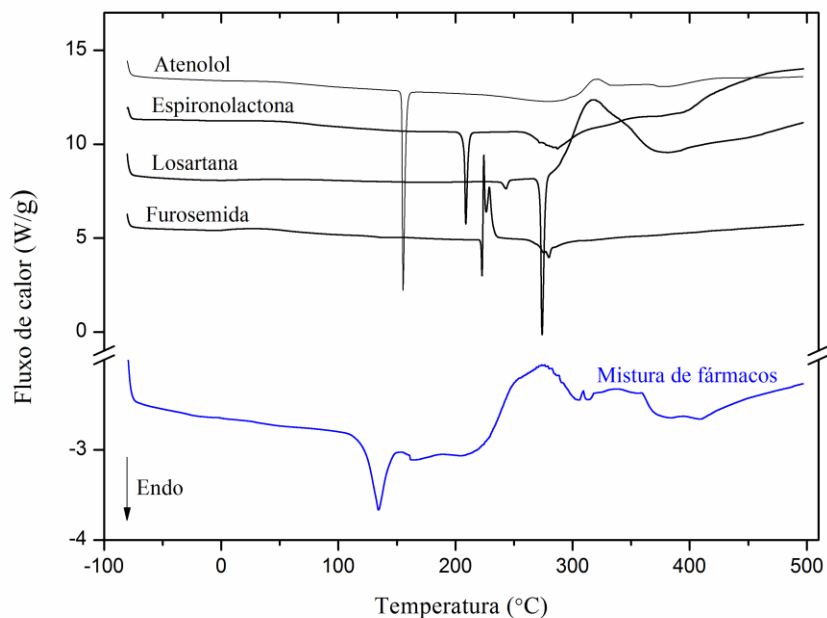


Figura 7.6: Curva DSC dos fármacos isolados e da mistura de fármacos, proporção 1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio. Sendo 1 – losartana; 2 – espironolactona; 3 – atenolol; 4 – furosemida.

Na Figura 7.6 são apresentadas as curvas DSC de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana isolados em comparação com a curva DSC da mistura destes fármacos em iguais proporções, e analisando estas curvas, foi possível observar uma grande mudança no perfil obtido. Na curva DSC da mistura dos fármacos não foi visualizada nenhum pico endotérmico característico da fusão dos fármacos, bastante característicos nas curvas DSC dos fármacos isolados.

Quando comparamos as curvas DSC dos excipientes, das misturas dos fármacos e da mistura dos fármacos com os excipientes, foi observado que os picos existentes na curva DSC dos excipientes, não estavam presentes na curva DSC da mistura dos fármacos com excipientes, e que esta última se diferenciava da curva DSC da mistura de fármacos (Figura 7.7).

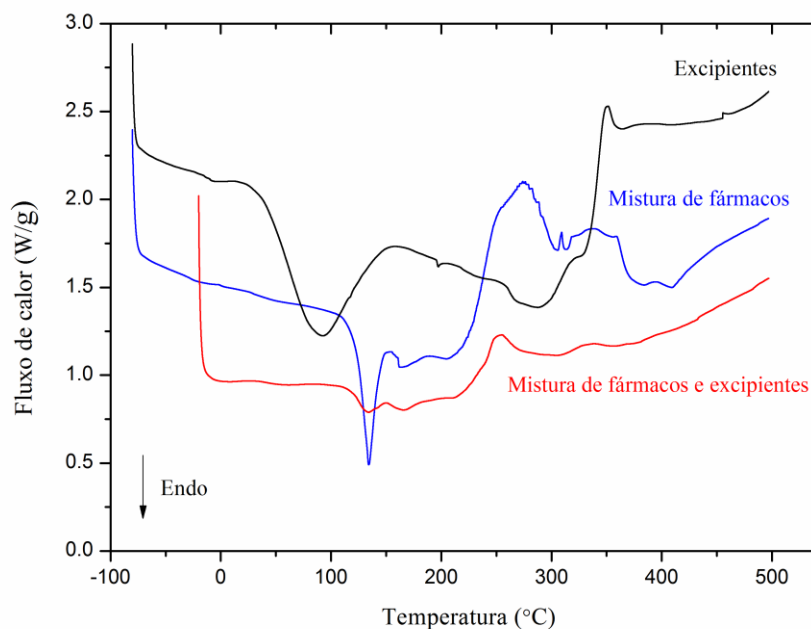


Figura 7.7: Curva DSC dos excipientes, da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, e da mistura de fármacos e excipientes na proporção 1:1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

Quando não houver interação entre os componentes da mistura física, os valores de T_{onset} relativos aos eventos de fusão e da primeira etapa de decomposição térmica não devem apresentar alteração, ou sofrer pequena variação, em relação aos valores obtidos para os componentes isolados (MEDEIROS, *et al.*, 2007; SALVIO NETO, *et al.*, 2009; STULZER, *et al.*, 2008).

De acordo com Oliveira *et al.* (2010) e Oliveira *et al.* (2011), uma interação pode ser visualizada na curva DSC como uma alteração do ponto de fusão, na forma e área dos picos, aparecimento de transição ou aparecimento/desaparecimento de picos após a mistura dos componentes, o que pode indicar interações ou reações indesejáveis.

Entretanto, a interpretação dos resultados deve ser realizada com cautela, e suspeitas de interação com variações térmicas devem ser confirmadas por outras técnicas analíticas (OLIVEIRA *et al.*, 2011).

A presença de uma interação sólido-sólido não indica, necessariamente, uma incompatibilidade farmacêutica (MURA *et al.*, 1998), e além disso, através da identificação das interações podem-se utilizar estratégias para minimizá-las, caso não seja possível evitá-las (NARANG, *et al.*, 2009).

Em síntese, os resultados obtidos sugerem que houve interação entre os fármacos deste estudo, bem como deles com os excipientes utilizados na formulação, principalmente em relação a alterações significativas quanto ao desaparecimento dos picos de fusão dos fármacos. Entretanto, segundo PEREIRA *et al.*, 2007 e KUMAR *et al.*, 2011, o atenolol não interage com excipientes, dióxido de silício, celulose e amido de milho, o que sugere que as interações ocorridas, não foram entre o atenolol e os excipientes desta formulação.

Para que possa ser identificado entre quais componentes houve a interação, a análise deve ser realizada em misturas binárias, e confirmadas através de outras técnicas, como análise termo-óptica, microscopia óptica, espectroscopia no infravermelho, difratometria de raios-X ou CLAE (OLIVEIRA *et al.*, 2010; OLIVEIRA *et al.*, 2011; YOSHIDA *et al.*, 2010).

Na Tabela 7.1 são apresentados os eventos da curva DSC de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, da mistura de excipientes, da mistura dos fármacos e da mistura dos fármacos com excipientes, descritos na Figura 7.6 e 7.7. Nesta tabela é possível verificar os eventos endotérmicos e exotérmicos dos componentes em estudo, a faixa de temperatura em que ocorreram, assim como a temperatura máxima dos eventos.

Tabela 7.1. Eventos da curva DSC de atenolol, furosemida, espironolactona, losartana, excipientes, mistura de fármacos, mistura de fármacos e excipientes, faixas de temperatura e temperatura máxima em que ocorrem.

Fármacos	Evento	Faixa de temperatura (°C)	Temperatura máxima (°C)
Atenolol	Endotérmico	151,70 – 162,78	154,07
	Exotérmico	305,09 – 331,19	318,37
Espironolactona	Endotérmico	200,78 – 215,49	208,43
	Endotérmico	258,39 – 305,78	286,72
Furosemida	Endotérmico	209,25 – 213,37	210,25
	Exotérmico	213,37 – 216,11	214,05
	Exotérmico	216,80 – 235,73	228,86
	Endotérmico	269,38 – 276,93	274,87
Losartana	Endotérmico	236,33 – 246,14	242,95
	Endotérmico	257,97 – 269,34	264,53
	Exotérmico	278,16 – 364,87	316,26
Excipientes	Endotérmico	37,26 – 154,69	80,96
	Endotérmico	194,52 – 200,70	197,00
	Endotérmico	258,39 – 324,32	288,61
	Exotérmico	329,13 – 363,46	351,10

Mistura de fármacos	Endotérmico	109,89 – 150,83	134,34
	Endotérmico	160,49 – 186,65	163,91
	Exotérmico	304,36 – 312,89	309,47
	Exotérmico	319,71 – 356,10	337,91
	Exotérmico	384,53 – 408,98	394,77
Mistura de fármacos e excipientes	Endotérmico	31,99 – 105,91	73,49
	Endotérmico	111,59 – 147,42	133,20
	Endotérmico	155,38 – 163,91	161,06
	Exotérmico	246,93 – 249,77	248,06
	Exotérmico	250,34 – 255,46	253,75
	Exotérmico	316,87 – 356,10	332,22

7.3.7 Análise por TG da mistura de atenolol, espironolactona, furosemida e losartan

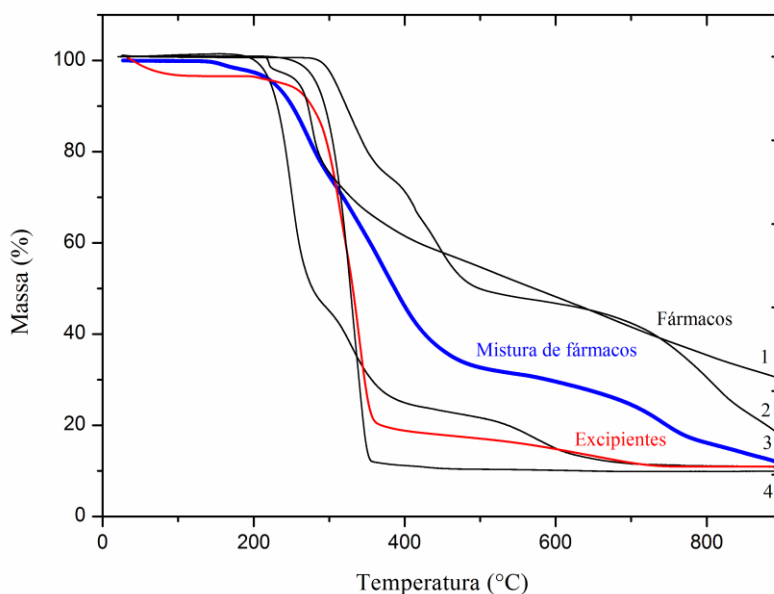


Figura 7.8: Curva TG dos fármacos isolados, excipientes e da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, com razão de aquecimento de $10\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$ em atmosfera de nitrogênio. Sendo 1 – furosemida; 2 – losartana; 3 – atenolol; 4 – espironolactona.

De acordo com os resultados das curvas TG de atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, verificou-se que os fármacos isolados são estáveis até uma temperatura de 186,07 $^{\circ}\text{C}$, 226,53 $^{\circ}\text{C}$, 211,82 $^{\circ}\text{C}$ e 280,47 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente (Figura 7.8). A curva TG da mistura dos fármacos mostra que a mesma manteve estabilidade térmica até 127,59 $^{\circ}\text{C}$, iniciando a partir de

então o processo de decomposição. Desta forma, foi possível observar uma maior susceptibilidade a degradação da mistura dos fármacos quando comparada aos fármacos isolados.

A curva TG da mistura de fármacos foi comparada com a TG obtida a partir da mistura dos fármacos com os excipientes (Figura 7.9), e foi visualizado que ambas misturas tem estabilidade térmica semelhante, até 127,59 °C.

Assim, as curvas TG da mistura dos fármacos e da mistura dos fármacos com excipientes sugeriram a ocorrência de interação entre os fármacos, pois a decomposição térmica da mistura se iniciou em temperatura abaixo daquela obtida para atenolol, espironolactona, furosemida e losartana individualmente.

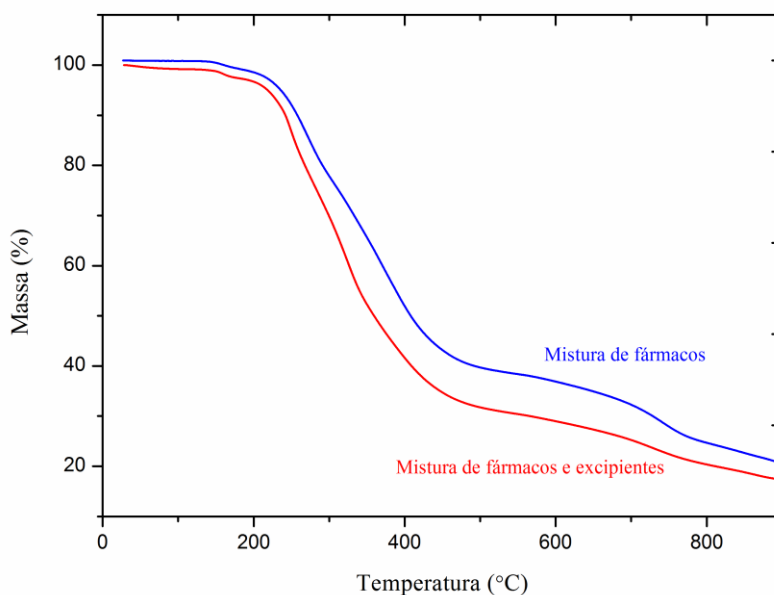


Figura 7.9: Curva DSC da mistura de fármacos na proporção 1:1:1:1, e da mistura de fármacos e excipientes na proporção 1:1:1:1:1, com razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em atmosfera de nitrogênio.

7.4 CONCLUSÕES

Com a análise dos resultados obtidos pelas curvas termoanalíticas realizadas por DSC e TG, foi possível sugerir a existência de interação entre os fármacos atenolol, espironolactona, furosemida e losartana, quando em mistura, e também uma pequena interação desta mistura de

fármacos com os excipientes da formulação, o que pode ou não interferir na biodisponibilidade dos componentes, e deve ser comprovada por técnicas complementares.

As curvas TG analisadas mostraram indícios de interação entre os fármacos, pois houve alteração da estabilidade térmica da mistura dos fármacos em relação aos fármacos isolados.

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

8.1 IMPACTOS ESPERADOS COM ESTE ESTUDO

Tendo em vista os resultados alcançados neste estudo e o atual cenário no Brasil com relação à utilização de medicamentos manipulados, bem como a necessidade de estabelecer normas para rotinas de controle de qualidade destes produtos, esperamos alcançar com este estudo:

- O reconhecimento pela comunidade científica com relação a metodologia desenvolvida e validada;
- Possibilitar a divulgação e disponibilização das técnicas desenvolvidas e validadas para farmácias de manipulação e centros analíticos de controle de qualidade de medicamentos;
- Poder contribuir para o aperfeiçoamento de processos de controle de qualidade de medicamentos manipulados, e ainda;

9. REFERÊNCIAS

AALTONEN, J.; ALLESO, M.; MIRZA, S.; KORADIA, V.; GORDON, K.C.; RANTANEN, J. Solid form screening – a review. **Eur. J. Pharm. Biopharm.**, v.71, n.1, p.23-37, 2009.

ACEVES J.M.; CRUZ R.; HERNANDEZ E. Preparation and characterization of Furosemide-Eudragit controlled release systems. **International Journal of Pharmaceutics**, v.195, p.45–53, 2000.

ALMEIDA M.L.C.; FILHO A.P.N.; Análise das cápsulas manipuladas segundo a RDC 67/2007 da ANVISA/MS para a garantia da qualidade. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.91, n.3, p.119-125, 2010.

AL AZZAM K.M., SAAD B., ABOUL-ENEIN H.Y.; Simultaneous determination of atenolol and amiloride in pharmaceutical preparations by capillary zone electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection. **Biomedical Chromatography**, v.24, p.948-953, 2010.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 33, de 19 de abril de 2000.** Aprova o Regulamento Técnico sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos em Farmácias. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/medicamentos/legis/resol.htm>

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 899 de 29 de maio de 2003.** Aprova o guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União. Brasília, 02 de junho de 2003, seção 1, 2003.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Subsídios à discussão sobre a proposta de regulamentação para farmácias magistrais/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Brasília: ANVISA, 2005. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/divulga/artigos/subsidios.pdf>

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 214, de 12 de dezembro de 2006.** Dispõe sobre Boas Práticas de Manipulação de Medicamentos para Uso Humano em Farmácias. Disponível em: http://www.cff.org.br/userfiles/file/resolucao_sanitaria/214.pdf

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 67, de 8 de outubro de 2007.** Dispõe sobre Boas práticas de Manipulação de Preparações Magistrais e Oficiais para Uso Humano em Farmácias. Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2007/rdc/67_081007rdc.htm

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 87, de 21 de novembro de 2008.** Altera o Regulamento Técnico sobre as Boas Práticas de Manipulação em Farmácias.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Guia para Registro de Associações em Dose Fixa para o Tratamento da Hipertensão Arterial Brasil/ Agência Nacional de Vigilância Sanitária.** Brasília: ANVISA, 2010. Disponível em:

<http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/600d4a0047458ec797d6d73fbc4c6735/Guia+para+Registro+de+Associa%C3%A7%C3%B5es+em+Dose+Fixa+para+o+Tratamento+da+Hipertens%C3%A3o+Arterial.pdf?MOD=AJPERES>.

ANVISA - AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA (BRASIL). **Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº 17, de 16 de abril de 2010**. ANVISA, 2010a. Dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0017_16_04_2010.html

AOAC - International Conference on Harmonization. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology**, Q2 (R1), Geneva, 2005.

ARAGÃO, C.F.S.; MACEDO, R.O.; MEDEIROS, M.A.P.; VIANA, F.L.M.; SILVA, I.D.D.; MIRANDA, N.A. Estudo do comportamento termogravimétrico da *Aloe barbadensis* Mill (Liliaceae) e da *Conyza bonariensis* I (Compositae). **Bio Farma – Rev. Téc. Cient. Farm. Bioquím. Anál. Clín. Toxicol.**, v.1, n.3, p.172-180, 2006.

ARAYNE, M.S., SULTANA, N., QURESHI, F., SIDDIQUI, F.A., MIRZA, A.Z., BAHADUR, S.S., ZUBERI, M.H.; Simultaneous Determination of Tranexamic Acid and Losartan Potassium in Dosage Formulations and Human Serum by RP-LC. **Chromatographia**, 2009, v.70, p.789-795.

AZEVEDO, R.C.P.; RIBEIRO, G.P.; ARAÚJO, M.B.; Desenvolvimento e validação do ensaio de dissolução para captopril em cápsulas magistrais por CLAE. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 44, n. 2, 2008.

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

BEALE, J.M. e BLOCK, J.H. **Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry**. 12th ed. Philadelphia : Lippincott Williams & Wilkins, 2011.

BHARATE, S.S.; BHARATE, S.B.; BAJAJ, A.N.; Interactions and incompatibilities of pharmaceutical excipients with active pharmaceutical ingredients: a comprehensive review. **J. Excipients and Food Chem.**, v.1, n. 3, 2010.

BHATIA, N.M., GURAV, S.B., JADHAV, S.D., BHATIA, M.S.; RP-HPLC method for simultaneous estimation of atorvastatin calcium, losartan potassium, atenolol, and aspirin from tablet dosage form and plasma. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v.35, p.428-443, 2012.

BONFILIO, R.; EMERICK, G.L.; JÚNIOR, A.N.; SALGADO, H.R.N.; Farmácia magistral: sua importância e seu perfil de qualidade. **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.34, n.3, p.653-664, 2010.

BORGES, E.M.; GORAIEB, K. e COLLINS, C.H. O desafio de analisar solutos básicos por cromatografia líquida em modo reverso: algumas alternativas para melhorar as separações. **Quím. Nova**, v.35, n.9, p.993-1003, 2012.

BORTOLOTTTO, L.A. Bases farmacológicas para a associação fixa de drogas. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.10, p.260-264, 2003.

BRANDÃO, F.C.; TAGIARI, M.P.; SILVA, M.A.S.; BERTI, L.F.; STULZER, H.K. Physical-chemical characterization and quality control of spironolactone raw material samples. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v.42, n.6, p.368-376, 2008.

BRUICE, P.Y. **Organic Chemistry**. 4th edn. Upper Saddle River, NJ : Pearson Prentice Hall, 2004.

CHEMICAL BOOK, **Catálogo eletrônico permanente**. Disponível em: <http://www.chemicalbook.com/ProductChemicalPropertiesCB1442564_EN.htm>. Acesso em: 20 novembro 2014.

CLARKE'S ANALYSIS OF DRUGS AND POISONS. 4ª edição. Índia: Thomson Digital, 2011.

COATES, J. Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach. In: **ENCYCLOPEDIA of Analytical Chemistry**. Chichester: John Wiley & Sons, 2000.

CORREA, C.M., **Deflazacort**: desenvolvimento e validação de metodologia de análise e estudos de dissolução de comprimidos e cápsulas manipuladas. Dissertação de Mestrado – programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Maria, 2006.

DELAMOYE, M.; DUVERNEUIL, C.; FRANÇOIS, P.; MAZANCOURT, P.; ALVAREZ, J. Simultaneous determination of thirteen b-blockers and one metabolite by gradient high-performance liquid chromatography with photodiode-array UV detection. **Forensic Science International**, v.141, p.23–31, 2004.

DESAI, S.R.; SHAIKH, M.M.; DHARWADKAR, S.R. Preformulation of compatibility studies of etamsylate and fluconazole drugs with lac tose by DSC. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.71, p.651-658, 2003.

DESHPANDE, P. B., GANDHI, S. V., GAIKWAD, N. V., KHANDAGLE, K. S.; A Simple and Sensitive RP-HPLC Method for Simultaneous Estimation of Torsemide and Spironolactone in Combined Tablet Dosage Form. **Acta Chromatographica**, v.24, p.15-22, 2012.

DOUSA, M.; GIBALA, P.; HAVLÍČEK, J.; PLACEK, L.; TKADLECOVÁ, M.; BRICHÁČ, J. Drug-excipient compatibility testing—Identification and characterization of degradation products of phenylephrine in several pharmaceutical formulations against the common cold. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 55, 949-956, 2011.

EBEID, W.M.; ELKADY, E.F.; EL-ZAHER, A.A.; EL-BAGARY R.I., PATONAY G.; Synchronized separation of seven medications representing most commonly prescribed antihypertensive classes by using reversed-phase liquid chromatography: Application for analysis in their combined formulations. **Journal of Separation Science**, v.37, p.748-757, 2014.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª edição. São Paulo: Atheneu, v.1, 2010a.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 5ª edição. São Paulo: Atheneu, v.2, 2010b.

FARMACOPEIA BRITÂNICA. London: Her Majesty's Stationery Office, v.1, 2009.

GIANOTTO, E.A.S.; MACHADO, H.T.; MIGLIORANZA, B.; FREGONEZI-NERY, M.M.; Qualidade de Cápsulas de Cloridrato de Fluoxetina Manipuladas em Farmácias. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.27, n.5, p.727-733, 2008.

GIL, E.S.; ORLANDO, R.M.; MATIAS, R.; SERRANO, S.H.P. **Controle físico-químico de qualidade de medicamentos**. 2ª edição, Campo Grande: Uniderp, 2007.

GIRON, D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.4, p.755-770, 1986.

GONZALEZ, O.; IRIARTE G.; RICO E.; FERREIROS N.; MAGUREGUI M.I.; ALONSO R.M.; JIMENEZ R.M. LC-MS/MS method for the determination of several drugs used in combined cardiovascular therapy in human plasma. **Journal of Chromatography B**, v.878, p.2685-2692, 2010.

GOODMAN & GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**. 10ª ed. Rio de Janeiro : McGraw-Hill, 2003.

HUSSEIN, S.A.; ABD EL-WADOOD, H.M.; ABDALLAH, M.A.A.; KHORSHED, A.A. Application of High-Performance Thin-Layer Chromatography for Screening and Simultaneous Determination of Some Angiotensin II Receptor Antagonists in Dosage Forms and Plasma. **JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, v.27, p.192-198, 2014.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical methods: definitions and terminology. ICH Topic Q2A. London, 1994, 6p.

ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: methodology, ICH Topic Q2B. London, 1996, 10p.

IVANOVIS, D.; MEDENICA, M.; JANCIC, B.; KNEZEVIC, N.; MALENOVIC, A.; MILIC, J. Validation of an analytical procedure for simultaneous determination of hydrochlorothiazide, lisinopril, and their impurities. **Acta Chromatographica**, n.18, 2007.

KALLEM, R.R.; INAMADUGU, J.K.; RAMESH, M.; SESHAGIRIRAO, J.V.L.N. Sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous determination of nifedipine and atenolol in human plasma and its application to a human pharmacokinetic study. **Biomedical Chromatography**, v.27, p.349-355, 2013.

KULKARNI, A.; BHATIA, M.; Development and evaluation of regioselective bilayer floating tablets of Atenolol and Lovastatin for biphasic release profile. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, v.8, p.15-25, 2009.

KUMAR, B.P.; SAHU, R.K.; MURTHY, K.V.R.; RAO, S.; RAMU, B. A review on mechanism, importance and methods of compatibility testing in the formulation of dosage forms. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v.4, p.142, 2011.

KUMAR, K.K.; RAO, C.K.; MADHUSUDAN, G.; MUKKANTI, K. Rapid Simultaneous Determination of Olmesartan - Amlodipine and Hydrochlorothiazide in Combined Pharmaceutical Dosage Form by Stability-Indicating Ultra Performance Liquid Chromatography. **American Journal of Analytical Chemistry**, v.3, p.50-58, 2012.

LA ROCA, M.F.; SOBRINHO, J.L.S.; NUNES, L.C.C.; NETO, P.J.R. Desenvolvimento e validação de método analítico: passo importante na produção de medicamentos. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.88, n.4, p.177-180, 2007.

LAKSHMI, K.S., LAKSHMI, S. Simultaneous Analysis of Losartan Potassium, Amlodipine Besylate, and Hydrochlorothiazide in Bulk and in Tablets by High-Performance Thin Layer Chromatography with UV-Absorption Densitometry. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v.2012, 5 pages, 2012.

LILTORP, K.; LARSEN, T.G.; WILLUMSEN, B.; HOLM, R. Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.55, p.424-428, 2011.

LOHANI, S.; GRANT, D. J. W. Thermodynamics of Polymorphs. Polymorphism: in the Pharmaceutical Industry. **R. Hilfiker**, p.21-42, 2006.

MARIA, E.K.; SANTINHO, A.J.P. Nifedipina manipulada ou especialidade farmacêutica? Estudo in vitro. **Revista eletrônica de Farmácia**, v.2, p.31 - 36, 2008.

MARTINELLI, H.K.; CASTELLANI, A.M.; GONÇALVES, J.E.; GONÇALVES, R.A.C. Avaliação do controle de qualidade realizado nas farmácias de manipulação e homeopáticas de Maringá, Estado do Paraná. *Acta Sci. Health Sci.*, 2005, v.27, p.137-43.

MASLANKA, A.; KRZEK J.; STOLARCZYK M. Simultaneous Analysis of Hydrochlorothiazide, Triamterene, Furosemide, and Spironolactone by Densitometric TLC. **Journal of Planar Chromatography-Modern TLC**, v.22, p.405-410, 2009.

MEDEIROS, A.F.D.; SANTOS, A.F.O.; SOUZA, F.S.; JÚNIOR, I.D.B.; VALDILÂNIO, J.; PROCÓPIO, J.V.V.; SANTANA, D.P.; MACEDO, R.O. Thermal studies of pre-formulates of metronidazole obtained by spray drying technique. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.89, n.3, p.775–781, 2007.

MORA P.C.; CIRRI M.; MURA P. Differential scanning calorimetry as a screening technique in compatibility studies of DHEA extended release formulations. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.42, n.6, p.3–10, 2006.

MOTA, T.F.; SOARES, A.F. Análise físico química de cápsulas manipuladas de fluconazol 150 mg. **Revista Científica da Faminas**, v.8, n.3, p.11-23, 2012.

MURA, P.; FAUCCI, M. T.; MANDERIOLI, A.; BRAMANTI, G.; CECCARELLI, L. Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry, hot-stage microscopy and scanning electron microscopy. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.18, p.151-163, 1998.

NARANG, A.S.; RAO, V.M.; RAGHAVAN, K.S. Developing Solid Oral Dosage Forms: Pharmaceutical Theory and Practice. **Excipient Compatibility**, p.125-145, 2009.

NIRUPA, G.; TRIPATHI, U.M. RP-HPLC Analytical Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of two Drugs Nitazoxanide, Ofloxacin and its Pharmaceutical Dosage Forms. **International Journal of ChemTech**, v.4, n.2, p.775-783, 2012.

NOVAKOVA, L.; SOLICH, P.; SOLICHOVA, D. HPLC methods for simultaneous determination of ascorbic and dehydroascorbic acids. **Trends in Analytical Chemistry**, v.27, n.10, 2008.

OBANDO, M.A.; ESTELA, J.M.; CERDA, V. Simultaneous determination of hydrochlorothiazide and losartan potassium in tablets by high-performance low-pressure chromatography using a multi-syringe burette coupled to a monolithic column. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v.391, p.2349-2356, 2008.

OLIVEIRA, M. A.; YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; MUSSEL, W.N.; VIANNA-SOARES, C. D.; PIANETTI, G. A. Análise térmica aplicada á caracterização da sinvastatina em formulações farmacêuticas. **Química Nova**, v.33, n.8, p.1653-1657, 2010.

OLIVEIRA, M.A.; YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Quim. Nova**, v.34, n.7, p.1224-1230, 2011.

PALUDETTI, L.A. Controle de qualidade de cápsulas: apenas o peso médio é suficiente? **International Journal of Pharmaceutical Compounding**, v.7, n.5, p.234-235, 2005.

PANCHAL, H.J.; SUHAGIA B.N. Simultaneous Analysis of Atorvastatin Calcium and Losartan Potassium in Tablet Dosage Forms by RP-HPLC and HPTLC. **Acta Chromatographica**, 2010, v.22, p.173-187.

PAPADOYANNIS, I.N.; SAMANIDOU, V.F.; Validation of HPLC Instrumentation. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, v.27, n.5, p.753-783, 2004.

PAVIA, D.L.; LAMPMAN, G.M.; KRIZ, G.S.; VYVYAN, J.R. **Introdução à espectrometria**. 4ª ed. São Paulo : Cengage learning, 2010.

PEREIRA, R.N.; VALENTE, B.R.; CRUZ, A.P.; FOPPA, T.; MURAKAMI F.S.; SILVA M.A.S. Thermoanalytical Study of Atenolol and Commercial Tablets. **Latin American Journal of Pharmacy**, v.26, p.382-386, 2007.

PEZZINI, B.R; BAZZO, G.C.; ZÉTOLA, M. Controle de Qualidade na Farmácia Magistral. **Anfarmag**, v.10, n.51, p.02-10, 2004.

PISSATO, S.; PRADO, J.N.; MORAIS, E.C.; FOPPA, T.; MURAKAM,I F.S.; SILVA, M.A.S. Avaliação da Qualidade de Cápsulas de Cloridrato de Fluoxetina. **Acta Farm. Bonaerense**, v.25, n.4, p.550-554, 2006.

PITT, B.; ZANNAD, F.; REMME, W.J.; CODY, R.; CASTAIGE, A.; PEREZ, A.; PALENSKY, J.; AND WITTES, J. The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. **N. Engl. J. Med.**, v.276, p.359-366, 1999.

PUGENS, A. M.; DONADUZZI, C. M.; MELO, E. B. Controle de qualidade total e equivalência farmacêutica de três apresentações de captopril. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 5, n. 1, p. 32-45, 2008.

RANG, H.P.; DALE, M.M.; RITTER, J.M.; FLOWER, R.J. **Rang & Dale Farmacologia**. 6ª ed., Rio de Janeiro : Elsevier, 2007.

SALVIO NETO, H.; NOVÁK, C.; MATOS, J.R. Thermal analysis and compatibility studies of prednicarbate with excipients used in semi solid pharmaceutical form. **Journal of thermal analysis and calorimetry**, v.97, n.1, p.367-374, 2009.

SANTOS, J. E.; SOARES, J. P.; DOCKAL, E. R. et al. Characterization of commercial chitosan from different suppliers. **Polímeros**, v.13, n.4, p. 242-249, 2003.

SANTOS, O.M.M.; JACON, J.T.; LINO, M.E.S.; DORIGUETTO, A.C., Polymorphism: an evaluation of the potential risk to the quality of drug products from the Farmácia Popular Rede Própria. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.50, n.1, 2014

SILVA, A.C.M.; Estudo termoanalítico e caracterização no estado sólido dos anti-hipertensivos: atenolol, besilato de anlodipino e maleato de enalapril. Dissertação de Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Materiais, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Bauru-SP, 2013.

SILVA, R.C.; SEMAAN, F.S.; NOVÁK, C.; CAVALHEIRO, E.T.G. Thermal behavior of furosemide. **J Therm Anal Calorim**, v.111, p.1933–1937, 2013.

SILVA, R.F.; FILHO, A.P.N.; MENDONÇA, D.C. **Estratégias competitivas no mercado farmacêutico brasileiro: uma abordagem sobre o setor magistral**. Trabalho apresentado ao 8º. SIMPEP. Bauru, Brasil, 2006.

SILVERSTEIN, R.M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. **Spectrometric Identification of organic compounds**. 7ª edição, Estados Unidos da América : John Wiley & Sons, 2005.

SKEIKA, T.; FARIA, M.F.; NAGATA, N.; PESSOA, C.A. Simultaneous Voltammetric Determination of Dypirone and Paracetamol with Carbon Paste Electrode and Multivariate Calibration Methodology. **J. Braz. Chem. Soc.**, v.19, n.4, p.762-768, 2008.

SKOOG, D.A.; LEARY, J.J. **Principles of Instrumental Analysis**. 4ª ed. Bookman, 1992.

SMAJIC', M.; VUJIC', Z.; MULAVDIC', N. BRBORIC' J.; An Improved HPLC Method for Simultaneous Analysis of Losartan Potassium and Hydrochlorothiazide with the Aid of a Chemometric Protocol. **Chromatographia**, v.76, p.419-425, 2013.

SOLTANI, S.; RAMEZANI, A.M.; SOLTANI, N.; JOUYBAN, A. Analysis of losartan and carvedilol in urine and plasma samples using a dispersive liquid-liquid microextraction isocratic HPLC-UV method. **Bioanalysis**, v.4, p.2805-2821, 2012.

SOUSA, G.D.; SEIXAS, K.S.; SANTOS, G.A.P.; DANTAS, I.M.F.S.; LEAL, L.B. Estabilidade de fármacos utilizados no tratamento de doenças reumatológicas. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.94, n.2, p.169-174, 2013.

SOUSA, M.G.; PIMENTA, E.S.; BORELLI, F.A.O. Interações e associações medicamentosas no tratamento da hipertensão – Combinações fixas. **Revista Brasileira de Hipertensão**, v.16, n. 4, p.237-241, 2009.

STULZER, H.K.; RODRIGUES, P.O.; CARDOSO, T.M.; MATOS, J.R.; SILVA, M.A.S. Compatibility studies between captopril and pharmaceutical excipients used in tablets formulations. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v.91, n.1, p.323-328, 2008.

THOMAS, V. H.; NAATH, M. Design and utilization of the drug-excipient chemical compatibility automated system. **International Journal of Pharmaceutics**, v.359, p.150-157, 2008.

U.S. PHARMACOPEIAL CONVENTION. **Catálogo eletrônico permanente**. Disponível em: <<http://www.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1370462.pdf>>. Acesso em 20 novembro 2014.

VAN DER HEIJDEN, M.; DONDEERS, S.H.; CLEOPHAS, T.J.; NIEMEYER, M.G.; VAN DER MEULEN, J.; BERNICK, P.J.; DE PLANQUE, B.A.; VAN DER WALL, E.E. A randomized, placebo-controlled study of loop diuretics in patients with essential hypertension: the bumetanide and furosemide on lipid profile (BUFUL) clinical study report. **J. Clin. Pharmacol.**, v.38, p.630-635, 1998.

V DIRETRIZES Brasileiras de Hipertensão Arterial. São Paulo: 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/v_diretrizes_brasileira_hipertensao_arterial_2006.pdf.

VI DIRETRIZES Brasileiras de Hipertensão. Revista Brasileira de Hipertensão, 2010. v.17, n.1, p.31-43. Disponível em: http://www.anad.org.br/profissionais/images/VI_Diretrizes_Bras_Hipertens_RDHA_6485.pdf

VISHNUVARDHAN, C.; RADHAKRISHNANAND, P.; NAVALGUND, S.G.; ATCHA, K.R.; SATHEESHKUMAR, N.; RP-HPLC Method for the Simultaneous Estimation of Eight Cardiovascular Drugs. **Chromatographia**, v.77, p.265–275, 2014.

WALASH, M. I.; EL-ENANY, N.; EID, M. I.; FATHY, M. E. Simultaneous determination of metolazone and spironolactone in raw materials, combined tablets and human urine by high performance liquid chromatography. **Analytical Methods**, v.5, p.5644-5656, 2013.

WU, L.; GERARD C.; HUSSAIN M.A. Thermal analysis and solution calorimetry studies on losartan polymorphs. **Pharmaceutical Research**, v.10, n.12, 1993.

YOSHIDA, M. I.; GOMES, E. C. L.; SOARES, C. D. V.; CUNHA, A. F.; OLIVEIRA, M. A. Thermal Analysis Applied to Verapamil Hydrochloride Characterization in Pharmaceutical Formulations. **Molecules**, v. 15, p. 2439-2452, 2010.