

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ

DIRETORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

ESPECIALIZAÇÃO EM ANÁLISE INSTRUMENTAL

DAIANE CRISTINA MARQUI

Avaliação da influência dos parâmetros experimentais nos resultados de análises térmicas (TGA/DSC) de insumos farmacêuticos ativos hidratados

TOLEDO - PR

2019

DAIANE CRISTINA MARQUI

Avaliação da influência dos parâmetros experimentais nos resultados de análises térmicas (TGA/DSC) de insumos farmacêuticos ativos hidratados

Projeto apresentado à Universidade Tecnológica Federal do Paraná como parte dos requisitos para obtenção do diploma de especialista em análises instrumentais.

Orientador: Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski

Co-orientadora: Dra. Cláudia Flávia Breda Coutinho

TOLEDO - PR

2019

TERMO DE APROVAÇÃO

AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DOS PARÂMETROS EXPERIMENTAIS NOS RESULTADOS DE ANÁLISES TÉRMICAS (TGA/DSC) DE INSUMOS FARMACÊUTICOS ATIVOS HIDRATADOS

Por

DAIANE CRISTINA MARQUI

Esse trabalho de conclusão de curso foi apresentado no dia 03 de junho de dois mil e dezenove, como requisito parcial para a obtenção do título de Especialista em Análise Instrumental, no Curso de Especialização em Análise Instrumental, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Toledo. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo relacionados.

Após deliberação, a banca Examinadora considerou o ***trabalho Aprovado***.

Prof. Dr. Douglas Cardoso Dragunski (Orientador)

Dra. Cláudia Flávia Breda Coutinho (Coorientadora)

Prof. Dr. Maurício Ferreira da Rosa (Membro – UNIOESTE)

Prof. Dr. Renato Eising (Membro – UTFPR)

****A versão assinada encontra-se arquivada na Coordenação da Especialização***

RESUMO

A análise termogravimétrica (*TGA - thermogravimetric analysis*) e a calorimetria exploratória diferencial (*DSC - Differential scanning calorimetry*), possuem diversas aplicações na indústria farmacêutica tais como: caracterização, determinação de umidade, pureza, estudos de compatibilidade de formulações, estabilidade, cinética de degradação térmica e polimorfismo. Nesse trabalho, para a análise térmica dos insumos farmacêuticos ativos hidratados: levofloxacino hemihidratado, cloridrato de moxifloxacino monohidratado, pantoprazol sódico sesquihidratado, citrato de sódio dihidratado e atorvastatina cálcica trihidratada, foi avaliado a influência dos parâmetros experimentais, taxa de aquecimento e tipo de cadinho. O aumento da taxa de aquecimento resulta em um ganho de sensibilidade, menor tempo de análise, no entanto, perde-se em resolução. Já em taxas de aquecimento menores, apesar do tempo de análise ser maior, observa-se um aumento da resolução entre os eventos térmicos. A presença de tampa no cadinho funcionou como uma barreira a saída de água, fazendo com toda água fosse eliminada em temperatura maior, quando comparado com a análise com cadinho sem tampa. Considerando os resultados obtidos, as análises realizadas com cadinho sem tampa e taxa de aquecimento de 10°C/min apresentaram os melhores resultados.

Palavras-chave: análise termogravimétrica, análise diferencial exploratória, insumos farmacêuticos ativos hidratados.

ABSTRACT

The thermogravimetric analysis (TGA) and differential scanning calorimetry (DSC) have several applications in the pharmaceutical industry such as characterization, determination of humidity, purity, compatibility studies of pharmaceutical formulations, stability, thermal degradation kinetics and polymorphism. In this study, for the thermal analysis of hydrated active pharmaceutical ingredients: levofloxacin hemihydrate, moxifloxacin hydrochloride monohydrate, pantoprazole sodium sesquihydrate, trisodium citrate dihydrate and atorvastatin calcium trihydrate, was evaluated the influence of the experimental parameters, heating rate and type of crucible. The increase of the heating rate results in a gain of sensitivity, decrease of analysis time, however, there is a loss of resolution. For lower heating rates, however the longer analysis time, there is an increase in resolution between thermal events. The crucible lid functioned as a barrier to the water outlet, doing all water to be eliminated at a higher temperature, when compared analysis with the crucible without the lid. Considering the results obtained, the analyzes made with crucible without lid and heating rate of 10°C / min presented the best results.

Keywords: thermogravimetric analysis, differential scanning calorimetry, hydrated active pharmaceutical ingredients.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Termograma da decomposição térmica do $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	16
Figura 2 - Exemplos de curvas de aquecimento de (a) processo exotérmico e (b) processo endotérmico.	17
Figura 3 - Representação esquemática do equipamento TGA/DSC 3+, Mettler Toledo. (1) defletores, (2) capilar do gás reativo, (3) saída de gás, (4) sensores de temperatura, (5) aquecedores do forno, (6) sensores de temperatura do forno, (7) pesos do anel de ajuste, (8) conector de proteção e gás de purga e (9) câmara da balança termostática.	20
Figura 4 – Termograma de TGA do ácido acetilsalicílico (A) matéria-prima e (B) comprimidos.	22
Figura 5 – Esquema da decomposição do ácido acetilsalicílico.	22
Figura 6 – Comparação entre os diferentes tipos de cadinho utilizados.	25
Figura 7 - Estrutura química de levofloxacino hemihidratado.	27
Figura 8 – Termogramas de TGA para levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, (B) Taxa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e (C) taxa de $20^\circ\text{C}/\text{min}$. Fluxo de $\text{N}_2 = 50 \text{ mL}/\text{min}$, cadinho sem tampa.	28
Figura 9 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento.	28
Figura 10 - Termogramas de DSC de levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento (I) e ampliação do pico de fusão (II). (A) Taxa de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, (B) Taxa de $10^\circ\text{C}/\text{min}$ e (C) taxa de $20^\circ\text{C}/\text{min}$. Fluxo de $\text{N}_2 = 50 \text{ mL}/\text{min}$, cadinho sem tampa.	29
Figura 11 – Termogramas de TGA para levofloxacino hemihidratado utilizando cadinho sem tampa (ST), cadinho com tampa (CT) e cadinho com tampa furada (TF). Fluxo de $\text{N}_2 = 50 \text{ mL}/\text{min}$, taxa de aquecimento = $10^\circ\text{C}/\text{min}$	30
Figura 12 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho.	31
Figura 13 - Termogramas de DSC de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de $\text{N}_2 = 50 \text{ mL}/\text{min}$, taxa de aquecimento = $10^\circ\text{C}/\text{min}$. .	32

Figura 14 – Ampliação dos termogramas de DSC na região dos picos de fusão de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.....	32
Figura 15 - Mecanismo de desidratação da forma hemihidratada e monohidratada de levofloxacino.....	33
Figura 16 - Comparação entre levofloxacino hemihidratado e levofloxacino monohidratado.	34
Figura 17 - Termograma (TGA/DSC) de levofloxacino hemihidratado.	35
Figura 18 - Estrutura química de cloridrato de moxifloxacino monohidratado. .	35
Figura 19 - Termogramas das análises de TGA de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.....	36
Figura 20 – Termogramas das análises de DSC de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.....	37
Figura 21 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento.	37
Figura 22 – Fotografia do amostrador do equipamento com as amostras de moxifloxacino.....	38
Figura 23 - Termogramas da análise de TGA de cloridrato de moxifloxacino monohidratado, cadinho sem tampa, tampa furada e com tampa. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.....	39
Figura 24 – Termogramas da análise de DSC de cloridrato de moxifloxacino monohidratado, cadinho sem tampa, tampa furada e com tampa. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.....	39
Figura 25 – Comparação entre os resultados de TGA (A) e DSC (B) das formas anidra e monohidratada de cloridrato de moxifloxacino.	40
Figura 26 – Curvas de DSC das amostras de MOX submetidas a diferentes condições de armazenamento. Parâmetros experimentais: 30 – 300°C, taxa de aquecimento 10°C/min, cadinho hermeticamente fechado e N ₂ 50 mL/min.....	40
Figura 27 – Curvas de TGA da amostra de cloridrato de moxifloxacino após 1 mês à 75% UR/40°C (a), amostra inicial (b) e amostra estocada a 90% UR/20°C	

por 1 mês. Parâmetros experimentais: 30 – 600°C, taxa de aquecimento de 10°C/min, cadinho sem tampa, N ₂ 50 mL/min.	41
Figura 28 - Estrutura química de pantoprazol sódico sesquihidratado.	42
Figura 29 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para pantoprazol sódico sesquihidratado. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.	43
Figura 30 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para pantoprazol sódico sesquihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.	44
Figura 31 – Curvas de DSC (I) e TGA (II) da forma monohidratada (1), sesquihidratada (2), Forma A (3), Forma B (4) e forma amorfa (5) de pantoprazol sódico.	45
Figura 32 - Estrutura química de citrato de sódio dihidratado.	45
Figura 33 - Imagem de microscopia de citrato de sódio sem macerar.	46
Figura 34 - Imagem de microscopia de citrato de sódio macerado.	46
Figura 35 – Termogramas de TGA para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.	48
Figura 36 – Termogramas de DSC para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.	49
Figura 37 – Termogramas de TGA para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.	50
Figura 38 – Termogramas de DSC para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.	51
Figura 39 - Termogramas (TGA/DSC) da forma dihidratada (A) e pentahidratada (B) do citrato de sódio.	52
Figura 40 - Estrutura química de atorvastatina cálcica trihidratada.	52

Figura 41 – Termogramas das análises de TGA (I) e DSC (II) para atorvastatina cálcica variando a taxa de aquecimento. (A) taxa 2°C/min, (B) taxa 10°C/min e (C) taxa 20°C/min. Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.	53
Figura 42 – Infográfico comparativo das perdas de massa variando-se a taxa de aquecimento.....	54
Figura 43 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para atorvastatina cálcica utilizando cadinho sem tampa (ST), cadinho com tampa (CT) e cadinho com tampa furada (TF). Fluxo de N ₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 2°C/min.	55
Figura 44 - Termograma de DSC (A) e TGA (B) da forma cristalina de ATC... ..	56
Figura 45 – Análise de TGA para seis formas cristalinas de ATC (A) e seis formas amorfas (B).....	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tipos de cadinho utilizados nas análises térmicas.....	25
Tabela 2 - Resultados da análise de calorimetria exploratória diferencial de citrato de sódio dihidratado sem macerar e macerado.	47

LISTA DE ABREVIATURAS

TGA - *thermogravimetric analysis*

DSC - *Differential scanning calorimetry*

IFA - Insumo farmacêutico ativo

HPLC – *High performance liquid chromatography*

AAS - ácido acetilsalicílico

CT – Cadinho com tampa

TF - Cadinho com tampa com um furo central

ST - Cadinho sem tampa

MOX - cloridrato de moxifloxacino

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVOS GERAIS.....	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	JUSTIFICATIVA.....	15
4	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
4.1	ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)	16
4.2	CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC).....	17
4.2.1	DSC de compensação de potências.....	18
4.2.2	DSC de fluxo de calor.....	18
4.2.3	DSC modulados.....	19
4.3	ANÁLISE TÉRMICA SIMULTÂNEA (TGA/DSC).....	19
4.4	APLICAÇÕES DAS ANÁLISES TÉRMICAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA	20
4.4.1	Caracterização de fármacos	20
4.4.2	Determinação de pureza e umidade	20
4.4.3	Estudos de compatibilidade	21
4.4.4	Cinética de degradação	21
4.4.5	Polimorfismo	22
4.5	FATORES QUE AFETAM AS ANÁLISES TÉRMICAS	23
4.5.1	Taxa de aquecimento	24
4.5.2	Tipo de cadinho	24
5	MATERIAIS E MÉTODOS	26
5.1	MATERIAIS.....	26
5.2	MÉTODO	26

6	RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
6.1	LEVOFLOXACINO HEMIHIDRATADO	27
6.2	CLORIDRATO DE MOXIFLOXACINO MONOHIDRATADO	35
6.3	PANTOPRAZOL SÓDICO SESQUIHIDRATADO	41
6.4	CITRATO DE SÓDIO DIHIDRATADO	45
6.5	ATORVASTATINA CÁLCICA TRIHIDRATADA	52
7	CONCLUSÃO	58
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	59

1 INTRODUÇÃO

A análise térmica pode ser definida como um conjunto de técnicas que medem as propriedades físicas de substâncias tais como, perda de massa, calor envolvido em reações químicas e em processos físicos, em função da temperatura. São exemplos de análises térmicas: a análise termogravimétrica (TGA - *thermogravimetric analysis*), que mede a variação da massa em uma atmosfera controlada em função da temperatura e a calorimetria exploratória diferencial (DSC - *Differential scanning calorimetry*), em que se mede a diferença de temperatura entre a amostra e a referência quando ambos são submetidos a um programa de temperatura controlada.^{1,2}

As análises térmicas possuem diversas aplicações na indústria farmacêutica tais como: caracterização, determinação de umidade, pureza, estudo de compatibilidade de formulações, estabilidade, cinética de degradação térmica e polimorfismo.^{3,4}

Os insumos farmacêuticos ativos (IFAs) podem possuir duas ou mais formas cristalinas. Muitas propriedades físico-químicas de um fármaco podem variar com a estrutura cristalina, dentre elas destaca-se a solubilidade. Um fármaco pode apresentar boa solubilidade em uma determinada forma polimórfica e solubilidade reduzida em outra forma polimórfica, comprometendo assim a dissolução e absorção do fármaco, afetando a biodisponibilidade.⁵

Assim, a falta de padronização nas análises térmicas pode comprometer o resultado obtido e a posterior comparação com os dados de polimorfismo apresentados na literatura, visto que a maioria dos autores não apresentam detalhadamente os parâmetros experimentais utilizados nas análises térmicas. Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de alguns parâmetros experimentais (taxa de aquecimento e tipo de cadinho) nos resultados de análises térmicas (TGA/DSC) de insumos farmacêuticos ativos hidratados e comparar esses resultados com a literatura.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVOS GERAIS

Avaliar a influência dos parâmetros experimentais nos resultados obtidos das análises térmicas (TGA/DSC) de insumos farmacêuticos ativos hidratados, a fim de se obter uma melhor resolução entre os eventos térmicos e posterior comparação com a literatura.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar as análises de TGA/DSC dos insumos farmacêuticos ativos hidratados: levofloxacino hemihidratado, cloridrato de moxifloxacino monohidratado, pantoprazol sódico sesquihidratado, citrato de sódio dihidratado e atorvastatina cálcica trihidratada;
- Avaliar os eventos térmicos variando-se a taxa de aquecimento (2, 10 e 20°C/min) e o tipo de cadinho (com tampa, sem tampa e tampa com um furo);
- Comparação dos resultados obtidos com a literatura;

3 JUSTIFICATIVA

O presente trabalho surgiu de uma necessidade do laboratório Físico-Químico-Análises Diferenciais da Prati-Donaduzzi, visto que a falta de padronização dos parâmetros experimentais dificulta a comparação dos resultados obtidos com a literatura, sendo esta necessária na elaboração dos relatórios de polimorfismo.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

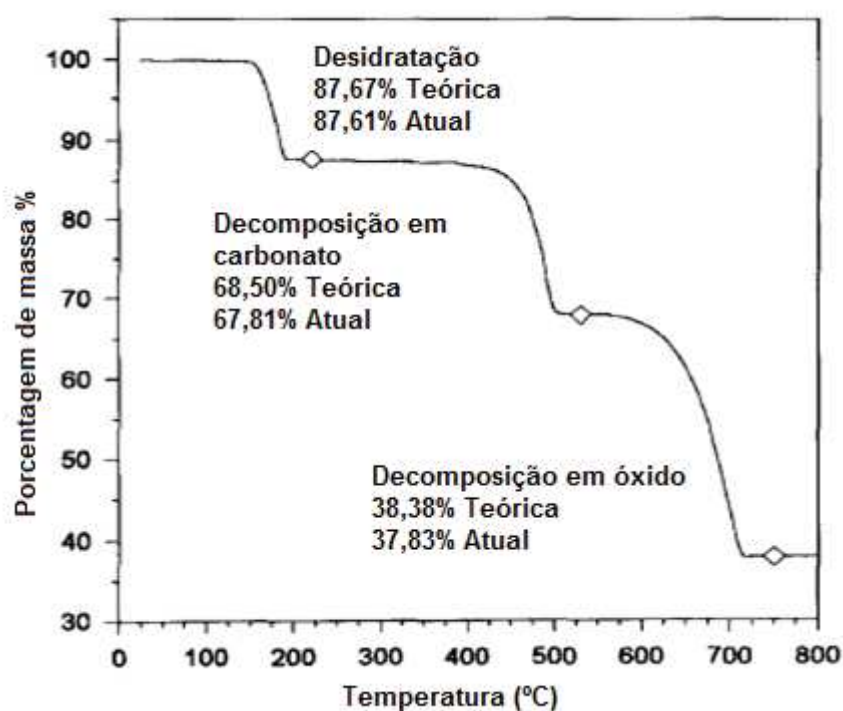
4.1 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA (TGA)

Na análise termogravimétrica, a massa da amostra é medida em função da temperatura ou do tempo em uma atmosfera controlada, em que a temperatura da amostra é aumentada linearmente com o tempo.^{1,2}

Uma amostra pode perder ou até mesmo ganhar massa por diversos fatores dentre eles: evaporação de constituintes voláteis, perda de água de cristalização, dessorção e adsorção de gases, oxidação de metais, decomposição térmica, reações químicas heterogêneas e materiais ferromagnéticos.^{1,2}

A Figura 1 apresenta um exemplo de aplicação da técnica de TGA na definição das condições térmicas para obtenção de um composto puro.⁶

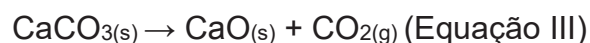
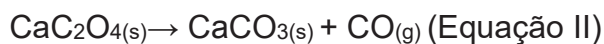
Figura 1 - Termograma da decomposição térmica do $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$.



Fonte: Adaptado de Kociba.⁶

As três etapas de perda de massa apresentadas no termograma representam os três estágios da decomposição térmica do $\text{CaC}_2\text{O}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, conforme as seguintes equações:



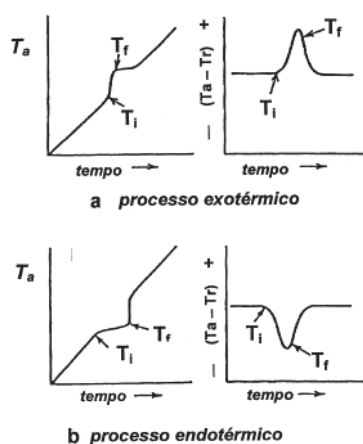


Observa-se na Figura 1 uma perda de massa entre 100 e 200°C correspondendo a perda da água de hidratação do oxalato de cálcio monohidratado formando oxalato de cálcio anidro, conforme equação I, resultando em perda de massa de 12,3%. A segunda etapa, de 400 à 500°C, é resultante da decomposição do oxalato de cálcio anidro com perda de monóxido de carbono formando carbonato de cálcio (equação II), com 19,2% de perda de massa. A última etapa de perda de massa ocorre entre 600 à 700°C, que corresponde a decomposição do carbonato de cálcio formando óxido de cálcio com liberação de dióxido de carbono (equação III), com 30,1% de perda de massa. Após a terceira etapa, a massa estabiliza em 38% da massa inicial.⁶

4.2 CALORIMETRIA DIFERENCIAL EXPLORATÓRIA (DSC)

Na calorimetria diferencial exploratória (DSC), a amostra e referência são colocadas em suportes no instrumento. Os aquecedores aumentam a temperatura linearmente, sendo medido a diferença do fluxo de calor entre a amostra e a referência. Caso ocorra liberação de calor, observa-se um aumento na temperatura, processo exotérmico (Figura 2a). Em um processo endotérmico, onde ocorre absorção de calor, observa-se a diminuição da temperatura da amostra (Figura 2b).⁷

Figura 2 - Exemplos de curvas de aquecimento de (a) processo exotérmico e (b) processo endotérmico.



Fonte: Retirado de Bernal.⁷

Nas análises de DSC mede-se a variação de entalpia que ocorre entre a amostra e referência durante o processo de aquecimento ou resfriamento, sendo o valor de entalpia referente a área do pico observado no termograma.^{7,8} A avaliação dos resultados em DSC é feita através da temperatura inicial extrapolada ou “*onset*”, temperatura “*endset*” e temperatura “*peak*”. A temperatura *onset* consiste no ponto de intersecção da linha de base no início do evento térmico e da tangente na parte mais íngreme da curva, enquanto que a temperatura *endset* corresponde ao ponto de intersecção no final do evento térmico. A temperatura nomeada como T_{peak} corresponde ao máximo de temperatura do evento térmico.⁸

Existem três tipos de instrumentos de DSC: DSC de compensação de potências, de fluxo de calor e DSC modulado.

4.2.1 DSC de compensação de potências

A técnica de DSC de compensação de potência mede a potência necessária para manter a temperatura da amostra igual à temperatura da referência, enquanto ambas as temperaturas são aumentadas ou diminuídas linearmente. Para monitorar continuamente a temperatura da amostra e da referência, os suportes possuem termômetros de resistência de platina.^{1,2}

Pelo fato desse tipo de DSC possuir tempo de resposta mais curto, esta técnica é apropriada para estudos cinéticos, nos quais equilíbrios rápidos em um novo ajuste de temperatura são necessários. A DSC de compensação de potências possui menor sensibilidade se comparado com a de fluxo de calor, entretanto possui maior resolução.^{1,2}

4.2.2 DSC de fluxo de calor

Nos instrumentos de DSC de fluxo de calor, a amostra e a referência são aquecidas por uma única unidade de aquecimento. O calor flui pela amostra e pela referência através de um disco termoelétrico (constantan) aquecido eletricamente. O fluxo diferencial de calor entre as duas painéis é diretamente proporcional à diferença entre as saídas das duas junções dos termopares de constantan-Chromel. Um aumento no fluxo de calor significa um processo exotérmico, e uma diminuição indica um processo endotérmico.^{1,2}

4.2.3 DSC modulados

O instrumento de DSC modulado é o mesmo que o de fluxo de calor. No DSC modulado, uma função senoidal é superposta em todo o programa de temperatura, produzindo um ciclo de microaquecimento e microresfriamento enquanto a temperatura é progressivamente aumentada ou diminuída. O sinal obtido é matematicamente deconvoluído em duas partes, através do uso de métodos de transformada de Fourier, gerando um sinal de fluxo de calor reverso, associado com a componente da capacidade calorífica do termograma e um sinal de fluxo não-reverso, relacionado aos processos cinéticos.^{1,2}

4.3 ANÁLISE TÉRMICA SIMULTÂNEA (TGA/DSC)

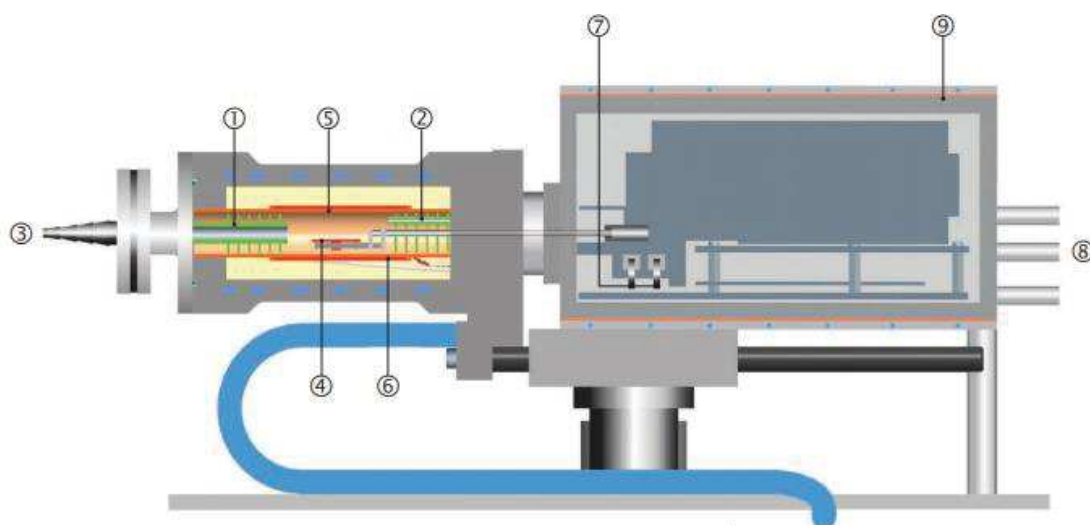
A análise térmica simultânea consiste na combinação de duas técnicas, como por exemplo, análise termogravimétrica (TGA) com calorimetria diferencial exploratória (DSC).

Para a obtenção do fluxo de calor (DSC) além da mudança de peso (TGA), é necessário a utilização de um sensor de DSC que consiste em seis termopares localizados diretamente abaixo de um suporte de cerâmica que mede a temperatura da amostra e da referência.⁹

A utilização de equipamentos que realizam as análises simultâneas de perda de massa (TGA) e fluxo de calor (DSC) permitem realizar a correta correlação entre os eventos térmicos observados nas diferentes técnicas visto que é utilizada a mesma amostra (tamanho, massa, superfície, morfologia, composição) e estão sujeitos aos mesmos fatores externos (taxa de aquecimento ou resfriamento, fluxo de gás, composição do gás, tipo do forno, entre outros). Além da correta correlação entre os resultados também há um ganho no tempo para realizar todas as medições, se comparado com as técnicas separadas.⁹

A Figura 3 apresenta os componentes do forno e balança de um equipamento de análise térmica simultânea (TGA/DSC). O forno horizontal ajuda a minimizar possíveis turbulências causadas por flutuações térmicas ou pelo gás de arraste.⁹

Figura 3 - Representação esquemática do equipamento TGA/DSC 3+, Mettler Toledo. (1) defletores, (2) capilar do gás reativo, (3) saída de gás, (4) sensores de temperatura, (5) aquecedores do forno, (6) sensores de temperatura do forno, (7) pesos do anel de ajuste, (8) conector de proteção e gás de purga e (9) câmara da balança termostática.



Fonte: Retirado de Mettler Toledo.⁹

4.4 APLICAÇÕES DAS ANÁLISES TÉRMICAS NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA

As análises térmicas possuem diversas aplicações na indústria farmacêutica, entre elas: caracterização de fármacos, determinação de umidade e pureza, estudos de compatibilidade das formulações, cinética de degradação e polimorfismo.⁵

4.4.1 Caracterização de fármacos

De acordo com o polimorfo utilizado, o medicamento pode sofrer alteração nas propriedades de dissolução e biodisponibilidade. A forma metaestável apresenta maior velocidade de dissolução, entretanto, em determinada condição de temperatura e pressão, essa forma tende a se converter na forma mais estável (menor energia). Devido a capacidade de distinguir entalpicamente entre as formas cristalinas, o DSC pode ser utilizado na identificação da forma cristalina, enquanto que utilizando a técnica de TGA é possível identificar e quantificar os eventos de perdas de massas.⁵

4.4.2 Determinação de pureza e umidade

A determinação de pureza de um fármaco, que não possui monografia farmacopeica, pode ser avaliada utilizando-se a técnica de DSC. A avaliação

quantitativa da pureza por DSC é realizada pelo método da Equação de van't Hoff, que determina a pureza a partir do pico de fusão do analito. Sabe-se que quanto maior a concentração de impurezas na amostra, mais larga é a faixa de fusão e menor é o ponto de fusão. Utilizando a Equação de van'tHoff, determina-se a fração molar de impureza e o ponto de fusão teórico do analito puro, resultando na pureza absoluta do fármaco.^{4,5}

As monografias farmacopeicas geralmente apresentam o método de Karl Fischer para determinação da umidade do IFA. A utilização da análise térmica por termogravimetria pode ser utilizada na determinação de umidade e substituir o método de Karl Fischer, visto que os resultados apresentados por ambas as técnicas não apresentam diferenças significativas.^{4,5}

4.4.3 Estudos de compatibilidade

A incompatibilidade entre o ativo e os excipientes da formulação resultam em mudança no termograma, desaparecimento ou surgimento de eventos térmicos e alterações dos valores de entalpia.

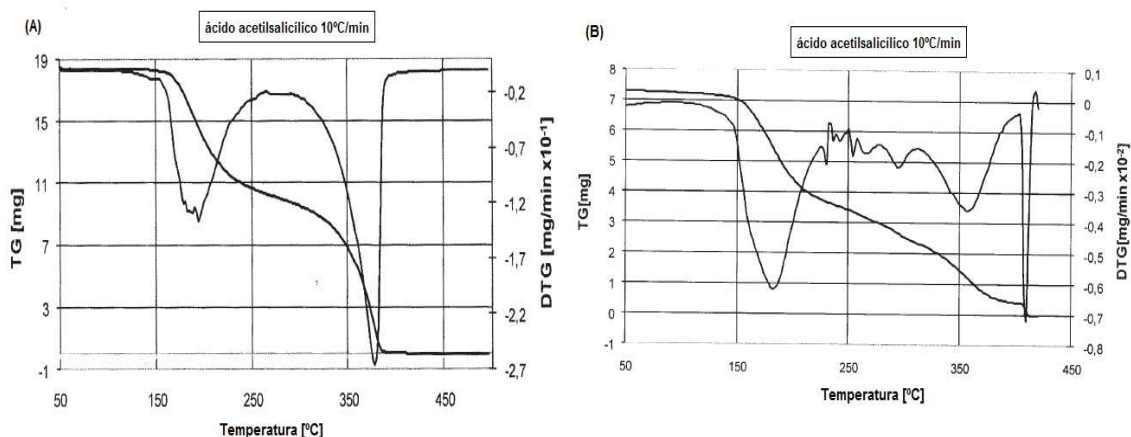
Ceschel, Badiello e Maffei compararam os resultados obtidos das análises de DSC com os resultados obtidos por método de HPLC no estudo de pré-formulação de ácido acetilsalicílico (AAS), a fim de avaliar a compatibilidade do ativo com os excipientes da formulação. Os autores observaram que a interação entre o estearato de magnésio e AAS resulta no surgimento de um pico no termograma, o que não foi observado com os demais excipientes. Os resultados da análise por HPLC corroboram com as análises de DSC, indicando que o teor de AAS diminui na presença do excipiente.¹⁰

4.4.4 Cinética de degradação

Determinar a faixa de temperatura que um fármaco é estável é importante para definir as condições de armazenamento do medicamento. A avaliação da estabilidade térmica no estado sólido é feita principalmente pela análise de sua decomposição sob condições isotérmicas ou não isotérmicas.⁵

Um exemplo é o ácido acetilsalicílico, onde estudos mostraram que o insumo farmacêutico ativo é mais estável termicamente do que o produto acabado. A Figura 4 apresenta o termograma da análise de TGA para o ácido acetilsalicílico matéria-prima e comprimidos.¹¹

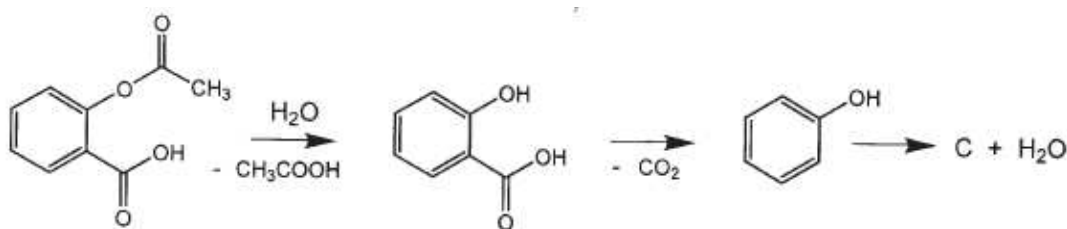
Figura 4 – Termograma de TGA do ácido acetilsalicílico (A) matéria-prima e (B) comprimidos.



Fonte: Adaptado de Tita.¹¹

A partir do termograma de TGA é possível observar que tanto a matéria-prima como o comprimido apresentam dois estágios de decomposição, sendo o primeiro estágio entre 160-260°C correspondendo a eliminação do ácido acético para formar ácido salicílico e o segundo estágio corresponde a eliminação de CO₂ e formação do fenol, conforme esquema da Figura 5.¹¹

Figura 5 – Esquema da decomposição do ácido acetilsalicílico.



Fonte: Adaptado de Tita.¹¹

4.4.5 Polimorfismo

Um composto no estado sólido pode existir na forma cristalina ou no estado amorfo. As formas cristalinas têm diferentes arranjos e/ou conformações das moléculas na rede cristalina, enquanto que o amorfo consiste em arranjos desordenados de moléculas que não possuem uma rede cristalina distinguível. Os solvatos são formas cristalinas contendo moléculas de solvente em sua estrutura cristalina. Se o solvente incorporado for água, o solvato é comumente conhecido como hidrato. O termo polimorfismo é definido como a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco.¹²

Nas etapas de desenvolvimento da formulação é importante identificar e caracterizar as formas cristalinas do fármaco, bem como estudar as possíveis mudanças no hábito cristalino. Embora um fármaco possa existir em duas ou mais formas polimórficas, somente uma delas é a forma termodinamicamente estável a uma dada temperatura e pressão, por isso é importante garantir que a forma cristalina permanecerá inalterada desde o processo de fabricação até o prazo final do medicamento.⁵

Muitas propriedades físico-químicas são alteradas quando ocorre mudança na estrutura cristalina de um sólido, e irão afetar as propriedades dos medicamentos como velocidade de dissolução, densidade aparente e verdadeira, morfologia do cristal, compactação e estabilidade química e física.⁵

Diversas técnicas têm sido utilizadas para identificar as diferentes formas cristalinas de fármacos, devido as peculiaridades de cada substância e as limitações experimentais/instrumentais, pode ser necessário a utilização a combinação das técnicas analíticas, como TGA e DSC.

O DSC apresenta a capacidade de distinguir entalpicamente entre as formas cristalinas, enquanto no TGA é possível observar os eventos de perdas de massa.

4.4.5.1 Compostos hidratados

Os IFAs podem apresentar moléculas de água em sua estrutura cristalina de diferentes maneiras, e dependendo da força de interação entre a água e o IFA e o seu estado físico, as moléculas de água vão evaporar em diferentes temperaturas. A quantidade de água pode ser determinada a partir da perda de massa por TGA.

Moléculas de água adsorvidas são removidas facilmente sob um fluxo de gás seco, a evaporação geralmente ocorre em 80°C, utilizando uma rampa típica de 5 ou 10°C/min. Já as moléculas de água que fazem parte da estrutura cristalina do IFA, que possui razão estequiométrica entre o IFA e a água, quando removidas alteram a estrutura cristalina e, frequentemente, um amorfo pode ser obtido.¹³

4.5 FATORES QUE AFETAM AS ANÁLISES TÉRMICAS

Diversos fatores afetam as análises térmicas, tais como: taxa de aquecimento, gás (tipo e fluxo), preparo da amostra (massa, homogeneidade e

morfologia da amostra) e tipos de cadinho. Para evitar influências do instrumento, como flutuações e efeitos do fluxo do gás, é necessário subtrair a curva do branco.

4.5.1 Taxa de aquecimento

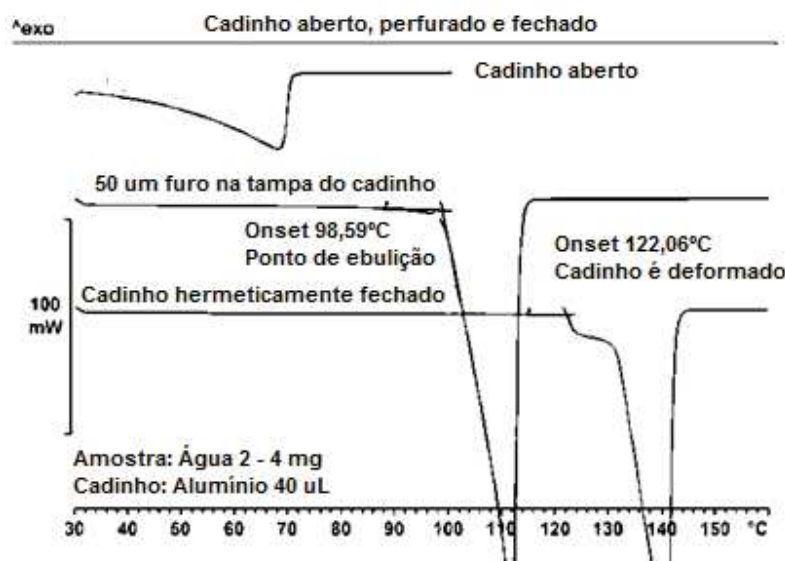
A escolha da taxa de aquecimento é importante principalmente em amostras onde observa-se reações químicas. Taxas de aquecimento mais altas, fazem com que as reações mudem para temperaturas mais altas. Em taxas mais baixas, observa-se o surgimento de processos não detectáveis quando estas são elevadas, podendo ocorrer sobreposição de eventos térmicos.¹⁴

4.5.2 Tipo de cadinho

O tipo de cadinho utilizado, se possui tampa (hermética ou com um ou mais furos) ou sem tampa, podem produzir resultados diferentes. A tampa do cadinho impõe uma barreira à saída de moléculas de água. Em um cadinho selado com um furo muito pequeno na tampa desloca a perda de massa para temperaturas mais altas.¹⁵

A Figura 6 apresenta um exemplo da influência do cadinho nos resultados obtidos utilizando água como amostra em uma análise de DSC. A evaporação da água com o cadinho sem tampa ocorre em temperatura menor que o ponto de ebulição da água, enquanto que utilizando cadinho com furo na tampa a evaporação ocorre no ponto de ebulição da água. No cadinho com tampa a temperatura de evaporação da água não tem relevância, visto que todo vapor d'água é liberado somente após o rompimento da tampa, que ocorre quando a pressão fica muito alta.¹⁶

Figura 6 – Comparação entre os diferentes tipos de cadinho utilizados.



Fonte: Adaptado de Mettler Toledo.¹⁵

O material no qual o cadinho é fabricado não deve influenciar a reação da amostra. A escolha do tipo de cadinho está relacionada com a máxima temperatura permitida e com o tipo de amostra analisada. A Tabela 1 apresenta os tipos de cadinhos disponíveis no mercado, temperaturas máximas e os tipos de análise térmica que são recomendados.¹⁶

Tabela 1 - Tipos de cadinho utilizados nas análises térmicas.

Material	Temperatura máxima (°C)	Técnica utilizada
Alumínio	640	TGA/DSC
Cobre	750	DSC
Ouro	750	DSC
Dourado	350	DSC
Platina	1600	TGA/DSC
Alumina	2000	TGA/DSC
Safira	2000	TGA/DSC

Fonte: Adaptado de Mettler Toledo.¹⁶

Pina et al analisaram o comportamento térmico da forma hidratada de cloridrato de paroxetina. Os autores observaram que houve uma diferença de aproximadamente 5°C na temperatura de fusão comparando os dois tipos de cadinho. Ao comparar diferentes taxas de aquecimento, observaram que em taxas de aquecimento elevadas (50°C/min) ocorre desaparecimento do sinal de recristalização e o pico de fusão da forma I (hidratada) não é observado.¹⁷

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 MATERIAIS

Os insumos farmacêuticos ativos utilizados no trabalho foram: levofloxacino hemihidratado (Shangyu Jingxin Pharmaceutical CO., LTD, China), cloridrato de moxifloxacino monohidratado (Inogent Laboratories PVT LTD, Índia), pantoprazol sódico sesquihidratado (Aurobindo Pharma LTD, Índia), citrato de sódio dihidratado (RZBC (Juxian) CO., LTD, China) e atorvastatina cálcica trihidratada (IND-SWIFT Laboratories Limited, Índia).

Para cada IFA foram utilizados de 3,5 a 5,0 mg para cada amostra analisada. As análises foram realizadas em um equipamento TGA/DSC 1 (STAR^e System) da marca Mettler Toledo. Foram utilizados cadinhos de alumínio 40 µL, da marca Mettler Toledo.

Para citrato de sódio dihidratado utilizou-se microscópio de luz polarizada Nikon eclipse Plus 2.0 ML, software motic images plus 2.0. Para citrato de sódio macerado foi utilizado lente Nikon E Plan 10x/0.25 e para citrato de sódio não macerado foi utilizado lente Nikon E Plan 4x/0.10.

5.2 MÉTODO

A influência do tipo de cadinho foi avaliada utilizando-se cadinho com tampa (CT), cadinho com tampa com um furo central (TF) e cadinho sem tampa (ST), com taxa de aquecimento de 10°C/min e fluxo de nitrogênio de 50 mL/min.

Para avaliação da taxa de aquecimento utilizou-se cadinho sem tampa, fluxo de nitrogênio de 50 mL/min, variando-se a taxa de aquecimento de 2, 10 e 20°C/min.

A faixa de temperatura inicial e final foi estabelecida de acordo com o ponto de fusão de cada composto, sendo utilizada de 30°C - 180°C para atorvastatina cálcica trihidratada e de 30°C - 350°C para os demais IFAs.

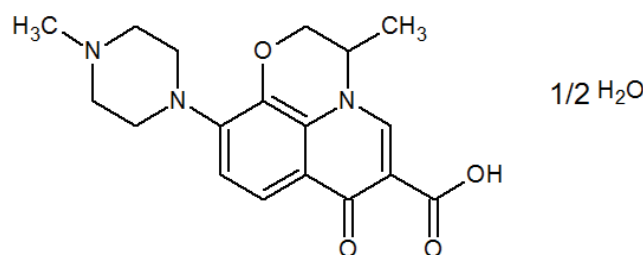
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A seguir são apresentados os resultados obtidos de TGA e DSC para cada insumo farmacêutico ativo hidratado. Para análise de TGA avaliou-se a perda de massa com o aumento da temperatura e para análise de DSC foram comparados os valores de T_{onset} de cada evento térmico.

6.1 LEVOFLOXACINO HEMIHIDRATADO

A Figura 7 apresenta a estrutura química do levofloxacino hemihidratado.

Figura 7 - Estrutura química de levofloxacino hemihidratado.



Fonte: Autoria própria.

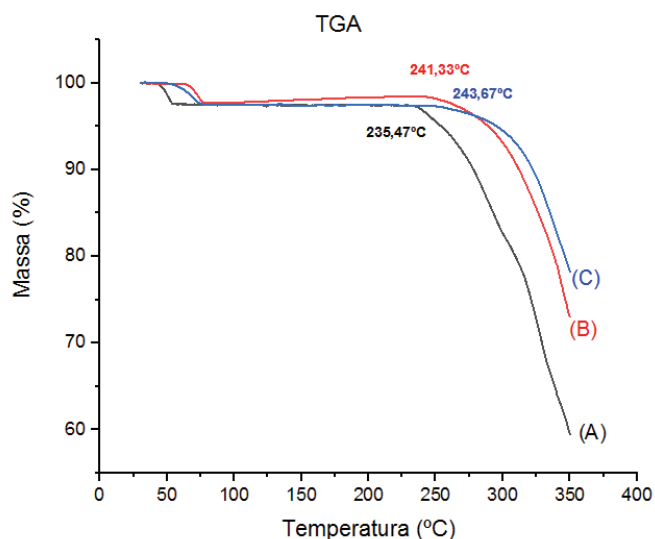
O levofloxacino é encontrado em duas formas: monohidratado e hemihidratado, sendo o levofloxacino hemihidratado a forma mais estável. Enquanto o levofloxacino monohidratado apresenta apenas um pico endotérmico de fusão (233°C), a forma hemihidratada apresenta três picos endotérmicos, correspondendo a fusão da forma anidra γ (227°C), β (230°C) e α (233°C).¹⁸

A porcentagem de água encontrada pelas análises de TGA para o levofloxacino hemihidratado variaram de 2,40 - 2,50%, sendo condizente com o valor teórico de 2,43% que corresponde a 1/2 mol de água por mol de ativo.

A F apresenta o termograma de TGA variando-se a taxa de aquecimento, em que é possível observar que a desidratação do levofloxacino ocorre entre 40 – 60°C. Observa-se também que o aumento da taxa de aquecimento resulta em um aumento da temperatura de início da degradação da amostra e diminuição da porcentagem de massa que é degradada. Com a taxa de aquecimento de 2°C/min, a amostra começa a degradar em 235,47°C e a porcentagem de massa residual é de 59,44%, enquanto que para análise com taxa de aquecimento de 10°C/min observa-se o início da degradação em 241,33°C com 73,59% de massa residual, já a análise com taxa de 20°C/min, a degradação inicia em

243,67°C restando 78,45% de massa com relação a massa inicial. Esse fato está relacionado com o tempo que a amostra permanece em altas temperaturas, sendo o tempo de análise maior com taxa de aquecimento menor.

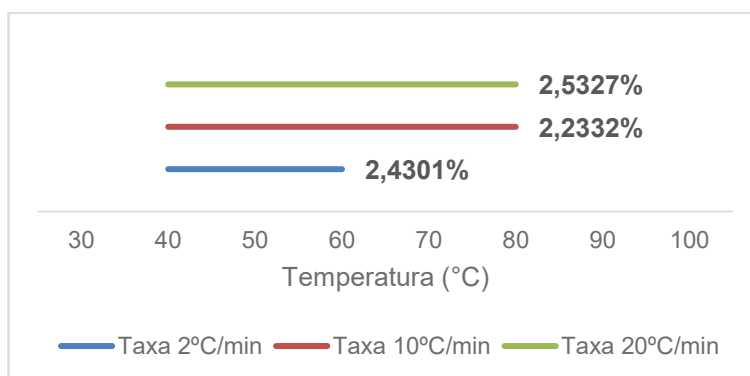
Figura 8 – Termogramas de TGA para levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



Fonte: Autoria própria.

O infográfico comparativo com as perdas de massa e a faixa de temperatura do evento de desidratação (Figura 9) mostra que não houve diferença significativa entre as perdas de massa, entretanto observa-se um aumento da faixa de temperatura do evento de desidratação conforme aumenta-se a taxa de aquecimento.

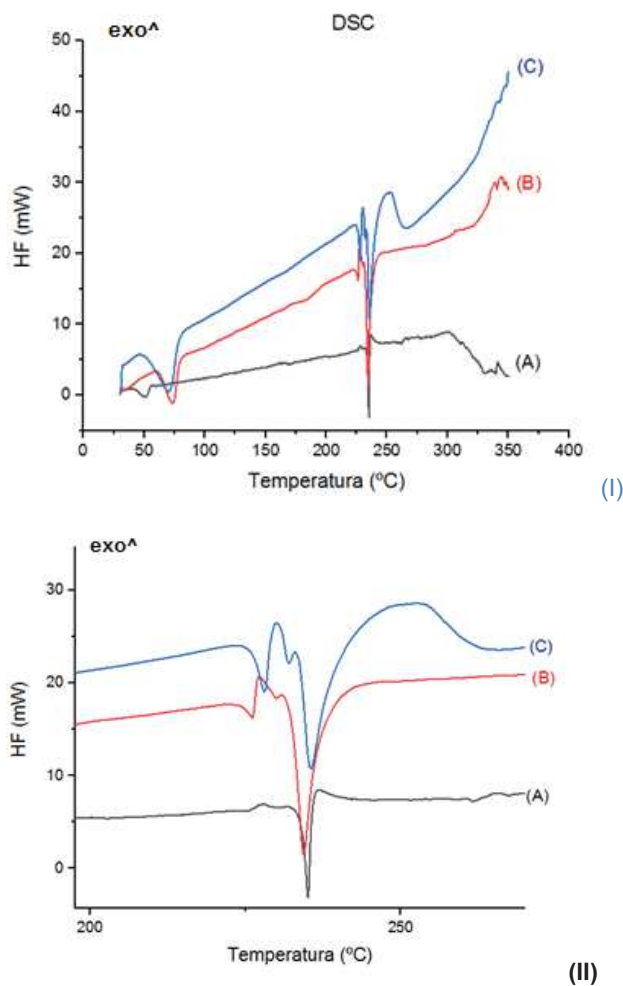
Figura 9 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento.



Fonte: Autoria própria.

A Figura 10 apresenta a sobreposição dos termogramas de DSC de levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento. Utilizando-se a taxa de aquecimento de 2°C/min observou-se um pico endotérmico (47,05°C) com perda de massa de 2,43%, correspondendo a desidratação, e um pico endotérmico (231,73°C) correspondendo a fusão da forma α . Já com a taxa de aquecimento de 10°C/min, observou-se um pico endotérmico (63,73°C) com perda de massa de 2,23% e três picos endotérmicos de fusão, correspondendo a fusão das formas α , β e γ . Enquanto, ao aquecer a amostra com taxa de 20°C/min, observou-se um pico endotérmico (55,10°C) com perda de massa de 2,53% e três picos endotérmicos de fusão, correspondendo a fusão das formas α , β e γ .

Figura 10 - Termogramas de DSC de levofloxacino hemihidratado variando-se a taxa de aquecimento (I) e ampliação do pico de fusão (II). (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.

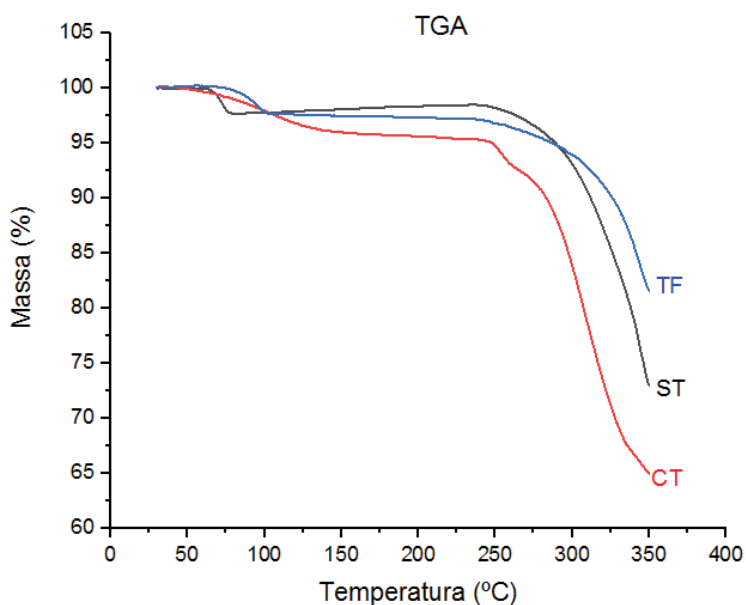


Fonte: Autoria própria.

De acordo com os resultados obtidos é possível afirmar que com o aumento da taxa de aquecimento, ocorre um deslocamento da temperatura correspondente a desidratação do levofloxacino hemihidratado. Em temperaturas baixas, a desidratação de levofloxacino hemihidratado resulta em um colapso da estrutura cristalina e recristalização na forma α , conforme estudos de Kitaota et al.¹⁸

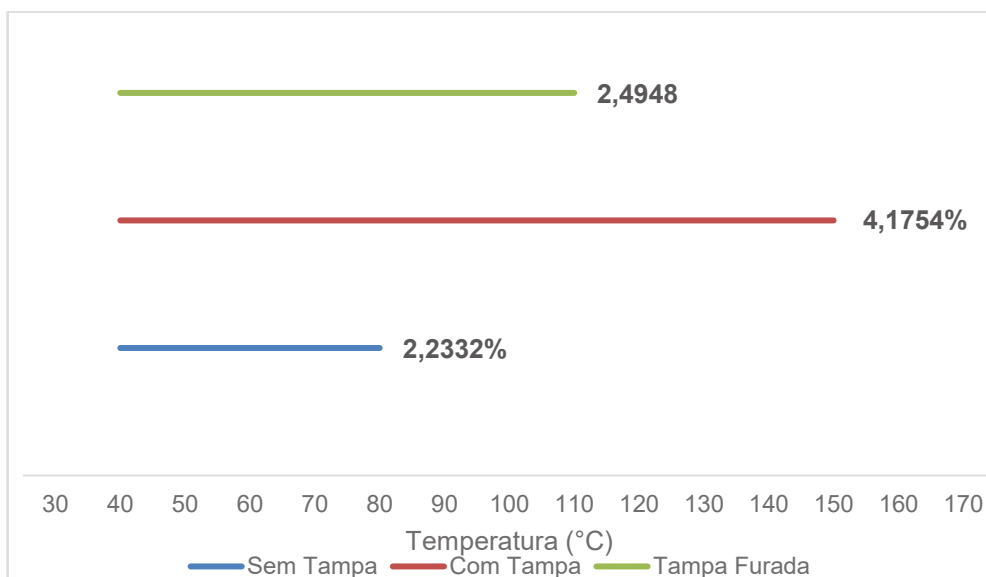
A Figura 11 apresenta o termograma de TGA das análises variando-se o tipo de cadinho utilizado e a Figura 12 corresponde ao infográfico comparativo.

Figura 11 – Termogramas de TGA para levofloxacino hemihidratado utilizando cadinho sem tampa (ST), cadinho com tampa (CT) e cadinho com tampa furada (TF). Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.



Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho.

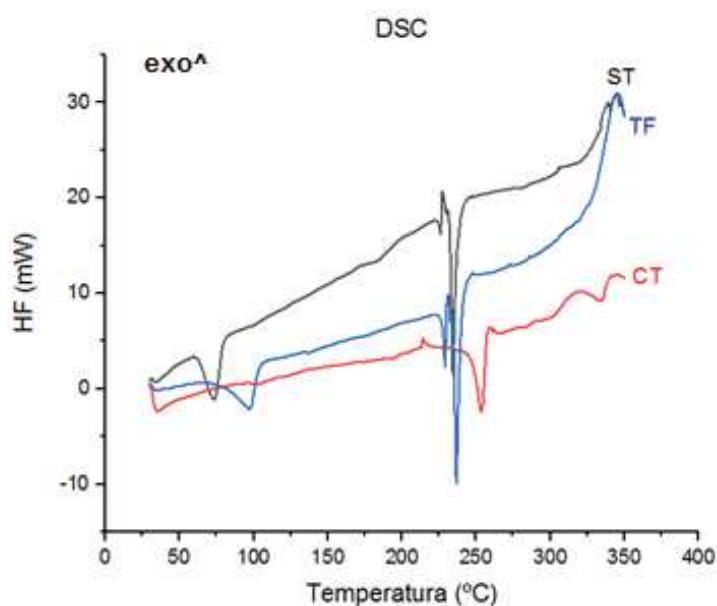


Fonte: Autoria própria.

Conforme Figura 11, a presença de tampa no cadinho (hermeticamente fechado ou com um furo) na análise de TGA ocasionou um aumento da temperatura do evento de desidratação, sendo que na análise utilizando cadinho sem tampa o evento de desidratação ocorreu em 63,73°C, a temperatura de desidratação utilizando tampa furada foi de 79,09°C e com tampa foi de 95,64°C. Também se observa um aumento na porcentagem de água, Figura 12, sendo maior para condição com tampa se comparada com as demais.

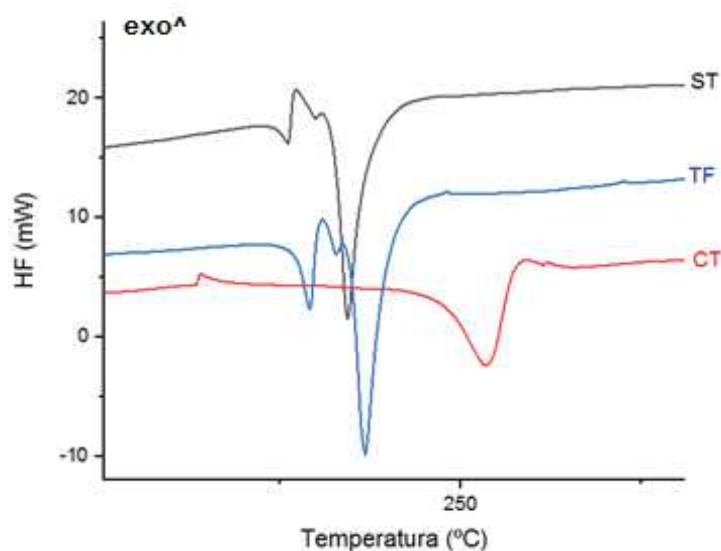
A Figura 13 apresenta a sobreposição dos termogramas de DSC variando-se o tipo de cadinho e a Figura 14 apresenta a ampliação na região dos picos de fusão. As análises realizadas com cadinho sem tampa e tampa furada apresentaram comportamento semelhante com relação ao ponto de fusão, onde observa-se os eventos endotérmicos de fusão das três formas α , β e γ . Já na análise com cadinho com tampa, não foi possível observar os picos endotérmicos das formas β e γ , sendo observado apenas a fusão da forma α .

Figura 13 - Termogramas de DSC de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.



Fonte: Autoria própria.

Figura 14 – Ampliação dos termogramas de DSC na região dos picos de fusão de levofloxacino hemihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.

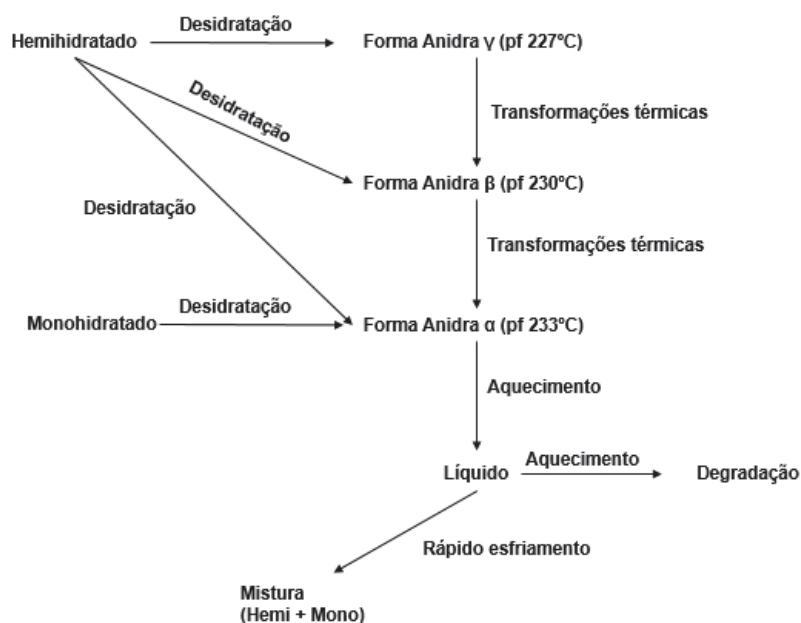


Fonte: Autoria própria.

Kitaoka et al estudaram o comportamento térmico das formas monohidratada e hemihidratada de levofloxacino.¹⁸ Nesse estudo concluíram que a desidratação de levofloxacino hemihidratado leva a um colapso da estrutura cristalina formando uma mistura das formas anidras α , β e γ , enquanto

que a desidratação de levofloxacino monohidratado leva a formação apenas da forma anidra α (Figura 15).

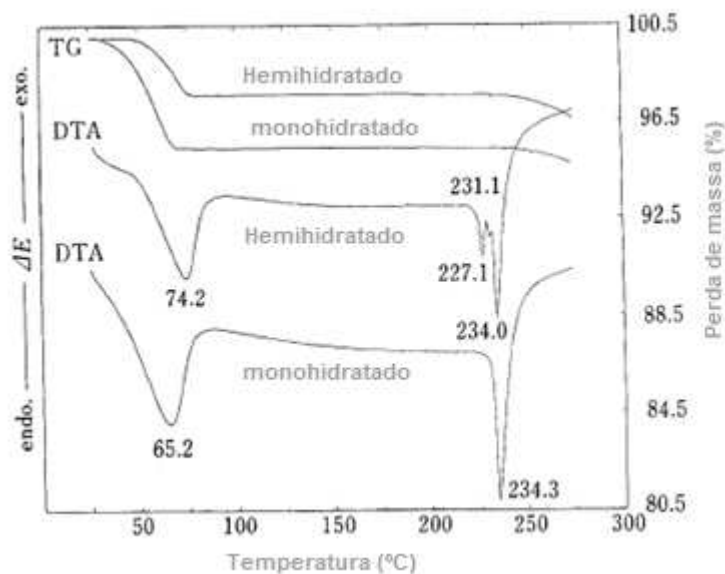
Figura 15 - Mecanismo de desidratação da forma hemihidratada e monohidratada de levofloxacino.



Fonte: Adaptado de Kitaoka et al (1995).¹⁸

Os autores observaram que a forma monohidratada apresenta um pico endotérmico em 65,2°C com perda de massa de 4,5% e pico endotérmico de fusão em 234,3°C. Já a forma hemihidratada apresentou um pico endotérmico em 74,2°C com perda de massa de 2,4% e três picos endotérmicos em 227,1, 231,1 e 234,0°C (Figura 16). Os parâmetros experimentais utilizados nesse estudo foram: cadinho sem tampa, 10 mg de amostra, taxa de 10°C/min e fluxo de nitrogênio de 100 mL/min.¹⁸

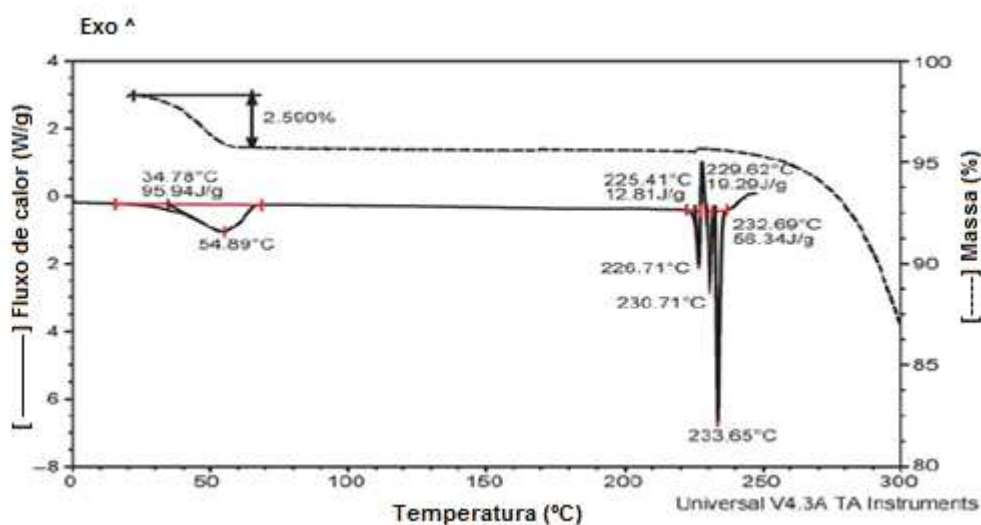
Figura 16 - Comparação entre levofloxacino hemihidratado e levofloxacino monohidratado.



Fonte: Adaptado de Kitaoka et al (1995).¹⁸

Gorman, Samas e Munson realizaram a análise termogravimétrica de levofloxacino hemihidratado com aproximadamente 2,75 mg de amostra em cadinho de platina, aquecendo da temperatura ambiente até 500°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min e fluxo de nitrogênio de 100 mL/min¹⁹. A análise de DSC foi realizada com aproximadamente 2,6 mg em cadinho de alumínio sem tampa, aquecido de 0°C até 250°C, com taxa de aquecimento de 10°C/min e fluxo de nitrogênio de 50 mL/min. O evento de desidratação do levofloxacino hemihidratado foi observado em 54,89°C com perda de massa de 2,59%, sendo obtido três picos endotérmicos correspondendo a fusão da forma γ (255,4°C), β (229,6°C) e α (232,7°C), conforme Figura 17.¹⁹

Figura 17 - Termograma (TG/DSC) de levofloxacin hemihidratado.



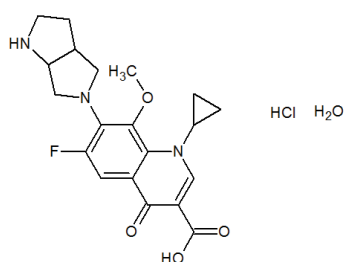
Fonte: Adaptado de Gorman et al (1995).¹⁹

Comparando-se os resultados obtidos nesse trabalho com os dados encontrados na literatura pode-se concluir que a análise de DSC de levofloxacin hemihidratado utilizando-se cadinho sem tampa, tampa furada e taxas de aquecimento de 10 e 20°C/min apresentaram resultados semelhantes e condizentes com a literatura. Já a análise com tampa ou taxa de aquecimento de 2°C/min não é recomendada visto que pode gerar uma interpretação incorreta do resultado, onde só foi observado a fusão da forma α nessas condições, que segundo dados da literatura, caracterizaria a forma monohidratada.

6.2 CLORIDRATO DE MOXIFLOXACINO MONOHIDRATADO

A Figura 18 apresenta a estrutura química do cloridrato de moxifloxacin monohidratado.

Figura 18 - Estrutura química de cloridrato de moxifloxacin monohidratado.

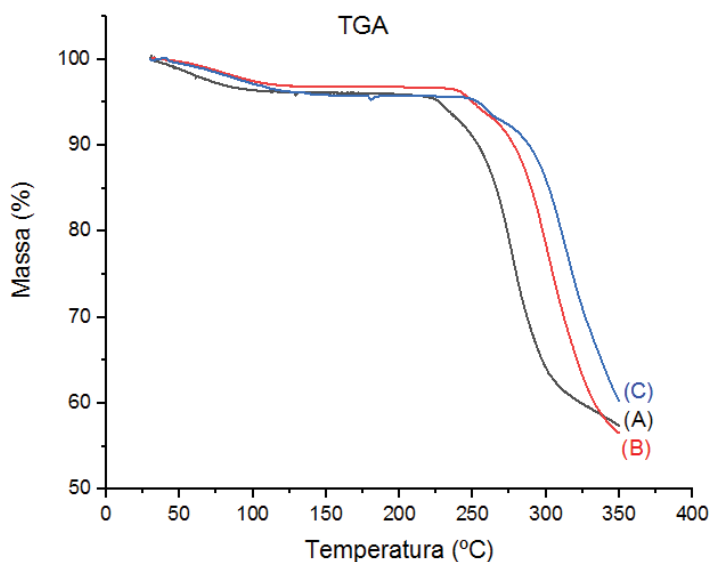


Fonte: Autoria própria.

Diversas formas cristalinas de cloridrato de moxifloxacino (MOX) são descritas na literatura, as quais foram designadas como “Forma I” (anidro), “Forma II” (monohidrato), “Forma III” (anidro), “Forma IV”, “Forma A”, “Forma B”, “Forma C”, “Forma X” e “Forma Y”²¹⁻²⁵. Diante disso, destaca-se a importância de investigar e controlar o tipo de forma cristalina de MOX, uma vez que podem afetar a biodisponibilidade do fármaco.

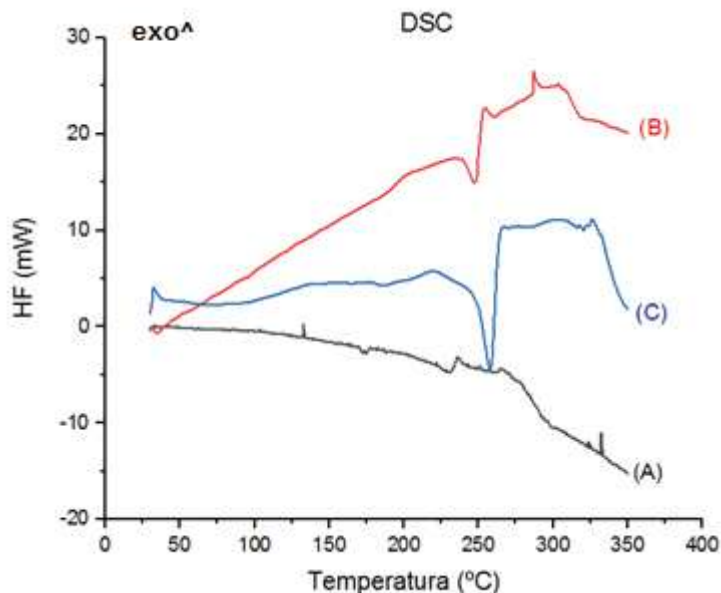
As Figura 19 e Figura 20 apresentam os termogramas de TGA e DSC, respectivamente, variando-se a taxa de aquecimento e a Figura 21 apresenta o infográfico comparativo das perdas de massa. Na análise de DSC, apenas na taxa de aquecimento de 20°C/min é possível notar um pico endotérmico largo referente ao evento de desidratação. Na análise de DSC com taxa de 2°C/min não é possível verificar nenhum evento, tanto de desidratação como de fusão, o que pode ter sido ocasionado pelo alto ruído obtido. Pela análise de TGA e o infográfico nota-se que utilizando a taxa de 2°C/min obteve-se uma perda de massa maior do que as perdas obtidas com as demais taxas de aquecimento.

Figura 19 - Termogramas das análises de TGA de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



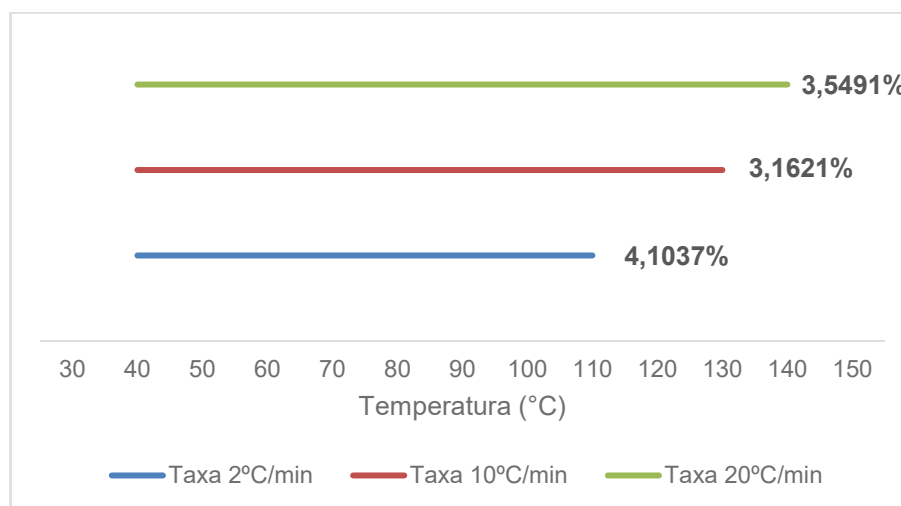
Fonte: Autoria própria.

Figura 20 – Termogramas das análises de DSC de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



Fonte: Autoria própria.

Figura 21 - Infográfico comparativo entre as perdas de massa de cloridrato de moxifloxacino monohidratado variando-se a taxa de aquecimento.



Fonte: Autoria própria.

Devido à expansão da amostra causada pela degradação após 250°C, conforme apresentado na fotografia da Figura 22 nas posições 7,8 e 9, a condição de cadinho com tampa foi realizada na faixa de temperatura de 30 à 220°C.

As Figura 23 e Figura 24 apresentam os termogramas de TGA e DSC variando-se o tipo de cadinho utilizado. Utilizando cadinho com tampa, a saída da água ocorreu em temperatura mais alta (aproximadamente 200°C) se comparado com as análises com cadinho sem tampa e cadinho com tampa furada, que ocorreu em aproximadamente 100°C. A presença da tampa funciona como uma barreira à saída de água, sendo que a água é eliminada juntamente com a ruptura da tampa.

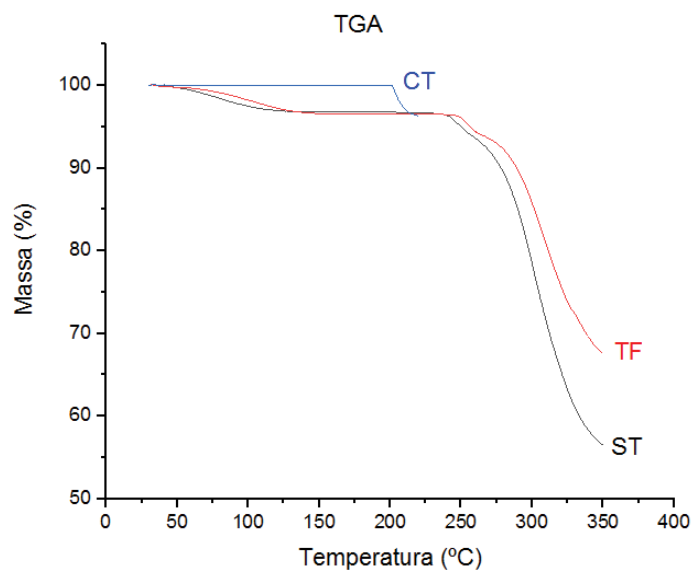
Já as análises realizadas com cadinho sem tampa e cadinho com tampa furada não se observou diferenças significativas tanto na análise de TGA como na análise de DSC.

Figura 22 – Fotografia do amostrador do equipamento com as amostras de moxifloxacino.



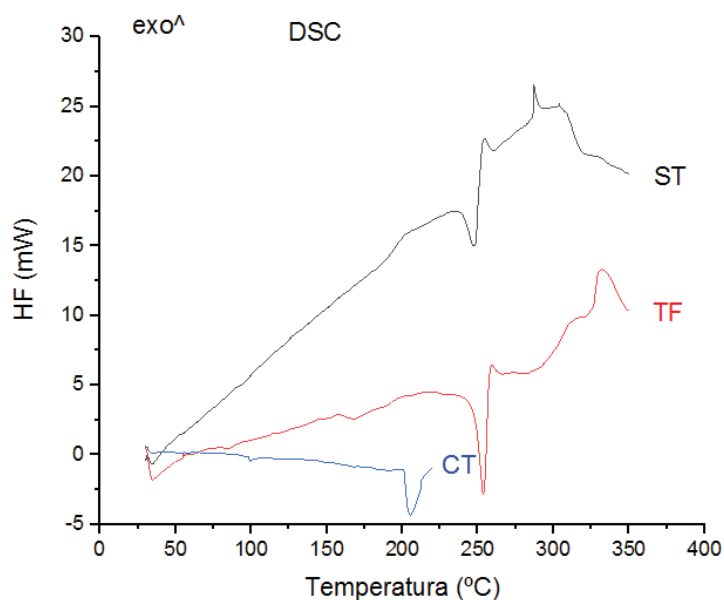
Fonte: Autoria própria.

Figura 23 - Termogramas da análise de TGA de cloridrato de moxifloxacino monohidratado, cadinho sem tampa, tampa furada e com tampa. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.



Fonte: Autoria própria.

Figura 24 – Termogramas da análise de DSC de cloridrato de moxifloxacino monohidratado, cadinho sem tampa, tampa furada e com tampa. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.

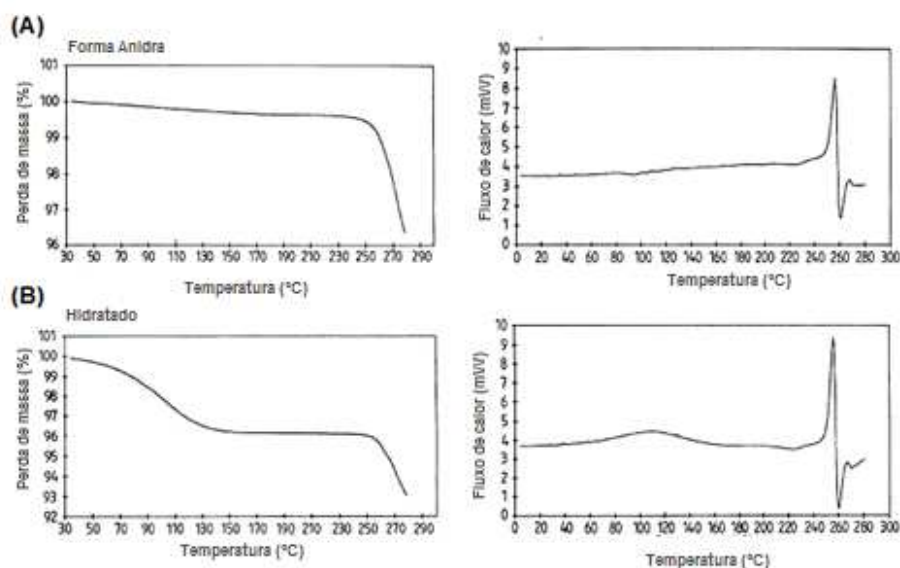


Fonte: Autoria própria.

De acordo com Grunenber e Bosché, a forma anidra e monohidratada de MOX podem ser diferenciadas pelas análises de TGA/DSC (Figura 25). A forma monohidratada apresentou uma perda de massa de 3,9%, já a amostra da forma anidra apresentou uma pequena perda de massa pelo fato da mesma ser

altamente higroscópica. Nos termogramas de DSC, verifica-se o evento endotérmico de desidratação entre 70 e 170°C para a forma monohidratada.²⁰

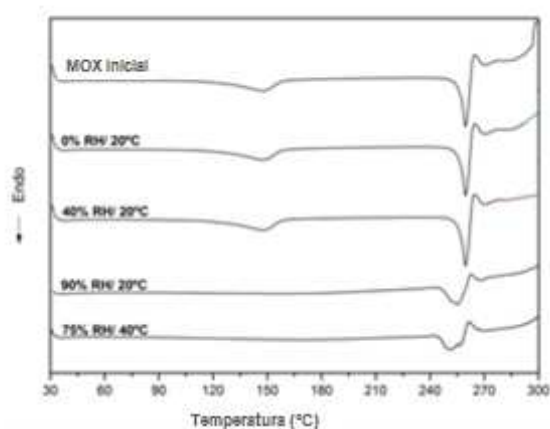
Figura 25 – Comparação entre os resultados de TGA (A) e DSC (B) das formas anidra e monohidratada de cloridrato de moxifloxacino.



Fonte: Adaptado de Grunenberg (1998).²⁰

Júlio et al submeteram amostras de MOX a diferentes condições de armazenamento e analisadas por TGA e DSC. A Figura 26 apresenta as curvas de DSC de cloridrato de moxifloxacino após ser submetido a diferentes condições de armazenamento, variando-se a umidade relativa e a temperatura.²⁶

Figura 26 – Curvas de DSC das amostras de MOX submetidas a diferentes condições de armazenamento. Parâmetros experimentais: 30 – 300°C, taxa de aquecimento 10°C/min, cadinho hermeticamente fechado e N₂ 50 mL/min.

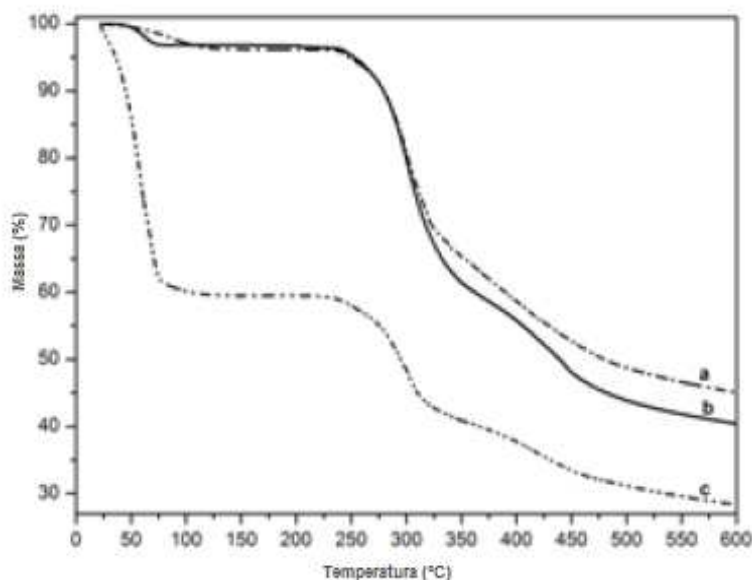


Fonte: Adaptado de Júlio.²⁶

A amostra de MOX inicial apresenta um pico endotérmico em 256,7°C ($T_{\text{onset}} = 255,13^\circ\text{C}$) correspondendo a fusão do composto seguido de decomposição. Observa-se que apenas as amostras que foram submetidas a 75% UR/40°C e 90% UR/20°C apresentaram diferenças nas curvas de DSC. Nessas condições de armazenamento, ocorre deslocamento e alargamento do pico endotérmico de fusão do ativo. Já as análises de TGA (Figura 27) mostraram que nessas condições de armazenamento, o MOX apresenta uma queda inicial de massa correspondendo a perda de água adquirida pela alta umidade de armazenamento.²⁶

Os resultados obtidos por Júlio et al demonstram que as condições de armazenamento sob alta umidade têm grande influência sobre a estabilidade de MOX, contribuindo para transição de anidro para hidratado.²⁶

Figura 27 – Curvas de TGA da amostra de cloridrato de moxifloxacino após 1 mês à 75% UR/40°C (a), amostra inicial (b) e amostra estocada a 90% UR/20°C por 1 mês. Parâmetros experimentais: 30 – 600°C, taxa de aquecimento de 10°C/min, cadinho sem tampa, N₂ 50 mL/min.

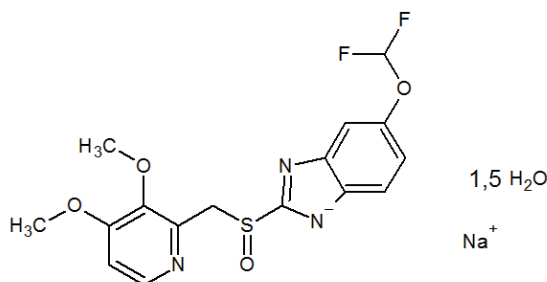


Fonte: Adaptado de Júlio.²⁶

6.3 PANTOPRAZOL SÓDICO SESQUIHIDRATADO

A Figura 28 apresenta a estrutura química de pantoprazol sódico sesquihidratado.

Figura 28 - Estrutura química de pantoprazol sódico sesquihidratado.

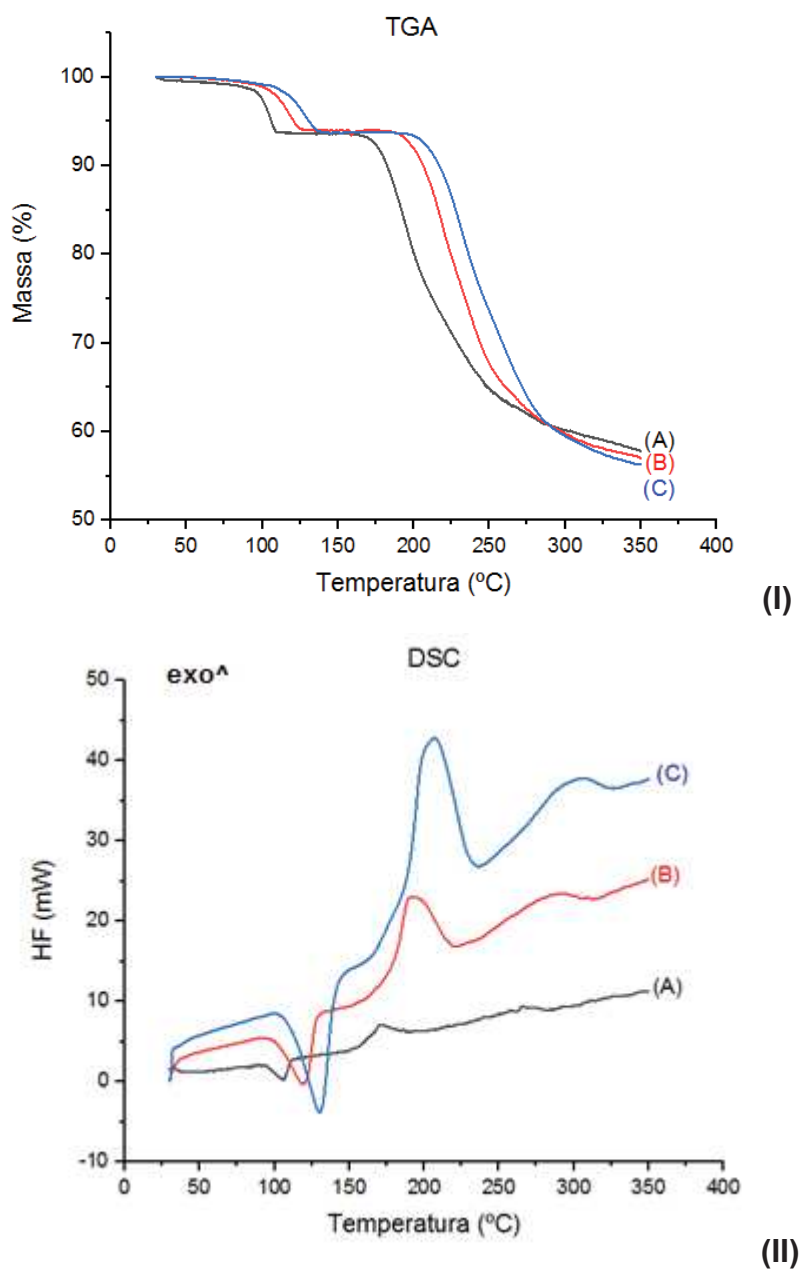


Fonte: Autoria própria.

Comercialmente, o pantoprazol sódico é encontrado em duas formas: monohidratado e sesquihidratado, entretanto novas formas polimórficas são propostas no trabalho de Zupančič et al.²⁷

A Figura 29 apresenta os termogramas de TGA e DSC para pantoprazol sódico sesquihidratado variando-se a taxa de aquecimento. Conforme literatura, no termograma de DSC é observado apenas um pico endotérmico, correspondendo a desidratação, confirmado pela perda de massa no TGA, e a fusão do composto.²⁷ O pico exotérmico observado corresponde a degradação da amostra. A taxa de aquecimento apresentou grande influência nos resultados obtidos, uma vez que com taxa de aquecimento maiores, o composto se funde e logo em seguida é observado a degradação, onde a resolução entre os eventos é menor se comparado com a taxa de 2°C/min, entretanto em todas as taxas de aquecimento testadas é possível diferenciar os eventos, não ocorrendo sobreposição.

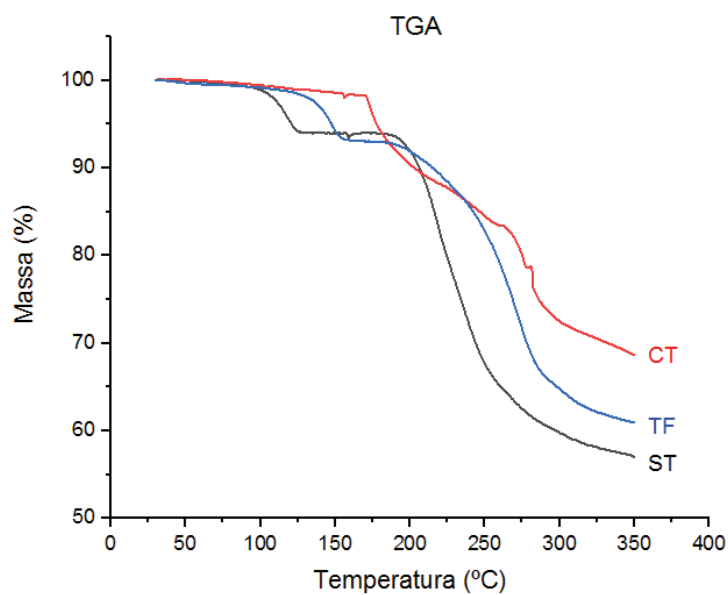
Figura 29 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para pantoprazol sódico sesquihidratado. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



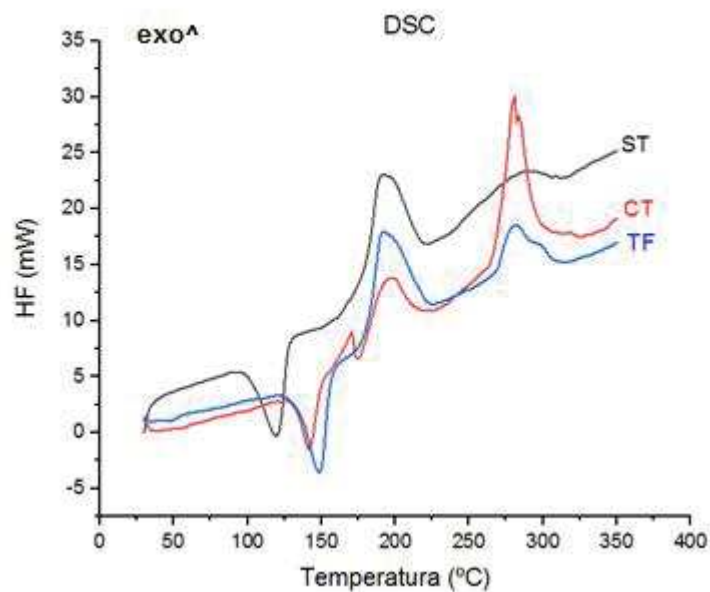
Fonte: Autoria própria.

A influência da tampa do cadinho nos resultados das análises é mostrada na Figura 30, onde observa-se comportamento semelhante ao obtido com a variação da taxa de aquecimento. A presença de tampa no cadinho, com furo ou hermeticamente fechado, resulta em um aumento na temperatura de desidratação, sendo observado degradação da amostra logo em seguida.

Figura 30 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para pantoprazol sódico sesquihidratado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.



(I)



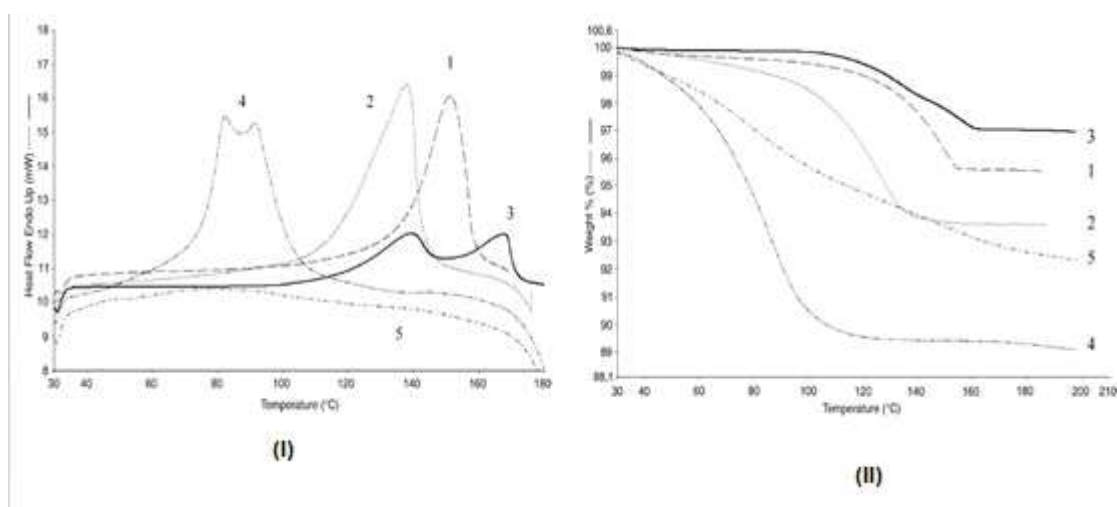
(II)

Fonte: Autoria própria.

Zupančič et al relatam a caracterização das formas polimórficas comercialmente disponíveis de pantoprazol sódico, monohidratado e sesquihidratado, e mais duas novas formas de cristal (forma A e forma B) além da forma amorfa²⁷. Os autores mostram que para as formas monohidratada e sesquihidratada, o evento de desidratação ocorre juntamente com o evento de

fusão, sendo que a temperatura de transição é maior para a forma monohidratada (138°C) se comparado com a temperatura de transição da forma sesquihidratada (114°C). A curva de DSC (Figura 31.A) da forma A e B apresentam dois eventos endotérmicos, não resolvidos totalmente, correspondendo a desidratação, sendo confirmado pelas perdas de massa observadas no TGA (Figura 31.B).²⁷

Figura 31 – Curvas de DSC (I) e TGA (II) da forma monohidratada (1), sesquihidratada (2), Forma A (3), Forma B (4) e forma amorfa (5) de pantoprazol sódico.

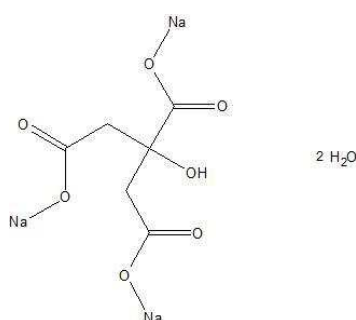


Fonte: Retirado de Zupančič.²⁷

6.4 CITRATO DE SÓDIO DIHIDRATADO

A Figura 32 apresenta a estrutura química de citrato de sódio dihidratado.

Figura 32 - Estrutura química de citrato de sódio dihidratado.



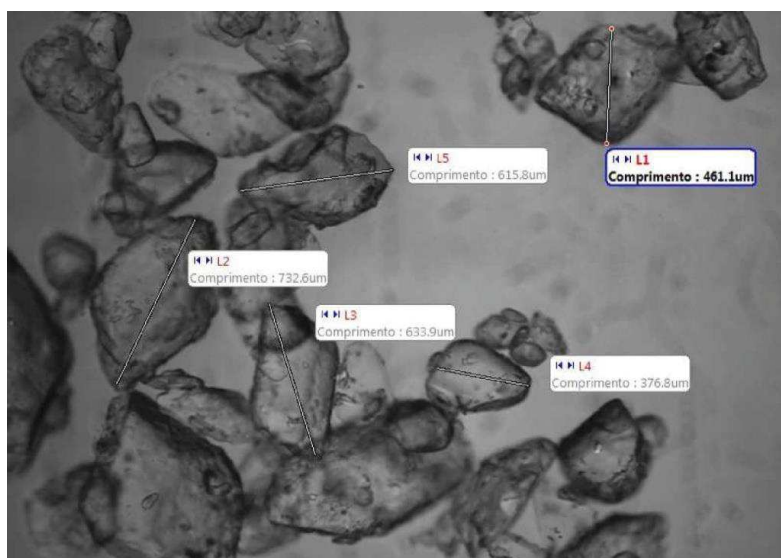
Fonte: Autoria própria.

Para garantir um contato térmico uniforme entre a amostra e o cadinho, a amostra de citrato de sódio dihidratado foi macerada utilizando-se almofariz de ágata, até obtenção de um pó fino. A Figura 33 apresenta a fotografia de microscópio óptico da amostra sem macerar, onde observa-se cristais com tamanho de 376,8 μm à 732,6 μm , enquanto que na amostra macerada (Figura

34) o tamanho dos cristais variou entre 46,2 μm e 115,3 μm , sendo obtida redução de pelo menos seis vezes.

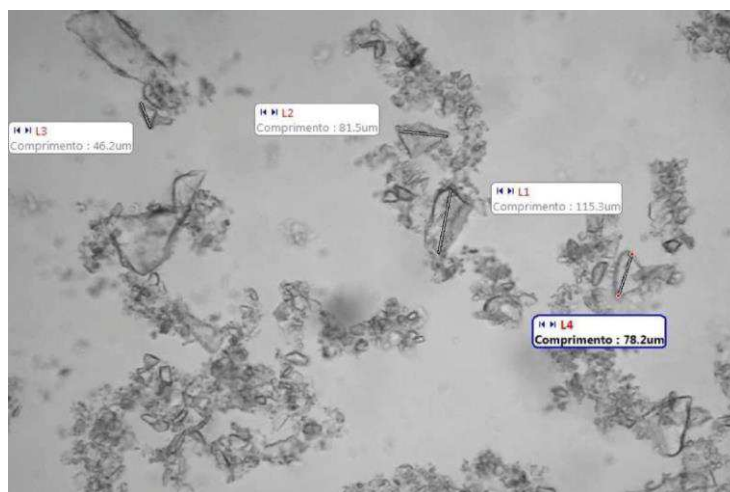
As análises de TGA/DSC foram realizadas com a amostra sem macerar e macerada para avaliação da influência da maceração da amostra nos resultados obtidos.

Figura 33 - Imagem de microscopia de citrato de sódio sem macerar



Fonte: Autoria própria.

Figura 34 - Imagem de microscopia de citrato de sódio macerado.



Fonte: Autoria própria.

O aumento da taxa de aquecimento e a utilização de tampa resultaram em aumento no calor, verificado pelo aumento da área do pico de desidratação,

tanto para amostra sem macerar como para amostra macerada, conforme demonstrado na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultados da análise de calorimetria exploratória diferencial de citrato de sódio dihidratado sem macerar e macerado.

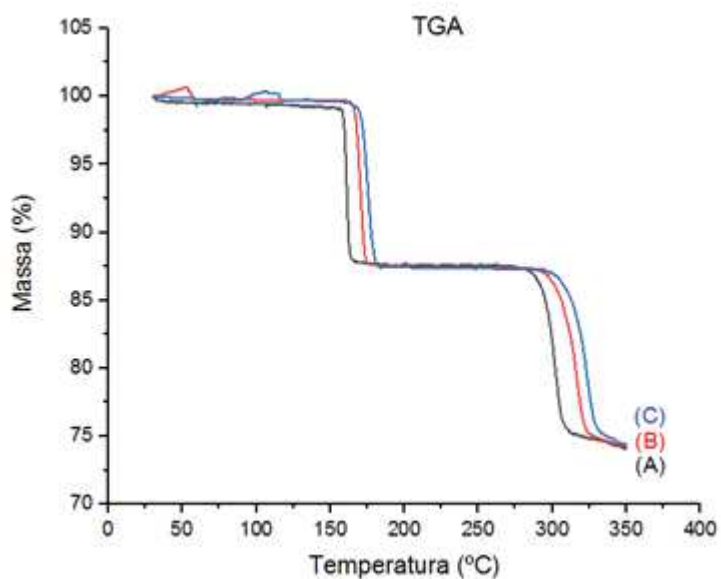
Citrato de Sódio sem macerar			
Identificação	Tonset (°C)	Tpeak (°C)	ΔH (J/g)
Taxa 2°C/min	156,65	158,85	-342,80
Taxa 10°C/min	162,92	167,39	-417,00
Taxa 20°C/min	166,01	172,23	-415,34
Sem Tampa	162,92	167,39	-417,00
Com Tampa	163,86	166,72	-431,19
Tampa Furada	164,04	168,14	-450,29
Citrato de sódio macerado			
Identificação	Tonset (°C)	Tpeak (°C)	ΔH (J/g)
Taxa 2°C/min	156,58	159,3	-310,08
Taxa 10°C/min	160,75	167,53	-377,18
Taxa 20°C/min	163,43	172,11	-393,57
Sem Tampa	160,75	167,53	-377,18
Com Tampa	162,07	164,22	-346,29
Tampa Furada	162,91	166,18	-411,19

Fonte: Autoria própria.

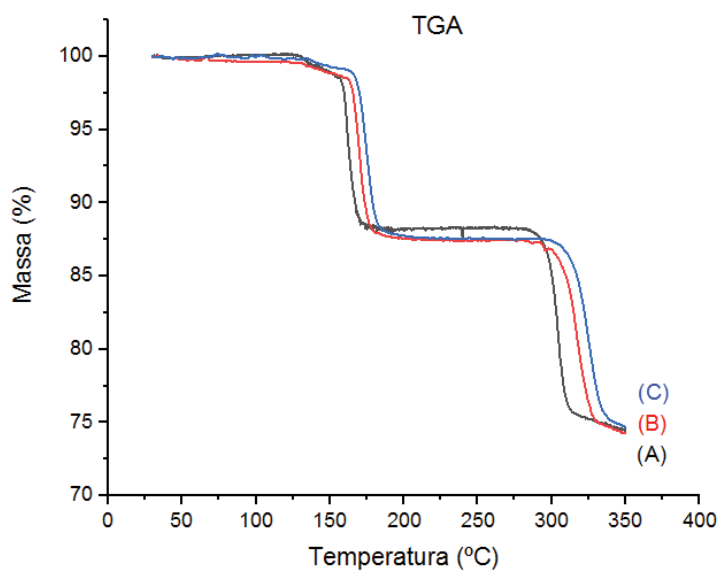
O processo de maceração da amostra para redução do tamanho aumenta a homogeneidade da amostra no cadinho, resultando em homogeneidade do processo de aquecimento durante a análise. A amostra sem macerar apresenta diferentes tamanhos e por isso necessita de mais energia para que ocorra o evento térmico, como pode ser observado na Tabela 2, onde os valores de calor são maiores para a amostra sem macerar se comparada com a amostra macerada.

Comparando-se os gráficos de DSC (Figura 36), é possível notar que para amostra macerada houve o surgimento de dois picos endotérmicos referentes a desidratação, confirmado pela perda de massa no termograma da análise de TGA (Figura 35), em todas as taxas de aquecimento testadas. Enquanto na amostra sem macerar foi obtido apenas um pico endotérmico referente ao evento de desidratação.

Figura 35 – Termogramas de TGA para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



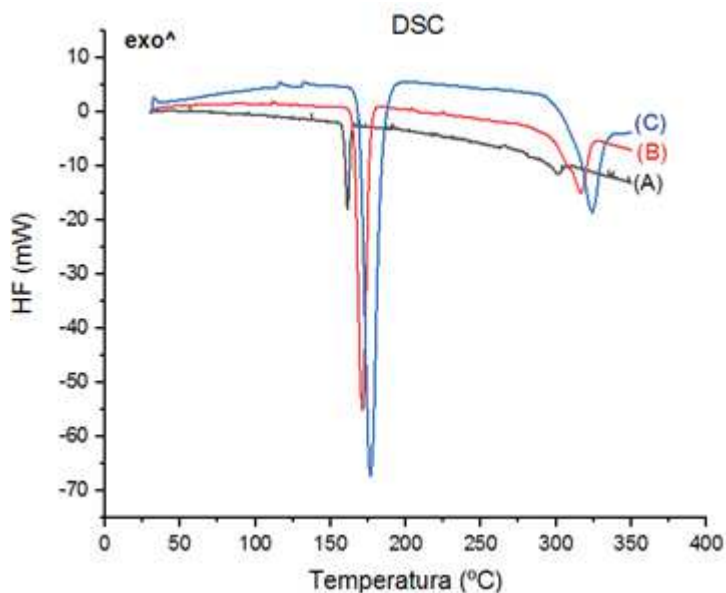
(I)



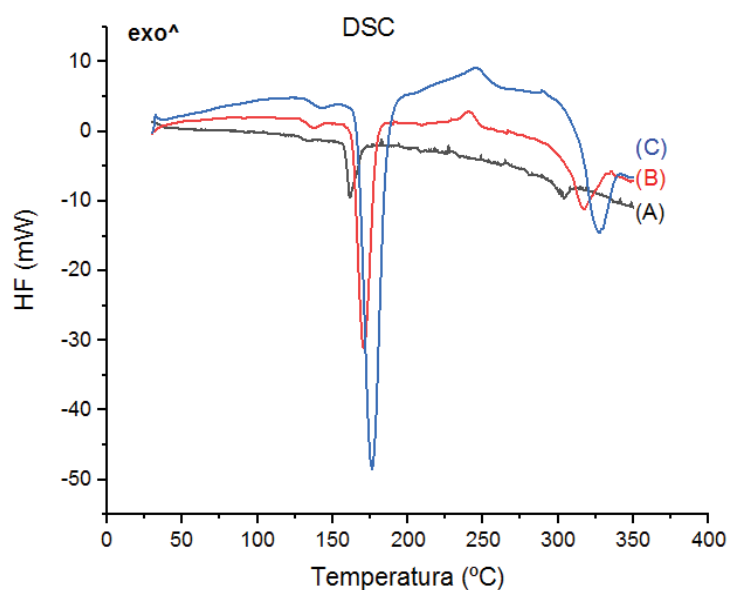
(II)

Fonte: Autoria própria.

Figura 36 – Termogramas de DSC para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se a taxa de aquecimento. (A) Taxa de 2°C/min, (B) Taxa de 10°C/min e (C) taxa de 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



(I)



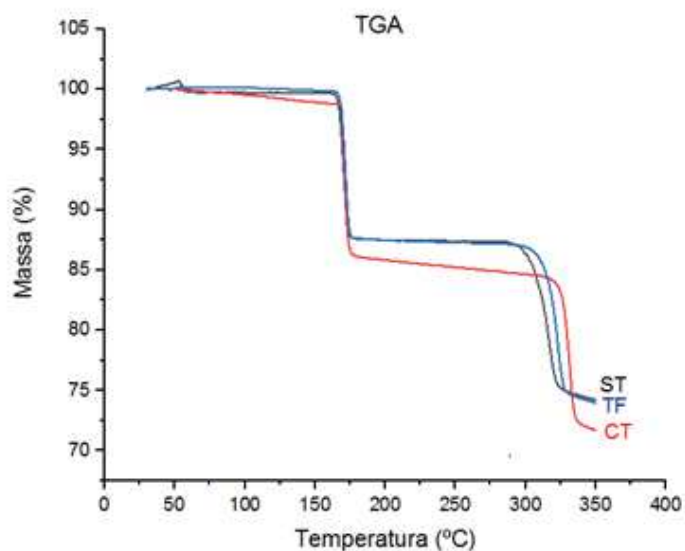
(II)

Fonte: Autoria própria.

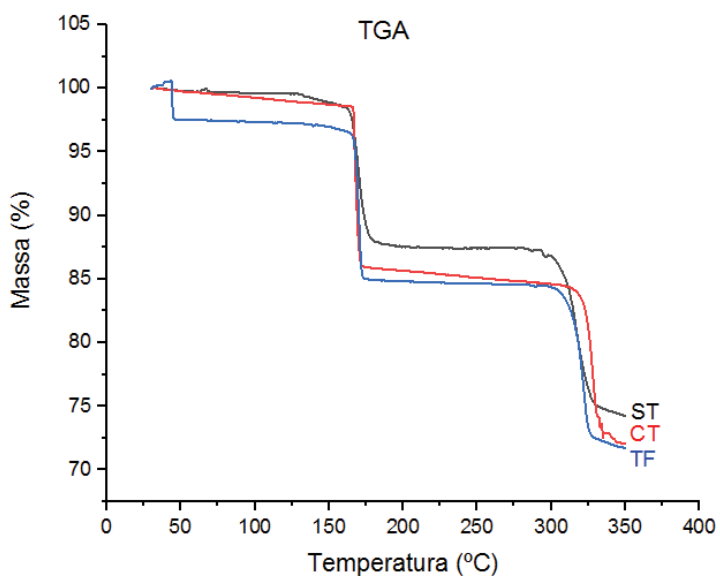
As Figura 37 e Figura 38 apresentam os termogramas das análises de TGA e DSC, respectivamente, obtidos para citrato de sódio sem macerar e macerado variando-se o tipo de cadinho utilizado. Observa-se que tanto para amostra sem macerar como para amostra macerada ocorre aumento da área do

pico de desidratação, conforme dados apresentados na Tabela 2. Na análise de TGA para amostra sem macerar, os resultados não foram influenciados pelo tipo de cadinho utilizado, enquanto que na amostra macerada, a porcentagem de perda de massa foi maior para a análise utilizando cadinho com tampa e tampa furada.

Figura 37 – Termogramas de TGA para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 10°C/min.



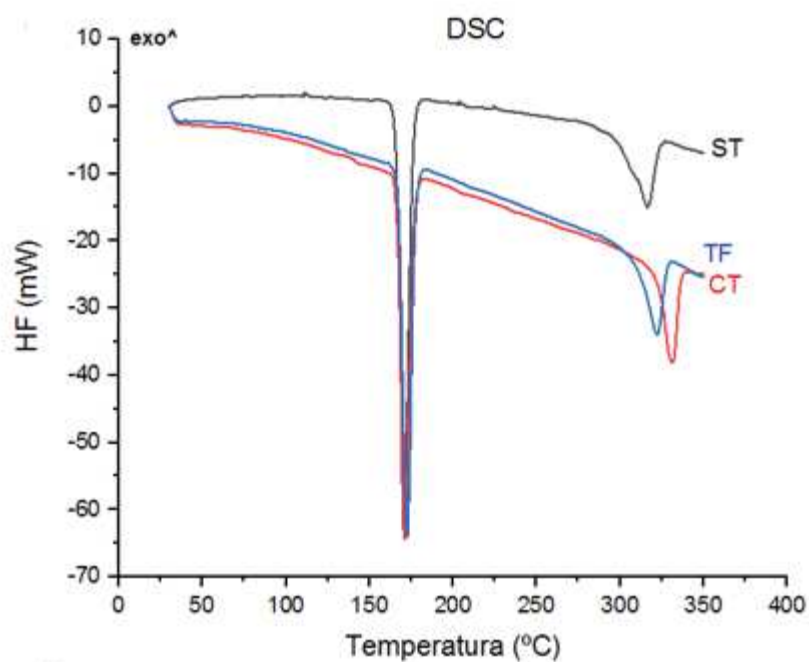
(I)



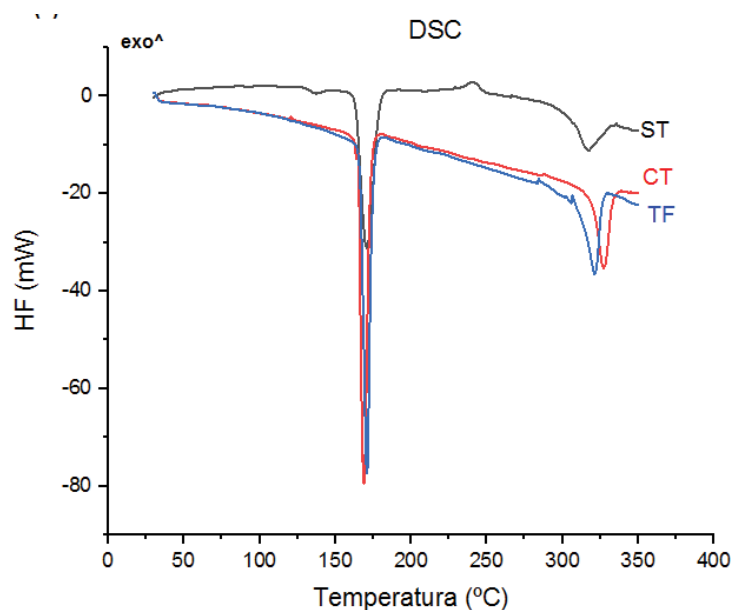
(II)

Fonte: Autoria própria.

Figura 38 – Termogramas de DSC para citrato de sódio dihidratado (I) sem macerar e (II) macerado variando-se o tipo de cadinho. Fluxo de $N_2 = 50 \text{ mL/min}$, taxa de aquecimento = 10°C/min .



(I)



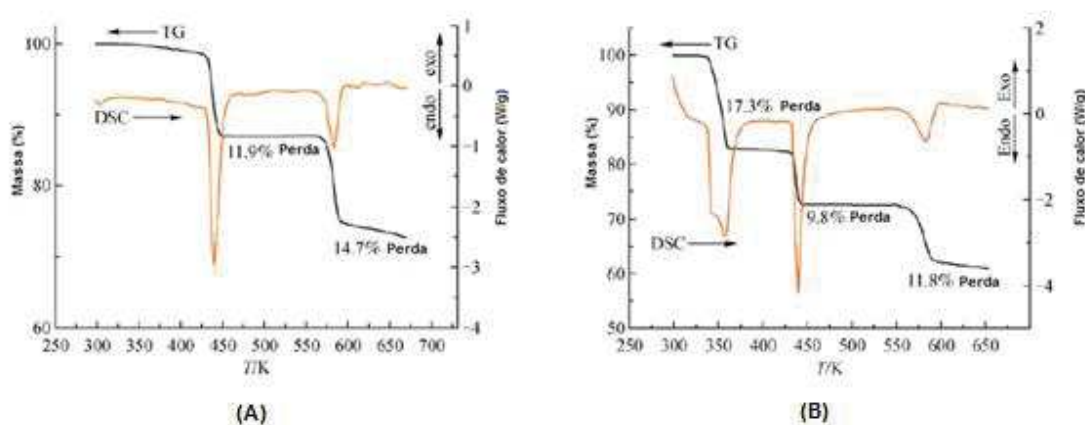
(II)

Fonte: Autoria própria.

Gao, Wang e Hao estudaram o processo de desidratação das duas formas hidratadas do citrato de sódio: dihidratada ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) e pentahidratada ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 5.5\text{H}_2\text{O}$) utilizando análise termogravimétrica (TGA), análise

diferencial exploratória (DSC) e difração de raio X²⁸. Nas análises térmicas (TGA e DSC) observaram apenas um pico endotérmico referente a desidratação em aproximadamente 430,99K (aproximadamente 158°C) para forma dihidratada e dois picos endotérmicos, 337,23K e 433,83K (aproximadamente 64°C e 161°C, respectivamente) para a forma pentahidratada (Figura 39). Os parâmetros utilizados para as análises foram: 10-15 mg de amostra em cadinho de alumina aberto, temperatura ambiente até 673K, com taxa de aquecimento de 10 K/min e fluxo de nitrogênio de 25 mL/min.²⁸

Figura 39 - Termogramas (TGA/DSC) da forma dihidratada (A) e pentahidratada (B) do citrato de sódio.

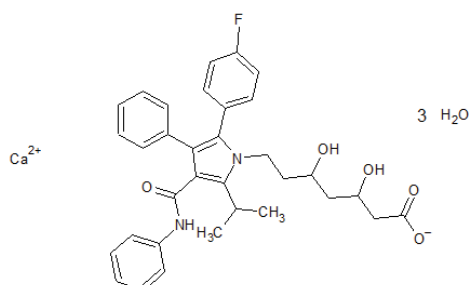


Fonte: Adaptado de Gao.²⁸

6.5 ATORVASTATINA CÁLCICA TRIHIDRATADA

A Figura 40 apresenta a estrutura química de atorvastatina cálcica trihidratada (ATC).

Figura 40 - Estrutura química de atorvastatina cálcica trihidratada.

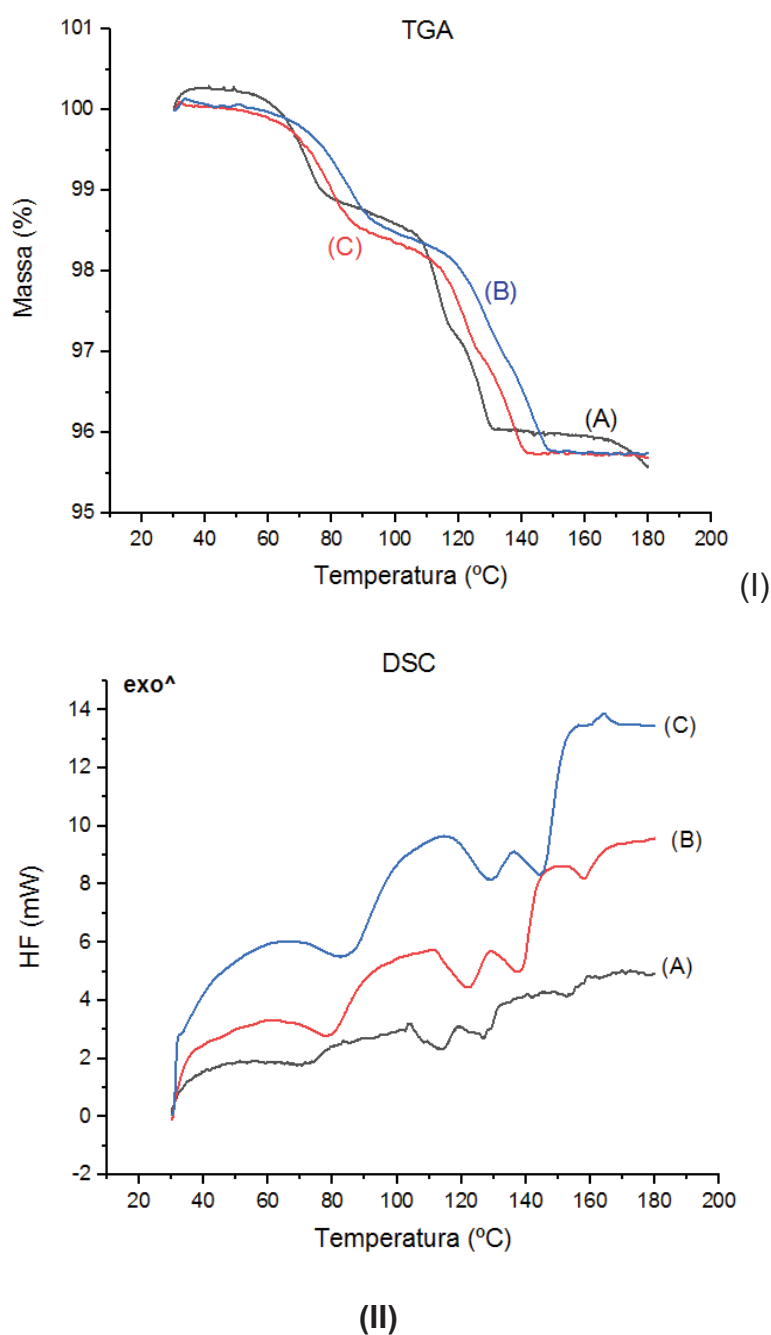


Fonte: Autoria própria.

A porcentagem de água encontrada pelas análises de TGA para ATC variaram de 4,21 – 4,87%, sendo condizente com o valor teórico de 4,47% que corresponde a três mols de água por mol de ativo.

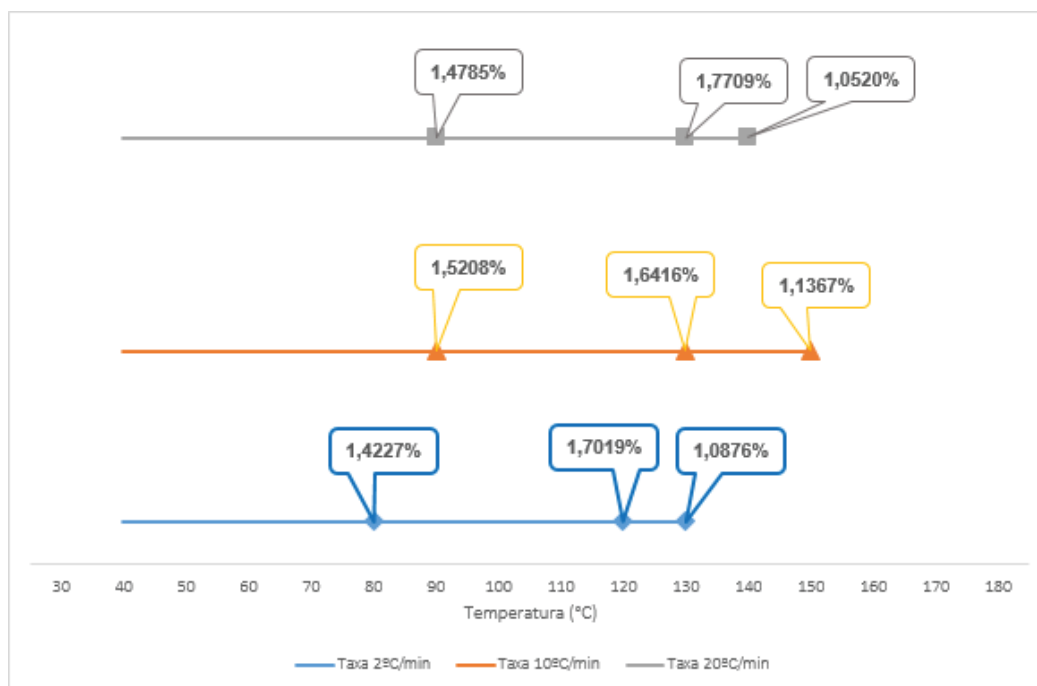
A Figura 41 apresenta os gráficos de TGA e DSC obtidos para ATC, variando-se a taxa de aquecimento.

Figura 41 – Termogramas das análises de TGA (I) e DSC (II) para atorvastatina cálcica variando a taxa de aquecimento. (A) taxa 2°C/min, (B) taxa 10°C/min e (C) taxa 20°C/min. Fluxo de N₂ = 50 mL/min, cadinho sem tampa.



Fonte: Autoria própria.

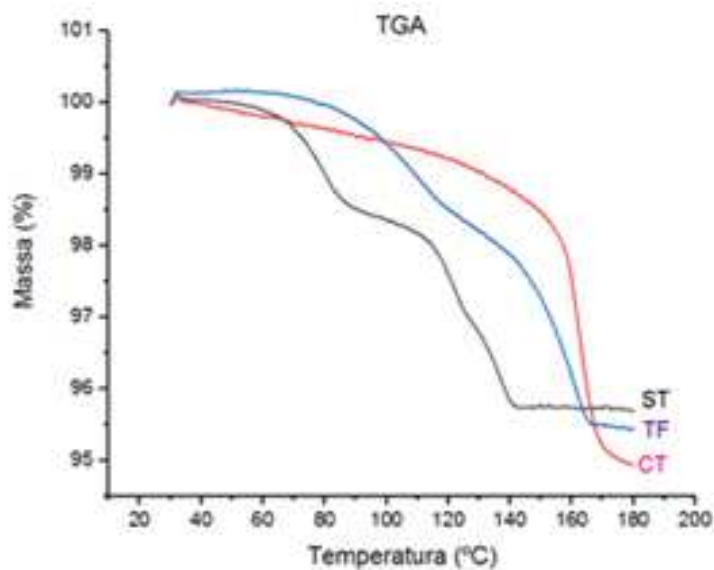
Figura 42 – Infográfico comparativo das perdas de massa variando-se a taxa de aquecimento.



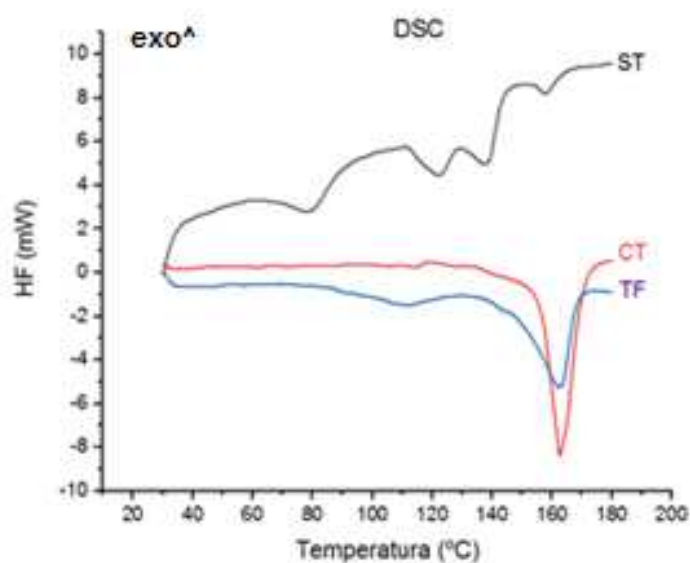
Fonte: Autoria própria.

O aumento da taxa de aquecimento deslocou os eventos térmicos para temperaturas maiores, conforme curvas de DSC visualizado na Figura 43. Pela análise de TGA é possível verificar os três estágios de perda de massa referentes a perda de água da ATC, sendo a primeira perda de massa variando entre 1,4227 – 1,5208%, a segunda perda de massa variou entre 1,6416 – 1,7709% e a terceira perda de 1,0520 - 1,1367%.

Figura 43 - Termogramas de TGA (I) e DSC (II) para atorvastatina cálcica utilizando cadinho sem tampa (ST), cadinho com tampa (CT) e cadinho com tampa furada (TF). Fluxo de N₂ = 50 mL/min, taxa de aquecimento = 2°C/min.



(I)



(II)

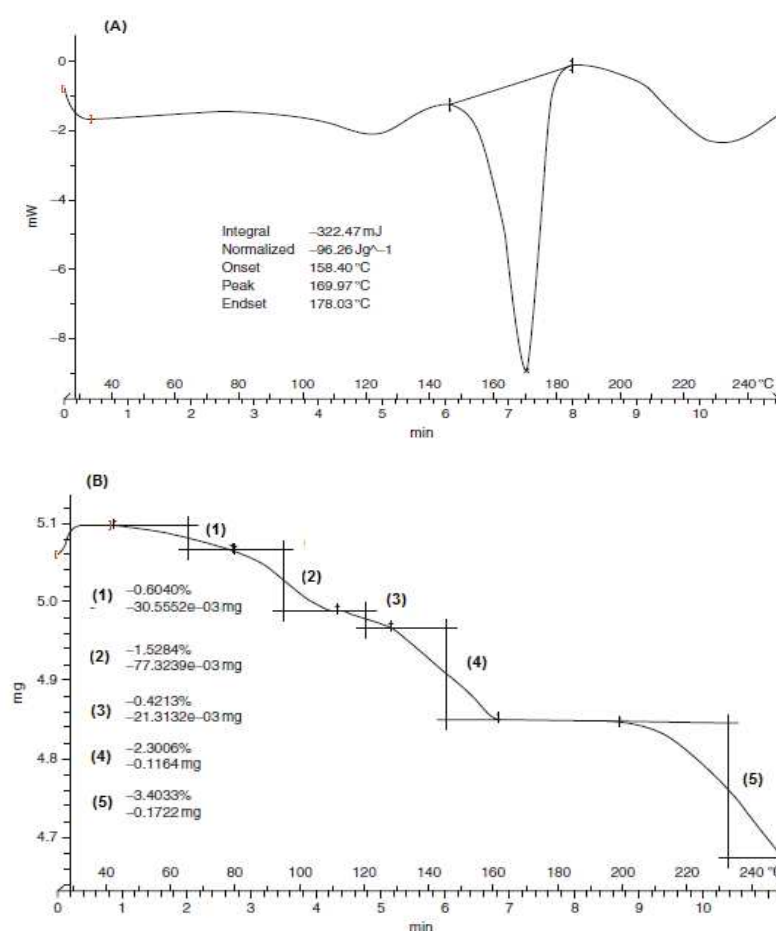
Fonte: Autoria própria.

Ao variar o tipo de cadinho utilizado na análise, observa-se que o cadinho sem tampa apresenta os três eventos referentes a perda de água, enquanto no cadinho com tampa furada e cadinho com tampa a saída da água ocorre em apenas duas etapas.

Na análise utilizando o cadinho sem tampa toda água é removida até 150°, enquanto que utilizando o cadinho com tampa, o evento ocorre apenas em 170°C, momento que ocorre a ruptura da tampa do cadinho.

Sonje et al realizaram a análise de DSC de atorvastatina cálcica trihidratada, Forma I, utilizando cadinho de alumínio, taxa de aquecimento de 20°C/min e fluxo de nitrogênio de 80 mL/min (Figura 44a), sendo o ponto de fusão de 158,40°C. Para análise de TGA foi utilizado cadinho de alumínio, taxa de aquecimento de 20°C/min e fluxo de nitrogênio de 10 mL/min (Figura 44b), sendo as perdas de massa de 40 – 160°C correspondendo a perda de água da atorvastatina. A correlação entre os eventos térmicos observados no DSC com as perdas de massa observadas no TGA é dificultada devido as diferenças dos parâmetros experimentais utilizados na análise de DSC se comparado com a análise de TGA.²⁹

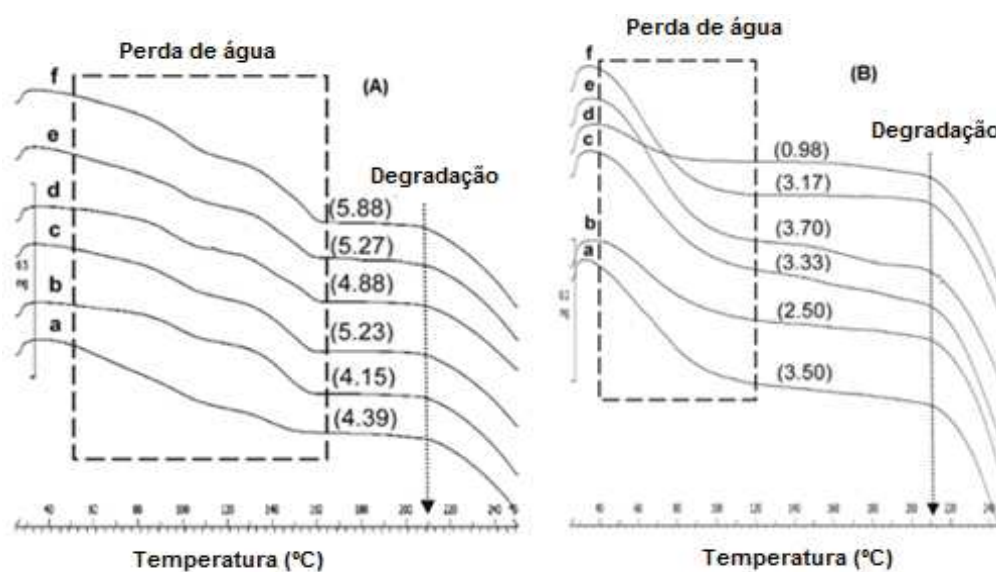
Figura 44 - Termograma de DSC (A) e TGA (B) da forma cristalina de ATC.



Fonte: Adaptado de Sonje.²⁹

Shete et al estudaram as características térmicas de seis formas cristalinas e forma amorfa de atorvastatina cálcica.³⁰ Para análise termogravimétrica foi utilizado cadinho de alumina com taxa de aquecimento de 20°C/min e fluxo de nitrogênio de 20 mL/min. A análise de DSC foi realizada utilizando-se cadinho de alumínio, taxa de aquecimento de 20°C/min em fluxo de nitrogênio de 40 mL/min.³⁰

Figura 45 – Análise de TGA para seis formas cristalinas de ATC (A) e seis formas amorfas (B).



Fonte: Adaptado de Shete.³⁰

Comparando-se as amostras cristalinas e amorfas de ATC (Figura 45), observamos que as amostras de ATC amorfas apresentam apenas uma etapa de perda de massa, na faixa de temperatura de 40 - 120°C, seguido por degradação a uma temperatura de cerca de 207°C, enquanto que as amostras de ATC cristalinas apresentam três etapas de perda de massa referentes a perda de água, na faixa de temperatura de 40 - 60°C, 70 - 120°C e 120 - 158°C.

Com base no levantamento bibliográfico e resultados obtidos para ATC, conclui-se que a análise utilizando cadinho sem tampa, independente da taxa de aquecimento utilizada, apresentou comportamento semelhante as referências utilizadas, sendo observado três etapas de perda de massa entre 40 à 140°C, correspondendo a perda de água.

7 CONCLUSÃO

O estudo enfatiza a importância da correta escolha dos parâmetros experimentais para as análises térmicas de insumos farmacêuticos ativos hidratados, principalmente nos compostos com grau de hidratação maior, onde pode ocorrer sobreposição dos eventos.

Em geral a utilização de taxas de aquecimento maiores levam a temperaturas maiores de desidratação. A utilização de tampa no cadinho funciona como uma barreira à saída de água, fazendo com que a água seja eliminada somente após a ruptura da tampa, ocorrendo em temperatura maiores que o obtido com as análises com cadinho sem tampa.

Dados da literatura mostram que não existe padronização nos parâmetros experimentais utilizados nas análises térmicas, o que ocasiona diferenças de resultados entre os autores. Os resultados das análises térmicas (TGA e DSC) devem ser utilizados como complementares na caracterização de fármacos, sendo necessário a realização de outras técnicas, como difração de raios X, para confirmação da estrutura cristalina do fármaco.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CIENFUEGOS, F., VAITSMAN, D. Análise Instrumental. Rio de Janeiro: Interciência, 2000.
2. HOLLER, F.J; SKOOG, D.A; CROUCH, S.R. Princípios de Análise Instrumental. 6ª edição. Porto Alegre: Bookman, 2009.
3. GIRON, D. Applications of thermal analysis in the pharmaceutical industry. **Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis**, Vol. 4, No. 6, 755 - 770, 1986.
4. OLIVEIRA, M.A., YOSHIDA, M.I., GOMES, E.C.L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, Vol. 34, No. 7, 1224-1230, 2011.
5. ARAUJO, G.L., PITALUGA JR,A., ANTONIO, S.G., SANTOS, C.O.P., MATOS, J.R., Polimorfismo na produção de medicamentos. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**. 33(1):27-36, 2012.
6. KOCIBA, K. J., GALLAGHER, P. K. A study of calcium oxalate monohydrate using dynamic Differential scanning calorimetry and other thermoanalytical techniques. **Thermochimica Acta**, 282/283, 277-296, 1996.
7. BERNAL, C., COUTO, A.B, BREVIGLIEIRI, S.T., CAVALHEIRO, E. T. G. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Química Nova**, Vol.25, No.5, 849-855, 2002.
8. WAGNER, M. Thermal Analysis in Practice. **Mettler Toledo Collected Applications Thermal Analysis**. Schwerzenbach, 2009.
9. METTLER TOLEDO. Disponível em: https://www.mt.com/dam/Analytical/ThermalAnalysis//TA-PDF/TGA_DSC3+_Bro_en_30247110_V05.15_Original_38479.pdf. Acessado em maio de 2019.
10. CESCHEL, G.C., BADIELLO.R., RONCHI, C., MAFFEI, P. Degradation of components in drug formulations: a comparison between HPLC and DSC

methods. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. 32, 1067-1072, 2003.

11. TITA, B., FULIAS, A., MARIAN, E., TITA, D. Thermal behavior of acetylsalicylic acid – active substance and tablets. Kinetic study under non-isothermal conditions. **Revista de Chimie (Bucharest)**, 60, Nr. 4, 2009.

12. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research; Guidance for industry: ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism: Chemistry, Manufacturing, and Controls Information, July, 2007, disponível em <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm072866.pdf>, acessada em setembro de 2018.

13. VYAZOVKIN, V., KOGA, N., SCHICK, C., Handbook of thermal analysis and calorimetry: Recent advances, techniques and applications. 2ª edição. Volume 6. Elsevier, 2018.

14. CRAIG, D.Q.M., READING, M. Thermal analysis of pharmaceuticals. New York, CRC Press, 2007.

15. METTLER TOLEDO. Thermal Analysis in Practice Tips and Hints.

16. Crucibles for thermal analysis. Disponível em: https://www.mt.com/br/pt/home/library/product-brochures/lab-analytical-instruments/crucible_brochure.html. Acessado em setembro de 2018.

17. PINA, M.F., PINTO, J.F., SOUSA, J.J, FABIAN, L., ZHAO, M., CRAIG, D.Q.M. Identification and Characterization of Stoichiometric and Nonstoichiometric Hydrate forms of paroxetine HCl: Reversible changes in crystal dimensions as a function of water absorption. **Molecular Pharmaceutics**, 9, 3515-3525, 2012.

18. KITAOKA, H., WADA, C., MOROI, R., HAKUSUI, H. Effect of dehydration on the formation of levofloxacin pseudopolymorphs. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, 43(4), 649-653, 1995.

19. GORMAN, E.M., SAMAS, B., MUNSON, E.J. Understanding the dehydration of levofloxacin hemihydrate. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. 101, 3319-3330, 2012.
20. GRUNENBERG, A., BOSCHÉ, P. Crystal modification of CDCH, a process for its preparation and pharmaceutical formulations comprising this modification, United States Patent US5849752, 1998.
21. REDDY, M.S., ESWARAIHAH, S., RAJU, V.V.N.K.V.P., KUMAR, R.R., SRINIVASREDDY, N., RAVINDRA, V. Crystalline form III of anhydrous moxifloxacin hydrochloride and a process for preparation thereof. US7230006B2, 2007.
22. REDDY, B.P., REDDY, K.R., REDDY, R.R., REDDY, D.M., REDDY, M.M., REDDY, D.B. Novel polymorph of moxifloxacin hydrochloride. US2011/0212990A1, 2011.
23. TURCHETTA, S., MASSARDO, P., AROMATARIO, V. Polymorphs of 1-Cyclopropyl-7-([S,S]-2,8-diazadicyclo[4.3.0]non-8-yl)-6-fluoro-1,4-dihydro-8-methoxy-4-oxo-quinoline carboxylic acid hydrochloride and methods for the preparation thereof. WO patents 2005/054240A1, 2005.
24. RAO, D.R., KANKAN, R.N., PATHI, S.L., PUPPALA, R., GANGRADE, M., KANATHALA, S. Process for the synthesis of moxifloxacin hydrochloride. WO patents 2008/059223A2, 2008.
25. SATYANARAYANA REDDY, M., NAGARAJU, C., THIRUMALAI RAJAN, S., KODANDA RAMPRASAD, A. Novel crystalline forms of moxifloxacin hydrochloride and process for preparation thereof. WO patents 2007/010555A3, 2007.
26. JÚLIO, Tamiris A., GARCIA, Jerusa S., BONFILIO, Rudy, ARAÚJO, Magali B., TREVISAN, M.G. Solid-stage stability and solubility determination of crystalline forms of moxifloxacin hydrochloride. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**. Vol. 7, Issue 12, 173-177, 2015.

27. ZUPANČIČ, V., OGRAJŠEK, N., KOTAR-JODAN, B., VREČER, F., Physical characterization of pantoprazole sodium hydrates. **International Journal of Pharmaceutics**, 291, 59-68, 2005.
28. GAO, J., WANG, Y., HAO, H. Investigations on dehydration processes of trisodium citrate hydrates. **Frontiers of Chemical Science and Engineering** 6(3): 276-281, 2012.
29. SONJE, V. M., KUMAR, L., MEENA, C.L., KOHLI, G., PURI, V., JAIN, R., BANSAL, A.K., BRITAIN, H.G. Atorvastatin Calcium. **Profiles of Drug Substances, Excipients, and Related Methodology**, Volume 35, 2010.
30. SHETE, G., PURI, V., KUMAR, L., BANSAL, A.K. Solid state characterization of commercial crystalline and amorphous atorvastatin calcium samples. **AAPS PharmSciTech**, Vol. 11, No. 2, 598-609, 2010.