

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Estudo preliminar de compatibilidade entre Quempferol e excipientes comumente
utilizados em formas farmacêuticas sólidas

GABRIELA DE LIMA MELCHIADES

PORTO ALEGRE, NOVEMBRO DE 2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

Estudo preliminar de compatibilidade entre Quempferol e excipientes comumente
utilizados em formas farmacêuticas sólidas

GABRIELA DE LIMA MELCHIADES

Orientadora: Prof. Dra. Letícia Scherer Koester

Co-Orientadora: Doutoranda Mariana Colombo

PORTO ALEGRE, NOVEMBRO DE 2016

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Desenvolvimento Galênico (LDG), empregando também equipamentos da Central Analítica e do Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêuticos (CDTF) pertencentes à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”.

(Albert Einstein)

AGRADECIMENTOS

À orientadora Prof. Dra. Leticia Scherer Koester pelo apoio, incentivo e confiança durante todo o período de trabalho, além dos inúmeros ensinamentos.

A co-orientadora Doutoranda Mariana Colombo, pelo auxílio, força, ensinamentos e pela grande amizade que fizemos.

Aos colegas do LDG, pelo auxílio, amizade e, dentre eles, aos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

Aos meus amigos que sempre me apoiaram nas minhas decisões e sempre acreditaram em mim, com demonstrações de incentivo e reconhecimento.

Aos meus sogros, Eduardo e Maristela, pela força e incentivo durante toda esta longa jornada.

Ao meu noivo, Eduardo, por todo apoio, dedicação, paciência e companheirismo durante toda a graduação.

A minha família, em especial aos meus pais Sérgio e Ana, pelo apoio incondicional sempre, ensinando-me, principalmente, o valor de uma grande conquista através do próprio esforço. Ao meu irmão, Luis Henrique, pelo apoio nas minhas decisões e pelos os maravilhosos momentos de descontração e alegria.

RESUMO

Quempferol (QPF), pertencente à classe dos flavonóides apresenta uma variada gama de atividades farmacológicas que podem ser estudadas, entretanto, possui algumas limitações no desenvolvimento de formas farmacêuticas, como por exemplo, reduzida solubilidade em água. O desenvolvimento de novas formas farmacêuticas não é uma tarefa simples, e envolve muitas etapas, entre elas um estudo de pré-formulação para obtenção de um produto final adequado. O estudo de compatibilidade entre fármaco e excipientes é de grande relevância para o início do desenvolvimento de uma forma farmacêutica, ou então, quando for necessário, a reformulação de um produto acabado. O presente trabalho teve por objetivo avaliar possíveis incompatibilidades entre o QPF e alguns dos excipientes mais utilizados em formas farmacêuticas sólidas. As técnicas de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) e Teste de Estresse Isotérmico (IST) analisado por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) foram as ferramentas utilizadas. Os estudos foram desenvolvidos empregando sete excipientes - amido, celulose microcristalina, estearato de magnésio, hidroxipropilmetilcelulose, lactose, lauril sulfato de sódio e polivinilpirrolidona – além do próprio QPF. Foram preparadas misturas binárias 1:1 (QPF: excipiente), e submetidos às análises por DSC, FTIR e IST. Os resultados obtidos pela análise de DSC demonstraram não haver qualquer tipo de interação físico-química entre o QPF e dois excipientes, o amido e a celulose microcristalina, porém com os demais excipientes sugere-se a existência de algum tipo de interação. Entretanto, quando as misturas binárias foram analisadas por FTIR não foi observada nenhuma possibilidade de interação entre QPF e os excipientes. O mesmo foi verificado no IST, onde após o tempo de armazenamento a temperatura controlada, o teor do QPF nas misturas permaneceu inalterado. Dessa forma, a técnica de DSC, apesar de ser rápida para verificar interações fármaco-excipiente e necessitar de pouca quantidade de amostra, merece uma avaliação cuidadosa dos termogramas a fim de evitar interpretações equivocadas dos resultados, indicando incompatibilidades que podem não existir. De fato, apesar de se observar uma modificação notável do perfil térmico do QPF nas suas misturas com cinco dos

excipientes, uma investigação adicional e mais aprofundada por FTIR e análise por CLAE permitiu excluir razoavelmente a incompatibilidade farmacêutica.

Palavras chaves: Quempferol, compatibilidade fármaco-excipientes, excipientes, análise térmica.

ABSTRACT

Quempferol (QPF), belonging to the class of flavonoids has a wide range of pharmacological activities that can be studied, however, it has some limitations in the development of pharmaceutical forms, such as reduced solubility in water. The development of new pharmaceutical forms is not a simple task, and involves many steps, including a preformulation study to obtain a suitable final product. The compatibility study between drug and excipients is of great relevance for initiation of development in a pharmaceutical form or when a reformulation of the finished product is pursued. The present work aimed to evaluate possible incompatibilities between QPF and some of the most used excipients in solid dosage forms. Differential Scanning Calorimetric (DSC), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Isothermal Stress Test (IST) analyzed by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) were the tools used. The studies were developed employing seven excipients, - starch, microcrystalline cellulose, magnesium stearate, hydroxypropylmethylcellulose, lactose, sodium lauryl sulfate and polyvinylpyrrolidone - and QPF 1:1 binary mixtures (QPF: excipient) were prepared, and subjected to DSC, FTIR and IST analysis. Based on the results obtained by DSC, no physicochemical interaction between QPF and two out of seven excipients, starch and microcrystalline cellulose was observed, but for the other excipients some type of interaction is suggested. However, when the binary mixtures were analyzed by FTIR, no possibility of interaction between QPF and the excipients was observed. The same was verified in the IST, where after the temperature controlled storage time, the QPF content in the blends remained unchanged. Thus, DSC is a rapid technique to verify drug-excipient interactions and requires a small amount of sample. A careful evaluation of the DSC thermogram is necessary to avoid misinterpretations of the results of such rapid scan analyzes, indicating incompatibilities that may not exist. In fact, despite a remarkable modification of the thermal profile of QPF in its blends with five out of seven excipients, further investigations by FTIR and analysis by HPLC allowed a reasonable exclusion of pharmaceutical incompatibility.

Keywords: Quempferol, drug-excipient compatibility, excipients, thermal analysis

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura Química do Quempferol.....	18
Figura 2. Esquema dos fatores que afetam a compatibilidade fármaco excipiente.....	22
Figura 3. Esquema de um equipamento genérico para calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	25
Figura 4. Esquema de um espectrofotômetro com infravermelho com transformada de Fourier.....	28
Figura 5. Termograma do Quempferol.....	34
Figura 6. Termogramas do Quempferol (QPF) Amido e a mistura QPF + Amido em comparação.....	34
Figura 7. Termogramas do Quempferol (QPF) Celulose Microcristalina e a mistura QPF + CMC em comparação.....	35
Figura 8. Termogramas do Quempferol (QPF), Estearato de Magnésio (Est. Mg) e a mistura QPF + Est. Mg em comparação.....	36
Figura 9. Termogramas do Quempferol (QPF), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e a mistura QPF + HPMC em comparação.....	36
Figura 10. Termogramas do Quempferol (QPF), Lactose e a mistura QPF + Lactose em comparação.....	37
Figura 11. Termogramas do Quempferol (QPF), Lauril sulfato de sódio (LSS) e a mistura QPF + LSS em comparação.....	38
Figura 12. Termogramas do Quempferol (QPF), Polivinilpirrolidona (PVP) e a mistura QPF + PVP em comparação.....	39
Figura 13. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando as bandas do QPF.....	41
Figura 14. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Amido e a mistura QPF + Amido.....	43
Figura 15. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, CMC e a mistura QPF + CMC.....	43
Figura 16. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Est. Mg e a mistura QPF + Est. Mg.....	44

Figura 17. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, HPMC e a mistura QPF + HPMC.....	44
Figura 18. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Lactose e a mistura QPF + Lactose.....	45
Figura 19. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, LSS e a mistura QPF + LSS.....	45
Figura 20. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, PVP e a mistura QPF + PVP.....	46
Figura 21. Amostras para o teste de IST. Comparação das misturas antes e depois do aquecimento. A foto A mostra as amostras antes do armazenamento por 3 semanas a 50 °C. Foto B mostra as amostras após armazenamento.....	47
Figura 22. Cromatogramas do QPF e de todos os excipientes estudados isolados analisados por CLAE.....	49
Figura 23. Cromatogramas de todas as amostras estressadas, misturas QPF- excipientes, armazenadas em estufa e analisadas por CLAE.....	49
Figura 24. Cromatogramas de todas as amostras controles, misturas QPF- excipientes, armazenadas em geladeira e analisadas por CLAE.....	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Excipientes utilizados, estrutura química, função e ponto de fusão.....	20
Tabela 2. Técnicas de triagem de compatibilidade de excipientes, suas vantagens e desvantagens potenciais.....	29
Tabela 3. Temperaturas dos picos de fusão e valores de entalpia do Quempferol e das misturas.....	33
Tabela 4. Valores das bandas obtidas por FTIR de QPF e das misturas realizadas.....	42
Tabela 5. Resultado das análises por IST das misturas e do QPF após três semanas de armazenamento em estufa a 50 °C.....	47
Tabela 6. Comparação dos tempos de retenção das amostras do IST. Amostras controles armazenadas em geladeira e amostras estressadas em estufa a 50°C por três semanas.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

SIGLA	SIGNIFICADO
QPF	Quempferol
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
IST	Teste de Estresse Isotérmico
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CMC	Celulose Microcristalina
Est. Mg	Estearato de Magnésio
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulose
LSS	Lauril sulfato de sódio
PVP	Polivinilpirrolidona

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. OBJETIVOS	17
2.1. Objetivo geral.....	17
2.2. Objetivos específicos.....	17
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
3.1. Quempferol.....	18
3.2. Excipientes.....	19
3.3. Interação Fármaco-Excipiente.....	21
3.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	23
3.5. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	25
3.6. Teste de Estresse Isotérmico (IST).....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	30
4.1. Materiais.....	30
4.2. Métodos.....	31
4.2.1. Preparação das misturas binárias de Quempferol – excipientes....	31
4.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	31
4.2.3. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	31
4.2.4. Teste de Estresse Isotérmico (IST).....	31
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1. Análise térmica.....	33
5.2. Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	40
5.3. Análise por CLAE do Teste de Estresse Isotérmico (IST).....	46
6. CONCLUSÕES	51
7. PERSPECTIVAS	53
8. REFERÊNCIAS	54

1. INTRODUÇÃO

Flavonoides são compostos polifenólicos sintetizados naturalmente por plantas e amplamente distribuídos no reino vegetal e podem fazer parte da dieta humana em vários produtos, como uvas, frutas vermelhas (morango, mirtilo, amora e cereja), cebolas e chá preto (VIDAK; ROZMAN; KOMEL, 2015; WANG; CHEN; WANG, 2009; ZHANG et al., 2015).

O flavonoide Quempferol (QPF, 3,5,7-tri-hidroxi-2-(4-hydroxyphenyl)-4H-1-benzopirano-4-ona) apresenta diversas propriedades farmacológicas, incluindo atividades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antiapoptóticas, anticancerígenas, antioxidantes, antibacterianas (WANG; CHEN; WANG, 2009; ZHANG et al., 2015).

No entanto, a sua aplicação na clínica é limitada devido a sua baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade oral (CHEN et al., 2010; GUPTA et al., 2015; ZHANG et al., 2015). Muitos estudos têm relatado a utilização de várias estratégias para aumentar a solubilidade e/ou biodisponibilidade de flavonoides, tais como dispersões sólidas ou complexos de fosfolipídeos (TOMMASINI et al., 2004; ZHANG et al., 2015), complexação com ciclodextrinas (PINHO; GROOTVELD; HENRIQUES, 2014; TOMMASINI et al., 2004) e a preparação do sistema de administração de fármacos autoemulsionáveis (LIU et al., 2006; VIDAK; ROZMAN; KOMEL, 2015; ZHANG et al., 2015).

A utilização de compostos naturais com atividades farmacológicas vem sendo bem aceita pela população em geral, e os flavonoides são uns dos compostos mais estudados para tal objetivo. Um exemplo é o descrito por CHEN et al., 2010, que utiliza extrato de Ginkgo Biloba, onde contém diversos flavonoides entre eles os QPF para avaliar a farmacocinética e biodisponibilidade após administração oral do complexo com o extrato.

Dessa forma, a utilização do QPF para o desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas se torna cada vez mais atrativo, nos permitindo então classificar este flavonoide como um candidato a fármaco. Entretanto, antes de iniciar o desenvolvimento de novas formas farmacêuticas é importante executar um estudo de compatibilidade entre o fármaco e excipientes comumente utilizados.

O *Handbook of Pharmaceutical Excipients* Sexta Edição (2009) define excipientes como "substâncias adicionadas para ajudar a formulação e preparação subsequente da forma farmacêutica para administração a pacientes". No entanto, o conceito tradicional de excipiente sofreu uma considerável evolução: de um veículo inerte química e farmacologicamente simples para um adjuvante essencial que garante e otimiza o desempenho de um medicamento moderno (KIM; CHOI, 2013; RANJAN; LILA; NATH, 2012). As formas farmacêuticas sólidas são geralmente constituídas por misturas de excipientes, tais como diluentes, aglutinantes, desintegrantes, tensoativos, agentes de solubilização, lubrificantes, entre outros, que permitem a produção eficiente de cápsulas e comprimidos (PEREIRA et al., 2014).

A incompatibilidade entre fármacos e excipientes pode alterar a estabilidade e biodisponibilidade de medicamentos, e assim, afetar a sua segurança e eficácia (WANG; JING, 2013). Os excipientes podem interagir com o fármaco, o que pode dar origem a alterações na natureza química do fármaco, na solubilidade, absorção e resposta terapêutica (ROUMELI; TSIAPRANTA, 2013; VERMA; GARG, 2005). Portanto, a obtenção de uma forma farmacêutica no estado sólido estável e eficaz depende da escolha dos excipientes que podem ser alcançados através do estudo de incompatibilidade entre o fármaco e excipientes no estado sólido (ROUMELI; TSIAPRANTA, 2013; VERMA; GARG, 2005).

Existem muitos métodos para avaliar a compatibilidade de excipientes e fármaco. A técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) tem sido amplamente relatada na literatura para estudos de compatibilidade de excipientes com vários fármacos e a sua utilização tem sido proposta como um método rápido para avaliação físico-química da interação entre dois componentes (WANG; JING, 2013).

As possíveis interações fármaco-excipiente podem ser identificadas a partir das curvas do DSC pela aparência, deslocamento ou o desaparecimento dos picos, especialmente o pico de fusão, e/ou variações dos valores de entalpia esperados (PEREIRA et al., 2014). No entanto, para a interpretação dos resultados do DSC é necessário cuidado, pois as condições de temperatura elevada e a falta de umidade, que são necessárias para a realização do experimento, podem gerar termogramas duvidosos. Além disso, a avaliação das curvas do DSC pode ser difícil e as conclusões com base apenas nos resultados da análise do DSC podem ser

frequentemente enganosas exigindo a utilização de técnicas complementares (FULIAS et al., 2011; MURA et al., 1998; VERMA; GARG, 2005; WANG; JING, 2013).

A técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é utilizada como uma técnica complementar, a fim de auxiliar na interpretação e conclusão dos resultados obtidos por análise térmica. Possíveis interações podem levar ao aparecimento de novas bandas de absorção, o alargamento de bandas ou alteração na intensidade das bandas no espectro (FULIAS et al., 2011; PEREIRA et al., 2014).

O teste de estresse isotérmico (IST) é outro método comumente empregado como técnica auxiliar para avaliar a compatibilidade fármaco-excipiente. O IST é caracterizado pelo armazenamento das misturas fármaco-excipiente com e sem umidade a 50 °C durante um período de tempo específico (normalmente de 3 a 4 semanas) para acelerar o “envelhecimento” do fármaco e a interação com excipientes (RANJAN; LILA; NATH, 2012; WANG; JING, 2013). O IST tem aplicação específica na indústria farmacêutica, onde é observada visualmente a interação entre o fármaco e excipientes e o conteúdo de ativo determinado quantitativamente (ORRIS et al., 1999; RANJAN; LILA; NATH, 2012; VERMA; GARG, 2005). No entanto, este método exige um longo tempo de realização e uso de equipamentos, sendo esta uma desvantagem.

Preferencialmente, as técnicas DSC, IST e FTIR devem ser utilizadas em combinação durante os estudos de compatibilidade para a seleção dos excipientes mais apropriados para o desenvolvimento de uma forma farmacêutica sólida (RANJAN; LILA; NATH, 2012).

No presente estudo, a compatibilidade do QPF e sete diferentes excipientes farmacêuticos comumente utilizados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas foram avaliadas. Para esta investigação, os componentes individuais, bem como misturas binárias de QPF e excipientes foram estudadas através de DSC, FTIR e IST.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar, de forma inédita, a possível existência de incompatibilidade entre Quempferol, uma molécula candidata a fármaco, e excipientes selecionados.

2.2. Objetivos específicos

- Selecionar os excipientes mais utilizados no desenvolvimento de formas farmacêuticas sólidas.
- Realizar análise térmica do Quempferol, excipientes isolados e respectivas misturas utilizando Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) e analisar os termogramas obtidos.
- Realizar análise espectroscópica no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) do Quempferol, excipientes isolados e respectivas misturas, e analisar os espectros obtidos.
- Realizar Teste de Estresse Isotérmico (IST) com o Quempferol e as misturas do fármaco com os excipientes selecionados.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Quempferol

O Quempferol (QPF), pertencente ao grupo dos flavonoides, é um composto polifenol biologicamente ativo, que apresenta fórmula estrutural (3,5,7-tri-hidroxi-2-(4hydroxyphenyl) -4H-1-benzopirano-4-ona). É amplamente distribuído no reino vegetal e na dieta humana estando presente principalmente na cebola, repolho, cenoura, chá preto, uva e frutas vermelhas (JIANG; CHEN; CHEN, 2012; PAULA; SANTOS, 2013; ZHANG et al., 2015).

QPF apresenta diversas propriedades farmacológicas incluindo atividades anti-inflamatórias, antibacterianas, antivirais, antifúngicas, antiapoptóticas, anticancerígenas, antioxidantes (WANG; CHEN; WANG, 2009; ZHANG et al., 2015).

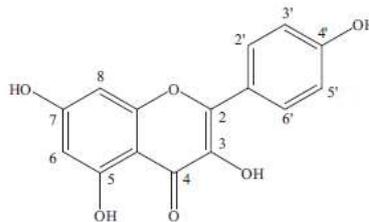


Figura 1. Estrutura Química do Kaempferol

A.Y.CHEN; Y.C.CHEN, 2013, publicaram um estudo onde relatam os diferentes mecanismos na regulação de células cancerosas a partir do QPF, sendo um potente promotor de apoptose, como também modificador de um grande número de vias de sinalização celular. Além disso, o Quempferol é muito menos tóxico para as células normais em comparação aos fármacos quimioterápicos utilizados na clínica.

KIM; CHOI, 2013, em sua revisão, relatam as atividades antioxidante e anti-inflamatória do Quempferol, assim como sua capacidade para tratamentos cardiovasculares e neuroinflamatórios.

Este flavonoide vem sendo estudado como uma promissora molécula candidata a fármaco, no entanto, a sua aplicação na clínica é limitada devido a sua baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade oral (CHEN *et al.*, 2010; GUPTA *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2015).

Como o interesse em estudar este composto vem aumentando gradativamente, observou-se a necessidade da realização de um estudo de compatibilidade desta molécula candidata a fármaco e alguns dos excipientes mais utilizados na preparação de formas farmacêuticas sólidas.

A escolha de utilizar formas farmacêuticas sólidas advém, principalmente, das vantagens da forma farmacêutica comprimido e da via oral. Os comprimidos são formas farmacêuticas de grande aceitação pela população por diversas razões, entre elas é a da via oral ser uma rota conveniente e segura para a administração de medicamentos. Comparados às formas farmacêuticas líquidas, os comprimidos possuem vantagem em termos de estabilidade físico-química; é permitida a obtenção uma com maior precisão da concentração do fármaco; são de fácil manuseio e podem ser produzidos em ampla escala (ANSEL, 2000).

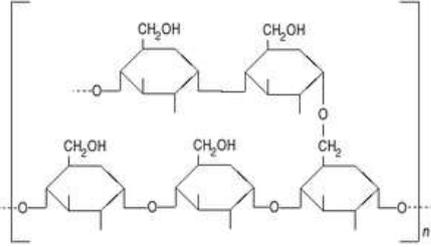
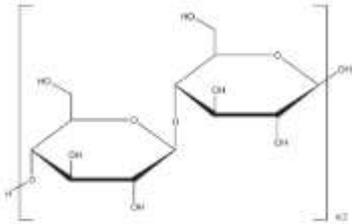
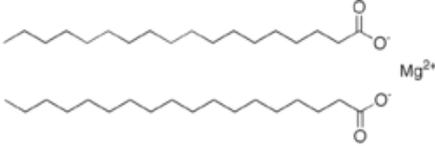
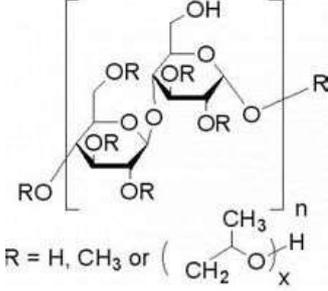
3.2. Excipientes

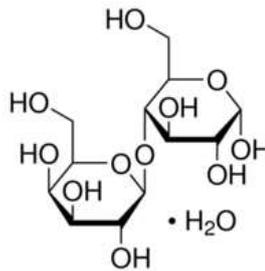
A qualidade de uma formulação farmacêutica não depende apenas da substância ativa e do processo de produção, mas também dos excipientes utilizados (PIFFERI; SANTORO; PEDRANI, 1999). Assim, o sucesso de uma formulação depende de uma adequada seleção destas substâncias que serão adicionadas para promover uma biodisponibilidade adequada, proteger o fármaco de degradação, manter suas características químicas e físicas, adequar às condições da via de administração e viabilizar a produção de uma forma farmacêutica (PIFFERI; SANTORO; PEDRANI, 1999; PETROVICK, 2005).

Na preparação de formas farmacêuticas sólidas os adjuvantes normalmente adicionados são materiais de carga e enchimento, aglutinantes, antiaderentes, deslizantes, lubrificantes, desintegrantes e agentes de revestimentos (ANSEL, 2000).

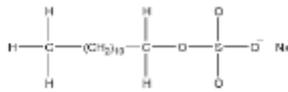
A Tabela 1 mostra os excipientes utilizados neste estudo, assim como suas estruturas químicas, funções.

Tabela 1. Excipientes utilizados, estrutura química, função.

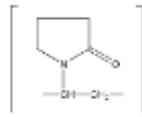
Excipiente	Estrutura Química	Funções
Amido		<ul style="list-style-type: none"> - Diluente de comprimido e cápsula; - Desintegrante de comprimido e cápsula; - Aglutinante para comprimidos; - Espessante;
Celulose Microcristalina		<ul style="list-style-type: none"> - Adsorvente; - Agente de suspensão; - Diluente de comprimido e cápsula; - Desintegrante de comprimido.
Estearato de magnésio		<ul style="list-style-type: none"> - Lubrificante para comprimidos e cápsulas.
Hidroxipropilmetilcelulose		<ul style="list-style-type: none"> - Agente de revestimento; - Agente de liberação controlada; - Agente dispersante; - Agente formador de filme; - Agente espumante; - Agente mucoadesivo; - Agente solubilizante; - Agente estabilizante; - Agente de suspensão; - Aglutinante para comprimidos; - Agente espessante;

Lactose monohidratada

- Veículo inalador de pó seco;
- Auxiliar de liofilização;
- Aglutinante para comprimidos;
- Diluente de comprimido e cápsula;
- Enchimento de cápsulas.

Lauril sulfato de sódio

- Tensoativo aniônico;
- detergente;
- Agente emulsificante;
- Lubrificante de comprimido e cápsula;
- Agente molhante.

Polivinilpirrolidona

- Desintegrante;
- Promotor de dissolução;
- Agente de suspensão;

Adaptado de Handbook 6ª edição, 2009.

3.3. Interação fármaco – excipiente

Interações entre fármaco-excipiente em formas farmacêuticas podem originar alterações na natureza química, física, solubilidade e resposta terapêutica. Assim, e de extrema importância o estudo de interação entre fármaco e excipientes no estado sólido durante a formulação de novos medicamentos, a reformulação de medicamentos já existentes (BERGAMINI, 2008) e seu armazenamento. Essas interações do fármaco com excipientes ou outros ativos que conduzem a alterações nas propriedades químicas, físicas e terapêuticas da forma farmacêutica são denominadas incompatibilidades.

Uma interação física representa que há uma alteração nos parâmetros físico-químicos dos componentes ativos, como solubilidade, taxa de dissolução e

biodisponibilidade, mas nenhuma reação química ocorre. Tais interações podem surgir devido a alterações de cor, odor, sabor, forma polimórfica ou cristalização de um fármaco na presença de excipientes (incompatibilidade farmacêutica) podendo levar a conclusões errôneas. No entanto, algumas interações são planejadas com o objetivo de aumentar a solubilidade e/ou a biodisponibilidade do ativo, por exemplo, complexação fármaco-ciclodextrina e dispersões sólidas (MONAJJEMZADEH et al., 2009).

Interação/incompatibilidade química envolve uma reação química direta entre o excipiente e o fármaco. Adicionalmente, vestígios de impurezas presentes nos excipientes podem reagir com o fármaco ou outros excipientes funcionais (Sedef Ilk et al., 2016). A existência de incompatibilidade química entre ativos com outros ativos e excipientes pode se manifestar em efeitos indesejáveis que podem ser tóxicos (formação de produtos de degradação) ou resultar em comprometimento da eficácia clínica (perda de potência) (JOSHI; PATIL; POKHARKAR, 2002; MONAJJEMZADEH et al., 2009). A compatibilidade entre os componentes de uma formulação pode ser afetada por diferentes fatores, mostrados na Figura 2.



Figura 2. Esquema dos fatores que afetam a compatibilidade fármaco excipiente (adaptado de Matos, A. 2009).

O rastreamento das compatibilidades envolve a utilização de misturas físicas de fármaco com um ou mais excipientes. A proporção de excipiente nas misturas é usualmente mantida elevada (fármaco:excipiente, 1:1, p/p) para maximizar a proporção de espécies excipiente/reagentes, aumentando assim a probabilidade de incompatibilidade (MONAJJEMZADEH et al., 2009). As misturas físicas podem ser analisadas por várias técnicas termoanalíticas e espectroscópicas antes e depois do equilíbrio (MONAJJEMZADEH et al., 2009).

A utilização de um método termoanalítico como o DSC é considerado essencial pela indústria farmacêutica por ser de rastreio rápido e fácil manuseio (ROUMELI; TSIAPRANTA, 2013). E técnicas espectroscópicas como espectroscopia no Infravermelho e cromatografia líquida de alta eficiência auxiliam e complementam a interpretação dos resultados.

3.4. Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A técnica de DSC vem sendo cada vez mais utilizada na busca de incompatibilidades e/ou interações entre ativos e excipientes farmacêuticos (WNOROWSKI; YAYLAYAN, 2003). É uma técnica de análise térmica na qual se mede a diferença de energia fornecida à amostra e a um material de referência, em função da temperatura, enquanto são submetidos a uma programação controlada de temperatura (GIOLITO e IONASHIRO, 1980; BERGAMINI, 2008; WELLS, 1988).

É uma ferramenta útil para ser utilizada em estudos de pré-formulação, pois ajuda a prever o acontecimento desses possíveis eventos entre os componentes de uma formulação (BERGAMINI, 2008; GIRON, 2002; WELLS, 1988). Apesar da técnica de DSC apresentar diversas vantagens, também apresenta algumas limitações. A extrapolação dos resultados, obtidos em altas temperaturas, não reproduz a real situação do fármaco na formulação. Dessa forma, não é recomendado seu uso como uma técnica única e isolada. A interpretação dos dados obtidos deve ser criteriosa e associada a técnicas complementares, utilizando-se métodos não térmicos, como a espectroscopia no infravermelho (BERGAMINI, 2008; GIOLITO e IONASHIRO, 1980; PAULA; VILELA, 2009; WELLS, 1988)

Basicamente, existem duas modalidades de DSC: calorimetria exploratória diferencial com compensação de potência e calorimetria exploratória diferencial com fluxo de calor. O primeiro apresenta um arranjo no qual a referência e amostra são

mantidas na mesma temperatura, através de aquecedores elétricos individuais. A potência dissipada pelos aquecedores é relacionada com a energia envolvida no processo endotérmico ou exotérmico. Já a de Fluxo de Calor apresenta um arranjo mais simples no qual a amostra e a referência, contidas em seus respectivos suportes de amostra, são colocadas sobre um disco de metal. A troca de calor entre o forno e a amostra ocorre preferencialmente pelo disco (BERNAL et al., 2002). A figura 3 ilustra um esquema genérico do equipamento da técnica descrita.

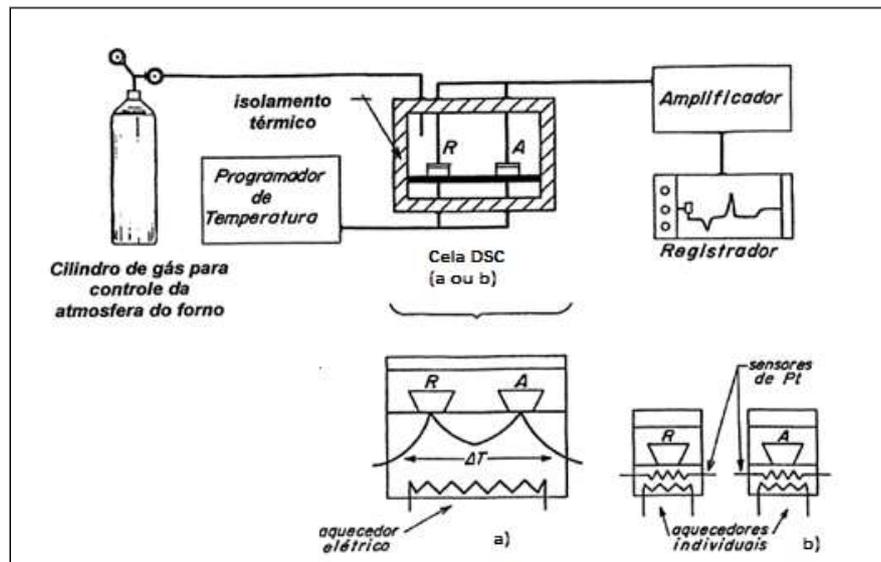


Figura 3. Esquema de um equipamento genérico para calorimetria exploratória diferencial (DSC). a) DSC com fluxo de calor; b) DSC com compensação de potência. (BERNAL et al., 2002)

Através dessas técnicas, podem-se acompanhar os efeitos de calor associados com alterações físicas ou químicas da amostra, tais como transições de fase (fusão, ebulição, sublimação, congelamento, inversões de estruturas cristalinas) ou reações de desidratação, de dissociação, de decomposição, de óxido-redução, capazes de causar variações de calor. Em geral, transições de fase, desidratações, reduções e certas reações de decomposição produzem efeitos endotérmicos, enquanto que cristalizações, oxidações, algumas reações de decomposição produzem efeitos exotérmicos (IONASHIRO, M. GIOLITO, 2004).

Nesta técnica, as curvas da DSC de componentes puros são comparadas com as curvas obtidas a partir de misturas físicas 1:1. Assume-se que as propriedades térmicas (ponto de fusão, alteração na entalpia, etc.) das misturas são a soma dos componentes individuais se os componentes são compatíveis entre si. Uma ausência, uma alteração significativa na fusão dos componentes ou aparência

de um novo pico exo/endotérmico e/ou variação nas correspondentes alturas de reação na mistura física indicam fortemente a existência de incompatibilidade. Contudo, são esperadas pequenas alterações na forma, altura e largura do pico devido a possíveis diferenças na geometria da mistura (MONAJJEMZADEH et al., 2009).

Muitos eventos térmicos acontecem somente em elevadas temperaturas. Esta condição altamente estressante pode forçar uma reação a ocorrer, que, no entanto, não se desenvolveria em baixas temperaturas. Se uma interação é indicada, isso não se traduz, necessariamente, em incompatibilidade (WADKE et al., 1990; LONGHINI, 2006).

Em um termograma, o aparecimento de um pico fino representando um evento endotérmico de fusão pode indicar uma pureza elevada, enquanto que, uma endoterma larga, pode sugerir a presença de impurezas ou a ocorrência de mais do que um processo térmico (LONGHINI, 2006). Dessa forma, quando são misturadas duas substâncias, geralmente a pureza de cada uma delas é reduzida e ocorre uma diminuição do ponto de fusão e aparecimento de picos menos definidos na curva de aquecimento (LONGHINI, 2006; WELLS, 2002).

O uso da análise térmica em estudos de compatibilidade é vantajoso devido à rápida obtenção dos resultados (BERGAMINI, 2008), versatilidade e a necessidade de pequenas quantidades de amostra para ser desenvolvida. Sua principal desvantagem está no fato de, em alguns momentos, resultarem termogramas de difícil interpretação ou o surgimento de falsos resultados (positivos ou negativos, especialmente para polimorfismo) (FIGUEIREDO, 2012).

3.5. Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região do infravermelho tem sido amplamente utilizada para identificação de substâncias, realizada através dos grupos funcionais da molécula em análise. O espectro de infravermelho é constituído de uma grande quantidade de sinais chamados de bandas. Os grupamentos e ligações apresentam absorções que geram bandas de formato característico da estrutura da molécula (FIGUEIREDO, 2012).

Desta forma, o espectro obtido relaciona absorvância *versus* comprimento de onda (normalmente é utilizado o número de onda, que é o intervalo de comprimento de onda) que indica a ocorrência, ou não, de absorção pelo material de energia associada àquele comprimento de onda. Como os grupos funcionais absorvem em diferentes comprimentos de onda, é possível identificar os grupos funcionais presentes na amostra (FIGUEIREDO, 2012).

A região espectral que corresponde ao infravermelho compreende a radiação com números de onda no intervalo de aproximadamente 15000 a 10 cm^{-1} . Do ponto de vista da aplicação dos instrumentos empregados, o espectro de infravermelho é dividido em infravermelho próximo (NIR – do inglês, Near Infrared) com número de onda entre 15000 a 4000 cm^{-1} , médio (MID – do inglês, Middle Infrared) entre 4000 a 400 cm^{-1} , e distante (FAR – do inglês, Far Infrared) entre 400 a 10 cm^{-1} (SKOOG, F. J et al., 2008).

Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) difere da espectroscopia dispersiva, pois em cada medição a intensidade em um intervalo de comprimento de onda é mais estreito. O termo transformada de Fourier provém do fato de ser necessário a utilização de um processo matemático para converter os dados obtidos no espectro de radiação. Essas informações são apresentadas na forma de um interferograma que é a medida que o espelho móvel percorre determinada distância. Apesar de o interferograma conter toda informação fornecida pelo espectrômetro, a forma com que essa informação se apresenta não é muito útil, por isso essa informação é convertida em espectro, relacionando-se as intensidades com as respectivas frequências, através da transformada de Fourier (CONSTANTINO, 2008). Um esquema de espectroscopia no infravermelho é demonstrado na Figura 4.

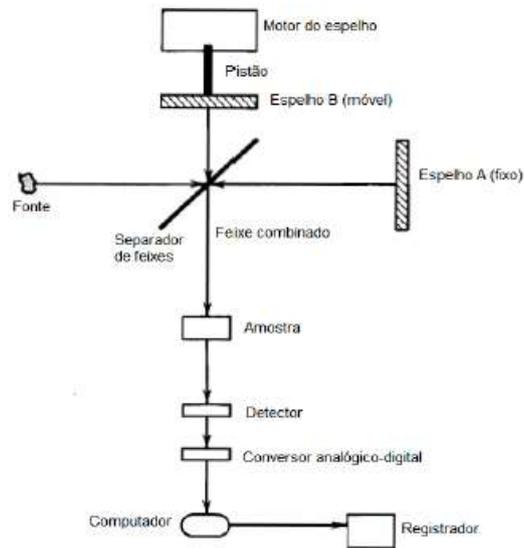


Figura 4. Esquema de um espectrofotômetro com infravermelho com transformada de Fourier (WANG; CHEN; WANG, 2009).

A espectroscopia FTIR apresenta vantagens como uma maior potência da chegada da radiação ao detector, melhores precisão e exatidão em termos de comprimento de onda e todos os sinais da fonte alcançam o detector simultaneamente (CONSTANTINO, 2008). É também um método mais rápido para obtenção do espectro de infravermelho, já que o feixe de radiação que contém todos os comprimentos de onda é separado em dois feixes o que proporciona um resultado com a variação completa dos comprimentos de onda (combinações destrutivas ou construtivas) e uma conversão do domínio do tempo e um domínio de frequência (WANG; CHEN; WANG, 2009).

A técnica de FTIR é utilizada para pesquisa na área farmacêutica para a identificação de fármacos e excipientes, análise de pureza de amostras, investigação estrutural, cristalinidade, interações entre fármacos e excipientes, na caracterização de estruturas polimórficas, quanto a sua estrutura química, fornecendo indicação de ocorrência de modificações após o processo de cristalização (FIGUEIREDO, 2012).

3.6. Teste de Estresse Isotérmico (IST)

O teste de estresse isotérmico (IST) é uma técnica simples que é utilizada de forma complementar as análises térmicas e espectroscópicas em estudos de compatibilidade de fármaco e excipientes. Pode ser caracterizado como um estudo de estabilidade modificado, pois envolve o armazenamento de misturas de fármaco-excipiente com ou sem umidade a temperatura elevada (> 50 °C) por um período específico de tempo (normalmente 3-4 semanas) para acelerar o envelhecimento do fármaco e sua interação com excipientes (RANJAN; LILA; NATH, 2012).

O IST tem uma aplicação específica na indústria farmacêutica onde a interação entre fármaco e excipientes é visualmente observada e o teor de fármaco é determinado quantitativamente. Contudo, a desvantagem deste método é ser demorado e trabalhoso (A.P.LÖTTER, 1990; RANJAN; LILA; NATH, 2012).

VERMA; GARG, 2005, realizaram o teste de IST e verificaram, juntamente com o uso do DSC, a ocorrência de incompatibilidade entre o Mononitrato de Iossorbida com acetato de celulose através da alteração de cor o do aparecimento de um novo pico no cromatograma da mistura após o armazenamento em condições de estresse.

LILTORP et al., 2011, utilizando um método modificado do teste de IST para verificação de incompatibilidades, observou que em apenas 3 dias foi possível detectar problemas de compatibilidade entre um ativo e excipientes farmacêuticos.

RANJAN; LILA; NATH, 2012, verificou a não ocorrência de incompatibilidade entre Nateglinida e os excipientes por eles estudados: Lactose, Celulose microcristalina, Croscarmelose sódica, Polivinilpirrolidona e Estearato de magnésio.

WANG; JING, 2013, utilizou o IST para detectar incompatibilidade entre Itraconazol e excipientes selecionados. Concluiu que a técnica foi empregada com sucesso para avaliar a compatibilidade de Itraconazol com os excipientes utilizados no desenvolvimento de comprimidos dispersáveis em conjunto com os resultados obtidos por DSC.

A Tabela 2 mostra um resumo das técnicas utilizadas para a realização deste trabalho, assim como suas principais vantagens e desvantagens. (MONAJJEMZADEH et al., 2009)

Tabela 2. Técnicas de triagem de compatibilidade de excipientes, suas vantagens e desvantagens potenciais.

Técnica	Vantagens	Desvantagens	Comentários
Teste de estresse isotérmico (análise por CLAE)	- Permite a detecção e quantificação de impurezas durante a incompatibilidade.	- Longo tempo para realização dos experimentos (o fármaco e os excipientes são submetidos à temperatura e umidade elevadas (aceleradas) para permitir que haja reação suficiente entre eles). - Desenvolvimento de método de ensaio para cada fármaco é necessário para a análise por CLAE.	- Os resultados são confiáveis e inconfundíveis.
Calorimetria Exploratória diferencial (DSC)	- Método rápido - É necessária uma pequena quantidade de amostra. - Fácil detecção de interações físicas como mudança na forma polimórfica, conversão da forma cristalina em forma amorfa.	- Se as alterações térmicas forem muito pequenas esta técnica não é muito adequada. - Não aplicável se o material de teste exibir propriedades que dificultem a interpretação dos dados. - Método destrutivo (a amostra é destruída durante a análise devido as elevadas temperaturas). - Não é possível resolver eventos térmicos sobrepostos à mesma temperatura. - Não é possível detectar as incompatibilidades que ocorreram após o armazenamento em longo prazo.	Os resultados de incompatibilidade obtidos devem ser confirmados utilizando-se outros métodos não térmicos.
Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)	- Detecção fácil de incompatibilidade devido a bandas únicas/deslocamento de	-Interferência da umidade ambiental.	A aparência de picos extras devido à umidade ambiental deve ser

pico. negligenciada.

- Informações químicas espaciais com configurações de imagem.
- Pequena quantidade de amostra é necessária.
- Captação de dados relativamente rápida.
- Disponibilidade de bibliotecas espectrais.

Adaptado de RENU CHADHA; SWATI BHANDARI, 2014

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

- QPF (98,18% de pureza, ShaanXi HuiKe Botanical (Xi'an, China),
- Amido, (Corn Product, Illinois, EUA),
- Lactose monohidratada (Delaware, Brazil®),
- Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC, methocel K100, Colorcon, EUA),
- Celulose microcristalina 101 (CMC, Taiwan),
- Estearato de Magnésio (Mg stearate, Italia),
- Polivinilpirrolidona (PVP, Vetec, Rio de Janeiro, Brazil),
- Lauril Sulfato de Sódio (LSS, CQA, SP, Brazil).
- Ácido Fórmico 96% e Metanol grau HPLC usado para preparação da fase móvel (Tedia, Rio de Janeiro, Brazil).
- Água Ultrapura (Milli-Q apparatus, Millipore, Billerica, USA).
- Todos os outros reagentes utilizados foram de grau analítico.

4.2 Métodos

4.2.1. Preparação das misturas binárias de Quempferol – excipientes

Primeiramente o Quempferol e cada excipiente estudado foram tamisados em tamis 60 mesh para padronização do tamanho de partícula (WANG; CHEN; WANG, 2009).

As misturas físicas de Quempferol com cada excipiente selecionado foram preparadas na proporção de 1:1 (m/m) em frasco de vidro onde as amostras foram homogeneizadas por vórtex durante 3 minutos e analisadas por DSC, IV e CLAE. A proporção de 1:1 (m/m) foi escolhida a fim de maximizar a probabilidade de observar qualquer interação.

4.2.2. Calorimetria Exploratória Diferencial

As curvas de DSC de Quempferol, excipientes e misturas binárias 1:1 (QPF: excipiente) foram obtidos através do Calorímetro Shimadzu Modelo DSC-60A. Foi realizada calibração com um padrão de índio ($156,6 \pm 0,3$ °C). As amostras foram pesadas (1-2 mg) diretamente em recipientes de alumínio e seladas. As análises realizadas sob atmosfera de nitrogênio ($50 \text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$) com uma taxa de fluxo de aquecimento de $10 \text{ }^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ na faixa de temperatura 10-400 °C. As curvas obtidas foram usadas para estudo de interação entre o fármaco e excipiente.

4.2.3. Espectroscopia no Infravermelho

As misturas foram preparadas conforme descrito no item 4.2.1. Os espectros das amostras individuais e misturas binárias foram obtidos utilizando um espectrofotômetro (Perkin - Elmer, Modelo BX / RX, EUA), comprimento de onda na faixa de $4.000\text{-}600 \text{ cm}^{-1}$, com um resolução de 2 cm^{-1} e 40 varreduras.

4.2.4. Teste de Estresse Isotérmico (IST)

Em cada um dos frascos com a mistura do fármaco e excipiente foi adicionado água (10%). Cada frasco foi selado utilizando uma tampa de rosca forrada de Teflon e armazenadas a 50 °C em estufa. Estas amostras foram examinadas, qualitativamente, para observar a ocorrência de qualquer mudança de cor, e quantitativamente, através de cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) após três semanas de armazenamento nas condições acima.

Para controle negativo as misturas de Quempferol-excipientes sem adição de água foram também armazenadas em geladeira (2-8 °C).

Amostras do teste de IST foram analisadas utilizando um método de CLAE previamente desenvolvido e validado (COLOMBO, M., 2016). Para a preparação das amostras, as misturas binárias foram diluídas em 1,0 mL de metanol de forma a obter suspensões de concentração de 5 µg/ml. Após as diluições adequadas, as amostras foram analisadas por CLAE e o teor de QPF em cada amostra foi determinado a partir da curva padrão preparada dentro do intervalo esperado.

O equipamento de cromatografia líquida de alta eficiência utilizado foi sistema Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão) equipado com uma bomba modelo LC-20AT, um detector de UV VIS SPD-20AV variável de comprimentos de onda, um degaseificador DGU-20A5, um CBM controlador do sistema -20 e válvula de injeção SIL-20A com um loop de 100 µL. O QPF foi analisado utilizando uma coluna RP18 Xterra® (250 mm x 4,6 mm, 5 µm de tamanho de partícula). Fase móvel composta por uma mistura 75:25 (v/v) de metanol e ácido fórmico a 0,1% em água. O volume de injeção foi de 20 µL e o sistema de CLAE foi operado a um vazão de 1,0 mL /min, com detecção UV a 368 nm e temperatura de 35 °C.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Análise térmica

As interações entre fármaco e excipientes farmacêuticos que provocam alterações nas propriedades químicas, físicas e terapêuticas da forma farmacêutica, são designadas como incompatibilidades (MONAJJEMZADEH et al., 2009; PEREIRA et al., 2014). Durante a formulação ou o armazenamento podem ocorrer interações que são normalmente classificadas como interações físicas ou químicas. Na interação física não ocorre qualquer reação química, mas há mudança nos parâmetros físico-químicos de ativos, como a taxa de dissolução, solubilidade, cristalização e biodisponibilidade (MONAJJEMZADEH et al., 2009; SOUZA et al., 2013). As interações químicas que podem ocorrer entre o ativo e o excipiente causam degradação e formação de novos produtos de degradação ou impurezas. Neste caso, existe uma incompatibilidade entre substâncias (SOUZA et al., 2013). A utilização da técnica de DSC tem sido proposta como um método rápido para avaliar as interações físico-químicas entre os componentes de uma formulação através da comparação de curvas térmicas de substâncias puras com a curva obtida a partir de uma mistura física 1:1 (FULIAS et al., 2011). As curvas de DSC obtidas para Quempferol, excipientes puros e misturas são apresentadas abaixo. Os principais dados obtidos pela análise térmica a partir das curvas de DSC estão resumidos na Tabela 3.

Tabela.3 Temperaturas dos picos e valores de entalpia do Quempferol e das misturas.

Amostra	Mistura (fármaco- excipiente)	T _{onset} /°C	T _{peak} /°C	$\Delta H_{f\ corr}/J\ g^{-1}$
QPF	-	285,70	287,89	-134,69
QPF + Amido	1:1	273,31	274,38	-86,64
QPF + CMC	1:1	281,69	285,29	-101,82
QPF + Est. Mg	1:1	274,83	278,52	-64,71
QPF + HPMC	1:1	36,10	59,05	-
QPF + Lactose	1:1	216,32	216,32	-125,24
QPF + LSS	1:1	212,12	221,12	-141,68
QPF + PVP	1:1	41,88	72,20	-392,75

$$\Delta H_{f\ corr} = \Delta H_{f\ obs} / \% \text{amostra do fármaco} \times 100$$

A curva do DSC do QPF está apresentada na Fig. 5. A decomposição térmica do QPF, na presença de atmosfera de nitrogênio ocorreu como um evento único. A curva do DSC mostrou um pico endotérmico acentuado a 287,89 °C ($T_{\text{onset}} = 285,70$ °C, $\Delta H_{\text{fus}} = -134,69$ J / g) indicando a fusão do QPF. O ponto de fusão do QPF está de acordo com a literatura (TZENG CW, 2011).

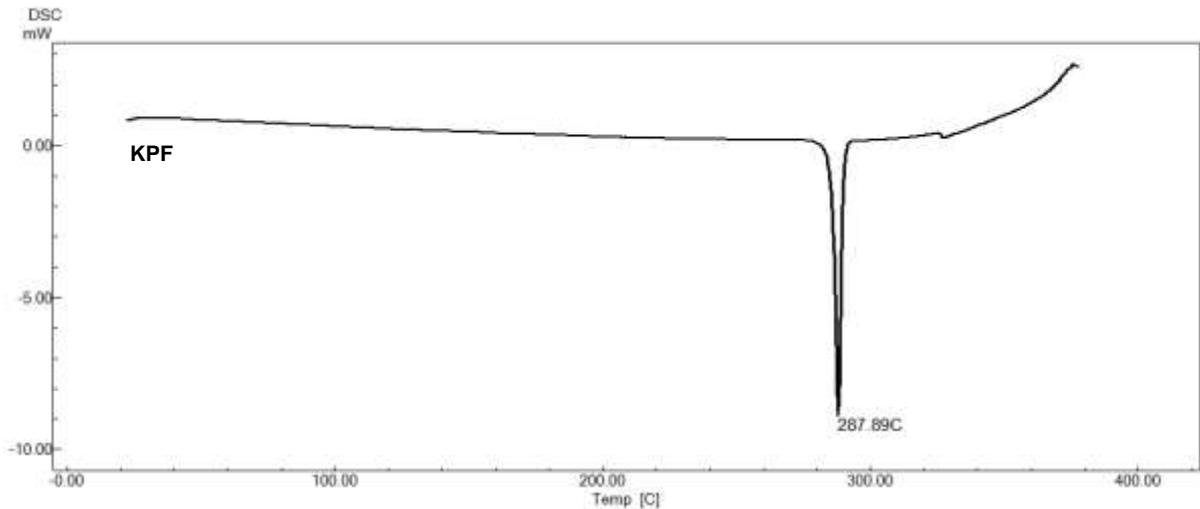


Figura 5. Termograma do Quempferol.

A curva do amido apresentou dois picos endotérmicos, o primeiro a 65,89 °C devido à desidratação e, o segundo, a 299,08 °C caracterizando o ponto de fusão. A curva do DSC do QPF na presença do amido é mostrada na Fig. 6. O pico endotérmico de fusão de QPF foi de 274,38 °C na mistura de QPF- amido, sugerindo que houve interação entre amido e o QPF.

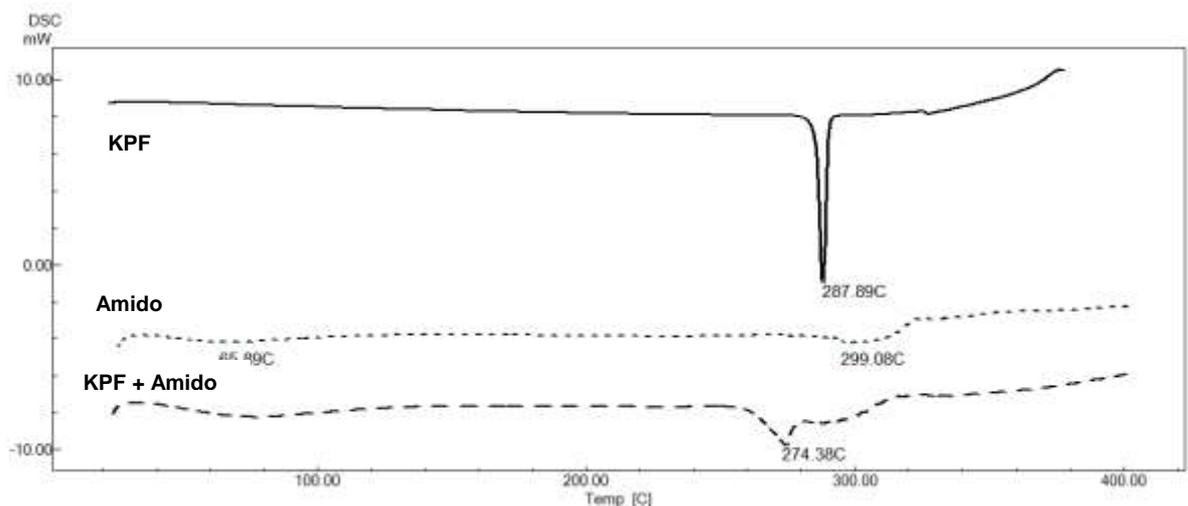


Figura 6. Termogramas do Quempferol (QPF) Amido e a mistura QPF + Amido em comparação.

A curva da CMC mostrou que o aparecimento do primeiro pico endotérmico a 50,28 °C foi atribuído à desidratação. A decomposição ocorreu com um pico exotérmico a 353,98 °C. A curva do QPF na presença de CMC é mostrada na Fig. 7. O pico endotérmico de fusão do QPF foi de 285,29 °C na mistura QPF-CMC, o que sugere que não ocorreu interação entre CMC e QPF, pois não houve mudança de energia importante do QPF na mistura em relação ao QPF isolado.

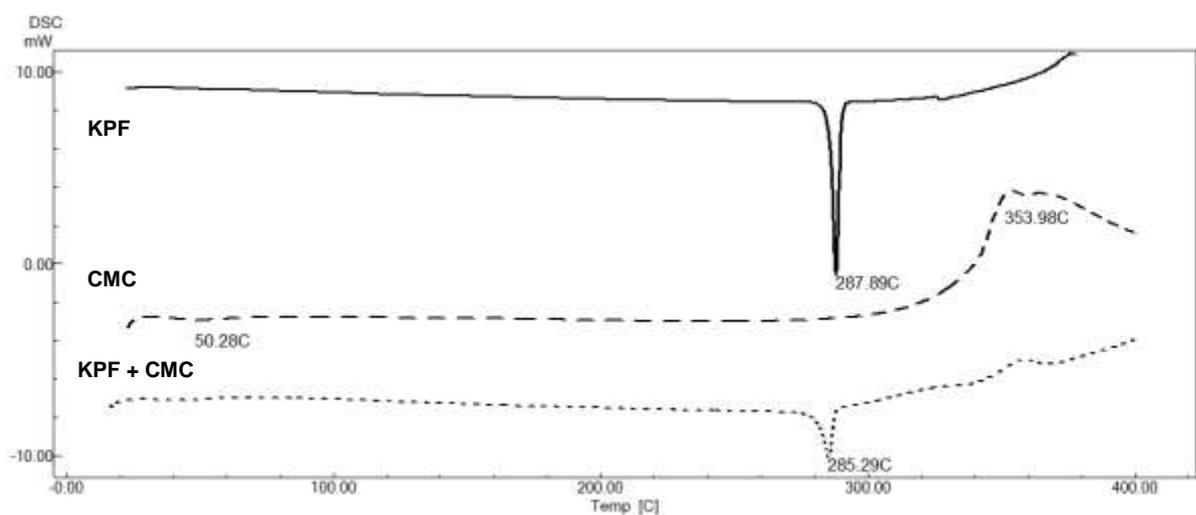


Figura 7. Termogramas do Quempferol (QPF) Celulose Microcristalina e a mistura QPF + CMC em comparação.

Na curva do DSC obtida para o estearato de magnésio (Est. Mg), observou-se uma curva irregular a 110,85 °C, representando o seu ponto de fusão. A curva da mistura QPF - estearato de magnésio (Fig. 8) mostrou o pico endotérmico de QPF a 278,52 °C, indicando a possibilidade de haver alguma incompatibilidade física entre QPF e estearato de magnésio (RANJAN; LILA; NATH, 2012). Como visto na curva de DSC obtida a partir da mistura binária, todos os eventos característicos de ambos os compostos parecem ter sido suprimidos após a mistura física, o que indica uma possível interação.

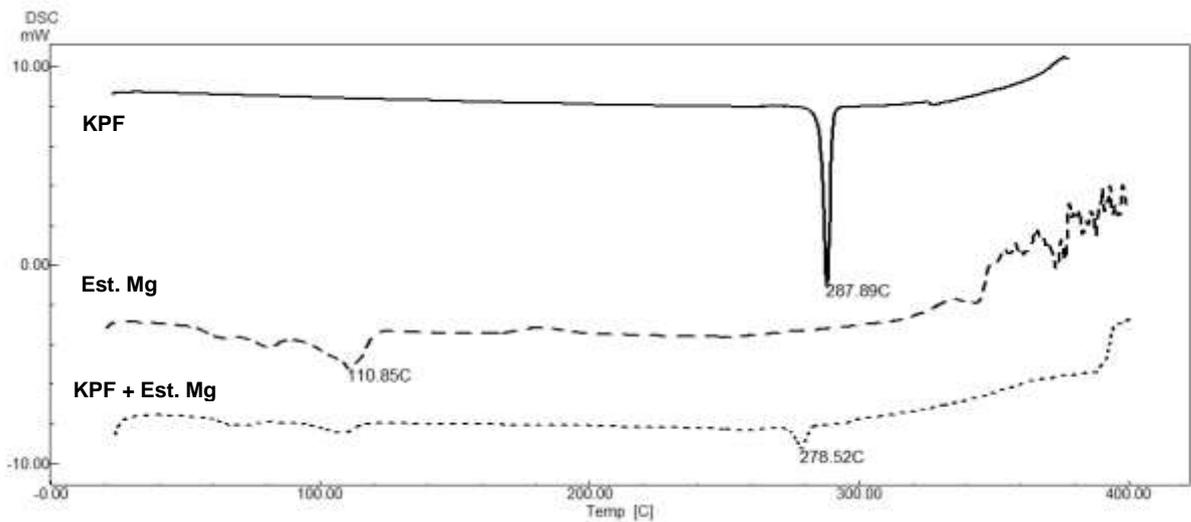


Figura 8. Termogramas do Quempferol (QPF), Estearato de Magnésio (Est. Mg) e a mistura QPF + Est. Mg em comparação.

A curva do HPMC obtida exibiu um pico exotérmico a 337,99 °C (Fig.9.). O termograma da mistura QPF-HPMC mostrou um pico endotérmico 59,05 °C devido à evaporação da umidade adsorvida. O pico endotérmico do QPF não foi observado na curva obtida para a mistura HPMC-QPF sugerindo que pode ter ocorrido alguma alteração na estrutura química do fármaco caracterizando uma possível interação física entre QPF e HPMC.

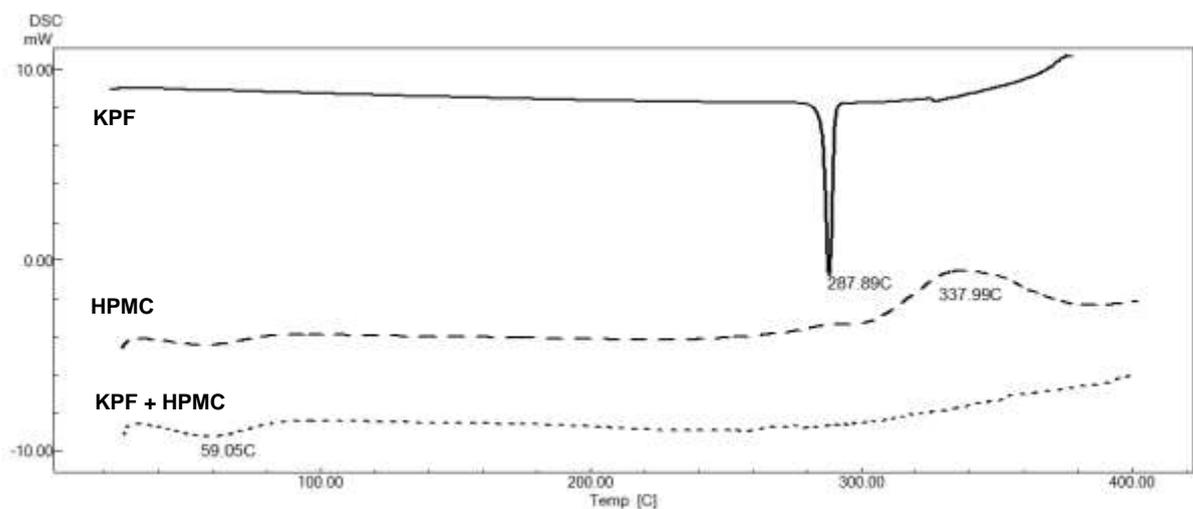


Figura 9. Termogramas do Quempferol (QPF), Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC) e a mistura QPF + HPMC em comparação.

Na análise térmica da lactose monohidratada vários eventos caracterizam o comportamento térmico desse excipiente (Fig.10). A curva do DSC apresentou um pico endotérmico a 147,22 °C correspondente à desidratação e outro, caracterizando o ponto de fusão a 217,85 °C. O pico de fusão da lactose (223 °C) é característico da forma de α -lactose monohidratada, mas a diminuição para 218 °C devido à moagem e compressão durante a preparação da amostra está de acordo com o descrito na literatura para este excipiente (MAC; NASCIMENTO; VERAS, 2002; MONAJJEMZADEH et al., 2009). A decomposição da lactose apresentou dois picos, um pico endotérmico a 242,34 °C, seguida por um pico exotérmico a 355,20 °C devido à carbonização (ARAÚJO; MERCURI, 2003; PEREIRA et al., 2014) do resíduo. A curva da mistura de QPF- lactose mostrou que ambas os eventos de desidratação e ponto de fusão da lactose ocorrem nas mesmas temperaturas que a lactose isolada. Entretanto, houve o desaparecimento do pico de fusão do QPF na mistura binária que pode estar relacionada à interação do QPF com o excipiente (MONAJJEMZADEH et al., 2009).

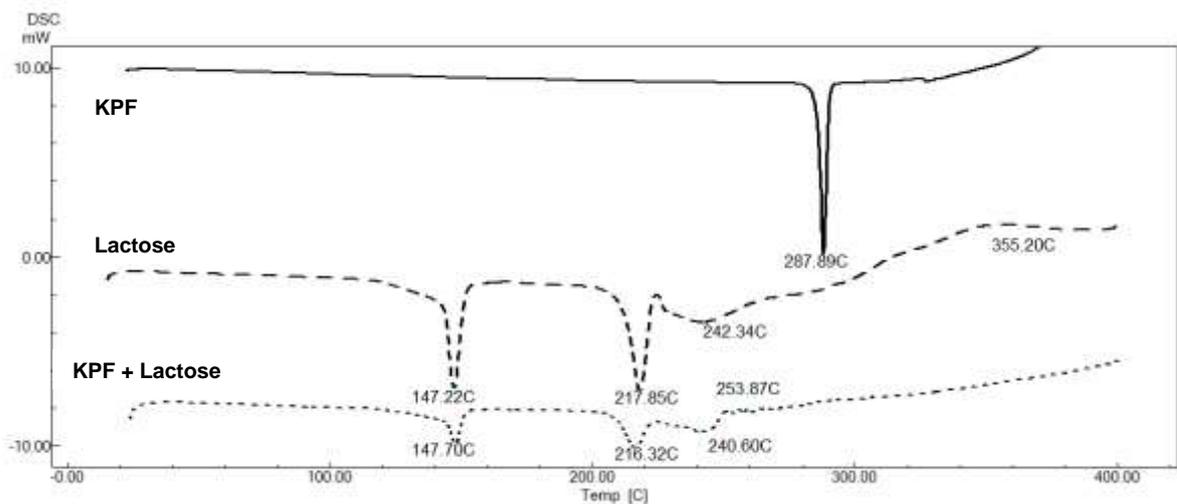


Figura 10. Termogramas do Quempferol (QPF), Lactose e a mistura QPF + Lactose em comparação.

O perfil analítico do LSS foi marcado pela ocorrência de vários eventos endotérmicos (Fig. 11). A curva do DSC deste composto apresentou dois picos de desidratação (JIANG; CHEN; CHEN, 2012) a 104,42 °C e 190,15 °C. O pico a 208,54 °C é próximo aos encontrados por outros autores (GUPTA et al., 2015; JIANG; CHEN; CHEN, 2012) e foi atribuído à temperatura do ponto de fusão (FULIAS et al., 2011). Os próximos dois eventos endotérmicos nas temperaturas de

253,28 °C e 271,34 °C foram atribuídas às duas etapas de decomposição. Na curva da mistura QPF-LSS observou-se que os dois picos endotérmicos iniciais de desidratação não sofreram alterações significativas. Houve uma mudança na temperatura do ponto de fusão do LSS de 208,54 °C para 221,12 °C. Na primeira etapa de decomposição também foi observado um deslocamento da temperatura do ponto de fusão (253,28 °C - 243,16 °C). Houve o desaparecimento do segundo pico de decomposição do QPF na mistura. Estes resultados sugerem que estes dois compostos têm alguma interação. Como o LSS é um agente tensoativo, pode ter diminuído a tensão interfacial sólido-líquido, facilitando a remoção de água e a sua evaporação, como consequência da condução do experimento (PEREIRA et al., 2014).

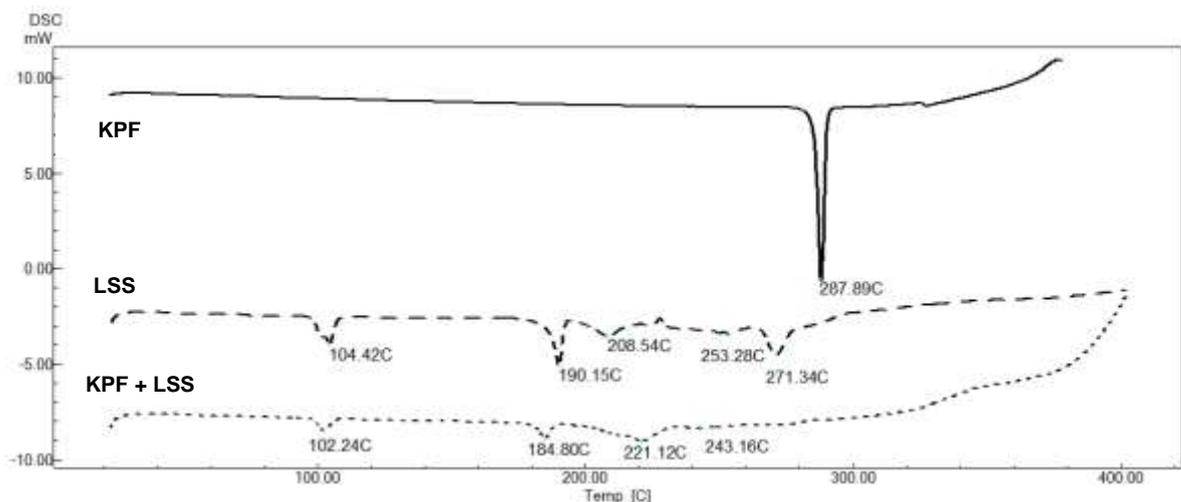


Figura 11. Termogramas do Quempferol (QPF), Lauril sulfato de sódio (LSS) e a mistura QPF + LSS em comparação.

A curva da análise térmica do PVP mostrou um largo pico endotérmico a 73,20 °C (iniciou a 38,98 °C e terminou a 101,50 °C), o que pode ser devido à perda de umidade adsorvida. (Fig.12). A decomposição começou por volta 376,52 °C (FULIAS et al., 2011). A curva da mistura QPF-PVP mostrou um pico endotérmico 72,20 °C. O pico endotérmico do QPF não foi observado no termograma da mistura o que sugere alguma interação física entre QPF e PVP.

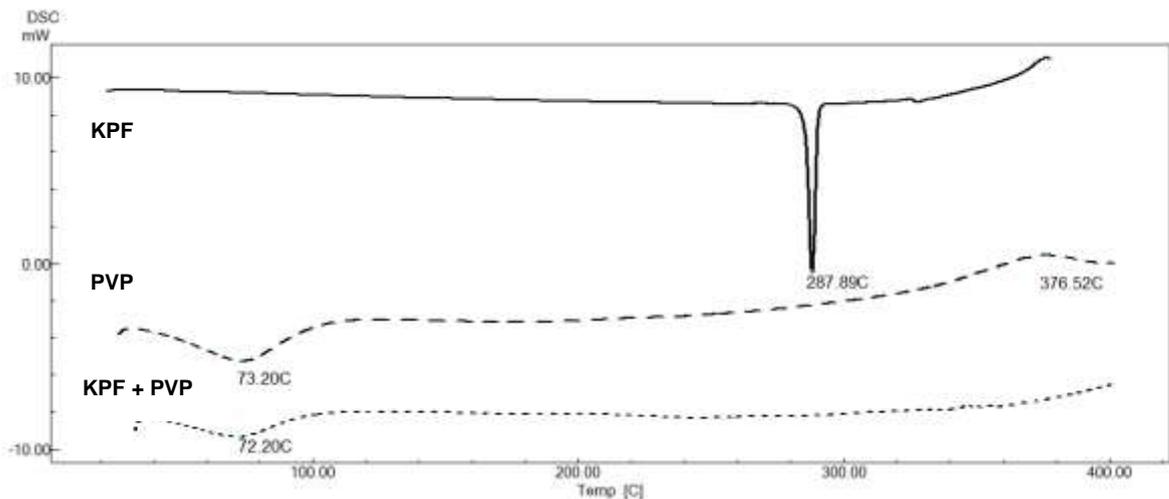


Figura 12. Termogramas do Quempferol (QPF), Polivinilpirrolidona (PVP) e a mistura QPF + PVP em comparação.

Os resultados obtidos na análise por DSC entre o QPF e os excipientes aqui estudados, estearato de magnésio, hidroxipropilmetilcelulose, lactose, lauril sulfato de sódio e polivinilpirrolidona que mostram modificações no termograma das misturas indicando haver incompatibilidade não podem ser interpretados de forma conclusiva apenas baseando-se nesta técnica. Diversos autores, já descreveram esta situação de uma aparente interação entre fármaco e excipiente observada a partir dos resultados do DSC, mas que não necessariamente tenha ocorrido alguma interação físico-química entre fármaco e excipiente sugerindo uma incompatibilidade. Estes relatos são descritos a seguir.

WANG; JING, 2013, relatam que na maioria dos casos por eles estudados, a endoterma de fusão do fármaco foi bem preservada, com pequenas alterações em termos de ampliação ou redução de temperatura, mas que estas alterações podem ocorrer devido à quantidade de material utilizado na mistura do fármaco e excipiente, o que diminui a pureza de cada componente na mistura e, afetando a forma do pico e entalpia, e não necessariamente indicando uma potencial incompatibilidade.

MURA et al., 1995, relata que o perfil do DSC por eles analisados foi profundamente influenciado pelo tratamento da amostra. Na verdade, um deslocamento progressivo para baixo, ampliando e achatando o pico de fusão de fármaco foi observada, até o seu completo desaparecimento como consequência das forças durante granulação, por exemplo, compressão, e, particularmente, da trituração ou mistura. Este comportamento, que se assemelha ao já descrito para

outros fármacos, tais como Naproxeno (Bettinetti et al., 1988), Ibuprofeno (Najib et al., 1986), e Cetoprofeno (Botha e Lotter, 1989), indica que uma forte interação sólido-sólido ocorreu, no entanto, não indica necessariamente incompatibilidade farmacêutica, mas que poderia ser explicado pela formação de microagregados cristalinos do fármaco e a sua dispersão significativa dentro da matriz polimérica amorfa (Bettinetti et al., 1991), com um efeito positivo sobre a hidrosolubilidade do fármaco (Bettinetti e Mura, 1994).

MALAN; VILLIERS, 1997, descrevem para o fármaco niclosamida que o método de preparo da amostra, isto é, a proporção de componente ativo para excipiente e a exposição das misturas a água e calor, tiveram uma influência significativa sobre os resultados obtidos por DSC, mas não quando realizado análise por CLAE. Isto não significa que os resultados de DSC devam ser ignorados, porque embora interações não causem a degradação do fármaco, pode haver diminuição no desempenho da forma farmacêutica.

Assim, como os resultados obtidos pela análise do DSC não foram conclusivos, e de acordo com o descrito anteriormente, devem ser realizadas análises utilizando-se outras técnicas para confirmar esses resultados.

5.2. Análise por Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

A técnica de espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) é utilizada como uma técnica complementar para investigar possíveis interações físico-químicas entre fármaco e excipientes e para confirmar os resultados obtidos por análise térmica.

FTIR é uma técnica adequada entre os métodos espectroscópicos não destrutivos e tornou-se um método atraente para a análise de sólidos farmacêuticos, uma vez que os materiais não são sujeitos a energia térmica ou mecânica durante a preparação da amostra, impedindo assim o estado de sólido de transformação.

As características de novas bandas de absorção, ampliação de banda (s) e alteração de intensidade são as principais características para evidenciar interações entre fármaco e excipientes (ABBAS et al., 2008; FULIAS et al., 2011; PEREIRA et al., 2014).

A estrutura química do QPF está presente na Fig.13. As suas bandas características são as seguintes: alongamento a $3319,51\text{ cm}^{-1}$ (O-H alifático), $1654,96\text{ cm}^{-1}$ (C = O), $1616,00\text{ cm}^{-1}$ (C = C aromático), $1508,49\text{ cm}^{-1}$ (vibrações do anel de benzeno), $1371,77\text{ cm}^{-1}$ (C - OH), $1161,55\text{ cm}^{-1}$ (C - O) (MOURA, A., 20, ZHANG et al., 2015).

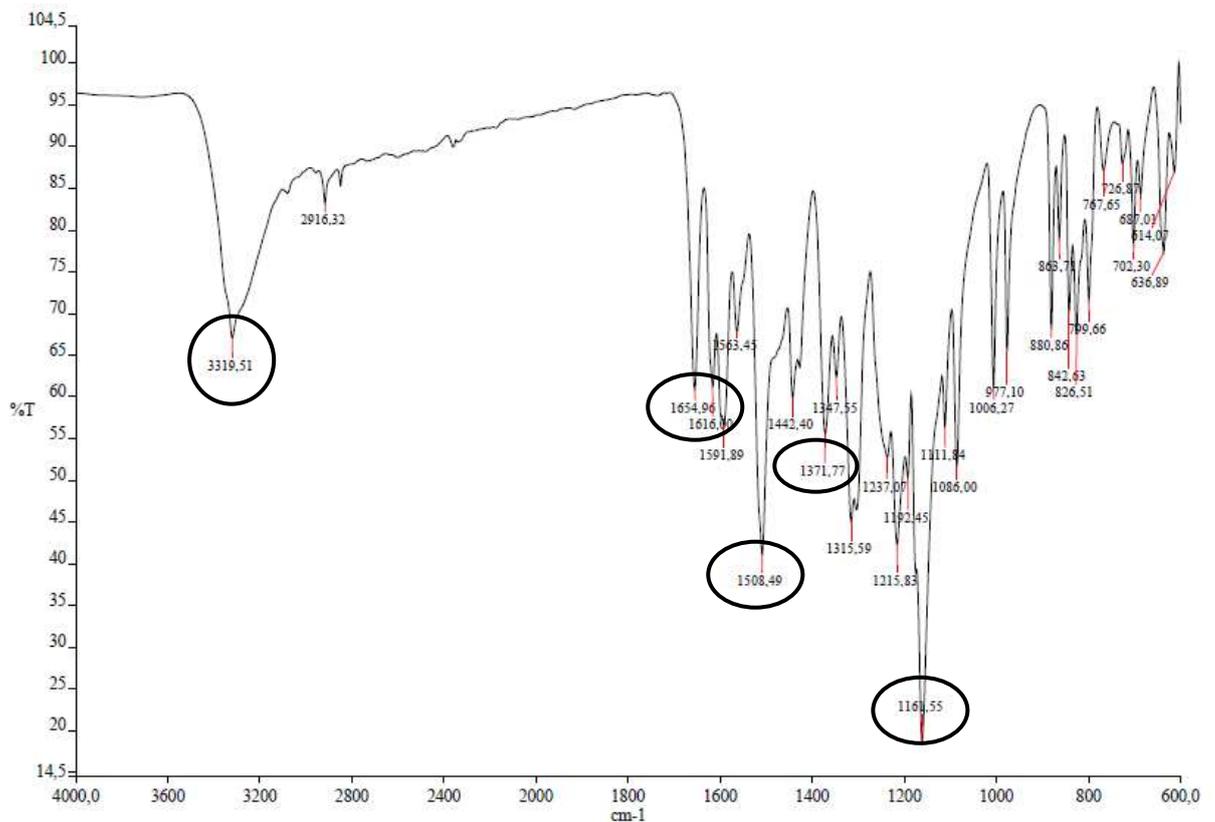


Figura 13. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando as bandas do QPF.

Os espectros das misturas do QPF com os excipientes apresentaram as bandas características do QPF, praticamente sem alterações, como é apresentado na Tabela 4, indicando que não se visualiza interação do QPF com os excipientes analisados, pois a estrutura química do QPF se manteve sem alterações importantes em todas as misturas, como é possível verificar nas figuras a seguir.

Tabela 4. Valores das bandas obtidas por FTIR de QPF e das misturas realizadas.

Misturas Bandas	O-H	C=O	C=C aromático	Vibrações do anel de benzeno	C-OH	C-O
	1	2	3	4	5	6
QPF	3319,51	1654,96	1616,00	1508,45	1371,77	1161,55
QPF + Amido	3319,40	1655,64	1615,47	1509,59	1372,52	1163,50
QPF + CMC	3319,92	1655,91	1616,03	1509,83	1372,95	1164,01
QPF + Est. Mg	3318,02	1655,64	1616,00	1509,81	1373,79	1164,05
QPF + HPMC	3319,58	1655,57	1616,07	1509,71	1372,87	1163,88
QPF + Lactose	3319,49	1655,73	1616,17	1508,89	1373,76	1164,28
QPF + LSS	3319,89	1655,68	1615,70	1509,45	1372,84	1163,48
QPF + PVP	3320,19	1654,89	1616,10	1509,76	1373,32	1164,19

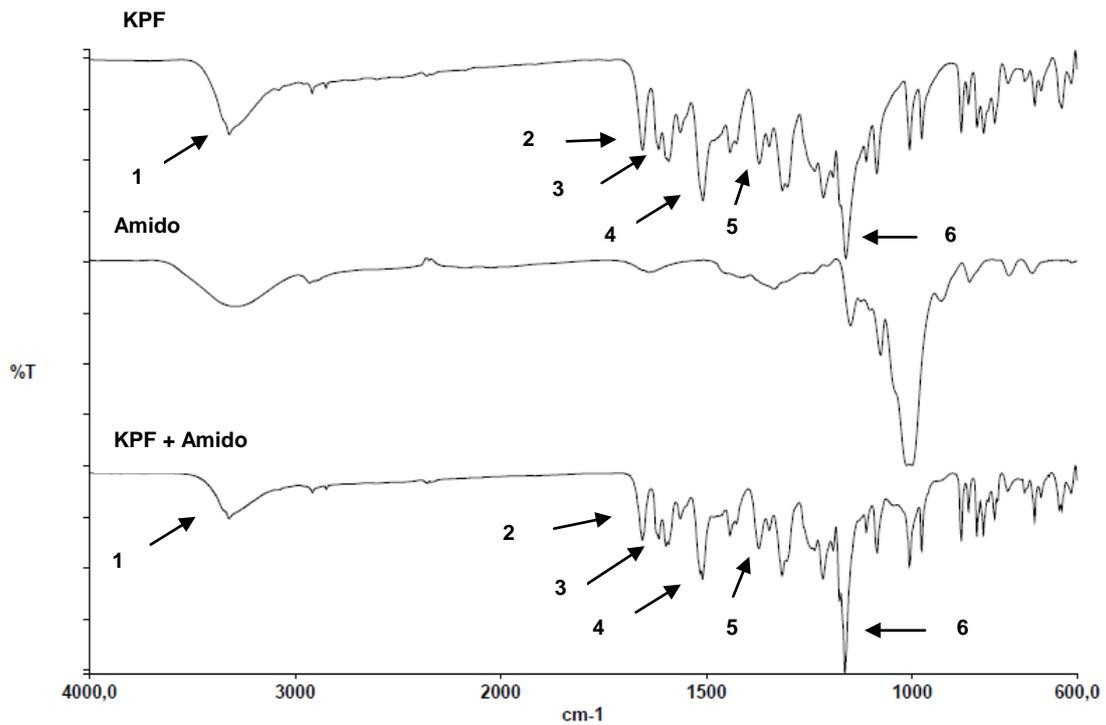


Figura 14. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Amido e a mistura QPF + Amido.

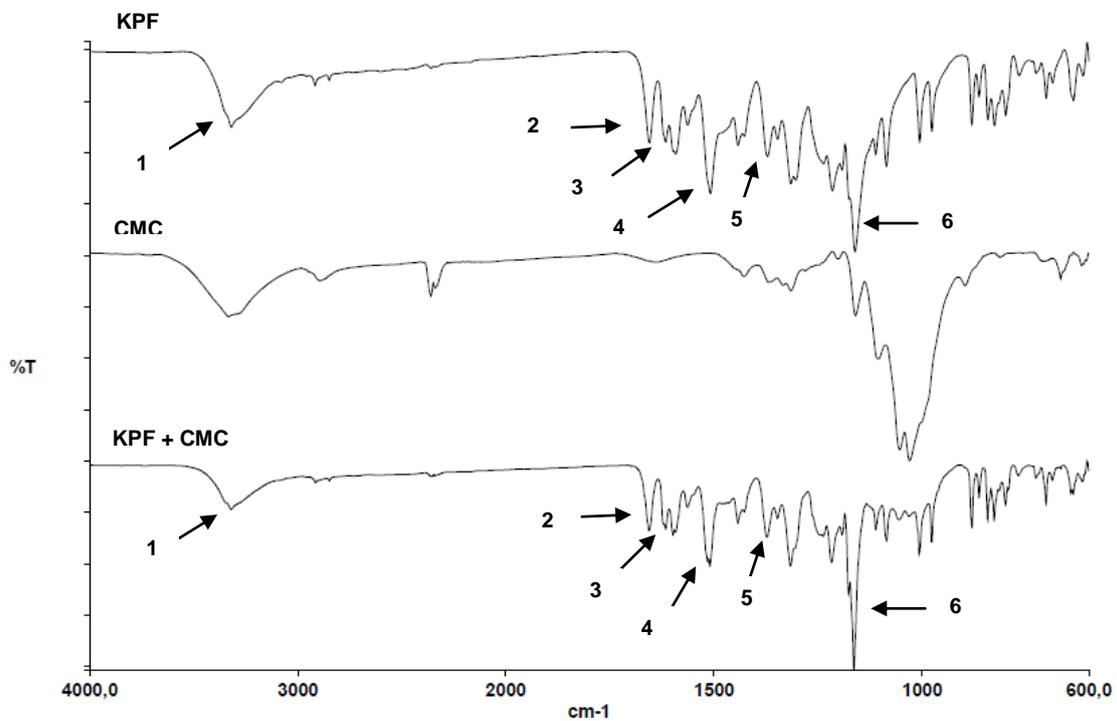


Figura 15. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, CMC e a mistura QPF + CMC.

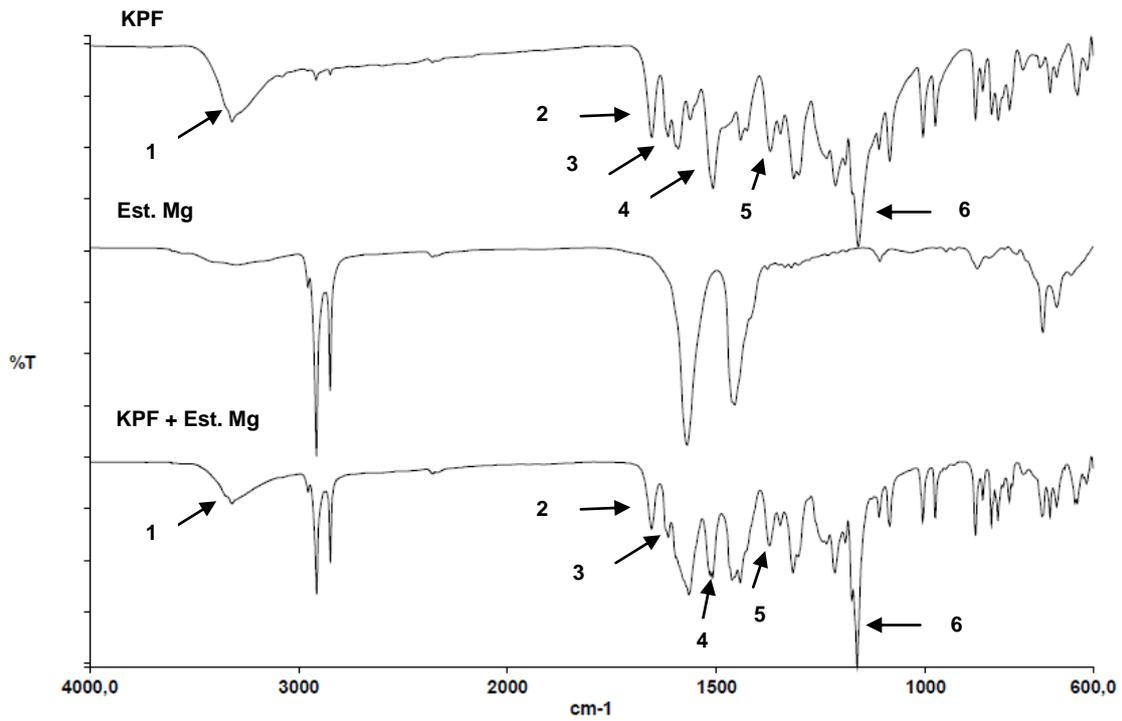


Figura 16. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Est. Mg e a mistura QPF + Est. Mg.

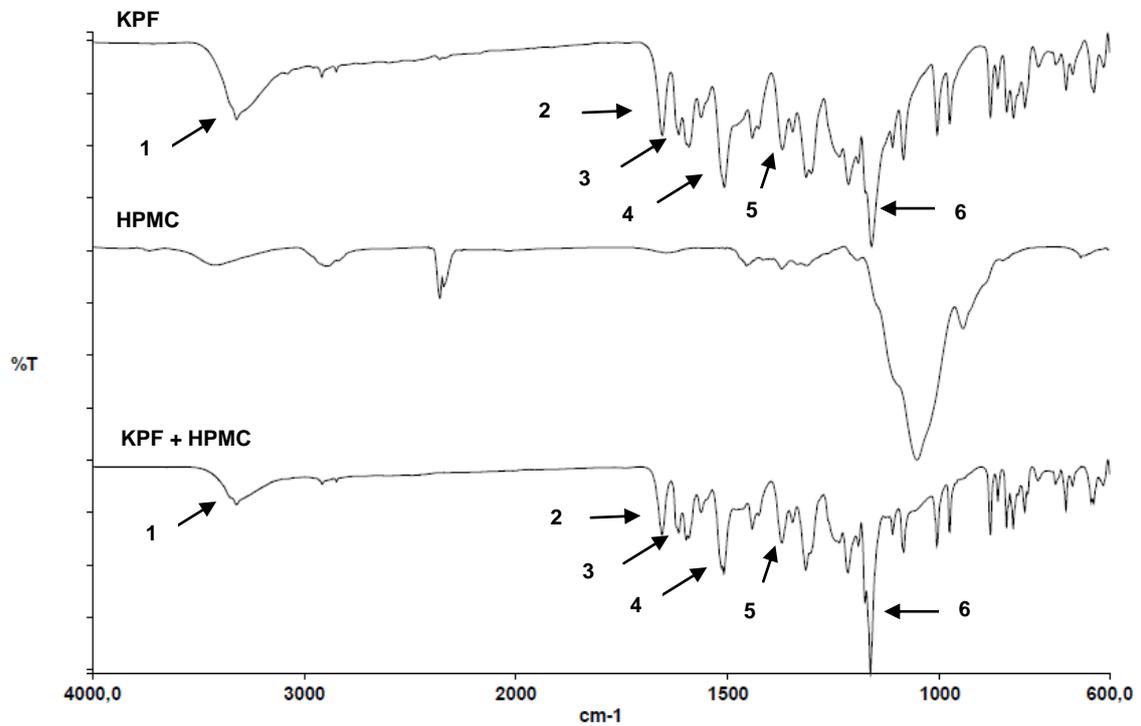


Figura 17. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, HPMC e a mistura QPF + HPMC.

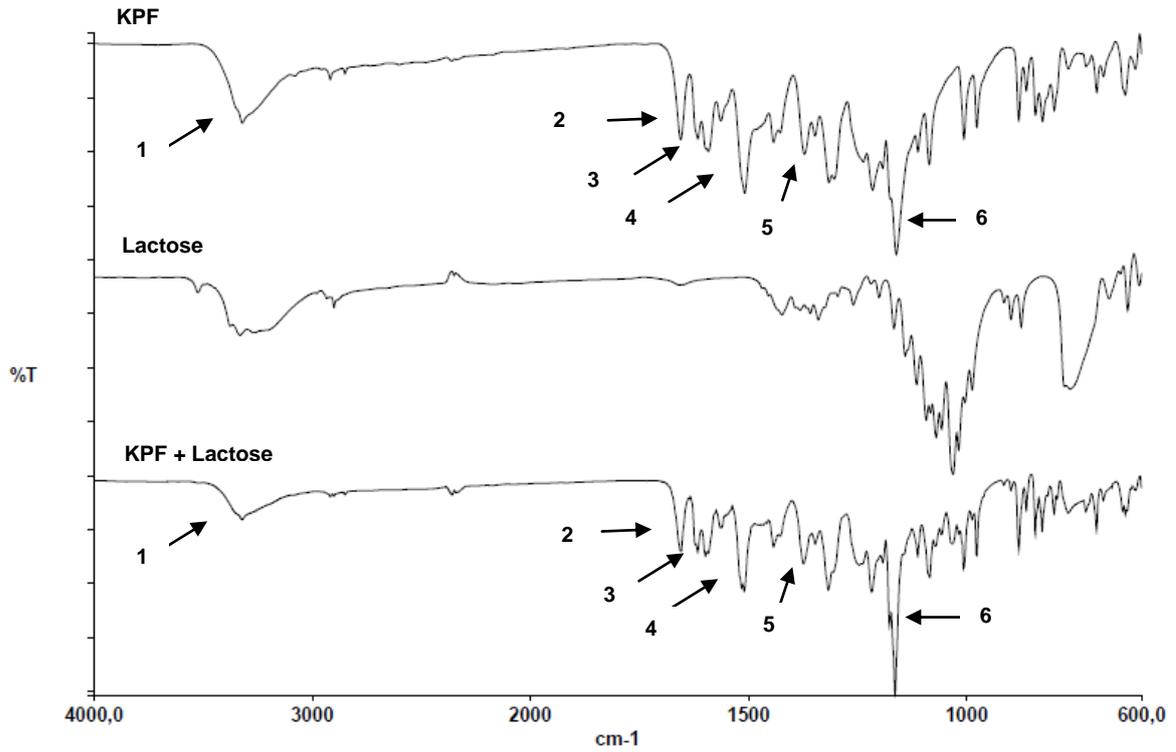


Figura 18. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, Lactose e a mistura QPF + Lactose.

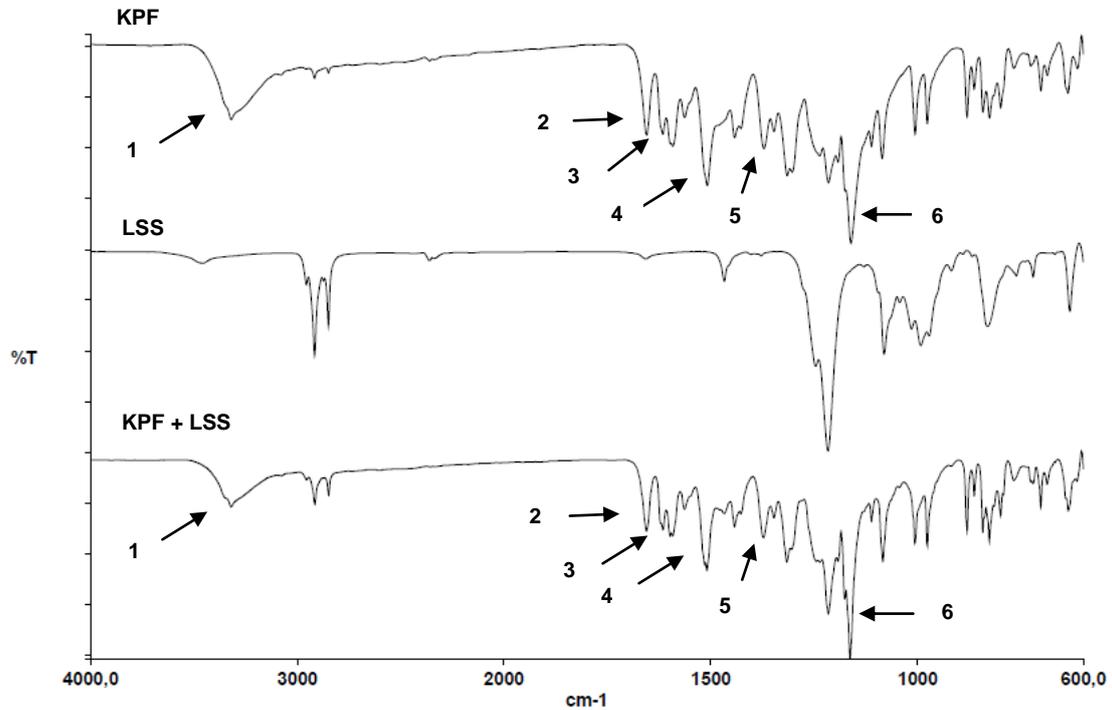


Figura 19. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, LSS e a mistura QPF + LSS.

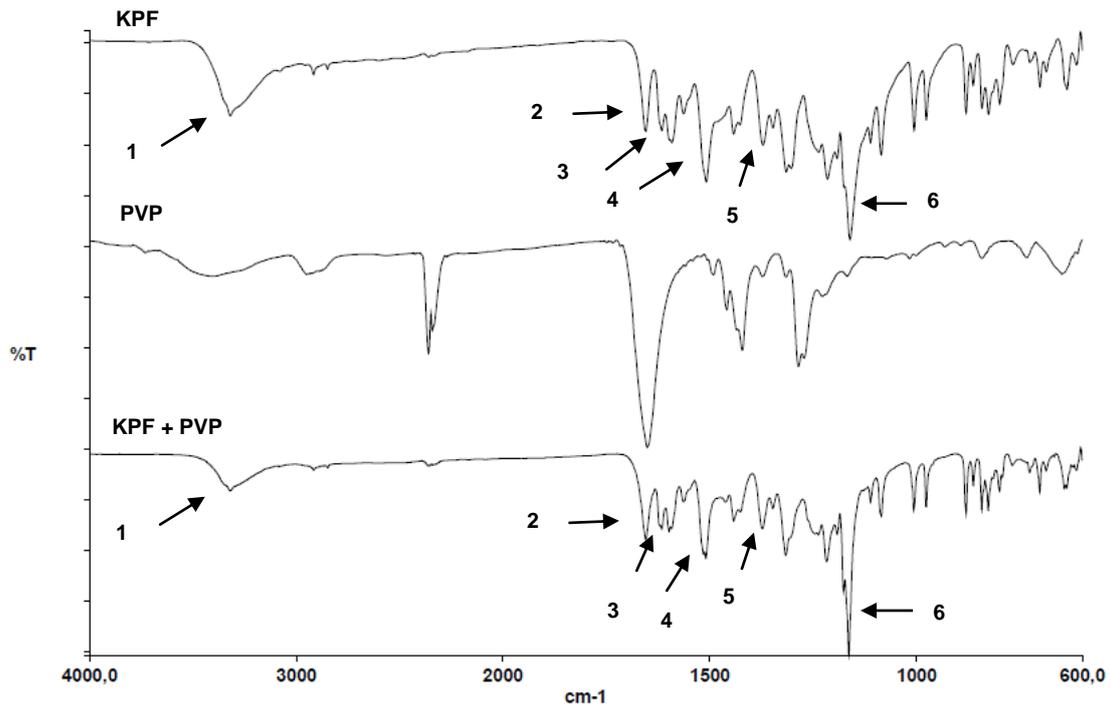


Figura 20. Espectro de absorção na região do infravermelho mostrando a comparação entre o QPF, PVP e a mistura QPF + PVP.

A técnica de espectroscopia no infravermelho se mostrou importante como uma técnica complementar ao DSC no estudo de compatibilidade do QPF com os excipientes selecionados, uma vez que as suspeitas de incompatibilidades encontradas pela técnica de DSC não foram confirmadas com o FTIR.

5.3. Análise por CLAE do Teste de Estresse Isotérmico (IST)

Os ensaios de estresse térmico podem ser realizados de duas maneiras, a primeira envolvendo a incubação de amostras a constantes e elevadas temperaturas, que podemos nomear como um estudo de estabilidade normal e, a segunda, envolvendo o estudo de estresse isotérmico propriamente dito no qual as misturas preparadas são expostas a um estado acelerado de estabilidade (MATOS, A., 2013).

As misturas de QPF e excipientes após as três semanas de armazenamento em estufa a 50°C foram analisadas qualitativamente, através de alteração de cor e, quantitativamente através de cromatografia líquida de alta eficiência. Os resultados são apresentados na Tabela 5.

Tabela 5. Resultado das análises por IST das misturas e do QPF após três semanas de armazenamento em estufa a 50 °C.

Amostra	Mistura (fármaco - excipiente)	% Recuperação		Mudanças na aparência física
		Amostra Controle ^c	Amostras ^b Estressadas	
QPF + Amido	1:1	98,54	94,77	sim
QPF + CMC	1:1	96,63	90,07	sim
QPF + Est. Mg	1:1	107,47	101,99	sim
QPF + HPMC	1:1	96,28	99,79	sim
QPF + Lactose	1:1	91,10	92,42	sim
QPF + LSS	1:1	96,50	93,80	sim
QPF + PVP	1:1	91,86	92,42	sim

^b Mistura fármaco-excipiente com 10% de água adicionada e armazenada a 50 °C por três semanas.

^c Mistura fármaco-excipiente sem adição de água armazenada em refrigeração por três semanas.

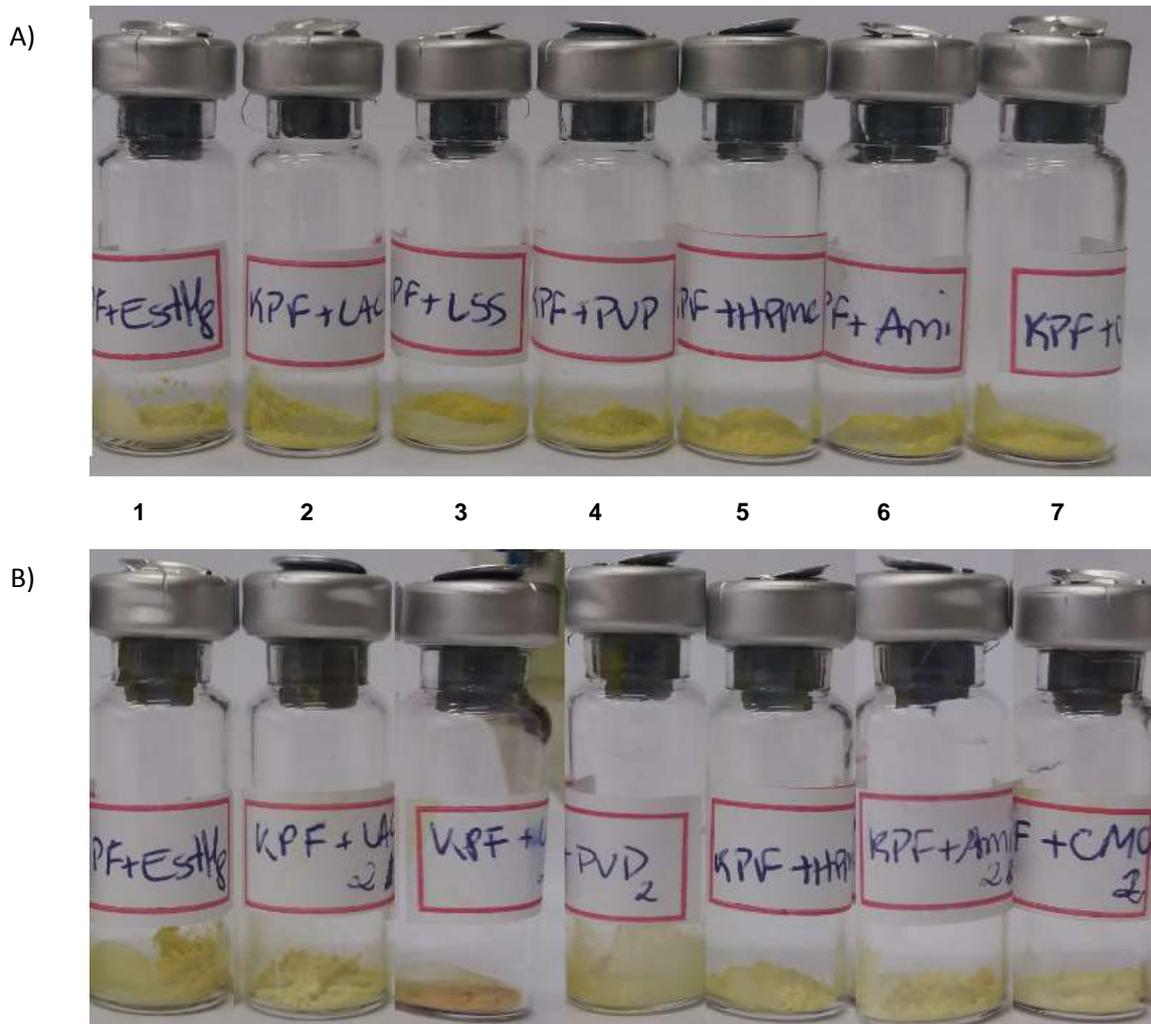


Figura 21. Amostras para o teste de IST. Comparação das misturas antes e depois do aquecimento. A foto A mostra as amostras antes do armazenamento por 3 semanas a 50 °C. Foto B mostra as amostras após armazenamento. 1)QPF+Est. Mg, 2)QPF+Lactose, 3)QPF+LSS, 4)QPF+PVP, 5)QPF+HPMC, 6)QPF+Amido, 7)QPF+CMC.

A análise qualitativa nos permitiu observar que todas as misturas e o QPF isolado apresentaram uma pequena diminuição na intensidade da cor amarela, com exceção para mistura de QPF - LSS que teve um escurecimento da cor para amarelo forte. Essas alterações podem ser indicativas algum tipo de interação do QPF com os excipientes. Entretanto, quando verificada a análise quantitativa, por HPLC, foi observado que não houve redução do teor do QPF após as três semanas de armazenamento. Verificou-se que os tempos de retenção mantiveram-se inalterados nas misturas, conforme Tabela 6.

Tabela 6. Comparação dos tempos de retenção (TR) das amostras do IST. Amostras controles armazenadas em geladeira e amostras estressadas em estufa a 50°C por três semanas.

	Amostras Controle (TR, min)	Amostras Estressadas (TR, min)
QPF	6,735	6,735
QPF + Amido	6,728	6,753
QPF + CMC	6,728	6,753
QPF + Est. Mg	6,727	6,735
QPF + HPMC	6,726	6,733
QPF + Lactose	6,725	6,743
QPF + LSS	6,720	6,731
QPF + PVP	6,725	6,732

Observou-se, também, que não há interferência dos excipientes no tempo de retenção do QPF, conforme Figura 22. Assim como, a forma do pico do QPF manteve-se inalterada, e não foram observados quaisquer picos extras nos cromatogramas das misturas analisadas após período de armazenamento na estufa, conforme Figuras 23. Na figura 24 são apresentados os cromatogramas das misturas controle armazenadas em geladeira.

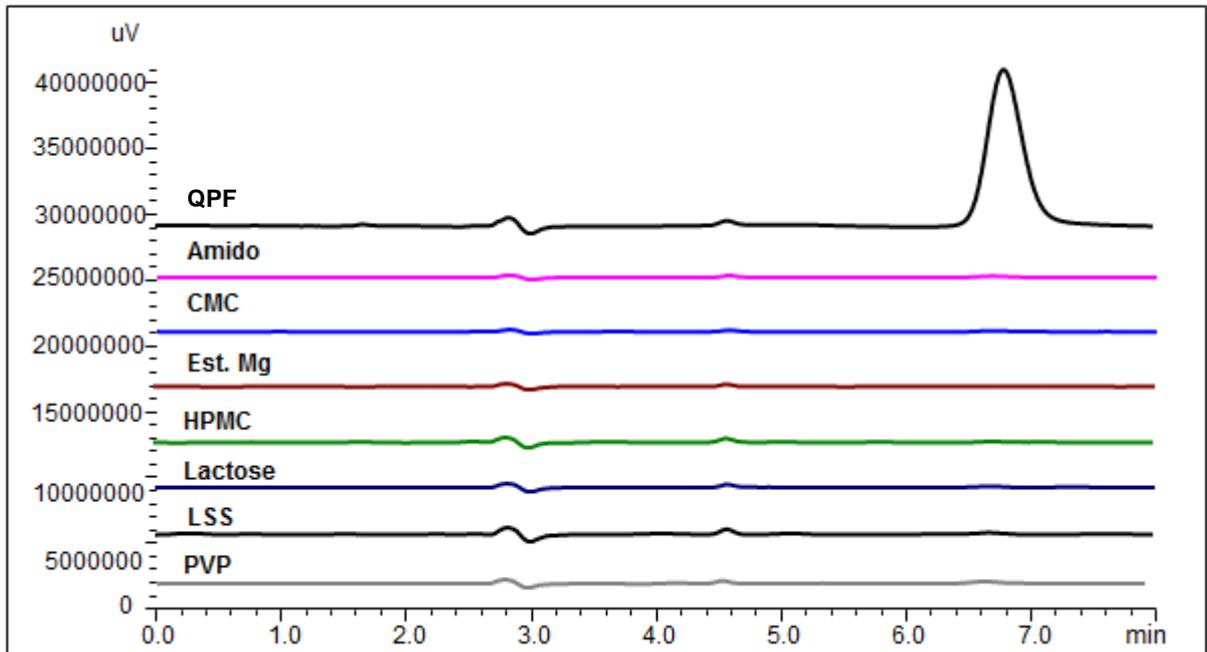


Figura 22. Cromatogramas do QPF e de todos os excipientes estudados isolados analisado por CLAE.

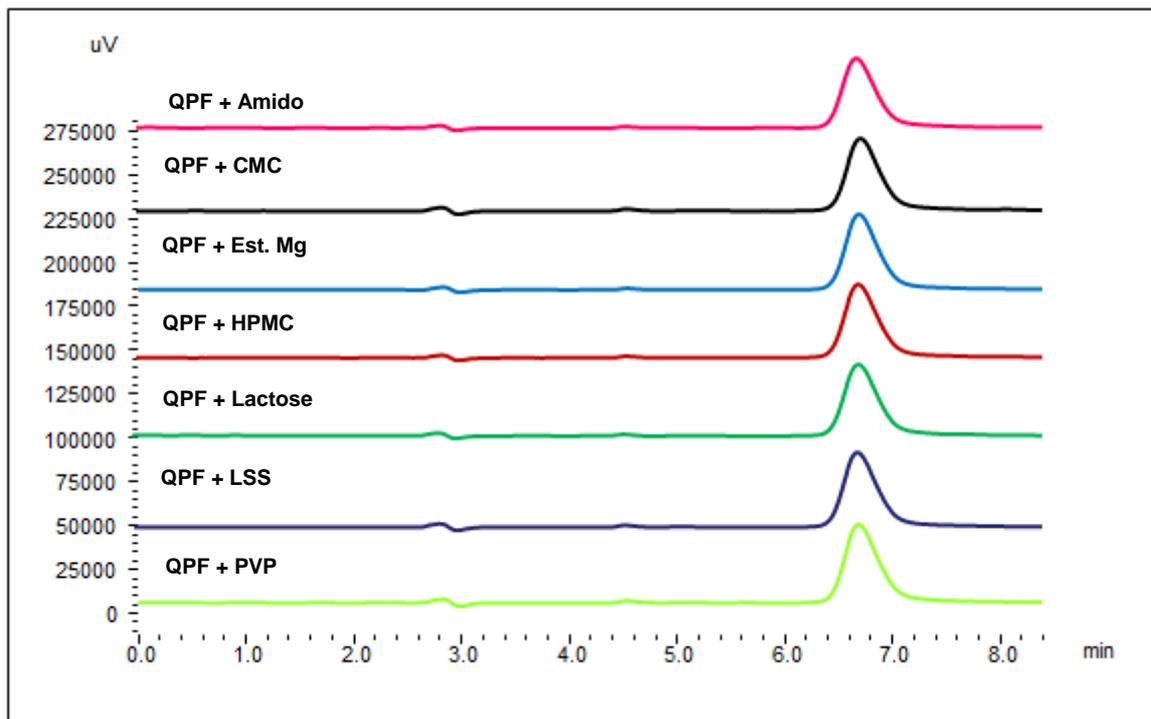


Figura 23. Cromatogramas de todas as amostras estressadas, misturas QPF-excipientes, armazenadas em estufa e analisadas por CLAE.

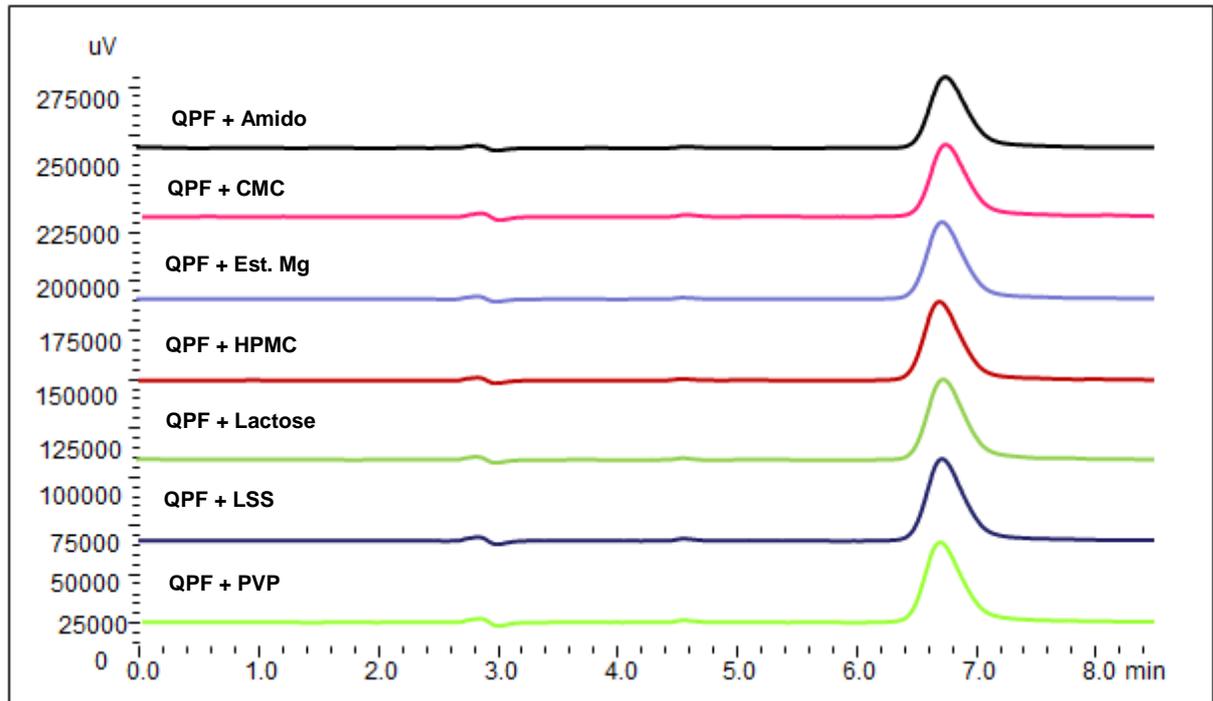


Figura 24. Cromatogramas de todas as amostras controles, misturas QPF-excipientes, armazenadas em geladeira e analisadas por CLAE.

Estes resultados nos permite então, inferir que não houve incompatibilidade físico-química do QPF com os excipientes estudados nestas condições de análise.

6. CONCLUSÕES

Neste trabalho, foi realizado um estudo de compatibilidade entre um candidato a fármaco e excipientes comumente usados nas preparações de formas farmacêuticas sólidas. Foram utilizadas técnicas de análise térmica e não térmica objetivando verificar a ocorrência ou não de incompatibilidades farmacêuticas.

A principal ferramenta de análise utilizada foi o DSC, em conjunto com as técnicas de análise auxiliar como a espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier e cromatografia líquida de alta eficiência. A utilização dessas técnicas possibilitou a realização de um estudo de pré-formulação para avaliar possíveis interações entre o flavonoide Quempferol e excipientes utilizados em formas farmacêuticas sólidas.

A curva de DSC do Quempferol (QPF) mostrou um único evento endotérmico, caracterizando seu evento térmico de fusão em 287,89 °C ($\Delta H = -134,69 \text{ J.g}^{-1}$), conforme o encontrado na literatura (ZANG, K., 2015).

Nos estudos de compatibilidade para as misturas binárias QPF - excipientes, entre os sete excipientes utilizados, a celulose microcristalina não mostrou interação com o QPF. Entretanto, os demais excipientes, - amido, estearato de magnésio, hidroxipropilmetilcelulose, lactose mono-hidratada, lauril sulfato de sódio e polivinilpirrolidona - sugerem, nos termogramas apresentados, haver alguma interação físico-química com o QPF.

De modo a confirmar este resultado obtido pela técnica de DSC, todas as misturas binárias foram submetidas às técnicas complementares. No emprego da espectroscopia de infravermelho as bandas características do QPF foram preservados nas misturas, assim como os tempos de retenção nos cromatogramas obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência.

Esta variação nos resultados encontrados entre DSC, FTIR e CLAE pode ser atribuída a situações como a alta temperatura atingida durante o experimento do DSC onde o excipiente pode ter fundido, passando da forma sólida para a sua forma líquida, de alguma forma influenciando positivamente na solubilidade do Quempferol que interferiu na leitura adequada pelo equipamento, outra interferência para um

resultado assertivo pode ter sido influenciado pelo tratamento da amostra como já foi descrito para outros fármacos por diversos autores como Mura, P et al., Wang, Y et al., Bettinetti et al., 1988, Najib et al., 1986, Botha e Lotter, 1989, Bettinetti et al., 1991, Bettinetti e Mura, 1994, C.E.P. Malan et al., 1997.

Os resultados dos estudos confirmaram que o DSC e FTIR podem ser utilizados como métodos rápidos para avaliar a compatibilidade entre QPF e os excipientes estudados. No entanto, a técnica de IST após o armazenamento das amostras sob condições de estresse também devem ser adotadas em conjunto com os estudos DSC e FTIR para alcançar qualquer conclusão definitiva. A partir dos resultados do DSC foi levantada a hipótese de interação entre QPF e amido, estearato de magnésio, hidroxipropilmetilcelulose, lactose, lauril sulfato de sódio e polivinilpirrolidona. Contudo, com base nos resultados da espectroscopia de FTIR e do estudo IST, a possibilidade de incompatibilidade entre QPF e estes excipientes foi descartada, o que demonstra a importância de associar mais de uma técnica ao estudo de pré-formulação.

7. PERSPECTIVAS

- Realizar o estudo de compatibilidade através da técnica de Termogravimetria (TG) para complementar os resultados obtidos pelo DSC.
- Realizar análise do QPF e das misturas pela técnica de Difração de RX como mais uma técnica complementar além do FTIR.
- Realizar uma análise estatística de Análise de Componentes Principais (PCA) dos resultados no FTIR.
- Realizar todos os experimentos com misturas em outras proporções e com misturas terciárias.
- Desenvolvimento futuro de uma forma farmacêutica sólida.

8. REFERÊNCIAS

ABBAS, D. et al. **DSC and physico-chemical properties of a substituted Pyridoquinoline and its interaction study with excipients.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 93 (2008) 2, 353–360

ANSEL, H.C.; POPOVICH, N.G.; ALLEN, L.V. **Farmacotécnica: formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos.** São Paulo: Premier, 2000. 568 p.

A.P.LÖTTER, S. A. B. **Compatibility study between Naproxen and tablet..** drug development and industrial pharmacy. v. 16, n. 4, p. 673–683, 1990.

ARAÚJO, A. A. S.; MERCURI, L. P. **Thermal analysis of the antiretroviral zidovudine (AZT) and evaluation of the compatibility with excipients used in solid dosage forms.** International Journal of Pharmaceutics Thermal. v. 260, p. 303–314, 2003.

BERGAMINI, G. **Dexametasona: interação com ácidos carboxílicos aromáticos no estado sólido.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2008.

BERNAL, C. et al. **Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC.** Quimica Nova, v. 25, n. 5, p. 849–855, 2002.

BETTINETTI, G. P., MURA, P., LIGUORI, A., BRAMANTI, G., AND GIORDANO, F., **Solubilization and interaction of naproxen with cyclodextrins in aqueous solution and in the solid state.** Farmaco Prat., 43, 331–343 (1988).

BETTINETTI, G.P., MURA, P.: **Dissolution properties of naproxen in combinations with polyvinylpyrrolidone.** Drug Dev. Ind. Pharm. **20**, 1353–1366 (1994)

CHEN, A. Y.; CHEN, Y. C. **A review of the dietary flavonoid, Quempferol on human health and cancer chemoprevention.** Food Chemistry, v. 138, n. 4, p. 2099–2107, 2013.

CHEN, Z. et al. **Fitoterapia Comparative pharmacokinetics and bioavailability studies of quercetin , Quempferol and isorhamnetin after oral administration of Ginkgo biloba extracts , Ginkgo biloba extract phospholipid complexes and Ginkgo biloba extract solid dispersions .** Fitoterapia, v. 81, n. 8, p. 1045–1052, 2010.

COLOMBO, M. et al. **Validation of a hplc-uv method for analysis of kaempferol-loaded nanoemulsion and its application to ex vivo tests.** Manuscript a ser submetido.

CONSTANTINO, M. G. **Espectroscopia no Infravermelho.** Química Orgânica, volume 3: Curso básico universitário, p. 95–137, 2008.

FIGUEIREDO, L. P. D. E. **fármacos comercializados Análise de excipientes em comprimidos de fármacos comercializados.** Universidade Federal do ABC. Dissertação de Mestrado. 2012.

FULIAS, A. et al. **Compatibility study between ketoprofen and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Bogdan Tit. v. 56, p. 221–227, 2011.

GIRON, D. **Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry.** Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 68, n. 2, p. 335–357, 2002.

G.P. BETTINETTI; P. MURA; F. GIORDANO; M. SETTI. **Thermal behaviour and physicochemical properties of naproxen in mixtures with polyvinylpyrrolidone.**

Thermochim. Acta 199 (1991) 165–171.

GUPTA, A. et al. **Formulation , characterization , and evaluation of ligand-conjugated biodegradable quercetin nanoparticles for active targeting.** Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology, n. October 2014, p. 1–11, 2015.

IONASHIRO, M.; GIOLITO, I. Nomenclatura, padrões e apresentação dos resultados em análise térmica. **Cerâmica**, n. 8, 1980.

JIANG, B.; CHEN, Y. C.; CHEN, Y. C. **Quempferol nanoparticles achieve strong and selective inhibition of ovarian cancer cell viability.** International Journal of Nanomedicine. p. 3951–3959, 2012.

JOSHI, B. V; PATIL, V. B.; POKHARKAR, V. B. **Compatibility studies between carbamazepine and tablet excipients using thermal and non-thermal methods.** Drug Development and Industrial Pharmacy, v. 28, n. 6, p. 687–694, 2002.

KIM, S. H.; CHOI, K. C. **Anti-cancer effect and underlying mechanism(s) of Quempferol, a phytoestrogen, on the regulation of apoptosis in diverse cancer cell models.** Toxicological Research, v. 29, n. 4, p. 229–234, 2013.

LILTORP, K. et al. **Solid state compatibility studies with tablet excipients using non thermal methods.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 55, n. 3, p. 424–428, 2011.

LIU, A. et al. **Validated LC / MS / MS assay for curcumin and tetrahydrocurcumin in rat plasma and application to pharmacokinetic study of phospholipid complex of curcumin.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 40 (2006) 720–727

MAC, R. O.; NASCIMENTO, T. G.; VERAS, J. W. E. **COMPATIBILITY AND STABILITY STUDIES OF PROPRANOLOL HYDROCHLORIDE BINARY**

MIXTURES AND TABLETS FOR TG AND DSC-PHOTOVISUAL. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, Vol. 67 (2002) 483–489

MALAN, C. E. P.; VILLIERS, M. M. DE. **Application of differential scanning calorimetry and high performance liquid chromatography to determine the effects of mixture composition and preparation during the evaluation of niclosamide-excipient compatibility.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 15 (1997) 549-557.

MATOS, A. **Estudos de compatibilidade fármaco- excipiente e sua importância no desenvolvimento de formulações farmacêuticas.** Fundação osvaldo cruz farmanguinhos, 2013.

M.N. NAJIB; M.S. SULCIMAN; A. MALAKH; int. J. Pharm. 32 (1986) 229 -236

MONAJJEMZADEH, F. et al. **Compatibility studies of acyclovir and lactose in physical mixtures and commercial tablets.** European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, v. 73, n. 3, p. 404–413, 2009.

MOURA, A; VILEGAS. W; SANTOS, C.L. **Identificação de alguns constituintes químicos de indigofera hirsuta linn. (fabaceae) por clae-ies-em (tof) e avaliação da atividade antirradicalar.** Quim. Nova, Vol. 34, No. 7, S1-S8, 2011

MURA, P. et al. **Utilization of differential scanning calorimetry as a screening technique to determine the compatibility of ketoprofen with excipients.** International Journal of Pharmaceutics 119 (1995) 71-79

MURA, P. et al. **Compatibility study between ibuprofen and pharmaceutical excipients using differential scanning calorimetry , hot-stage microscopy and scanning electron microscopy** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 18 (1998) 151–163.

ORRIS, K. E. R. M. et al. **Selection of Solid Dosage Form Composition through**

Drug – Excipient Compatibility Testing. v. 88, n. 7, 1999.

PEREIRA, M. A. V et al. **Compatibility study between chitosan and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms.** Journal Thermal Analysis Calorimetry p. 1091–1100, 2014.

PETROVICK, P.R. **Tecnologia farmacêutica I - polígrafo de acompanhamento.** 2005-2. Porto Alegre: UFRGS, 2005.

PIFFERI, G.; SANTORO, P.; PEDRANI, M. **Quality and functionality of excipients.** Farmaco, v. 54, n. 1–2, p. 1–14, 1999.

PINHO, E.; GROOTVELD, M.; HENRIQUES, M. **Cyclodextrins as encapsulation agents for plant bioactive compounds.** Carbohydrate Polymers. v. 101, p. 121–135, 2014.

RANJAN, N.; LILA, P.; NATH, K. **Application of DSC , IST , and FTIR study in the compatibility testing of nateglinide with different pharmaceutical excipients.** Journal Thermal Analysis Calorimetry. p. 219–226, 2012.

RENU CHADHA; SWATI BHANDARI. **Drug–excipient compatibility screening— Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. p.82-97, 2014.

ROUMELI, E.; TSIAPRANTA, A. **Compatibility study between trandolapril and natural excipients used in solid dosage forms.** Journal Thermal Analysis Calorimetry. p. 2109–2115, 2013.

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

S.A. BOTHA, A.P. LOTTER. **Compatibility study between naproxen and tablet excipients us in differential scanning calorimetry.** Drug Dev. Ind. Pharm. 16 (1990) 673–683.

SEDEF LLK, NECDER SAGLAM & MUSTAFA ÖZGEN et al. **Quempferol loaded lecithin / chitosan nanoparticles : preparation , characterization , and their potential applications as a sustainable antifungal agent.** Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology An International Journal. ISSN:v. 1401, n. June, 2016.

SOUZA, J. et al. **Risperidone – Solid-state characterization and pharmaceutical compatibility using thermal and non-thermal techniques.** Thermochemica Acta. v. 568, p. 148–155, 2013.

TIBOLA, A.P. **Estudo de compatibilidade entre a isoniazida e excipientes farmacêuticos.** Universidade Federal do Paraná. Dissertação de Mestrado. Curitiba, 2009.

TOMMASINI, S. et al. **Improvement in solubility and dissolution rate of flavonoids by complexation with-cyclodextrin.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis . v. 35, p. 379–387, 2004.

TZENG CW, YEN FL, WU TH, KO HH, LEE CW, TZENG WS, LIN CC. 2011.**Enhancement of dissolution and antioxidant activity of Quempferol using a nanoparticle engineering process.** J Agric Food Chem. 59:5073–5080.

VERMA, R. K.; GARG, S. **Selection of excipients for extended release formulations of glipizide through drug – excipient compatibility testing.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. v. 38, p. 633–644, 2005.

VIDAK, M.; ROZMAN, D.; KOMEL, R. **Effects of Flavonoids from Food and Dietary Supplements on Glial and Glioblastoma Multiforme Cells.** Molecules. p. 19406–19432, 2015.

WADKE, D.A; SERAJUDDIN, A.T.M; JACOBSON, H. Preformulation testing. In: LIEBERMAN, H.A; LACHMAN, L; SCHWARTZ, J.B. (ed.) **Pharmaceutical Dosage Form. Tablets.** 2nd ed. New York: Marcel Dekker, 1900. v. 1, p. 1-73.

WANG, S. Y.; CHEN, C.; WANG, C. Y. **The influence of light and maturity on fruit quality and flavonoid content of red raspberries.** Food Chemistry. v. 112, p. 676–684, 2009.

WANG, Y.; JING, Y. L. **Selection of excipients for dispersible tablets of itraconazole through the application of thermal techniques and Raman spectroscopy.** Journal Thermal Analysis Calorimetry. Budapest, 2013.

WELLS, J. Pharmaceuticas preformulation: **the physicochemical properties of drug substances.** In: AULTON, ME (ed.) Pharmaceutical Science of Dosage Form Design. 2nd ed. London: Churchill Livingstone, 2002.

WNOROWSKI, A.; YAYLAYAN, V. A. **Monitoring Carbonyl-Amine Reaction between Pyruvic Acid and Amino Alcohols by FTIR Spectroscopy - A Possible Route to Amadori Products.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, v. 51, n. 22, p. 6537–6543, 2003.

ZHANG, K. et al. **Preparation and evaluation of Quempferol – phospholipid complex for pharmacokinetics and bioavailability in SD rats.** Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, v. 114, p. 168–175, 2015.