



UFG

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

MURILO FERREIRA DE CARVALHO

Eletroanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de fármacos.

**Goiânia
2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
FACULDADE DE FARMÁCIA

TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação Tese

2. Nome completo do autor

Murilo Ferreira de Carvalho

3. Título do trabalho

Eletroanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de fármacos

4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento SIM NÃO¹

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa. Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

a) consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

b) novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.



Documento assinado eletronicamente por **Eric De Souza Gil, Professor do Magistério Superior**, em 02/09/2020, às 12:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MURILO FERREIRA DE CARVALHO, Discente**, em 03/09/2020, às 22:01, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1527106** e o código CRC **98EE19E3**.

MURILO FERREIRA DE CARVALHO

Eletroanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de fármacos.

Defesa da Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Goiás para obtenção do Título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientador(a): Prof. Dr. Eric de Souza Gil
Co-orientador(a): Dr^a. Luane Ferreira Garcia

**Goiânia
2020**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Carvalho, Murilo Ferreira de
Eletoanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de fármacos [manuscrito] / Murilo Ferreira de Carvalho. - 2020.
xi, 43 f.: il.

Orientador: Prof. Eric de Souza Gil; co-orientador Luane Ferreira Garcia.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Goiás, Faculdade Farmácia (FF), Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui abreviaturas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Voltametria. 2. Espectroscopia de Impedância Eletroquímica. 3. Bloqueador de receptores adrenérgicos. 4. Tecnologia farmacêutica. 5. Formulação. I. Gil, Eric de Souza, orient. II. Título.

CDU 615.1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS

FACULDADE DE FARMÁCIA

ATA DE DEFESA DE TESE

Ata Nº **29** da sessão de Defesa de Tese de **Murilo Ferreira de Carvalho** que confere o título de Doutor em **Ciências Farmacêuticas**, na área de concentração em **Fármacos e Medicamentos**.

Aos **trinta e um dias do mês de agosto de dois mil e vinte**, a partir das **14:00 horas**, na sala de webconferência - prédio do CIAR/UFG, realizou-se a sessão pública de Defesa de Tese intitulada “**Eletroanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de medicamentos: estudo de caso com o Carvedilol**”. Os trabalhos foram instalados pela Coorientadora, Doutora **Luane Ferreira Garcia (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professora Doutora **Karla Carneiro de Siqueira Leite (UNIP) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; Professora Doutora **Morgana Fernandes Alecrim (FacUnicamps) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; Professor Doutor **Thiago Levi Silva Oliveira (UNIP) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular externo; Professor Doutor **Ricardo Neves Marreto (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, membro titular interno. Durante a argüição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do **trabalho**. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Tese tendo sido o candidato **aprovado** pelos seus membros. Proclamados os resultados pela Doutora **Luane Ferreira Garcia (FF/UFG) - cuja participação ocorreu através de videoconferência**, Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, aos **trinta e um dias do mês de agosto de dois mil e vinte**.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Eletroanálise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de fármacos



Documento assinado eletronicamente por **Luane Ferreira Garcia, Usuário Externo**, em 31/08/2020, às 17:38, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Karla Carneiro de Siqueira Leite, Usuário Externo**, em 31/08/2020, às 22:48, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MORGANA FERNANDES ALECRIM, Usuário Externo**, em 01/09/2020, às 08:40, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **THIAGO LEVI SILVA OLIVEIRA, Usuário Externo**, em 01/09/2020, às 13:22, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Ricardo Neves Marreto, Diretor Substituto**, em 01/09/2020, às 16:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1516958** e o código CRC **2E780EE9**.

Referência: Processo nº 23070.035727/2020-31

SEI nº 1516958



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Coordenador do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Eric de Souza Gil

Vice-Coodenador do Programa de Pós-Graduação

Prof. Dr. Matheus Lavorenti Rocha

**Goiânia
2020**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

BANCA EXAMINADORA

Discente: Murilo Ferreira de Carvalho
Orientador: Prof. Dr. Eric de Souza Gil
Co-Orientadora: Dr^a. Luane Ferreira Garcia

Dr^a. Luane Ferreira Garcia / Presidente
Doutora pela Universidade Federal de Goiás/UFG.

Prof^a. Dr^a. Karla Carneiro de Siqueira Leite / Membro Titular
Professora do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista, ICS/UNIP.

Prof^a. Dr^a. Morgana Fernandes Alecrim / Membro Titular
Professora do Curso de Farmácia da Faculdade Unida de Campinas, CF/FacUnicamps.

Prof. Dr. Ricardo Neves Marreto / Membro Titular
Professor Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, FF/UFG.

Prof. Dr. Thiago Levi Silva Oliveira / Membro Titular
Professor do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Paulista, ICS/UNIP.

Dr. Jerônimo Raimundo de Oliveira Neto / Membro Suplente
Doutor pela Universidade Federal de Goiás, FF/UFG.

Prof^a. Dr^a. Stephânia Fleury Taveira / Membro Suplente
Professora Titular da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás, FF/UFG.

Data: 31/08/2020

Dedico esse trabalho a todos aqueles que, como eu, tem a consciência de nada saber, e nem por isso perdem a alegria em buscar, e o encanto ao encontrar novos conhecimentos...

A Deus, pelo dom da vida e do discernimento.

Aos meus pais, Sr. Luiz Teodoro e Dona Regina, e aos meus irmãos, Sandra, Anselmo e Luciana (in memoriam), que através do amor me ensinaram e através do exemplo me encorajaram, a buscar novos conhecimentos. Sem a contribuição de vocês, eu não teria chegado até aqui.

Aos meus familiares: Núbria, minha rainha e companheira de jornada, e aos nossos anjos, Matheus e Gabriel, que souberam suportar e também incentivar em todos os momentos, com amor, compreensão e carinho.

Ao “topíssimo” professor Eric de Souza Gil, não apenas pela orientação, mas principalmente pela paciência, compreensão e pela amizade conquistada nesse tempo.

À minha co-orientadora “topíssima”, Dra Luane Ferreira Garcia, que incontáveis vezes me corrigiu e nunca desistiu, de prestar valiosos conhecimentos nessa longa jornada.

Aos professores integrantes da banca examinadora pelas valiosas considerações feitas no trabalho.

À nossa querida “mamãe” Karla Carneiro de Siqueira Leite, que me indicou ao professor Eric, e nunca deixou de acreditar na realização desse trabalho.

Aos “brothers” Isaac Yves Lopes de Macêdo, Douglas Vieira Thomaz e Fábio Bahls Machado, que me ensinaram até nos momentos de descontração!! Pessoal aplicado!!

E aos demais irmãos e amigos do LAFAM, o “cowboy” Mayk, o “sheik” MiguÉdson, o “sereno” Dr Carlos Peixoto, às queridas irmãs Bruna, Emily e Morganita, e também ao irmão Marcos “Cebolitos”. Saibam que foi uma honra conhece-los, e que todos vocês foram fundamentais nesse trabalho, pois cada um contribuiu à sua maneira para meu engrandecimento. Vocês todos são simplesmente “Lafamtásticos”!!!!

À nossa querida Fernanda Bellato, por sua especial dedicação e atenção a todos os alunos.

A todos os professores e servidores da Universidade Federal de Goiás.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas (PPGCF);

À Universidade Federal de Goiás.

A minha gratidão a todos será eterna, assim como os laços de amizade que criamos ao longo desse período...

SUMÁRIO

ÍTEM	ASSUNTO	PÁGINA
1	Introdução	1
1.1	Tecnologia Farmacêutica	1
1.1.1	Estudos De Compatibilidade E Estabilidade	1
1.2	Metodos Eletroanalíticos	3
1.2.1	Métodos Voltamétricos	4
1.3	Espectroscopia De Impedância Eletroquímica	7
1.4	Fármaco Estudado : Carvedilol	10
1.5	Sistemas De Liberação De Base Lipídica	12
1.5.1	Excipientes Lipídicos	13
1.6	Métodos De Doseamento/Quantificação Do Carvedilol	15
2	Objetivos	17
2.1	Objetivo Geral	17
2.2	Objetivos Específicos	17
3	Método(S)	18
3.1	Reagentes E Padrões	18
3.2	Ensaio Eletroquímico De Estabilidade E Compatibilidade	18
3.2.1	Ensaio Voltamétrico	18
3.2.2	Caracterização Na Espectroscopia De Impedância Eletroquímica	19
3.3	Avaliação Eletroquímica Da Estabilidade Oxidativa De Compostos Lipofílicos	19
3.3.1	Avaliação Eletroquímica Da Compatibilidade Redox	20
4	Publicação	21
5	Referências	34

TABELAS, FIGURAS E QUADROS

ASSUNTO	PÁGINA
Figura 1: Esquema de um sistema eletroquímico contendo três eletrodos, o de trabalho, de referência e auxiliar, acoplado a galvanostato/potenciostato controlado por computador.	5
Figura 2: Representação gráfica da voltametria cíclica. (A) Aplicação do potencial pelo tempo e (B) Voltamograma da corrente (<i>I</i>) em função do potencial (<i>E</i>).	6
Figura 3: Representação gráfica da voltametria de pulso diferencial. (A) Aplicação do potencial pelo tempo e (B) Voltamograma da corrente (<i>I</i>) em função do potencial (<i>E</i>)	7
Figura 4: Representação esquemática da interface eletrodo/solução, contendo a dupla camada elétrica dividida em dois planos, plano interno (IHP) e plano externo de Helmholtz (OHP).	8
Figura 5: Representação gráfica de uma plotagem de Nyquist, evidenciando os pontos da plotagem condicionados por controle cinético (<i>kinetic control</i>) e fenômenos de transporte de massas (<i>mass transfer control</i>).	9
Figura 6: Representação gráfica do circuito equivalente de Randles para um sistema eletroquímico.	10
Figura 7: Estrutura química do Carvedilol evidenciando o centro quiral (*) (OHNO <i>et al.</i> , 2004) e as porções moleculares com suas respectivas atividades (DANDONA; GHANIM; BROOKS, 2007).	11
Quadro 1 - Tipos de formulações orais lipídicas, suas vantagens e limitações.	12
Tabela 1 – Composição dos excipientes oleosos utilizados neste trabalho	14
Tabela 2 - Composição de excipientes glicerídicos utilizados neste trabalho.	15
Tabela 3 - Composição das pastas de carbono para estudos de estabilidade.	19

SÍMBOLOS, SIGLAS E ABREVIATURAS

Símbolo, sigla ou abreviatura	Significado
-------------------------------	-------------

C _{máx}	Concentração máxima
CPE	Capacitor
CPEs	<i>carbon paste electrodes</i>
CRV	Carvedilol
CV	<i>Cyclic Voltammetry</i>
DCV	Doenças Cardiovasculares
DDB	Diamante Dopado com Boro
DPV	<i>Differential Pulse Voltammetry</i>
<i>E</i>	Potencial
<i>E</i> _{pa}	Potencial máximo de pico anódico
<i>E</i> _{pc}	Potencial máximo de pico catódico
EIE	Espectroscopia de Impedância Eletroquímica
GRAS	<i>Generally regarded as safe</i>
<i>I</i>	Corrente elétrica
<i>I</i> _{pa}	Corrente máxima de pico anódico
<i>I</i> _{pc}	Corrente máxima de pico catódico
IFA	Ingrediente Farmacêutico Ativo
IHP	Inner <i>Helmholtz</i> plane
OHP	Outer <i>Helmholtz</i> plane
R _{ct}	resistência ao transporte de cargas
R _s	resistência da solução
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
SEDDS	<i>Self-emulsifying drug delivery system</i>
UV	Ultra-Violeta
W	Warburg

Eletrólise aplicada a ensaios de compatibilidade e estabilidade de medicamentos.

Carvalho, M. F. de¹; Gil, E. de S. ¹

¹Laboratório de Análise Farmacêutica e Ambiental - LAFAm, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás.

Introdução: A indústria farmacêutica enfrenta um grande desafio no sentido de melhorar a solubilidade de alguns insumos ativos. O Carvedilol (CRV) é um dos fármacos de escolha para o tratamento das doenças cardiovasculares, que apresenta baixa solubilidade em água e baixa biodisponibilidade, motivando a realização de pesquisas para melhorar a biodisponibilidade por via oral, sendo os sistemas auto-emulsificantes uma alternativa promissora. **Objetivo:** O objetivo deste trabalho foi avaliar as interações entre o CRV e os excipientes, detectando o potencial oxidante dessas substâncias e fornecendo dados preditivos da estabilidade do sistema e biodisponibilidade do fármaco. **Metodologia:** No preparo das pastas foram utilizados 70 mg (grafite) e 30 mg (óleo). Os excipientes, ácido oleico, canola, capmul, cártamo, gergelim e plurool isostearique, foram utilizados no preparo das pastas, na proporção de 30:0, 20:10, 15:15, 10:20 e 0:30 de excipiente líquido (amostra): óleo mineral (mg:mg) ou 1,5:68,5, 3:67 e 7:63 de excipiente sólido (amostra): grafite (mg:mg). O CRV foi incorporado na porção oleosa para solubilização e após o preparo da pasta de carbono foi utilizado nas análises em estado sólido. As técnicas utilizadas no estudo foram voltametria cíclica, de pulso diferencial e espectroscopia de impedância eletroquímica. **Resultados e discussões:** O Plurool[®] isostearique foi eletroativo na faixa de potencial estudada, porém, esse óleo se oxida em potenciais diferentes do CRV, não inviabilizando a análise. Os resultados mostraram que o Plurool[®] isostearique, excipiente líquido, e ácido esteárico, excipiente sólido, apresentaram as maiores variações de potencial de pico anódico e foram considerados os melhores excipientes para a formulação de CRV. O fármaco analisado apresentou maior estabilidade à temperatura ambiente e a 50 °C quando misturada com ácido esteárico a 7%. **Conclusões:** Nos ensaios realizados não se observou evidências de incompatibilidade, relativa ao aumento da vulnerabilidade à oxidação, quando na presença de todos estes excipientes. Estudos em longo prazo são uma possibilidade real para avaliar o emprego da eletrólise em estudos de compatibilidade do CRV no desenvolvimento de formulações.

Palavras-Chave: Voltametria; Espectroscopia de Impedância Eletroquímica; Bloqueador de Receptores Adrenérgicos; Tecnologia Farmacêutica; Formulação; Excipientes.

Agradecimentos: LAFAm, CNPq e FAPEG.

ELECTROANALYSIS APPLIED TO COMPATIBILITY AND STABILITY ASSAYS OF MEDICINES.**Carvalho, M. F. de¹; Gil, E. de S.¹**¹Laboratório de Análise Farmacêutica e Ambiental, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Goiás.

Introduction: The pharmaceutical industry faces a major challenge to improve the solubility of some active ingredients. Carvedilol (CRV) is the drug of therapeutic choice in cardiovascular diseases. CRV presents low water solubility and low bioavailability. Several researches were performed in order to increase the oral bioavailability, where self-emulsifying appeared as viable alternatives. **Objective:** The objective of this work was to evaluate interactions between CRV and its excipients, detecting the oxidative potential of these substances, thus, providing predictive data for the oxidation that may affect the stability and bioavailability of the drug system. **Methodology:** In the carbon pastes preparation were used 70 mg (graphite) and 30 mg (oil). Six excipients, oleic acid, canola, capmul, safflower, sesame and Plurol isoestearique. The following proportions were used in the making of the paste: 30:0, 20:10, 15:15, 10:20 and 0:30 of liquid excipient (sample): mineral oil (mg:mg) and 1.5:68.5, 3:67 and 7:63 of solid excipient (sample): graphite (mg:mg). CRV was incorporated in the oil moiety for solubilization and after used in solid-state analysis in the carbon paste. The techniques used were cyclic voltammetry, differential pulse voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy. **Results and Discussions:** The Isoestearique Plurol[®] was found to be electro-active in the studied potential, however, this oil oxidizes in different potentials from CRV. The results show that Isoestearique Plurol[®], liquid excipient, isoestearique acid and the solid excipient presented the greatest variations of anodic potential and were considered the best excipients for the CRV formulation. CRV presented higher stability at room temperature (25 °C), whereas, it presented higher stability at 50 °C when mixed with 7% estearique acid. **Conclusions:** Evidences of incompatibility were not found, relative to the increase of oxidation vulnerability, when in the presence of these excipients. The employment of electroanalysis for CRV compatibility studies show promising viability.

Keywords: Voltammetry; Electrochemical Impedance Spectroscopy; Adrenergic Receptor Blocker; Pharmaceutical Technology; Formulation; Excipients.

Acknowledgements: Lafam, CNPq e FAPEG.

1.1 TECNOLOGIA FARMACÊUTICA

Os avanços da tecnologia associada à veiculação e liberação de fármacos, a partir de formas farmacêuticas teve um incremento significativo nas últimas décadas. Ressaltam-se, os intentos voltados a maximizar as vantagens inerentes às formas farmacêuticas cujos fármacos apresentem baixa solubilidade em água, como por exemplo, os fármacos da classe II de acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB).

Para o estudo de pré-formulação e desenvolvimento de novas formas farmacêuticas, é necessário a caracterização de um fármaco, e a compreensão das interações físico-químicas do ingrediente farmacêutico ativo (IFA), com seus excipientes, visando uma maior eficácia, segurança e estabilidade de um medicamento. Isso porque, na forma farmacêutica, um IFA entra em contato direto com outros componentes (excipientes) da formulação que facilitam a administração e liberação deste componente ativo, bem como protegê-lo do ambiente (PATEL, *et al.*, 2015). Embora os excipientes sejam farmacologicamente inertes, eles podem interagir com o fármaco e afetar a estabilidade do medicamento causando a degradação do mesmo. Por essa razão, nos estudos de tecnologia farmacêutica, é fundamental o estudo e seleção cuidadosa dos excipientes, para que se obtenha uma formulação eficaz e que facilitem a administração, melhorando a adesão do paciente, a biodisponibilidade do fármaco e também, aumentando sua vida útil (CHADHA e BHANDARI, 2014).

1.1.1 Estudos de Compatibilidade e Estabilidade

A estabilidade de formulações farmacêuticas depende de vários fatores extrínsecos e intrínsecos. Dentre os fatores extrínsecos, destacam-se a temperatura, a umidade e oxigênio. Por sua vez, os fatores intrínsecos são inerentes a maior ou menor reatividade química do fármaco e excipientes, bem como compatibilidade dos compostos que a compõem. Essa compatibilidade é avaliada por meio de ensaios que visam avaliar parâmetros de natureza físico-química e biológica de maneira a assegurar a integridade da formulação. Nesse ponto, pode-se inferir que as propriedades químicas intrínsecas dos fármacos e excipientes utilizados na farmacotécnica e tecnologia farmacêutica influem profundamente no sucesso ou fracasso de uma formulação (DA SILVEIRA, *et al.*, 2018; PIRES, *et al.*, 2017).

Diversas abordagens têm sido usadas para avaliar a compatibilidade de fármacos com suas formulações, dentre as mais consagradas destacam-se a calorimetria exploratória diferencial e a espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (CHADHA e BHANDARI, 2014; NARANG; MANTRI; RAGHAVAN, 2017). A primeira se baseia nos princípios da termodinâmica, sendo possível avaliar a alteração da ultraestrutura dos componentes da formulação. Assim, a calorimetria exploratória diferencial permite a investigação de polimorfismos que poderiam comprometer a estabilidade do produto farmacêutico (CHADHA e BHANDARI, 2014). A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier também permite a obtenção de dados acerca dos polimorfos, no entanto esta aquisição dá-se a partir da análise de absorção de um feixe multicromático, cujo comprimento de onda se configura no espectro infravermelho (CHADHA e BHANDARI, 2014). Embora ambas técnicas, assim como análises termogravimétricas sejam muito utilizadas para fins de estudos de compatibilidade farmacêutica, deve-se ressaltar que todas são caras e de difícil operação/interpretação dos resultados (ROJEK e WESOLOWSKI, 2019; MEIRA *et al.*, 2018). Não obstante, técnicas como a termogravimetria são destrutivas em essência, levando à perda do material analisado (ROJEK e WESOLOWSKI, 2019).

Visto que a compatibilidade influi na estabilidade de formulações, e ambas são por conseguinte definidas por parâmetros físico-químicos, pode-se inferir portanto que técnicas capazes de avaliar o comportamento termodinâmico e cinético de excipientes e fármacos (isolados e em uma formulação) podem promover uma melhor compreensão sobre a estabilidade dos produtos farmacêuticos como também fomentarem um melhor conhecimento sobre os processos que ocorrem no preparo das formulações. Se as análises térmicas são ferramentas valiosas e consolidadas, para avaliar a estabilidade de um fármaco frente a temperatura, bem como a combinação deste fator a interações com excipientes e umidade, os métodos eletroanalíticos se destacam nos estudos dos processos oxidativos (MEIRA *et al.*, 2018; TALAVAT e GÜNER, 2018).

As aplicações da eletroquímica no âmbito farmacêutico se resumem a caracterização redox e ensaios quantitativos, sendo uma ciência de vasto potencial no respaldo de eventos físico-químicos relevantes a tecnologia farmacêutica (RADA *et al.*, 2016; APPLEBY, 1995; ZHANG, *et al.* 2019). Dentre as metodologias aplicadas aos estudos de compatibilidade, podemos citar os métodos eletroanalíticos, cuja propriedade de avaliar a termodinâmica de processos redox assim como suas variações cinéticas, permitem a obtenção de informações de interesse em estudos de estabilidade e

compatibilidade (SCHILLER, 2018; IPTE; SAHOO; SATPATI, 2019; BUSSY *et al.*, 2015).

Embora a literatura não apresente exemplos quanto ao uso de técnicas eletroanalíticas no contexto de estudos de compatibilidade, alguns estudos evidenciam a relação entre os parâmetros analíticos empregados em técnicas como voltametrias e espectroscopia de impedância eletroquímica, com a compatibilidade entre os elementos de uma formulação farmacêutica (MEIRA *et al.*, 2018; TALAVAT e GÜNER, 2018).

1.2 METODOS ELETROANALÍTICOS

Os métodos eletroanalíticos utilizam parâmetros elétricos mensuráveis, como corrente elétrica, potencial e condutividade. Estes métodos dependem dos fenômenos químicos e físicos das espécies analisadas, que são eletroativas, ou seja, capazes de sofrer oxidação e/ou redução, seguindo a Lei de Faraday (cada mol de espécies eletroativa monovalente, transfere em um processo redox um mol de elétrons) (PACHECO; SEMAAN; ALMEIDA, 2013; LEITE, 2015).

É válido ressaltar o papel fundamental dos métodos eletroanalíticos, pois apresentam grande potencial para caracterização dos parâmetros físico-químicos capazes de mostrar não apenas o potencial redox, como também o número de elétrons envolvidos na etapa de transferência de carga (n), o mecanismo dessa transferência de carga e a influência de prótons (WOLFF *et al.*, 2019).

As técnicas eletroanalíticas se dividem em dois métodos: interfaciais (estáticos e dinâmicos) e não interfaciais (condutometria). Os métodos interfaciais podem ser estáticos como a potenciometria (em que a corrente elétrica não é obtida da reação forçada por um sobrepotencial) e dinâmicos, dentre os quais se destacam a amperometria e voltametria (PACHECO; SEMAAN; ALMEIDA, 2013).

Diversas destas técnicas eletroanalíticas têm sido usadas para aplicação nos mais variados campos da ciência, em destaque para as técnicas voltamétricas, como no monitoramento ambiental (ANTUNES *et al.*, 2018), na análise de alimentos (MACÊDO *et al.* 2017), na análise de material vegetal (LEITE *et al.*, 2018; THOMAZ *et al.*, 2018), na análise de fármacos (MACÊDO *et al.* 2018; GARCIA *et al.*, 2018), dentre outros.

Estas técnicas são predominantemente, executadas em meio estático contendo soluções aquosas de eletrólitos inertes, como KCl ou sistemas tampões. Podendo ainda serem realizadas em condições hidrodinâmicas, bem como em solventes orgânicos,

emulsões ou em estado sólido.

1.2.1 Métodos Voltamétricos

A voltametria, uma técnica dinâmica, é definida como a medida da corrente elétrica (I) obtida de processos faradaicos, gerada em função de um potencial (E) aplicado em uma célula eletroquímica, assim a função pode ser representada por: $I = f(E)$. O resultado obtido é expresso em um voltamograma. Os fenômenos de transferência de carga ocorrem na interface de um eletrodo, denominado de eletrodo de trabalho, e a solução, contendo eletrólito suporte (PACHECO; SEMAAN; ALMEIDA, 2013; MACÊDO, 2017).

Os componentes para a realização das técnicas voltamétricas são um galvanostato/potenciostato, uma célula eletroquímica, uma solução eletrolítica e dois ou três eletrodos (Figura 1) O sistema mais utilizado é o que contém três eletrodos, eletrodo de trabalho, auxiliar e de referência (LEITE, 2015).

Em relação aos eletrodos utilizados nas análises, o eletrodo de referência, como o nome sugere, é utilizado para dar uma medida de potencial de referência para os demais, como exemplo, tem-se o Ag/AgCl/ KCl_{sat} , calomelano saturado, dentre outros. O eletrodo auxiliar, retira o excesso de íons gerados na passagem da corrente, como exemplo, pode ser citado o fio de Platina. E o eletrodo de trabalho, onde ocorrem as reações de oxidação-redução do analito na superfície eletroativa, como exemplo, tem-se os materiais de carbono, Diamante Dopado com Boro (DDB), carbono vítreo, pasta de carbono, dentre outros (BRETT e BRETT, 1996; MACÊDO, 2017).

Dentre as técnicas voltamétricas, as mais utilizadas são as voltametrias cíclicas, de pulso diferencial e de onda quadrada.

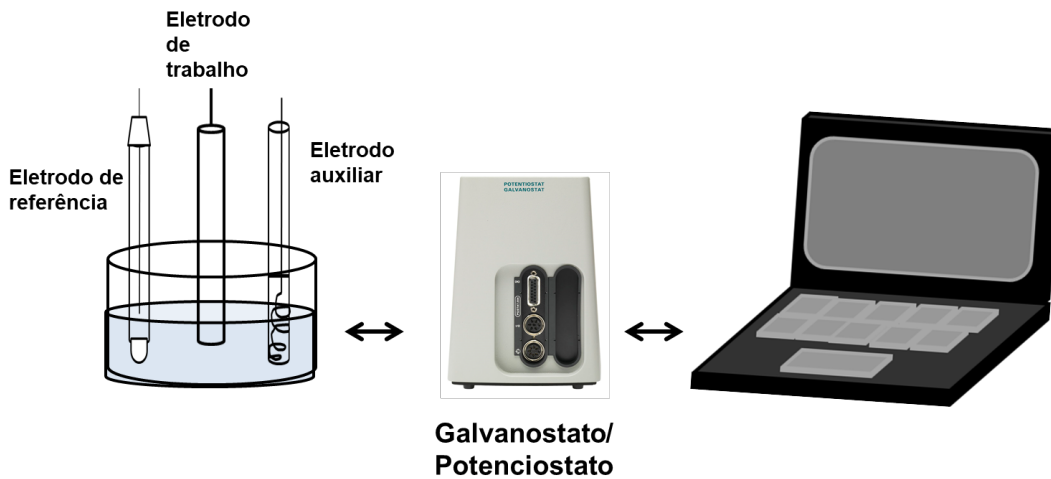


Figura 1: Esquema de um sistema eletroquímico contendo três eletrodos, o de trabalho, de referência e auxiliar, acoplado a galvanostato/potenciostato controlado por computador.
 Fonte: próprio autor.

1.2.1.1 Voltametria Cíclica

A técnica de voltametria cíclica (*Cyclic Voltammetry, CV*) fornece principalmente informações qualitativas, são elas: o estudo de reversibilidade de compostos, devido ao potencial redox dos analitos; o mecanismo de transferência de elétrons; e a observação da ocorrência de adsorção ou difusão de substâncias na superfície do eletrodo de trabalho, em processos de transferência de massa (BRETT e BRETT, 1996; LEITE, 2015; OLIVEIRA NETO, 2017).

Basicamente, a CV é composta por uma varredura de potencial linear em função do tempo (Figura 2 A). O resultado desta varredura gera um voltamograma, com os resultados de picos na oxidação, com um potencial máximo de pico anódico (E_{pa}) e uma corrente máxima de pico anódico (I_{pa}), e/ou redução, com um potencial máximo de pico catódico (E_{pc}) e uma corrente máxima de pico catódico (I_{pc}) (Figura 2 B) (BRETT e BRETT, 1996; LEITE, 2015; BENJAMIN, 2016).

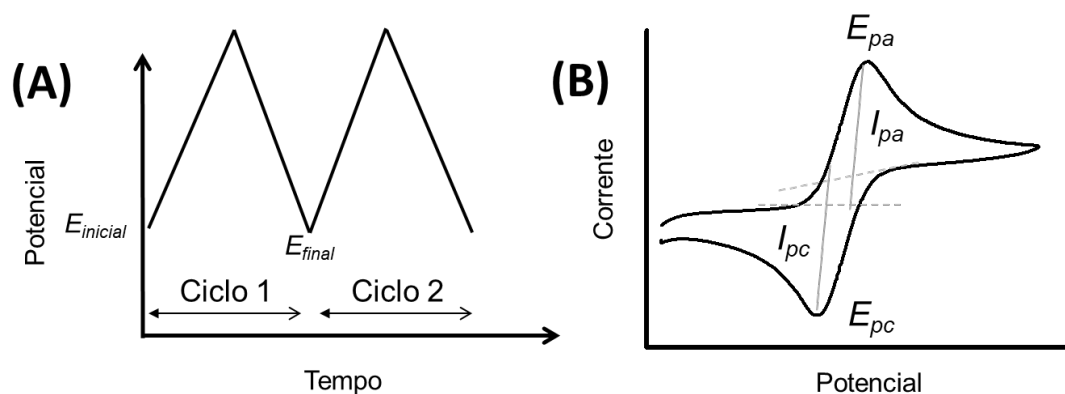


Figura 2: Representação gráfica da voltametria cíclica. (A) Aplicação do potencial pelo tempo e (B) Voltamograma da corrente (I) em função do potencial (E).
 Fonte: Pacheco; Semaan; Almeida (2013), com modificações.

1.2.1.2 Voltametria de Pulso Diferencial

A técnica de voltametria de pulso diferencial (*Differential Pulse Voltammetry*, DPV), similar à voltametria cíclica, diferencia-se pelo sentido da varredura, realizada em um único sentido, e por ser a variação de potencial realizada por pulsos crescentes (BRETT e BRETT, 1996).

A DPV destaca-se por apresentar maior sensibilidade, quando comparada a CV, já que combina a aplicação de pequenos pulsos de potencial sucessivos em intervalos de tempo periódicos, em uma escada de potencial, com a corrente medida antes da aplicação do pulso [$I(1)$] e no final do pulso [$I(2)$], assim o voltamograma é o resultado da diferença destas duas correntes (Figura 3) (PACHECO; SEMAAN; ALMEIDA, 2013; BENJAMIN, 2016). Este processo permite a redução da influência da corrente capacitiva, necessária para carregar a dupla camada na superfície do eletrodo de trabalho, que pode ser considerada ruído ou interferente, quando o objetivo é determinar a corrente faradaica proveniente do analito oxidado ou reduzido (MACÊDO, 2017).

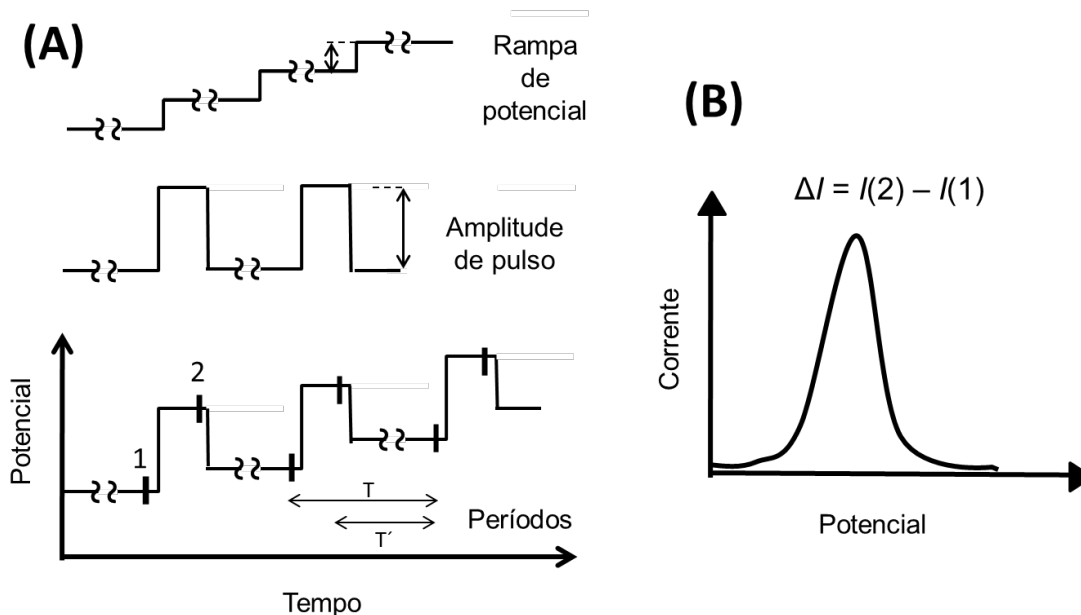


Figura 3: Representação gráfica da voltametria de pulso diferencial. (A) Aplicação do potencial pelo tempo e (B) Voltamograma da corrente (I) em função do potencial (E)
 Fonte: Pacheco; Semaan; Almeida (2013), com modificações.

Além dos ensaios para determinação dos analitos, também é possível caracterizar a superfície eletroativa dos sensores que podem auxiliar na explicação dos processos redox. Para isso, utiliza-se a espectroscopia eletroquímica de impedância.

1.3 ESPECTROSCOPIA DE IMPEDÂNCIA ELETROQUÍMICA

A Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE) é uma técnica de fronteira entre a eletroquímica e a ciência de materiais, a qual se baseia nas propriedades elétricas e eletródicas da matéria. Nesse contexto, a EIE pode ser utilizada em matrizes de diversas naturezas para o estudo de seus comportamentos mediante a aplicação de distúrbios em um sistema eletroquímico fechado (TSAI e SUN, 2013; ZHAO *et al.*, 2017).

De maneira geral, a EIE é realizada a partir da perturbação de um sistema eletroquímico por meio de um distúrbio contínuo e não variável em sua termodinâmica. Visto que no âmbito da EIE, o parâmetro termodinâmico é relativo ao potencial elétrico do sistema, a EIE é, portanto, potenciostática. Sendo assim, o sistema operacional dessa ferramenta é também idêntico ao de métodos cujo princípio se baseia na perturbação do sistema por meio da aplicação do potencial elétrico, como, por exemplo, as voltametrias. Nesse ponto, o aparato é também constituído por três eletrodos, assim como eletrólito suporte, sendo esse último utilizado para promover a formação de uma interface solução-eletrólito, a qual compreende a dupla camada elétrica (Figura 4) (CAMPOS-SILVA e RODRÍGUEZ-CASTRO, 2015; FRANCESCO, 2019).

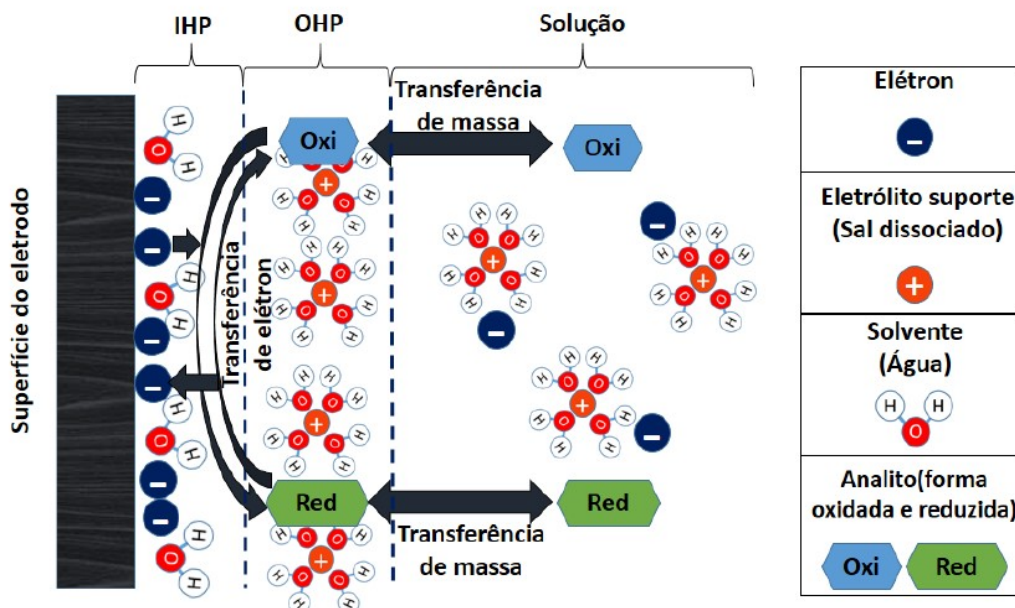


Figura 4: Representação esquemática da interface eletrodo/solução, contendo a dupla camada elétrica dividida em dois planos, plano interno (IHP) e plano externo de Helmholtz (OHP).
Fonte: MACÊDO, 2017.

A formação da interface solução-eletrodo permite à EIE, a determinação de propriedades elétricas inerentes da matéria mesmo que essas não sejam eletroativas. Em outras palavras, a EIE pode fornecer informações acerca de materiais cujo comportamento elétrico não se manifeste por meio de fenômenos oxidativos e/ou redutivos. Assim, essa técnica é uma importante ferramenta para a exploração de propriedades intrínsecas dos materiais, as quais não são efetivamente analisáveis por outros métodos eletro-analíticos (HAN *et al.*, 2016).

Dentre as aplicações mais comuns da EIE estão o estudo das propriedades eletroquímicas de eletrodos, no entanto, a literatura apresenta diversos trabalhos que exploram o uso da EIE para a avaliação da integridade de macro e microestruturas.

Visto que a impedância assume valores irracionais, sua plotagem é realizada no plano complexo. Assim, são empregadas as plotagens de Nyquist que descreve a correlação entre a parte real *versus* parte imaginária da impedância; e a plotagem de Bode que descreve a variação da impedância total e o ângulo de fase dos vetores descritores *versus* a frequência de oscilação (FRANCESCO, 2019; GAMRY, 2019). A representação gráfica da impedância por Nyquist é apresentada na Figura 5.

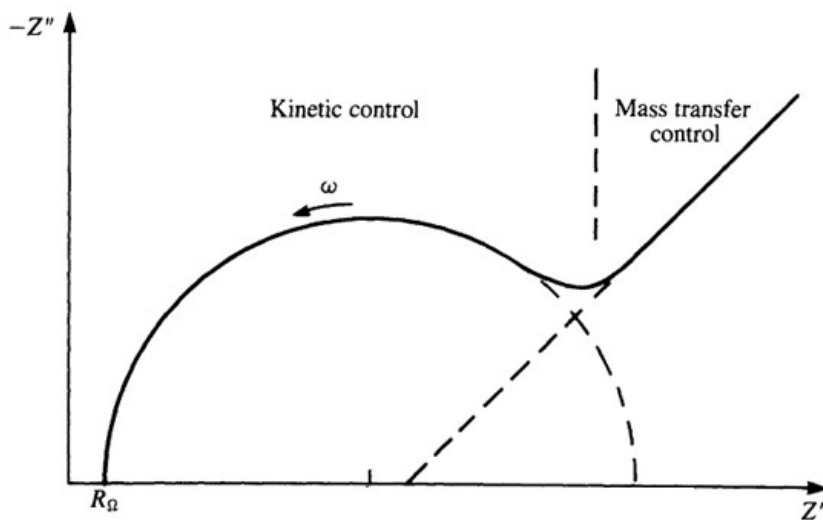


Figura 5: Representação gráfica de uma plotagem de Nyquist, evidenciando os pontos da plotagem condicionados por controle cinético (*kinetic control*) e fenômenos de transporte de massas (*mass transfer control*).

Fonte: MELATAGUIA, 2016.

De maneira geral a interpretação da plotagem de Nyquist para a avaliação da impedância dos sistemas dá-se inicialmente pela análise do diâmetro do semicírculo, que por sua vez se localiza em regiões de alta frequência na plotagem, *i.e.* mais negativas, no eixo das abscissas (impedância real; Z'). Esse parâmetro se correlaciona com as resistências associadas ao circuito (ZHAO *et al.*, 2017; GAMRY, 2019).

Assim, o início do semicírculo no eixo das abscissas se correlaciona com a resistência da solução (R_s), enquanto o final do semicírculo se correlaciona à resistência ao transporte de cargas na superfície do eletrodo (R_{ct}). Visto que o eletrodo é analisado em solução, e sua impedância é calculada na interface, a dupla camada comporta-se nesse caso como um capacitor (CPE), enquanto que o transporte de massa por difusão na solução é representado pelo elemento de Warburg (W) (FRANCESCO, 2019; EASTON *et al.*, 2020). Esse circuito simplificado é denominado “circuito equivalente de Randles” (Figura 6).

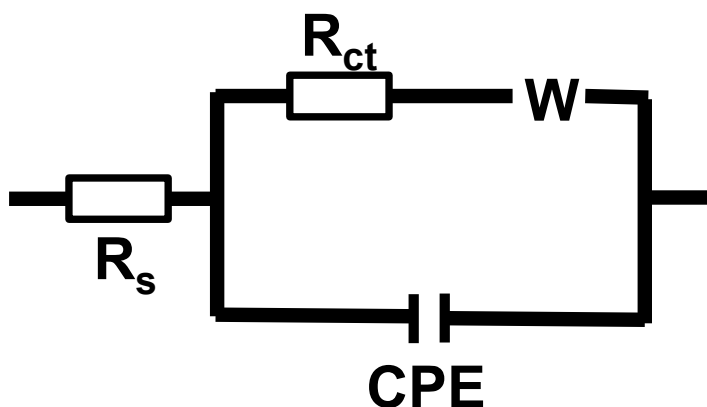


Figura 6: Representação gráfica do circuito equivalente de Randles para um sistema eletroquímico.

Fonte: Próprio autor.

Apesar de a dupla camada possuir comportamento próximo de um capacitor, suas melhores aproximações são pseudocapacitores ou elementos de fase contínua, uma vez que a dupla camada é composta por elementos capacitivos e resistivos ao mesmo tempo (MEI *et al.*, 2018; GAMRY, 2019).

Baseado em eletroquímica de estado sólido, diferentes óleos aglutinantes podem ter diferentes efeitos na eletródica, *i.e.* propriedades condutoras, cinética de transferência de carga, efeitos capacitivos, ou até apresentarem eletroatividade inerente.

1.4 FÁRMACO ESTUDADO : CARVEDILOL

Para o desenvolvimento deste trabalho, o fármaco escolhido foi o carvedilol. O Carvedilol (CRV) (Figura 7), é um fármaco antagonista adrenérgico não seletivo, quimicamente conhecido como 1-carbazol-4-iloxi-3-[2-(2-metoxifenoxi) etilamino]propan-2-ol que se apresenta na forma de uma mistura racêmica, dos enantiômeros R-(+) e S-(-) Carvedilol, sendo que a atividade β -bloqueadora é atribuída apenas ao enantiômero S-(-), enquanto que a atividade α -bloqueadora é atribuída aos dois enantiômeros (NARDOTTO *et al.*, 2016).

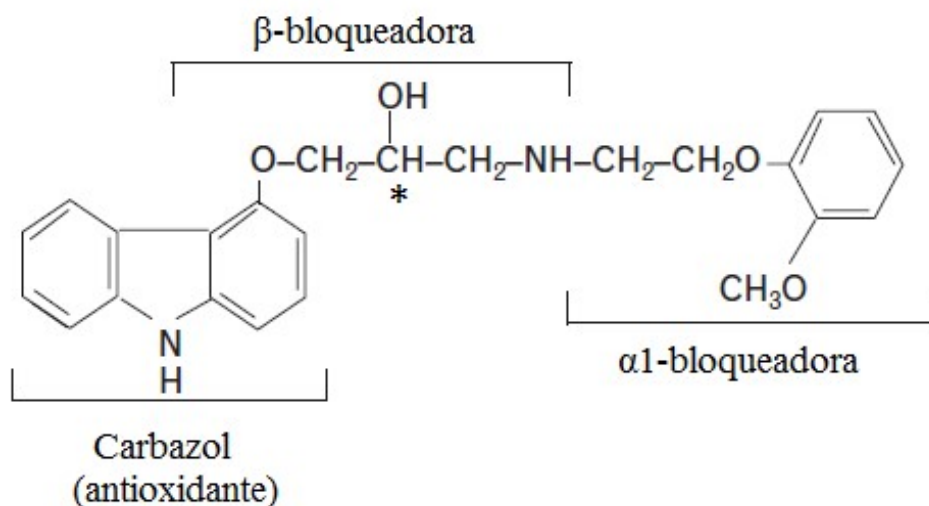


Figura 7: Estrutura química do Carvedilol evidenciando o centro quiral (*) (OHNO *et al.*, 2004) e as porções moleculares com suas respectivas atividades (DANDONA; GHANIM; BROOKS, 2007).
Fonte: próprio autor.

Este fármaco é o único da classe dos β -bloqueadores que apresenta a propriedade de se ligar aos receptores de rianodina (RyR2) e inibir a liberação de cálcio induzida por sobrecarga, sendo que essa ação é produzida pelo enantiômero R-(+) (ZHANG *et al.*, 2015; NARDOTTO *et al.*, 2016). Além dessas propriedades, o CRV é muito conhecido por seu significativo potencial antioxidante, onde atua inibindo a formação de espécies reativas de oxigênio, e a peroxidação lipídica, além de prevenir a depleção de antioxidantes endógenos (ABDEL-RAHEEM *et al.*, 2015). Em outro estudo, ficou demonstrado, que o tratamento com CRV aumenta os níveis de glutathiona, superóxido dismutase, catalase e glutathiona redutase, além de diminuir significativamente, as citocinas pró-inflamatórias, como o fator de necrose tumoral, e fator de crescimento (AMIRSHAHROKHI e KHALILI, 2016). Em um estudo comparativo, a atividade antioxidante do CRV se mostrou maior que o da vitamina E (DANDONA; GHANIM; BROOKS, 2007; AMIRSHAHROKHI e KHALILI, 2016).

O CRV é comercializado na forma de comprimidos, nas doses de 3,125, 6,25, 12,5 e 25 mg e pelas suas indicações nos quadros de hipertensão, insuficiência cardíaca e doença isquêmica, esse fármaco faz parte da lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial de Saúde (MAHMOUD; BENDAS; MOHAMED, 2009).

No Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB) o CRV é considerado uma droga da classe II, apresentando baixa solubilidade e alta permeabilidade. A droga é praticamente insolúvel em água, levando a uma baixa biodisponibilidade por via oral, e por essa razão, melhorar a solubilidade e aumentar a biodisponibilidade é um desafio

para os pesquisadores na área de desenvolvimento farmacotécnico (HIENDRAWAN *et al.*, 2016).

1.5 SISTEMAS DE LIBERAÇÃO DE BASE LIPÍDICA

Nos últimos anos, várias formulações foram propostas no intuito de melhorar a biodisponibilidade de fármacos hidrofóbicos como o CRV, e os sistemas lipídicos se mostraram como uma das estratégias mais estudadas para resolver os problemas de solubilidade das drogas da classe II. Esses sistemas são conhecidos por apresentarem os lipídeos naturais ou sintéticos como veículo, e existem vários tipos de sistemas de liberação de fármacos em lipídeos, como por exemplo, suspensões, emulsões, e os sistemas emulsificantes, como os auto-emulsificantes, auto-microemulsificantes, auto-nanoemulsificantes, dentre outros. No caso específico do CRV, foi demonstrado uma melhoria nos parâmetros farmacocinéticos ($C_{máx}$ e biodisponibilidade), utilizando o sistema auto-nanoemulsificante (Quadro 1) (WADHWA; NAIR; KUMRIA, 2011; SINGH *et al.*, 2013; SILVA *et al.*, 2016).

Quadro 1: Tipos de formulações orais lipídicas, suas vantagens e limitações.

Tipo de formulação	Excipientes	Características	Vantagens	Limitações
Tipo I	Óleos sem surfactantes (tri-, di- e monoglicerídeos)	Não dispersante, requer digestão	GRAS, compatibilidade de cápsula simples e boa	Baixa capacidade solvente, a menos que o fármaco seja altamente lipofílico
Tipo II	Óleos e surfactantes insolúveis em água	SEDDS formado sem componentes solúveis em água	Improvável em perder capacidade de solvente na dispersão	Dispersão grosseira de óleo / água, digestão provável mas não crucial
Tipo III	Óleos, surfactantes e co-solventes (tanto excipientes solúveis em água quanto insolúveis)	SEDDS / SMEDDS formado com componentes solúveis em água	Dispersão clara ou quase clara; digestão não necessária para absorção	Possível perda de capacidade do solvente na dispersão e / ou digestão
Tipo IV	Surfactantes solúveis em água apenas ou com co-solventes (sem óleos)	Normalmente dispersa para formar uma solução micelar	Formulação tem boa capacidade de solvente para muitos medicamentos	Perda provável da capacidade do solvente quando dispersado, digestível

Nota: Sistema de entrega de droga auto-emulsionante (*self-emulsifying drug delivery system*, SEDDS); sistema de entrega de droga auto-microemulsificante (*self-microemulsifying drug delivery system*, SMEDDS); geralmente considerado seguro (*generally regarded as safe*, GRAS).

Fonte: Rahman *et al.* (2013).

Os sistemas auto-emulsionáveis são constituídos de uma mistura isotrópica de

óleo, surfactante (emulsionante) e fármaco que, quando introduzidos na fase aquosa sob suave agitação, formam espontaneamente a emulsão óleo/água (o/a) em que o tamanho da gotícula varia de poucos nanômetros (< 50 nm) a vários micrômetros (200-300). Algumas formulações contêm um co-emulsionantes ou co-tensoativo ou solubilizante para facilitar a emulsificação e melhorar a incorporação de fármacos (WADHWA; NAIR; KUMRIA, 2011).

Para o desenvolvimento dessas formas farmacêuticas, os estudos de compatibilidade entre fármaco e excipiente representam uma fase importante na pré-formulação, uma vez que, para ser bem-sucedida, em termos de estabilidade e eficácia, a formulação depende de uma seleção cuidadosa dos excipientes, pois não existe um protocolo universalmente aceito para avaliar a compatibilidade entre o princípio ativo e os excipientes (BORBA *et al.*, 2014).

Apesar das várias informações existentes na literatura sobre as características físicas e químicas dessas emulsões óleo/água e lipídicas, a tendência oxidativa das emulsões é frequentemente negligenciada (KHANUM e THEVANAYAGAM, 2017).

Além disso, os componentes utilizados na formulação de emulsões são vitais para a manutenção da estabilidade oxidativa. Esses componentes, (ácidos, bases, sais, surfactantes, co-surfactantes e polissacarídeos) são utilizados na formulação de emulsões óleo-em-água, e podem atuar tanto como pro-oxidantes ou antioxidantes, dependendo da sua natureza química, interações moleculares e fatores ambientais. Alguns parâmetros na tecnologia dos sistemas emulsificantes que contribuem para os efeitos oxidativos incluem as condições de armazenamento e o potencial de oxidação (vulnerabilidade do lípideos à auto-oxidação), por essa razão, as emulsões devem ser avaliadas quanto à sua susceptibilidade à oxidação usando as técnicas disponíveis (WALKER; DECKER; MCCLEMENTS, 2015; KHANUM e THEVANAYAGAM, 2017).

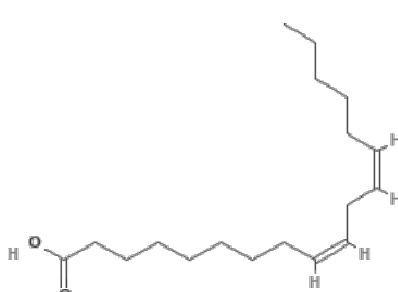
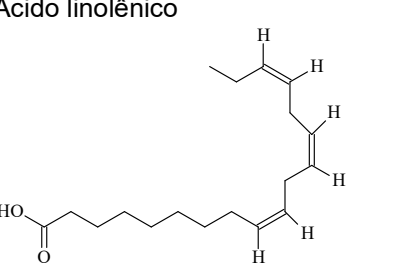
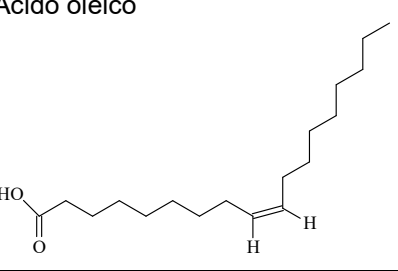
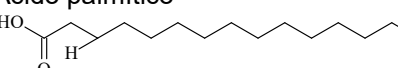
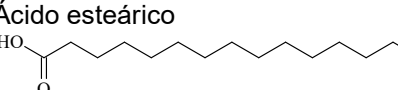
1.5.1 Excipientes lipídicos

Neste trabalho foram utilizados alguns óleos, cártamo, canola e gergelim, e ácidos graxos puros, oleico e esteárico, para o estudo de compatibilidade com o carvedilol na eletroanálise (Tabela 1).

O ácido esteárico (sólido à temperatura ambiente, cadeia carbônica saturada de 18 átomos de carbono) e o ácido oleico (líquido à temperatura ambiente, cadeia carbônica monoinsaturada de 18 átomos de carbono, com insaturação no carbono 9) são ácidos

graxos formados por uma longa cadeia alquílica. O tamanho da cadeia carbônica e o grau de insaturação irão influenciar diretamente na solubilidade em água dessas moléculas (SILVA, 2017).

Tabela 1 – Composição dos excipientes oleosos utilizados neste trabalho

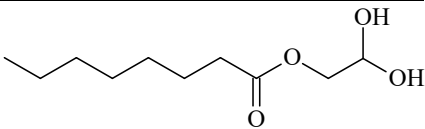
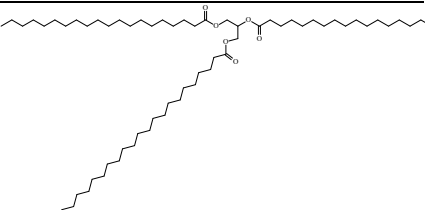
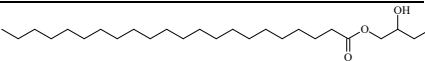
Ácidos graxos	Dados	Óleo de Canola	Óleo de Cártamo	Óleo de Gergelim
<p>Ácido linoléico</p> 	LogP: 6,46	16-30%	68-83%	40%
<p>Ácido linolênico</p> 	LogP: 7,05	6-14%	<0,5%	
<p>Ácido oleico</p> 	Visc. : 25,6 mPa.s (cP) em 30 °C LogP: 7,73	50-67%	8,21%	45%
<p>Ácido palmítico</p> 	Visc. : 7,80 cP em 70 °C LogP: 7,17	2,5-6%	4-10%	9,8%
<p>Ácido esteárico</p> 	Visc. : 9,87 mPa.s (cP) em 70 °C LogP: 8,23	3%	1-5%	6%
Outros		7%	2%	0,8%
Ácidos graxos saturados		8,9%	11,2%	19,1%
ácidos graxos monoinsaturados		63,1%	11,16%	39,4%
ácidos graxos poliinsaturado		28,1%	76,8%	44,1%

*LogP = Coeficiente de Partição Octanol/Água

Fonte: Silva (2017) e PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

Neste trabalho também foram selecionados glicerídeos mistos de cadeia longa e média com maior capacidade de solvente quando comparados aos triglicéridos (Tabela 2). O behenato de glicerilo (Compritol® 888 ATO) e o caprilato/caprato de glicerilo (Capmul® MCM) são exemplos de glicéridos mistos.

Tabela 2 - Composição de excipientes glicerídicos utilizados neste trabalho.

Nome comercial	Composição	Apresentação	LogP*	Estrutura química
Capmul® MCM (Monodicaprato de Glicerila)	Mistura de mono e diglicerídeos contendo ácidos graxos, principalmente os ácidos caprílico e cáprico	Líquido à temperatura ambiente		
Plurol® isosteárique	Isoestearato de poliglicerina	Líquido viscoso à temperatura ambiente		
Emulium®22 (Ésteres tribehenicos PEG-20)	Ésteres do ácido behênico com adição de uma molécula de PEG 20 (tribehenina peguilhada)	Comercializado em forma de <i>pellets</i>		
Compritol® 888 CG ATO (behenato de glicerila)	Tribehenato de glicerila (28-32%), dibehenato de glicerila (52-54%) e monobehenato de glicerila (12-18%).	Sólido branco à temperatura ambiente	26,93	

*LogP = Coeficiente de Partição Octanol/Água.

Fonte: Silva (2017) e PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>).

1.6 MÉTODOS DE DOSEAMENTO/QUANTIFICAÇÃO DO CARVEDILOL

A fim de garantir o controle de qualidade dos produtos farmacêuticos, a Farmacopéia Britânica e a Européia preconizam técnicas de cromatografia líquida com detecção espectrofotométrica, no entanto, diversos pesquisadores têm adotado diferentes abordagens nas técnicas de quantificação do CRV tanto em fluidos biológicos quanto em matérias-primas, como por exemplo, a cromatografia líquida em diferentes detectores como espectrofluorimétrico (MEDVEDOVICI *et al.*, 2007; EL-SAYED; MOHAMED; TAHA, 2010; TABRIZI e YOUSEFZADEH, 2019) ou espectrofotométrico no ultravioleta

(LANZANOVA *et al.*, 2009; NAYABANIYA; SEETHARAMAN; LAKSHMI, 2020), além de técnicas cromatográficas (líquida e gasosa) associadas à espectrometria de massas (GALANOPOULOU; ROZOU; ANTONIADOU-VYZA, 2008; CHANDER *et al.*, 2013; MANOHAR; SRIDHAR; MALLIKARJUNA, 2013). Em geral, muitas destas técnicas podem levar ao consumo de reagentes tóxicos, aumentando os custos e riscos para analistas e meio ambiente. As técnicas eletroquímicas (RADI e ELMOGY, 2005; YILMAZ e EKINCI, 2011; YILMAZ e KABAN, 2014; ROFOUEI *et al.*, 2016) e outras técnicas como eletroforese capilar, quimiluminometria e fluorimetria também foram descritas (LANZANOVA, 2007).

Assim, as técnicas eletroquímicas de análise são uma boa alternativa em se tratando da química verde, uma vez que trabalham com uma quantidade reduzida de reagentes, gerando poucos resíduos, e consomem pouca energia, devido à agilidade e a rapidez das análises. Além disso, apresentam vantagens como, por exemplo, baixo custo, grande sensibilidade, baixos limites de detecção e baixo consumo de reagentes, especialmente quando comparadas com as técnicas cromatográficas e espectroscópicas (LINO; SÁ; TORRES, 2014; MACÊDO *et al.*, 2016).

Por ser um método alternativo, a eletroanálise, pode ser útil em estudos de compatibilidade e a caracterização eletroquímica fornece dados preditivos para vulnerabilidade a oxidação.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar, mediante a caracterização eletroquímica, as interações entre o CRV e os excipientes lipofílicos, detectando o potencial oxidante destas substâncias e fornecendo dados preditivos para a vulnerabilidade à oxidação, que pode afetar a estabilidade do sistema e, conseqüentemente, a biodisponibilidade do fármaco.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar a pasta de carbono modificada com excipientes lipídicos em diferentes proporções por técnicas voltamétricas (CV e DPV) e EIE.
- Utilizar as técnicas voltamétricas (CV e DPV) para analisar a compatibilidade dos excipientes lipídicos e o CRV.
- Realizar análise de estabilidade isotérmica com os sistemas binários (CRV – excipientes lipídicos).

3.1 REAGENTES E PADRÕES

O carvedilol (CRV), com 99,27% de pureza, foi fornecido pela Chengtai Shenyang Fine Chemical Factory (China). O grafite, óleo mineral (Nujol[®]) e ácido esteárico foram adquiridos na Sigma-Aldrich (Saint Louis, EUA). O ácido oleico foi adquirido da Labsynth LTDA (Brasil). O Compritol[®] 888 ATO (gliceril behenato, GB), Plurol[®] isostearique (poligliceril-6-isoestearato), Emulium[®]22 (ésteres de tribibeina PEG-20) e Capmul[®] MCM (caprilato de gliceril / caprato) foram gentilmente doados por Gattefossé (França). O óleo de canola foi fornecido pela Cargil Agrícola S.A. (Brasil). O óleo de cártamo foi adquirido da Pazze Indústria de Alimentos LTDA (Brasil). O óleo de gergelim da Croda (Brasil).

O ferrocianeto de potássio, $K_4[Fe(CN)_6].3H_2O$ e sais de fosfato de potássio, todos de qualidade analítica, foram adquiridos da Vetec Química Fina Ltda (Rio de Janeiro, Brasil) e diluído em água purificada para atingir uma concentração final de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$. Depois disso, o KCl foi adicionado a esta solução até uma concentração de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. A solução de tampão fosfato de sódio, pH 7,0, $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ foi preparada com água Milli-Q ultra pura (Millipore S.A. Molsheim, França, condutividade $\leq 0,1 \mu\text{S.cm}^{-1}$).

3.2 ENSAIOS ELETROQUÍMICOS DE ESTABILIDADE E COMPATIBILIDADE

3.2.1 Ensaios Voltamétricos

As medições voltamétricas foram realizadas usando um potenciostato/galvanostato PGSTAT[®] modelo 204 com o módulo FRA32M (Metroh Autolab) integrado ao software NOVA 2.1[®]. As medições foram realizadas em uma célula eletroquímica de 25 mL, com um sistema de três eletrodos composto por eletrodos de pasta de carbono, descritos na Tabela 3, fio Pt e Ag/AgCl/KCl_{sat} (ambos adquiridos na Lab solutions, São Paulo, Brasil), representando o eletrodo de trabalho, contra-eletrodo e eletrodo de referência, respectivamente. A pasta de carbono foi renovada mecanicamente a cada nova análise.

As condições experimentais para DPV foram: amplitude de pulso = 25 mV, largura de pulso = 0,5 s e velocidade de varredura = 10 mV.s^{-1} . As condições experimentais da CV foram: velocidade de varredura = 50 mV.s^{-1} e faixa de varredura de -0,4 a 1,4 V. Os voltamogramas de pulso diferencial foram subtraídos ao fundo e corrigidos na linha de base, e todos os dados foram analisados e tratados com o software Origin 8[®]. Todos os experimentos foram realizadas à temperatura ambiente ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) em triplicata ($n = 3$) e

o principal eletrólito utilizado foi a solução tampão fosfato de sódio 0,1 mol.L⁻¹ em pH 7,0.

3.2.2 Caracterização na Espectroscopia de Impedância Eletroquímica

As medidas de EIE foram realizadas em uma solução contendo ferrocianeto de potássio 0,05 mol L⁻¹ em KCl 0,1 mol.L⁻¹, em uma frequência que varia de 0,1 Hz a 100 KHz em potenciais selecionados para sensores.

3.3 AVALIAÇÃO ELETROQUÍMICA DA ESTABILIDADE OXIDATIVA DE COMPOSTOS LIPOFILICOS

A vulnerabilidade a sofrer oxidação espontânea está relacionada ao potencial de pico anódico, E_{pa} , que foi obtido por meio de voltametria no estado sólido. Nesse contexto, os compostos alvos, fármacos e excipientes lipídicos selecionados foram incorporados, como modificadores, em eletrodos de pasta de carbono.

As pastas de carbono foram compostas por pó de grafite e óleo mineral ou outro sistema de aglutinação modificado, composto por diferentes proporções das amostras alvo (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição das pastas de carbono para estudos de estabilidade.

	Modificadores lipídicos (mg)	Óleo Mineral (mg)	Grafite em pó (mg)
Excipientes líquidos¹	10	20	70
	15	15	70
	20	10	70
	30	-	70
Excipientes sólidos²	1,5	30	68,5
	3	30	67
	7	30	63
CRV controle	1	30	70
Pasta de carbono controle	-	30	70

¹Ácido Oleico (CP^{OA}), Capmul® (CP^{Cap}), Plurol® isostearique (CP^{PI}), Óleo de Cártamo (CP^{StO}), Óleo de Canola (CP^{CO}) e Óleo de gergelim (CP^{SeO}).

²Ácido esteárico (CP^{EA}), Emulium®22 (CP^{Emu}) e Compritol® 888 ATO (CP^{Cpt}).

Os excipientes líquidos foram rigorosamente misturados com o pó de grafite pela técnica de espatulação. Os excipientes sólidos foram previamente dispersos homogeneamente na fração de óleo mineral. Em seguida, as misturas de pasta de carbono (Tabela 3) foram inseridas no eletrodo suporte, que consistia em tubo de teflon perfurado centralmente por fio de cobre com 2 mm de diâmetro, para deixar uma cavidade

de 2 mm de diâmetro e 0,5 mm de profundidade.

Os eletrodos de pasta de carbono (*carbon paste electrodes*, CPEs) resultantes foram imersos em soluções tampão por 5 minutos antes dos ensaios eletroquímicos, a fim de permitir o condicionamento da pasta de carbono. Nesses estudos, a corrente de pico anódico, I_{pa} , (parâmetro cinético) e o potencial de pico anódico, E_{pa} , (parâmetro termodinâmico) de cada componente, bem como seu efeito sobre a condutividade do eletrodo, foram cuidadosamente avaliados por meio de técnicas voltamétricas e EIE.

3.3.1 Avaliação Eletroquímica da Compatibilidade Redox

O efeito de cada excipiente na estabilidade redox do fármaco foi avaliado nos CPEs, no qual 1 mg de CRV foi homogeneamente disperso em sistemas aglutinadores binários (Tabela 3), antes da mistura com pó de grafite.

A tendência termodinâmica do fármaco a sofrer reações de oxidação (capacidade doadora de elétrons) é expressa pela alteração negativa do pico anódico. Por sua vez, a cinética de transferência de elétrons, quando a quantidade de espécies eletroativas é mantida constante, é expressa pelos valores de pico de corrente. O impacto de cada excipiente lipídico no comportamento redox do CRV expressa sua compatibilidade e foi avaliado à luz de tais parâmetros eletroquímicos.

3.3.1.1 Efeito do tempo e temperatura

A estabilidade das misturas binárias de CRV e diferentes excipientes lipídicos (Tabela 3) foi avaliada por meio da DPV, em função do tempo à temperatura ambiente (25 °C). O efeito do estresse isotérmico também foi avaliado submetendo cada sistema binário da pasta de carbono a 50 °C por 10 dias. Todos os controles necessários foram avaliados.

Artigo: Electroanalysis Applied to Compatibility and Stability Assays of Drugs: Carvedilol Study Case.

Autores: Murilo Ferreira de Carvalho, Luane Ferreira Garcia, Isaac Yves Lopes de Macedo, Ricardo Neves Marreto, Mayk Teles de Oliveira, Renê Oliveira do Couto, Carlos Eduardo Peixoto da Cunha, Karla Carneiro de Siqueira Leite, Kênnia Rocha Rezende, Fabio Bahls Machado, Vernon Somerset and Eric de Souza Gil.

Revista: Pharmaceuticals.

Situação: Publicado.



Article

Electroanalysis Applied to Compatibility and Stability Assays of Drugs: Carvedilol Study Case

Murilo Ferreira de Carvalho ¹, Luane Ferreira Garcia ¹, Isaac Yves Lopes de Macedo ¹, Ricardo Neves Marreto ¹, Mayk Teles de Oliveira ¹, Renê Oliveira do Couto ², Carlos Eduardo Peixoto da Cunha ¹, Karla Carneiro de Siqueira Leite ³, Kênnia Rocha Rezende ¹, Fabio Bahls Machado ¹, Vernon Somerset ⁴ and Eric de Souza Gil ^{1,*}

- ¹ Faculty of Pharmacy, Federal University of Goiás, Goiânia 74605-170, Brazil; murilo.fc@hotmail.com (M.F.d.C.); luane.fg@hotmail.com (L.F.G.); isaacyvesl@gmail.com (I.Y.L.d.M.); rnmarrreto@gmail.com (R.N.M.); mayk.teles@hotmail.com (M.T.d.O.); cedcunhap35@hotmail.com (C.E.P.d.C.); kennia@gmail.com (K.R.R.); famafarm@yahoo.com.br (F.B.M.)
 - ² Pharmacy School, Federal University of São João del-Rei, Midwest Campus, Divinópolis-MG, ZIP 35.501-296, Brazil; rocouto@ufsj.edu.br
 - ³ Universidade Paulista, Goiânia, GO 74845-090, Brazil; karlacs11@gmail.com
 - ⁴ Department of Chemistry, Faculty of Applied Sciences, Cape Peninsula University of Technology, Bellville 7535, South Africa; vsomerset@gmail.com
- * Correspondence: ericsgil@gmail.com

Received: 2 March 2020; Accepted: 26 March 2020; Published: 17 April 2020



Abstract: Carvedilol (CRV) is a non-selective blocker of α and β adrenergic receptors, which has been extensively used for the treatment of hypertension and congestive heart failure. Owing to its poor biopharmaceutical properties, CRV has been incorporated into different types of drug delivery systems and this necessitates the importance of investigating their compatibility and stability. In this sense, we have investigated the applicability of several electroanalytical tools to assess CRV compatibility with lipid excipients. Voltammetric and electrochemical impedance spectroscopy techniques were used to evaluate the redox behavior of CRV and lipid excipients. Results showed that Plurol[®] isostearic, liquid excipient, and stearic acid presented the greatest anode peak potential variation, and these were considered suitable excipients for CRV formulation. CRV showed the highest stability at room temperature and at 50 °C when mixed with stearic acid (7% w/w). The results also provided evidence that electrochemical methods might be feasible to complement standard stability/compatibility studies related to redox reactions.

Keywords: anti-hypertensives; drug delivery systems; electrochemical impedance spectroscopy; electrochemistry; excipients; pharmaceutical technology

1. Introduction

Carvedilol (CRV) (Figure 1) is a non-selective blocker of α and β adrenergic receptors, and has been extensively used for the treatment of hypertension and congestive heart failure. CRV oral bioavailability ranges from 20% to 35% owing to its low water solubility and increased fast metabolism [1–3]. To circumvent its unsatisfactory biopharmaceutical properties, CRV has been incorporated in different types of drug delivery systems, e.g., nanoemulsions [4], solid-state cyclodextrin complexes [5], solid dispersions [6], transdermal vehicles [7], and supramolecular hydrogels [8].

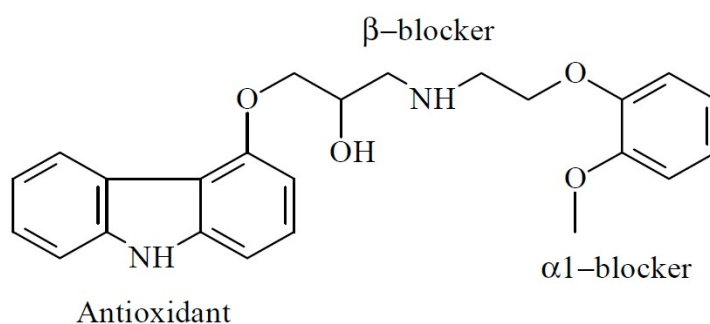


Figure 1. Chemical structure of carvedilol.

A considerable number of lipid-based drug delivery systems have been developed for overcoming CRV pharmacokinetic issues [4,9,10]. Even though CRV stability and compatibility studies with solid pharmaceutical excipients have been reported in the literature [11–13], only a few investigations dealing with CRV stability in lipid vehicles have been performed so far [14].

Thermal and spectroscopic methods have been widely used in drug–excipient compatibility studies [15]. Differential scanning calorimetry (DSC), differential thermal analysis (DTA), and Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) are amongst the most popular techniques. These techniques require a small amount of sample, and can provide a rapid analysis with high sensitivity. However, there are several drawbacks related to these techniques, such as the high cost of equipment acquisition and maintenance, fastidious sample preparation, difficult data interpretation (DSC and DTA) and interference of environmental variables, such as humidity (FTIR) [15].

Due to the relevance of compatibility studies and the limitations of the usual analytical techniques, several researchers have been performing studies for the development of reliable and low-cost approaches to investigate the compatibility/stability of pharmaceutical products [16–18]. Henceforth, electrochemical methods might be useful when compatibility studies may be driven by redox reactions. As long as the oxidation of chemicals is retarded or hastened by the environment, electrochemical methods have a great potential for the study of drug–excipient compatibility. These techniques can provide significant insights concerning thermodynamic and kinetic features related to degradation rates.

Moreover, electrochemical methods are noteworthy for their affordability and environmentally-friendly advantages [19,20]. Given that most excipients are non-electroactive, the usefulness of electrochemical approaches for the analytical determination of drugs in pharmaceutical formulations is well stated [19–22]. Notwithstanding, electrode reactions are frequently coupled by chemical reactions, in which the sheer versatility of electroanalysis to explore the thermodynamic and kinetic aspects of the redox process, could be applied to bring some highlights in compatibility studies.

Given the importance that CRV displays in clinical practice as well as the relevance of developing innovative tools to study drug–excipient compatibility, we report on the applicability of the electroanalytical tools for assessing the CRV compatibility with lipid excipients.

2. Results

2.1. Electrochemical Characterization of Carbon-Paste Electrodes (CPEs)

The cyclic voltammetry (CV) scans containing different agglutinating systems, as described in Table 1, are presented in Figure 2. The system containing the lipophilic excipient, Plurol® isostearic, presented two oxidation peaks (Figure 2A), whose peak intensity increased accordingly to its concentration in carbon paste (CP), thus indicating the inherent electroactivity. On the other hand, the CP prepared with vegetable oils and oleic and stearic acids did not present any anodic peak (Figure 2B; data from fatty acid analysis are not shown). On the other hand, the Capmul carbon paste (CP^{Cap}) swelled when immersed in the PBS solution, even when Capmul concentration was lowered to 0.5%. Owing to this physical instability, no further assays were conducted with this excipient.

Table 1. Carbon paste compositions for stability assays.

Lipophilic Modifiers	(mg)	Mineral Oil (mg)	Graphite Powder (mg)
Liquid excipients ¹	10	20	70
	15	15	70
	20	10	70
	30	-	70
Solid excipients ²	1.5	30	68.5
	3	30	67
	7	30	63
Carvedilol (CRV) control	1	30	70
Carbon Paste (CP) control	-	30	70

¹ Oleic acid (CP^{OA}), Capmul[®] (CP^{Cap}), Plurol[®] isostearic (CP^{PI}), safflower (CP^{SfO}), canola oil (CP^{CO}) or sesame oil (CP^{SeO}); ² stearic acid (CP^{EA}), Emulium[®]22 (CP^{Emu}) or Compritol[®] 888 ATO (CP^{Cpt}).

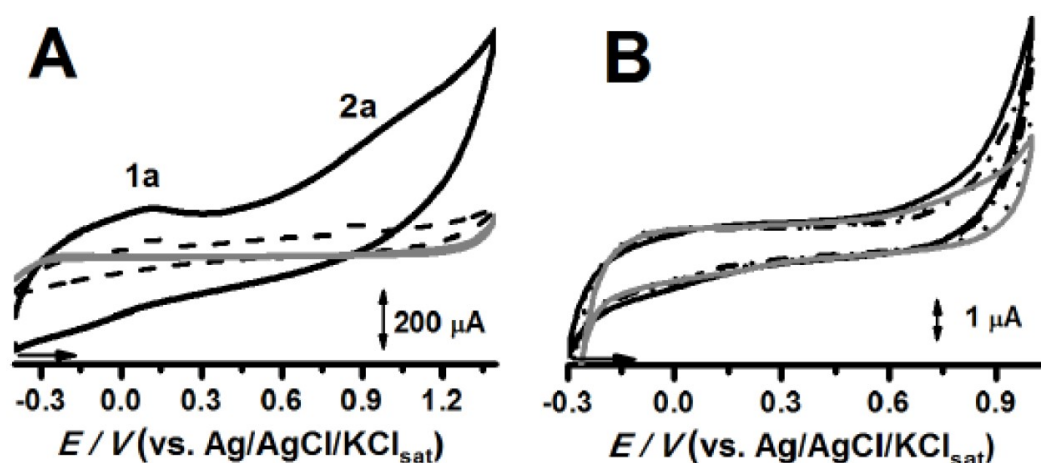


Figure 2. Cyclic voltammograms of CP control (---), CP^{PI20%} (—), and CP^{PI30%} (· · ·) (A); CP^{SfO30%} (—), CP^{SeO30%} (· · ·), and CP^{CO30%} (- · - ·) e CP control (---) (B). All experiments were performed in triplicate in 0.1 mol L⁻¹ KCl, PBS, pH 7.0. Plurol[®] isostearic carbon paste (CP^{PI}), safflower oil carbon paste (CP^{SfO}), sesame oil carbon paste (CP^{SeO}), canola oil carbon paste (CP^{CO}).

2.2. Electrochemical Evaluation of CRV and Binary Systems at Solid State

The evaluation of CRV compatibility with some non-electroactive lipid excipients was performed by dissolution or dispersion of 1% of the drug in the agglutinating system described in Table 1. The differential pulse voltammograms obtained for the CP control and some modified CPs with and without CRV are presented in Figure 3. It can be observed that the anodic peak potential (E_{pa}) and the anodic peak current (I_{pa}) values of CRV shifted in all cases, when compared to CRV in the CP control. In turn, Compritol[®] and stearic acid produced the opposite effect on CRV electrochemical parameters, E_{pa} and I_{pa} , (Figure 3B).

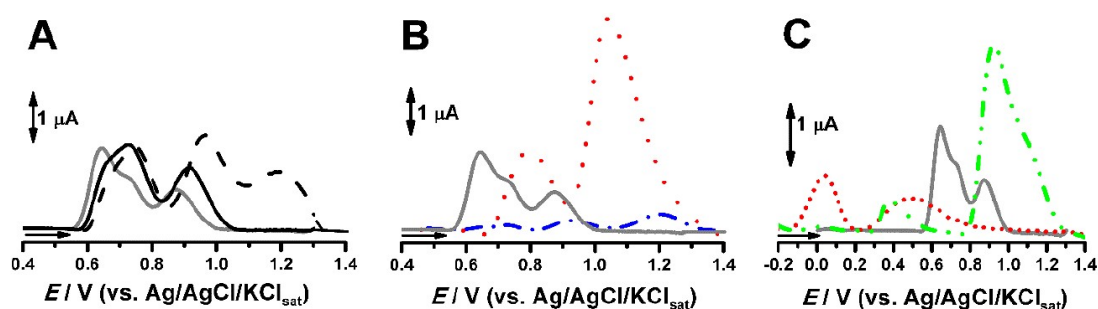


Figure 3. Solid-state differential pulse voltammograms of 1% CRV in: CP control (grey line of Figure 3A–C) and in CP^{SeO}30% (—) and CP^{CO}30% (- - -) (A), CP^{Cpt}7% (- • - •) and CP^{EA}7% (• • •) (B), CP^{PI}20% without CRV (• • •) and with 1% CRV (- • • -) (C). All assays were performed in 0.1 mol L⁻¹ KCl, PBS, pH 7.0. Sesame oil carbon paste (CP^{SeO}), canola oil carbon paste (CP^{CO}); Compritol[®] carbon paste (CP^{Cpt}); stearic acid carbon paste (CP^{SfO}); Plurol[®] isostearic carbon paste (CP^{PI}) and Carvedilol (CRV).

For the results obtained for Plurol[®] isostearic, that exhibited electroactivity in CV scans (Figure 2A), it was shown that its anodic peaks (dotted line, Figure 3C) occurred at distinct E_{pa} values of CRV (grey line, Figure 3C). Meanwhile, the binary system similar to stearic acid produced the largest shift in the peak currents' values (double dotted dashed line, Figure 3C).

Thence, the thermodynamic parameter, E_{pa} , would indicate that the excipients herein investigated lead to an anodic shift for CRV. Table 2 presents the displacements of first anodic peak potentials (ΔE_{p1a} , of electrochemical parameters, E_{p1a} and I_{p1a} , obtained for 1% CRV in the CP control and modified CPEs. The liquid excipients used were oleic acid (OA), sesame oil (SeO), canola oil (CO), safflower oil (SfO), and Plurol[®] (PI). The solid excipients were Emulium[®]22 (Emul), Compritol[®] (Cpt); and stearic acid (EA).

Table 2. E_{p1a} and I_{p1a} values obtained for 1% (m/m) CRV in the carbon paste electrode (CPE) control and different modified CPEs.

Excipients	E_{p1a} (V)	I_{p1a} (μ A)	ΔE_{p1a} (E_{p1a} -Cp Control E_{p1a})
CP control	0.625 ± 0.025	1.881 ± 0.285	—
Liquid Excipients			
CP ^{OA}	0.670 ± 0.004	5.679 ± 0.283	0.045
CP ^{SeO}	0.689 ± 0.062	1.937 ± 0.236	0.064
CP ^{CO}	0.706 ± 0.048	2.013 ± 0.490	0.081
^b CP ^{SfO}	0.727 ± 0.006	4.089 ± 0.179	0.102
^b CP ^{PI}	0.919 ± 0.001	3.105 ± 0.523	0.294
Solid Excipients			
CP ^{Emul}	0.660 ± 0.001	3.410 ± 2.405	0.035
^b CP ^{Cpt}	0.930 ± 0.010	0.205 ± 0.056	0.305
^b CP ^{EA}	1.043 ± 0.015	4.850 ± 1.816	0.418

^b One-way ANOVA and paired Student's T-test—probability of the null hypothesis (means are equal) smaller than the significance level ($\alpha = 0.05$).

From the positive values of ΔE_{p1a} , it can be inferred that the over potential required for CRV to undergo electrochemical oxidation is greater in the presence of lipophilic excipients. Beyond that, a lower tendency to undergo oxidative chemical reaction would also be expected. The greater I_{pa} values

may be attributed to greater dissolution of CRV or to enhancement of electron transfer kinetics in the presence of the excipient. Both aspects would favor chemical reaction. Moreover, stearic acid, Compritol[®], Plurol[®], and safflower carbon pastes showed statistical difference (ANOVA and paired Student's T-test).

Hence, together with the electroactive character, modifiers can alter the electrochemical properties, thus leading to noticeable changes for E_{pa} and I_{pa} , of the CPs (Table 1), when submitted to electrochemical impedance spectroscopy (EIS) study using the potassium ferri/ferrocyanide system as redox probe (Figure 4).

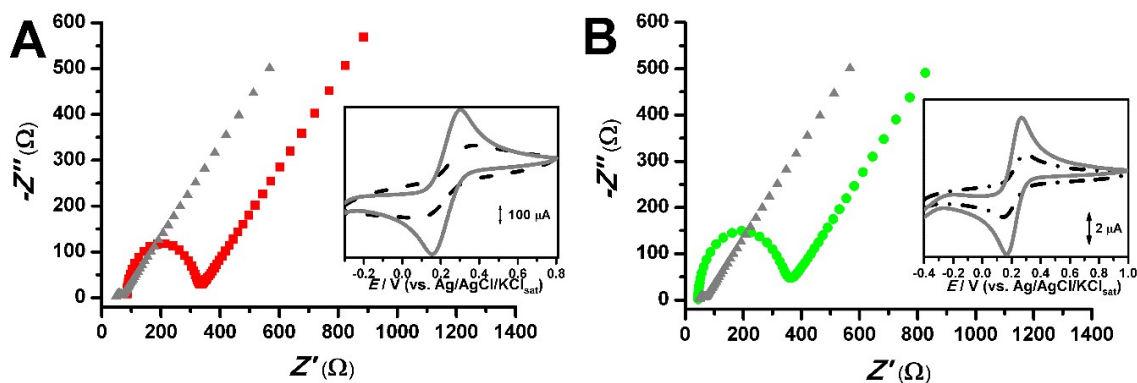


Figure 4. Electrochemical impedance Nyquist plots of CP control (\blacktriangle). (A) CP^{PI20%} (\blacksquare) and (B) CP^{EA7%} (\bullet). Insert: the related cyclic voltammetry (CV) scans. CP control (—), CP^{PI20%} (---), and CP^{EA7%} (-•-). All CV and electrochemical impedance spectroscopy (EIS) assays were performed with 0.05 mol.L⁻¹ potassium ferri/ferrocyanide in 0.1 mol L⁻¹ KCl solution.

As shown in Figure 4, the CV scans obtained for ferri/ferrocyanide probe were slightly distorted when the Nujol[®] fraction of CP was modified with 20% of Plurol[®] isostearic. This fact is attributed to increasing resistivity of CP material, being evidenced in the Nyquist plot, in which the arc for CPE^{PI20%} is far higher than the one observed for the CPE control (Figure 4 and Table 1).

An enhancement of solution resistance (R_s) and charge transfer resistance (R_{ct}) was observed for other CPEs. The related EIS data of Randles circuit parameters are presented in Table 3. It is possible to assert that each lipophilic agglutinant altered the conducting and capacitive properties of electrodes in different ways, which could have to shifting of both E_{pa} and I_{pa} parameters.

Table 3. Randles equivalent circuit elements for each electrode system evaluated.

Circuit Elements	Nujol [®]	CPE ^{PI20%}	CPE ^{EA7%}
R_s	48.78 Ω	85.25 Ω	44.79 Ω
R_{ct}	17.31 Ω	232.75 Ω	291.5 Ω
C	5.95 μF	1.89 μF	1.04 μF
Y	5.63 mMho.s ^{1/2}	3.94 mMho.s ^{1/2}	1.82 mMho.s ^{1/2}

Solution resistance (R_s); charge transfer resistance (R_{ct}); pseudo-capacitance of the system (C); admittance (Y).

2.3. Effect of Time and Temperature

Aiming to evaluate the impact of lipophilic excipients on CRV chemical stability, different CPEs were studied as a function of time at room temperature (25 ± 2 °C; Figure 5), and under conditions of forced thermal degradation (Figure 6). In this study, the target modified CPs were the ones that presented greater ΔE_{p1a} values.

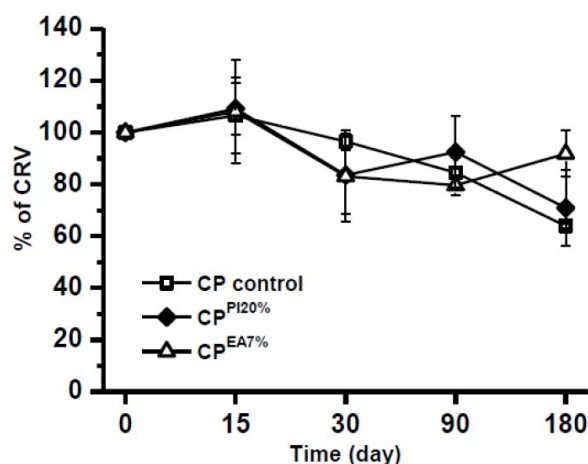


Figure 5. Results shown for CRV decay in different CPs stored at room temperature for up to 180 days.

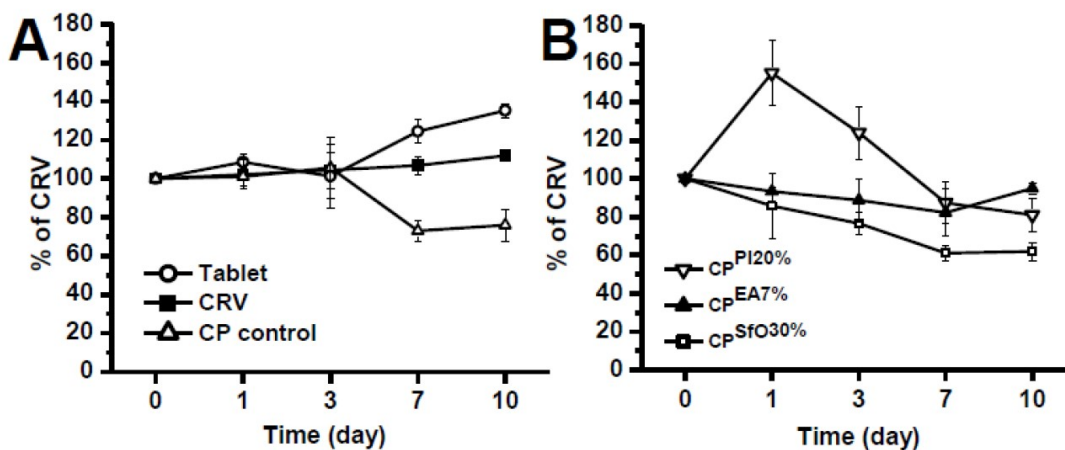


Figure 6. Results shown for CRV decay in different CPs binary systems at a 50 °C (A) and under darkness for up to 10 days of storage (B).

Each binary system was stored at room temperature (25 ± 2 °C) and under darkness from 0 to 180 days, whereas the drug decay was checked over this timeframe, utilizing DPV analysis. Also, some samples were stressed at 50 °C to evaluate the effect of temperature in combination with compatibility.

It is possible to see in Figure 5 that CRV showcased suitable stability even after 180 days of storage at room temperature (25 ± 2 °C). The variance of the degradation curves (Figure 5) was tested utilizing chi-squared test (Table S1). No variances showed any significant statistical difference (probability of null hypothesis, that variances are equal, greater than the significance level α 0.05), except for Plurol[®] isostearic. This effect may be attributed to the lack of solubility of CRV; thus, the tested oils showed a similar degradation profile.

The calibration graph obtained at solid state for increasing amounts of CRV in the CP control as well as in each modified CP, allowed DPV decay determination. The greatest stability was achieved for stearic acid, in which more than 90% of CRV was recovered. The results obtained are in agreement with the greatest value of over potential, in which the anodic shift, $\Delta E_{p1a} = 0.418$ V, for stearic acid (Table 3) is also the greatest.

To evaluate the effect of higher temperatures on the CRV decay in CP binary systems, forced degradation studies were performed. The target samples were CPEs containing binary mixtures of 1% CRV and safflower 30%, Plurol[®] isostearic 20%, or stearic acid 7% as well as CPs prepared with crushed tablets of CRV. Results are displayed in Figure 6.

It can be observed in Figure 6A that CPEs containing the crushed tablet were more stable than pure CRV dispersed in Nujol[®], the PC control. This fact might relate with stabilizing agents present in tablet. In Figure 6B, it was observed an initial peak current increase for CRV in CP^{PI20%}, which can be attributed to inner dissolution of the active compound. The other CP mixtures showed a similar behavior compared to the CRV in CP control.

3. Discussion

The electrochemical characterization of CPEs prepared with different proportions (10–30% for liquids, 1.5–7% for solids) of the distinct lipid excipients, was performed in order to determine their solid-state electrochemical behavior. This procedure is necessary to avoid mistakes on the drug–excipient compatibility evaluation. For instance, for electroactive excipients, the inherent anodic peaks must be prior known, whereas in the case of non-electroactive species, the resistivity increasing of the agglutinating system could also lead to misunderstandings. Likewise, the electrochemically inert compounds would be new alternatives of agglutinating systems to prepare pseudo-CP electrodes.

The lack of electroactive character, as well as, the negligible impact on the conducting properties in comparison to CP control (Table 1), enable such excipients to be used as alternative agglutinant oils.

This fact can be attributed to the formation of an emulsified system able to disturb the graphite matrix of the CP. Indeed, the surfactant character may also explain the increment observed for capacitive current in CP^{PI30%} (Figures 2A and 3C).

Plurol[®] is a polyglycerol ester with HLB (hydrophilic lipophilic balance) of ca. 9, conferring to this compound, the higher surfactant properties among the target lipophilic excipients, herein investigated [22]. The surfactant property, the electron donor character of the long aliphatic chains becomes the unsaturated bonds and hydroxyl groups oxidizable at lower potentials, thus explaining the anodic peaks, 1a and 2a (Figures 2A and 3).

Due to the complete saturation of the aliphatic chain, the mineral oil (Nujol[®]), is expected to be the most inert agglutination system.

Therefore, the EIS and voltammetric characterization of modified CPEs is mandatory to avoid misinterpretations concerning the impact of each excipient on the CRV oxidation. Therefore, the thermodynamic (E_{pa}) and kinetic (I_{pa}) electrochemical parameters may be evaluated taking this fact into account.

The CRV increase observed for CP^{PI20%} (Figure 6B) may be attributed to the solubilization process of the drug in this binary system, resulting from the highest temperature and from the surfactant properties of Plurol[®] isostearic. Meanwhile, the greater the molecular dispersion, the greater the vulnerability to undergo chemical reactions. This may explain the further decay observed after 3 days of storage.

According to Silva et al. [14], CRV is compatible with stearic acid, Emulium[®], Plurol[®] isostearic, and Compritol[®]. These authors used analytical techniques such as DTA, DSC, FTIR, and HPLC analysis to draw these conclusions, which are in agreement with data from cyclic voltammetry measurements.

Additionally, the electrochemical analysis indicated that stearic acid and Plurol[®] isostearic lead to a higher oxidation potential for CRV and, as a consequence, they have a higher protective effect against CRV oxidation.

Silva et al. [14] also reported that Capmul[®] MCM and oleic acid are incompatible with CRV. Similar findings were reported in the present study, since oleic acid showed the lowest potential shift associated with the highest oxidation current peak, indicating that this excipient makes the CRV more prone to be oxidized. Canola and safflower oils are composed of a great amount of oleic acid and showed similar findings. In turn, sesame oil has in its composition an appreciable extent of antioxidants (sesamin, sesamol, and sesaminol), which may confer higher oxidative stability. Together, the electrochemical results gathered in this study are in agreement with previously- published data, indicating the potential use of the electrochemical method to investigate drug–excipient compatibility, thus expanding the applications of solid-state voltammetry [23].

4. Materials and Methods

4.1. Reagents and Solutions

Carvedilol (CRV), 99.27% purity, was supplied by Chengtai Shenyang Fine Chemical Factory (China). Graphite, mineral oil (Nujol[®]) and stearic acid were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, USA). Oleic acid was purchased from Labsynth LTDA (Brazil). Compritol[®] 888 ATO (glyceryl behenate, GB), Plurol[®] isostearic (polyglyceryl-6-isostearate), Emulium[®]22 (tribehenin PEG-20 esters) and Capmul[®] MCM (glyceryl caprylate/caprate) were kindly donated by Gattefossé (France). Canola oil was provided by Cargil Agrícola S.A. (Brazil), safflower oil was purchased from Pазze Indústria de Alimentos LTDA (Brazil), and sesame oil from Croda (Brazil).

Potassium ferrocyanide, $K_4[Fe(CN)_6] \cdot 3H_2O$ and potassium phosphate salts (analytical grade), were purchased from Vetec Química Fina Ltd. (Rio de Janeiro, Brazil) and diluted in purified water in order to reach a final concentration of 0.05 mol L^{-1} . Thereafter, KCl was added to this solution up to a concentration of 0.1 mol L^{-1} . The 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution (pH 7.0) was prepared with ultra-pure Milli-Q water (Millipore S.A. Molsheim, France, conductivity $\leq 0.1 \mu\text{S cm}^{-1}$).

4.2. Electrochemical Assays of Stability and Compatibility

4.2.1. Voltammetric Assays

Voltammetric measurements were performed using a potentiostat/galvanostat PGSTAT[®] model 204 with module FRA32M (Metrohm Autolab) integrated with NOVA 2.1[®] software. The measurements were performed in a 25 mL one-compartment electrochemical cell, with a three-electrode system consisting of carbon-paste electrodes (CPEs) described in Table 1, and Pt wire and Ag/AgCl/KCl_{sat} (both purchased from Lab solutions, São Paulo, Brazil) representing the working, counter, and reference electrode, respectively. The carbon paste was mechanically renewed with every new analysis performed.

The experimental conditions for differential pulse voltammetry (DPV) were as follows: pulse amplitude = 25 mV, pulse width = 0.5 s, and scan rate = 10 mV s^{-1} . The experimental conditions for cyclic voltammetry (CV) were as follows: scan rate = 50 mV s^{-1} and scan range from -0.4 to 1.4 V . The DPV were background-subtracted and baseline-corrected, and then all data were analyzed and treated with the software Origin 8[®]. All experiments were performed at room temperature ($25 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$) in triplicate ($n = 3$) and the main electrolyte used was the 0.1 mol L^{-1} KCl, 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer solution (PBS) at pH 7.0.

4.2.2. EIS Characterization

Electrochemical impedance spectroscopy (EIS) measurements were conducted in a solution containing 0.05 mol L^{-1} potassium ferrocyanide in 0.1 mol L^{-1} KCl over a frequency ranging from 0.1 Hz to 100 kHz at selected potentials for sensors.

4.3. Electrochemical Evaluation of Oxidative Stability of Lipophilic Compounds

The vulnerability to undergo spontaneous oxidation is inwardly related to anodic peak potential, E_{pa} , which was obtained utilizing solid-state voltammetry. This can be implied due to the relationship between Gibbs free energy and the electric potential, as stated by several authors [23]. In this context, the target compounds, drugs, and selected lipophilic excipients were incorporated as modifiers in carbon-paste electrodes (CPE). The carbon pastes (CP) were composed of graphite powder and mineral oil or other modified agglutinating system that was composed by using different proportions of the target samples (Table 1).

The liquid CP modifiers were rigorously mixed with graphite powder by spatulation technique. The solid modifiers were homogenized before dispersion in the mineral oil fraction. In the next step, the CP mixtures (Table 1) were inserted in the supporting CP electrode (E), which consisted in Teflon tube centrally pierced by 2 mm diameter copper wire, to leave a cavity of 2 mm diameter and 0.5 mm depth.

The resulting CPEs were immersed in buffer solutions for 5 min before electrochemical assays, to allow CP conditioning. In these studies, the anodic peak current, I_{pa} (kinetic parameter) and anodic peak potential, E_{pa} , (thermodynamic parameter) of each component, as well as their effect on the electrode conductivity, were carefully evaluated utilizing voltammetric and EIS techniques.

4.3.1. Electrochemical Evaluation of Redox Compatibility

The effect of each excipient on the drug redox stability was evaluated at CPE, in which 1 mg of CRV was homogeneously dispersed into binary agglutinating systems (Table 1), before mixing with graphite powder. The drug thermodynamic tendency to suffer redox reactions (electron donor ability) is expressed by the negative shifting of the anodic peak. In turn, the electron transfer kinetics, when the amount of electroactive species is kept constant, is expressed by peak current values. The impact of each lipophilic excipient on CRV redox behavior expresses their compatibility and was evaluated in the light of such electrochemical parameters.

Effect of Time and Temperature

The stability of binary mixtures of CRV and different lipid excipients (Table 1), was evaluated utilizing DPV, in the function of time at room temperature (25 ± 2 °C). The effect of isothermal stress was also evaluated by submitting each CP binary system to 50 °C for 10 days. All necessary controls were evaluated.

4.4. Statistical Analysis

To evaluate the analytical data, statistical tests consisting of chi-square (for variance), paired Student's T-test, and ANOVA (for average) were performed. All statistical analysis was performed in Origin 9.0[®] software package (Northampton, MA, USA). The confidence interval was set to 0.95 and statistical significance was attributed to $p < 0.05$.

5. Conclusions

The electroanalytical techniques, such as cyclic and differential pulse voltammetry, at solid-state, showed to be useful tools to evaluate the drug–excipient compatibility of lipophilic compounds. Moreover, the aforementioned analytical methods can be extended to predict drug stability against oxidative reactions. In this context, it was also found that some vegetable oils could replace mineral oil as an agglutinating system. Furthermore, among the lipophilic excipients, Plurol[®] isostearic and estearic acid, presented the greatest values of ΔE_{p1a} , corroborating with stability studies in binary systems obtained by other methods. Therefore, electroanalysis can also be explored as a complementary tool in compatibility and stability studies, especially when redox process is strongly related to chemical degradation.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/1424-8247/13/4/70/s1>, Table S1. Statistical analysis of the degradation profile of the tested oils.

Author Contributions: Conceptualization, E.d.S.G. and M.F.d.C.; methodology, M.F.d.C., K.C.d.S.L., and L.F.G.; validation, K.R.R. and C.E.P.d.C.; formal analysis, M.F.d.C., I.Y.L.d.M., and L.F.G.; investigation, E.d.S.G. and M.F.d.C.; resources, E.d.S.G. and R.N.M.; Writing—original draft preparation, M.F.d.C., M.T.d.O., and F.B.M.; Writing—review and editing, M.T.d.O., R.O.d.C., V.S., and E.d.S.G.; visualization, K.C.d.S.L. and R.N.M.; supervision, E.d.S.G. and L.F.G.; project administration, E.d.S.G. and R.N.M.; funding acquisition, E.d.S.G. and R.N.M. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was partially funded by FAPEG [Pronem N^o 07/2016], Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior-Brazil (CAPES) and CNPq [304676/2017-9].

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Helal, M.G.; Said, E. Carvedilol attenuates experimentally induced silicosis in rats via modulation of P-AKT/mTOR/TGF β 1 signaling. *Int. Immunopharmacol.* **2019**, *70*, 47–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Abuosa, A.M.; Elshiekh, A.H.; Qureshi, K.; Abrar, M.B.; Kholeif, M.A.; Kinsara, A.J.; Andejani, A.; Ahmed, A.H.; Cleland, J.G.F. Prophylactic use of carvedilol to prevent ventricular dysfunction in patients with cancer treated with doxorubicin. *Indian Heart J.* **2018**, *70*, S96–S100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Pereira, T.F.D.; Da Silva, A.T.M.; Borges, K.B.; Nascimento, C.S. Carvedilol-imprinted polymer: Rational design and selectivity studies. *J. Mol. Struct.* **2019**, *1177*, 101–106. [[CrossRef](#)]
4. Singh, B.; Singh, R.; Bandyopadhyay, S.; Kapil, R.; Garg, B. Optimized nanoemulsifying systems with enhanced bioavailability of carvedilol. *Colloids Surf. B Biointerfaces* **2013**, *101*, 465–474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Alonso, E.C.P.; Riccomini, K.; Silva, L.A.D.; Galter, D.; Lima, E.M.; Durig, T.; Taveira, S.F.; Martins, F.T.; Cunha-Filho, M.S.S.; Marreto, R.N. Development of carvedilol-cyclodextrin inclusion complexes using fluid-bed granulation: A novel solid-state complexation alternative with technological advantages. *J. Pharm. Pharmacol.* **2016**, *68*, 1299–1309. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Sharma, A.; Jain, C.P.; Tanwar, Y.S. Preparation and characterization of solid dispersions of carvedilol with poloxamer 188. *J. Chil. Chem. Soc.* **2013**, *58*, 1553–1557. [[CrossRef](#)]
7. Gannu, R.; Vishnu, Y.V.; Kishan, V.; Rao, Y.M. In vitro permeation of carvedilol through porcine skin: Effect of vehicles and penetration enhancers. *PDA J. Pharm. Sci. Technol.* **2008**, *62*, 256–263.
8. Taveira, S.F.; Varela-Garcia, A.; Dos Santos Souza, B.; Marreto, R.N.; Martin-Pastor, M.; Concheiro, A.; Alvarez-Lorenzo, C. Cyclodextrin-based poly(pseudo)rotaxanes for transdermal delivery of carvedilol. *Carbohydr. Polym.* **2018**, *200*, 278–288. [[CrossRef](#)]
9. El-Say, K.M.; Hosny, K.M. Optimization of carvedilol solid lipid nanoparticles: An approach to control the release and enhance the oral bioavailability on rabbits. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0203405. [[CrossRef](#)]
10. Arregui, J.R.; Kovvasu, S.P.; Kunamaneni, P.; Betageri, G. V Carvedilol solid dispersion for enhanced oral bioavailability using rat model. *J. Appl. Pharm. Sci.* **2019**, *9*, 42–50.
11. Zaid Alkilani, A.; Hamed, R.; Al-Marabeh, S.; Kamal, A.; Abu-Huwaij, R.; Hamad, I. Nanoemulsion-based film formulation for transdermal delivery of carvedilol. *J. Drug Deliv. Sci. Technol.* **2018**, *46*, 122–128. [[CrossRef](#)]
12. Meng, D.; Li, Z.; Wang, G.; Ling, L.; Wu, Y.; Zhang, C. Carvedilol attenuates liver fibrosis by suppressing autophagy and promoting apoptosis in hepatic stellate cells. *Biomed. Pharmacother.* **2018**, *108*, 1617–1627. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Kajdič, S.; Vrečer, F.; Kocbek, P. Preparation of poloxamer-based nanofibers for enhanced dissolution of carvedilol. *Eur. J. Pharm. Sci.* **2018**, *117*, 331–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Silva, L.A.D.; Teixeira, F.V.; Serpa, R.C.; Esteves, N.L.; Dos Santos, R.R.; Lima, E.M.; Da Cunha-Filho, M.S.S.; De Souza Araújo, A.A.; Taveira, S.F.; Marreto, R.N. Evaluation of carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems. *J. Therm. Anal. Calorim.* **2016**, *123*, 2337–2344. [[CrossRef](#)]
15. Chadha, R.; Bhandari, S. Drug-excipient compatibility screening-role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2014**, *87*, 82–97. [[CrossRef](#)]
16. Jamrógiewicz, M.; Pieńkowska, K. Recent breakthroughs in the stability testing of pharmaceutical compounds. *TrAC Trends Anal. Chem.* **2019**, *111*, 118–127. [[CrossRef](#)]
17. Zilker, M.; Sörgel, F.; Holzgrabe, U. A systematic review of the stability of finished pharmaceutical products and drug substances beyond their labeled expiry dates. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2019**, *166*, 222–235. [[CrossRef](#)]
18. Sengupta, P.; Chatterjee, B.; Tekade, R.K. Current regulatory requirements and practical approaches for stability analysis of pharmaceutical products: A comprehensive review. *Int. J. Pharm.* **2018**, *543*, 328–344. [[CrossRef](#)]
19. Costentin, C.; Savéant, J.M. Theoretical and mechanistic aspects of proton-coupled electron transfer in electrochemistry. *Curr. Opin. Electrochem.* **2017**, *1*, 104–109. [[CrossRef](#)]
20. Torres, S.; Brown, R.; Szucs, R.; Hawkins, J.M.; Zelesky, T.; Scrivens, G.; Pettman, A.; Taylor, M.R. The application of electrochemistry to pharmaceutical stability testing—Comparison with in silico prediction and chemical forced degradation approaches. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2015**, *115*, 487–501. [[CrossRef](#)]

21. Jaikaew, W.; Ruff, A.; Khunkaewla, P.; Erichsen, T.; Schuhmann, W.; Schulte, A. Robotic microplate voltammetry for real-time hydrogel drug release testing. *Anal. Chim. Acta* **2018**, *1041*, 33–39. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Djekic, L.; Primorac, M. The influence of cosurfactants and oils on the formation of pharmaceutical microemulsions based on PEG-8 caprylic/capric glycerides. *Int. J. Pharm.* **2008**, *352*, 231–239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Gonçalves, D.; Couto, R.O.; Conceição, E.C.; Reis, N.S.; Gil, E.S. Solid state differential pulse voltammetry (DPV) from spots of thin layer chromatography (TLC): A new method for analysis of antioxidant phytoactives. *Quimica Nova* **2011**, *34*, 330–334.



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As técnicas eletroanalíticas, como a voltametria cíclica e de pulso diferencial, no estado sólido, mostraram ser um método alternativo e promissor para avaliar a compatibilidade excipiente-fármaco de compostos lipofílicos. Além disso, esses métodos podem ser estimados para prever a estabilidade do medicamento a sofrer reações oxidativas. No entanto, a caracterização prévia do eletrodo por meio de voltametria e da espectroscopia de impedância eletroquímica, é obrigatória para evitar interpretações errôneas.

Verificou-se também que alguns óleos vegetais podem ser utilizados para substituir o óleo mineral como sistema aglutinante. Entre os excipientes lipídicos, o Plurol® isostearique e o ácido estearico, apresentaram os maiores valores de ΔE_{p1a} , o que estava de acordo com os estudos de estabilidade em sistemas binários. Portanto, a eletroanálise também pode ser explorada como uma técnica complementar em estudos de compatibilidade e estabilidade, principalmente quando o processo redox está fortemente relacionado à degradação química.

ABDEL-RAHEEM, M. H., SALIM, S. U., MOSAD, E., AL-RIFAAY, A., SALAMA, H. S., & HASAN-ALI, H. Antiapoptotic and antioxidant effects of Carvedilol and vitamin e protect against diabetic nephropathy and cardiomyopathy in diabetic Wistar albino rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 47, n. 2, p. 97–106, 2015.

ALVES, J. M. V.; PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Evaluation and correlation of the physicochemical properties of Carvedilol. **Pharmaceutical Development and Technology**, v. 21, n. 7, p. 856–866, 2016.

AMIRSHAHROKHI, K., & KHALILI, A. R. Carvedilol attenuates paraquat-induced lung injury by inhibition of proinflammatory cytokines, chemokine MCP-1, NF-κB activation and oxidative stress mediators. **Cytokine**, v. 88, p. 144–153, 2016.

ANTUNES, R. S.; FERRAZ, D.; GARCIA, L. F.; THOMAZ, D. V.; LUQUE, R.; LOBÓN, G. S.; GIL, E. S.; LOPES, F. M. Development of a polyphenol oxidase biosensor from jenipapo fruit extract (*Genipa americana L.*) and determination of phenolic compounds in textile industrial effluents. **Biosensors**, v. 8, n. 47, p. 1-9, 2018.

APPLEBY, A. J. Electrochemical energy—progress towards a cleaner future: lead/acid batteries and the competition. **Journal of power sources**, v. 53, n. 2, p. 187-197, 1995.

BENJAMIN, S. R. **Desenvolvimento de métodos eletroanalíticos para avaliação da capacidade antioxidante**. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Inovação Farmacêutica. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2016.

BORBA, P. A. A., DALLA Vecchia, D., RIEKES, M. K., PEREIRA, R. N., TAGLIARI, M. P., SILVA, M. A. S., ... & STULZER, H. K. Pharmaceutical approaches involving carvedilol characterization, compatibility with different excipients and kinetic studies. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2507-2515, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Prevenção clínica de doenças cardiovasculares, cerebrovasculares e renais / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica.

56 p. - **Cadernos de Atenção Básica**; 14 (Série A. Normas e Manuais Técnicos). Brasília: Ministério da Saúde, 2006.

BRASIL. Resolução da Diretoria Colegiada nº 37 de 6 de julho de 2009. Trata da admissibilidade das Farmacopéias estrangeiras. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/33880/2568070/res0037_06_07_2009.pdf/be487de-4eb5-413d-913b-4c71b3109ec6. Acessado em: 18 de janeiro de 2013.

BRETT, A. M. C. F. O.; BRETT, C. M. A. **Electroquímica: princípios, métodos e aplicações**. Coimbra: Almedina, 1996.

BUSSY, U.; BOISSEAU, R., THOBIE-GAUTIER, C., & BOUJTITA, M. Electrochemistry-mass spectrometry to study reactive drug metabolites and CYP450 simulations. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, v. 70, p. 67-73, 2015.

CAMPOS-SILVA, I. E.; RODRÍGUEZ-CASTRO, G.A. Boriding to improve the mechanical properties and corrosion resistance of steels, Thermochemical Surface Engineering of Steels. **Woodhead Publishing**, p. 651-702, 2015.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug–excipient compatibility screening—role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 87, p. 82-97, 2014.

CHANDER, C. P.; RAJU, B.; SULTHANA, A.; SRINIVAS, R. LC–ESI–MS/MS study of carvedilol and its stress degradation products. **Analytical Methods**, v. 5, n. 17, p. 4330-4335, 2013.

DA SILVEIRA, L. M. *et al.* Drug-excipient compatibility assessment of solid formulations containing meloxicam. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 112, p. 146-151, 2018.

DANDONA, P.; GHANIM, H.; & BROOKS, D. P. Antioxidant activity of Carvedilol in cardiovascular disease. **Journal of Hypertension**, v. 25, n. 4, p. 731–741, 2007.

DIOGO, C. V.; DEUS, C. M.; LEBIEDZINSKA-ARCISZEWSKA, M.; WOJTALA, A.;

WIECKOWSKI, M. R.; OLIVEIRA, P. J. Carvedilol and antioxidant proteins in a type I diabetes animal model. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 47, n. 1, p. 19–29, 2017.

DOGAN, B.; OZKAN, S. A. Electrochemical behavior of Carvedilol and its adsorptive stripping determination in dosage forms and biological fluids. **Electroanalysis**, v. 17, n. 22, p. 2074–2083, 2005.

EASTON, E. B.; FRUEHWALD, H. M.; RANDLE, R.; SALEH, F. S.; EBRALIDZE, I. I. Probing the degradation of carbon black electrodes in the presence of chloride by electrochemical impedance spectroscopy. **Carbon**, 2020.

EL-SAYED, F. A. L.; MOHAMED, T. A.; TAHA, A. E. Spectrofluorimetric determination of carvedilol in dosage form and spiked human plasma through derivatization with 1-dimethylaminonaphthalene-5-sulphonyl chloride. **Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ**, v. 16, n. 1, p. 31-38, 2010.

FARMACOPEIA Brasileira, Volume 1, 6^a ed. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Brasília: Editora Fiocruz, 2019.

FRANCESCO, C. Modeling electrochemical impedance spectroscopy, **Current Opinion in Electrochemistry**, v. 13, pp. 132-139, 2019.

GALANOPOULOU, O.; ROZOU, S.; ANTONIADOU-VYZA, E. HPLC analysis, isolation and identification of a new degradation product in carvedilol tablets. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 48, n. 1, p. 70-77, 2008.

GAMRY. Basics of electrochemical impedance spectroscopy. <https://www.gamry.com/application-notes/EIS/basics-of-electrochemical-impedance-spectroscopy/>. Acesso em 21 de março de 2019.

GARCIA, L. F.; CUNHA, C. E. P. da; MORENO, E. K. G.; THOMAZ, D. V.; LOBÓN, G. S.; LUQUE, R.; SOMERSET, V.; GIL, E. de S. Nanostructured TiO₂ carbon paste based sensor for determination of methyl dopa. **Pharmaceuticals**, v.11, n. 99, p. 1-11, 2018.

HAN, Y.; WANG, J.; ZHANG, H.; ZHAO, S.; MA, Q.; WANG, Z. Electrochemical impedance spectroscopy (EIS): An efficiency method to monitor resin curing processes. **Sensors and Actuators A: Physical**, v. 250, p. 78-86, 2016.

HIENDRAWAN, S.; WIDJOJOKUSUMO, E.; VERIANSYAH, B.; TJANDRAWINATA, R. R. Pharmaceutical Salts of Carvedilol: Polymorphism and Physicochemical Properties. **AAPS PharmSciTech**, n. 13, 2016.

IPTÉ, P. R., SAHOO, S., & SATPATI, A. K. Spectro-electrochemistry of ciprofloxacin and probing its interaction with bovine serum albumin. **Bioelectrochemistry**, 2019.

KHANUM, R.; THEVANAYAGAM, H. Lipid peroxidation: Its effects on the formulation and use of pharmaceutical emulsions. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 12, n. 5, p. 401–411, 2017.

LANZANOVA, F. A. **Carvedilol – estudos de estabilidade e perfil de dissolução**. 2007. Dissertação de Mestrado-Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

LANZANOVA, F. A.; ARGENTA, D.; AREND, M. Z.; JUNIOR, L. B.; CARDOSO, S. G. LC and LC-MS evaluation of stress degradation behavior of carvedilol. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies®**, v. 32, n. 4, p. 526-543, 2009.

LEITE, K. C. de S. **Caracterização eletroquímica do composto LQFM-091, obtido por hibridação molecular a partir dos protótipos nimesulida e BF-389**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2015.

LEITE, K. C. DE S.; GARCIA, L. F.; LOBÓN, G. S.; THOMAZ, D. V.; MORENO, E. K. G.; CARVALHO, M. F.; ROCHA, M. L.; SANTOS, W. T. P.; GIL, E. S. Antioxidant activity evaluation of dried herbal extracts: na electroanalytical approach. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 28, p. 325–332, 2018.

LINO, F. M. A.; SÁ, L. Z. DE; TORRES, I. M. S.; *et al.* Voltammetric and spectrometric determination of antioxidant capacity of selected wines. **Electrochimica Acta**, v. 128, p.

25–31, 2014.

MACÊDO, I. Y. L. de; GARCIA, L. F.; MENEGATTI, R.; GUIMARÃES, F. F.; LIÃO, L. M.; CARVALHO, F. S.; SANTOS, W.T. P. dos; VERLY, R. M.; AROTIBA, O. A.; GIL, E. de S. Electrochemical characterizations of darbufelone, a di-tertbutylphenol derivative, by voltammetric techniques and density functional theory calculations. **Electrochimica Acta**, v. 268, p. 462-468, 2018.

MACÊDO, I. Y. L. de; GARCIA, L. F.; OLIVEIRA NETO, J. R.; *et al.* Electroanalytical tools for antioxidant evaluation of red fruits dry extracts. **Food Chemistry**, v. 217, p. 326–331, 2017.

MACÊDO, I. Y. L. **Determinação de piroxicam por voltametria de pulso diferencial em eletrodo de pasta de carbono modificado com nanopartículas de perovskita LaFeO₃ e eletrodo de mina grafite**. 69 f. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2017.

MAHMOUD, E. A.; BENDAS, E. R.; MOHAMED, M. I. Preparation and evaluation of self-nanoemulsifying tablets of Carvedilol. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 1, p. 183–92, 2009.

MALIG, T. C.; ASHKIN, M. R.; BURMAN, A. L.; BARDAY, M.; HEYNE, B. J. M.; BACK, T. G. Comparison of free-radical inhibiting antioxidant properties of Carvedilol and its phenolic metabolites. **MedChemComm**, v. 8, n. 3, p. 606–615, 2017.

MANOHAR, S. D; SRIDHAR, D. A.; MALLIKARJUNA, S. C. Development of UV spectrophotometric method for estimation of carvedilol in bulk and pharmaceutical formulations. **Asian journal of research in chemistry**, v. 6, n. 10, p. 956-959, 2013.

MEDVEDOVICI, A.; ALBU, F.; GEORGITA, C.; SORA, D. I.; GALAON, T.; UDRESCU, S.; DAVID, V. Achiral–chiral LC/LC–FLD coupling for determination of carvedilol in plasma samples for bioequivalence purposes. **Journal of Chromatography B**, v. 850, n. 1-2, p. 327-335, 2007.

MEI, B. A.; LAU, J.; LIN, T.; TOLBERT, S. H.; DUNN, B. S.; PILON, L. Physical interpretations of electrochemical impedance spectroscopy of redox active electrodes for

electrical energy storage. **The Journal of Physical Chemistry C**, v. 122, n. 43, p. 24499-24511, 2018.

MEIRA, L. H. R. *et al.*; Thermodynamic compatibility between cyclodextrin supramolecular complexes and surfactant. **International journal of pharmaceutics**, v. 544, n. 1, p. 203-212, 2018.

MELATAGUIA, F. M. T. **Novel composite electrodes: Preparation and application to the electroanalytical study of two pharmaceutically active molecules, viz. mangiferin and quercetin**. Tese de Doutorado. 2016. DOI: 10.13140/RG.2.1.3892.8881.

NARANG, A. S.; MANTRI, R. V.; RAGHAVAN, K. S. Excipient Compatibility and Functionality. In: QIU, Y *et al.*, **Developing Solid Oral Dosage Forms**. Academic Press, p. 151-179, 2017.

NARDOTTO, G. H. B.; COELHO, E. B.; MARQUES, M. P.; LANCHOTE, V. L. Chiral analysis of Carvedilol and its metabolites hydroxyphenyl Carvedilol and O-desmethyl Carvedilol in human plasma by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Application to a clinical pharmacokinetic study. **Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences**, v. 1015–1016, p. 173–180, 2016.

NAYABANIYA, A.; SEETHARAMAN, R.; LAKSHMI, K. S. Spectrophotometric Determination of Carvedilol in Bulk drug and its Formulation by Multivariate Calibration Technique. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, v. 13, n. 2, p. 915-922, 2020.

OHNO, A.; SAITO, Y.; HANIOKA, N.; JINNO, H.; SAEKI, M.; ANDO, M.; OZAWA, S.; SAWADA, J.-I. Involvement of human hepatic UGT1A1 , UGT2B4 ,and UGT2B7 in the glucuronidation of Carvedilol. **Pharmacology**, v. 32, n. 2, p. 235–239, 2004.

OLIVEIRA NETO, J. R. de. **Potencial antioxidante e atividade vasodilatadora de cervejas comerciais**. 93 f. Tese doutorado. Programa de Pós-Graduação em Inovação Farmacêutica. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2017.

OLIVEIRA, P. J.; GONÇALVES, L.; MONTEIRO, P.; PROVIDENCIA, L. A.; MORENO, A. J. Are the antioxidant properties of Carvedilol important for the protection of cardiac mitochondria? **Current Vascular Pharmacology**, v. 3, n. 2, p. 147–158, 2005.

OUYANG, Y.; CHEN, Z.; TAN, M.; LIU, A.; CHEN, M.; LIU, J.; FANG, J. Carvedilol, a third-generation β -blocker prevents oxidative stress-induced neuronal death and activates Nrf2/ARE pathway in HT22 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 441, n. 4, p. 917–922, 2013.

PACHECO, W. F.; SEMAAN, F. S.; ALMEIDA, V. G. K. DE. Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos Abstract : The present work presents a simple and didactic approach regarding some Voltametrias : Uma Breve Revisão Sobre os Conceitos. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 4, p. 516–537, 2013.

PATEL, P.; AHIR, K., PATEL, V., MANANI, L., PATEL, C. Drug-Excipient compatibility studies: First step for dosage form development. **The Pharma Innovation**, v. 4, n. 5, Part A, p. 14, 2015.

PIRES, F. Q.; ANGELO, T.; SILVA, J. K. R.; BARRETO, L. C. L. S.; LIMA, E. M.; GELFUSO, G. M.; GRATIERI, T.; CUNHA-FILHO, M. S. S. Use of mixture design in drug-excipient compatibility determinations: thymol nanoparticles case study. **Journal of pharmaceutical and biomedical analysis**, v. 137, p. 196-203, 2017.

RADA, S. *et al.* Structural and electrochemical investigations of the electrodes obtained by recycling of lead acid batteries. **Journal of Electroanalytical Chemistry**, v. 780, p. 187-196, 2016.

RADI, A.; ELMOGY, T. Differential pulse voltammetric determination of carvedilol in tablets dosage form using glassy carbon electrode. **Il Farmaco**, v. 60, n. 1, p. 43-46, 2005.

RAHMAN, A.; HUSSAIN, A.; HUSSAIN, S.; AAMIR, M.; RAHMAN, A.; HUSSAIN, A.; MIRZA, M. A. Role of excipients in successful development of self-emulsifying/microemulsifying drug delivery system (SEDDS/SMEDDS). **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 39, n. 1, p. 1-19; 9045, 2013.

ROFOUEI, M. K.; KHOSHSAFAR, H.; KALBASI, R. J.; BAGHERI, H. A sensitive electrochemical sensor for the determination of carvedilol based on a modified glassy carbon electrode with ordered mesoporous carbon. **RSC advances**, v. 6, n. 16, p. 13160-13167, 2016.

ROJEK, B.; WESOLOWSKI, M. FTIR and TG analyses coupled with factor analysis in a compatibility study of acetazolamide with excipients. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 208, p. 285-293, 2019.

SCHILLER, R. Some Thermodynamics and Electrostatics With a View to Electrochemistry. In: WANDEL, K. **Encyclopedia of Interfacial Chemistry**. Elsevier, p. 246-257, 2018.

SILVA, L. A. D. **Desenvolvimento e avaliação de sistemas automicoemulsionáveis contendo Carvedilol pela técnica de termoextrusão**. 151 f. Tese de doutorado. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas. Universidade Federal de Goiás. Goiânia, GO, 2017.

SILVA, L. A. D.; TEIXEIRA, F. V.; SERPA, R. C.; *et al.* Evaluation of Carvedilol compatibility with lipid excipients for the development of lipid-based drug delivery systems. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 123, n. 3, p. 2337–2344, 2016.

SINGH, B.; SINGH, R.; BANDYOPADHYAY, S.; KAPIL, R.; GARG, B. Optimized nanoemulsifying systems with enhanced bioavailability of Carvedilol. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 101, p. 465–474, 2013.

TABRIZI, A. B.; YOUSEFZADEH, F. Spectrofluorimetric Determination of Atenolol and Carvedilol in Pharmaceutical Preparations after Optimization of Parameters Using Response Surface Methodology. **Pharmaceutical Sciences**, v. 25, n. 3, p. 262-267, 2019.

TALAVAT, L; GÜNER, A. Thermodynamic computational calculations for preparation 5-fluorouracil magnetic molecularly imprinted polymers and their application in controlled drug release. **Inorganic Chemistry Communications**, v. 103, p. 119-127, 2019

The United States Pharmacopeial Convention. Official Monographs, 2017. Disponível em: <http://www.uspnf.com/official-text/accelerated-revision-process/accelerated-revision->

history/Carvedilol.

THOMAZ, D. V.; LEITE, K. C. DE S.; MORENO, E. K. G.; GARCIA, L. F.; ALECRIM, M. F.; MACÊDO, I. Y. L.; CAETANO, M. P.; DE CARVALHO, M. F.; MACHADO, F. B.; GIL, E. de S. Electrochemical study of commercial black tea samples. **Internacional Journal Electrochemical Science**, v. 13, p. 5433 – 5439, 2018.

TSAI, W. T.; SUN, I. W. Electrodeposition of aluminum on magnesium (Mg) alloys in ionic liquids to improve corrosion resistance. Woodhead Publishing Series in Metals and Surface Engineering, Corrosion Prevention of Magnesium Alloys, **Woodhead Publishing**, p. 393-413, 2013.

WADHWA, J.; NAIR, A.; KUMRIA, R. Self emulsifying therapeutic system: A potential approach for delivery of lipophilic drugs. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 447–466, 2011.

WALKER, R. M.; DECKER, E. A.; MCCLEMENTS, D. J. Physical and oxidative stability of fish oil nanoemulsions produced by spontaneous emulsification: Effect of surfactant concentration and particle size. **Journal of Food Engineering**, v. 164, p. 10–20, 2015.

WOLFF, N.; HARTING, N.; RODER, F.; HEINRICH, M.; KREWER, U. Understanding nonlinearity in electrochemical systems. **The European Physical Journal Special Topics**, v. 227, n. 18, p. 2617-2640, 2019.

YILMAZ, B.; EKINCI, D. Voltammetric behavior of carvedilol in non-aqueous media and its analytical determination in pharmaceutical preparations. **Reviews in Analytical Chemistry**, v. 30, n. 3-4, p. 187-193, 2011.

YILMAZ, B.; KABAN, S. Determination of Carvedilol in Pharmaceutical Preparations by Square Wave and Differential Pulse Voltammetry Methods. **Lat. Am. J. Pharm**, v. 33, n. 4, p. 595-600, 2014.

ZHANG, J.; ZHOU, Q.; SMITH, C. D.; CHEN, H.; TAN, Z.; CHEN, B.; CHEN, S. R. W. Non- -blocking R-Carvedilol enantiomer suppresses Ca²⁺ waves and stress-induced ventricular tachyarrhythmia without lowering heart rate or blood pressure. **Biochemical**

Journal, v. 470, n. 2, p. 233–242, 2015.

ZHANG, Z.; YAN, J., MA, D., SUN, J. Electrochemical synthesis of β -hydroxy-, β -alkoxy-, and β -carbonyloxy sulfones by vicinal difunctionalization of olefins. **Chinese Chemical Letters**, 2019

ZHAO, Y.; MA, X.; WANG, Z.; XU, T.; WU, W.; FONG, H. Electrospun TiC/C composite nanofibrous felt and its energy-related applications, Woodhead Publishing Series in Textiles, Electrospun Nanofibers, **Woodhead Publishing**, p. 341-369, 2017.