

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Avaliação das Propriedades Físico-Químicas da Matéria-Prima
Talidomida com Ênfase no Polimorfismo e sua Influência Frente à
Dissolução e Compactação**

JULIANA POGLIA CARINI

PORTO ALEGRE, 2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Avaliação das Propriedades Físico-Químicas da Matéria-Prima
Talidomida com Ênfase no Polimorfismo e sua Influência Frente à
Dissolução e Compactação**

Dissertação apresentada por **Juliana Poglia Carini**
para obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências
Farmacêuticas

Orientador: Prof. Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado – Produção e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos – da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 23.08.2007, pela Banca Examinadora constituída por:

Profa. Dr. Ana Maria Bergold
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Letícia Scherer Koester
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Whocely Victor de Castro
Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED) - Minas Gerais

C277a Carini, Juliana Pogliã
Avaliação das propriedades físico-químicas da matéria-prima talidomida com ênfase no polimorfismo e sua influência frente à dissolução e compactação / Juliana Pogliã Carini – Porto Alegre : UFRGS, 2007. - xxiv, 192 p.: il.

Dissertação (Mestrado). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Talidomida. 2. Propriedades físico-químicas. 3. Polimorfismo. 4. Dissolução. 5. Compactação. I. Mayorga Borges, Paulo Eduardo. II. Título.

CDU: 615.4

Bibliotecárias responsáveis:

Margarida Maria Cordeiro Fonseca Ferreira, CRB 10/480

Heloísa do Canto Canabarro, CRB 10/1036

Agradecimentos ao CNPq e ao Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED), entidades financiadoras de bolsas de estudos para a realização desta dissertação, ao Laboratório de Desenvolvimento Galênico, local onde este trabalho foi desenvolvido, ao Centro de Desenvolvimento Tecnológico Farmacêutico (CDTF), à Central Analítica, ao Laboratório de Química Farmacêutica e ao Laboratório de Tecnologia Bioquímica, localizados na Faculdade de Farmácia da UFRGS, ao Laboratório de Difractometria de Raios X, vinculado ao Instituto de Geociências da UFRGS, ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), pertencente ao curso de Engenharia de Materiais da UFRGS, à Central Analítica do Instituto de Química da UFRGS, ao Centro Tecnológico de Mecânica de Precisão CETEMP/SENAI (São Leopoldo/RS), que disponibilizaram equipamentos necessários à realização dos experimentos práticos para elaboração da presente dissertação.

“Todos os homens sonham, mas não da mesma maneira. Existem aqueles que têm seus sonhos à noite, nos recônditos de suas mentes e, ao despertar, pela manhã, descobrem que tudo aquilo era bobagem. Perigosos são os homens que sonham de dia, porque são capazes de viver seus sonhos de olhos abertos, dispostos a torná-los realidade.”

T. E. Lawrence

“O que sabemos é uma gota, o que ignoramos é um oceano.”

Isaac Newton

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Paulo Eduardo Mayorga Borges pela orientação, ensinamentos repassados, sendo para mim um exemplo de profissional versátil e competente. Agradeço também pela amizade, confiança e liberdade que me permitiu conduzir o trabalho.

Aos professores Dr. George Ortega, Dr. Pedro Petrovick, Dr. Valquíria Bassani e Dr. Letícia Koester pelos ensinamentos e amizade.

Ao professor Dr. José Carlos Germani por disponibilizar espaço físico para a realização de alguns experimentos.

Ao professor Vitor Pereira pela amizade, prestatividade e grande auxílio nos ensinamentos referentes à cristalografia de raios X e ao professor Dr. André Sampaio Mexias e ao técnico Renato da Silva pela atenção e empenho na busca de locais para a realização de alguns experimentos.

Ao colega Cabral Pavei pela imensurável ajuda em várias etapas deste trabalho, pela amizade, atenção e estímulo constantes.

Aos bolsistas de iniciação científica Vinícius Bicca e Mário Prates que, mesmo não estando vinculados a nenhum projeto associado à minha dissertação, foram muito prestativos auxiliando em etapas importantes do trabalho.

Aos colegas do Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Ana Paula, Bárbara, Camila, Cleverson, Daniel, Francilene, Giovana, Giovanni, Gizele, Greice, Gustavo B., Gustavo P., Janine, Liege, Lísias, Maria, Maria Paula, Mariana, Maribete, Olívia, Rafael, Renata, Roberta, Romeu, Samuel, Simone e Tiago, pela convivência, pelo ambiente de amizade, pela união, pela ajuda sempre que necessitei, pelas festas memoráveis e risadas impagáveis. Sou imensamente grata por ter tido o privilégio de integrar este laboratório, local onde adquiri muito mais que conhecimentos, importantes amizades.

À minha sólida base familiar, meus pais Joel e Belmira, pelo apoio financeiro e emocional em todas as etapas de minha vida, pela compreensão nos momentos em que estive ausente, pelo incentivo constante e, por de alguma forma, terem me repassado o “gene” da docência.

À minha irmã Mariana, pela parceria, ajuda, apoio, credibilidade, amizade e companheirismo.

Às amigas Camila, Carina e Emiliana, pelo apoio e estímulo constantes.

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	xiii
Lista de Figuras.....	xv
Lista de Anexos.....	xix
Resumo.....	xxi
Abstract.....	xxiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	5
2.1 Objetivo Geral.....	7
2.2 Objetivos Específicos.....	7
3 REVISÃO DA LITERATURA.....	9
3.1 Talidomida.....	11
3.1.1 Histórico.....	11
3.1.2 Bioatividade.....	12
3.1.3 Ações Farmacológicas.....	14
3.1.4 Mecanismos de Ação.....	16
3.1.5 Talidomida no Brasil.....	17
3.1.6 Propriedades Físico-Químicas.....	18
3.1.6.1 Estabilidade.....	19
3.1.6.2 Polimorfismo da Talidomida.....	19
3.2 Propriedades Cristalinas de Fármacos e a Influência em Estudos de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas.....	21
3.2.1 Propriedades Cristalinas e Polimorfismo.....	21
3.2.2 Polimorfismo e a Influência na Atividade Farmacológica.....	23

3.3 O Estado Cristalino: Conceitos, Fundamentos e Principais Metodologias de Análise.....	25
3.3.1 Conceitos e Definições.....	25
3.3.2 Fundamentos Referentes à Cristalografia de Raios X.....	28
3.3.2.1 Técnica de Difração de Raios X em Pós.....	29
3.3.2.2 Refinamento Estrutural pelo Método de Rietveld.....	30
3.4 Dissolução de Substâncias Ativas de Uso Farmacêutico.....	31
3.4.1 Método de Dissolução Intrínseca em Disco.....	32
3.4.2 Teoria do Processo de Dissolução Intrínseca.....	33
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	37
4.1 Materiais.....	39
4.1.1 Matérias-Primas de Talidomida.....	39
4.1.2 Reagentes, Soluções e outras Matérias-Primas.....	39
4.1.3 Equipamentos de Proteção Individual e Segurança.....	40
4.1.4 Equipamentos e Utensílios.....	40
4.2 Métodos.....	44
4.2.1 Caracterização Físico-Química das Matérias-Primas de Talidomida...	44
4.2.1.1 Testes de Identificação.....	44
i Espectroscopia na Região do Ultravioleta (UV).....	44
4.2.1.2 Determinação da Pureza.....	44
i Pureza Cromatográfica.....	44
ii Impurezas Ordinárias.....	46
iii Atividade Óptica.....	46
iv Perda por Dessecação.....	47
4.2.2 Caracterização Tecnológica das Matérias-Primas de Talidomida.....	48
4.2.2.1 Análise Granulométrica.....	48
i Determinação Granulométrica por Microscopia Óptica.....	48

ii Determinação Granulométrica por Difração a <i>Laser</i>	48
4.2.2.2 Determinação das Densidades Bruta e de Compactação.....	49
4.2.2.3 Determinação do Fator de Hausner e Índice de Carr ou Índice de Compressibilidade.....	49
4.2.2.4 Determinação do Ângulo de Repouso.....	50
4.2.2.5 Determinação da Área Superficial.....	51
4.2.3 Caracterização Cristalográfica, Espectrofotométrica e Morfológica das Estruturas Cristalinas Apresentadas pelas Matérias-Primas de Talidomida.....	52
4.2.3.1 Análise por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR).....	52
4.2.3.2 Análise por Difractometria de Raios X (DRX).....	52
4.2.3.3 Determinação Quantitativa das Fases Cristalinas Através do Método de Rietveld.....	53
4.2.2.4 Avaliação da Morfologia Cristalina.....	54
4.2.4 Avaliação do Comportamento Térmico das Matérias-Primas de Talidomida.....	54
4.2.4.1 Determinação da Faixa de Fusão.....	54
4.2.4.2 Determinação do Comportamento Térmico por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC).....	55
4.2.4.3 Determinação do Comportamento Cristalográfico em Função da Temperatura, Avaliado por Difração de Raios X em Pós com Variação de Temperatura (DRX-VT).....	55
4.2.5 Determinação da Velocidade de Dissolução Intrínseca em Disco para as Matérias-Primas de Talidomida.....	56
4.2.5.1 Preparação do Dispositivo para Dissolução Intrínseca em Disco.....	58
4.2.5.2 Procedimento Empregado para o Ensaio de Dissolução Intrínseca em Disco.....	59
4.2.6 Avaliação da Influência do Processo de Compactação em Relação às Propriedades Cristalinas e Polimórficas da Talidomida.....	60
4.2.6.1 Compactação das Amostras de Fármaco Puro.....	60
i Compactação em Máquina de Comprimir Alternativa.....	60

ii Compactação em Máquina Universal de Ensaios.....	61
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	63
5.1 Caracterização Físico-Química das Matérias-Primas de Talidomida.....	65
5.1.1 Análise Qualitativa.....	65
5.1.2 Determinação da Pureza.....	66
5.1.3 Determinação da Atividade Óptica.....	68
5.1.4 Avaliação da Perda por Dessecação.....	70
5.2 Caracterização Tecnológica das Matérias-Primas de Talidomida.....	71
5.3 Caracterização Cristalográfica, Espectrofotométrica e Morfológica das Estruturas Cristalinas Apresentadas pelas Matérias-Primas de Talidomida..	82
5.3.1 Análise Quantitativa de Misturas de Fases Cristalinas Através do Refinamento Estrutural pelo Método de Rietveld.....	100
5.4 Avaliação do Comportamento Térmico das Matérias-Primas de Talidomida.....	109
5.5 Determinação da Velocidade de Dissolução Intrínseca em Disco para as Matérias-Primas de Talidomida.....	126
5.6 Avaliação da Influência do Processo de Compactação em Relação às Propriedades Cristalinas e Polimórficas da Talidomida.....	138
5.6.1 Compactação das Amostras de Fármaco Puro em Máquina de Comprimir Alternativa.....	138
5.6.2 Compactação das Amostras de Fármaco Puro em Máquina Universal de Ensaios.....	144
6 CONCLUSÕES.....	157
7 REFERÊNCIAS.....	163
8 ANEXOS.....	177

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Sistemas cristalinos e as diferenças existentes entre seus parâmetros de rede.....	26
Tabela 2.	Quatorze configurações básicas de estruturas cristalinas, denominadas de Redes de Bravais.....	27
Tabela 3.	Força e pressão médias aplicadas para compactação das amostras de talidomida.....	62
Tabela 4.	Determinação do índice de impurezas para amostras de talidomida.....	66
Tabela 5.	Valores de rotação óptica específica observados para amostras de talidomida.....	69
Tabela 6.	Perda por dessecação para as amostras de talidomida.....	70
Tabela 7.	Determinação do diâmetro médio de Fraunhofer para as amostras de talidomida.....	76
Tabela 8.	Determinação da densidade bruta (db), densidade de compactação (dc), Fator de Hausner (FH) e Índice de Carr (IC) para as amostras T ₁ e T ₅ , estando os valores médios acompanhados do desvio padrão e desvio padrão relativo (DPR%), respectivamente.....	78
Tabela 9.	Área superficial apresentada para as amostras T ₁ e T ₅ , calculadas através do método de B.E.T.....	81
Tabela 10.	Bandas características observadas através dos espectros na região do infravermelho para amostras representantes do polimorfo α (T ₁) e polimorfo β (T ₄) de talidomida.....	92
Tabela 11.	Parâmetros térmicos obtidos por DSC para amostras de talidomida.....	111
Tabela 12.	Comparação entre valores de 2θ (°) e distâncias interplanares (d) (Å) para as amostras T ₁ recrist. e T ₄ , calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas obtidos neste trabalho.....	116
Tabela 13.	Comparação entre valores de 2θ (°) e distâncias interplanares (d) (Å) para as amostras T ₁ e T ₅ após serem aquecidas a temperatura de 260 °C, calculados a partir de picos característicos obtidos através de análises por DRX-VT.....	125

Tabela 14.	Tabela comparativa fornecendo valores de massa média dissolvida para cada amostra pela sua área exposta (mg/cm^2), a cada tempo de amostragem, obtidos através do ensaio de dissolução intrínseca para T_1 , T_4 , T_5 e T_6	133
Tabela 15.	Apresentação de valores relativos aos coeficientes de correlação (r) gerados a partir da regressão linear das curvas de dissolução intrínseca das amostras T_1 , T_4 , T_5 e T_6 ..	134
Tabela 16.	Comparação entre os valores médios obtidos para velocidade de dissolução intrínseca (IDR) apresentados para as amostras T_1 , T_4 , T_5 e T_6	134
Tabela 17.	Parâmetros térmicos obtidos por DSC para amostras de talidomida após serem submetidas à compactação.....	153
Tabela 18.	Parâmetros térmicos obtidos por DSC para a amostra T_1 , onde T_1 : amostra antes de ser processada; T_{1a} : amostra compactada e posteriormente triturada suavemente; T_{1b} : amostra compactada e posteriormente triturada; e T_{1c} : amostra não compactada, mas triturada.....	155

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Estrutura dos enantiômeros de talidomida.....	13
Figura 2.	Célula unitária e parâmetros de rede de uma estrutura cristalina.....	25
Figura 3.	Desenho esquemático do dispositivo para dissolução intrínseca em disco.....	57
Figura 4.	Fotografia do dispositivo para dissolução intrínseca em disco.	58
Figura 5.	A - Dispositivo para dissolução intrínseca em disco contendo o material pulveroso compactado; B - Dispositivo para dissolução intrínseca em disco fixado ao dissolutor.....	59
Figura 6.	Espectro na região do UV para talidomida padrão USP.....	65
Figura 7.	Histograma de distribuição granulométrica percentual de freqüências relativas e curva de distribuição de freqüências cumulativas para as amostras de talidomida.....	76
Figura 8.	Difratogramas característicos apresentados pelas as amostras de talidomida.....	84
Figura 9.	Difratogramas das amostras que apresentam um padrão de difração semelhante.....	85
Figura 10.	Comparação entre os difratogramas da amostra T ₁ (escolhida como representante das cinco amostras que possuem difratogramas similares), T ₅ e T ₄	86
Figura 11.	Difratograma apresentado pela amostra T ₄	87
Figura 12.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₁	89
Figura 13.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₅	90
Figura 14.	Espectro na região do infravermelho para a amostra de talidomida padrão USP.....	90
Figura 15.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₄	91
Figura 16.	Frações do espectro na região do infravermelho para a amostra T ₁ , apresentando bandas características de polimorfo α	93

Figura 17.	Frações do espectro na região do infravermelho para a amostra T ₄ , apresentando bandas características de polimorfo β.....	93
Figura 18.	Fotomicrografias das amostras T ₁ , T ₂ , T ₃ e T ₇ , classificadas como polimorfo α e que apresentam hábitos cristalinos similares.....	95
Figura 19.	Fotomicrografias da amostra T ₄ , classificada como polimorfo β.....	96
Figura 20.	Fotomicrografias apresentadas para a amostra T ₅	97
Figura 21.	Fotomicrografias apresentadas para a amostra T ₆	98
Figura 22.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₂	102
Figura 23.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para amostra T ₁	103
Figura 24.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₃	103
Figura 25.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₄	104
Figura 26.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₄ , em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.....	105
Figura 27.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₅	106
Figura 28.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₆	107
Figura 29.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₆ , em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.....	107
Figura 30.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₇	108
Figura 31.	Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T ₇ , em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.....	108
Figura 32.	Termogramas obtidos por DSC para amostras de talidomida..	110
Figura 33.	Termogramas obtidos por DSC para as amostras T ₁ , T ₂ e T ₃ ..	112

Figura 34.	Termogramas obtidos por DSC para as amostras T ₄ , T ₅ , T ₆ e P.....	113
Figura 35.	Termogramas obtidos por DSC para as amostras T ₁ , T ₄ e T ₇ ..	114
Figura 36.	Comparação dos difratogramas das amostras T ₄ (polimorfo β) e T ₁ recrist. A amostra T ₁ foi aquecida até a fusão, resfriada à temperatura ambiente para recristalização completa, sendo posteriormente submetida à análise por DRX.....	116
Figura 37.	Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T ₁	120
Figura 38.	Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T ₅	121
Figura 39.	Comparação entre difratogramas das amostras T ₄ (temperatura ambiente), T ₁ e T ₅ (aquecidas a 260 °C), sendo as duas últimas submetidas a análise por DRX-VT.....	124
Figura 40.	Fotomicrografia da superfície do compacto da amostra T ₄ , produzido inicialmente para o ensaio de dissolução intrínseca em disco, falhando em seu objetivo por apresentar laminação em sua superfície.....	129
Figura 41.	Fotomicrografias da superfície de compactos obtidos para as amostras T ₁ , T ₅ e T ₆ , produzidos para o ensaio de dissolução intrínseca em disco.....	130
Figura 42.	Gráfico comparativo entre perfis de dissolução intrínseca das amostras T ₁ , T ₄ , T ₅ e T ₆ . O gráfico apresenta linhas obtidas através de regressão linear dos pontos que expressam a quantidade média cumulativa dissolvida para cada amostra...	132
Figura 43.	Fotografias dos compactos das amostras T ₁ e T ₅ produzidos em máquina de comprimir alternativa.....	142
Figura 44.	Fotomicrografias dos compactos das amostras T ₁ e T ₅ produzidos em máquina de comprimir alternativa.....	143
Figura 45.	Comparação entre difratogramas das amostras T ₁ , T ₂ , T ₃ , T ₄ , T ₅ , T ₆ e T ₇ após serem submetidas à compactação.....	145
Figura 46.	Comparação entre os difratogramas da amostra T ₁ antes e após a compactação.....	147
Figura 47.	Comparação entre os difratogramas da amostra T ₂ antes e após a compactação.....	148

Figura 48.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_3 antes e após a compactação.....	148
Figura 49.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_6 antes e após a compactação.....	149
Figura 50.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_7 antes e após a compactação.....	149
Figura 51.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_5 antes e após a compactação.....	150
Figura 52.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_4 antes e após a compactação.....	151
Figura 53.	Comparação entre os difratogramas da amostra T_1 (antes da compactação), T_1 compact. e triturada (após ser compactada e triturada para análise) e T_1 compacto inteiro (após ser compactada e analisada sem trituração prévia).....	152
Figura 54.	Comparação entre os termogramas obtidos para as amostras T_1 , T_2 , T_3 , T_4 , T_5 , T_6 e T_7 após serem submetidas à compactação.....	153
Figura 55.	Comparação entre os termogramas obtidos para a amostra T_1 , onde T_1 : amostra antes de ser processada; T_{1a} : amostra compactada e posteriormente triturada suavemente; T_{1b} : amostra compactada e posteriormente triturada; e T_{1c} : amostra não compactada, mas triturada.....	155

LISTA DE ANEXOS

Tabela A1.	Valores de 2θ ($^{\circ}$), intensidades relativas (%) e distâncias interplanares (d) (\AA) para o fármaco talidomida, calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas referidos pela literatura.....	179
Tabela A2.	Valores de 2θ ($^{\circ}$), intensidades relativas (%) e distâncias interplanares (d) (\AA) para as amostras de talidomida, calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas obtidos neste trabalho.....	180
Figura A1.	Projeções do empacotamento molecular dos polimorfos de talidomida: A = Polimorfo α e B = Polimorfo β	182
Figura A2.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₂	182
Figura A3.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₃	183
Figura A4.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₆	183
Figura A5.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₇	184
Tabela A3.	Bandas características diferenciadas observadas para os dois polimorfos de talidomida, obtidas de espectros na região do infravermelho referenciados pela literatura.....	184
Tabela A4.	Bandas características diferenciadas observadas para as amostras de talidomida, obtidas de espectros na região do infravermelho em análises desenvolvidas neste trabalho.....	185
Tabela A5.	Comparação entre parâmetros estruturais dos polimorfos α e β de talidomida racêmica.....	185
Figura A6.	Termograma obtido por DSC para amostra T ₁ , onde primeiramente a amostra foi aquecida até a fusão, seguido de resfriamento do sistema e recristalização da amostra, posteriormente submissão da amostra recristalizada ao aquecimento, até a fusão.....	186
Figura A7.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₁ recrist.....	186
Figura A8.	Termograma obtido por DSC para a amostra T ₇ , após passar por um processo de trituração	187
Figura A9.	Termograma obtido por DSC para a amostra T ₁ , após passar por um processo de trituração.....	187

Figura A10.	Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T ₁ comparados ao difratograma da amostra T ₄ (temperatura ambiente).....	188
Figura A11.	Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T ₅ comparados ao difratograma da amostra T ₄ (temperatura ambiente).....	188
Figura A12.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₁ após ser submetida à compactação.....	189
Figura A13.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₂ após ser submetida à compactação.....	189
Figura A14.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₃ após ser submetida à compactação.....	190
Figura A15.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₄ após ser submetida à compactação.....	190
Figura A16.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₅ após ser submetida à compactação.....	191
Figura A17.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₆ após ser submetida à compactação.....	191
Figura A18.	Espectro na região do infravermelho para a amostra T ₇ após ser submetida à compactação.....	192

Resumo

Avaliação das Propriedades Físico-Químicas da Matéria-Prima Talidomida com Ênfase no Polimorfismo e sua Influência Frente à Dissolução e Compactação

O objetivo deste trabalho foi avaliar as propriedades físico-químicas de diferentes matérias-primas de talidomida visando à identificação de parâmetros críticos a serem observados para garantir a aquisição de insumo com qualidade farmacêutica. Sete amostras foram caracterizadas a partir de estudos tecnológicos, espectroscópicos, morfológicos, térmicos e cristalográficos, sendo avaliadas frente a processos de dissolução e compactação. Os resultados obtidos demonstraram a inexistência de homogeneidade entre as matérias-primas analisadas, apresentando diferenças em relação à constituição cristalina e morfológica, comportamento térmico, velocidade de dissolução intrínseca e comportamento frente à compactação. Foi observada e quantificada a presença de fases polimórficas α e β e materiais semicristalinos. A amostra T₅ demonstrou desfavoráveis propriedades tecnológicas, gerando indicativos de problemas relativos à processabilidade do fármaco em medicamento, ao contrário de T₁. A análise térmica forneceu indícios de transição sólido-sólido entre fases polimórficas de fármaco, provavelmente relacionada a propriedades químico-mecânicas das amostras associadas à inserção de calor. Amostras semicristalinas apresentaram maior velocidade de dissolução intrínseca, principalmente associada ao polimorfo β , representando, possivelmente, um desvio de qualidade em processos sintéticos. Estudos preliminares indicaram que a amostra T₁ exibiu melhor compactabilidade que T₅. Devido a sua pureza cristalográfica e propriedades tecnológicas, a amostra T₁ se mostrou a mais indicada ao desenvolvimento de comprimidos de talidomida.

Palavras-chave: talidomida, propriedades físico-químicas, polimorfo, dissolução, compactação.

Abstract

Physicochemical Properties Evaluation of the Thalidomide Raw Material and Polymorphic Relationship with Dissolution and Compaction

The objective of this work was to evaluate physicochemical properties of different thalidomide raw material in order to identify critical parameters to assure the acquisition of a product with pharmaceutical quality. Seven samples were characterized by technological, spectroscopic, morphological, thermal and crystallographic approaches. Dissolution tests and degree of compaction were used to evaluate the samples. The results demonstrated raw materials with lack of homogeneity and differences related to crystal and morphological constitution, thermal behavior, intrinsic dissolution rate and compaction behavior. Polymorphic forms α and β and semicrystalline materials were observed and quantified. In contrast to T_1 , the sample T_5 presented unfavorable technological properties generating indicatives of relative problems impairing the tablets manufacturing process. Thermal analysis indicated solid-solid transition between polymorphic phases probably related to chemical-mechanical properties of the samples associated with heating. Semicrystalline materials presented higher intrinsic dissolution rate than other samples, mainly related to the polymorph β , possibly representing quality deviation associated with synthetic process. Early studies indicated better compactability of sample T_1 than T_5 . Due its crystallographic purity and technological properties, it is suggested that T_1 is the sample choice to be used during the development of a pharmaceutical solid oral dosage form containing thalidomide.

Keywords: thalidomide, physicochemical properties, polymorphism, dissolution, compaction.

1 INTRODUÇÃO

O fármaco talidomida apresenta-se como um composto racêmico amplamente conhecido há mais de quatro décadas principalmente devido a ações teratogênicas associadas à sua administração em gestantes, ações estas detectadas logo após o início da comercialização do medicamento em meados da década de 60, fato que culminou na retirada do produto do mercado mundial (FRANKS *et al.*, 2004). No entanto, atualmente tem-se renovado o interesse clínico pelo fármaco, pelo fato deste apresentar promissoras atividades antiinflamatórias, imunomodulatórias e anticarcinogênicas. A talidomida é considerada o fármaco de escolha para o tratamento da reação hansênica tipo eritema nodoso, auxiliar no tratamento de ulcerações apresentadas por portadores do vírus VHI (SIDA), auxiliar no tratamento de pacientes com doenças crônico-degenerativas, sendo também recentemente aprovada para o tratamento de mieloma múltiplo (BRASIL, 1997; FDA, 1998; BRASIL, 2002; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004; SLEIJFER *et al.*, 2004; FDA, 2006).

Parâmetros como velocidade de absorção e biodisponibilidade são diretamente influenciados pelo grau de solubilidade de um fármaco, definindo perfis farmacocinéticos e conseqüentemente eficácia do medicamento. Muitos fármacos são constituídos por mais de uma forma cristalina, denominadas polimorfos, que podem apresentar diferentes propriedades físico-químicas. Como conseqüência, a existência de polimorfismo nestes casos poderá refletir em propriedades biofarmacêuticas diferenciadas, estando diretamente associadas a uma forma cristalina em especial (MARTIN *et al.*, 1993; LACHMAN *et al.*, 2001; SINGHAL e CURATOLO, 2004).

A talidomida na forma de mistura racêmica apresenta escassa solubilidade em água (ERIKSSON *et al.*, 2001) e alto grau de cristalinidade, estando suas moléculas agrupadas em arranjos cristalinos que conduzem à formação de duas formas polimórficas (ALLEN e TROTTER, 1970; CAIRA *et al.*, 1994; REEPMeyer *et al.*, 1994; LARA-OCHOA *et al.*, 2007). A existência de polimorfismo para o fármaco pode refletir em propriedades tecnológicas, termodinâmicas, cinéticas e mecânicas diferenciadas para cada polimorfo (DATTA e GRANT, 2004). Desta forma, características físico-químicas particulares a cada fase cristalina poderão influenciar a processabilidade e até mesmo a ação do medicamento, devendo ser

analisadas com o intuito de fornecer informações necessárias ao desenvolvimento de uma forma farmacêutica eficaz.

No Brasil o medicamento talidomida é produzido pelo Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED), sob a forma de comprimidos de 100 mg. A FUNED integra a rede de laboratórios oficiais, sendo o único laboratório nacional responsável pela produção do medicamento. O objeto de estudo do trabalho surgiu tendo em vista a necessidade, por parte da indústria farmacêutica, de estabelecer especificações cientificamente embasadas que conduzam à garantia da qualidade da matéria-prima a ser adquirida.

Devido a características particulares apresentadas pela talidomida, como quiralidade, reduzida solubilidade em água na forma de racemato e polimorfismo comprovado, a proposta deste trabalho consiste na avaliação das propriedades físico-químicas atribuídas ao fármaco, envolvendo utilização de técnicas como microscopia eletrônica de varredura, espectroscopia em infravermelho, difratometria de raios X, calorimetria exploratória diferencial e dissolução intrínseca em disco.

Foram analisadas amostras da matéria-prima talidomida oriundas de diferentes fornecedores, considerando-se aspectos principais relacionados à dissolução, padrão cristalográfico, comportamento térmico, bem como comportamento das estruturas cristalinas frente à compactação.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Analisar comparativamente as propriedades físico-químicas de diferentes amostras da matéria-prima talidomida, tendo em vista a identificação de parâmetros críticos a serem observados para garantir a aquisição de um insumo com qualidade farmacêutica.

2.2 Objetivos Específicos

- Realizar estudos de caracterização das matérias-primas de talidomida envolvendo análises físico-químicas, tecnológicas, espectrofotométricas e morfológicas, com ênfase principal no estudo cristalográfico;

- Analisar o comportamento térmico apresentado pelas matérias-primas de talidomida, monitorando padrões cristalográficos em função da temperatura;

- Determinar a velocidade de dissolução intrínseca em disco para diferentes amostras de talidomida, avaliando o comportamento das estruturas cristalinas e polimórficas frente ao ensaio de dissolução;

- Avaliar a influência dos processos de compactação em relação às propriedades cristalinas e polimórficas da talidomida;

- Propor a inclusão de novos critérios junto às especificações de matéria-prima talidomida, visando à garantia da qualidade do produto final.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Talidomida

3.1.1 Histórico

A talidomida foi sintetizada em 1954 por Wilhelm Kunz, um químico da indústria alemã Chemie Grünenthal GmbH. Ao fármaco foram associadas propriedades hipnótico-sedativas e antieméticas, sendo considerado relativamente seguro por não causar letalidade em roedores na concentração excessiva de 10 g/kg. O órgão norte-americano *Food and Drug Administration* (FDA) julgou insuficientes os testes relativos à toxicidade realizados para o fármaco, inviabilizando a sua comercialização nos Estados Unidos (KESLEY, 1988; ERIKSSON *et al.*, 2001).

A talidomida foi lançada no mercado em 1957, sendo amplamente indicada como sedativo e agente anti-náuseas e prescrita rotineiramente para gestantes. Em 1960, o fármaco já havia se tornado um sedativo popular e de venda livre, comercializado em cerca de vinte países (inclusive no Brasil), em aproximadamente quarenta especialidades farmacêuticas diferentes. Até o início da década de 60, as indústrias alemãs já haviam vendido em torno de quatorze toneladas de talidomida aos outros países (LENZ, 1966; ERIKSSON *et al.*, 2001; FRANKS *et al.*, 2004).

Em 1961, alguns pesquisadores começaram a associar malformações congênitas em bebês recém-nascidos ao consumo de talidomida durante o primeiro trimestre de gestação (MCBRIDE, 1961). Após a confirmação da teratogenicidade, o fármaco foi retirado do mercado mundial, contabilizando-se milhares de vítimas de anormalidades como focomelia, amelia, dismelia, problemas auditivos, cardíacos, dentre outros (LENZ, 1966; SMITHELLS, 1973; KESLEY, 1988; ERIKSSON *et al.*, 2001; FRANKS *et al.*, 2004; TEO *et al.*, 2004b).

Quatro anos mais tarde, em 1965, o médico israelita Jacob Sheskin prescreveu talidomida como sedativo a pacientes leprosos e observou efeitos antiinflamatórios e imunomodulatórios, com acentuada e rápida melhora das lesões

ocasionadas pelos lepromas (SHESKIN, 1965). Desta forma, ressurgiu o interesse clínico pela talidomida, sendo que, anos mais tarde, após a confirmação de sua eficácia, a talidomida foi denominada o fármaco de escolha para o tratamento da reação hansênica tipo eritema nodoso, sendo essa sua principal aplicação atualmente. Essa indicação foi reconhecida pelo FDA em 1998, que aprovou a comercialização de Thalomid[®], na forma de cápsulas, produzido pelo laboratório norte-americano Celgene Corporation (NIGHTINGALE, 1998; CELGENE CORPORATION, 2007).

No Brasil, a talidomida vem sendo amplamente utilizada para o tratamento da hanseníase. Em 1994, o Brasil chegou a ter a segunda maior população de pacientes com hanseníase do mundo, depois da Índia, sendo que na região amazônica, o grau de incidência foi de trinta e seis casos a cada dez mil habitantes (ROCHA, 1994). O único laboratório nacional responsável pela produção de talidomida na forma farmacêutica final é a Fundação Ezequiel Dias (FUNED), um laboratório oficial que volta toda a produção do medicamento para suprir programas governamentais (FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007).

Desde o início da década de 90, muitas pesquisas vêm sendo realizadas com o intuito de avaliar novas potencialidades do fármaco (SHANNON *et al.*, 1997; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004), explorando suas propriedades antiinflamatórias e imunomodulatórias, e, durante os últimos anos, tem-se avaliado o uso deste fármaco como agente antineoplásico para vários tipos de câncer. O uso de talidomida também vem sendo investigado para tratar pacientes infectados pelo vírus VHI e ainda complicações decorrentes da doença enxerto contra hospedeiro (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*; 2004).

3.1.2 Bioatividade

A talidomida é um composto racêmico que apresenta um centro quiral, constituída dos enantiômeros (-)-(S)-talidomida e (+)-(R)-talidomida (Figura 1). O

fármaco apresenta-se na forma de mistura racêmica equimolar (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ERIKSSON *et al.*, 2001; TEO *et al.*, 2004a; CELGENE CORPORATION, 2007; USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005).

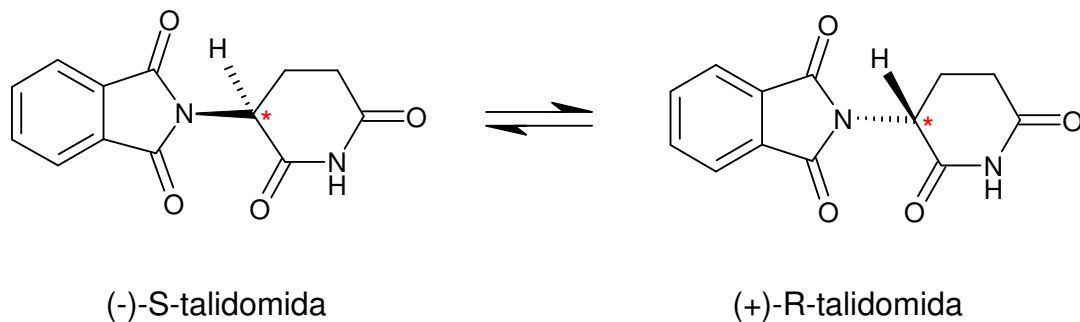


Figura 1. Estrutura dos enantiômeros de talidomida.

A confirmação dos efeitos teratogênicos relacionados à talidomida, ocorridos no início da década de 60, demonstrou a importância do conhecimento das potencialidades terapêuticas e tóxicas de ambos enantiômeros, quando administrados na forma de mistura racêmica. À forma enantiomérica (+)-(R)-talidomida atribui-se as propriedades hipnótico-sedativas e antieméticas, enquanto que para à (-)-(S) os efeitos teratogênicos, antiinflamatórios, imunomodulatórios e antitumorais (KNOCHE e BLASCHKE, 1994; ERIKSSON *et al.*, 1995; LIMA *et al.*, 2001; FRANKS *et al.*, 2004).

Com a constatação de que a teratogenicidade do fármaco é enantioespecífica, várias pesquisas foram realizadas com o intuito de sintetizar e administrar os enantiômeros separadamente, tanto em modelos animais, quanto *in vitro*. O enantiômero puro pode ser obtido por síntese enantioesletiva ou cromatografia quiral preparativa (CHANG *et al.*, 2003). Através destas pesquisas, constatou-se que os enantiômeros sofrem fácil inversão quiral *in vivo* e *in vitro* (quando simuladas condições biológicas). Desta forma, a administração somente de (+)-(R)-talidomida não evita os efeitos teratogênicos do fármaco (KNOCHE e

BLASCHKE, 1994; ERIKSSON *et al.*, 1995; ERIKSSON *et al.*, 1998; REIST *et al.*; 1998; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004).

Apesar da confirmada teratogenicidade associada ao enantiômero (-)-(S), atualmente as indicações farmacológicas da talidomida estão relacionadas somente a essa forma enantiomérica, demonstrando que as importantes propriedades terapêuticas prevalecem sobre o grave efeito colateral. A talidomida tem se mostrado eficaz para tratar pacientes com doenças de difícil tratamento, como alguns tipos de carcinomas, onde as terapias convencionais mostram-se pouco efetivas. O fármaco possui um rígido controle por parte dos órgãos sanitários quanto a sua indicação e distribuição, bem como suas contra-indicações (BRASIL, 1997; DIMOPOULOS e ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU, 2004; TEO *et al.*, 2004a). Ao mesmo tempo, hoje se considera a sedação e sonolência produzida por (+)-(R)-talidomida, um efeito colateral indesejado (ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004).

3.1.3 Ações Farmacológicas

A utilização das propriedades imunomodulatórias e antiinflamatórias da talidomida para o tratamento da reação hansênica tipo eritema nodoso é consagrada e aprovada há alguns anos, sendo um medicamento prescrito rotineiramente para esse tipo de patologia (SHESKIN, 1965; NIGHTINGALE, 1988; BRASIL, 1997; FDA, 1998; CELGENE CORPORATION, 2007; FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007). A indicação do fármaco para tratamento de outras dermatoses vem sendo investigada, apresentando resultados promissores na redução de estados inflamatórios na Síndrome de Behcet e lupus eritematoso sistêmico. A talidomida é recomendada clinicamente em etapas crônicas das doenças, quando outros fármacos mostram-se ineficazes (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; FRANKS *et al.*, 2004).

Pesquisas vêm sendo realizadas utilizando talidomida como medicamento auxiliar ao tratamento de doenças desenvolvidas por pacientes portadores da

síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/AIDS). Apesar destes estudos ainda estarem em fase inicial de desenvolvimento, os resultados encontrados indicam melhora moderada de pacientes com sarcoma de Kaposi após administração de talidomida (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004), sendo relativamente eficaz para tratar ulcerações aftóides idiopáticas e a síndrome de Wasting. Os pacientes infectados com VHI tratados com talidomida apresentaram menor perda de peso e outras pesquisas apontam para a possibilidade do fármaco inibir a replicação viral (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; LIMA *et al.*, 2001).

A talidomida também tem apresentado relativa eficácia no tratamento da doença enxerto contra hospedeiro por sua atividade imunomodulatória, principalmente em pacientes com transplante de medula óssea. A terapia com o fármaco é iniciada quando não se obtém progressos terapêuticos com terapias convencionais (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004).

Após a constatação de que a talidomida possui propriedades anti-neoplásicas, a mesma tem sido avaliada para tratar vários tipos de câncer. Resultados promissores foram encontrados para o tratamento do mieloma múltiplo (BRASIL, 2002; AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004; MELCHERT e LIST, 2007), visto que a talidomida representa a primeira terapia disponível nos últimos vinte anos para o tratamento desta neoplasia (LIMA *et al.*, 2001). Tendo em vista estes resultados, o FDA concedeu recentemente a aprovação do fármaco para essa finalidade (FDA, 2006). Este medicamento também vem sendo testado para tratar tumores cerebrais, carcinoma renal, câncer de próstata, melanoma, glioma, dentre outros tipos de neoplasias (ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004; COX *et al.*, 2006; MELCHERT e LIST, 2007).

Especialmente devido ao risco de neuropatogenicidade, a menor dose possível de talidomida deve ser administrada, preferivelmente uma vez ao dia, durante a noite, devido ao seu efeito sedativo. Uma única dose de fármaco ao dia

tem se mostrado eficiente para o tratamento de várias doenças (ERIKSSON *et al.*, 2001).

A talidomida está disponível em comprimidos e cápsulas, nas concentrações de 50 mg a 200 mg por unidade posológica, na forma de mistura racêmica (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ERIKSSON *et al.*, 2001; TEO *et al.*, 2004a; CELGENE CORPORATION, 2007; FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007).

3.1.4 Mecanismos de Ação

O mecanismo de ação da talidomida é complexo e pouco conhecido. Os efeitos imunomodulatórios e antiinflamatórios do fármaco parecem estar relacionados com a redução dos níveis do fator de necrose tumoral α (TNF- α), co-estimulador das células T. O TNF- α regula a cascata inflamatória, resultando em um aumento na proliferação das células T e conseqüente produção de interleucina-2 e interferon- γ . A talidomida não possui direta atividade antibacteriana contra *Mycobacterium lepra*, indicando que a ação terapêutica para o tratamento de reações hansênicas se deve as suas propriedades antiinflamatórias e imunomodulatórias (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004).

O mecanismo pelo qual a talidomida mostra-se teratogênica aparentemente é o mesmo que a classifica como agente anticarcinogênico. O fármaco possui a propriedade de inibir a angiogênese em células jovens, e, desta forma, a inibição no crescimento dos vasos sanguíneos pode gerar a ausência ou crescimento incompleto de órgãos e membros no feto, bem como desprover o tumor de alimentação, pela ausência de vasos sanguíneos no local. No entanto, o mecanismo pelo qual ocorre o efeito antiangiogênico promovido pela talidomida ainda não está estabelecido (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU *et al.*, 2004; FRANKS *et al.*, 2004).

O efeito hipnótico-sedativo do fármaco no sistema nervoso central ocorre pela ativação de centros do sono no cérebro, por um mecanismo diferente dos barbitúricos (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000). A talidomida apresenta reduzida toxicidade aguda no sistema nervoso central, exceto quando utilizada por longos períodos em doses elevadas, podendo, nesses casos, levar ao desenvolvimento de neuropatia periférica, um efeito adverso observado principalmente quando o fármaco é associado a agentes quimioterápicos (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ERIKSSON *et al.*, 2001; DIMOPOULOS e ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU, 2004).

3.1.5 Talidomida no Brasil

O medicamento talidomida é produzido no Brasil pelo laboratório farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED), sendo o único laboratório nacional responsável pela produção de talidomida na sua forma farmacêutica final. O medicamento é comercializado na forma de comprimidos com 100 mg de talidomida (FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007).

A talidomida é um medicamento controlado, regulamentado pela Portaria 344/98, classificado como imunossupressor, classe C3. Também é um medicamento essencial, constando na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), sendo de uso restrito a programas governamentais (BRASIL, 1998).

A Portaria 354/97 regulamenta o registro, a produção, a fabricação, a comercialização, a exposição à venda, a prescrição e a dispensação dos produtos à base de talidomida. O fármaco deve ser dispensado com notificação de receita para medicamento especial, contendo dados sobre a dispensação do medicamento, tendo o prescritor que assumir termos de compromisso, responsabilidade e esclarecimento em relação ao paciente, sendo que este deve assinar um termo de conhecimento de risco. Neste documento, destaca-se que mulheres em idade fértil não devem utilizar o medicamento, exceto em situações onde for clinicamente indicado (BRASIL, 1997).

No Brasil, as indicações do fármaco são para hanseníase (reação hansênica tipo II ou tipo eritema nodoso), DST/SIDA (úlceras aftóides idiopáticas em pacientes portadores de VHI/SIDA), doenças crônico-degenerativas (lupus eritematoso, doença enxerto contra hospedeiro) e mieloma múltiplo (BRASIL, 1997; BRASIL, 2002; FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007).

3.1.6 Propriedades Físico-Químicas

A talidomida, [(±)2-(2,6-dioxo-3-piperidinil)-1H-isoindol-1,3-(2H)-diona ou (±)-α-(N-ftalimidoglutarimida)] é um composto racêmico neutro, derivado do ácido glutâmico, possuindo um anel ftalimida e um carbono quiral no anel glutarimida (Figura 1) (SHANNON *et al.*, 1997; LIMA *et al.*, 2001; CHANG *et al.*, 2003), gerando os enantiômeros (+)-(R) e (-)-(S)-talidomida, comercializado na forma de mistura racêmica equimolar, com rotação óptica zero (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ERIKSSON *et al.*, 2001; MOFFAT *et al.*, 2004; TEO *et al.*, 2004a; CELGENE CORPORATION, 2007; USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005).

Caracteriza-se por ser um pó cristalino branco, com escassa solubilidade em água, metanol, etanol e acetona, sendo praticamente insolúvel em clorofórmio, éter e benzeno e muito solúvel em dimetilformamida, dioxano e piridina a 25° C (MOFFAT *et al.*, 2004; CELGENE CORPORATION, 2005; USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005). A solubilidade do racemato em água a 25° C é de 45 - 60 µg/mL, sendo que os enantiômeros separados são de três a cinco vezes mais solúveis que o fármaco na forma racêmica. A solubilidade em água relatada para os enantiômeros separados normalmente é em torno de 250 µg/mL (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000; ERIKSSON *et al.*, 2001).

A talidomida possui fórmula molecular C₁₃H₁₀N₂O₄, massa molecular 258,23, Log P (octanol/água) 0,33 e faixa de fusão de 269 - 271° C, sendo que algumas referências indicam que o ponto de fusão ocorre à temperatura de 275 °C

(ABRAHAM, 2004; MOFFAT *et al.* 2004; USP 29, 2006; CELGENE CORPORATION, 2007; USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005).

3.1.6.1 Estabilidade

A talidomida é rapidamente degradada por hidrólise espontânea em meio aquoso com pH fisiológico (SCHUMACHER, 1965; KNOCHE e BLASCHKE, 1994; ERIKSSON *et al.*, 1995; ERIKSSON *et al.*, 1998; AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000). Todas as ligações amida são sensíveis à hidrólise nessa faixa de pH, sendo que em pH 7,4 são formados vinte produtos de hidrólise resultantes do rompimento dessas ligações. A taxa de inversão e hidrólise dos enantiômeros aumenta com o aumento do pH na faixa de 7,0 a 7,5 (SCHUMACHER, 1965; ERIKSSON *et al.*, 1998; REIST *et al.*, 1998). De acordo com ERIKSSON e colaboradores (1998), a taxa de hidrólise de ambos enantiômeros é maior e aproximadamente três vezes mais rápida que a inversão quiral, na faixa de pH fisiológico.

Ao mesmo tempo, a inversão quiral é duas vezes mais rápida que a hidrólise no sangue e plasma, ocorrendo majoritariamente nesses fluidos biológicos (ERIKSSON *et al.*, 1998), especialmente em altas concentrações de albumina sérica, sendo esta inversão mais lenta em sítios periféricos (KNOCHE e BLASCHKE, 1994; ERIKSSON *et al.*, 1995; ERIKSSON *et al.*, 1998; REIST, 1998).

3.1.6.2 Polimorfismo da Talidomida

A talidomida na forma de mistura racêmica possui baixa solubilidade em água, o que limita sua absorção. Esta solubilidade limitada não parece ser devido à sua estrutura lipofílica, visto que o fármaco possui uma distribuição entre as fases lipídica e aquosa na proporção de 2:1. Há indícios de que os quatro grupos carboxila presentes na molécula do fármaco, quando na forma racêmica, interajam através de ligações de hidrogênio, resultando em relativa insolubilidade aquosa (AMERICAN

HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000). GOOSEN e colaboradores (2002) acreditam que o hidrogênio presente na estrutura do fármaco (ver Figura 1), ligado ao nitrogênio da amida, seja responsável pela forte ligação de hidrogênio, refletindo alto grau de cristalinidade do fármaco. Desta forma, após administração da talidomida por via oral, a absorção apresenta-se lenta, sendo que a baixa solubilidade aquosa de talidomida afeta sua velocidade de absorção por via oral (AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE, 2000).

A literatura descreve a existência de pelo menos duas formas polimórficas para a talidomida (ALLEN e TROTTER, 1971; CAIRA *et al.*, 1994; REEPMAYER *et al.*, 1994; LARA-OCHOA *et al.*, 2007), classificando cristalograficamente estes polimorfos, denominadas de α e β ou III e I, respectivamente (CAIRA *et al.*, 1994; REEPMAYER *et al.*, 1994). Refletindo o renovado interesse pelo tema, recentemente LARA-OCHOA e colaboradores (2007) procederam a determinações avaliando o comportamento termodinâmico de cada forma polimórfica, sugerindo a existência do novo polimorfo β^* , formado em condições particulares de aquecimento das amostras. De acordo com REEPMAYER e colaboradores (1994), os polimorfos são caracterizados como sendo racêmicos, ou seja, devido à presença de um centro de simetria ocorre a formação de pares de dímeros (+)-(R) e (-)-(S)-talidomida. A existência de polimorfismo para a talidomida pode ser relacionada ao fato de que a síntese do fármaco normalmente ocorre por seqüência de três etapas, sendo que a última envolve uma reação de fusão, formando um insumo que necessita de várias recristalizações para sua purificação (GOOSEN *et al.*, 2002; CHANG *et al.*, 2003).

TEO e colaboradores (2004a) suspeitam que diferentes formas polimórficas e tamanhos de partícula de talidomida possam levar a diferentes perfis de dissolução relacionados à forma farmacêutica final do fármaco.

Estudos de caracterização polimórfica para talidomida realizados até então estabeleceram padrões cristalográficos para as formas polimórficas apresentadas. Porém, informações complementares importantes não são encontradas na literatura e necessitam ser investigadas para que seja assegurada a eficácia do medicamento. Os principais aspectos relacionados envolvem avaliação das propriedades físico-químicas, estudos termodinâmicos, tecnológicos, mecânicos e cinéticos, associados a cada polimorfo, em particular.

3.2 Propriedades Cristalinas de Fármacos e a Influência em Estudos de Pré-Formulação e Desenvolvimento de Formas Farmacêuticas

Qualquer substância ativa que se pretenda comercializar com intuito de utilização clínica, deve passar por uma série de avaliações visando à obtenção de um medicamento seguro e eficaz (OCHOA *et al.*, 2001). Testes de pré-formulação são os primeiros passos para o desenvolvimento racional de uma forma farmacêutica. Uma etapa preliminar fundamental ao desenvolvimento é a investigação das propriedades físicas e químicas de um fármaco, que servirão de suporte para o pesquisador formular uma forma de dosagem estável e biodisponível, que possa ser produzida em larga escala (WADKE *et al.*, 1990). Estas informações direcionarão os eventos subseqüentes relativos ao desenvolvimento de uma formulação (WELLS, 2005).

Para desenvolver uma forma farmacêutica que propicie ao fármaco alcançar o efeito terapêutico desejado, é fundamental o conhecimento das características peculiares ao próprio fármaco (propriedades físico-químicas) e particularidades da formulação (características farmacotécnicas). Ambas estão relacionadas e influenciam as propriedades biofarmacêuticas do medicamento (OCHOA *et al.*, 2001).

3.2.1 Propriedades Cristalinas e Polimorfismo

A maioria dos compostos orgânicos e inorgânicos de relevância farmacêutica pode existir em mais de uma forma cristalina, sendo essa propriedade conhecida como polimorfismo (WADKE *et al.*, 1990; OCHOA *et al.*, 2001; WELLS, 2005). Quando aplicado a sólidos, a denominação polimorfismo implica em cristais constituídos de unidades estruturais localizadas em três dimensões no espaço. Essas unidades, para cada polimorfo, apresentam uma orientação particular, com forma e volume definidos através da configuração espacial de átomos e moléculas necessários à geração do cristal (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

Polimorfos cristalinos têm a mesma composição química, mas diferentes estruturas cristalinas internas, o que leva a diferentes propriedades físico-químicas. As diferentes estruturas cristalinas em polimorfos surgem quando a substância cristaliza em diferentes arranjos de empacotamento de cristal e/ou conformações. Desta forma, a cristalização representa um papel importante no controle da forma cristalina e distribuição de tamanho destes cristais (VIPAGUNTA *et al.*, 2001; GRANT e BYRN, 2004).

A fase cristalina é citada como uma consequência dos processos de agregação particular em solução que leva à formação de um núcleo, o qual alcança certo tamanho durante a fase de nucleação, havendo o crescimento de cristais macroscópicos. Os fatores que afetam a velocidade e os mecanismos pelos quais os cristais são formados são: solubilidade, supersaturação, difusividade, temperatura e reatividade superficial (BYRN *et al.*, 1995; VIPAGUNTA *et al.*, 2001; WELLS, 2005). Existe ainda um número não muito expressivo de polimorfos que podem ser formados por sublimação ou recristalização de um composto fundido (WELLS, 2005).

Desta forma, polimorfos apresentam significantes diferenças em suas propriedades físicas, se comportando como entidades químicas diferentes. Densidade, dureza, compressibilidade, morfologia do cristal, propriedades de fluxo, índice de refração, ponto de fusão, entalpia de fusão, pressão de vapor, solubilidade e velocidade de dissolução são freqüentemente muito diferentes para cada polimorfo (WADKE *et al.*, 1990; VIPAGUNTA *et al.*, 2001; WELLS, 2005). Diferenças nas propriedades físicas de várias formas cristalinas têm importantes efeitos no processamento de fármacos em produtos farmacêuticos, enquanto diferenças na solubilidade podem ter implicações na absorção da forma ativa de um fármaco e interferir na dosagem correta do mesmo, por afetar a velocidade de dissolução (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

A exposição a mudanças de temperatura, pressão e umidade relativa ocorre freqüentemente durante processos tecnológicos, tais como secagem, granulação, moagem e compressão. O estresse aplicado aos cristais durante processos farmacêuticos pode causar defeitos na estrutura dos cristais e contribuir para a

desordem nos mesmos, afetando, assim, as propriedades físicas do pó (KALINKOVA, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

A estrutura cristalina de fármacos é caracterizada por um conjunto de metodologias, pois não há um sistema universal para investigar o polimorfismo de fármacos, aplicável a todas substâncias existentes (KALINKOVA, 1999).

Um dos métodos mais completos na detecção da presença de polimorfos é a difratometria de raios X (DRX) em pós. Essa técnica fornece a “impressão digital” da fase sólida e pode também ser usada para determinar a estrutura do cristal. Uma vez detectada a existência de polimorfismo, definido por DRX, métodos espectroscópicos, tais como absorção por espectroscopia em infravermelho com transformadas de Fourier (FT-IR), espectroscopia por espalhamento Raman e espectroscopia por ressonância magnética nuclear em estado sólido, podem ser empregados para futura caracterização. São de especial significância os métodos térmicos, tais como calorimetria exploratória diferencial (DSC), que detecta processos endotérmicos, como temperatura de fusão, e exotérmicos, como recristalização e decomposição (WEST, 1984; BYRN *et al.*, 1995; TOSCANI, 1998; AGUIAR, 1999; KALINKOVA, 1999; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001; BUCKTON, 2005).

3.2.2 Polimorfismo e a Influência na Atividade Farmacológica

O interesse pelo estudo do polimorfismo em sólidos de aplicação farmacêutica iniciou-se durante as décadas de 50 e 60, apresentando crescente ascensão na comunidade farmacêutica nesta época, a qual perdura até os dias de hoje. Neste período, alguns cientistas relataram o aparecimento de polimorfos em novos fármacos sintetizados, onde foi constatado que a diferença na estrutura cristalina de algumas substâncias refletia em biodisponibilidade diferenciada para cada forma polimórfica (GRANT e BYRN, 2004). Um exemplo importante que resultou em grande impacto na área farmacêutica é relatado para o palmitato de cloranfenicol, onde alguns pesquisadores detectaram uma diferença expressiva entre a solubilidade de dois polimorfos apresentados para o fármaco, sendo o

polimorfo B significativamente melhor absorvido que o polimorfo A em humanos (WADKE *et al.*, 1990; SINGHAL e CURATOLO, 2004).

O impacto destes estudos atraiu a atenção do FDA, sendo que atualmente o polimorfismo recebe uma atenção especial deste órgão, particularmente no desenvolvimento de novos fármacos (GRANT e BYRN, 2004). Para a aprovação de um novo fármaco com polimorfismo comprovado, o FDA exige metodologias e procedimentos analíticos apropriados para a detecção destes polimorfos, frisando a importância do controle da forma cristalina do fármaco durante todas as etapas de desenvolvimento do produto (BYRN *et al.*, 1994; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001).

A intenção de grande parte das indústrias farmacêuticas é apressar o lançamento de um fármaco no mercado, muitas vezes excluindo metodologias importantes na determinação das propriedades físico-químicas e biodisponibilidade de cada forma. Por esta razão, em laboratórios farmacêuticos que atentam para o fato da existência de polimorfismo, a forma mais estável é usualmente escolhida para o desenvolvimento e, a partir daí, utiliza-se procedimentos sintéticos voltados à produção somente dessa forma. Essa estratégia não é a mais adequada, mas a mais econômica, podendo, em casos mais extremos, alterar a eficácia do fármaco pela ausência de um estudo mais aprofundado (GRANT e BYRN, 2004).

Para fármacos muito solúveis em água, a biodisponibilidade não é limitada pela dissolução da forma cristalina e mais dificilmente o polimorfismo afetaria esse parâmetro. Porém, para fármacos com baixa solubilidade aquosa, a forma polimórfica deve ser controlada para se ter certeza de que a biodisponibilidade é a mesma a cada lote de produto fabricado. Em algumas ocasiões é aceitável o uso da forma cristalina metaestável, com o intuito de aumentar a dissolução de um fármaco, mas também há o risco desta forma se converter à mais estável durante o tempo de vida do produto. Assim, o polimorfismo pode levar a sérias conseqüências em relação à biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis, sendo essencial aos laboratórios farmacêuticos checar a existência de polimorfismo e certificar que o uso da forma polimórfica apropriada está presente em todas as etapas de produção de uma forma farmacêutica e tempo de vida do produto (BUCKTON, 2005).

3.3 O Estado Cristalino: Conceitos, Fundamentos e Principais Metodologias de Análise

3.3.1 Conceitos e Definições

Sólidos na forma cristalina são constituídos por um arranjo periódico e bem estruturado de átomos, íons ou moléculas, os quais apresentam elementos estruturais e de simetria particulares que se repetem regularmente em um espaço tridimensional, formando pequenas unidades ou “blocos”. Estes “blocos” são os menores componentes de um cristal, denominados de células unitárias, as quais contêm pelo menos uma molécula. O cristal completo consiste do empilhamento das células unitárias através de repetições translacionais tridimensionais (CULLITY, 1967).

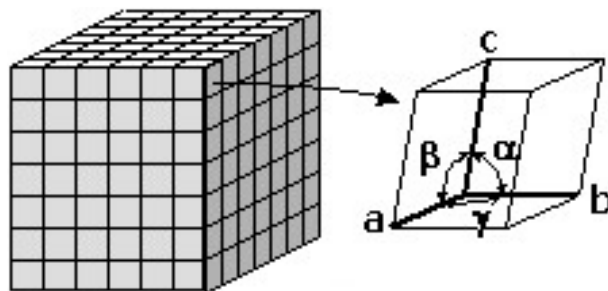


Figura 2. Célula unitária e parâmetros de rede de uma estrutura cristalina.

As dimensões da célula unitária são caracterizadas por seis diferentes parâmetros, os quais são compostos por três eixos cristalográficos, a , b e c e os ângulos entre eles, α , β e γ . Estes vetores que descrevem a forma e tamanho da célula unitária são denominados parâmetros de rede. Os planos de átomos que compõem a célula unitária apresentam determinada orientação, definida pela intersecção desse plano com os eixos do sistema de coordenadas da célula unitária,

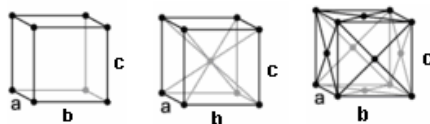
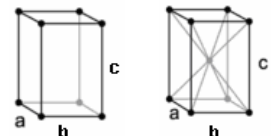
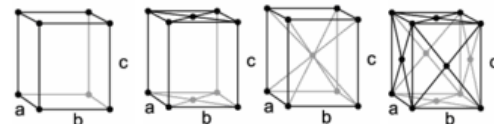
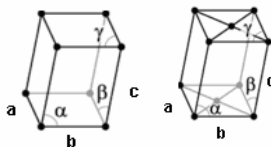
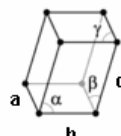
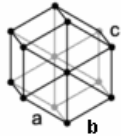
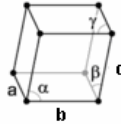
sendo denominados de índices de Miller ($h k l$) (KLUG e ALEXANDER, 1954; CULLITY, 1967).

As células unitárias repetidas indefinidamente em três dimensões e de maneira ordenada, formam uma rede cristalina. As redes cristalinas podem ser classificadas em um dos setes tipos básicos de sistemas cristalinos: cúbico, tetragonal, ortorrômbico, monoclinico, triclinico, hexagonal e romboédrico. Estes sistemas cristalinos apresentam diferentes parâmetros de rede, como pode ser visualizado na Tabela 1. Cada um desses sistemas cristalinos possui um ou mais elementos de simetria, os quais descrevem a simetria interna da célula unitária, denominados grupos de pontos. Dentre todos os diferentes elementos de simetria cristalográficos existentes, pode-se totalizar 32 combinações possíveis. De acordo com o cristalógrafo francês Bravais, existem 14 possíveis arranjos de pontos de rede nas células unitárias, estabelecidos em função da localização de átomos, íons ou moléculas no cristal, nos sete sistemas cristalinos, sendo estas estruturas denominadas de redes de Bravais (Tabela 2). A combinação de 32 grupos pontuais com 14 configurações básicas propostas por Bravais possibilita a existência de 230 possíveis arranjos de pontos no espaço, denominados grupos espaciais (CULLITY, 1967; WEST, 1984; DATTA e GRANT, 2004).

Tabela 1. Sistemas cristalinos e as diferenças existentes entre seus parâmetros de rede (KLUG e ALEXANDER, 1954).

Sistema cristalino	Parâmetros de rede	
Cúbico	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Tetragonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Ortorrômbico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \beta = \gamma = 90^\circ$
Monoclinico	$a \neq b \neq c$	$\alpha = \gamma = 90^\circ; \beta > 90^\circ$
Triclinico	$a \neq b \neq c$	$\alpha \neq \beta \neq \gamma \neq 90^\circ$
Hexagonal	$a = b \neq c$	$\alpha = \beta = 90^\circ; \gamma = 120^\circ$
Romboédrico	$a = b = c$	$\alpha = \beta = \gamma \neq 90^\circ < 120^\circ$

Tabela 2. Quatorze configurações básicas de estruturas cristalinas, denominadas de Redes de Bravais (KLUG e ALEXANDER, 1954).

Sistema cristalino	Célula unitária
Cúbico	
Tetragonal	
Ortorrômbico	
Monoclínico	
Triclínico	
Hexagonal	
Romboédrico	

3.3.2 Fundamentos Referentes à Cristalografia de Raios X

Substâncias cristalinas representaram um fascinante enigma para o homem durante muito tempo. Com o advento da química e da física moderna, a elucidação da estrutura interna dos cristais tornou-se uma questão desafiadora. Tais questionamentos levaram M. von Laue, em 1912, à descoberta da difração de raios X por cristais, e, posteriormente W. L. Bragg a determinar a similaridade do fenômeno de difração ao de reflexões ordinárias (KLUG e ALEXANDER, 1954; WEST, 1984).

De acordo com Bragg, quando uma radiação monocromática atinge o cristal, especificamente em um plano de átomos com orientação adequada, a mesma será sucessivamente refletida pela estrutura periódica deste plano. A incidência de raios X sobre um plano de átomos e posterior difração deste feixe de radiação gera ângulos característicos, denominados de “ θ ” (letra grega *theta*). Desta forma, o caminho percorrido pela radiação é da ordem das distâncias entre planos (d), sendo que a diferença do caminho percorrido pode coincidir com o valor do comprimento de onda da radiação utilizada (λ), gerando-se uma interferência construtiva e posterior detecção desta radiação (KLUG e ALEXANDER, 1954; CULLITY, 1967). A partir destas deduções, Bragg formulou a seguinte equação:

$$n\lambda = 2.d .\text{sen } \theta$$

(Equação 1)

Onde d é a distância entre planos do cristal, θ é o ângulo de difração dos raios X, λ é o comprimento de onda dos raios X e n o número de comprimentos de onda utilizados.

Dessa forma, a análise por difração de raios X gera difratogramas com registro de intensidade da radiação em todos os ângulos de análise, sendo que nos

ângulos em que a condição de Bragg é satisfeita, picos são registrados (CULLITY, 1967).

A partir dos princípios postulados por Bragg, sumarizados em sua equação, pode-se definir a estrutura cristalina de uma substância do seguinte modo (DATTA e GRANT, 2004):

- Indexação de um padrão de difração e determinação do sistema cristalino e parâmetros de rede.
- Identificação dos grupos espaciais.
- Conversão de intensidades determinadas experimentalmente em uma imagem dos átomos de uma célula unitária.

3.3.2.1 Técnica de Difração de Raios X em Pós

A técnica de difração de raios X em pós consiste de padrões de difratogramas gerados característica e distintamente para cada substância, os quais são formados por um conjunto de linhas ou picos, apresentando diferentes intensidades e posições (distâncias interplanares “d” ou ângulos de Bragg “ 2θ ”). Para uma dada substância, as posições dos picos são essencialmente fixas e características. As intensidades podem variar um pouco entre diferentes amostras, dependendo do método de preparação da amostra e condições instrumentais. Com o intuito de identificação de fases cristalinas, deve-se avaliar principalmente as posições dos picos, considerando semiquantitativamente as intensidades (WEST, 1984).

Essa metodologia é extensivamente utilizada com o intuito de identificação de fases cristalinas, também sendo indicada para análise quantitativa de fases cristalinas presentes em misturas, avaliação do grau de cristalinidade, determinação de estruturas cristalinas (incluindo análise de parâmetros de célula unitária), avaliação de tamanho de partícula e detecção de defeitos em redes cristalinas (WEST, 1984).

3.3.2.2 Refinamento Estrutural pelo Método de Rietveld

O refinamento proposto por RIETVELD (1969), desenvolvido inicialmente para difratogramas gerados a partir de difração de nêutrons e posteriormente adaptado para difratogramas de raios X, fornece informações a respeito da estrutura de compostos cristalinos e mostra-se uma ferramenta poderosa para a determinação quantitativa em casos onde ocorrem misturas de fases (MCCUSKER *et al.*, 1999; IYENGAR *et al.*, 2001; DATTA e GRANT, 2004).

O método de Rietveld baseia-se na simulação teórica de um espectro de difração de raios X completo a partir de um modelo, onde se assume a estrutura cristalina e as espécies atômicas que ocupam os sítios de rede (posições atômicas, parâmetros de rede e grupo espacial) de uma determinada substância, levando-se em conta toda a estrutura cristalina deste composto. O método consiste em ajustar uma curva teórica aos picos do difratograma experimental, minimizando a diferença entre o padrão de pontos experimentais e o padrão de pontos calculados pelo método dos mínimos quadrados (KINAST, 2000; MACHADO, 2005).

O espectro teórico simulado é ajustado ao espectro experimental através de procedimentos numéricos onde vários parâmetros estruturais são refinados, como posições atômicas, números de ocupação, fatores de temperatura, fator de escala, parâmetros de rede, fatores de assimetria, orientação preferencial e parâmetros de largura, forma e intensidade de linha. Para efetuar o refinamento por Rietveld é necessária uma grande quantidade de cálculos matemáticos relativamente complexos, os quais são realizados por meio de programas computacionais específicos. Um dos programas freqüentemente utilizados para essa finalidade é o FullProf[®], desenvolvido por RODRIGUEZ-CARBAJAL (1997). Para a avaliação do ajuste, são gerados fatores numéricos que verificam a qualidade do refinamento, além da demonstração gráfica, onde é permitida uma avaliação visual dos progressos do refinamento, durante a análise (MCCUSKER *et al.*, 1999; KINAST, 2000; MACHADO, 2005).

Desta forma, a análise por Rietveld envolve, basicamente, a seqüência de três passos: i) geração de um padrão de difração de raios X calculado a partir de um

modelo, utilizando seus dados estruturais, ii) comparação de um padrão de difração de raios X obtido experimentalmente com o padrão calculado, iii) minimização do erro existente entre os dois padrões comparados (experimental e calculado) ponto por ponto, pelo método de mínimos quadrados (MCCUSKER *et al.*, 1999; IYENGAR *et al.*, 2001).

3.4 Dissolução de Substâncias Ativas de Uso Farmacêutico

A velocidade de dissolução é um parâmetro que expressa a maior ou menor rapidez com que um soluto se dissolve em um líquido solvente, em determinadas condições de agitação e temperatura, dentre outros fatores. Está intimamente relacionada com a solubilidade, embora significando um conceito diferente: a solubilidade é um conceito estático, que se refere a um estado de equilíbrio termodinâmico, enquanto que a velocidade de dissolução corresponde a um conceito dinâmico, representando a quantidade ou concentração de fármaco que se dissolve por unidade de tempo (MARTÍNEZ e NAVARRO, 2001).

Através da alteração da velocidade de dissolução de uma substância mediante fatores tecnológicos e de formulação, é possível modular o perfil de liberação de um fármaco, o que resulta em grande importância biofarmacêutica. A velocidade de dissolução de formas farmacêuticas sólidas orais, como comprimidos e cápsulas, torna-se um processo crítico para ação de diversos fármacos, especialmente importante para compostos muito pouco solúveis em água. Para que os fármacos possam ser absorvidos é necessário que os mesmos se encontrem em solução nas proximidades do local em que serão absorvidos. Se a velocidade de dissolução é menor que a velocidade de absorção, a dissolução se torna uma etapa crítica e limitante, a qual pode comprometer seriamente a biodisponibilidade do medicamento para o organismo (MARTÍNEZ e NAVARRO, 2001).

A dissolução de um fármaco a partir de uma forma farmacêutica sólida oral envolve pelo menos duas etapas principais consecutivas: liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica (desintegração), seguida pela dissolução do fármaco

propriamente dita (solubilização das partículas de fármaco) em meio líquido (BROWN *et al.*, 2004).

Na segunda etapa da dissolução, onde ocorre a solubilização das partículas de fármaco, as propriedades físico-químicas do mesmo, tais como forma química (por exemplo: sal, ácido livre, base livre) e física (por exemplo: polimorfo, amorfo, tamanho de partícula) apresentam um papel determinante. Em situações onde esta etapa é limitante para a absorção de uma substância, a velocidade de dissolução é controlada pela dissolução intrínseca deste fármaco. Esta limitação geralmente ocorre para a maioria dos compostos fracamente solúveis em água, componentes de formulação para liberação imediata (BROWN *et al.*, 2004).

3.4.1 Método de Dissolução Intrínseca em Disco

A velocidade de dissolução intrínseca em disco (IDR) tem sido empregada com o intuito de caracterização de fármacos puros em estado sólido. Dentre as principais utilizações, pode-se citar as seguintes (YU *et al.*, 2004):

- Determinação de parâmetros termodinâmicos associados com transição de fases cristalinas;
- Investigação do fenômeno de transferência de massa durante processos de dissolução;
- Estudo do efeito de tensoativos e da alteração do pH para a solubilização de fármacos pouco solúveis em água;
- Entendimento da relação entre velocidade de dissolução e forma cristalina de uma substância.

A velocidade de dissolução intrínseca é determinada normalmente sob condições *sink*, utilizando um procedimento padrão onde uma quantidade conhecida de fármaco é compactado em um disco com superfície constante e área conhecida. O pó compactado não desintegrante é acoplado a um aparato ou dispositivo

rotatório inserido em um dissolutor, procedendo-se a dissolução em meio com temperatura, velocidade de agitação e pH constantes. Usualmente, sob essas condições, a relação obtida quando se plotam os dados de quantidade dissolvida *versus* o tempo é linear e a inclinação da reta é igual à velocidade de dissolução nas unidades de massa por unidade de tempo. Considerando-se que a área da superfície exposta é conhecida, a velocidade de dissolução intrínseca pode ser expressa como massa dissolvida por área por tempo, sendo que a quantidade cumulativa máxima de fármaco dissolvido não deve exceder a 10 % (WOOD *et al.*, 1965; MARCOLONGO, 2003; YU *et al.*, 2004; DA ROSA, 2005; USP 29, 2006).

3.4.2 Teoria do Processo de Dissolução Intrínseca

A lei fundamental postulada, relativa à velocidade de dissolução, foi formulada matematicamente por Noyes e Whitney em 1897, posteriormente complementada por Nernst. Através dos estudos destes pesquisadores, estimou-se que a velocidade de dissolução é adequadamente descrita pela seguinte equação (WADKE *et al.*, 1990; MARTÍNEZ e NAVARRO, 2001):

$$\frac{dC}{dt} = \frac{A \cdot D (C_s - C)}{h \cdot V}$$

(Equação 2)

Onde,

$\frac{dC}{dt}$ = velocidade de dissolução

A = área superficial do sólido dissolvido

D = coeficiente de difusão

C = concentração do soluto na solução

C_s = concentração do soluto na camada de difusão

h = espessura da camada de difusão

V = volume do meio de dissolução

Durante o início da dissolução, $C_s \gg C$, apresentando valores iguais aos da solubilidade de saturação S , podendo-se considerar a área superficial e o volume constantes. Sob essas condições, mantendo-se constantes temperatura e agitação do meio, a equação há pouco referida reduz-se a:

$$\frac{dC}{dt} = K \cdot S$$

(Equação 3)

Onde,

$$K = \frac{A \cdot D}{h \cdot V} = \text{constante}$$

Desta forma, a partir de uma derivação da equação de Noyes-Whitney pode-se calcular a velocidade de dissolução intrínseca, pois uma vez que as condições *sink* são mantidas o gradiente de concentração é considerado constante. O cálculo pode ser efetuado através da equação seguinte (YU *et al.*, 2004):

$$IDR = \frac{V \cdot dC}{dt} \cdot \frac{1}{A}$$

(Equação 4)

Onde,

IDR = velocidade de dissolução intrínseca

V = volume do meio de dissolução

A = área superficial da amostra

Portanto, a equação acima fornece informações a respeito da velocidade de dissolução intrínseca, sendo característica para determinado composto sólido em um solvente específico, sob condições hidrodinâmicas constantes. Esse parâmetro é geralmente expresso em quantidade de fármaco dissolvido em função do tempo e da área superficial (normalmente utilizando-se as unidades: mg/min/cm²). O conhecimento deste parâmetro é de grande valia durante etapas de pré-formulação de um medicamento, pois através dele pode-se perceber se o processo de absorção é limitado pela velocidade de dissolução de um fármaco (WADKE *et al.*, 1990).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

4.1.1 Matérias-Primas de Talidomida

As matérias-primas utilizadas foram obtidas de três fornecedores nacionais¹, totalizando sete amostras, denominadas da seguinte maneira:

- Talidomida (T): T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆, T₇;

Como substância química de referência, utilizou-se USP Thalidomide Reference Standard (Lote: F0C107).

4.1.2 Reagentes, Soluções e outras Matérias-Primas

- Acetonitrila grau HPLC; Tedia[®]; Lote: 511139R;
- Ácido acético; Nuclear[®]; Lote: 06070959;
- Ácido clorídrico; Quimex[®]; Lote: 32597;
- Ácido ortofosfórico; Merck[®]; Lote: 0800-2;
- Água ultrapura; Milli-Q[®] (Millipore[®]);
- Brometo de potássio; Vetec[®]; Lote: 0601781;
- Dodecilsulfato de sódio; Synth[®]; Lote: 95689;
- Diclorometano; Nuclear[®];
- N-N-Dimetilformamida; Vetec[®]; Lote: 048022;

¹ Amostras cedidas pelo Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

- L-Glutamina; Vetec[®]; Lote: 0500519;
- Metanol; Tedia[®]; Lote: 111036;

4.1.3 Equipamentos de Proteção Individual e Segurança

- Macacão Tyvek[®] 1422A (protective apparel DuPont[®]), revestimento de segurança com capuz, confeccionado em polietileno de alta densidade com tratamento antiestático².
- Máscara respiradora semifacial 6200 de elastômero sintético 3M[®], contendo 2 filtros; Filtros 5N11 3M[®], protege contra poeiras, névoas e fumos (Classe P2);
- Óculos de segurança Pró-Vision Carbografite[®], contendo armação e lentes de policarbamato incolores, confeccionado em única peça;
- Luvas de látex para procedimentos Descarpac[®], anatômicas e ambidestras;

4.1.4 Equipamentos e Utensílios³

- Analisador CILAS[®], Particle Size Distribution, modelo CILAS 1180 Liquid. Faixa de análise: 0,04 µm a 2500 µm. Equipamento presente no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), Faculdade de Engenharia de Materiais, desta Universidade;

² Macacão que propicia segurança a substâncias perigosas. Protege onde há risco de contaminação com partículas tóxicas ou alergênicas, secas ou úmidas, com tamanho de partícula maior que 0,5 µm, respingos e/ou névoas de produtos químicos.

³ Todos os equipamentos discriminados (exceto aqueles assinalados) encontram-se disponíveis no Centro de Desenvolvimento Tecnológico e Farmacêutico, Central Analítica, Laboratório de Desenvolvimento Galênico, Laboratório de Química Farmacêutica e Laboratório de Tecnologia Bioquímica da Faculdade de Farmácia, desta Universidade.

- Aparato para dissolução intrínseca Padrão USP em aço inox 316L polido Flowscience®; Conjunto base e pistão Padrão USP em aço inox polido Flowscience®;
- Aparelho de desintegração acoplado a motor J. Engelsmann® modelo JEL-70;
- Aparelho de dissolução Pharma Test® tipo PTWS III, série I 4022A;
- Aparelho de determinação de ponto de fusão Reichert®, do tipo Kofler, dotado de microscópio e sistema de bloco de aquecimento;
- Balança analítica Mettler Toledo® AB204;
- Balança de infravermelho Bel Mark®, Top Ray;
- Calorímetro exploratório diferencial com compensação de potência Shimadzu® DSC 60 acoplado a microprocessador de controle Thermal Analysis, System 4 e a estação de dados 3700;
- Câmara de fluxo laminar vertical Pachane® PA-115, possuindo luz ultravioleta, fria e ventilação;
- Câmara de friabilômetro para comprimidos efervescentes com volume de 500 cm³, adaptada ao motor J. Engelsmann® modelo JEL-70;
- Cromatógrafo a líquido de alta eficiência Perkin-Elmer® (Series 200), composto por duas bombas de alta pressão com possibilidade de eluição em sistema gradiente, detector dual de ultravioleta, injetor automático e software gerenciador dos dados (Totalchrom navigator);
- Coluna cromatográfica de aço inoxidável, RP-18 (150 x 4,6 mm d.i., diâmetro de partícula de 5 µm; 110 Å);(Gemini - Phenomenex®);
- Difratorômetro de raios X Siemens®, modelo D5000, radiação CuK_α (2θ), 25 mA, 40 kV, com geometria de Bragg-Bretano. Este equipamento encontra-se no Instituto de Geociências desta Universidade;
- Difratorômetro de raios X com variação da temperatura Siemens®, modelo D5000, detector PSD, radiação de CuK_α (2θ), 30 mA, 40 kV. Análise realizada

no Laboratório de Difração de Raios X, Departamento de Ciência dos Materiais e Metalurgia, PUC/RJ;

- Equipamento do tipo B. E. T. (Brunauer, Emmett e Teller), Quantachrome[®], modelo Autosorb-1 acoplado ao software Autosorb for Windows[®] Version 1.24. Equipamento disponibilizado pelo Laboratório de Tecnologia Mineral e Ambiental, desta Universidade;
- Espectrofotômetro de infravermelho Shimadzu[®] DR-8001, com transformações de Fourier, Infrared FTIR-8300, dotado de feixe *laser* de He-Ne a 633 nm (0,5 mW) Carver Laboratory Press, modelo C n. 34000-978 e prensa hidráulica Perkin-Elmer[®]. Equipamento encontra-se disponível na Central Analítica do Instituto de Química, desta Universidade;
- Espectrofotômetro de ultravioleta/visível Hewlett Packard[®], HP8452 A;
- Forno do tipo mufla Sanchis[®], atingindo temperatura máxima de 1200 °C; Equipamento presente no Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), Faculdade de Engenharia de Materiais, desta Universidade;
- Máquina de comprimir Korsch[®] EK0 com punções duplos, circulares, planos, de 8 mm de diâmetro e punção superior sulcado;
- Máquina universal de ensaios ATS[®], modelo 1105, que se encontra disponível no Laboratório de Materiais Cerâmico (LACER), da Faculdade de Engenharia de Materiais, desta Universidade;
- Membrana hidrofílica para filtração HVLP01300 (Durapore[®]) em PVDF, 0,45 µm de tamanho de poro, 13 mm de diâmetro, branca, lisa (Millipore[®]);
- Membrana hidrofílica para filtração HAWP02500 em éster de celulose, 0,45 µm de tamanho de poro, 25 mm de diâmetro, branca, lisa (Millipore[®]); Lote: 85BN52597;
- Membrana hidrofílica para filtração HVLP04700 (Durapore[®]) em PVDF, 0,45 µm de tamanho de poro, 47 mm de diâmetro, branca, lisa (Millipore[®]); Lote: B1CN34448;

- Metalizador Shimadzu[®] modelo Ion Coater IC-50; Etapa realizada em colaboração com o Centro Tecnológico de Mecânica de Precisão – SENAI – CETEMP, São Leopoldo/RS;
- Microscópio eletrônico de varredura Jeol[®], modelo 5800. Este equipamento encontra-se no Centro de Microscopia Eletrônica, desta Universidade;
- Microscópio eletrônico de varredura Shimadzu[®] SSX-550; Análise realizada em colaboração com o Centro Tecnológico de Mecânica de Precisão – SENAI – CETEMP, São Leopoldo/RS;
- Microscópio ótico Jena[®], equipado com nônio de escala na ocular;
- Placa de agitação e aquecimento Fisatom[®], com 5 velocidades, atingindo temperatura máxima de 300 °C;
- Polarímetro Perkin Elmer[®] Polarimeter 341, com lâmpada de sódio;
- Porta-amostra de alumínio para DSC, C 201-52943, com capacidade de 50 µL;
- Seladora Thermal Science[®] 5140, para fechamento de porta-amostra de DSC;
- Ultrassom UltraCleaner 1400A com aquecimento, Unique[®] Ultrasonic Clean;
- Volúmetro de compactação J. Engelsmann[®];

4.2 Métodos

4.2.1 Caracterização Físico-Química das Matérias-Primas de Talidomida

4.2.1.1) Testes de Identificação

i) Espectroscopia na Região do Ultravioleta (UV) (DIBBERN, 1978; MOFFAT, 2004)

A talidomida absorve em 237 nm em solução aquosa ácida, com $A_{1cm}^{1\%} = 385$; e em 300 nm, com $A_{1cm}^{1\%} = 94$. As amostras foram dissolvidas em HCl 0,01M, em concentração de 0,001%, obedecendo a Lei de Lambert Beer. A análise ocorreu na faixa espectral de 200 a 400 nm.

4.2.1.2) Determinação da Pureza

i) Pureza Cromatográfica

Através de ensaio cromatográfico por cromatografia a líquido de alta eficiência (CLAE), verificou-se o percentual de impurezas constantes nos produtos analisados. Adotou-se o procedimento de comparação das amostras ao padrão USP (elevado grau de pureza), para que se pudesse estimar o grau de pureza das mesmas.

A quantificação das amostras baseou-se em protocolo desenvolvido e validado por PAVEI e colaboradores (2007)⁴, onde foram adotados os seguintes procedimentos:

Preparação e solubilização do fármaco talidomida das amostras disponíveis:

- Pesaram-se, em balança analítica, exatamente 50 mg de fármaco, que foram colocados em balão volumétrico de 100 mL;
- Acrescentaram-se ao balão volumétrico 70 mL de acetonitrila;
- Misturou-se o conteúdo do balão volumétrico por 20 minutos em agitador orbital, sendo posteriormente colocado em ultrassom por 10 minutos;
- Completou-se o volume do balão, com posterior retirada de uma alíquota de 10 mL, a qual foi transferida para balão volumétrico de 50 mL, completando o volume com a fase móvel;
- A concentração final tanto das amostras quanto do padrão foi de 100 µg/mL.

Empregou-se as seguintes condições de análise para o ensaio cromatográfico:

- Fase móvel: acetonitrila e ácido fosfórico 0,1 % (30 % e 70 %, respectivamente);
- Fluxo: 1,5 mL/min;
- Comprimento de onda: 237 nm;
- Tempo de análise: 6,5 min;

⁴ PAVEI, C.; CARINI, J. P.; MAYORGA, P. Development and validation of analytical method and dissolution assay for thalidomide tablets, 2007. *Article in press*.

ii) Impurezas Ordinárias (USP 29, 2006)

A análise foi realizada por cromatografia em camada delgada (CCD), de acordo com método proposto pela Farmacopéia Americana:

- Solução teste: As amostras foram dissolvidas em acetonitrila, obtendo-se uma solução de 2 mg/mL;
- Solução padrão: L-Glutamina foi solubilizada em uma mistura de acetonitrila e água (V/V), em uma concentração de 0,1 mg/mL;
- Sistema eluente: Diclorometano, metanol e ácido acético (75:25:0,05) (V/V/V);

O volume de aplicação foi de 2 µL para a solução padrão e 100 µL para a solução teste, em uma placa de gel de sílica. A visualização foi obtida através da aspersão de ninidrina, que origina coloração rósea na presença de glutamina.

iii) Atividade Óptica (F. Bras. IV, 1988)

As amostras foram analisadas na concentração de 1 %, sendo utilizada dimetilformamida (DFM) como solvente (REEPMEYER, 1996).

As condições de análise foram as seguintes:

- Leitura em lâmpada de sódio;
- Comprimento da célula: 1 dm;
- Comprimento de onda: 589,3 nm;
- Temperatura: 20 °C;

A rotação óptica específica foi calculada da seguinte maneira:

$$|\alpha|_D^{20} = \frac{100 \cdot \alpha}{l \cdot c}$$

(Equação 5)

Onde $|\alpha|_D^{20}$ é a rotação óptica específica na temperatura de 20 °C, com leitura em lâmpada de sódio (D), α é a rotação óptica observada (°), l o comprimento da célula (dm) e c é a concentração da substância analisada (g/100mL).

A rotação óptica observada foi determinada a partir do valor médio obtido de cinco leituras, para cada amostra.

iv) Perda por Dessecação (F. Bras. IV, 1988)

O teor de umidade foi determinado através de método gravimétrico em estufa. Aproximadamente 50 mg de cada amostra foram empregados para o teste, em uma temperatura de 105 °C. Inicialmente as amostras foram desseccadas por 2 horas, resfriadas em desseccador por 30 minutos e pesadas. O procedimento foi repetido até ser obtido peso constante. As análises foram realizadas em triplicata.

4.2.2 Caracterização Tecnológica das Matérias-Primas de Talidomida

4.2.2.1) Análise Granulométrica

i) Determinação Granulométrica por Microscopia Óptica

Analisou-se o diâmetro médio das partículas adotando o diâmetro de Feret como referência, representado pela distância média entre duas linhas tangentes paralelas ao perímetro da partícula e perpendiculares à escala ocular. Para determinação do diâmetro médio foram avaliadas aproximadamente 500 partículas de cada uma das amostras.

ii) Determinação Granulométrica por Difração a *Laser*

A análise granulométrica foi realizada utilizando-se um analisador CILAS, modelo 1180, equipado com sistema de avaliação do tamanho de partícula através da difração de luz *laser*.

A água foi utilizada como agente dispersante para aproximadamente 200 mg de amostra. A dispersão dos pós foi auxiliada empregando-se ultrassom por 60 segundos.

Através desta análise obtêm-se valores de diâmetro médio de Fraunhofer, gráfico de distribuição de frequências relativa e cumulativa e curva sigmoideal traçada com o percentual cumulativo dos tamanhos de partícula. Os resultados são calculados automaticamente através de programa computacional.

4.2.2.2) Determinação das Densidades Bruta e de Compactação (GUYOT et al., 1995)

Determinou-se massa de amostra (M_a), posteriormente transferida para proveta graduada fixada a um dispositivo capaz de provocar repetidas quedas do produto por minuto. Desta forma, obtêm-se o volume inicial ocupado pela amostra (volume bruto – V_b). Após este procedimento, a amostra é submetida a 10, 250, 500 e 1250 quedas, onde a diferença entre V_{500} e V_{1250} foi inferior a 0,1 mL. Devido à pequena diferença de volume entre V_{500} e V_{1250} , definiu-se V_{500} como volume final ou volume de compactação (V_c). Determina-se o cálculo das densidades bruta (db) e de compactação (dc) pelas equações que seguem:

$$db = \frac{M_a}{V_b}$$

(Equação 6)

$$dc = \frac{M_a}{V_c}$$

(Equação 7)

Utilizou-se aproximadamente 1 g de amostra para as determinações, as quais foram realizadas em triplicata. Análise estatística foi efetuada através do teste-t para amostras independentes presumindo variâncias equivalentes.

4.2.2.3) Determinação do Fator de Hausner e Índice de Carr ou Índice de Compressibilidade

A partir dos valores das densidades bruta (db) e de compactação (dc) obtêm-se o fator de Hausner (FH) (HAUSNER, 1967) e o índice de Carr (IC) (CARR, 1965), determinados de acordo com as seguintes equações, respectivamente:

$$FH = \frac{dc}{db}$$

(Equação 8)

$$IC(\%) = \frac{dc - db}{dc} \cdot 100$$

(Equação 9)

Procedeu-se a análise estatística através do teste-t para amostras independentes presumindo variâncias equivalentes.

4.2.2.4) Determinação do Ângulo de Repouso

As características indicativas de fluxo das amostras foram avaliadas através da determinação do ângulo de repouso, utilizando-se o aparelho constituído de um cilindro móvel ajustado a uma base fixa, acoplado a um motor. Quando se aciona o motor, o mesmo desloca o cilindro para cima, separando-o da base e conseqüentemente liberando o pó. Este pó forma um aglomerado que, após a incidência de luz sobre ele, forma-se uma sombra projetada em uma planilha adaptada verticalmente. Procedeu-se a medida das sombras e a partir destes resultados foi calculado o ângulo de repouso (α) através de sua tangente, conforme expressa a equação:

$$tg \alpha = \frac{h}{r}$$

(Equação 10)

Onde α é o ângulo de repouso ($^{\circ}$) e $tg \alpha$ é o quociente entre os catetos oposto (h) e adjacente (r) do triângulo.

Utilizaram-se aproximadamente 10 mL de amostra para as determinações, as quais foram realizadas em triplicata.

4.2.2.5) Determinação da Área Superficial

A área superficial das amostras foi determinada através do método de adsorção em fase gasosa, utilizando um equipamento do tipo B. E. T. (Brunauer, Emmett e Teller), Quantachrome[®], modelo Autosorb-1.

Os dados são interpretados de acordo com as teorias de adsorção de gás, estimando-se valores de áreas de superfície das amostras, em unidades de m²/g (WEBB e ORR, 1997).

Utilizou-se o valor de um único ponto para a estimativa da área superficial das amostras.

As análises procederam nas seguintes condições:

- Peso aproximado das amostras: 1,0 g;
- Gás adsorvente: nitrogênio;
- Temperatura de degaseificação: 60 ° C;
- Tempo de análise: aproximadamente 60 minutos;
- Pressão relativa: 0,3021 p/p₀.

4.2.3 Caracterização Cristalográfica, Espectroscópica e Morfológica das Estruturas Cristalinas Apresentadas pelas Matérias-Primas de Talidomida⁵

4.2.3.1) Análise por Espectroscopia na Região do Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)

As amostras foram preparadas em pastilhas de brometo de potássio, previamente dessecado. Misturou-se 1,5 mg de fármaco e 150 mg de brometo de potássio em gral de ágata e após submeteu-se a mistura à pressão em uma prensa hidráulica, obtendo-se a pastilha. Logo após, as amostras foram analisadas no espectrofotômetro.

As análises foram realizadas na faixa espectral de 3800 cm^{-1} a 500 cm^{-1} e a luz transmitida foi expressa em percentual, no modo transmitância. A resolução do equipamento foi de 4 cm^{-1} e 40 acumulações.

4.2.3.2) Análise por Difratomia de Raios X em pós (DRX)

As amostras foram suavemente homogeneizadas em gral de porcelana, posteriormente colocadas em porta-amostras específico o qual foi inserido no difratômetro. Utilizou-se em torno de 500 mg de amostra para as determinações, as quais foram realizadas em um difratômetro de raios X Siemens[®], modelo D5000.

Foram utilizadas as seguintes condições de análise:

- Fonte de radiação de CuK_α de $1,5409\text{ \AA}$;
- Filtro de níquel;
- Velocidade angular de 2θ ;

⁵ A etapa de caracterização cristalográfica foi realizada em colaboração com o Instituto de Geociências desta Universidade, Laboratório de Difratomia de Raios X, contando com a participação da Dr. Giovanna Machado e dos professores Dr. André Sampaio Mexias e Dr. Vitor Pereira.

- *Step size*: $0,02^\circ 2\theta$; *Step time*: 1 s ($0,02^\circ 2\theta$ por segundo);
- Corrente de filamento de 25 mA;
- Voltagem e aceleração dos elétrons de 40 kV;

As amostras foram analisadas no intervalo de 2 a $72^\circ 2\theta$ (aproximadamente uma hora de análise), em temperatura ambiente.

O difratograma obtido relaciona graficamente a intensidade relativa dos picos pelos valores de graus 2θ .

4.2.3.3) Determinação Quantitativa das Fases Cristalinas Através do Método de Rietveld

As amostras foram submetidas à difração de raios X, com algumas condições de análise diferentes das utilizadas para avaliação qualitativa anterior:

- a) *Step size*: $0,05^\circ 2\theta$; *Step time*: 20 s;
- b) *Step size*: $0,02^\circ 2\theta$; *Step time*: 10 s;

O período de incidência dos raios X na amostra foi maior que o normalmente utilizado em análises rotineiras. Características particulares a cada amostra determinaram a escolha do procedimento a) ou b) para as determinações. As análises foram realizadas no intervalo de $2^\circ 2\theta$ a $82^\circ 2\theta$, totalizando aproximadamente de 9 a 11 horas de análise, para cada amostra. A partir destas determinações, obteve-se difratogramas com alto grau de detalhamento e ótima resolução, necessários para análises pelo método Rietveld.

A proporção de fases polimórficas presentes nas amostras foi avaliada através do refinamento por Rietveld⁶. O refinamento foi realizado com auxílio do programa FullProf[®] (RODRIGUEZ-CARBAJAL, 1997), onde foram determinados

⁶ Refinamento realizado pela pós-doutoranda Giovanna Machado, vinculada ao Instituto de Geociências, desta Universidade.

diversos parâmetros estruturais, como parâmetros de rede, orientação preferencial, fator de temperatura e posição zero no goniômetro.

4.2.2.4) Avaliação da Morfologia Cristalina

A morfologia externa dos cristais foi observada através da análise por microscopia eletrônica de varredura (MEV).

Pequenas quantidades de amostra foram inseridas em um suporte (*stub*) de metal recoberto por uma fita condutora adesiva dupla face. Após esta etapa, as amostras foram metalizadas com uma fina camada de ouro de aproximadamente 20 nm, em ambiente a vácuo, sendo posteriormente analisadas.

4.2.4 Avaliação do Comportamento Térmico das Matérias-Primas de Talidomida

4.2.4.1) Determinação da Faixa de Fusão

Esta análise foi realizada em aparelho de determinação de ponto de fusão, dotado de microscópio e sistema de bloco de aquecimento. Pequenas quantidades de amostra foram inseridas entre duas placas de vidro, as quais foram colocadas sobre bloco metálico. O comportamento das amostras durante o aquecimento foi acompanhado visualmente através de um microscópio acoplado ao sistema. O ponto de fusão das amostras foi determinado no momento em que as primeiras partículas de pó iniciavam a fusão.

A faixa de aquecimento das amostras foi de 25 °C a 280 °C.

4.2.4.2) Determinação do Comportamento Térmico por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Uma massa determinada de amostra foi pesada (em torno de 1,0 mg) e acondicionada em porta-amostras de alumínio (volume de 50 μL), sendo posteriormente selado e submetido a análise por DSC. O equipamento foi previamente calibrado com índio (ponto de fusão de 156,63 $^{\circ}\text{C}$ e energia de transição de 28,45 J/g) e zinco (ponto de fusão de 419,58 $^{\circ}\text{C}$ e energia de transição de 100,50 J/g).

Os seguintes parâmetros foram inicialmente utilizados para a análise:

- Velocidade de aquecimento: 10 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$;
- Faixa de aquecimento: 25 $^{\circ}\text{C}$ a 300 $^{\circ}\text{C}$;
- Composição e fluxo de gás de purga: atmosfera de nitrogênio, sob fluxo constante de 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$;

Algumas determinações foram realizadas com a velocidade de aquecimento de 1 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ e 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$, na mesma faixa de aquecimento de 25 $^{\circ}\text{C}$ a 300 $^{\circ}\text{C}$. Em determinadas situações, utilizou-se o programa de resfriamento controlado.

4.2.4.3) Determinação do Comportamento Cristalográfico em Função da Temperatura, Avaliado por Difração de Raios X em Pós com Variação de Temperatura (DRX-VT)

Cerca de 500 mg das amostras foram submetidos ao aquecimento com análise concomitante por difração de raios X, obtendo-se difratogramas em temperaturas previamente estabelecidas. Utilizou-se um difratômetro de raios X com variação de temperatura Siemens[®], equipado com câmara de aquecimento com sistema aberto, utilizando energia elétrica como fonte geradora de calor.

O porta-amostra é composto por uma liga de Platina-Ródio (PtRh), consistindo de um filamento (lâmina) de baixa espessura, com espaço tipo cadinho para acomodação da amostra. Esta lâmina apresenta uma fase cristalina que gera picos nos difratogramas, os quais ocorrem em valores acima de $40^{\circ}2\theta$, não se sobrepondo, portanto, aos picos característicos para as amostras de talidomida.

Condições de análise utilizadas para o teste:

- Fonte de radiação de CuK_{α} de 1,5409 Å;
- Filtro de níquel;
- Velocidade angular de 2θ ;
- *Step size*: $0,0143^{\circ}2\theta$; *Step time*: 1 s ($0,0143^{\circ}2\theta$ por segundo);
- Corrente de filamento de 30 mA;
- Voltagem e aceleração dos elétrons de 40 kV;

Os difratogramas foram determinados nas temperaturas próximas à faixa de fusão para a substância. As temperaturas escolhidas foram as seguintes: 230 °C, 240 °C, 250 °C, 260 °C, 272 °C e 274 °C. A faixa de análise foi de $8^{\circ}2\theta$ a $40^{\circ}2\theta$.

4.2.5 Determinação da Velocidade de Dissolução Intrínseca em Disco para as Matérias-Primas de Talidomida

A velocidade de dissolução intrínseca (IDR) é determinada através da exposição da área superficial constante de fármacos puros em meio de dissolução apropriado, mantendo-se constantes temperatura, velocidade de agitação e pH, onde se obtém valores que são expressos em $\text{mg}/\text{min}/\text{cm}^2$.

Para tal determinação, foi utilizado um dispositivo ou aparato para dissolução intrínseca em disco (USP 29, 2006).

O dispositivo é constituído por uma matriz, uma base, um punção e uma haste, como é demonstrado nas figuras a seguir:

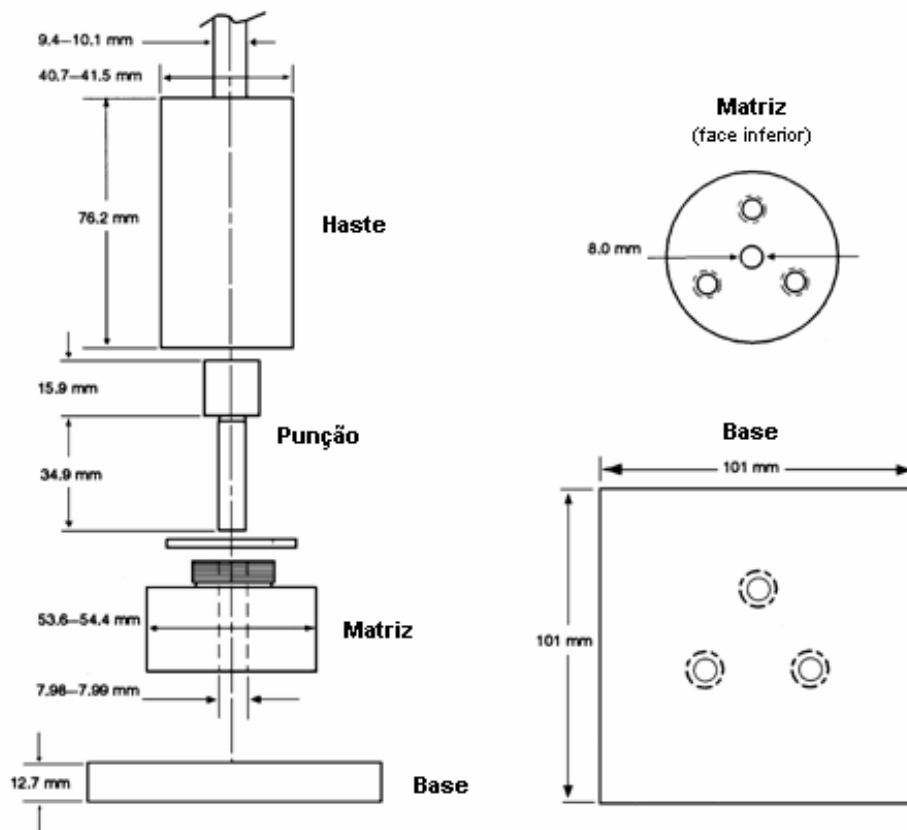


Figura 3. Desenho esquemático do dispositivo para dissolução intrínseca em disco (USP 29, 2006).

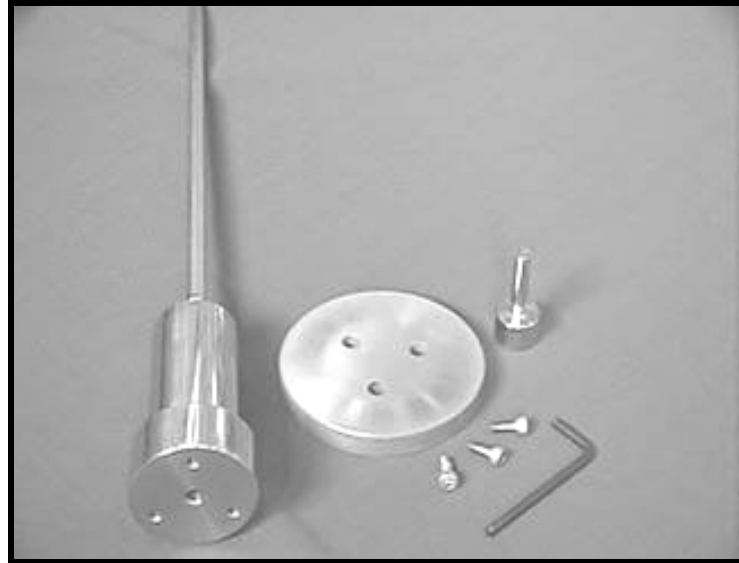


Figura 4. Fotografia do dispositivo para dissolução intrínseca em disco.

4.2.5.1) Preparação do Dispositivo para Dissolução Intrínseca em Disco

A matriz foi fixada à base e em sua cavidade cilíndrica central adicionaram-se cerca de 100 mg de amostra. Posteriormente encaixou-se o punção nesta cavidade, compactando-se a amostra em uma máquina universal de ensaios⁷.

A máquina universal de ensaios é provida de célula de deformação em S com sistema transdutor de sinal, que transforma valores absolutos de leitura em valores de força aplicada (kgf) pela equação de calibração abaixo⁸:

$$y = -0,000003 \cdot x^2 + 0,214677 \cdot x + 0,065053$$

(Equação 11)

⁷ Etapa realizada com o auxílio do bolsista de iniciação científica Mário Ballvé Prates, aluno da Faculdade de Engenharia de Materiais, vinculado ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), desta Universidade.

⁸ Relatório (n° 002/96-A) de aferição de células de carga (LACER/UFRGS).

Onde y é o valor indicado pelo transdutor aferido e x é a força aplicada (kgf).

Os valores de força aplicada, obtidos em kgf, foram convertidos em kN (1000 N = 1 kN) e MPa.

A força utilizada para a compactação do fármaco foi escolhida após diversas tentativas de se produzir um compacto não desintegrante durante todo o período de dissolução. A força selecionada foi de 6,96 kN (139,17 MPa), possuindo a matriz 8 mm de diâmetro e 0,5 cm² de área superficial.

Após obter-se o compacto fixado à matriz, o punção e a base foram removidos, anexando-se a matriz à haste, ficando apenas uma face do compacto exposta, como demonstrado na figura abaixo. Este conjunto formado foi acoplado ao dissolutor.

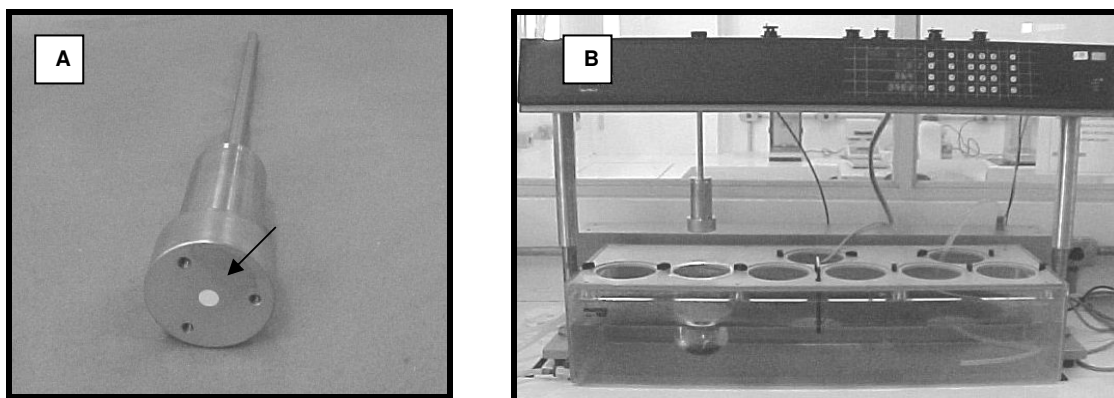


Figura 5. A - Dispositivo para dissolução intrínseca em disco contendo o material pulveréu compactado; B - Dispositivo para dissolução intrínseca em disco fixado ao dissolutor.

4.2.5.2) Procedimento Empregado para o Ensaio de Dissolução Intrínseca em Disco

Para essa determinação, utilizou-se metodologia desenvolvida e validada por PAVEI e colaboradores (2007)⁹, empregando-se as condições listadas a seguir:

⁹ PAVEI, C.; CARINI, J. P.; MAYORGA, P. Development and validation of analytical method and dissolution assay for thalidomide tablets, 2007. *Article in press.*

- Meio de dissolução: Lauril sulfato de sódio 1 % e ácido clorídrico 0,225 M;
- Volume de meio: 1000 mL;
- Velocidade de agitação: 100 rpm;
- Temperatura: 37 °C;

Foram retiradas alíquotas de 5 mL em intervalos de 30 minutos, até ser obtido um total de 10 pontos, totalizando 300 minutos de teste¹⁰. Procedeu-se à reposição de meio, após cada coleta.

As alíquotas foram quantificadas por CLAE, sendo injetadas em triplicata, utilizando-se as condições cromatográficas especificadas no item 4.2.1.2 (i).

As análises foram realizadas em triplicata. A análise estatística foi efetuada através da análise de variância com único fator (ANOVA).

4.2.6 Avaliação da Influência do Processo de Compactação em Relação às Propriedades Cristalinas e Polimórficas da Talidomida

4.2.6.1) Compactação das Amostras de Fármaco Puro

i) Compactação em Máquina de Comprimir Alternativa

As amostras foram compactadas com o intuito de avaliação preliminar da influência do comportamento dos pós com diferentes propriedades cristalinas na formação dos compactos.

¹⁰ O intervalo das coletas e número de pontos coletados foram estipulados de acordo com trabalho de YU e colaboradores (2004), para fármacos pouco solúveis em água.

Procedeu-se à compactação das amostras em máquina de comprimir alternativa, com punções circulares de 8 mm de diâmetro e punção superior sulcado. Cerca de 100 mg de amostra foram utilizados para formar cada compacto, totalizando 30 compactos por amostra.

A distância entre punção superior e inferior foi fixada a partir de um valor de dureza previamente estipulado.

ii) Compactação em Máquina Universal de Ensaio

As amostras foram compactadas utilizando-se uma máquina universal de ensaios, que se encontra descrita no item 4.2.5.1¹¹. A matriz e o punção usados durante o teste foram confeccionados em aço inoxidável, possuindo a matriz 5 mm de diâmetro, 0,19625 cm² de área superficial e volume aproximado da câmara de 0,2 mL. A quantidade de amostra utilizada foi ajustada pelo volume da câmara da matriz, estando na faixa de 50 a 100 mg, sendo esta variação em função das amostras apresentarem diferentes tamanhos de partículas e propriedades cristalinas.

Para o ensaio, empregou-se a força máxima suportada pela matriz, com o intuito de investigar a possibilidade de transformações físicas durante a compressão, método que vem sendo utilizado para a obtenção da forma farmacêutica final de talidomida¹².

Desta forma, utilizou-se a força de compactação de aproximadamente 5 kN (254,78 MPa), obtendo-se 10 compactos para cada amostra. Os valores médios de força e pressão aplicados para cada amostra podem ser observados na Tabela 3.

¹¹ Etapa realizada com o auxílio do bolsista de iniciação científica Mário Ballvé Prates, aluno da Faculdade de Engenharia de Materiais, vinculado ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), desta Universidade.

¹² Talidomida FUNED, comprimidos de 100 mg, produzidos pelo Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED), Laboratório Oficial do Estado de Minas Gerais.

Tabela 3. Força e pressão médias aplicadas para compactação das amostras de talidomida (n = 10).

Matéria-prima	Força aplicada (kN) $\bar{x} \pm s$ (DPR%)	Pressão aplicada (MPa)
T ₁	4,98 ± 0,01 (0,19)	253,76
T ₂	4,98 ± 0,02 (0,38)	253,76
T ₃	5,01 ± 0,06 (1,23)	255,29
T ₄	5,00*	254,78
T ₅	4,98 ± 0,01 (0,11)	253,76
T ₆	4,99 ± 0,02 (0,34)	254,27
T ₇	4,98 ± 0,01 (0,11)	253,76

* Obteve-se um compacto para a amostra T₄ devido à reduzida quantidade de amostra disponível para o trabalho.

Os compactos produzidos foram suavemente triturados e posteriormente avaliados por DRX, DSC e FT-IR, nas condições de análise descritas nos itens 4.2.3.1, 4.2.3.2 e 4.2.4.2.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nesta seção serão apresentados os resultados obtidos neste trabalho, acompanhados da discussão dos temas abordados. Os estudos se iniciam pela caracterização das matérias-primas de talidomida, envolvendo análises físico-químicas, tecnológicas, morfológicas, espectrofotométricas e cristalográficas. Posteriormente será demonstrado o comportamento térmico das amostras, o perfil de dissolução intrínseca e a influência do processo de compactação frente às estruturas cristalinas apresentadas pelo fármaco.

5.1 Caracterização Físico-Química das Matérias-Primas de Talidomida

5.1.1 Análise Qualitativa

Procedeu-se à identificação das amostras de talidomida por espectroscopia na região do UV. Os espectros em UV obtidos foram comparados aos disponibilizados pela literatura (DIBBERN, 1978; MOFFAT, 2004) e ao padrão USP, para a substância solubilizada em solução aquosa ácida, observando-se o comprimento de onda de absorção em 237 nm (Banda 3), característico para talidomida.

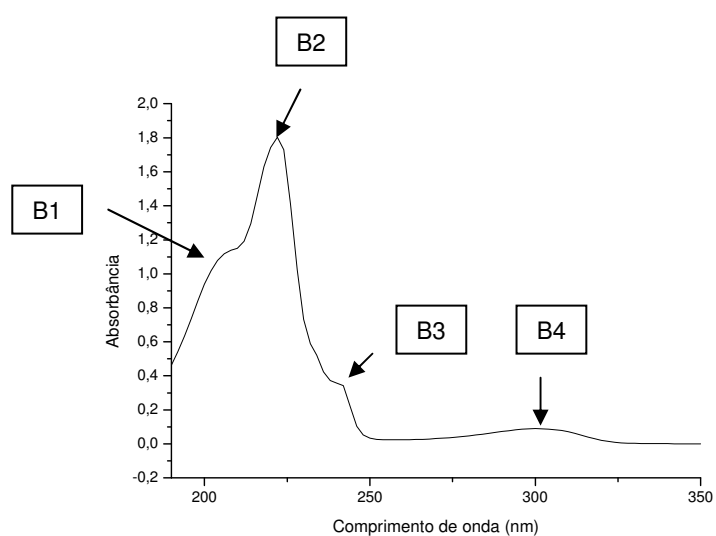


Figura 6. Espectro na região do UV para talidomida padrão USP.

Observando-se o espectro na região do UV para talidomida, notam-se bandas características. A banda 1 (B1) refere-se provavelmente a presença de compostos aromáticos e a banda 2 (B2) os sistemas π conjugados, refletindo moléculas aromáticas com substituição cromófora. A banda 4 (B4) denota grupamentos em baixo estado energético, como grupos carbonila (PAVIA *et al.*, 2001).

A avaliação comparativa dos espectros das amostras T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆ e T₇ e talidomida padrão USP demonstrou que os mesmos apresentaram-se similares entre si e com os espectros relatados para a substância.

5.1.2 Determinação da Pureza

O grau de pureza de insumos farmacêuticos é um parâmetro que deve ser controlado, sendo avaliado por testes que antecedem estudos de pré-formulação, para que se possa garantir a qualidade e eficácia da forma farmacêutica final a ser produzida (WADKE *et al.*, 1990).

Verificou-se a pureza das amostras por CLAE e CCD. As amostras foram previamente dessecadas antes das determinações. Os resultados obtidos por CLAE, em triplicata, estão expressos em tabela comparativa (Tabela 4).

Tabela 4. Determinação do índice de impurezas para amostras de talidomida.

Matéria-prima	Índice de impurezas (%)
T ₁	0,29
T ₂	0,13
T ₃	0,28
T ₄	3,23
T ₅	1,20
T ₆	3,42
T ₇	0,24

A Farmacopéia Americana (USP 29, 2006) recomenda que a soma das impurezas totais presentes não deve exceder a 2 %, percentual que deverá compreender a soma das impurezas quantificáveis através de metodologias descritas na monografia do fármaco e outras possíveis impurezas não identificáveis.

Através da análise da pureza para as amostras de talidomida, verificou-se que quatro amostras apresentaram percentual de impurezas inferior a 1 %, uma amostra contendo 1,2 % de impurezas e somente dois lotes constituídos por um percentual de impurezas superior a 2 %, T₄ e T₆. De acordo com parâmetros da USP 29 (2006), somente duas amostras estariam com níveis de impurezas excedendo os limites farmacopéicos. Este discreto desvio na qualidade destes insumos pode ser explicado pelo fato das amostras serem componentes de lotes-teste, não disponíveis para comercialização.

Análises realizadas por DSC geram indícios qualitativos da presença de impurezas nas amostras (WADKE *et al.*, 1990). As amostras de talidomida apresentaram endotermas de fusão na forma de picos afinados, os quais podem representar parâmetros indicativos de pureza. Também não foi verificada nenhuma endoterma ou exoterma adicional aos termogramas, as quais pudessem ser atribuídas à presença de alguma eventual impureza. Os termogramas obtidos, a partir das análises por DSC, serão discutidos com maior detalhamento e aprofundamento no decorrer do trabalho (ver Figura 32).

A análise qualitativa por CCD (USP 29, 2006) objetiva detectar a presença de glutamina nas amostras, um componente geralmente utilizado no processo de síntese de talidomida, sendo também um de seus produtos de hidrólise em pH fisiológico (SCHUMACHER *et al.*, 1965; LI *et al.*, 2003). A ausência de grupamentos cromóforos ou duplas ligações conjugadas impedem a quantificação de glutamina por técnicas que empreguem detecção via absorvância na região do UV (LI *et al.*, 2003). Desta forma, a Farmacopéia Americana sugere a utilização de CCD para a detecção do contaminante.

O teste demonstrou a ausência de glutamina para todas as amostras, indicado pela ausência de manchas róseas na placa de gel de sílica, similares à da solução padrão de glutamina.

5.1.3 Determinação da Atividade Óptica

A talidomida é um fármaco quiral, apresentando-se comercialmente na forma de mistura racêmica dos enantiômeros (+)-R- e (-)-S-talidomida (ERIKSSON *et al.*, 2001; TEO *et al.*, 2004a; CELGENE CORPORATION, 2007; USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005).

Racematos são inativos opticamente, compostos de misturas equimolares de dois enantiômeros. Esta ausência de atividade óptica é devido ao fato de que cada um dos enantiômeros desvia o plano da luz polarizada para um determinado valor, proporcional para ambos, somente em direções opostas, o que gera um resultado final nulo (CAREY, 1992).

Misturas racêmicas podem apresentar diferentes propriedades físicas, quando comparadas aos enantiômeros isoladamente (USP 29, 2006). Além disso, cristais compostos de racematos geralmente demonstram maior estabilidade termodinâmica que cristais contendo enantiômeros puros (SHEKUNOV e YORK, 2000) Para talidomida, sabe-se que os enantiômeros isolados apresentam propriedades idênticas às da mistura racêmica quando analisados por ressonância magnética nuclear, análise espectrofotométrica quantitativa e qualitativa na região do UV, CCD e análise quantitativa e qualitativa por CLAE aquiral (REEPMEYER, 1996).

De acordo com relatos da literatura, o fármaco na forma de mistura racêmica difere em algumas importantes propriedades físico-químicas, quando comparado aos seus enantiômeros separadamente (SHEALY *et al.* 1968; HAGUE e SMITH, 1988; ERIKSSON *et al.*, 1995; REEPMYER, 1996). O racemato de talidomida funde aproximadamente 30 °C acima da temperatura de fusão dos enantiômeros isolados. De acordo com trabalho de SHEALY e colaboradores (1968), cada enantiômero funde na faixa de 239,5 - 240,5 °C, resolidifica como racemato que torna a fundir em 269 - 271 °C. Os autores do trabalho justificam este comportamento pelo fato do processo de racemização ocorrer em altas temperaturas. Os espectros em FT-IR para a mistura racêmica e enantiômeros (+)-R e (-)-S-talidomida são praticamente idênticos, exceto para uma pequena diferença na região de 860-845 cm⁻¹ (SHEALY *et al.*, 1968; REEPMYER, 1996).

Outra diferença marcante entre enantiômeros e racemato de talidomida ocorre em relação à solubilidade destas distintas formas do fármaco. A solubilidade dos enantiômeros em diversos solventes, como água, éter, hexano, etanol, clorofórmio e acetona é de 5 a 9 vezes maior que a solubilidade do racemato nos mesmos solventes (HAGUE e SMITH, 1988). ERIKSSON e colaboradores (1995) acreditam que o fato dos enantiômeros apresentarem uma maior solubilidade em meio aquoso em relação ao racemato possa conduzir a uma rápida e efetiva absorção oral do fármaco.

Avaliou-se a ausência de atividade óptica para as matérias-primas de talidomida empregadas no trabalho, com o intuito de demonstrar a não predominância significativa de nenhum dos enantiômeros nas amostras.

Para os enantiômeros de talidomida, são especificados os seguintes valores de rotação óptica (SHEALY *et al.*, 1968; REEPMAYER, 1996):

- (-)-(S)-talidomida: $|\alpha|_D^{20} = -64 \pm 1,5$ ($c = 1$ em DMF)
- (+)-(R)-talidomida: $|\alpha|_D^{20} = +64 \pm 0,5$ ($c = 1$ em DMF)

Procedeu-se a análise do poder rotatório específico para amostras de talidomida através de polarimetria, utilizando-se o solvente dimetilformamida (DMF) para as determinações, obtendo-se os valores elencados na Tabela 5:

Tabela 5. Valores de rotação óptica específica observados para amostras de talidomida.

Matéria-prima	$ \alpha _D^{20} \bar{x} \pm s$ ($c = 1$ em DMF)
T ₁	+ 0,38 ± 0,08
T ₂	+ 0,25 ± 0,06
T ₃	+ 0,32 ± 0,13
T ₅	+ 0,85 ± 0,10
T ₆	+ 0,25 ± 0,06
T ₇	+ 0,62 ± 0,26

A partir dos resultados obtidos, observa-se que os valores apresentaram-se próximos a zero, com leve predominância do enantiômero (+)-R-talidomida¹³. Estes valores atribuídos à fração (+)-R-talidomida não representam desvio importante na constituição da mistura racêmica equimolar, pois os valores obtidos estão no limite de sensibilidade do equipamento utilizado¹⁴. Portanto, as amostras analisadas podem ser caracterizadas como racemato.

5.1.4 Avaliação da Perda por Dessecação

Avaliou-se o percentual de substâncias voláteis presentes nas amostras de talidomida, obtendo-se os resultados expressos na Tabela 6:

Tabela 6. Perda por dessecação para as amostras de talidomida.

Matéria-prima	Perda por dessecação (%)
	$\bar{x} \pm s$
T ₁	0,79 ± 0,004
T ₂	0,55 ± 0,13
T ₃	0,80 ± 0,28
T ₄ ¹⁵	3,08
T ₅	0,80 ± 0,28
T ₆	0,60 ± 0,28
T ₇	0,50 ± 0,14

¹³ Não foi possível determinar o valor de rotação óptica para a amostra T₄ por não se ter disponibilidade de amostra suficiente para o teste.

¹⁴ Comunicação pessoal.

¹⁵ Realizou-se apenas uma determinação para a amostra T₄ devido à escassez de amostra disponível para o trabalho.

A Farmacopéia Americana (USP 29, 2006) especifica para talidomida um limite máximo de 0,5 % para presença de água. Os resultados expressam um percentual de substâncias voláteis próximo a 1 %, para praticamente todas as amostras, excetuando T₄.

Este desvio na qualidade do material analisado não foi detectado por outra metodologia, como DSC, inexistindo endotermas adicionais nos termogramas das amostras (além da endoterma de fusão para o fármaco), as quais poderiam ser atribuídas a substâncias externas presentes, como a água, por exemplo. Os termogramas citados serão discutidos com maior aprofundamento em seções posteriores.

5.2 Caracterização Tecnológica das Matérias-Primas de Talidomida

Os insumos farmacêuticos sólidos apresentados na forma pulveréa são elementos de grande importância em tecnologia farmacêutica, pois constituem matérias-primas básicas fundamentais para a elaboração de numerosas formas farmacêuticas (AMOZA, 2001). Em condições de temperatura e pressão ambiente, a maioria dos fármacos e dos excipientes ocorre como sólidos, de modo que o estudo das propriedades do estado sólido é de enorme importância na área farmacêutica (BUCKTON, 2005).

O comportamento dos sólidos na forma de pó não depende somente das características intrínsecas do material, como sua estrutura molecular ou sua pureza, mas também de um considerável número de propriedades associadas às partículas que os compõem, entre elas, tamanho e forma de partículas, suas características de movimentação e densificação, geometria de empacotamento, deformação, entre outras (AMOZA, 2001).

Parâmetros como tamanho de partícula, sua distribuição e forma são características que desempenham um papel crítico no comportamento de sólidos pulveréos, afetando potencialmente o desenvolvimento de várias operações básicas que tangem a produção de formas farmacêuticas sólidas (AMOZA, 2001).

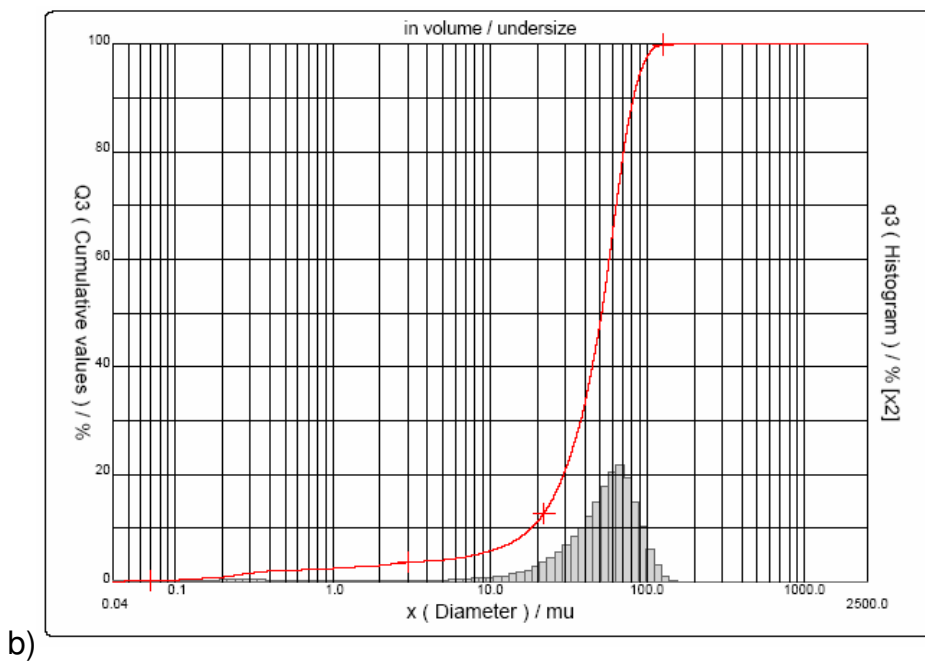
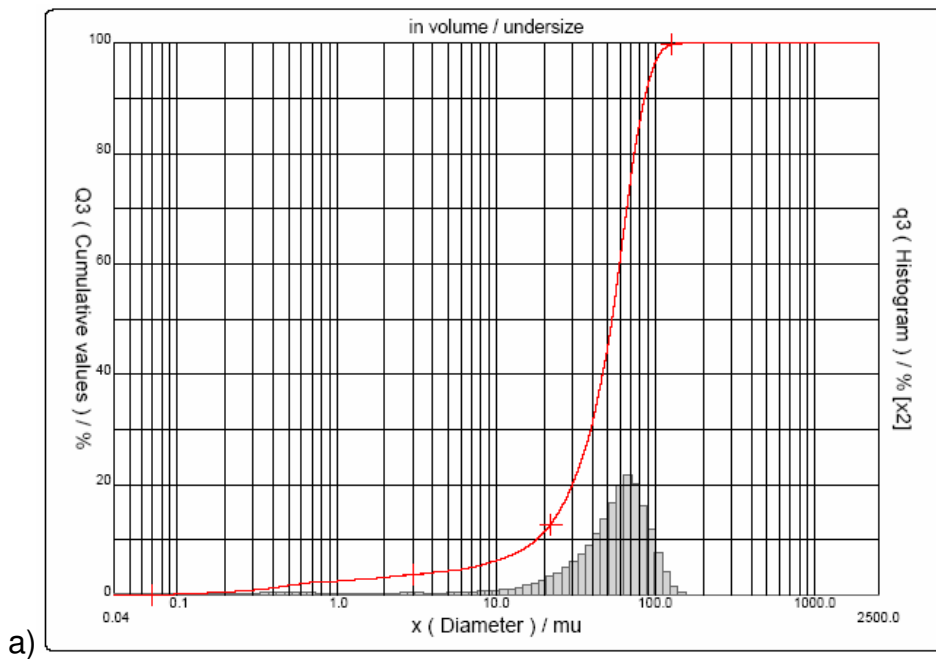
Deve-se atentar para o fato de que ocorre uma relação inversa entre tamanho de partícula e superfície específica de sólidos. Esta relação determina que uma série de processos superficiais, como dissolução, transcorram em uma velocidade dependente da granulometria do sólido (AMOZA, 2001). Sendo assim, a granulometria de um pó pode alterar propriedades físico-químicas de algumas substâncias, afetando, em última instância, o comportamento biofarmacêutico destes compostos (WADKE *et al.*, 1990).

A distribuição granulométrica das amostras de talidomida foi avaliada por difração a *laser*¹⁶. A técnica consiste na medida da distribuição angular de luz após incidir em uma dispersão de partículas suspensas. A luz emitida pelo *laser* incide sobre as partículas, provocando a difração. A difração gera padrões de intensidade luminosa que se apresentam em intervalos angulares regulares, os quais são proporcionais ao diâmetro da partícula responsável pela dispersão. Esse fluxo luminoso difratado é captado por um fotodetector, transformado em corrente elétrica, a qual é digitalizada e processada para uma distribuição de tamanho (STANIFORTH, 2005).

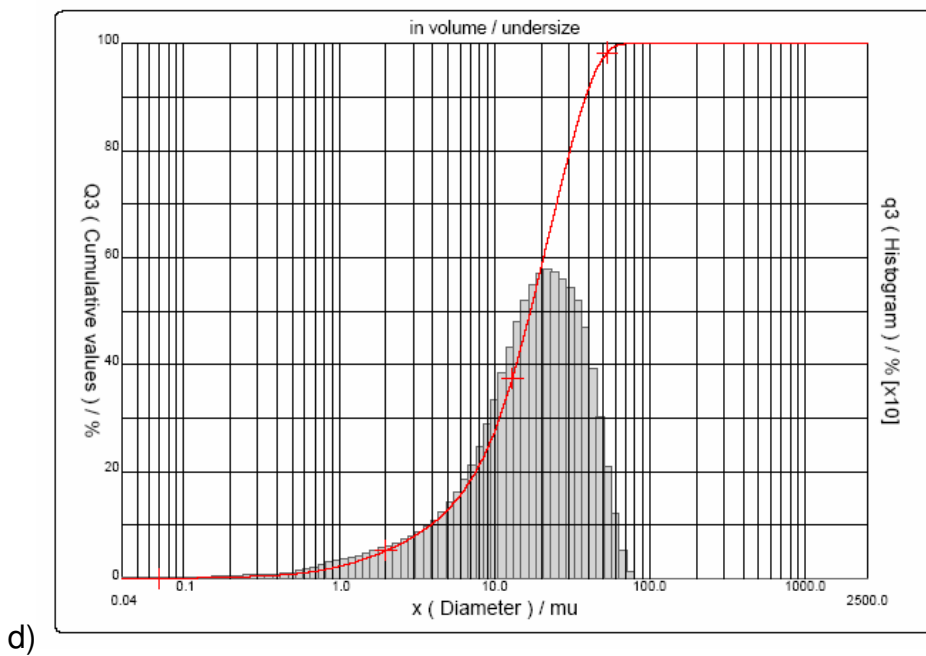
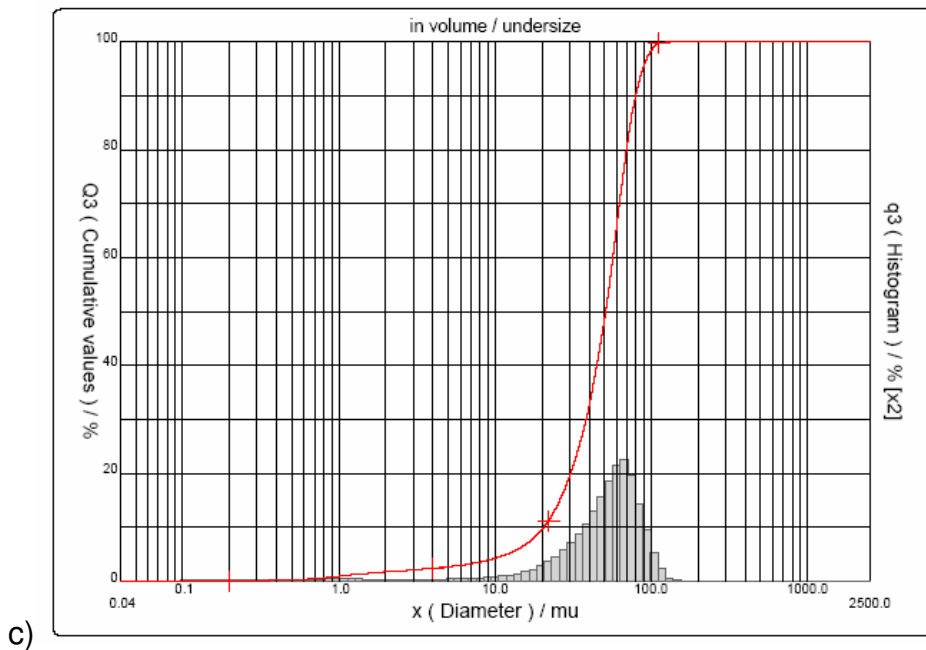
Para efetuar a análise faz-se necessária a utilização de um agente dispersante para os pós, caracterizado por ser um líquido inerte em que a amostra em questão não deverá ser solúvel. A água foi escolhida como meio dispersante para as amostras de talidomida pelo fato do fármaco apresentar reduzida solubilidade neste líquido. A análise foi possível por serem utilizadas elevadas quantidades de amostra, criando um ambiente saturado que dificulta a solubilização da substância.

Os resultados foram expressos graficamente e resumidos em tabela (Figura 7 e Tabela 7).

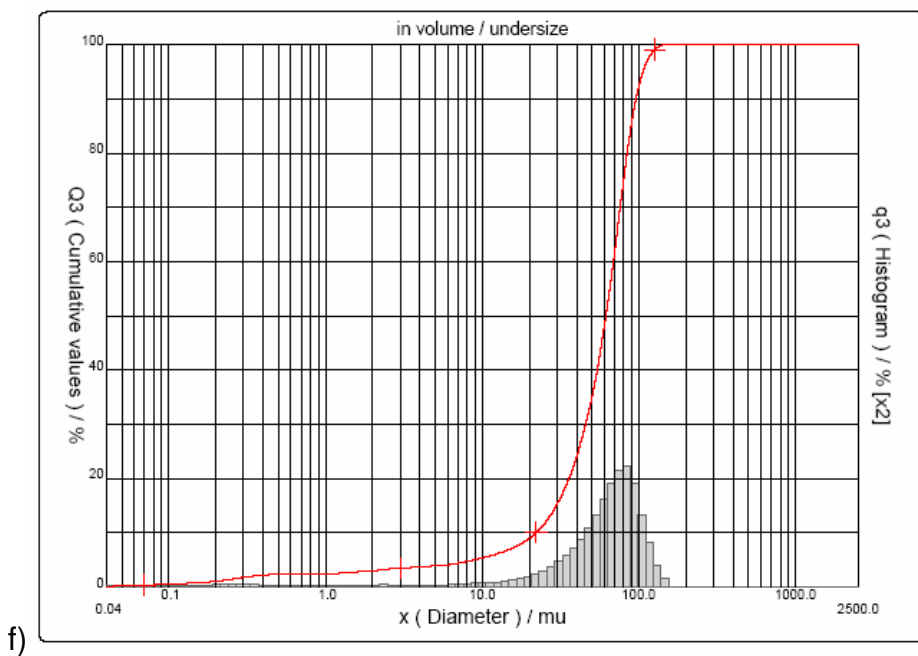
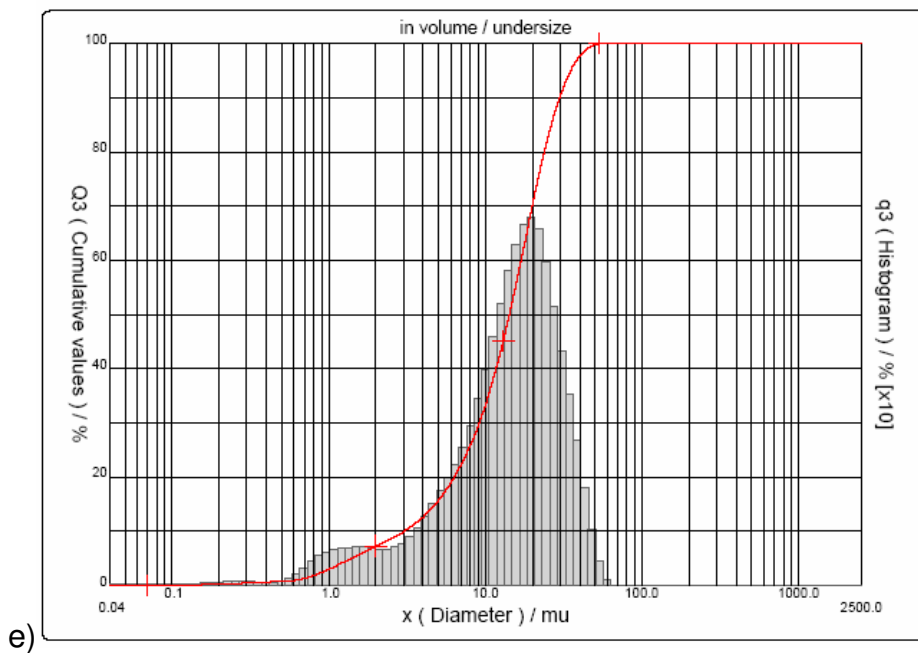
¹⁶ Tendo em vista a restrita quantidade da amostra T₄ disponibilizada para o trabalho, sua distribuição granulométrica foi avaliada por microscopia óptica, por ser um teste que utiliza poucos miligramas de matéria-prima para a realização da análise.



Cont.



Cont.



Cont.

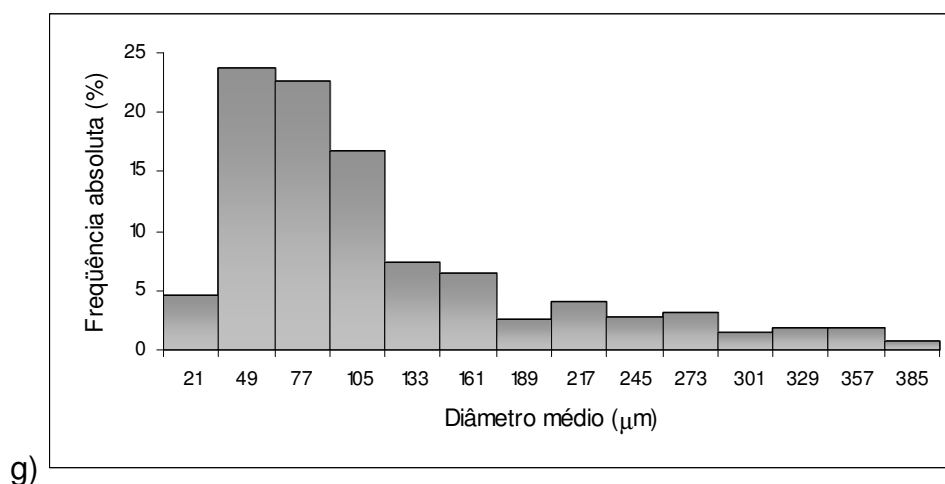


Figura 7. Histogramas de distribuição granulométrica percentual de freqüências relativas e curvas de distribuição de freqüências cumulativas para as amostras de talidomida: a) T₁; b) T₂; c) T₃; d) T₅; e) T₆; f) T₇; g) T₄¹⁷.

Tabela 7. Determinação do diâmetro médio de Fraunhofer para as amostras de talidomida.

Matéria-prima	Diâmetro médio (μm)
T ₁	52,53
T ₂	50,61
T ₃	50,44
T ₄	77,00
T ₅	19,49
T ₆	15,60
T ₇	60,29

A análise granulométrica das amostras demonstra a existência de homogeneidade entre diâmetro médio e distribuição das partículas para as amostras

¹⁷ A análise granulométrica da amostra T₄ foi realizada por microscopia óptica, sendo demonstrado graficamente seu histograma de distribuição de freqüências.

T₁, T₂, T₃ e T₇. Praticamente todas as partículas (cerca de 90 %) destas quatro amostras possuem diâmetro inferior a 100 µm. Os histogramas de distribuição de frequência para essas amostras exibem populações assimétricas, podendo classificá-las como possuindo assimetria negativa, pois apresentam um alongamento de cauda no sentido das faixas de tamanho menor (STANIFORTH, 2005).

As amostras que apresentaram menores tamanhos médios de partícula foram T₅ e T₆. A amostra T₅ possui uma distribuição de frequência que pode ser classificada como assimétrica, onde 90 % das partículas apresentam diâmetro inferior a 38 µm. Os histogramas de distribuição de frequência demonstram distribuição bimodal para a amostra T₆ e o menor valor de diâmetro médio dentre todos os lotes analisados.

Dentre as amostras analisadas, nota-se que as partículas da amostra T₄ possuem um diâmetro médio superior às demais, bem como ampla distribuição granulométrica.

De uma maneira geral, a maioria das amostras analisadas apresentaram tamanho de partícula inferior a 100 µm, sendo classificados como pós finíssimos (F. Bras. IV, 1988).

Fármacos com tamanhos de partícula reduzidos, próximos à faixa de 10 a 40 µm, podem apresentar, em alguns casos, velocidade de dissolução aquosa aumentada quando comparados a partículas maiores para a mesma substância (WADKE *et al.*, 1990). Embora um incremento na velocidade de dissolução para fármacos pouco solúveis em água seja vantajoso, pós com granulometrias inferiores a 100 µm normalmente geram problemas tecnológicos associados a propriedades como fluxo, geometria de empacotamento e densificação das partículas de material (LANTZ e SCHWARTZ, 1990; STANIFORTH, 2005).

À medida que o tamanho de partícula torna-se menor, as forças de coesão que atuam entre essas partículas aumentam. Estas interações resultam principalmente das forças de van der Waals, sendo algumas vezes oriundas de interações eletrostáticas devido à formação de cargas por contato ou atrito, bem como forças capilares quando existem moléculas de água na superfície das

partículas. Partículas pequenas (menores que 150 μm) possuem elevada área superficial, propiciando maior contato interparticular durante o processamento do fármaco em medicamento. Quando o tamanho de partícula se aproxima a 10 μm , forças de van der Waals fazem com que os pós se tornem extremamente coesivos, resistindo ao fluxo por ação da gravidade (LANTZ e SCHWARTZ, 1990; AMOZA, 2001; STANIFORTH, 2005).

Para as amostras de talidomida, todas as partículas podem apresentar problemas de fluxo, de acordo com a faixa granulométrica encontrada. No entanto, deve-se atentar para a existência de amostras com tamanho de partícula mais crítico. As amostras T₅ e T₆ apresentam diâmetro médio próximo a 20 μm , podendo acarretar problemas associados à produção de formas farmacêuticas a partir destas matérias-primas.

Caracterizou-se o fluxo de algumas amostras através de métodos indiretos, resultados disponibilizados na Tabela 8.

As amostras T₁ e T₅ foram escolhidas como frações representativas das amostras avaliadas para as análises indicativas de fluxo por possuírem características diferenciadas entre si e por serem integrantes de lotes disponíveis para a comercialização¹⁸.

Tabela 8. Determinação da densidade bruta (db), densidade de compactação (dc), Fator de Hausner (FH) e Índice de Carr (IC) para as amostras T₁ e T₅, estando os valores médios acompanhados do desvio padrão e desvio padrão relativo (DPR%), respectivamente.

Matéria-prima	Parâmetros avaliados ¹⁹			
	db (g/mL)	dc (g/mL)	FH	IC (%)
T ₁	0,443 ± 0,021 (4,79)	0,564 ± 0,031 (5,50)	1,27 ± 0,016 (1,27)	21,34 ± 1,22 (5,70)
T ₅	0,275 ± 0,018 (6,75)	0,411 ± 0,014 (3,35)	1,50 ± 0,069 (4,60)	33,05 ± 3,16 (9,57)

¹⁸ Amostras fornecidas em quantidades superiores às demais, possibilitando, desta forma, a realização dos testes.

¹⁹ Os parâmetros analisados referentes às duas amostras de talidomida, apresentaram diferença estatisticamente significativa ($\alpha = 0,05$), quando comparados.

As forças de coesão que atuam durante o contato interparticular de um pó incluem uma série de forças de natureza diversa, mas que possuem em comum sua origem superficial, sendo a intensidade das mesmas proporcional à superfície de contato entre as partículas (AMOZA, 2001). Estas partículas podem estar contidas dentro de um volume de espaço, e mediante leve vibração, deslocam-se, ocupando um volume diferente do anterior. A alteração do volume bruto resulta, neste caso, de um rearranjo na geometria de empacotamento dessas partículas, onde as partículas empacotadas frouxamente passaram a estar empacotadas de forma mais firme, aumentando a coesividade entre elas. Deste modo, partículas de pós com empacotamento mais firme exigem forças motrizes de fluxo maiores para fluírem, se comparadas com as partículas desse mesmo pó com empacotamento menos denso (STANIFORTH, 2005).

O conhecimento das características de movimentação de um pó, determinadas pela geometria de empacotamento e densificação destas partículas, é importante para que se possa estimar o comportamento deste pó frente a etapas tecnológicas como mistura, compressão ou encapsulamento deste material (AMOZA, 2001; BUCKTON, 2005).

A partir dos valores de densidade de compactação e bruta, HAUSNER (1967) sugere que se possa prever a estabilidade de empacotamento de um pó, através da razão entre elas, relacionando o quociente obtido, com o atrito interparticular. Outro índice similar foi desenvolvido por CARR (1965), onde é avaliada a capacidade de densificação das partículas, gerando índices percentuais de compressibilidade associados ao tipo de pó analisado.

Apesar dos métodos propostos por Hausner e Carr serem empíricos, propiciam indícios das características de fluxo de um pó quando avaliados em conjunto com outros parâmetros, como tamanho de partícula e fenômenos de carga de superfície (WELLS, 2005).

Os resultados obtidos para as duas amostras analisadas expressam valores para o fator de Hausner acima de 1,25 e índice de Carr maior que 21. Deve-se observar que a amostra T₁ apresenta valores bem próximos à região limítrofe, apresentando empacotamento razoavelmente estável, onde se poderia melhorar o

fluxo facilmente por adição de deslizantes. Para a amostra T₅, o pó se mostra mais coesivo, apresentando reduzida estabilidade ao empacotamento (CARR, 1965; HAUSNER, 1967; STANIFORTH, 2005; WELLS, 2005).

Esta diferença relativa à estabilidade de empacotamento das diferentes amostras do mesmo fármaco, deve-se parcialmente à forma e tamanho de partícula distintos entre elas. A amostra T₁ apresenta tamanho de partícula marcadamente superior à T₅ e cristais morfologicamente diferentes. Para o lote T₁, os cristais aparentam possuir hábito tabular, contendo uma superfície com poucas rugosidades. Os cristais visualizados para T₅ classificam-se como aciculares, apresentando muitas imperfeições superficiais. É esperado que cristais pequenos, no formato de finas agulhas, empacotem suas partículas de modo mais instável e se movimentem com maior dificuldade (ver Figuras 18 e 20). Maiores detalhamentos a respeito das características morfológicas das amostras analisadas serão discutidos posteriormente.

Além das variáveis tamanho de partícula e forma relacionados à estabilidade de empacotamento dos pós, a área superficial também pode exercer influência em relação às características de movimentação das partículas.

A área superficial das amostras T₁ e T₅ foi determinada através do método de adsorção em fase gasosa, de acordo com a teoria de B.E.T. (Brunauer-Emmett-Teller). Os resultados estão expressos na Tabela 9.

O método utilizado para a interpretação dos resultados foi proposto por Brunauer, Emmett e Teller (B.E.T.), o qual considera que forças geradoras do mecanismo de condensação dos gases também são responsáveis pela energia de ligação para a adsorção multimolecular em gases. Através deste método obtém-se uma série de valores relacionando volume molar do gás utilizado *versus* a razão entre a pressão total do gás e a pressão de vapor do gás adsorvido. Algumas vezes torna-se difícil ou inconveniente coletar múltiplos pontos, no decorrer das análises. Nesses casos indica-se a utilização de um único ponto, o qual deve estar próximo ao limite superior de uma plotagem linear de múltiplos pontos.

A técnica consiste primeiramente na desgaseificação da amostra, auxiliada pela utilização de temperaturas elevadas, posterior inserção em uma câmara a

vácuo, onde o gás é adicionado aos poucos. A temperatura da amostra é reduzida pela adição de nitrogênio líquido, efetivando a adsorção das moléculas de gás. As moléculas vão adsorvendo na superfície do sólido, formando uma fina camada que recobre toda a superfície do material. O número de moléculas necessárias para recobrir a superfície adsorvente com uma monocamada destas moléculas pode ser estimado, e, desta forma, a área superficial pode ser calculada. O volume de gás adsorvido *versus* valores de pressão gerados no sistema pela adição do gás, a uma determinada temperatura, são plotados graficamente, gerando uma isoterma de adsorção (WEBB e ORR, 1997).

Tabela 9. Área superficial apresentada para as amostras T₁ e T₅, calculadas através do método de B.E.T.

Matéria-prima	Área superficial (m ² /g)
T ₁	0,45
T ₅	1,29

Os resultados demonstram que a amostra T₅ apresenta área superficial marcadamente superior a T₁. De acordo com o esperado, partículas menores apresentaram maior área superficial. Adicionado a isto, ao avaliar fotomicrografias exibidas para a amostra T₅, percebe-se que há grande quantidade de fissuras e irregularidades superficiais (ver item 5.3), o que certamente favorece o aumento dos valores da área de superfície para esta matéria-prima.

A maior área superficial apresentada por T₅ em relação a T₁ ocasiona maior superfície de contato entre as partículas da amostra, refletindo em elevada coesividade do pó, afetando, conseqüentemente, a estabilidade de empacotamento para esta matéria-prima.

O ângulo de repouso é a medida relativa do grau de fricção entre as partículas de pó, especificamente para partículas finas e pode gerar indicativos de fluxo para sólidos pulveréos, quando avaliada adicionalmente a outros métodos. No entanto, muitas vezes essa medida pode apresentar variações dependendo das

condições experimentais utilizadas e fração da amostra escolhida para a determinação, o que acarreta valores não representativos para todo o lote analisado (LANTZ e SCHWARTZ, 1990; STANIFORTH, 2005). As amostras de talidomida analisadas através deste método, T₁ e T₅, não apresentaram escoamento suficiente durante o procedimento, impedindo a obtenção dos valores de ângulo de repouso. Esse resultado confirma, mesmo que empiricamente, as características de fluxo debilitadas para as amostras.

As características tecnológicas avaliadas para as amostras pulveréas de talidomida podem ser determinantes para o comportamento do fármaco nas etapas de produção do medicamento. As diferentes amostras apresentando tamanho de partícula e estabilidade de empacotamento diferenciados podem refletir em problemas tecnológicos à medida que a proporção de substância ativa é aumentada nas formulações. Atualmente no Brasil, o fármaco é comercializado na concentração de 100 mg por dose unitária, na forma de comprimidos, sendo que o mesmo constitui aproximadamente 50 % do peso total do comprimido (FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007). Com a aprovação da utilização do fármaco para tratamento de câncer, como mieloma múltiplo (BRASIL, 2002; FDA, 2006), a formulação de um medicamento com concentração de substância ativa superior à tradicional deve ser indicada (em torno de 200 mg por comprimido), a qual já vem sendo desenvolvida por laboratórios americanos (CELGENE CORPORATION, 2007). Portanto, com o aumento da fração de substância ativa na formulação, o comportamento tecnológico dos pós isolados de talidomida passam a ter interferências significativas nas etapas de produção do medicamento.

5.3 Caracterização Cristalográfica, Espectroscópica e Morfológica das Estruturas Cristalinas Apresentadas pelas Matérias-Primas de Talidomida

A grande maioria dos fármacos comercializados atualmente consiste de cristais em nível molecular. O arranjo e estruturação das moléculas de um fármaco em um cristal determina propriedades físicas deste composto, influenciando de maneira direta o processamento e formulação de fármacos em formas farmacêuticas

sólidas e, em certos casos, as propriedades químicas são alteradas dependendo da forma cristalina apresentada. Nestes casos, uma série de propriedades intrínsecas de um fármaco pode ser modificada, tais como velocidade de dissolução e estabilidade. O entendimento da relação entre estruturas físicas e as propriedades físico-químicas e biofarmacêuticas de sólidos farmacêuticos é importante para que se possa selecionar a forma cristalina mais conveniente para o posterior desenvolvimento de um medicamento (DATTA e GRANT, 2004).

O método de difração de raios X é, sem dúvida, a técnica mais útil e importante para a avaliação estrutural e caracterização de materiais cristalinos. Praticamente todo o tipo de estrutura cristalina pode ser determinada através desta técnica, pois cada substância possui seu próprio difratograma padrão característico, o qual pode ser utilizado como uma espécie de “impressão digital” única para cada material, possibilitando a identificação de fases de forma direta e inequívoca (WEST, 1984).

A análise por difratometria de raios X é uma metodologia fundamental para o estudo de polimorfismo e transição de fases, além de fornecer informações necessárias à determinação precisa de parâmetros de célula unitária, sendo a técnica usual, talvez única, que possibilite a análise de fases cristalinas (WEST, 1984).

Procedeu-se à análise por difratometria de raios X para as amostras de talidomida, a qual forneceu os difratogramas demonstrados na Figura 8.

A partir de avaliação visual dos difratogramas expressos na Figura 8, percebe-se que algumas amostras de talidomida apresentam diferenças entre si, no que diz respeito à posição e intensidade dos picos. Através de uma análise mais detalhada, foram comparados os valores das distâncias interplanares das estruturas cristalinas das matérias-primas de talidomida onde se constatou uma real diferença existente entre elas²⁰.

²⁰ As tabelas apresentando os valores de 2θ , das distâncias interplanares e intensidades relativas, calculadas a partir de difratogramas referidos pela literatura e obtidos neste trabalho, estão inseridas nos Anexos, Tabelas A1 e A2.

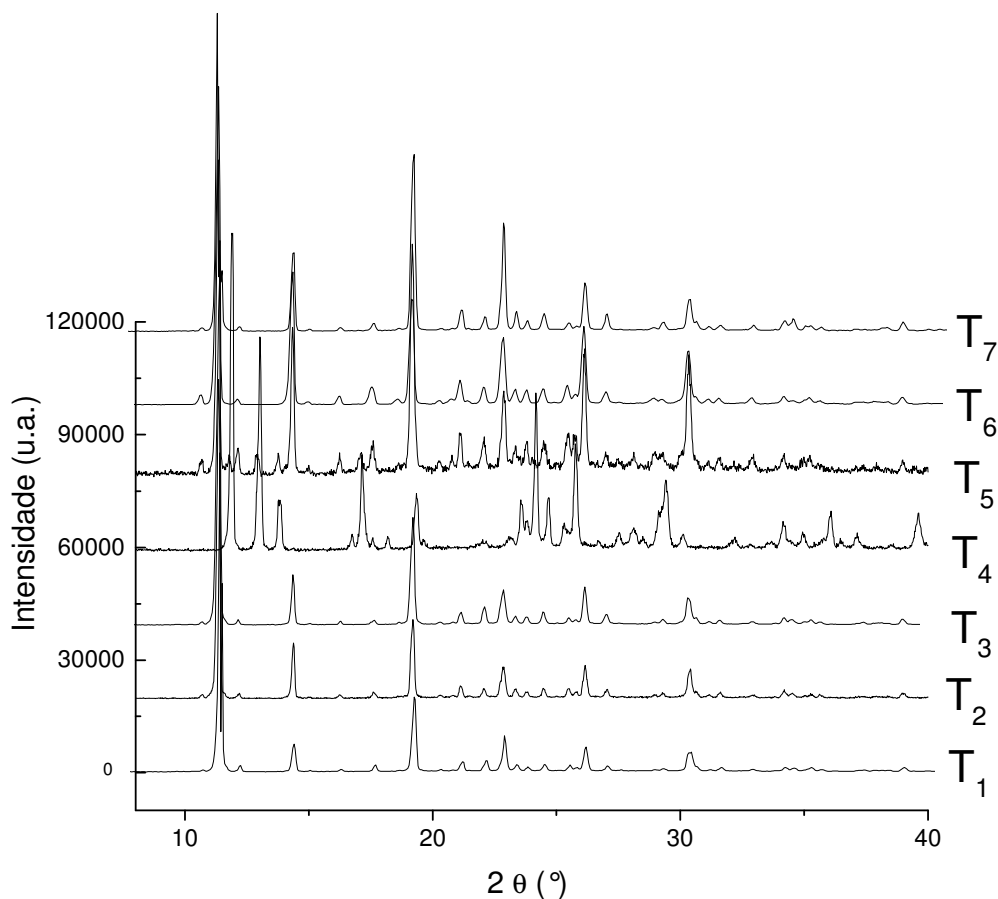


Figura 8. Difratomogramas característicos apresentados pelas as amostras de talidomida.

Nota-se que as amostras T₁, T₂, T₃, T₆ e T₇ possuem difratogramas semelhantes, bem como valores de 2θ e distâncias interplanares. Esta comparação pode ser visualizada com maior detalhamento na Figura 9. Para estas amostras, os picos de maior intensidade são os que apresentam valores de graus 2θ (e distâncias interplanares) próximos a 11,33 (7,80), 14,34 (6,17), 19,23 (4,61), 22,90 (3,88), 26,11 (3,41) e 30,37 (2,94) (POWDER DIFFRACTION FILE, 1967). Difratomogramas similares referidos para o fármaco, são encontrados na base de dados da entidade responsável pelo registro dos padrões de difração para substâncias cristalinas, *Joint Committee on Powder Diffraction Standards* (JCPDS) e também em publicações de ALLEN e TROTTER (1970 e 1971), onde os autores apresentam um estudo cristalográfico completo para a substância.

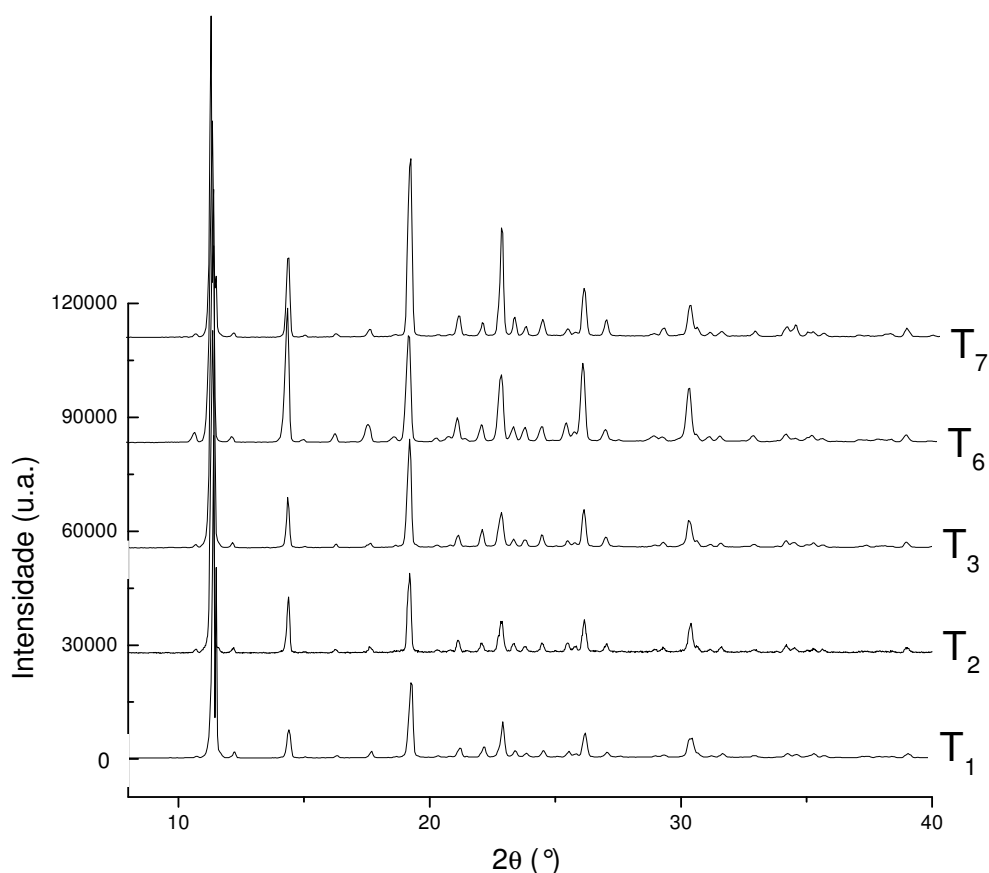


Figura 9. Difratogramas das amostras que apresentam um padrão de difração semelhante.

Embora a maioria das amostras apresente um padrão de difração similar, dois difratogramas são diferentes dos demais, que são os referidos para os insumos T₄ e T₅. A amostra T₅ possui os picos característicos nas mesmas posições de 2θ referidas para as amostras citadas anteriormente. No entanto, observa-se a existência de picos adicionais, menos intensos, mas que não são evidentes nos difratogramas apresentados na Figura 9. Alguns destes picos adicionais são similares aos da amostra T₄, embora com intensidades marcadamente inferiores, como pode ser observado na Figura 10. Cálculo de valores de 2θ e de distâncias interplanares podem ser verificados nos Anexos, Tabelas A2.

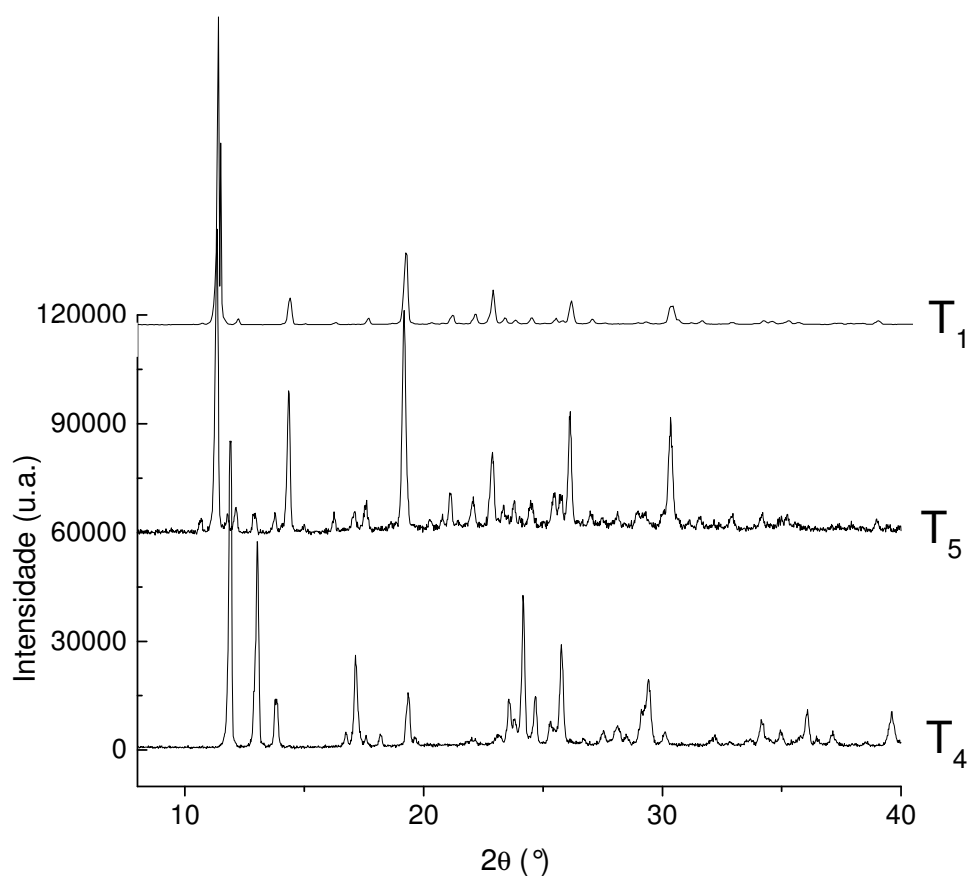


Figura 10. Comparação entre os difratogramas da amostra T_1 (escolhida como representante das cinco amostras que possuem difratogramas similares), T_5 e T_4 .

Em relação à da amostra T_4 , percebe-se claramente que se trata de uma estrutura cristalina diferente das demais. O padrão de difração encontrado para esta matéria-prima apresenta como valores angulares de 2θ (e distâncias interplanares) dos principais picos 11,89 (7,44), 13,00 (6,80), 13,80 (6,41), 17,13 (5,17), 19,32 (4,59), 24,17 (3,68), 25,76 (3,45) e 29,42 (3,03), como pode ser observado na Figura 11.

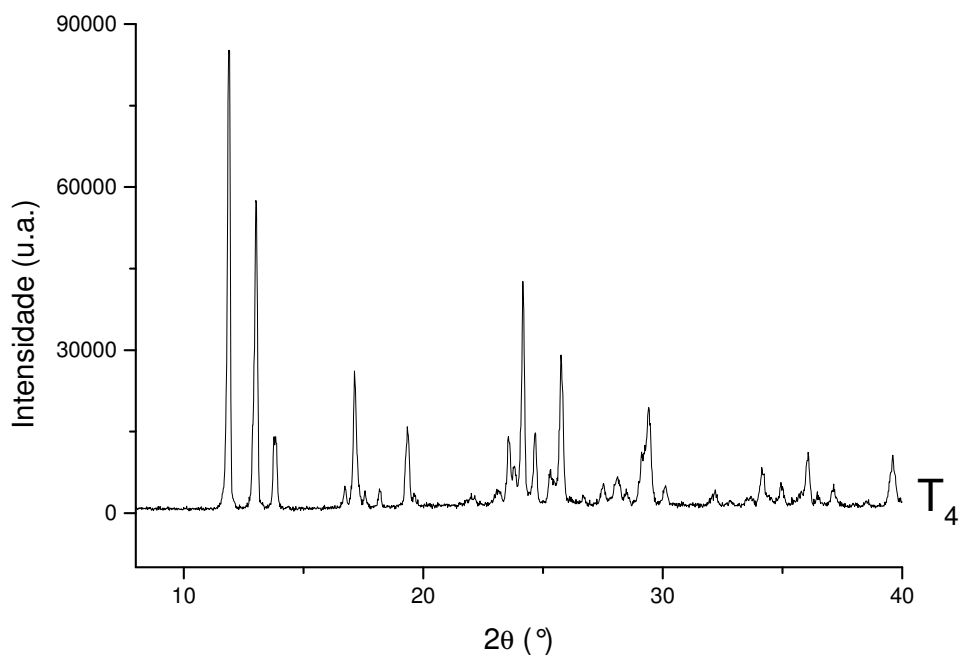


Figura 11. Difratograma apresentado pela amostra T₄.

O padrão de difração demonstrado para T₄ assemelha-se ao encontrado por REEPMEYER e colaboradores (1994) e CAIRA e colaboradores (1994) para o fármaco talidomida, trabalhos publicados quase que simultaneamente, em que relatam a existência de uma nova fase cristalina para a substância. A partir de um completo estudo cristalográfico, onde a estrutura cristalina desta nova forma foi determinada, os autores afirmaram que o fármaco talidomida apresenta polimorfismo.

REEPMEYER e colaboradores (1994) denominaram a nova forma cristalina para o fármaco talidomida de polimorfo β . A estrutura cristalina até então conhecida, caracterizada por ALLEN e TROTTER (1970 e 1971), foi chamada de polimorfo α . Esta nomenclatura será adotada neste trabalho para classificar as duas formas polimórficas para o fármaco.

Através do refinamento estrutural para o polimorfo α , ALLEN e TROTTER (1971) definiram a conformação molecular para esta estrutura. As moléculas de

fármaco formam dímeros, unidos por ligação de hidrogênio, ao redor de centros de simetria. Esta união entre as moléculas gerando os dímeros ocorre entre átomos de hidrogênio ligados ao nitrogênio do anel glutarimida e átomos de oxigênio da carbonila presente no anel glutarimida de moléculas adjacentes (N-H...O). Desta forma, a união ocorre através de duas ligações de hidrogênio idênticas em relação às suas dimensões (Anexos, Figura A1). Devido à presença destes centros de simetria, os dímeros formam pares de enantiômeros R/S, caracterizando o polimorfo como sendo racêmico.

Para o polimorfo β , ocorrem ligações de hidrogênio ao redor de um centro de simetria similarmente ao apresentado para o polimorfo α . No entanto, as moléculas são rotadas de tal forma que os átomos de hidrogênio formam ligações bifurcadas, associadas a um oxigênio da carbonila do anel ftalimida, gerando um empilhamento de dímeros infinito (Anexos, Figura A1). Da mesma forma que ocorre para o polimorfo α , os dímeros são formados através da ligação entre átomos N-H do anel glutarimida e oxigênios da carbonila do anel glutarimida presente em outra molécula. A diferença ocorre quando o mesmo átomo de hidrogênio presente no anel glutarimida, liga-se ao átomo de oxigênio da carbonila presente no anel ftalimida em uma molécula adjacente. Como consequência de operações de simetria envolvidas, os pares de dímero R/S são unidos de uma maneira que faz com que todos enantiômeros R permaneçam em um lado do empilhamento infinito e, conseqüentemente, os enantiômeros S do lado oposto. Portanto, o polimorfo β também pode ser denominado de racêmico. Outra significativa modificação no empacotamento das moléculas de fármaco na forma cristalina β é relativa ao empilhamento paralelo infinito dos grupos aromáticos presentes (CAIRA *et al.*, 1994; REEPMEYER *et al.*, 1994).

A existência de polimorfismo em um fármaco condiciona distintas propriedades físicas e algumas vezes químicas, podendo até mesmo afetar sua eficácia, em casos mais extremos. Polimorfos podem apresentar distintas propriedades, como características de empacotamento (volume e densidade molar, condutividade, higroscopicidade), propriedades termodinâmicas (temperatura de fusão e sublimação, energia interna, entalpia, entropia, energia livre, pressão de vapor, solubilidade), propriedades espectroscópicas (transições eletrônicas,

transições vibracionais, transições rotacionais, alterações em ressonância magnética nuclear), propriedades cinéticas (velocidade de dissolução, velocidade de reação no estado sólido, estabilidade), propriedades de superfície (energia livre superficial, tensões interfaciais, hábito) e propriedades mecânicas (dureza, compactabilidade, compressibilidade) (DATTA e GRANT, 2004).

A análise por espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR), empregada rotineiramente na identificação de fármacos, também se mostra muito útil na diferenciação entre fases cristalinas as quais apresentam polimorfismo ou pseudo-polimorfismo. Além da vantagem de ser uma técnica pouco trabalhosa, rápida e que requer quantidade de amostra inferior a 3 mg, fornece informações a respeito de aspectos conformacionais estruturais entre ligações intra e intermoleculares de uma substância, complementando, desta forma, dados obtidos por difratometria de raios X (KALINKOVA, 1999).

Através das análises comparativas entre espectros referidos pela literatura e obtidos neste trabalho, observa-se que as amostras classificadas como polimorfo α , caracterizadas por difratometria de raios X, apresentam espectros similares aos relatados por DIBBERN (1978) e MOFFAT (2004), também determinado por REEPMEYER e colaboradores (1994) para este polimorfo. Essas análises podem ser visualizadas nas Figuras 12, 13 e 14 e nos Anexos, Figuras A2, A3, A4 e A5.

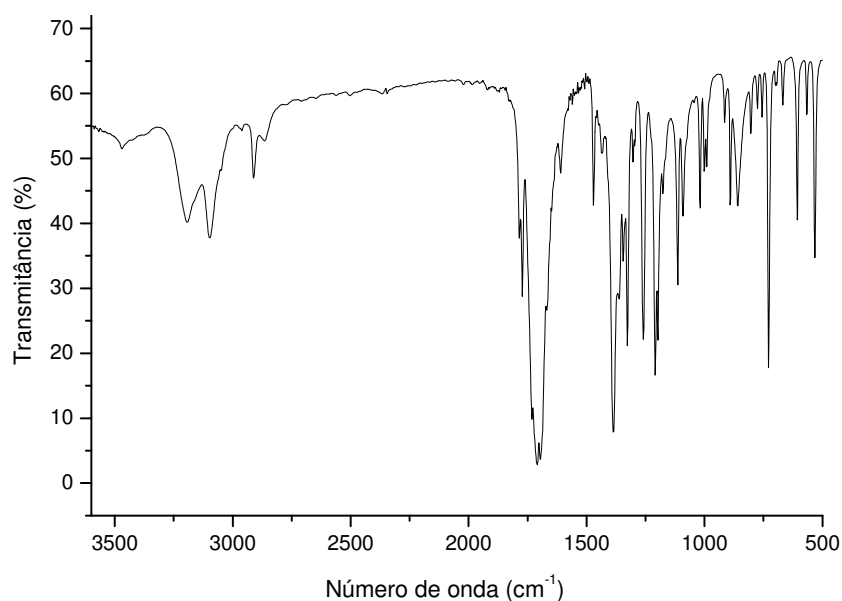


Figura 12. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₁.

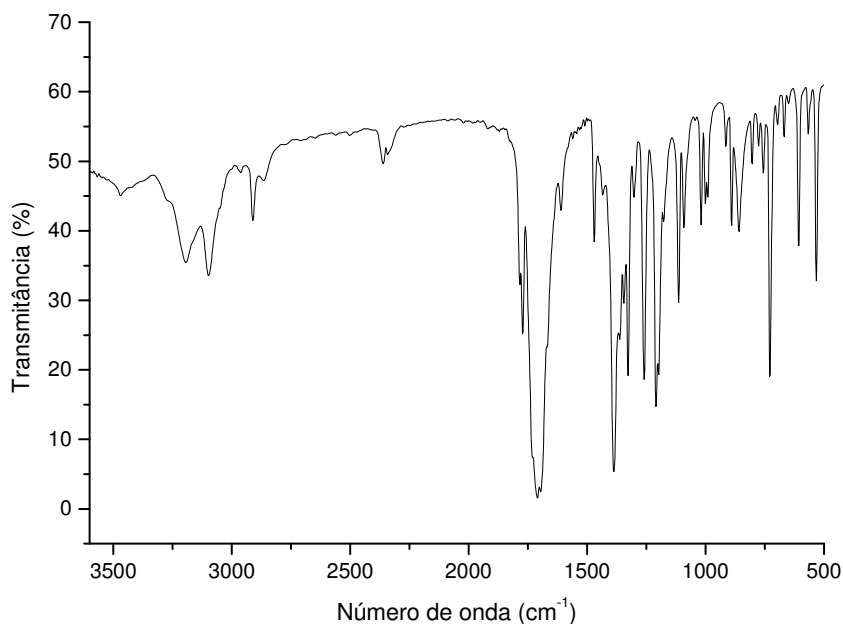


Figura 13. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₅.

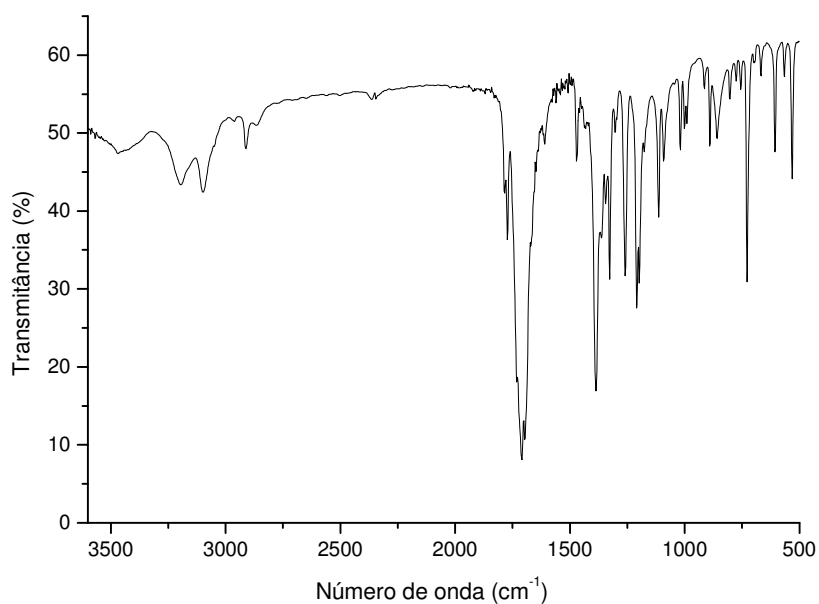


Figura 14. Espectro na região do infravermelho para a amostra de talidomida padrão USP.

Para a amostra T₅, o espectro mostrou-se completamente sobreponível ao referido para o polimorfo α (REPMAYER *et al.*, 1994). De acordo com o difratograma obtido para este insumo, observou-se pequena contaminação com o

polimorfo β , a qual não foi detectada por FT-IR. Isto pode ser explicado pelo fato da fração de contaminante, aparentemente, ser muito pequena e também por FT-IR apresentar uma sensibilidade menor do que a difratometria de raios X, para a finalidade de diferenciar fases cristalinas (KALINKOVA, 1999).

De acordo com a Figura 14 nota-se que o espectro da amostra talidomida padrão USP apresentou-se similar ao espectro relativo ao polimorfo α . Esse resultado gera duas possíveis interpretações: esta forma cristalina é a preferida, embora não sejam apresentados motivos plausíveis para a escolha, ou o polimorfo α é predominante no processo de síntese. Deve-se observar que não existe nenhum relato de polimorfismo cristalino atribuído à talidomida na monografia do fármaco (USP 29, 2006) ou mesmo em laudos de obtenção do insumo padronizado pela Farmacopéia Americana (2006); (USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS, 2005).

O espectro da amostra T₄ (Figura 15) confirmou as informações fornecidas pelo difratograma deste insumo, demonstrando que se trata do polimorfo β . O espectro da amostra foi comparado ao referido por REEPMAYER e colaboradores (1994) para o polimorfo β , demonstrando que os mesmos são similares entre si.

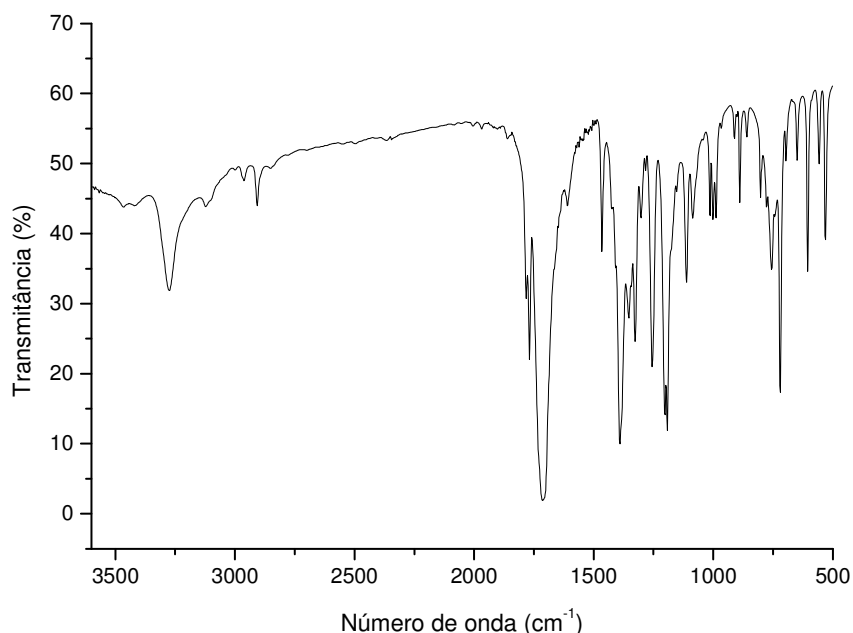


Figura 15. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₄.

A talidomida é classificada como uma imida cíclica (Estrutura Figura 1), com grupos funcionais absorvendo em $\nu_{\text{máx}}$ (KBr/cm⁻¹) característicos. Comparando-se os espectros dos polimorfos α e β , percebe-se que os mesmos apresentam similaridade em relação à maioria das bandas, mas que possuem diferenças importantes em algumas regiões do espectro, como pode ser observado na Tabela 10 e Figuras 16 e 17. Análise comparativa entre as principais bandas apresentadas pelos polimorfos de talidomida relatadas pela literatura e observadas neste trabalho encontram-se descritas nas Tabela A3 e A4 (Anexos), respectivamente.

Ao analisar os espectros de todas as amostras estudadas, observa-se, em alguns casos, a presença de uma banda relativamente intensa, em forma de dubleto, na região de 2350 cm⁻¹. Esta banda de absorção é relacionada ao dióxido de carbono (O=C=O) (NAKANISHI, 1962) presente no ar atmosférico, durante as análises.

Tabela 10. Bandas características observadas através dos espectros na região do infravermelho para amostras representantes do polimorfo α (T₁) e polimorfo β (T₄) de talidomida.

Bandas características - $\nu_{\text{máx}}$ (KBr/cm ⁻¹)		Análise espectral (NAKANISHI, 1962; PAVIA <i>et al.</i> , 2001)
Polimorfo α	Polimorfo β	
~ 3195; ~ 3099	~ 3278	Deformação axial da ligação N-H, característica de lactamas cíclicas.
~ 2906; ~ 2853	~ 2952; ~ 2905	Deformação axial assimétrica e simétrica da ligação C-H de alcano.
~ 1772; ~ 1704	~ 1773; ~ 1710	Deformação axial assimétrica e simétrica da ligação C=O de imidas cíclicas.
~ 1601; ~ 1468	~ 1607; ~ 1460	Deformação axial da ligação C=C de fenila.
~ 1261	~ 1260	Deformação axial da ligação C-N.
~ 853	~ 759	Deformação angular fora do plano da ligação C-H de anel aromático.
~ 727	~ 718	Deformação angular fora do plano da ligação C-H de anel aromático ortodissubstituído.

De acordo com NAKANISHI (1962), a análise estrutural de amidas através de espectroscopia em infravermelho é complicada, embora extensivamente estudada. Amidas analisadas por FT-IR em estado sólido são particularmente sensíveis à orientação cristalina da substância analisada. O efeito de substituintes pode não ser evidenciado em alguns casos e, em estruturas mais complexas, pode haver deslocamento de bandas características a menores frequências.

As regiões do espectro que diferenciam os dois polimorfos de talidomida são observadas para a ligação ν N-H (acima de 3000 cm^{-1}) e a fração associada com a presença de anel aromático (900 cm^{-1} a 690 cm^{-1}) (Figuras 16 e 17).

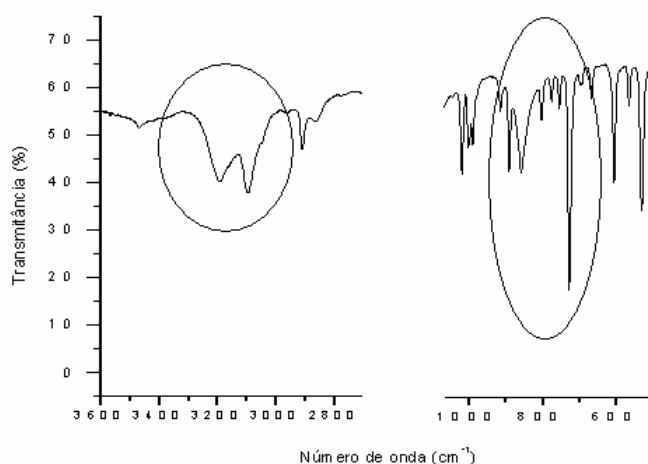


Figura 16. Frações do espectro na região do infravermelho para a amostra T₁, apresentando bandas características de polimorfo α .

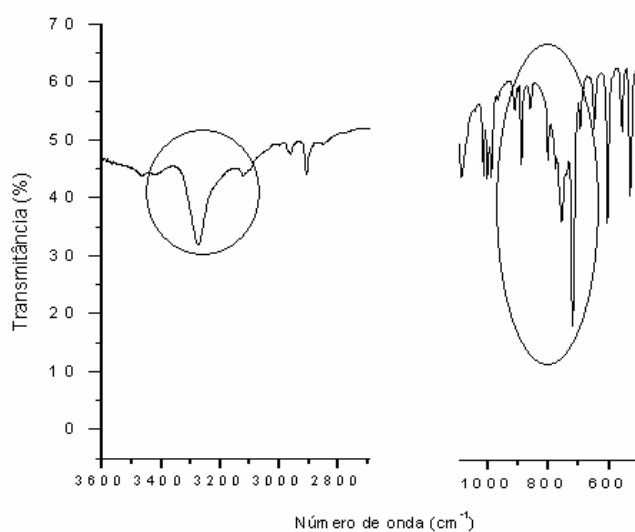


Figura 17. Frações do espectro na região do infravermelho para a amostra T₄, apresentando bandas características de polimorfo β .

O polimorfo α , como discutido anteriormente, é formado por dímeros racêmicos. De acordo com NAKANISHI (1962), lactamas diméricas, como o polimorfo α , apresentam bandas próximas a 3175 cm^{-1} para a ligação ν N-H, observando-se, em algumas circunstâncias, uma banda adicional na região de 3100 cm^{-1} . Para o polimorfo β , existe uma única banda para a ligação ν N-H, próxima a 3300 cm^{-1} , característica para lactamas cíclicas (NAKANISHI, 1962; PAVIA *et al.*, 2001). Apesar do polimorfo β também ser formado por dímeros, existe um padrão de ligações de hidrogênio diferenciado, formando um empilhamento infinito das moléculas ao longo de um eixo de simetria, conduzindo a uma mudança significativa no empacotamento dos grupos aromáticos para este polimorfo (REEPMEYER *et al.*, 1994). É possível que a diferença existente entre os espectros dos dois polimorfos na região citada seja devido a distintos padrões das ligações de hidrogênio.

As diferenças polimórficas fazem com que o processo de crescimento cristalino seja diferenciado, refletindo no formato dos cristais, evidenciado através da análise morfológica dos cristais das diferentes matérias-primas. Avaliando-se fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), observam-se cristais com hábito cristalino prismático tabular para algumas amostras classificadas como polimorfo α , que pode ser observado nas imagens apresentadas na Figura 18. ALLEN e TROTTER (1971) já haviam notificado a tendência à formação de cristais com hábito cristalino tabular para o polimorfo α , em processo de recristalização utilizando dimetilformamida.

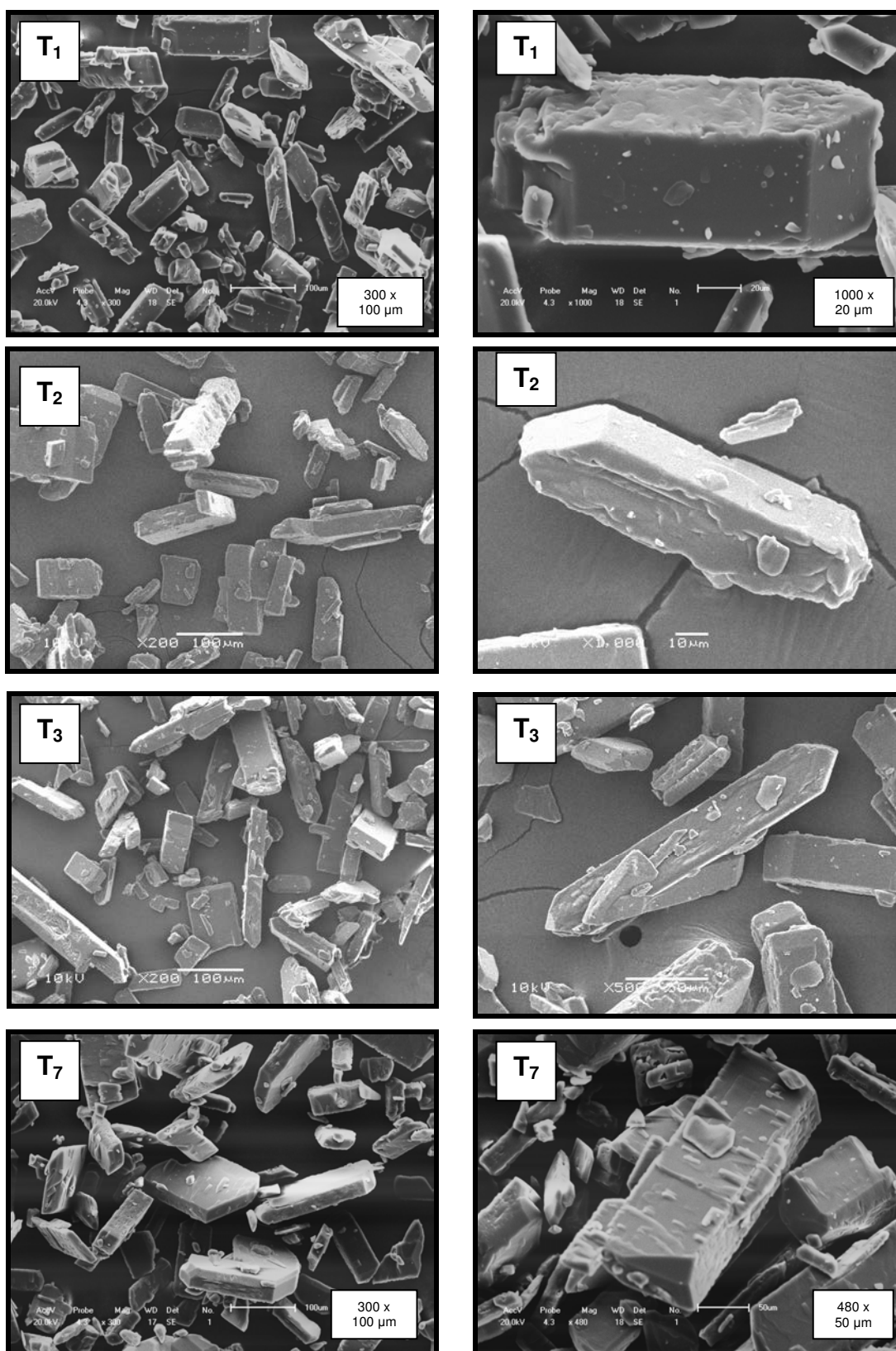


Figura 18. Fotomicrografias das amostras T₁, T₂, T₃ e T₇, classificadas como polimorfo α e que apresentam hábitos cristalinos similares.

Observa-se que as amostras T_1 , T_2 , T_3 e T_7 são bastante similares em relação à morfologia externa de seus cristais e apresentam distribuição do tamanho de partícula relativamente homogênea (já evidenciado por análise granulométrica). Percebe-se que os cristais mostram-se grandes e com superfície pouco irregular.

O polimorfo β (T_4) possui cristais com hábito cristalino característico, tratando-se de partículas em formato de placas pontiagudas. Os cristais para esse polimorfo são maiores que os já relatados, possuindo superfície lisa, com poucas rugosidades (Figura 19).

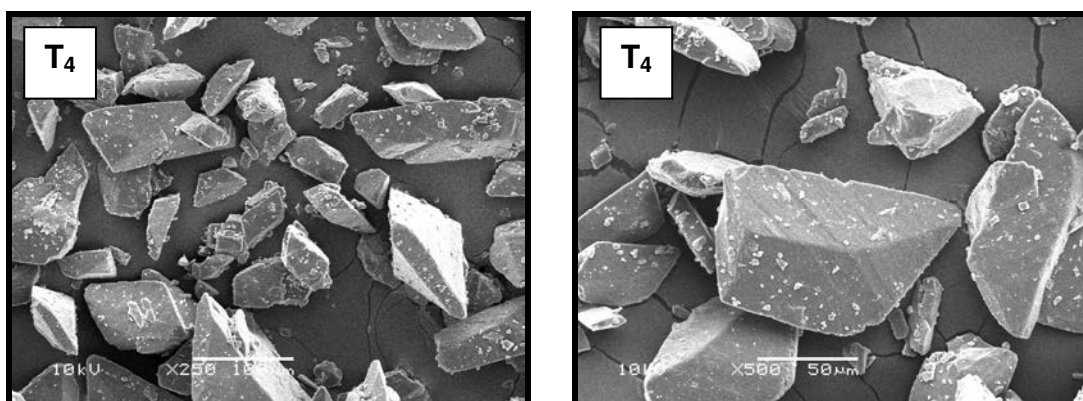


Figura 19. Fotomicrografias da amostra T_4 , classificada como polimorfo β .

A forma de um cristal é estabelecida de acordo com a velocidade relativa de crescimento cristalino (quando ocorre um crescimento mais lento, obtêm-se faces maiores) e do sistema cristalino ao qual a substância pertence. A velocidade de crescimento é determinada, primeiramente, pela força de ligação existente entre as partículas e depende essencialmente da “arquitetura interna” do cristal. Porém, fatores externos interferem na velocidade de crescimento, o que influenciará o hábito cristalino (aparência externa do cristal) (BERKOVITCH-YELLIN, 1985).

Analisando as imagens obtidas por MEV para a amostra T_5 (Figura 20), percebe-se que se trata de formas cristalinas bem diferentes daquelas já demonstradas para o polimorfo α . A amostra T_5 apresenta-se majoritariamente como

polimorfo α , possuindo pequena contaminação com o polimorfo β . No entanto, os cristais desta amostra possuem hábito acicular, apresentando formato de pequenas agulhas, na maioria dos casos, que se aderem entre si e às partículas maiores, formando um emaranhado de partículas diminutas unidas coesivamente. Em fotomicrografias obtidas através de elevado aumento de tamanho, observa-se fendas e irregularidades presentes na superfície destes cristais.

Características similares são encontradas para a amostra T₆ (Figura 21), em que pode ser visualizada, com grande nitidez, a tendência à aglomeração dos pequenos cristais.

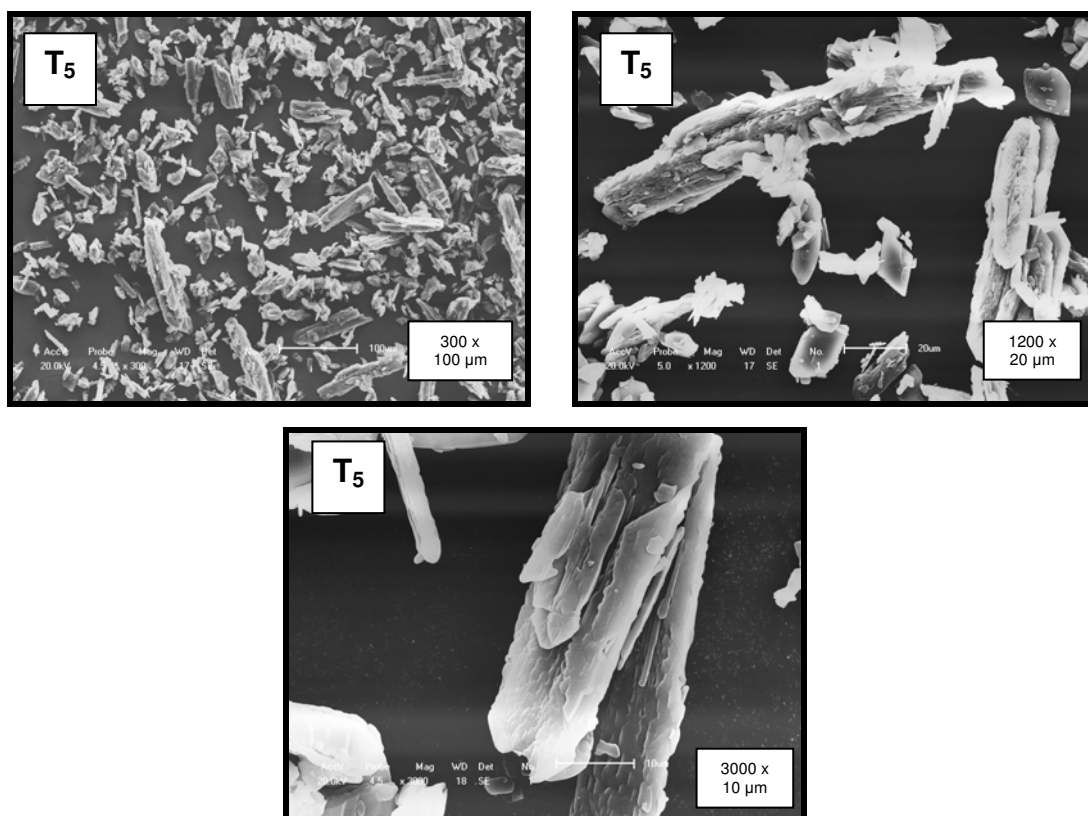


Figura 20. Fotomicrografias apresentadas para a amostra T₅.

A amostra T₆, anteriormente caracterizada como polimorfo α , possui cristais muito pequenos com hábito placóide, sendo que as placas se justapõem. Observa-se, através da Figura 21, que a superfície das partículas é bastante acidentada e irregular.

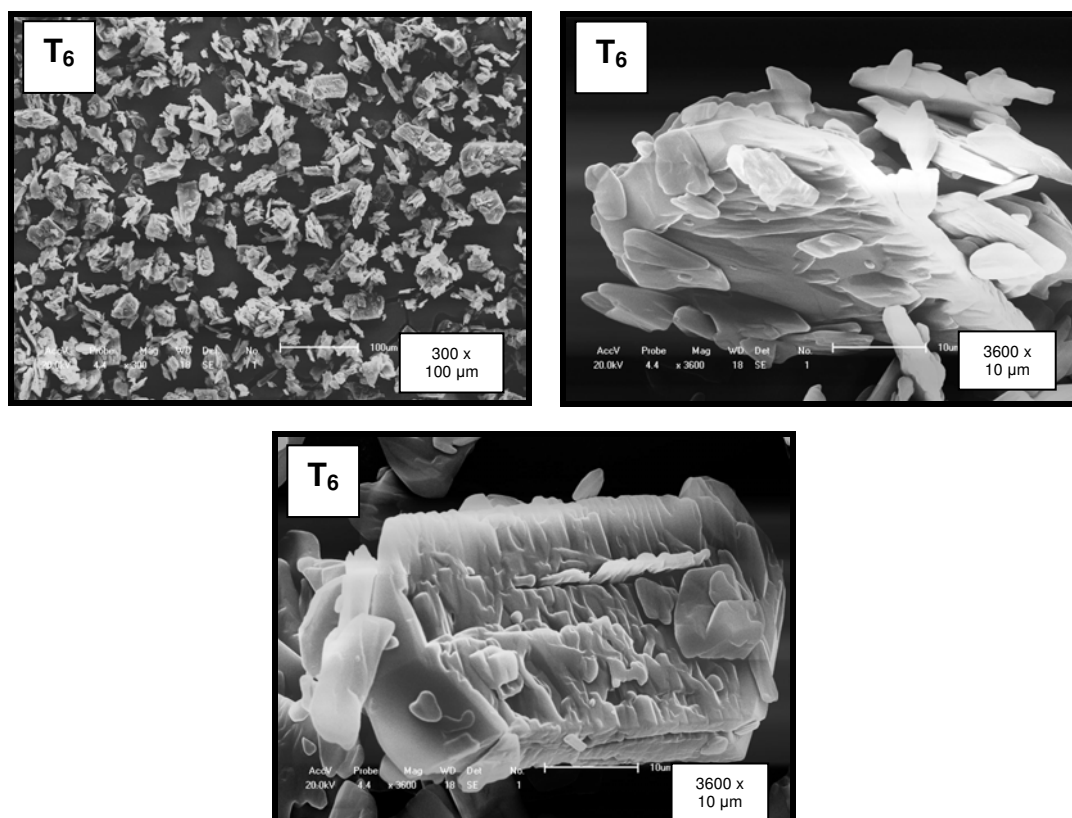


Figura 21. Fotomicrografias apresentadas para a amostra T₆.

A formação de diferentes hábitos cristalinos para cristais que possuem a mesma estrutura interna surge em decorrência das condições empregadas durante os processos de cristalização e conseqüente crescimento dos cristais. Desta forma, o processo de crescimento destes cristais afeta o formato externo dos mesmos devido à interferência na aproximação uniforme das moléculas em diferentes faces do cristal durante a cristalização. O crescimento cristalino pode ser impedido por cristais adjacentes que crescem simultaneamente ou pelo contato com paredes de

um recipiente. Como resultado, o desenvolvimento de faces planas pode ser inibido ou haver a formação de cristais irregulares (HALEBLIAN, 1975; TIWARY, 2001).

Durante o processo de cristalização de uma substância, existem fatores externos que podem conduzir à formação de um hábito cristalino em especial, tais como velocidade de resfriamento e agitação da solução, grau de supersaturação, natureza do solvente de cristalização e concentração de impurezas presentes (HALEBLIAN, 1975; BERKOVITCH-YELLIN, 1984; SHEKUNOV e YORK, 2000; TIWARY, 2001).

Qualquer mudança nas variáveis há pouco elencadas, mesmo que mínimas, pode afetar o crescimento do cristal e conseqüentemente o hábito cristalino, refletindo nas propriedades cristalinas, como tamanho de partícula, forma, pureza e imperfeições na estrutura, seguido de alterações em propriedades termodinâmicas e mecânicas do cristal (HALEBLIAN, 1975; SHEKUNOV e YORK, 2000). Portanto, para a obtenção de um único e padronizado hábito para qualquer elemento cristalino, são requeridas condições de cristalização que ocorram sempre de modo idêntico (HALEBLIAN, 1975).

De acordo com todas as amostras de talidomida avaliadas, nota-se que existem cristais com morfologias variadas, além do tamanho de partícula, não se mostrando homogêneas entre si, na maioria dos casos. Existem pelo menos quatro tipos de hábitos cristalinos diferentes, sendo um deles claramente atribuído ao polimorfo β e três deles relatados para amostras de polimorfo α . Esta diversificação relativa à morfologia cristalina mostra produtos com cristais que além de apresentarem diferenças estruturais internas, também são diferenciados externamente. Como conseqüência, vários parâmetros farmacêuticos podem ser influenciados, tais como fluxo de escoamento, empacotamento, compactação, compressibilidade, solubilidade e dissolução (TIWARY, 2001; MANISH *et al.*, 2005).

Portanto, torna-se necessário avaliar a associação mais adequada entre formas polimórficas e hábitos cristalinos em etapas de pré-formulação, definindo metodologias de obtenção para o fármaco que conduzam a uma forma padronizada e controlada dos processos de síntese e cristalização, obtendo-se um produto com forma física e cristalinidade pré-estabelecidas, estimando-se, conseqüentemente,

propriedades físicas e químicas desta substância (SHEKUNOV e YORK, 2000; TIWARY, 2001).

5.3.1 Análise Quantitativa de Misturas de Fases Cristalinas Através do Refinamento Estrutural pelo Método de Rietveld²¹

A análise quantitativa da composição polimórfica de um fármaco no estado sólido é utilizada para garantir a segurança e eficácia do mesmo ou para estabelecer e validar o controle do processo de produção farmacêutico, onde é conhecida a diferença entre propriedades físicas dos polimorfos, que refletem no desempenho da forma farmacêutica final (biodisponibilidade, estabilidade, etc.) ou afetam a reprodutibilidade dos processos produtivos (STEPHENSON *et al.*, 2001).

A obtenção de um produto farmacêutico constituído por uma mistura entre fases cristalinas pode representar um problema durante o processo de desenvolvimento de um novo fármaco, tornando-se necessário o controle quantitativo das proporções entre formas polimórficas presentes. De acordo com especificações do FDA, para determinados fármacos onde o estado cristalino interfere em propriedades físico-químicas dos mesmos, a proporção entre fases polimórficas deve permanecer dentro dos limites especificados pré-estabelecidos, durante todo o tempo de vida do produto (VIPAGUNTA *et al.*, 2001). A pureza polimórfica é um parâmetro exigido para alguns fármacos em compêndios oficiais, como a Farmacopéia Americana (USP 29, 2006), citando-se como exemplo o fármaco carbamazepina, onde é admitida somente a presença da fase β anidra, considerando-se a fase α anidra e a diidratada, contaminantes em formulações disponíveis comercialmente (IYENGAR *et al.*, 2001). Desta forma, desenvolver métodos de preparo do fármaco que possibilitem a formação de apenas uma forma cristalina estável torna-se uma obrigatoriedade, de acordo com alguns órgãos reguladores (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

²¹ Refinamento realizado por Giovanna Machado, pós-doutoranda vinculada ao Instituto de Geociências, desta Universidade.

A difratometria de raios X em pós é a técnica mais utilizada e precisa para estimar quantitativamente a presença de misturas polimórficas. Esta técnica requer, fundamentalmente, difratogramas com picos que apresentam elevada intensidade e resolução, pois a medida desta intensidade, para cada forma, será relacionada à proporção dos componentes. Modernas técnicas computacionais aplicadas a difratogramas permitem a análise quantitativa de mistura com multicomponentes cristalinos usando um completo perfil de difração (VIPAGUNTA *et al.*, 2001).

Várias técnicas computacionais utilizadas para prever a estrutura de elementos cristalinos têm sido desenvolvidas, envolvendo programas de refinamento que fornecem resultados de alta confiabilidade. Estas técnicas também são úteis para a determinação quantitativa de misturas entre polimorfos, através da comparação entre difratogramas experimentais e preditos, utilizando-se dados referentes a grupos espaciais e parâmetros de rede correspondentes. A maioria dos métodos computacionais utilizados para a solução de estruturas cristalinas usa de forma parcial ou total, análises por Rietveld para o refinamento estrutural de um composto (DATTA e GRANT, 2004). Até o momento, a análise por Rietveld é a metodologia mais precisa quando se busca avaliar quantitativamente a mistura de fases sólidas múltiplas, pois é baseada em parâmetros estruturais, apresentando análise detalhada de todo o difratograma (IYENGAR *et al.*, 2001).

Com o intuito de quantificação das fases cristalinas presentes nas amostras de talidomida, os padrões de DRX foram refinados pelo método de Rietveld, através de cálculos baseados em parâmetros estruturais²². A qualidade do ajuste foi avaliada por exame visual comparativa entre padrões observados e calculados, apresentados a partir de produção gráfica obtida ao final dos refinamentos por Rietveld, os quais podem ser visualizados nas Figuras de 22 a 31. Os pontos vermelhos representam o difratograma observado experimentalmente e as linhas em preto indicam o padrão calculado. O grau de concordância entre os padrões observados e calculados é expresso através da plotagem da diferença existente entre eles, demonstrado em azul. As linhas verticais verdes representam as posições dos picos dos polimorfos α ou β .

²² Os parâmetros estruturais dos polimorfos α e β de talidomida referidos pela literatura encontram-se listados na Tabela A5 dos Anexos.

O refinamento por Rietveld permitiu estabelecer que 100 % da amostra T₂ é composta pelo polimorfo α (Figura 22), através da análise de parâmetros de rede, posições atômicas e fatores de qualidade de ajuste.

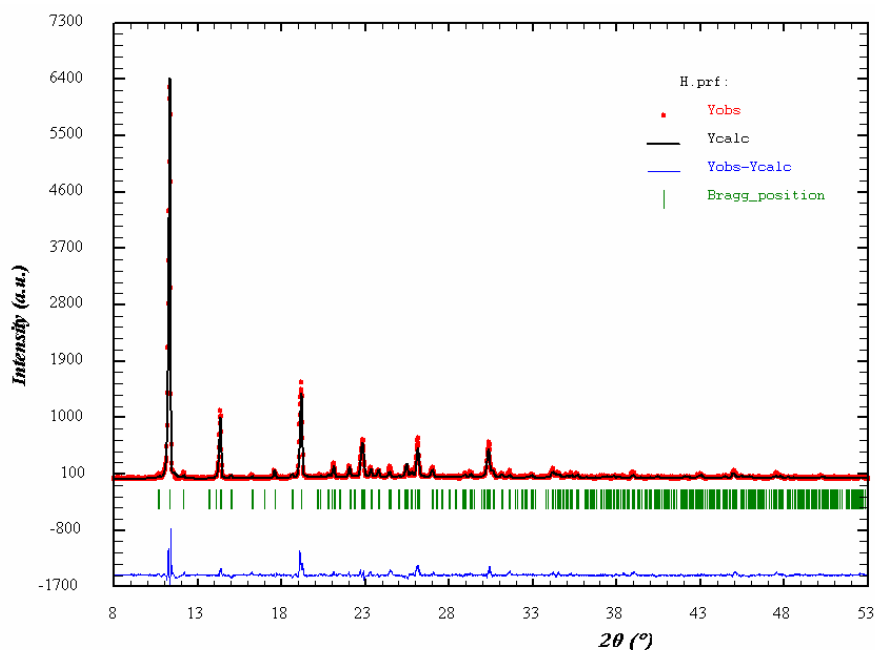


Figura 22. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₂.

As análises de T₁ e T₃ (Figuras 23 e 24) demonstram que as amostras são compostas somente de fase α . Porém, através da visualização dos gráficos gerados a partir do refinamento, pode-se perceber a existência de diferença de intensidade entre padrões observados e calculados, principalmente em torno dos picos máximos 11,33° (2 θ) e 19,20° (2 θ). Isso acontece porque as amostras exibem orientação preferencial, que pode ocorrer devido à manipulação inadequada das amostras antes das análises ou degradação da estrutura cristalina (KINAST, 2000; MACHADO, 2005).

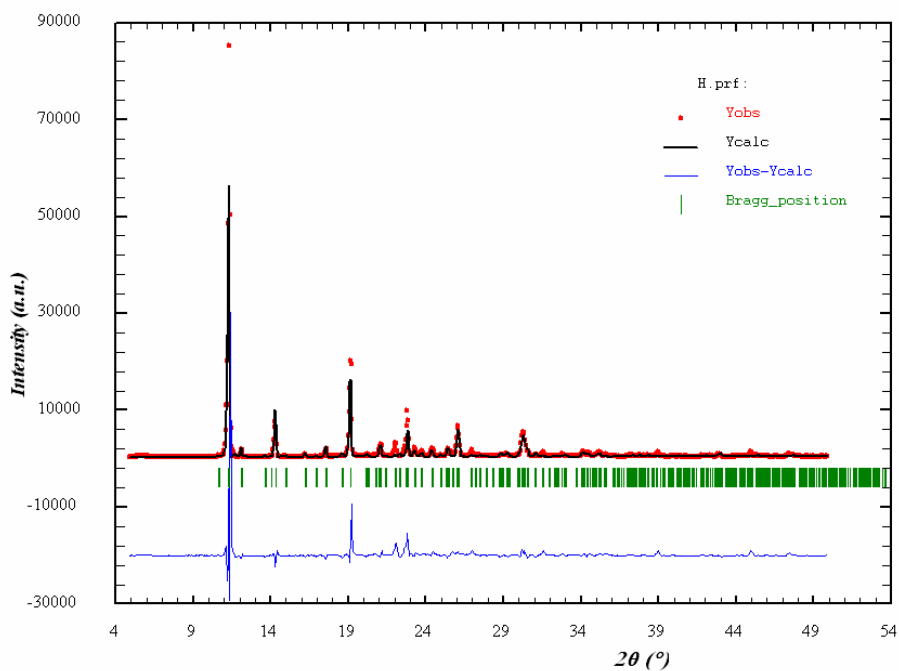


Figura 23. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para amostra T₁.

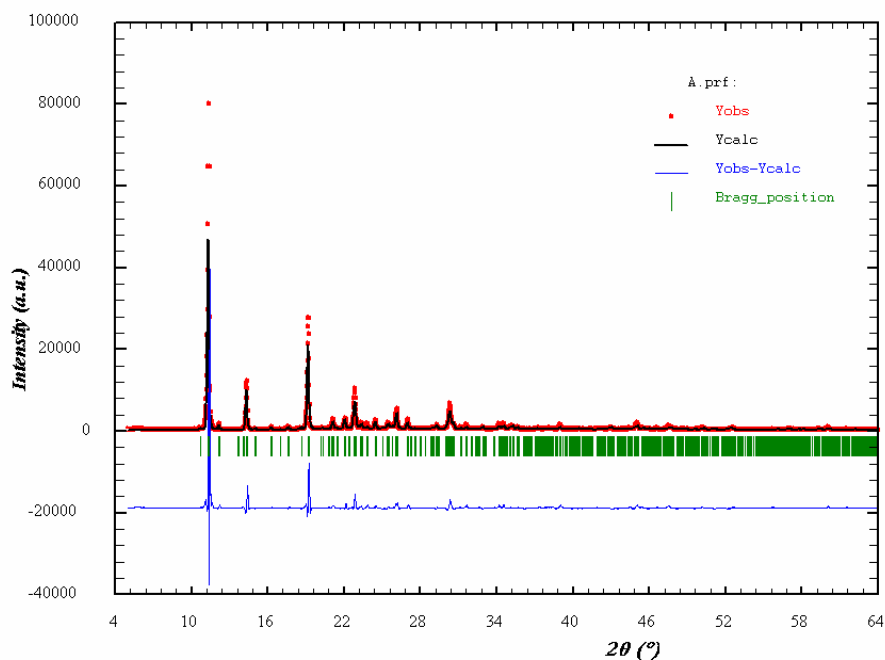


Figura 24. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para amostra T₃.

Apesar de ser geralmente indesejável em medidas por DRX, a orientação preferencial não gera grandes problemas em relação à interpretação dos resultados, quando em graus moderados (MACHADO, 2005). Ao mesmo tempo que a diferença entre a intensidade dos picos observados e calculados pode ser inaceitável para refinamento estrutural, é tolerada em medidas quantitativas de fases, quando representam pequena contribuição aos índices de erro das análises (IYENGAR *et al.*, 2001).

O refinamento por Rietveld confirmou as análises anteriores, demonstrando que a amostra T₄ é composta por fase β (Figura 25). A amostra sofre orientação preferencial nos picos 11,89°2θ e 24,17°2θ.

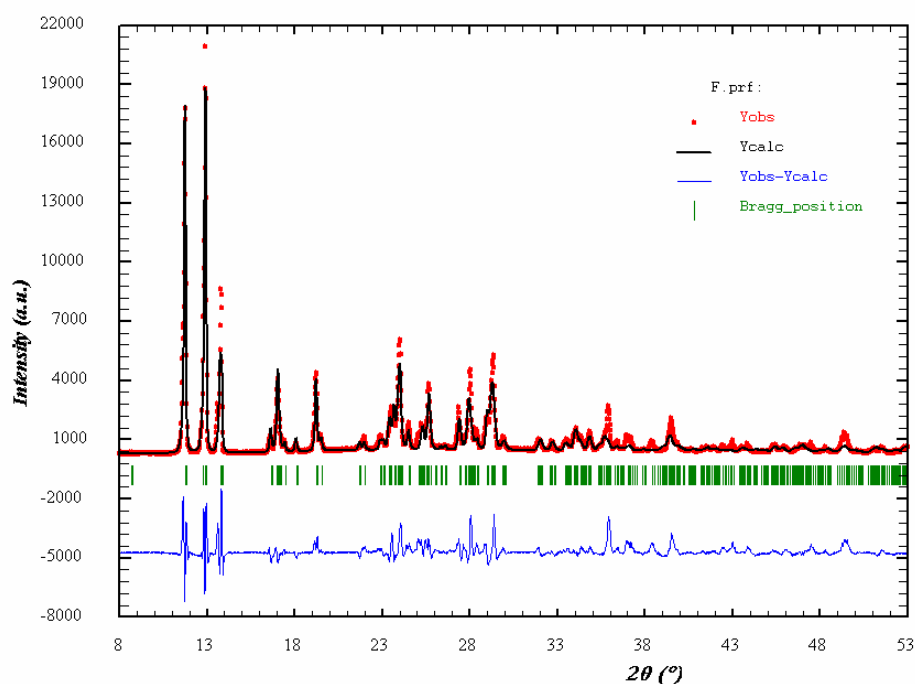


Figura 25. Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₄.

Para amostra T₄, foi constatada além da fração cristalina correspondente ao polimorfo β, a presença de frações amorfas, como pode ser avaliado em imagem ampliada (Figura 26), classificando-se a matéria-prima de semicristalina. Detecta-se a presença de halos amorfos quando a linha de base do difratograma obtido

experimentalmente (pontos vermelhos) está acima da linha de base (*background*) real do difratograma (linha preta horizontal), podendo-se obter o valor percentual de fase amorfa através do cálculo relativo entre as áreas dos picos de Bragg e a área do halo amorfo (MACHADO, 2005). A proporção de fase amorfa presente para a amostra T₄ é de 20 a 25 % do total.

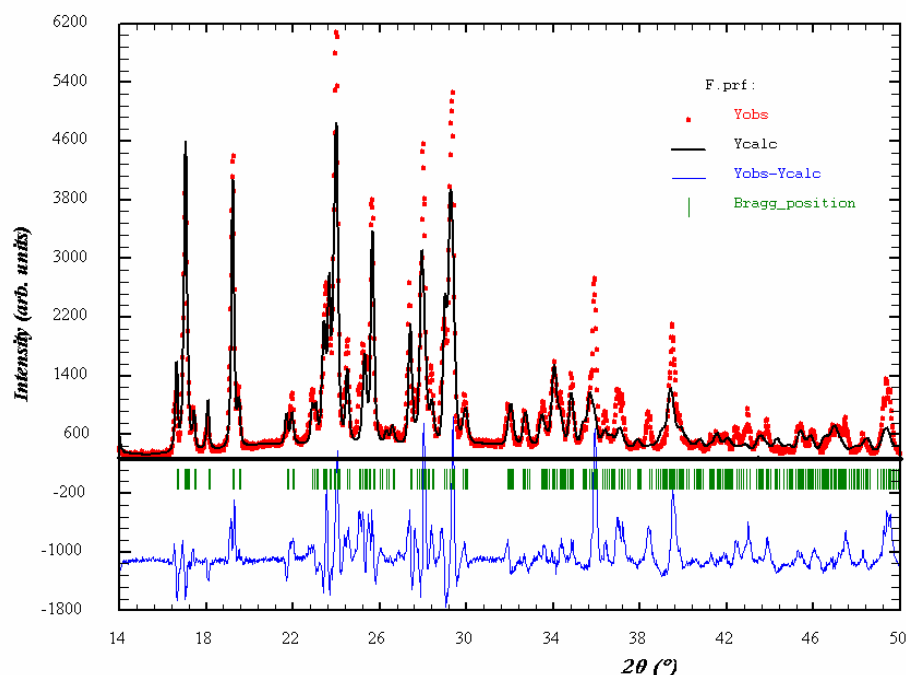


Figura 26. Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₄, em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.

Embora não exista uma interface bem definida entre a região amorfa e cristalina, utiliza-se o modelo de duas fases para a estimativa das proporções existentes entre elas. Um dos métodos utilizados (KINAST, 2000) para a determinação da cristalinidade baseia-se na relação entre as áreas das fases cristalina e amorfa. A aplicação do método de Rietveld para determinação da cristalinidade relaciona as contribuições cristalinas para a área total sob o difratograma através de um refinamento e a linha de base real deste difratograma é definida ponto a ponto. É projetada também uma linha para a separação de ambas as fases, através da interpolação da seleção manual de vários pontos. Com a

estimativa da linha de base real e linha de separação entre as fases, adicionado ao procedimento usualmente adotado para o refinamento, obtém-se o valor da área total da contribuição cristalina, podendo-se calcular posteriormente a fração amorfa presente (MCCUSKER *et al.*, 1999; KINAST, 2000; MACHADO, 2005).

O refinamento por Rietveld detectou a presença de duas fases cristalinas para a amostra T₅, como pode ser visualizado na Figura 27 (barras verdes verticais constantes na primeira linha de cima para baixo indicam as posições dos picos de Bragg para o polimorfo α e o outro conjunto de barras verdes indica a presença do polimorfo β). Os cálculos demonstraram que a amostra é constituída 96,24 % por fase α e 3,76 % por fase β , sendo que os erros envolvidos são menores que 1 %.

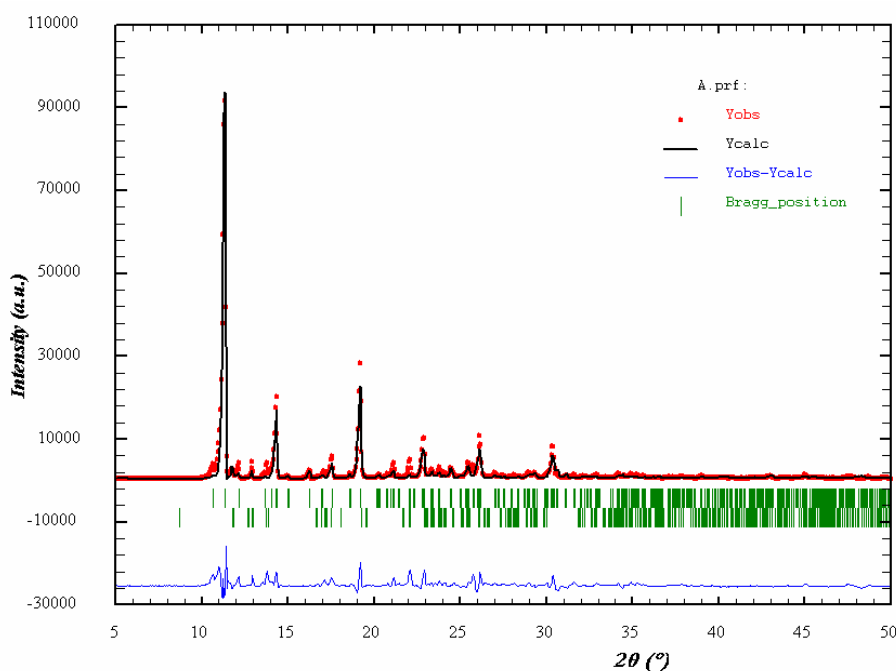


Figura 27. Difratograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₅.

Através do refinamento para a amostra T₆, pode-se perceber que a mesma é constituída somente por fase α (Figura 28). Outra característica importante é o fato da mesma apresentar regiões amorfas, sendo, portanto, uma amostra semicristalina (Figura 29). A proporção de material amorfo presente fica em torno de 16 %.

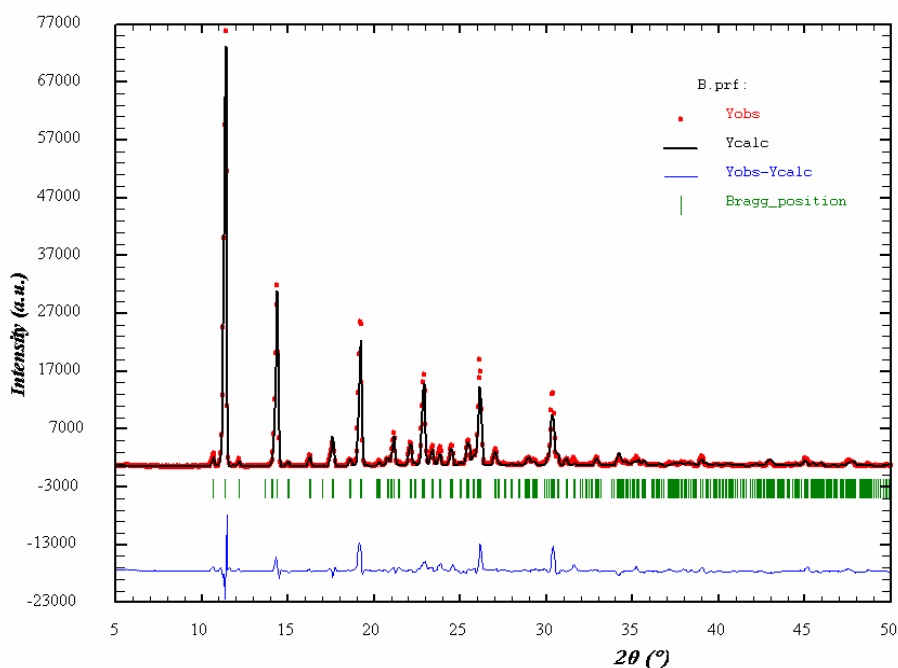


Figura 28. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₆.

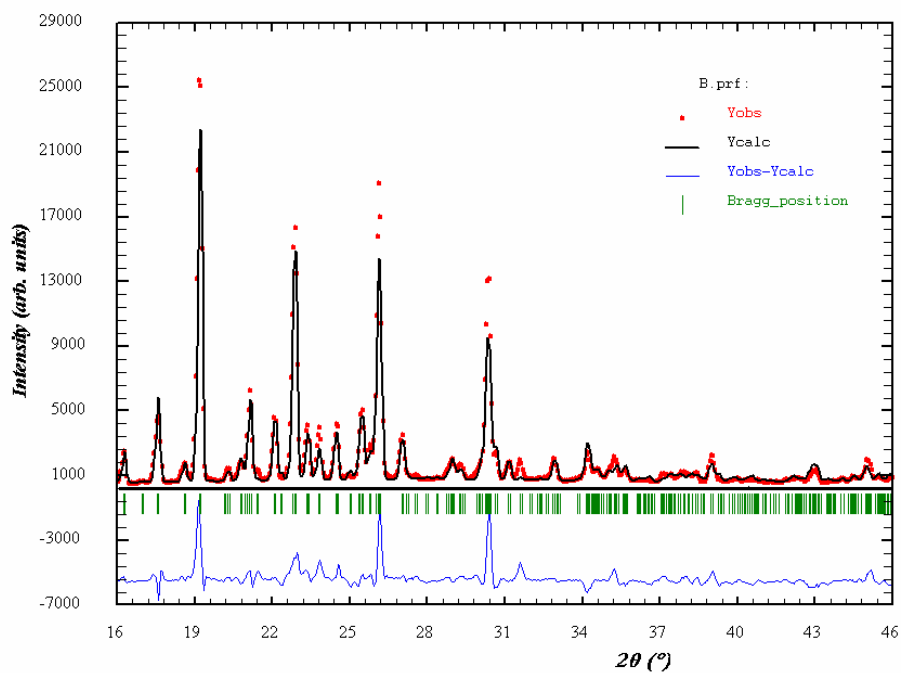


Figura 29. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₆, em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.

O mesmo ocorre para a amostra T₇, a qual é constituída somente pelo polimorfo α e apresenta-se como matéria-prima semicristalina (Figuras 30 e 31). As frações amorfas representam 20 % do total da amostra. A amostra também sofre orientação preferencial nos picos máximos de intensidade.

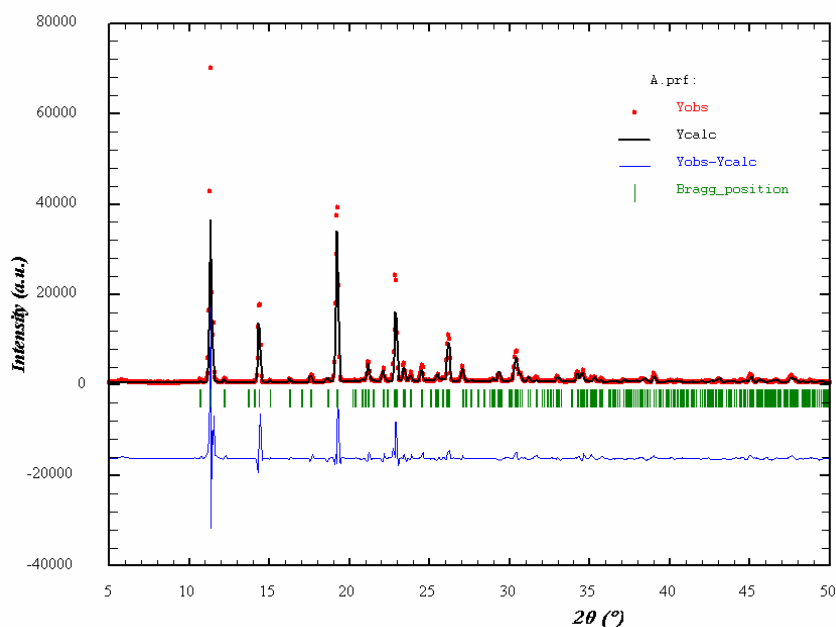


Figura 30. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₇.

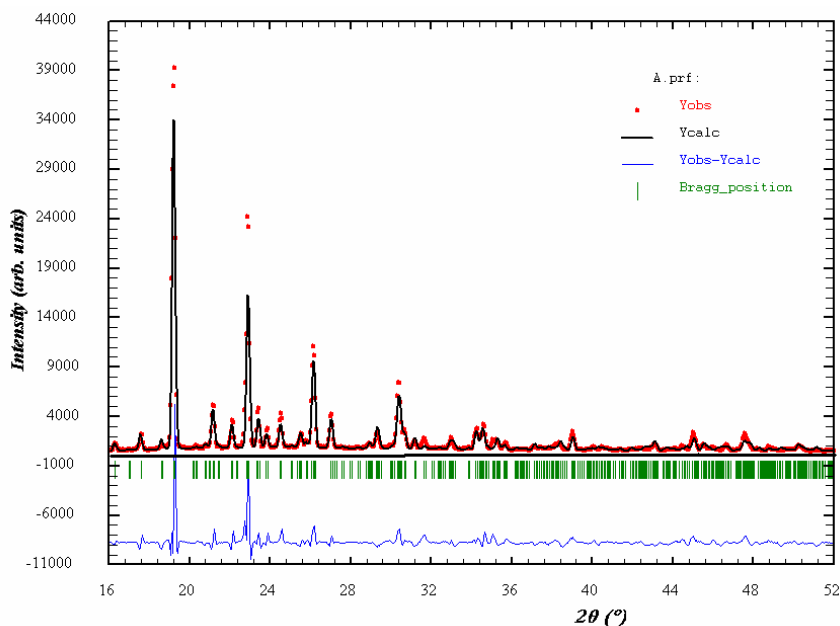


Figura 31. Difratoograma de raios X e refinamento pelo método de Rietveld para a amostra T₇, em imagem ampliada evidenciando halos amorfos presentes.

Sendo assim, é confirmada a predominância do polimorfo α entre as sete amostras de talidomida analisadas, estando o mesmo presente em seis delas, enquanto que o polimorfo β em apenas duas das amostras, misturado a outras fases. Através do refinamento por Rietveld houve a possibilidade de identificar um novo e importante elemento presente, a fase amorfa, a qual surge junto de outras fases, em três das matérias-primas avaliadas.

O que se pode perceber através destas análises é a não periodicidade nos processos de obtenção do produto, devido à formação de matérias-primas algumas vezes distintas entre si, no que diz respeito à organização das moléculas a nível molecular, refletindo na formação de produtos com diferentes fases.

5.4 Avaliação do Comportamento Térmico das Matérias-Primas de Talidomida

Técnicas termoanalíticas possibilitam a avaliação de propriedades físicas e químicas de substâncias em função da temperatura, sendo amplamente utilizadas em análises relacionadas à ciência do estado sólido. Na prática, este tipo de análise possibilita avaliação de certas propriedades específicas, como determinação da entalpia, capacidade de calor e determinação de temperaturas de fusão e recristalização, dentre outras (WEST, 1984).

Através de técnicas que envolvem análise térmica é possível obter importantes informações a respeito de características particulares relativas a distintas fases polimórficas em fármacos, as quais incluem transição de fases polimórficas, estudos cinéticos e de decomposição térmica, além da determinação de diagramas de fases (WEST, 1984; YU *et al.*, 1998). Desta forma, técnicas termoanalíticas como calorimetria exploratória diferencial, microcalorimetria, termogravimetria, espectroscopia ou difração de raios X, são as técnicas de escolha as quais possibilitam avaliar a relação termodinâmica existente entre diferentes fases polimórficas (GIRON, 2001).

Sendo assim, procedeu-se à análise térmica das matérias-primas de talidomida utilizando-se a técnica de calorimetria exploratória diferencial (DSC). Os termogramas obtidos podem ser observados na Figura 32 e os eventos térmicos resumidos numericamente na Tabela 11²³.

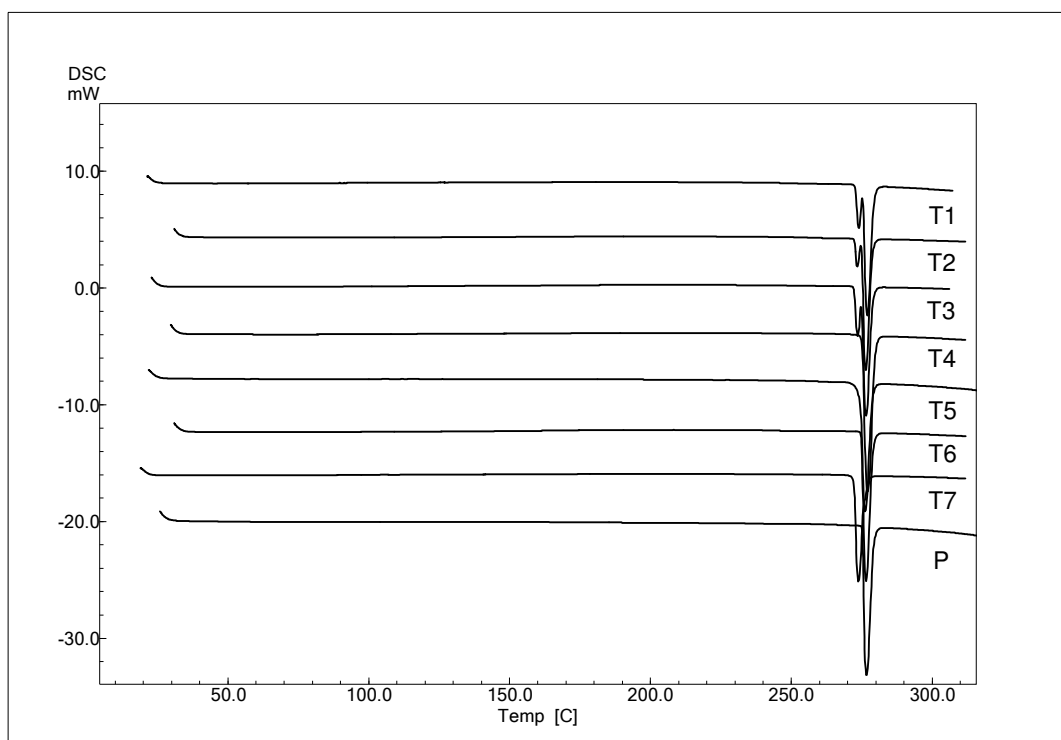


Figura 32. Termogramas obtidos por DSC para amostras de talidomida.

²³ Deve-se atentar para algumas observações ao avaliar os termogramas e a tabela obtidos a partir das análises por DSC: os termogramas apresentam os picos endotérmicos voltados para baixo; considerou-se a temperatura de fusão como sendo a T_{onset} (FORD e TIMMINS, 1989); a amostra denominada de “P” refere-se a “Talidomida Padrão USP”.

Tabela 11. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para amostras de talidomida.

Matéria-prima	Evento endotérmico			
	Primeiro pico		Segundo pico	
	T _{onset} (°C)	ΔH (J/g)	T _{onset} (°C)	ΔH (J/g)
T ₁	272,27	19,76	275,54	108,61
T ₂	271,74	13,35	274,90	123,14
T ₃	272,40	18,52	275,08	95,82
T ₄	-	-	275,27	153,56
T ₅	-	-	274,58	160,69
T ₆	-	-	274,83	159,69
T ₇	272,26	119,60	-	-
P	-	-	275,14	156,70

Os primeiros relatos da literatura relacionados à obtenção do ponto ou faixa de fusão da talidomida, indicaram valores de 269 – 271 °C (SCHUMACHER *et al.*, 1965; ALLEN e TROTTER, 1971). ALLEN e TROTTER (1971) estipularam essa faixa de fusão para o polimorfo α , na época a única forma cristalina de talidomida conhecida. Atualmente, algumas referências ainda citam esta faixa de fusão para o fármaco (MOFFAT, 2004), no entanto, a Farmacopéia Americana não disponibiliza este tipo de informação. Posteriormente, com a obtenção de uma nova fase cristalina para o fármaco, tanto REEPMAYER e colaboradores (1994), quanto CAIRA e colaboradores (1994), observaram que o novo polimorfo (β) apresentava ponto de fusão próximo a 275 °C. GOOSEN e colaboradores (2002) também encontraram valores de fusão de 275 °C indicado para o fármaco talidomida na forma de mistura racêmica. REEPMAYER e colaboradores (1994) procederam as suas análises térmicas com auxílio de DSC, onde avaliaram o ponto de fusão para ambos polimorfos, percebendo que o polimorfo α apresentava ponto de fusão próximo a 272 °C.

O ponto ou faixa de fusão dos polimorfos de talidomida pode apresentar pequena variação dependendo do tipo de metodologia empregada. Quando foi utilizado sistema de aquecimento em bloco, acoplado a um microscópio, realmente, obteve-se valores na faixa de 269 – 271 °C para amostras as quais eram constituídas pelo polimorfo α , como citado em algumas referências, principalmente as mais antigas. Nas análises por DSC, as mesmas amostras avaliadas apresentaram ponto de fusão ligeiramente superior. Pelo fato do DSC ser uma metodologia mais sensível e precisa, os valores de fusão adotados neste trabalho partiram destas análises.

Ao observar os resultados por DSC, nota-se um comportamento térmico diferenciado para as amostras de talidomida. Para o polimorfo β , o ponto de fusão obtido foi condizente com o referido pela literatura, diferentemente das amostras constituídas somente pelo polimorfo α , ou majoritariamente, as quais apresentaram termogramas com parâmetros térmicos distintos entre si.

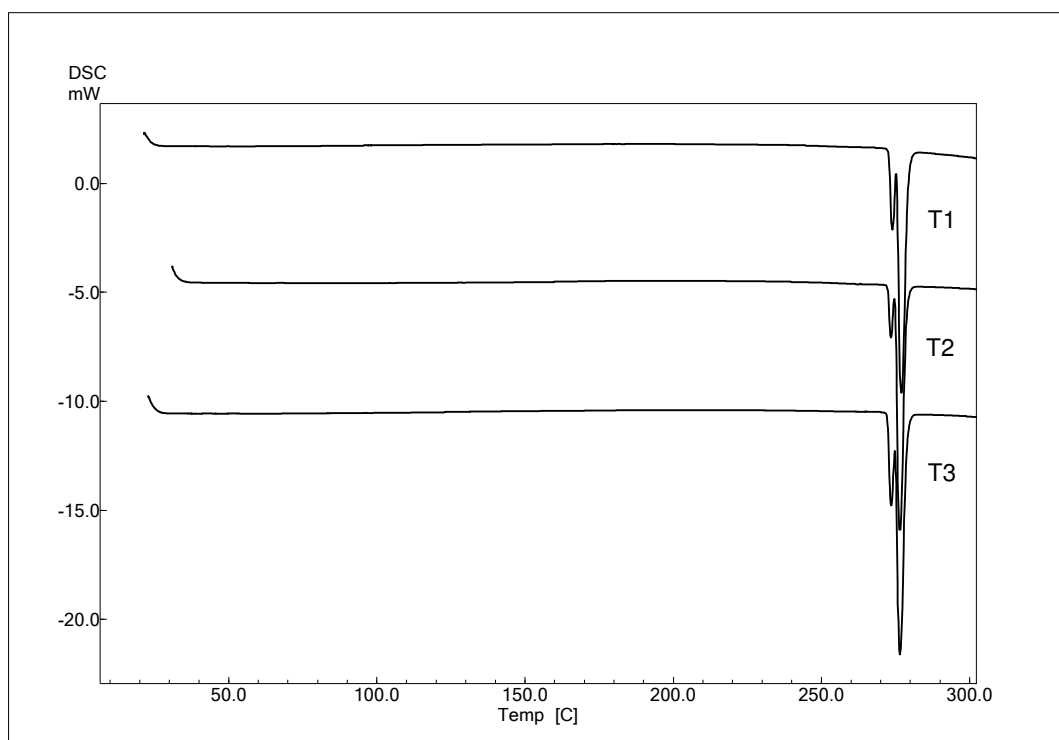


Figura 33. Termogramas obtidos por DSC para as amostras T₁, T₂ e T₃.

As três primeiras amostras (T_1 , T_2 e T_3) apresentam duas endotermas de fusão (as quais são separadas perfeitamente quando se utiliza uma velocidade de aquecimento de $5\text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$), sendo que análises anteriores certificaram que as mesmas possuíam somente o polimorfo α em sua constituição. A primeira endoterma coincidiu com valores de fusão atribuídos ao polimorfo α , com entalpia envolvida no processo menor que 20 J/g , e a segunda endoterma, curiosamente mais intensa, ao polimorfo β (como pode ser visualizado na Figura 33).

Para as amostras T_5 , T_6 e T_7 , sendo constituídas por uma mistura de fases, mas sempre com predomínio do polimorfo α , evidenciou-se um comportamento diferente das três primeiras amostras. Para a amostra T_5 e T_6 houve coincidência de valores com a endoterma de fusão do polimorfo β (Figura 34), inclusive com praticamente a mesma quantidade de calor envolvido, diferentemente de T_7 , que apresentou endoterma característica do polimorfo α (Figura 35).

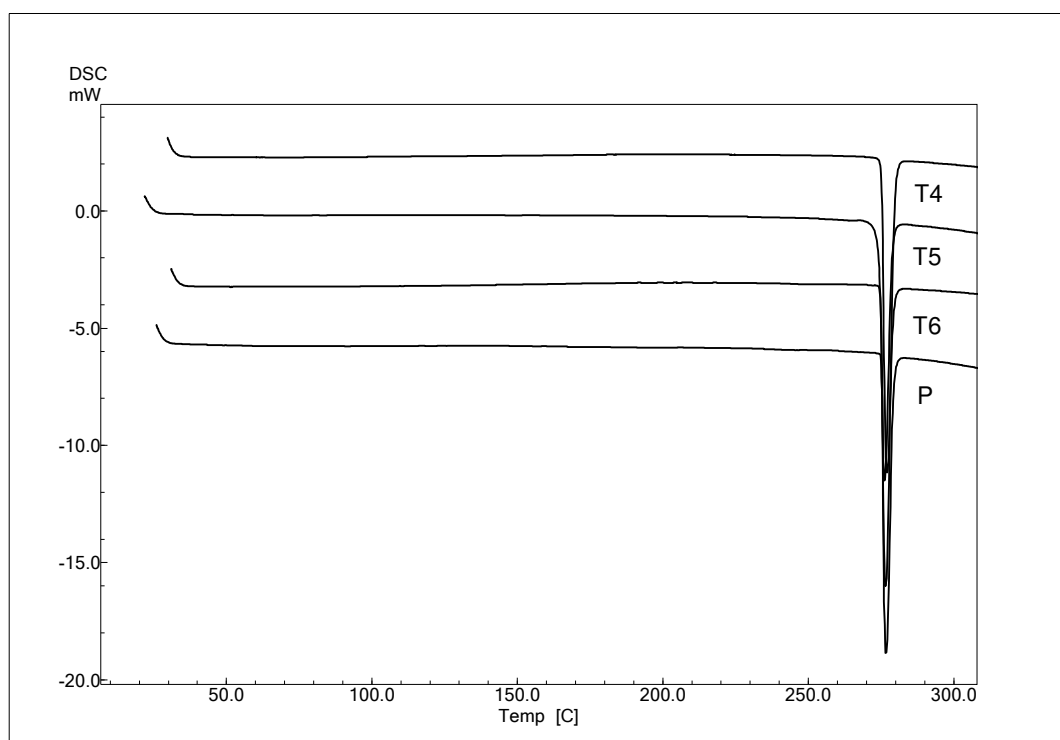


Figura 34. Termogramas obtidos por DSC para as amostras T_4 , T_5 , T_6 e P.

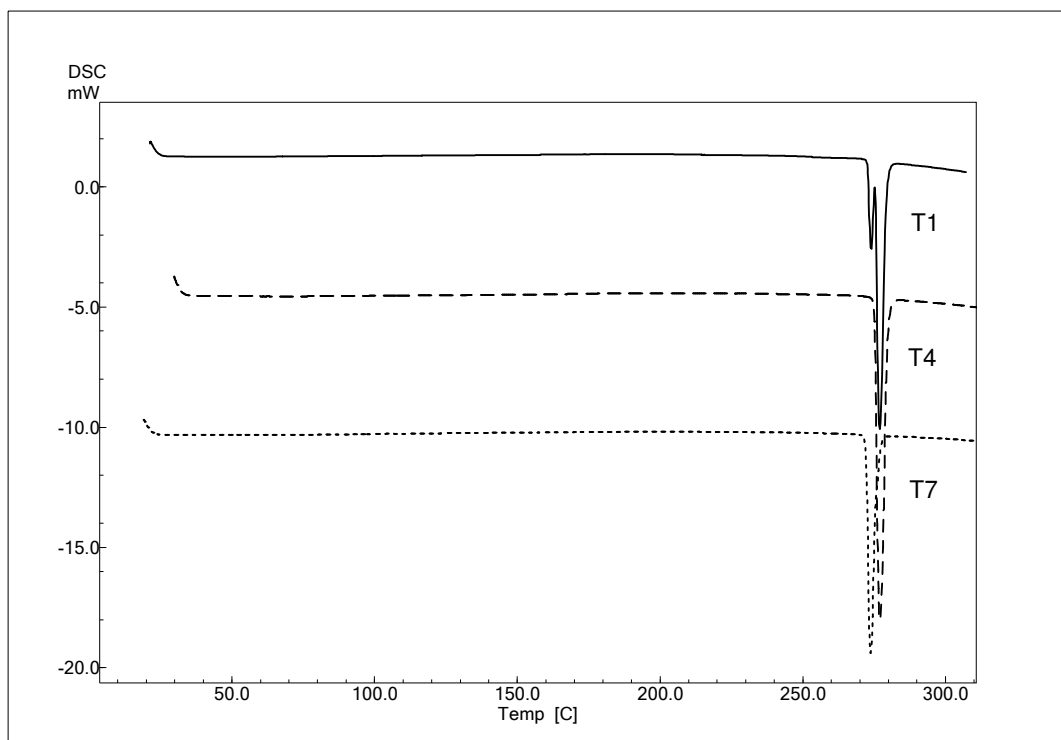


Figura 35. Termogramas obtidos por DSC para as amostras T₁, T₄ e T₇.

De acordo com resultados obtidos por FT-IR, pode-se dizer que a amostra “Talidomida Padrão USP” (P) é constituída pelo polimorfo α ²⁴, no entanto seu comportamento térmico coincide com valores obtidos para o polimorfo β (Figura 35).

Os resultados obtidos por DSC, numa visão geral, são indicativos da existência de transição sólido-sólido que ocorre entre as fases cristalinas de talidomida. Aparentemente o polimorfo α se converte em polimorfo β durante o aquecimento, próximo ao ponto de fusão de ambas as formas cristalinas (observando que os dois polimorfos fundem em temperaturas bem próximas). Esta transição de fases para polimorfos de talidomida já tinha sido sugerida por REEPMAYER e colaboradores (1994).

²⁴ Apesar da inexistência de análises por DRX para a amostra P, neste trabalho, devido à reduzida quantidade de amostra disponibilizada, pode-se denominá-la de polimorfo α de acordo com espectros em FT-IR, os quais se mostraram relativamente coerentes com as análises por DRX para o restante das amostras avaliadas.

Um comportamento térmico similar ao relatado para talidomida também é verificado para outros fármacos, como a carbamazepina, onde se observa a conversão da forma polimórfica III à forma I, durante o aquecimento (BEHME e BROOKE *et al.*, 1991; RUSTICHELLI *et al.*, 2000).

O processo de transformação de um polimorfo em outro é chamado de transição de fase, a qual pode ocorrer em uma determinada pressão pela alteração da temperatura (FORD e TIMMINS, 1989; GIRON, 2001). A transição de fases polimórficas pode ser estudada precisamente por DSC. Levando-se em consideração que as propriedades físico-químicas de uma amostra em particular podem ser modificadas completamente em consequência de uma transição de fases, seu estudo é extremamente importante. Por exemplo, pode ser desejado prevenir a transição que ocorre em um material em particular ou modificar a temperatura na qual a transição ocorre (WEST, 1984).

Embora seja indicada a ocorrência de transição polimórfica durante o aquecimento das amostras, pode-se perceber claramente que as matérias-primas classificadas como polimorfo α (total ou predominantemente) não apresentam o mesmo comportamento térmico. Para as amostras T_1 , T_2 e T_3 , fica evidente a transição de fases, mesmo não sendo visualizado um processo exotérmico logo após a fusão da fase α , que representaria o evento de recristalização para a formação do polimorfo β , a partir do α . Em algumas situações, como no caso do temazepam, a transição exotérmica não é detectada em análises por DSC, porque a entalpia envolvida no processo é muito pequena (GIRON, 2001). Análises posteriores por DRX, FT-IR e DSC indicam que o produto recristalizado após resfriamento da amostra T_1 fundida, possui características semelhantes às apresentadas pelo polimorfo β ²⁵ (Figura 36 e Anexos, Figuras A6 e A7). Na análise por DRX, o produto recristalizado apresentou padrão de difração semelhante ao obtido para o polimorfo β (amostra T_4), na maioria dos picos, especialmente os mais

²⁵ Procedeu-se a fusão de 1 grama da amostra T_1 em um forno tipo mufla, pertencente ao Laboratório de Materiais Cerâmicos (LACER), Curso de Engenharia de Materiais, desta Universidade, auxiliado pelo Bolsista de Iniciação Científica Mário Ballvé Prates. A amostra fundida e recristalizada foi analisada por DRX e FT-IR. A análise por DSC foi realizada com sistema de aquecimento e resfriamento a temperatura programada, com velocidade de aquecimento inicial de 10 °C/min, sendo que próximo ao ponto de fusão a velocidade de aquecimento foi reduzida para 5 °C/min.

característicos (em $11,74^{\circ}2\theta$ e $13,05^{\circ}2\theta$), como pode ser observado na Tabela 12 e Figura 36, indicando que o produto formado é o polimorfo β .

Tabela 12. Comparação entre valores de 2θ ($^{\circ}$) e distâncias interplanares (d) (\AA) para as amostras T_1 recrist. e T_4 , calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas obtidos neste trabalho.

T_1 recrist.*		T_4	
2θ ($^{\circ}$)	d (\AA)	2θ ($^{\circ}$)	d (\AA)
11,74	7,53	11,89	7,44
13,05	6,78	13,00	6,80
13,75	6,43	13,80	6,41
17,12	5,17	17,13	5,17
19,14	4,63	19,32	4,59
29,36	3,03	29,42	3,03

*Onde T_1 recrist. simboliza a amostra T_1 após o processo de fusão e posterior recristalização.

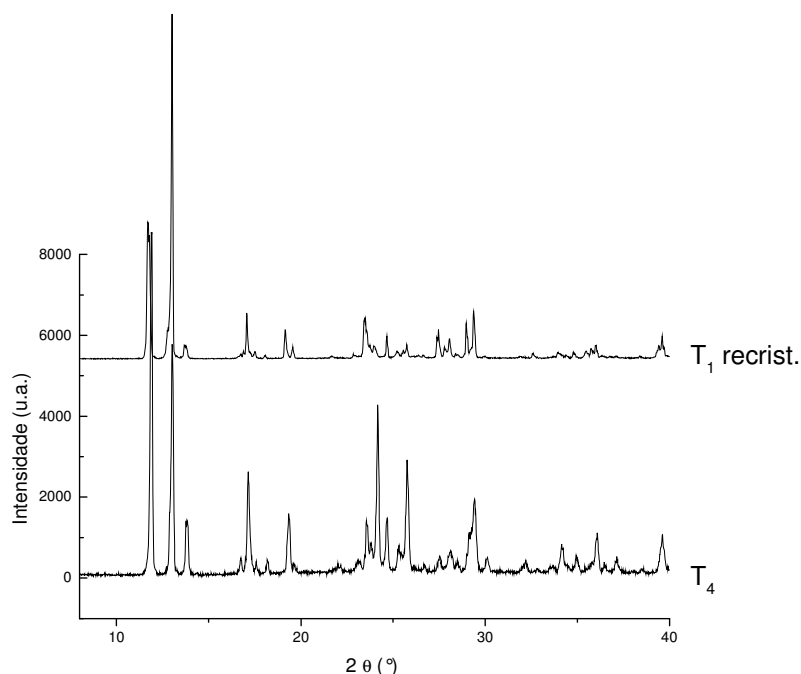


Figura 36. Comparação dos difratogramas das amostras T_4 (polimorfo β) e T_1 recrist. A amostra T_1 foi aquecida até a fusão, resfriada a temperatura ambiente para recristalização completa, sendo posteriormente submetida à análise por DRX.

No entanto, as amostras T_5 , T_6 e T_7 apresentam um comportamento termoanalítico diferenciado em relação às três primeiras amostras. Mesmo sendo matérias-primas compostas por misturas de fase α e amorfa, T_6 e T_7 exibem curvas de aquecimento com eventos endotérmicos distintos entre si, fundindo nas temperaturas de 275 °C e 272 °C, respectivamente. A amostra T_5 , também constituída por uma mistura, mas nesse caso de fases α e β , funde em 275 °C, observando-se também, que a amostra P funde neste valor de T_{onset} , aparentemente composta unicamente por fase α . Desta forma, os resultados obtidos para essas amostras são indicativos da ocorrência de alteração na cinética de transição de fase, ocorrendo uma transição sólido-sólido mais rápida para T_5 , T_6 e P, evitando-se o evento térmico de fusão da forma α , e aparentemente impedimento da transição de fase α para β , em T_7 ²⁶.

A inexistência de um evento térmico aparente nos termogramas obtidos que indique a transição de fase, pode ser devido ao fato de que os polimorfos apresentam pontos de fusão próximos, pois quando estes valores estão próximos (2 – 3 °C) um do outro ou quando a energia de transição é muito pequena, análises por DSC geralmente não indicam informações a respeito da temperatura de transição entre as duas fases cristalinas (GIRON, 1995).

A temperatura de transição de fases depende de efeitos cinéticos. Estes efeitos cinéticos são influenciados por vários parâmetros, como tamanho de partícula e estado de ativação do material, velocidade de aquecimento durante o experimento termoanalítico, presença de impurezas e forma cristalina da matéria-prima analisada. Estes são os principais fatores que afetam a cinética de transição de fase (GIRON, 1995; HENCK *et al.*, 2000).

Através de uma análise comparativa entre as diversas matérias-primas avaliadas, algumas evidências indicam que a cinética de transição sólido-sólido para o fármaco talidomida seja guiada em função da morfologia externa dos cristais e pelo tamanho de partícula das diferentes amostras. Percebe-se claramente que para as quatro amostras (T_1 , T_2 , T_3 e T_7), as quais possuem o mesmo hábito cristalino, caracterizadas por apresentarem cristais grandes, bem estruturados e com poucas

²⁶ Deve-se observar que não houve alteração nos valores de T_{onset} e ΔH das amostras analisadas com a diminuição na velocidade de aquecimento (1 °C/min e 5° C/min).

imperfeições superficiais, ocorre um retardamento no processo de transição para a forma β , até mesmo a impedindo, como no caso da amostra T₇. Esta hipótese é confirmada através de termogramas obtidos a partir das amostras T₁ e T₇ submetidas à trituração, as quais passam a exibir um comportamento térmico diferente do apresentado para as amostras intactas, caracterizado por somente uma endoterma de fusão próxima a 275 °C, com entalpia próxima a 150 J/g²⁷ (Anexos, Figuras A8 e A9).

A trituração das amostras T₁, T₂, T₃ e T₇ as tornam semelhantes a T₅ e T₆, que possuem tamanho de partícula inferior às demais, fundindo a uma temperatura próxima a 275 °C, aparentemente transformadas em polimorfo β . Pode-se avaliar através da análise por MEV que T₅ e T₆, além de possuírem cristais pequenos, apresentam imperfeições superficiais. Não foi possível realizar uma caracterização adequada para a amostra P para avaliar morfologia e tamanho de partícula do material por ser economicamente inviável. No entanto, através de uma avaliação visual grosseira, percebe-se que P possui cristais pequenos, com tendência à aglomeração.

Imperfeições cristalinas levam a um aumento na entropia do estado cristalino, criando regiões com forças intermoleculares não balanceadas, aumentando a energia interna e entalpia dos cristais e, conseqüentemente, a reatividade química. A energia interna de cristais freqüentemente é dependente do tamanho de partícula de um material em particular, sendo que a energia livre superficial das partículas tende a aumentar com o decréscimo no tamanho de partícula (CHOW *et al.*, 1984). Supõe-se que com aumento na reatividade química de um determinado composto, haveria um aumento conseqüente na velocidade de transição de uma fase polimórfica a outra, como ocorre no caso da talidomida.

A literatura descreve vários exemplos de fármacos que sofrem transição polimórfica determinada pelo tamanho de partícula destas substâncias. Análises por DSC para o fármaco dicloridrato de tedisamil demonstraram que a forma polimórfica II sofre uma transição à forma I dependendo do tamanho de partícula do material, sendo a forma II sensível a estresse térmico e mecânico, o que leva a uma alteração

²⁷ As amostras foram trituradas em gral de porcelana por um período de aproximadamente 5 minutos, através de movimentos circulares.

energética e aumento no estado de ativação deste polimorfo, resultando em uma transição de fase (HENCK *et al.*, 2000). Outro estudo também avaliou o evento de transição de fase das formas polimórficas 1 e 2 de pivalato de piroxicam por DSC, onde se concluiu que a transição da forma cristalina 1 para a 2 foi induzida pelo processo de trituração da primeira (GIORDANO *et al.*, 1998).

Outro trabalho interessante foi desenvolvido por MIYAMAE e colaboradores (1994), onde foi estudada a transição sólido-sólido através de resultados obtidos a partir de curvas de aquecimento por DSC. A forma polimórfica A de um novo agente uricosúrico denominado de FR76505 exibia em seus termogramas eventos endo e exotérmicos de transição de fase A para fase B. O que se percebeu neste trabalho foi que com o aumento do tempo de trituração das amostras havia diminuição no tamanho e largura destes picos, os mesmos desaparecendo completamente após a submissão da amostra à uma hora de trituração. Como conseqüência, concluiu-se que os efeitos químico-mecânicos da trituração, associados ao incremento de temperatura, fizeram com que a forma A se modificasse à forma B mais facilmente.

A partir dos resultados obtidos por DSC, buscou-se uma técnica complementar para auxiliar a elucidação dos aspectos apontados por meio da análise térmica. O método selecionado foi a difração de raios X em pós com variação na temperatura (DRX-VT).

A DRX-VT é um método que permite avaliação do comportamento cristalográfico de uma determinada substância em função da alteração na temperatura. Este método gera informações a respeito de possíveis fases cristalinas de um composto formadas a diferentes temperaturas. Sendo assim, DRX-VT se mostra uma técnica complementar ideal para correta interpretação de eventos térmicos obtidos por DSC, bem como por outras técnicas termoanalíticas. As alterações na estrutura de um composto durante o aquecimento que não são detectadas por DSC, podem ser claramente demonstradas por DRX-VT (GIRON, 1995). Vários tipos de transição de fase, tais como transformação polimórfica, desidratação ou dessolvatação de um composto, bem como formação de fase amorfa ou recristalização, podem ser caracterizadas por DRX-VT (RASTOGI *et al.*, 2001).

Em alguns processos tecnológicos como granulação e secagem causam alteração na temperatura visando obter produtos intermediários para a produção de medicamentos. Para fármacos que apresentam polimorfismo, torna-se importante monitorar a constância da forma cristalina durante etapas produtivas como as citadas, sendo que esta verificação pode ser realizada de modo preciso através da técnica de DRX-VT (KARJALAINEN *et al.*, 2005).

Desta forma, diante dos indícios referentes à transição de fase para a talidomida, detectados através das análises por DSC, submeteram-se algumas amostras à análise por DRX-VT. As amostras T₁ e T₅ foram escolhidas para os testes por estarem disponíveis em maior quantidade e por apresentarem comportamentos térmicos distintos entre si. As temperaturas utilizadas para as análises foram selecionadas a partir dos resultados obtidos por DSC, observando-se as temperaturas em que ocorreram os eventos térmicos. Portanto, temperaturas relativamente próximas ao ponto de fusão dos polimorfos foram escolhidas para as análises. As análises por DRX-VT para as amostras citadas podem ser observadas nas Figuras 37 e 38.

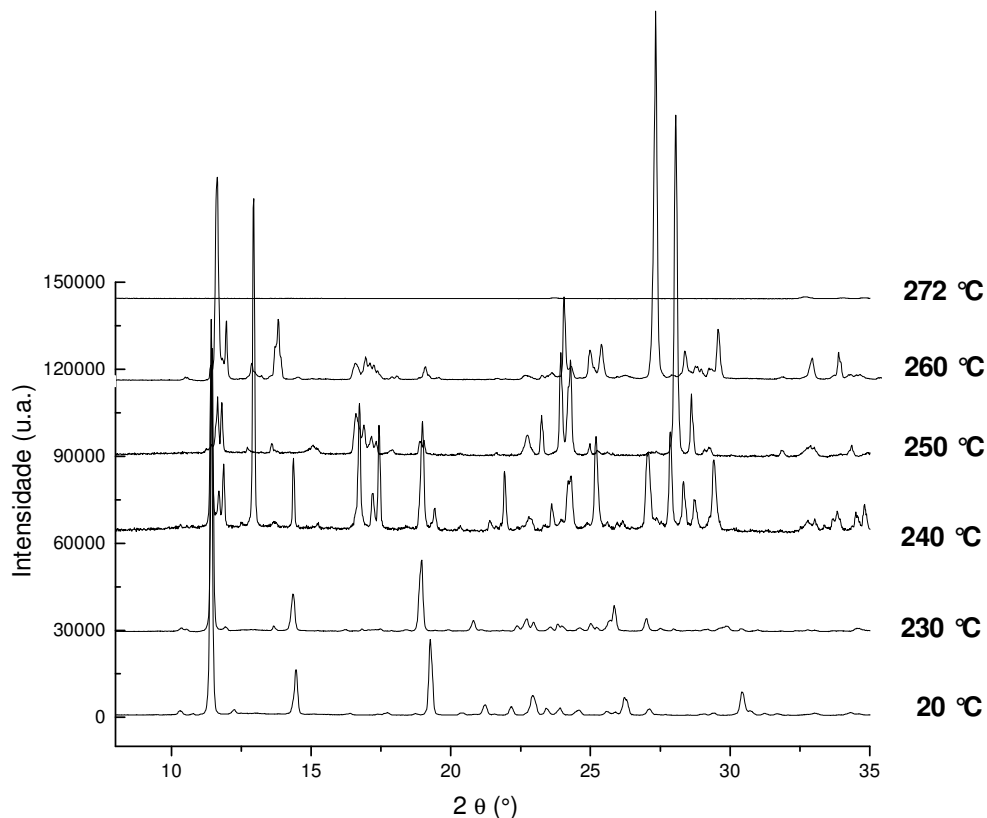


Figura 37. Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T₁.

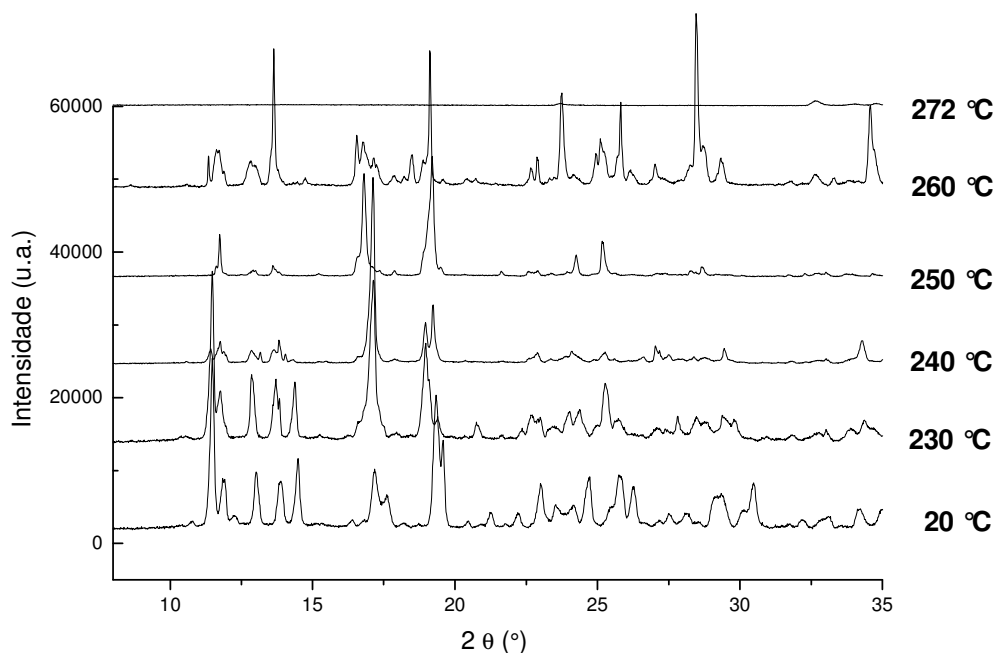


Figura 38. Difratogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T₅.

Comparando os difratogramas apresentados para as amostras T₁ e T₅, obtidos através da técnica de DRX-VT, percebe-se que até a temperatura de 230 °C, não houve alteração no padrão de difração das amostras, embora alguns picos estivessem levemente deslocados para a esquerda. No entanto, a partir de 240 °C o comportamento cristalográfico das amostras mostrou-se surpreendentemente diferente do esperado. Para ambas as amostras, nota-se uma alteração no padrão de difração original (obtido à temperatura ambiente), ocorrendo a uma temperatura inferior àquela suposta anteriormente através das análises de DSC (próxima à faixa de fusão para ambos polimorfos). Ao avaliar os resultados obtidos por DSC, observa-se que não fica demonstrado nenhum evento térmico em torno da temperatura acima citada (240 °C), presumindo-se a ocorrência de transição polimórfica em valores muito próximos ao ponto de fusão destas fases cristalinas.

Em outro trabalho, GROOFF e colaboradores (2007) avaliaram eventos de cristalização e transição polimórfica para o fármaco nifedipina, através de DSC e DRX-VT. Durante as análises, detectou-se que o fármaco amorfo cristalizava em temperatura próxima a 70 °C, formando a fase A. Em análises por DRX-VT percebeu-se que, logo após a cristalização do material amorfo à temperatura de 80

°C, houve o aparecimento de um padrão de difração não conhecido, denominado por eles de uma “fase intermediária”, posteriormente de forma metaestável B. Esta fase metaestável não havia sido detectada por DSC, sendo que o resultado dessas análises não apresentava nenhum indício de um novo evento térmico à essa temperatura. Os autores atribuíram a formação de uma nova fase para o fármaco, detectada por DRX-VT, ao fato do material permanecer sob ação de calor por um longo período de tempo (em torno de 25 minutos), para cada temperatura, o que facilitaria a transição de fases.

Em um estudo realizado por HORVAT e colaboradores (2005), onde se utilizou o fármaco paracetamol como agente indutor de recristalização de trealose amorfa, verificaram-se, através de análises por DRX-VT, resultados que demonstravam redução na temperatura de cristalização em torno de 10 K, quando comparados a resultados obtidos por DSC. Os autores justificam a diferença entre os resultados devido à natureza quase isotérmica dos processos analíticos por DRX-VT.

Portanto, a aparente transição precoce do fármaco talidomida, detectada por DRX-VT, talvez possa estar relacionada ao fato de que a amostra permanece por um longo período de tempo em contato com altas temperaturas²⁸, o que poderia auxiliar um processo de transição de fases.

Aparentemente, ocorre o surgimento de fases metaestáveis durante o aquecimento do fármaco talidomida em temperaturas superiores a 240 °C. No entanto, nota-se claramente que os padrões de difração intermediários (240 e 250°C) para T₁ e T₅ não são similares, pois T₁ é composta pela fase α e cristais grandes e T₅, fase α contaminada com fase β , apresentando cristais pequenos. Estes fatores poderiam ocasionar velocidade de transição diferenciada para ambas as amostras, além de produtos intermediários também diferenciados.

Observando-se com maior detalhe a Figura 37, percebe-se que para a amostra T₁ aquecida a 240 °C, o padrão de difração gerado apresenta grande quantidade de picos. Dentre eles, notam-se picos característicos do polimorfo α

²⁸ Observa-se que o tempo necessário para realizar as análises por DRX-VT para as amostras de talidomida foi torno de 50 minutos, para cada temperatura avaliada.

(constantes no difratograma do produto obtido a temperatura ambiente), como $11,47^{\circ}2\theta$ e $14,37^{\circ}2\theta$, com intensidades menores que a inicial, desaparecendo por completo em temperaturas superiores. Também pode ser verificado o surgimento de alguns picos que podem estar relacionados ao polimorfo β , como $11,89^{\circ}2\theta$ e o intenso pico em $12,99^{\circ}2\theta$, além do pico a $19,00^{\circ}2\theta$, o qual está presente tanto no padrão de difração da fase α como na de β . Além dos picos citados, surge uma infinidade de novos picos, não relacionados a nenhum dos polimorfos até então conhecidos, os quais poderão ser caracterizados com maior detalhamento em estudos posteriores. Na fase intermediária formada em 250°C , percebe-se a diminuição de intensidade ou desaparecimento da maioria dos picos apresentados em 240°C , permanecendo alguns, possivelmente deslocados, como em $11,61^{\circ}2\theta$, que assumem um formato mais definido em 260°C . Curiosamente, surge um pico muito intenso em $28,03^{\circ}2\theta$, que desaparece completamente a 260°C .

Ao avaliar os difratogramas obtidos para T_5 por DRX-VT, percebe-se que o difratograma da amostra à temperatura ambiente apresenta intensidades diferentes das apresentadas para a mesma matéria-prima em estudos anteriores realizados neste trabalho, embora não haja alteração significativa nos valores de 2θ , portanto, não interferindo nos resultados demonstrados. Novamente, como na amostra anterior, a alteração no padrão de difração inicial começa na temperatura de 240°C , embora seja gerado um difratograma com poucos picos, ao contrário de T_1 . Nota-se que neste valor de temperatura o pico $11,47^{\circ}2\theta$, característico de polimorfo α , desaparece quase que totalmente, permanecendo desta forma até a temperatura de 260°C . Picos pequenos possivelmente relacionados ao polimorfo β , como $11,61^{\circ}2\theta$, $12,99^{\circ}2\theta$ e $13,73^{\circ}2\theta$, evidentes até mesmo no difratograma da amostra à temperatura ambiente, por ser uma amostra constituída por uma mistura de fases, reduzem consideravelmente seus valores de intensidade relativa em 240 e 250°C , diferentemente de $17,08^{\circ}2\theta$, que mantém uma intensidade superior aos demais, embora levemente deslocado para a esquerda, em 250°C . O pico em $19,18^{\circ}2\theta$ começa a se definir em 240°C , tornando-se mais intenso em 250°C .

Na Figura 39 são comparados os difratogramas de T_1 e T_5 com T_4 (polimorfo β), os primeiros aquecidos a $260\text{ }^\circ\text{C}$ ²⁹. Observando-se a Tabela 13, pode-se avaliar as semelhanças e diferenças existentes nos difratogramas anteriormente referidos.

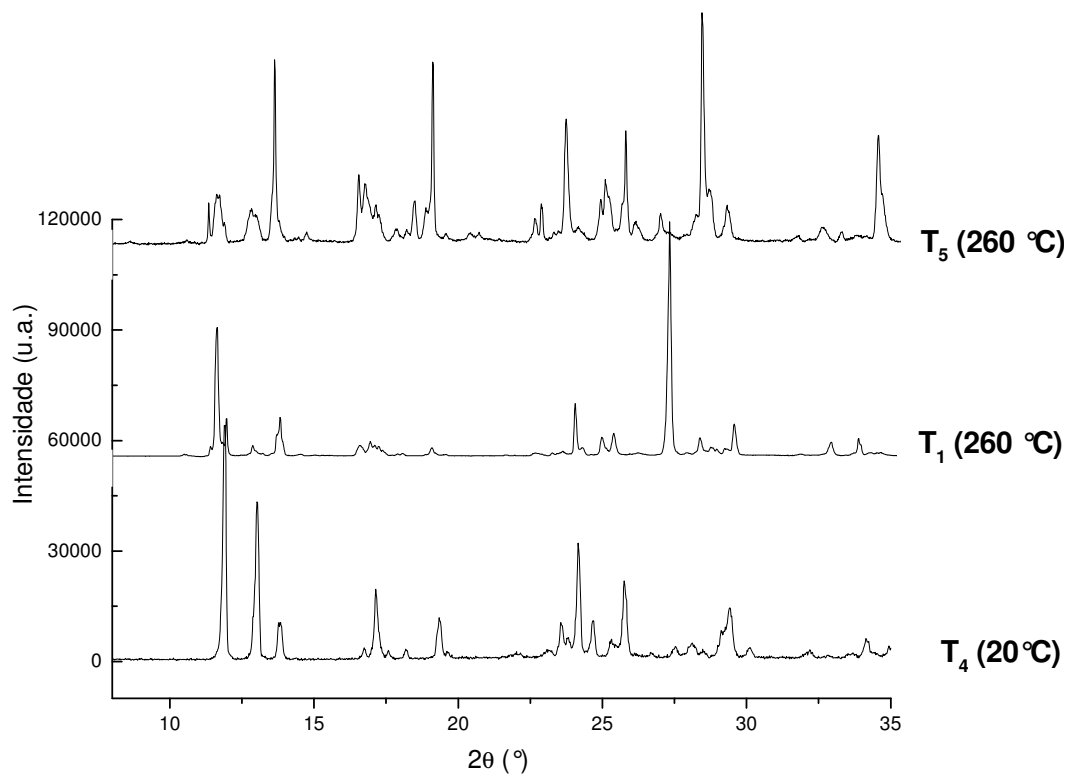


Figura 39. Comparação entre difratogramas das amostras T_4 (temperatura ambiente), T_1 e T_5 (aquecidas a $260\text{ }^\circ\text{C}$), sendo as duas últimas submetidas à análise por DRX-VT.

²⁹ Nas Figuras A10 e A11 dos anexos são apresentados todos os difratogramas obtidos para as amostras aquecidas, comparados ao difratograma de T_4 .

Tabela 13. Comparação entre valores de 2θ ($^\circ$) e distâncias interplanares (d) (\AA) para as amostras T_1 e T_5 após serem aquecidas a temperatura de $260\text{ }^\circ\text{C}$, calculados a partir de picos característicos obtidos através de análises por DRX-VT.

T_1 ($260\text{ }^\circ\text{C}$)		T_5 ($260\text{ }^\circ\text{C}$)	
2θ ($^\circ$)	d (\AA)	2θ ($^\circ$)	d (\AA)
11,61	7,62	11,61	7,62
12,85	6,88	12,85	6,88
13,68	6,46	13,63	6,49
16,98	5,21	16,97	5,22
19,09	4,64	19,00	4,66
-	-	22,70*	3,94*
24,04	3,69	23,76*	3,74*
-	-	25,09*	3,54*
25,46	3,49	25,73	3,46
27,29**	3,26**	28,53**	3,12**
29,45	3,03	29,35	3,04

* Picos extras não relacionados ao polimorfo β ; ** Picos extras não relacionados ao polimorfo β , os quais apresentam valores de intensidade relativa superior aos demais picos.

Analisando-se os resultados obtidos para T_1 e T_5 submetidos à temperatura de $260\text{ }^\circ\text{C}$ constata-se que os mesmos apresentam vários picos em comum, característicos para o polimorfo β (exceto os assinalados), apesar de estarem levemente deslocados para a esquerda (Tabela 13). Este deslocamento dos picos em relação aos seus valores de 2θ pode ser justificado pelo movimento térmico dos átomos a altas temperaturas (WEST, 1984). Aparentemente, os difratogramas mostram formas intermediárias iniciando o processo de transição para a fase β , concluído a partir da posição e formato dos picos característicos para este polimorfo. Infelizmente, as amostras iniciaram o processo de fusão à temperatura próxima a

270 °C, fundindo completamente em 272 °C, impedindo uma avaliação da estrutura cristalina das amostras em temperaturas muito próximas da fusão.

Em recente trabalho desenvolvido por LARA-OCHOA e colaboradores (2007), os autores verificam a formação de um novo polimorfo para talidomida (β^*), obtido em condições particulares de aquecimento dos polimorfos α e β . A investigação identifica o novo polimorfo através de técnicas espectroscópicas e sugere que esta nova conformação cristalina seja mais instável que a apresentada para o polimorfo β , sugerindo que a fase β^* seja intermediária à formação da fase β , sob altas temperaturas. Possivelmente algumas das fases metaestáveis observadas nas Figuras 37 e 38 possam representar o polimorfo β^* , no entanto, são necessários estudos complementares para que se possa afirmar esta suposição.

Desta forma, as conclusões mais interessantes obtidas através das análises por DRX-VT para as amostras de talidomida testadas, foi a indicação da existência de formas metaestáveis formadas a altas temperatura, as quais provavelmente são fases intermediárias à formação do polimorfo β a partir do α , durante o aquecimento. Os resultados obtidos, devido ao seu caráter preliminar, podem servir como base para o encaminhamento de estudos futuros a respeito da estabilidade dos polimorfos de talidomida.

5.5 Determinação da Velocidade de Dissolução Intrínseca em Disco para as Matérias-Primas de Talidomida

O processo de dissolução de formas farmacêuticas sólidas orais é uma das etapas que precedem à absorção de um medicamento, e, conseqüentemente, qualquer modificação neste mecanismo poderá influenciar a disponibilidade do fármaco em sítios de absorção. Desta forma, torna-se essencial investigar o comportamento de um fármaco em relação à sua dissolução, especialmente para aqueles que apresentam reduzida solubilidade em água. O conhecimento de velocidades de dissolução comparativas entre diferentes formas físicas e químicas

de um fármaco mostra-se importante para a avaliação e seleção do composto mais adequado para o futuro desenvolvimento de um medicamento (WADKE *et al.*, 1990).

De acordo com informações relatadas anteriormente, sabe-se que o fármaco talidomida apresenta escassa solubilidade aquosa a 25 °C (50 µg/mL) quando na forma de racemato (HAGUE e SMITH, 1988; KRENN *et al.*, 1992; GOOSEN *et al.*, 2002). GOOSEN e colaboradores (2002) acreditam que esta reduzida solubilidade em água seja devido ao alto grau de cristalinidade apresentado pelas amostras analisadas por eles.

Outra informação importante relacionada ao fármaco é a existência de polimorfismo cristalino relatado pela literatura (ALLEN e TROTTER, 1970; ALLEN e TROTTER, 1971; CAIRA *et al.*, 1994; REEPMeyer *et al.*, 1994) e comprovado através deste trabalho, onde foram encontradas nas amostras analisadas as duas fases cristalinas α e β , citadas por estudos anteriores, e a detecção de uma fase amorfa, presente em matérias-primas semicristalinas.

Na literatura é encontrada grande quantidade de trabalhos e publicações envolvendo estudos relacionados à caracterização e avaliação físico-química de fármacos que apresentam polimorfismo, sendo considerado um tema de extrema importância em estudos de pré-formulação (CHANG *et al.*, 1995; MARTÍNEZ-OHÁRRIZ *et al.*, 1994; PHADNIS e SURYANARAYANAN, 1997; KIMURA *et al.*, 1999; KUSHIDA e ASHIZAWA, 2002; REUTZEL-EDENS *et al.*, 2003). Desta forma, o polimorfismo em fármacos tem recebido atenção especial tanto no meio acadêmico quanto no ambiente industrial, pois pode influenciar a estabilidade física e química de um determinado composto, processabilidade durante a formulação, propriedades de dissolução e em última instância a biodisponibilidade do medicamento (CHAN e GRANT, 1989; SINGHAL e CURATOLO, 2004).

A baixa solubilidade do fármaco talidomida adicionada à existência de polimorfismo, sugere investigação mais detalhada a respeito de algumas propriedades físico-químicas do composto, tais como determinação da velocidade de dissolução, avaliando-se a relação entre diferentes formas físicas para o fármaco e o comportamento respectivo frente à dissolução.

A velocidade de dissolução intrínseca (IDR) é um parâmetro útil quando se deseja determinar a funcionalidade de fármacos puros, caracterizando-os através de metodologia que permite avaliar suas propriedades físico-químicas sem a interferência de excipientes de formulação. Portanto, este parâmetro torna-se dependente de propriedades vinculadas ao estado sólido de uma substância, tais como polimorfismo, amorfismo, cristalinidade, grau de hidratação ou solvatação, tamanho e área superficial de partícula (USP 29, 2006).

A IDR é uma determinação importante em etapas iniciais de desenvolvimento de um fármaco, sendo um indicador precoce da biodisponibilidade do mesmo, bem como das possíveis limitações que podem surgir durante a formulação do produto (SHAH *et al.*, 2006). Além disso, esta medida apresenta maior correlação com processos de dissolução do fármaco *in vivo* por ser um fenômeno dinâmico, gerando informações mais pertinentes quando comparadas a parâmetros como solubilidade intrínseca, considerada um fenômeno de equilíbrio (YU *et al.*, 2004).

Sendo assim, selecionou-se o método que propicia a determinação da IDR para caracterização do perfil de dissolução das amostras de talidomida por ser o mais pertinente e adequado para o tipo de estudo desenvolvido.

A massa compactada de fármaco aderida à matriz do dispositivo para dissolução intrínseca foi produzida de acordo com especificações descritas em 4.2.5. No entanto, a seleção da força ideal empregada para a produção dos compactos exigiu diversas tentativas até ser obtido um compacto não desintegrante ao entrar em contato com o meio de dissolução. Foi utilizada a mesma pressão para a compactação de todas as amostras, pois a IDR tende a diminuir com o aumento da pressão (CHAN e GRANT, 1989).

Deve-se ressaltar que o procedimento de compactação das amostras, aparentemente simples, tornou-se bastante complicado principalmente devido à dificuldade de compactação da matéria-prima T₄ (polimorfo β). Uma característica marcante observada para a amostra foi a tendência à laminação dos compactos e a presença de fissuras superficiais, como pode ser visualizado na Figura 40. Os compactos-teste obtidos para a amostra T₄, por várias vezes, fragmentaram rapidamente quando em contato com o meio de dissolução, antes mesmo da

primeira coleta. Após várias tentativas, foi estabelecida a força que deveria ser utilizada para a compactação das amostras, inclusive T₄, embora se percebesse a pobre compactabilidade da mesma. Através da obtenção de quantidade maior deste polimorfo, suas propriedades físico-mecânicas poderão ser convenientemente investigadas no futuro.

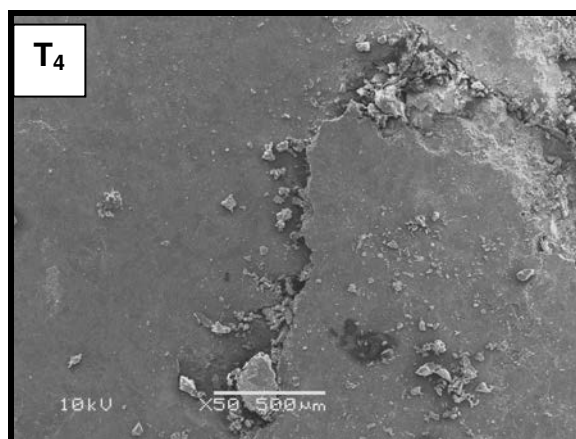


Figura 40. Fotomicrografia da superfície do compacto da amostra T₄, produzido inicialmente para o ensaio de dissolução intrínseca em disco, falhando em seu objetivo por apresentar laminação em sua superfície.

Por meio de análises por DRX e FT-IR constatou-se a inexistência de transição polimórfica durante a compactação das amostras³⁰. A uniformidade superficial dos compactos pode ser visualizada na Figura 41.

³⁰ Estas análises poderão ser visualizadas na próxima seção deste trabalho, onde foi realizado estudo tratando especificamente da influência da compactação em relação às estruturas cristalinas de talidomida. Deve-se observar que a pressão utilizada para aqueles ensaios foi maior do que a empregada nas análises de IDR, comprovando a inexistência de transformação polimórfica.

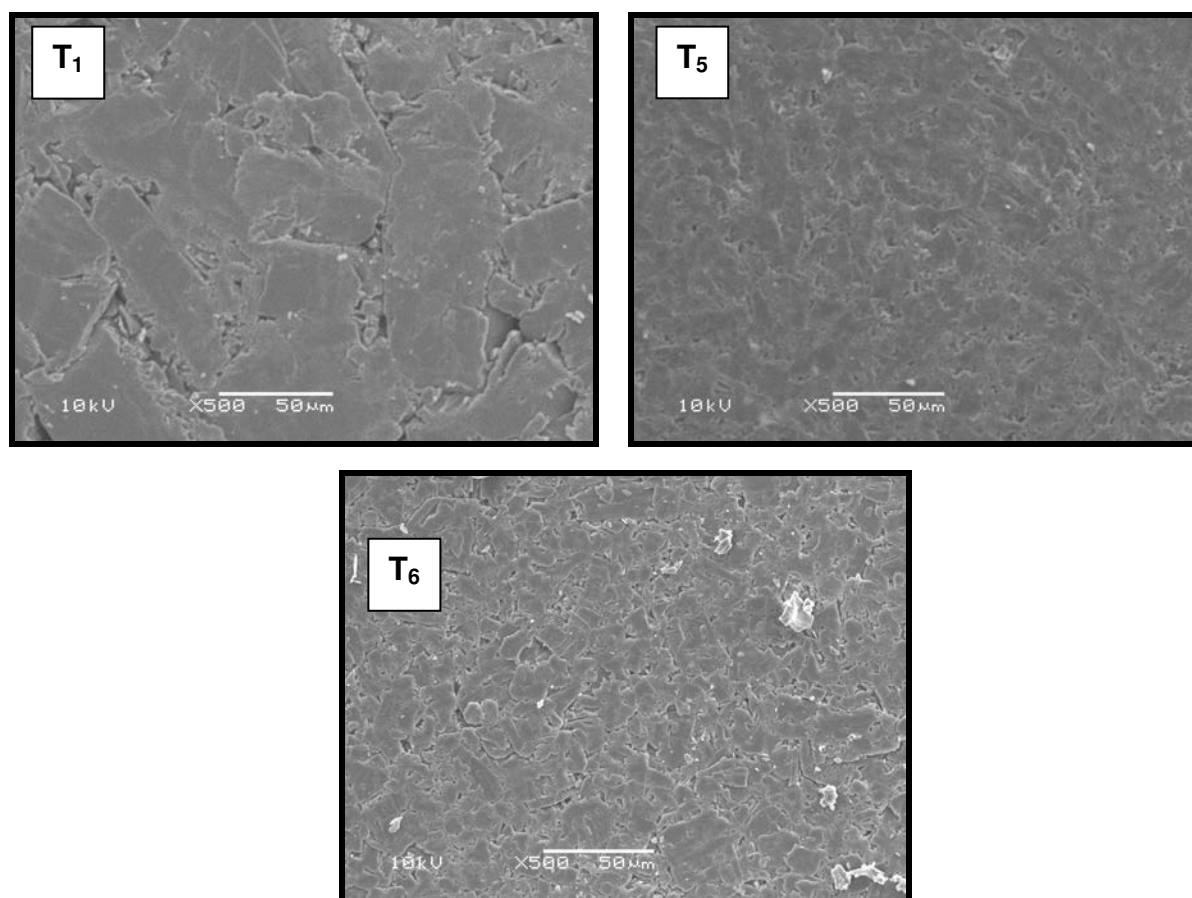


Figura 41. Fotomicrografias da superfície de compactos obtidos para as amostras T₁, T₅ e T₆, produzidos para o ensaio de dissolução intrínseca em disco.

Desta forma, procedeu-se ao ensaio para avaliar a IDR de amostras de talidomida pré-selecionadas. As matérias-primas escolhidas para o teste foram T₁, T₄, T₅ e T₆, utilizando-se os seguintes critérios para a seleção:

- T₁ – (polimorfo α) – Esta amostra apresenta-se muito semelhante a T₂ e T₃, concluído através dos estudos realizados a partir das caracterizações tecnológica, cristalográfica, morfológica, espectrofotométrica e térmica destas amostras. Aliado a isso, T₁ foi fornecida em maior quantidade para a realização do trabalho, portanto a escolhida para a realização dos experimentos.

- T₄ – (polimorfo β) – Apresenta-se como amostra representante do polimorfo β , de acordo com a caracterização efetuada ao longo do trabalho. Deve-se atentar para o fato de que esta matéria-prima possui uma fração amorfa, embora presente em pequena proporção.
- T₅ – (polimorfo α e β) - Matéria-prima constituída por uma mistura de fases (α e β), com predomínio da primeira, sendo a única da relação de amostras analisadas com este perfil.
- T₆ – (polimorfo α) - Amostra constituída majoritariamente pelo polimorfo α , contendo fração de material amorfo. Esta amostra foi selecionada por estar disponível em quantidade superior a T₇, amostra constituída de fases cristalina e amorfa similar a T₆.

Os resultados obtidos através da análise da IDR podem ser visualizados na forma gráfica e numérica, de acordo com a Figura 42 e Tabela 14.

No gráfico e tabela referidos, observa-se que foi utilizado tempo total de análise relativamente grande. Embora seja considerado tempo consideravelmente maior do que o indicado para ensaios de dissolução convencionais, para este método geralmente são aplicados período de análise e intervalo de coletas maiores, principalmente para fármacos pouco solúveis em água como a talidomida (CANTERA *et al.*, 2002; YU *et al.*, 2004; SHAH *et al.*, 2006). SHAH e colaboradores (2006) indicam que, para alguns fármacos, o tempo total de experimento pode chegar a até 72 horas. Geralmente adota-se este procedimento para se ter resultados mais confiáveis e quantidades detectáveis de amostra quantificável por métodos convencionais, como CLAE com detector de UV, que foi utilizado neste trabalho.

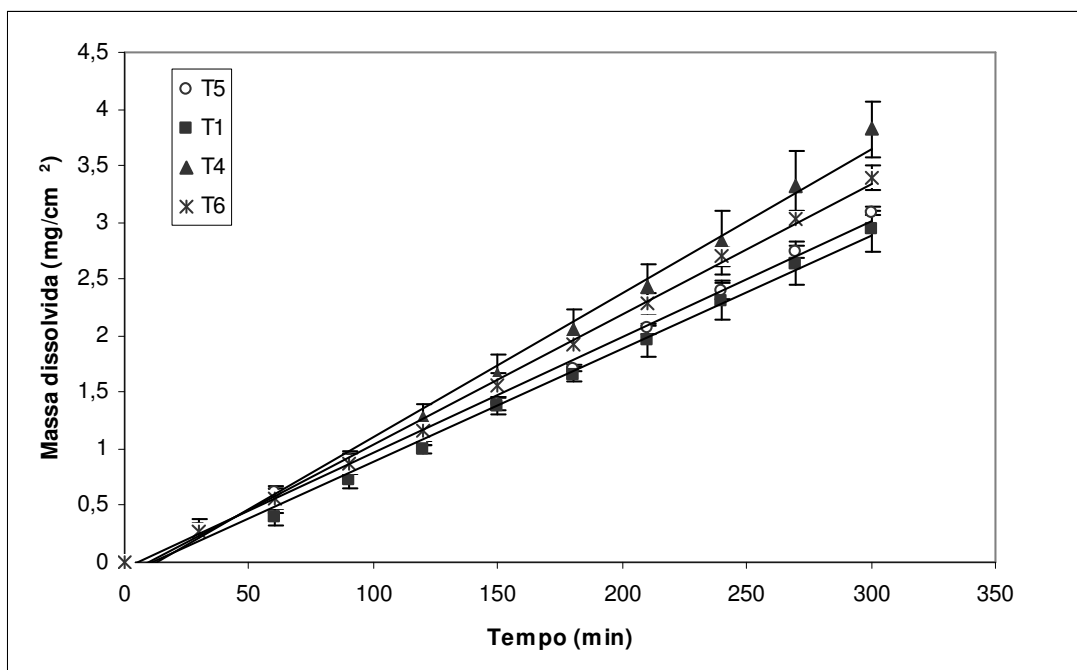


Figura 42. Gráfico comparativo entre perfis de dissolução intrínseca das amostras T₁, T₄, T₅ e T₆. O gráfico apresenta linhas obtidas através de regressão linear dos pontos que expressam a quantidade média cumulativa dissolvida para cada amostra (n = 3).

Artigos atuais contendo estudos referentes à IDR apresentando um número de replicatas igual a três são encontrados na literatura (AGRAWAL *et al.*, 2004; PANCHAGNULA *et al.*, 2004; YU *et al.*, 2004). Geralmente isso ocorre por estar disponível reduzida quantidade de amostra para os experimentos, como ocorre neste trabalho, sendo necessária quantidade mínima de 100 mg de amostra para que se possa efetuar as análises sem que haja desintegração do compacto durante o ensaio.

De acordo com YU e colaboradores (2004), os experimentos apresentam excelente reprodutibilidade quando são obtidos desvios padrão relativos (DPR%) inferiores a 10 %. Como pode ser visualizado através da Tabela 14, a maioria dos pontos de amostragem quantificados para o ensaio de dissolução intrínseca neste trabalho, apresentam o DPR% inferior a 10 %, excetuando-se alguns pontos iniciais (4) que podem ser considerados de pouca relevância frente à totalidade.

Tabela 14. Tabela comparativa fornecendo valores de massa média dissolvida para cada amostra pela sua área exposta (mg/cm^2), a cada tempo de amostragem ($n = 3$), obtidos através do ensaio de dissolução intrínseca para T₁, T₄, T₅ e T₆.

Tempo (min)	Massa dissolvida (mg/cm^2)			
	T ₁	T ₄	T ₅	T ₆
	$\bar{x} \pm s$ (DPR%)	$\bar{x} \pm s$ (DPR%)	$\bar{x} \pm s$ (DPR%)	$\bar{x} \pm s$ (DPR%)
30	0,29 ± 0,08 (27,24)	0,27 ± 0,04 (16,71)	0,29 ± 0,01 (5,20)	0,27 ± 0,01 (7,22)
60	0,39 ± 0,06 (16,78)	0,53 ± 0,04 (8,00)	0,61 ± 0,04 (6,55)	0,55 ± 0,11 (21,42)
90	0,73 ± 0,07 (9,58)	0,92 ± 0,05 (5,53)	0,82 ± 0,05 (6,23)	0,87 ± 0,08 (9,47)
120	0,99 ± 0,03 (2,89)	1,26 ± 0,12 (9,89)	1,05 ± 0,01 (1,64)	1,15 ± 0,04 (4,18)
150	1,38 ± 0,08 (6,14)	1,65 ± 0,17 (10,53)	1,39 ± 0,05 (3,67)	1,56 ± 0,09 (6,16)
180	1,66 ± 0,07 (4,21)	2,04 ± 0,19 (9,42)	1,71 ± 0,02 (1,54)	1,92 ± 0,05 (2,71)
210	1,95 ± 0,14 (7,28)	2,42 ± 0,21 (8,82)	2,06 ± 0,04 (1,94)	2,29 ± 0,08 (3,87)
240	2,31 ± 0,17 (7,44)	2,82 ± 0,27 (9,88)	2,39 ± 0,06 (2,78)	2,69 ± 0,08 (3,09)
270	2,64 ± 0,19 (7,25)	3,32 ± 0,30 (9,25)	2,74 ± 0,05 (2,00)	3,03 ± 0,07 (2,42)
300	2,94 ± 0,19 (6,56)	3,81 ± 0,23 (6,18)	3,09 ± 0,02 (0,64)	3,39 ± 0,10 (3,20)

Através da Tabela 15 pode-se verificar que as amostras testadas apresentam coeficiente de correlação superiores a 0,99, apresentando linearidade (YU *et al.*, 2004). A linearidade da curva de dissolução intrínseca confirma que o ensaio foi realizado em condições *sink* (CHAN e GRANT, 1989).

Tabela 15. Apresentação de valores relativos aos coeficientes de correlação (r) gerados a partir da regressão linear das curvas de dissolução intrínseca das amostras T₁, T₄, T₅ e T₆.

Matéria-prima	r
T ₁	0,9954
T ₄	0,9953
T ₅	0,9950
T ₆	0,9980

Os valores atribuídos a IDR das matérias-primas de talidomida analisadas podem ser avaliados através da Tabela 16.

Tabela 16. Comparação entre os valores médios obtidos para velocidade de dissolução intrínseca (IDR) apresentados para as amostras T₁, T₄, T₅ e T₆ (n = 3).

Matéria-prima	IDR (mg/min/cm ²) $\bar{x} \pm s$ (DPR%)
T ₁	0,0098 ± 0,0006 (6,56)
T ₄	0,0127 ± 0,0007 (6,18)
T ₅	0,0103 ± 0,00001 (0,64)
T ₆	0,0113 ± 0,0003 (3,20)

Através de um estudo desenvolvido por YU e colaboradores (2004), demonstrou-se a existência de correlação entre a classificação biofarmacêutica de solubilidade e valores de IDR para os compostos testados por aqueles autores. O trabalho indica ainda a existência de uma região limítrofe para a classificação dos valores de IDR como elevados ou reduzidos, que é a IDR de 0,1 mg/min/cm², a qual se relaciona aos valores de solubilidade atribuídos à substância analisada. Desta

forma, a IDR é um método eficaz para avaliar a solubilidade relativa de fármacos, sendo sugerido pelos autores a adoção deste parâmetro para a classificação biofarmacêutica de fármacos.

Portanto, a partir dos valores de IDR apresentados para as amostras de talidomida, percebe-se que todas elas possuem IDR inferior a 0,1 mg/min/cm², conseqüentemente apresentando reduzida IDR.

A partir da análise das IDR das amostras testadas, percebe-se que a IDR da amostra T₄ mostra-se superior às demais, sendo este resultado claramente visualizado através da comparação entre as curvas de dissolução apresentadas pela Figura 42. Basicamente, a partir desses resultados, estima-se que a IDR das amostras avaliadas apresentam a seguinte classificação decrescente em relação à velocidade de dissolução: T₄ > T₆ > T₅ > T₁.

Os resultados obtidos foram avaliados estatisticamente, utilizando-se análise de variância com fator único (ANOVA) para verificar a significância estatística da diferença entre as médias das IDR. Por meio desta análise, obteve-se a comprovação de que estas médias são significativamente diferentes ($\alpha = 0,05$; $p < 0,05$). Embora esteja comprovada a diferença entre as médias, o teste não informa quais das médias são diferentes entre si, sendo necessária a utilização de um teste adicional para essa verificação. Desta forma, selecionou-se o teste de Tukey a 5 %, possibilitando comparações múltiplas entre os dados. A partir desses resultados, verificou-se que a amostra T₄ possui valor médio de IDR significativamente maior que T₁ e T₅, sendo que esta diferença não apresentou significância estatística quando comparada a T₆. A amostra T₆ apresentou IDR estatisticamente maior somente quando comparada a T₁. As amostras T₆ *versus* T₅ e T₅ *versus* T₁ não mostraram diferença significativa entre IDR, quando comparadas.

A partir do exposto, observa-se que T₄, a amostra representante do polimorfo β , apresenta IDR superior a praticamente todas as amostras, exceto a T₆. Diante do apresentado, o fato da amostra constituída pelo polimorfo β apresentar maior IDR sugere uma maior solubilidade em água para esta fase cristalina, sob as condições hidrodinâmicas empregadas. No entanto, deve-se observar que esta amostra possui em sua constituição uma fração de material amorfo, como a amostra T₆, o que

poderia ter auxiliado a solubilização dessa matéria-prima, em meio aquoso. Cabe ressaltar que provavelmente o impacto biofarmacêutico das diferenças observadas seja pequeno, posto que todas as amostras foram classificadas como apresentando reduzida IDR.

Quanto à amostra T₆, nota-se que a mesma apresenta IDR significativamente maior somente quando comparada a T₁. De qualquer forma, T₆ mostra-se a matéria-prima com IDR mais elevada (significativamente ou não) daquelas constituídas pelo polimorfo α . Provavelmente essa IDR seja maior por T₆ ser classificado como um material semicristalino.

A presença de frações desorganizadas em um elemento sólido, como regiões amorfas, produz zonas que estão em estado energético maior que em regiões cristalinas. Estas imperfeições na rede cristalina levam ao aumento na entropia do sistema, criando regiões com forças intermoleculares não balanceadas, conseqüentemente aumentando a energia interna e a entalpia dos cristais. Isto resulta em vantajosas propriedades farmacêuticas, como aumentada velocidade de dissolução, embora gerando, em contrapartida, algumas propriedades indesejáveis, como aumento da instabilidade química e possibilidade de transição sólido-sólido, podendo levar à formação de formas cristalinas de menor estado energético durante períodos de estocagem de um medicamento (CHOW *et al.*, 1984; SALEKI-GERHARDT *et al.*, 1994; AGRAWAL *et al.*, 2004).

Aparentemente, a pequena fração de polimorfo β na amostra T₅ não foi suficiente para que a mesma apresentasse IDR significativamente maior que T₁.

Possivelmente o alto grau de cristalinidade apresentado para a amostra T₁ tenha conferido à mesma a menor IDR das matérias-primas analisadas, pois é constituída unicamente pelo polimorfo α . Ao relembrar os resultados obtidos previamente neste trabalho através de análises por DSC, percebe-se que a amostra aparentemente se apresenta como uma forma mais estável que as demais (juntamente com T₂ e T₃), baseado no seu comportamento de transição sólido-sólido. Deve-se atentar para o fato de que os resultados possuem caráter preliminar, necessitando estudos adicionais para que se possa afirmar com certeza esta condição.

Em um trabalho realizado por CANTERA e colaboradores (2002), diferentes amostras de tenoxicam foram caracterizadas através de estudo envolvendo IDR. Os autores concluíram que a fase cristalina do fármaco classificada como a mais estável em estudos preliminares exibiu a menor velocidade de dissolução quando comparada às fases metaestáveis, as quais resultaram em velocidades similares entre si.

Portanto, realizando-se uma análise global referente aos resultados obtidos através da medida da IDR das matérias-primas, apesar da amostra T₄ ou polimorfo β possuir IDR superior às demais, todas as amostras são enquadradas como apresentando IDR reduzido (inferior a 0,1 mg/min/cm²). Foi também observado que estes cristais apresentam pobre compactabilidade, o que pode conduzir a sérios problemas no que tange à produção industrial do fármaco na forma farmacêutica final comprimidos³¹. Deve-se atentar também para o fato da amostra T₄ ser constituída por uma mistura de fases, considerado um desvio de qualidade do produto.

Outro fator que merece atenção especial é a constatação da presença de mistura de fases cristalinas e amorfas para a maioria das amostras. Um fármaco sólido contendo mistura de materiais cristalinos e semicristalinos se apresenta como indicativo de um processo sintético não controlado, o que pode resultar em produto final pouco homogêneo e reprodutível. Desta forma, mesmo exibindo vantagens, como aumentada velocidade de dissolução, regiões amorfas em um material podem conduzir a um produto pouco estável, como abordado anteriormente, embora essa condição deva ser avaliada com maior cautela em relação à talidomida, o que poderá ser averiguado em estudos futuros.

Apesar da amostra T₁ apresentar a menor IDR das amostras avaliadas, muito provavelmente devido ao seu estado de pureza cristalina e aparente estabilidade, supõe-se que esta matéria-prima seja a mais indicada para o desenvolvimento futuro de um medicamento. Os resultados comparativos apresentados, como um todo, indicam que esta matéria-prima (bem como T₂ e T₃) apresenta homogeneidade cristalina, cristais com hábito externo bem definido e sem fissuras, o que indica um

³¹ Observa-se que a forma farmacêutica comprimidos é atualmente selecionada para produção do medicamento talidomida pelo Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED).

processo sintético pré-estabelecido e controlado, além de boas propriedades de empacotamento.

5.6 Avaliação da Influência do Processo de Compactação em Relação às Propriedades Cristalinas e Polimórficas da Talidomida

5.6.1 Compactação das Amostras de Fármaco Puro em Máquina de Comprimir Alternativa

As propriedades cristalinas de fármacos e outras substâncias de uso farmacêutico podem refletir em alterações na estabilidade, processabilidade e biodisponibilidade destes compostos. Todas as substâncias sólidas na forma cristalina apresentam certo grau de imperfeições em suas redes, as quais podem influenciar propriedades físico-mecânicas e conseqüentemente a processabilidade destes materiais, bem como propriedades da forma farmacêutica final. Através do entendimento do papel exercido pela estrutura cristalina de um fármaco no processo compressional é possível prever as características de uma formulação de comprimidos para esta substância e sua processabilidade (RIPPI *et al.*, 2000).

O comportamento compressional de um fármaco pode ser melhorado a partir da alteração de suas propriedades cristalinas, tais como polimorfismo, cristalinidade e hábito cristalino, além de outros fatores como tamanho de partícula e área superficial (YOSHINARI *et al.*, 2003).

Em relação ao polimorfismo, um exemplo que pode ser citado é o caso do excipiente manitol que apresenta vários polimorfos, destacando-se a forma δ como sendo a mais favorável à compressão direta por apresentar menor recuperação elástica e adesão às paredes da matriz, quando comparada a outros polimorfos (YOSHINARI *et al.*, 2003).

Para o fármaco paracetamol, a alteração na estrutura cristalina resulta em modificação em seu hábito cristalino, conseqüentemente, cristais ortorrômnicos de paracetamol exibem grande capacidade de deformação durante o processo de compressão e menor recuperação elástica na etapa de descompressão, comparado aos seus cristais monoclinicos (TIWARY, 2001; THOMPSON *et al.*, 2004).

No entanto, alterações na rede cristalina de um fármaco não são as únicas responsáveis por propriedades físico-mecânicas diferenciadas para esta substância. Cristais isomórficos podem apresentar diferentes propriedades devido a mudanças no hábito cristalino, tais como fluxo, empacotamento, compactabilidade e compressibilidade, tendo em vista que o mesmo influencia diretamente a orientação particular de um composto (RIPPI *et al.*, 2000; TIWARY, 2001; RASENACK e MÜLLER, 2002).

O presente trabalho fornece um conjunto de informações a respeito de algumas propriedades cristalinas relatadas para as diferentes amostras de talidomida estudadas. A partir destes resultados, pode-se confirmar a existência de polimorfismo, mistura de fases cristalinas e semicristalinas nas amostras analisadas. Também foi detectada a presença de diferentes hábitos cristalinos atribuídos tanto a cristais polimórficos quanto a isomórficos.

Além das características já citadas, observou-se que as amostras, de uma maneira geral, não apresentaram homogeneidade relativa a tamanho de partícula, o que refletiu em características de empacotamento diferenciadas para duas amostras analisadas, que exibiram áreas de superfície também diferentes.

Tendo em vista que comprimidos é a forma farmacêutica final utilizada para produção do medicamento talidomida no Brasil (FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS, 2007), levando-se em consideração a diversidade de matérias-primas existentes para o fármaco, torna-se fundamental caracterizar o produto a ponto de permitir escolha inequívoca da melhor matéria-prima a ser utilizada em processos produtivos.

Portanto, as propriedades cristalinas do fármaco talidomida têm grande importância no que tange à produção de sua forma farmacêutica final, principalmente por ser utilizado o método de compressão direta para a produção do

medicamento talidomida pelo Laboratório Farmacêutico Fundação Ezequiel Dias (FUNED), produzindo comprimidos de 100 mg por dose unitária.

Sabe-se que o procedimento de compressão direta e propriedades mecânicas de comprimidos resultantes são fortemente afetados pela qualidade dos cristais do fármaco utilizados no processo. A compressão direta requer boas propriedades de fluxo, além de mistura uniforme entre fármacos e excipientes e habilidade de consolidação dos mesmos sob pressão, mantendo ligações interparticulares no momento da ejeção do comprimido. Cerca de um terço das formulações de comprimidos para fármacos que apresentam dose unitária superior a 100 mg são controladas por características mecânicas do fármaco (SHEKUNOV e YORK, 2000).

Observa-se também que o fármaco talidomida cristaliza em duas formas polimórficas diferentes, mas que possuem o mesmo tipo de sistema cristalino, o monoclinico. Normalmente, sistemas cristalinos mais complexos, como sistemas ortorrômbicos, monoclinicos e triclinicos, apresentam menor grau de simetria que compostos binários, como sistemas cúbicos ou hexagonais. Estruturas com baixo grau de simetria apresentam dificuldade para produção de comprimidos via compressão direta (TIWARY, 2001).

Sendo assim, inicialmente realizou-se um estudo preliminar para avaliar a influência das propriedades cristalinas de diferentes amostras de talidomida na formação de compactos de fármaco puro. Os compactos utilizados para essa finalidade foram produzidos em máquina de comprimir alternativa, observando-se alguns aspectos relativos às propriedades dos produtos obtidos. Para essa análise selecionaram-se duas amostras de talidomida, T₁ e T₅, por estarem disponíveis em maior quantidade.

A produção dos compactos com as matérias-primas T₁ e T₅ foi dificultada pelo fato de serem produzidos a partir de fármaco puro, sem a adição de nenhum excipiente de formulação. Mesmo com alguns inconvenientes, foi possível produzir os compactos com as duas matérias-primas, as quais apresentaram algumas importantes diferenças, ressaltadas a seguir.

Para T₅, a dificuldade de obtenção de compactos não desintegrantes foi maior. Outra característica indesejada exibida pela amostra foi a grande aderência

aos punções durante a compactação. O processo de compactação foi prejudicado, principalmente, devido à coesividade existente entre partículas de pó, sendo, provavelmente, uma consequência direta do tipo de hábito cristalino apresentado, no formato acicular, além de possuir cristais com muitas imperfeições superficiais, o que resultou em aumento da área superficial. Adicionado aos fatores já citados, deve-se observar que a amostra apresenta partículas com tamanho e estabilidade ao empacotamento reduzidos.

Fármacos que possuem cristais com hábito acicular geralmente mostram-se inconvenientes para a produção de comprimidos via compressão direta por apresentarem pobres propriedades de fluxo. Em casos mais extremos a produção de comprimidos torna-se inviável para alguns fármacos, devido a tal característica (TIWARY, 2001).

Para o fármaco ibuprofeno, cristais aciculares são freqüentemente encontrados, conferindo ao fármaco fluxo pobre e difícil compactabilidade, além de aderência aos punções durante a compressão como consequência de sua alta coesividade e adesividade (MANISH *et al.*, 2005). Os compactos obtidos com estes cristais são mecanicamente instáveis, exigindo alta concentração de agentes aglutinantes e etapa adicional de granulação para produção de comprimidos (RASENACK e MÜLLER, 2002). Em estudo desenvolvido por RASENACK e MÜLLER (2002), os autores contornam este problema através da utilização de cristais de ibuprofeno em forma de placas, permitindo a obtenção de comprimidos com superfície lisa e evitando a aderência da substância aos punções.

Os compactos da amostra T₁ foram formados com menor dificuldade, embora também fortemente prejudicados pela ausência de excipientes. A compactabilidade mais favorecida mostrou-se de acordo com o esperado, pois a amostra apresenta cristais maiores e bem formados, com formato tabular prismático que facilita o fluxo, além do fato de apresentarem empacotamento das partículas mais estável e menor área de superfície.

De acordo com o abordado, nota-se que foi possível obter compactos, embora com alguma dificuldade, para ambas as amostras. Pode-se observar a partir da Figura 43 que as duas amostras formaram compactos com tendência a

laminação e capeamento, o que não seria necessariamente uma surpresa, tendo em vista que são compactos obtidos de fármaco puro. No entanto, deve-se salientar que T_5 apresenta estas características mais acentuadas. Pode-se, inclusive, visualizar macroscopicamente fissuras na face inferior de todos os compactos produzidos com a amostra T_5 , as quais podem ser analisadas em maior detalhe através de fotomicrografias apresentadas na Figura 44. Com relação às fotomicrografias, nota-se que foram utilizados aumentos diferentes para visualização da superfície inferior dos compactos. A amostra T_5 foi avaliada em um aumento 10 vezes menor que T_1 , pois o tamanho das fissuras foi muito expressivo a nível microscópico, impedindo a utilização de aumentos maiores, os quais seriam pouco ilustrativos. Contrariamente para T_1 , em um aumento 10 vezes menor o que se observou foi uma superfície plana e lisa, aparecendo discretamente pequenas fissuras somente em um aumento de imagem de 500 vezes.



Figura 43. Fotografias dos compactos obtidos das amostras T_1 e T_5 produzidos em máquina de comprimir alternativa.

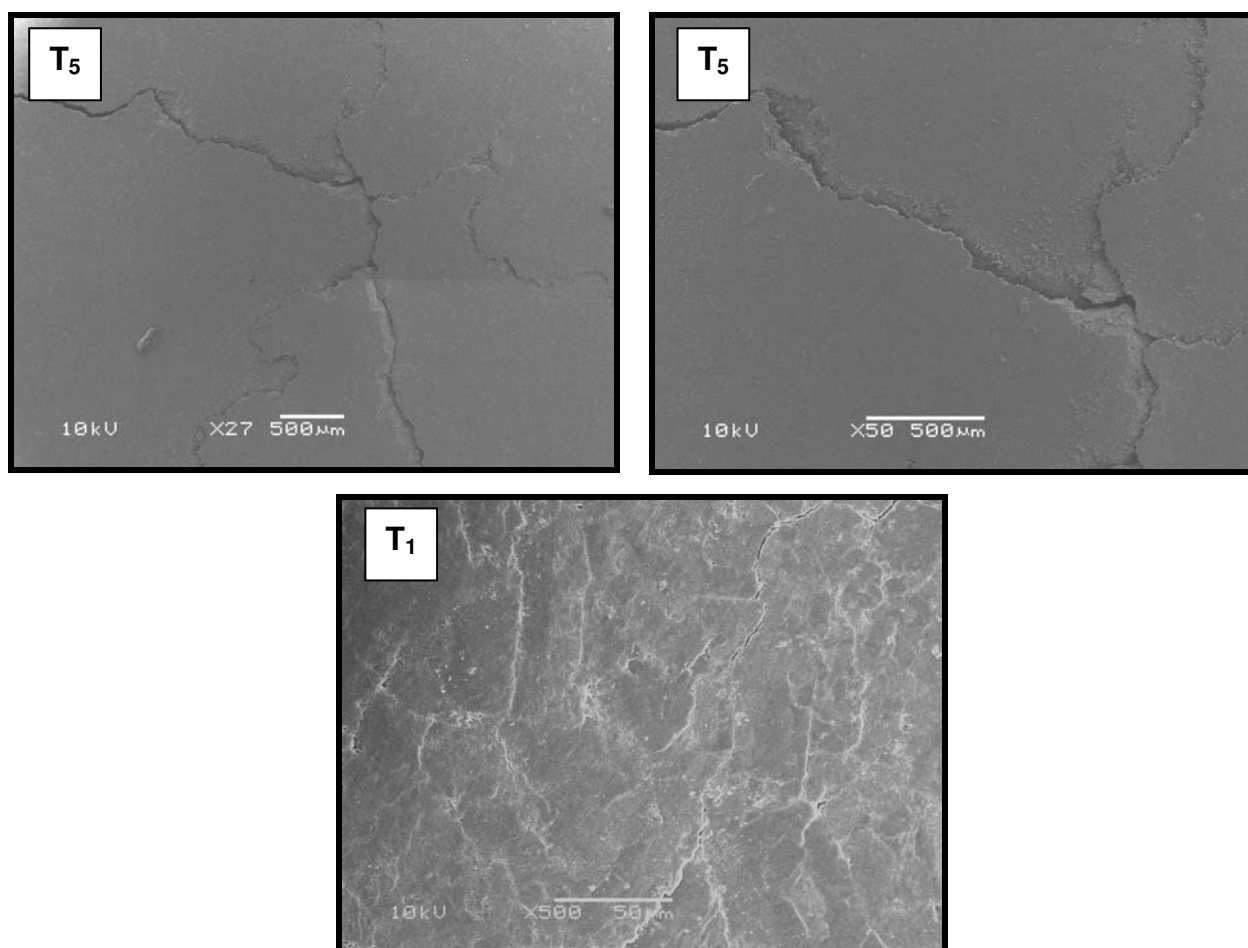


Figura 44. Fotomicrografias dos compactos das amostras T_1 e T_5 produzidos em máquina de comprimir alternativa.

Diante do exposto, percebe-se que a amostra T_1 apresenta melhores propriedades em relação à compactabilidade que a amostra T_5 , pelo menos em caráter preliminar. Estudos mais aprofundados devem ser efetuados futuramente para que se possa obter conclusões mais significativas a respeito do assunto.

5.6.2 Compactação das Amostras de Fármaco Puro em Máquina Universal de Ensaio

O conhecimento do efeito exercido pela pressão sobre fármacos sólidos é de grande interesse para a indústria farmacêutica, pois a maioria destes é submetida à ação mecânica durante os vários estágios da produção de medicamentos. As etapas freqüentemente envolvidas são trituração, compactação e compressão, as quais podem induzir a uma transição de fases em compostos que apresentam polimorfismo (FABBIANI *et al.*, 2007).

A aplicação de pressão apresenta-se como metodologia muito efetiva e convencionalmente utilizada para a indução de transição de fases em materiais como metais, ligas e minerais. Estudos recentes demonstram que uma vasta gama de compostos orgânicos também sofre transição de fases sob altas pressões, tais como álcoois, ácidos carboxílicos e aminoácidos (FABBIANI *et al.*, 2007).

Dessa forma, com o intuito de analisar o comportamento cristalográfico, espectroscópico e térmico apresentado pelas amostras de talidomida quando submetidas à pressão, foram produzidos compactos com estas matérias-primas puras, utilizando-se uma pressão de compactação aproximada de 255 MPa³².

Através de estimativa aproximada, julga-se que sejam utilizadas pressões que oscilam entre os valores de 250 a 300 MPa para a formação de comprimidos de talidomida em processos industriais. Estes valores foram calculados a partir da área superficial da matriz utilizada para a produção dos comprimidos e a força de compressão estimada utilizada.

Observa-se que para o herbicida 1,3-ciclohexanodiona ocorrem alterações em seus parâmetros de célula unitária frente à aplicação de pressão entre os valores de 0,1 MPa a 0,3 GPa (KATRUSIAK *et al.*, 1990).

Já em estudo realizado por FABBIANI e colaboradores (2007), verificou-se através de compressão direta, a transformação da forma II à forma V a partir da

³² Utilizou-se a pressão máxima suportada pela matriz para maximizar a possibilidade de transição polimórfica para as amostras analisadas.

aplicação de 0,7 GPa de pressão sob o fármaco piracetam, que apresenta polimorfismo.

Em trabalho realizado por RIPPI e colaboradores (2000) verificou-se o efeito da força de compressão para o fármaco acistrato de eritromicina, através da avaliação da intensidade dos picos de difratogramas obtidos a partir da superfície de amostras compactadas. As forças de compactação utilizadas foram 4, 8, 12, 18 e 22 kN (correspondendo às pressões de 63 a 346 MPa). O estudo demonstrou que o aumento na força de compressão resulta em um forte efeito de orientação preferencial nos cristais compactados, especialmente para os picos mais intensos.

Sendo assim, os resultados obtidos por DRX para as amostras de talidomida compactadas estão apresentados comparativamente nas Figura 45. Nas Figuras 46 a 52 observam-se os difratogramas comparativos referentes às amostras antes e após serem compactadas.

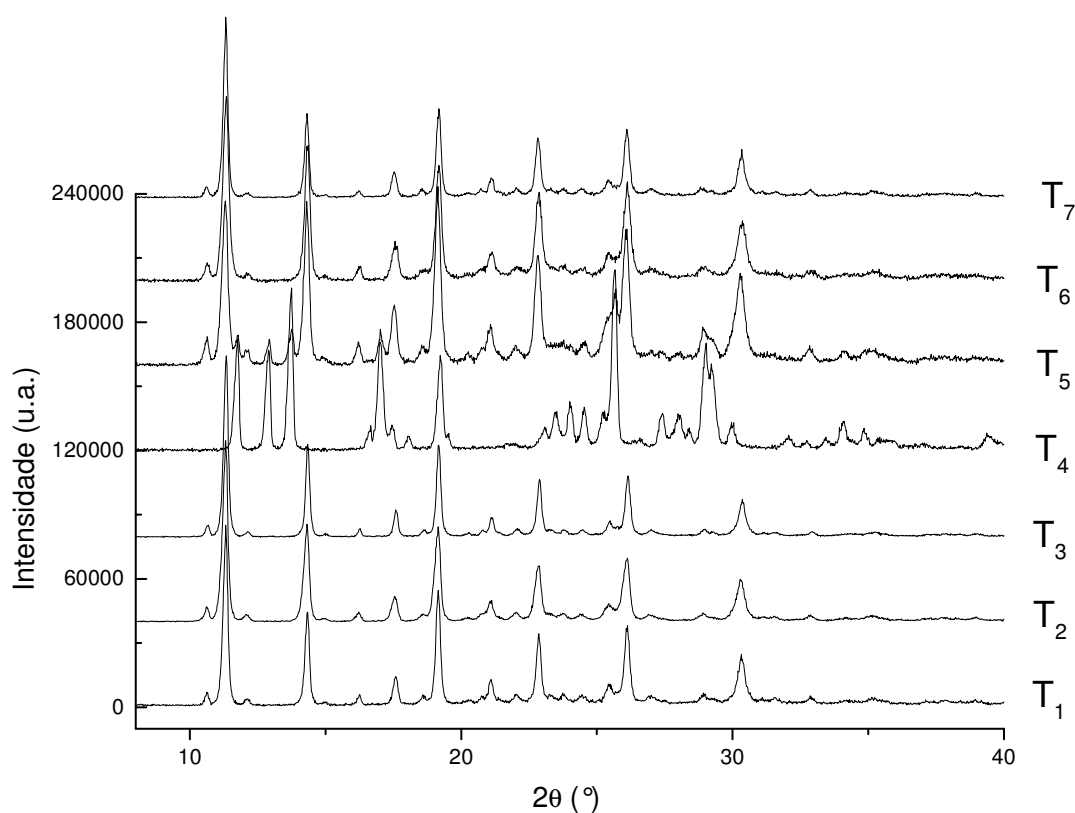


Figura 45. Comparação entre difratogramas das amostras T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆ e T₇ após serem submetidas à compactação.

Percebe-se que, de modo geral, não houve transição polimórfica para as amostras de talidomida submetidas à compactação, o que foi confirmado através de análises por FT-IR (Anexos, Figuras A12 a A18). O que se verificou em praticamente todas as amostras compactadas, foi um aumento na intensidade dos picos e, em alguns casos, pequeno deslocamento dos difratogramas para a esquerda (menor grau 2θ , o que significa aumento nos valores das distâncias interplanares).

Em estudo sobre o perfil de compressão direta para o excipiente Compril[®] MUÑOZ-RUIZ e colaboradores (1996) verificaram alteração na intensidade relativa dos picos dos difratogramas de amostras compactadas. Através da análise da largura da meia altura dos picos máximos integrados (*FWHM = full width at half maximum*), percebeu-se que houve diferença nas intensidades dos picos entre os difratogramas da matéria-prima e dos comprimidos obtidos para a substância, quando produzidos a elevadas pressões (100 MPa).

As diferentes intensidades de difração são decorrentes de maior ou menor ordenamento ou espaçamento atômico na rede cristalina. Geralmente, faces com átomos mais próximos, têm picos mais intensos. Já em situações onde há o surgimento de defeitos na rede cristalina, vacâncias atômicas, entre outros fatores, resultam como conseqüência destruição do pico e/ou alargamento das bandas (CULLITY, 1967).

Portanto, os picos de maior intensidade apresentados pelas amostras compactadas provavelmente ocorram como conseqüência de uma maior proximidade entre planos de átomos nos cristais, induzida pela pressão a que as amostras foram submetidas.

É provável que o leve deslocamento dos picos para a esquerda em alguns difratogramas de amostras compactadas tenha origem no estresse residual gerado pela pressão aplicada sobre as amostras, pois a tensão residual de um determinado conjunto de planos de rede em um determinado sentido, pode ser observada no difratograma como um deslocamento do ângulo 2θ do pico de difração (CULLITY, 1967).

Para T_1 , T_2 , T_3 , T_6 e T_7 , amostras classificadas como polimorfo α , sendo as duas últimas misturas de fase α e amorfa, houve comportamento semelhante frente à compactação. É observado aumento nos valores de intensidade relativa dos picos das amostras compactadas, embora sejam mantidas as proporcionalidades das intensidades dos picos em relação às amostras não manipuladas. As amostras T_1 , T_2 e T_6 compactadas apresentaram redução discreta nos valores do ângulo 2θ quando comparadas às intactas, resultando em aumento nos valores das distâncias interplanares (d), significando pequena alteração na estrutura cristalina da substância. As amostras T_3 e T_7 não apresentaram deslocamento dos picos em relação à escala 2θ . No entanto, devido à inexistência de formação de novos picos nos difratogramas das amostras compactadas, pode-se afirmar que não houve formação de novo polimorfo durante o processo.

Verifica-se também, nos difratogramas das amostras compactadas, o aparecimento de regiões em que ocorre coalescência de dois ou mais picos (próximas a $26^\circ 2\theta$). Isso resulta na formação de um só plano ou uma só banda no difratograma, aparentando diminuição do grau de cristalinidade do material.

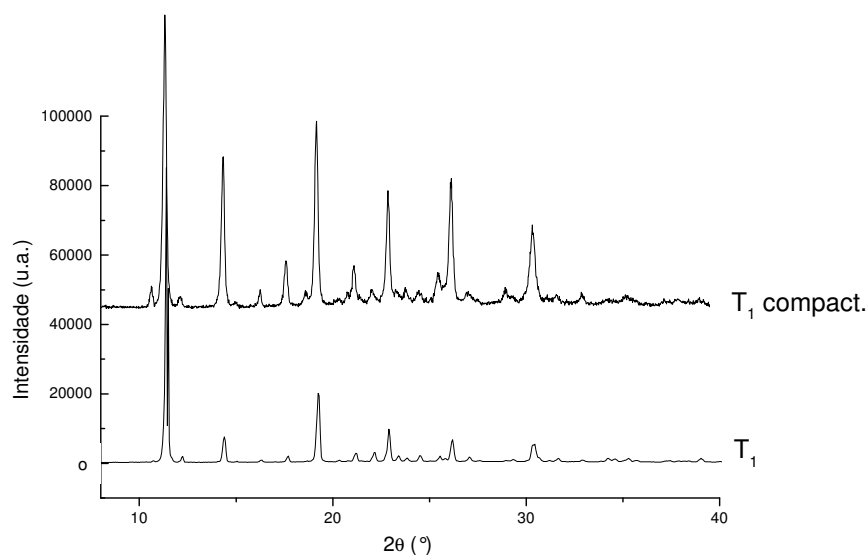


Figura 46. Comparação entre os difratogramas da amostra T_1 antes e após a compactação.

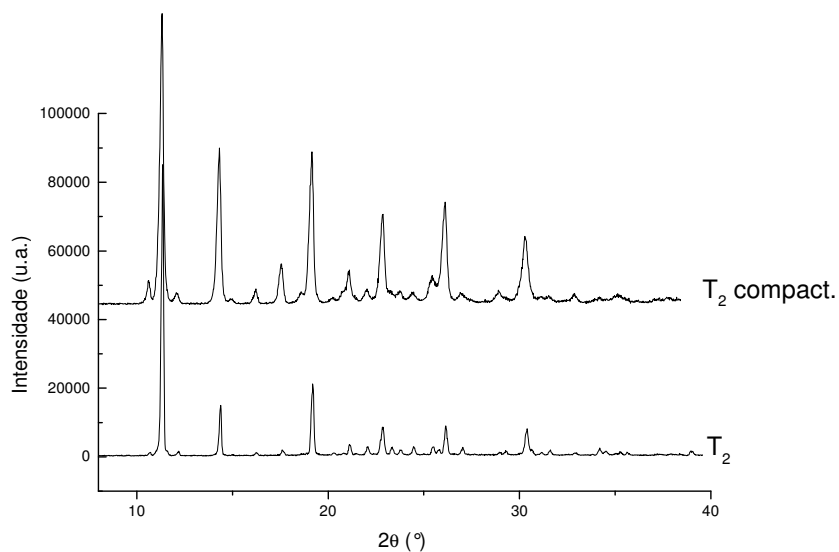


Figura 47. Comparação entre os difratogramas da amostra T₂ antes e após a compactação.

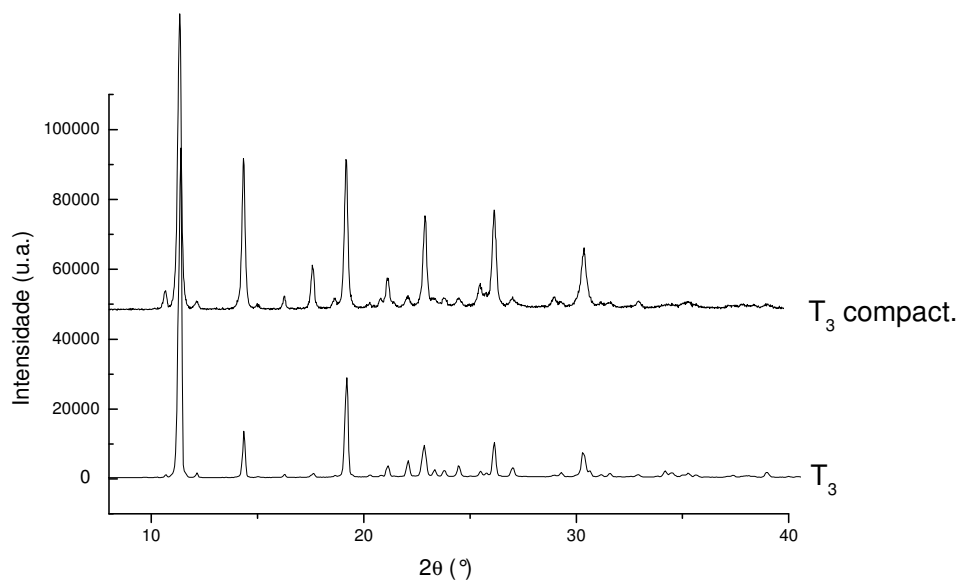


Figura 48. Comparação entre os difratogramas da amostra T₃ antes e após a compactação.

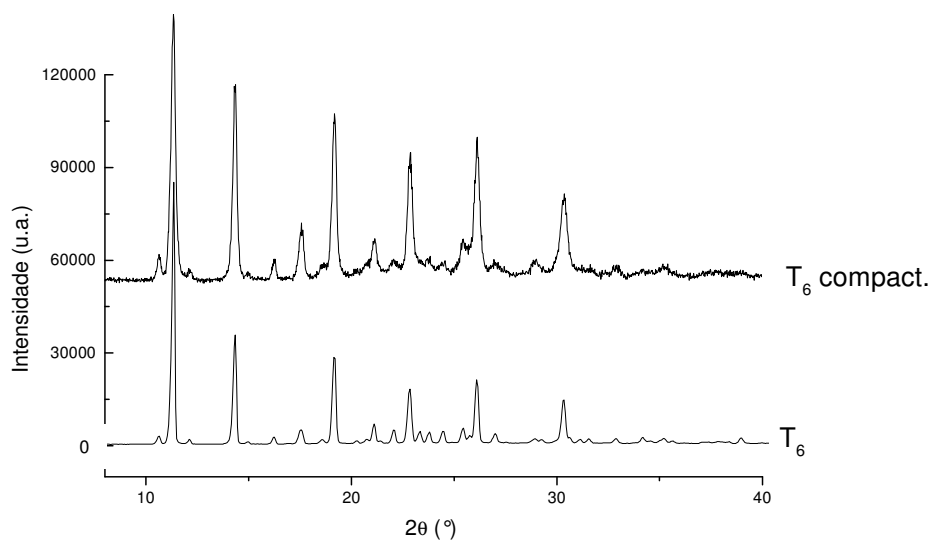


Figura 49. Comparação entre os difratogramas da amostra T₆ antes e após a compactação.

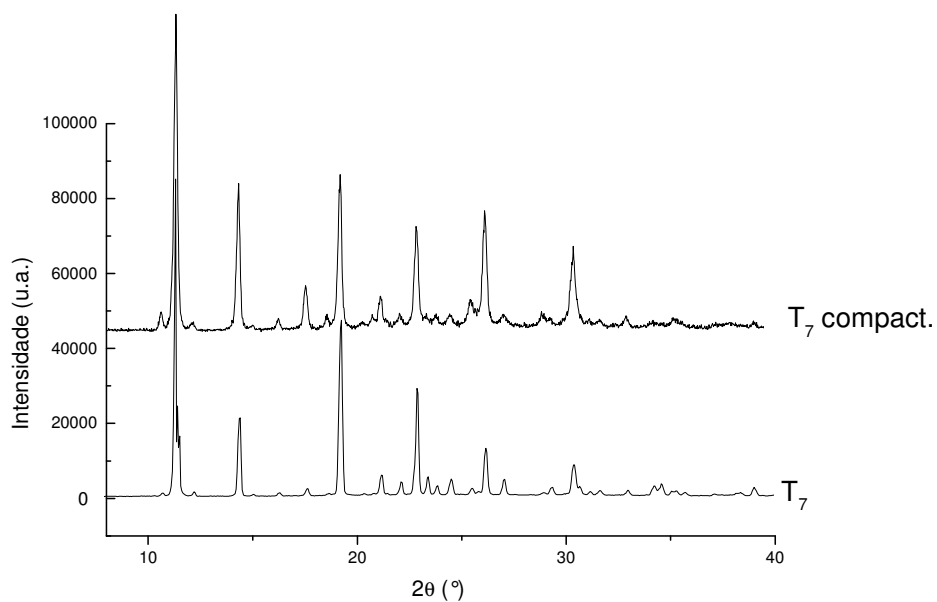


Figura 50. Comparação entre os difratogramas da amostra T₇ antes e após a compactação.

Para a amostra T₅, composta por uma mistura de fases α e β , também se percebe aumento na intensidade relativa dos picos das amostras compactadas e a formação de bandas, mais evidentes que nas amostras anteriores, na faixa de valores de aproximadamente 25° a 30°2 θ .

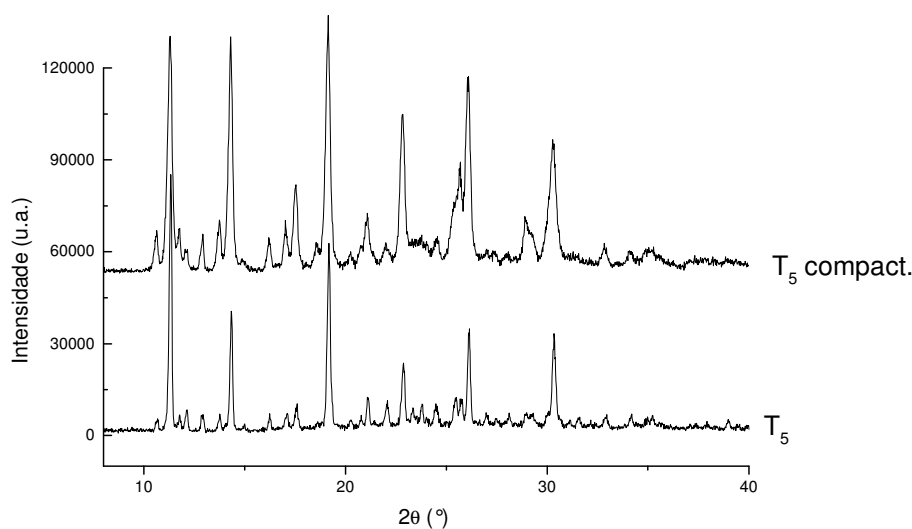


Figura 51. Comparação entre os difratogramas da amostra T₅ antes e após a compactação.

No entanto, o comportamento da amostra T₄ (polimorfo β) frente à compactação mostrou-se diferenciado das demais amostras, como pode ser visualizado na Figura 52. Observa-se que a intensidade dos picos difratados para a amostra compactada não são proporcionais aos da amostra intacta, apresentando picos mais intensos e outros menos intensos quando comparada à amostra não manipulada. Isso significa que apesar da amostra compactada apresentar praticamente a mesma estrutura cristalina da amostra não compactada, por possuir picos nos mesmos valores da escala 2 θ , o material aparentemente apresenta um comportamento frente à compactação ou deformação diferenciado nas diferentes faces cristalinas ou planos de átomos do mesmo cristal. Provavelmente estes resultados indicam que a distribuição da força de compactação no leito de partículas

desta amostra ocasiona diferenças nos fenômenos de fragmentação e/ou deformação plástica ou elástica. Além disso, deve-se observar também que a amostra compactada possui redução no grau de cristalinidade de algumas faces, em relação à amostra intacta.

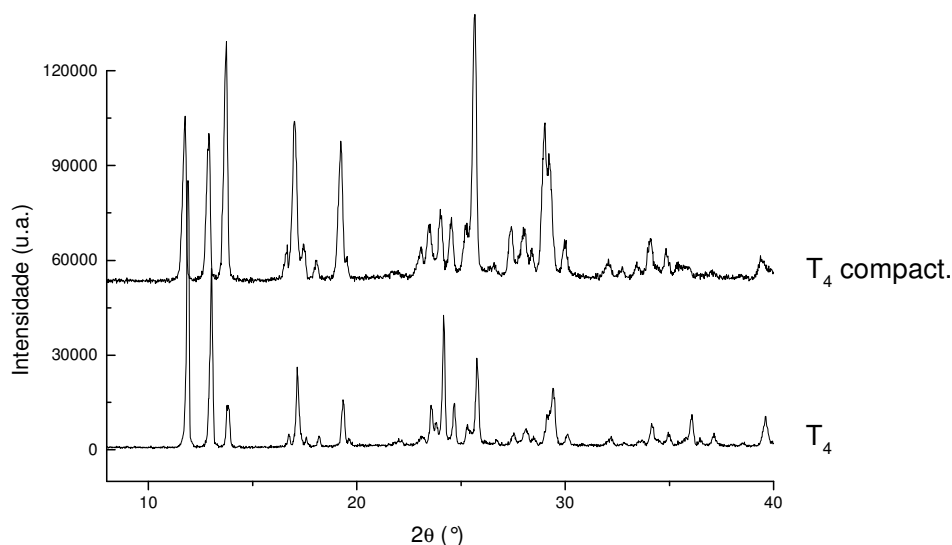


Figura 52. Comparação entre os difratogramas da amostra T₄ antes e após a compactação.

O aumento da intensidade dos picos apresentado pela maioria das amostras de talidomida compactadas provavelmente seja devido ao fato das amostras serem submetidas à trituração, além da compactação, anteriormente às análises³³. Esta hipótese pode ser sustentada a partir da avaliação de difratogramas comparativos obtidos para a amostra T₁, sob diferentes circunstâncias, como pode ser observado na Figura 53. Percebe-se, através da ilustração, que o difratograma da amostra compactada e não triturada (compacto com dimensões maiores dos demais) apresenta a intensidade relativa dos picos similar ao exibido para a amostra intacta, embora possua seus valores de 2θ levemente deslocados para a esquerda.

³³ Os compactos obtidos apresentaram reduzidas dimensões, o que inviabilizou as análises por DRX com os compactos intactos.

Portanto, a ação conjunta dos processos de trituração e compactação provavelmente seja responsável pelos resultados obtidos.

Exemplos de alterações em parâmetros cristalinos a partir de ações combinadas envolvendo inserção de pressão, tanto pela formação de compactos quanto por trituração de amostras, são citados na literatura. Neste sentido, YAMAMURA e MOMOSE (1996) avaliaram o efeito da compressão e moagem em relação às propriedades cristalográficas dos fármacos cristalinos naproxeno e griseofulvina, verificando a ocorrência de orientação preferencial e parâmetros de célula unitária levemente modificados pela compressão. Também observaram que com a trituração das amostras houve redução no tamanho da célula unitária e aumento das distorções na rede cristalina.

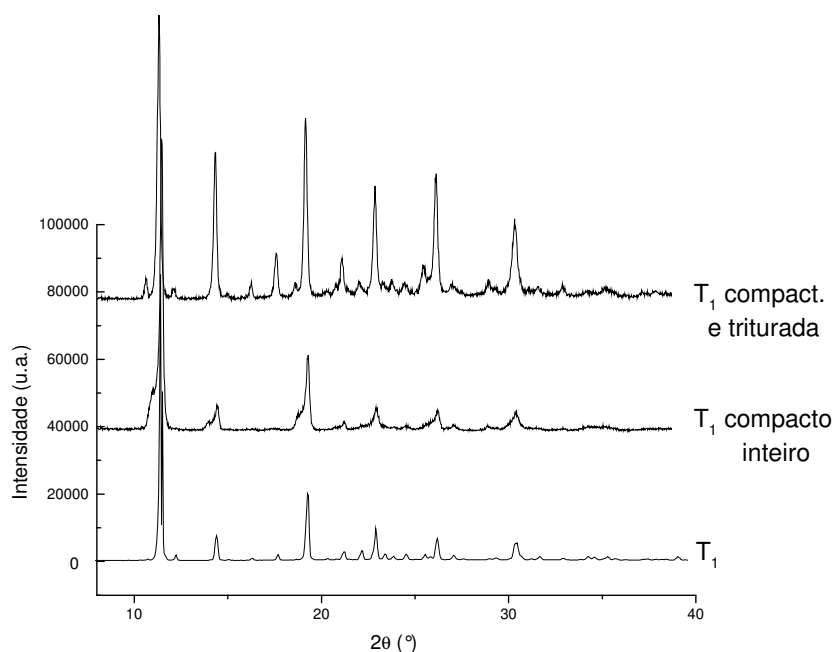


Figura 53. Comparação entre os difratogramas da amostra T₁ (antes da compactação), T₁ compact. e triturada (após ser compactada e triturada para análise) e T₁ compacto inteiro (após ser compactada e analisada sem trituração prévia).

A etapa seguinte de caracterização dos compactos envolveu análise por DSC com o intuito de verificar o comportamento térmico das amostras compactadas, cujos resultados estão expressos na Figura 54 e Tabela 17.

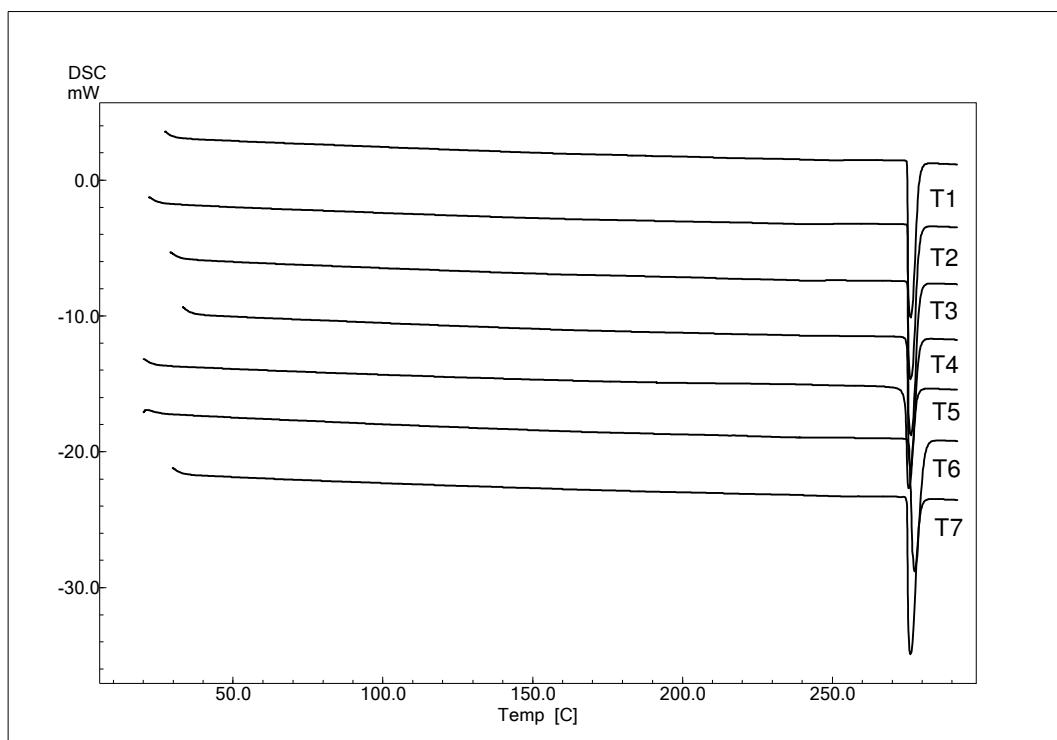


Figura 54. Comparação entre os termogramas obtidos para as amostras T₁, T₂, T₃, T₄, T₅, T₆ e T₇ após serem submetidas à compactação.

Tabela 17. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para amostras de talidomida após serem submetidas à compactação.

Matéria-prima	Evento endotérmico	
	T _{onset} (°C)	ΔH (J/g)
T ₁	275,00	139,69
T ₂	275,21	133,75
T ₃	275,18	150,09
T ₄	275,02	119,42
T ₅	274,45	96,91
T ₆	275,62	116,17
T ₇	274,86	149,37

Pode-se constatar que os resultados obtidos, para algumas amostras, mostram-se diferentes dos apresentados para as matérias-primas antes de serem manipuladas, provavelmente pelo mesmo motivo abordado em seções anteriores deste trabalho. É verificado que todas as amostras compactadas submetidas à análise por DSC apresentam praticamente os mesmos termogramas, exibindo endotermas de fusão em valores de temperatura próximos a 275 °C. Os valores das entalpias de fusão oscilam entre aproximadamente 100 a 150 J/g.

Estes dados sugerem que o comportamento das amostras seja resultado da submissão destas à trituração, não sendo um efeito isolado atribuído à compactação. De acordo com ampla discussão abordada em seções anteriores deste trabalho, possivelmente as amostras trituradas apresentam elevado nível de imperfeições na rede cristalina, além de reduzido tamanho de partícula, o que facilitaria a transição da fase α para a β durante o aquecimento, como pode ser visualizado para as amostras T_1 , T_2 , T_3 e T_7 (Figura 54). Essas amostras, sob efeito de trituração, apresentam apenas a endoterma de fusão do polimorfo β , contrariamente aos termogramas apresentados para as mesmas quando intactas. O restante das amostras exibiram comportamento térmico similar antes e após os processos de trituração e compactação, de acordo com o esperado, pois aparentemente apresentaram uma velocidade de transição de fase mais acelerada que as demais amostras, antes mesmo de serem submetidas a qualquer tipo de manipulação.

A partir da análise da Figura 55 e Tabela 18, verifica-se que para T_1 compactada e triturada suavemente (T_{1a}) é apresentado termograma similar ao de T_1 intacta (T_1), com duas endotermas de fusão, embora a primeira com entalpia bem inferior quando comparada à intacta, provavelmente devido ao efeito, mesmo que leve, da trituração. Para as amostras trituradas, tanto após compactação (T_{1b}) ou mesmo quanto intacta e posteriormente manipulada (T_{1c}), nota-se exatamente o mesmo perfil térmico, ou seja, apresentam apenas a endoterma de fusão relacionada ao polimorfo β , sugerindo a transição de fase.

A partir dos resultados obtidos por DSC, pode-se reforçar a hipótese de que a trituração é responsável, em maior grau, pelos fenômenos térmicos observados, do que a compactação das amostras a uma pressão de 255 MPa.

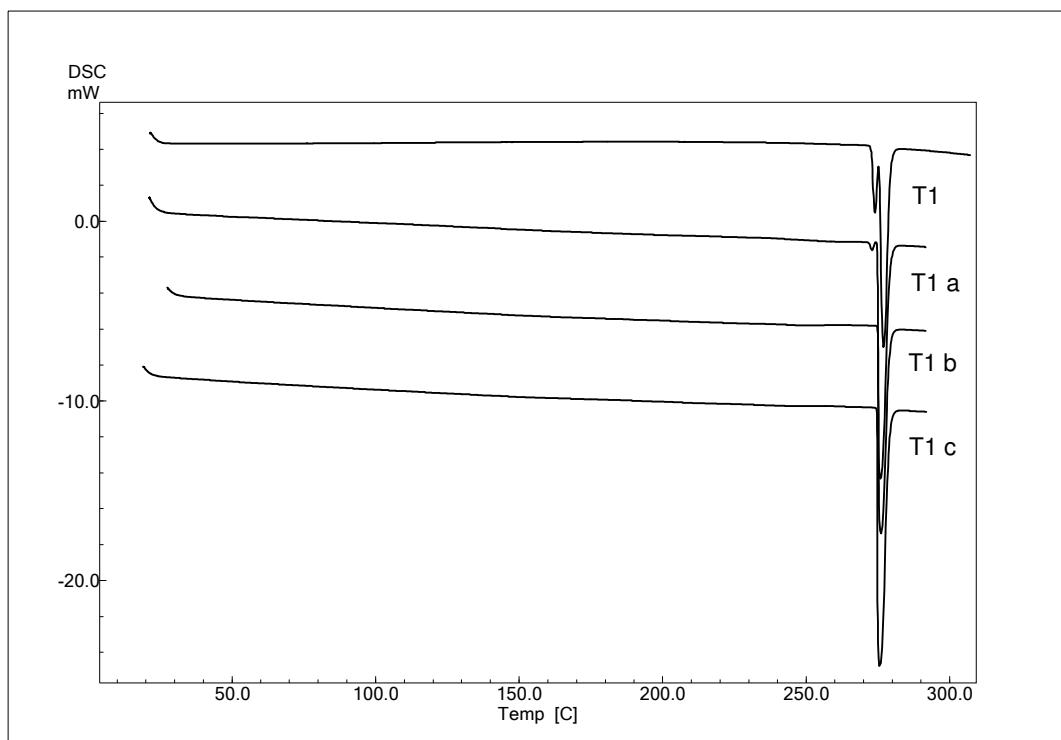


Figura 55. Comparação entre os termogramas obtidos para a amostra T_1 , onde T_1 : amostra antes de ser processada; T_{1a} : amostra compactada e posteriormente triturada suavemente; T_{1b} : amostra compactada e posteriormente triturada; e T_{1c} : amostra não compactada, mas triturada.

Tabela 18. Parâmetros térmicos obtidos por DSC para a amostra T_1 , onde T_1 : amostra antes de ser processada; T_{1a} : amostra compactada e posteriormente triturada suavemente; T_{1b} : amostra compactada e posteriormente triturada; e T_{1c} : amostra não compactada, mas triturada.

Matéria-prima	Evento Endotérmico			
	Primeiro pico		Segundo Pico	
	T_{onset} (°C)	ΔH (J/g)	T_{onset} (°C)	ΔH (J/g)
T_1	272,27	19,76	275,54	108,61
T_{1a}	271,87	3,48	274,85	186,73
T_{1b}	-	-	275,00	139,69
T_{1c}	-	-	274,80	141,70

6 CONCLUSÕES

As matérias-primas de talidomida avaliadas neste trabalho apresentaram relativa homogeneidade relacionada a parâmetros de pureza, como composição enantiomérica, percentual de substâncias voláteis presentes e pureza cromatográfica, sendo que os testes de identificação confirmam a identidade do fármaco. Pequenos desvios de qualidade apresentados por algumas amostras podem ser justificados pelo fato das mesmas serem constituintes de lotes teste, não disponíveis para comercialização.

A análise granulométrica das amostras demonstrou que todas apresentam valores de diâmetro médio inferiores a 100 μm , sendo classificadas como pós muito finos. As amostras T₁, T₂, T₃ e T₇ exibiram granulometria e distribuição de tamanho similares, tratando-se de partículas grandes, sendo que T₄ apresentou partículas maiores que todas as demais. Os menores diâmetros médios foram obtidos para T₅ e T₆.

As amostras representativas T₁ e T₅ apresentaram características tecnológicas diferenciadas em relação às propriedades de empacotamento, densificação e área superficial de suas partículas. Para T₁, observou-se características de empacotamento e densificação razoavelmente estáveis, provavelmente como consequência do elevado tamanho de partícula e reduzida área superficial. A amostra T₅ exibiu reduzida estabilidade ao empacotamento, pós coesivos devido à aumentada área superficial e diminuta granulometria das partículas.

A caracterização cristalográfica demonstrou heterogeneidade em relação à constituição cristalina da maioria das matérias-primas, detectando a presença de fases polimórficas e materiais semicristalinos. O método de Rietveld se mostrou adequado para avaliar quantitativamente as fases cristalinas presentes nas amostras de talidomida. A presença de polimorfismo também foi avaliada por análise espectroscópica. Somente três das amostras testadas apresentaram-se como fases cristalinas puras, T₁, T₂ e T₃, constituídas pelo polimorfo α . As misturas de fases foram observadas para T₄, T₅, T₆ e T₇, sendo classificados como materiais semicristalinos T₄ (fase β e amorfa), T₆ (fase α e amorfa) e T₇ (fase α e amorfa), enquanto que T₅ apresentou-se como mistura de fase α e fase β . Para as três

últimas amostras, houve predomínio do polimorfo α e em T_4 o polimorfo β foi o predominante.

A aparência externa dos cristais analisados demonstrou pelo menos quatro tipos de hábitos cristalinos diferentes atribuídos às amostras. As amostras constituídas pelo polimorfo α , T_1 , T_2 , T_3 e T_7 , apresentaram hábito cristalino prismático tabular (sendo T_7 um material semicristalino), contendo cristais com superfícies regulares. Para T_5 e T_6 , também classificadas como polimorfo α , embora apresentando mistura de fases, os hábitos cristalinos exibidos mostraram-se distintos dos demais, sendo os cristais de T_5 classificados como aciculares e T_6 cristais placóides. Para os últimos, a superfície externa dos cristais demonstrou fissuras e irregularidades, além de elevada tendência à coesividade e aderência de partículas menores às maiores. O polimorfo β (amostra T_4) apresentou morfologia externa de placas pontiagudas, com aspecto superficial ausente de irregularidades.

O comportamento térmico apresentado pelas amostras resultou em indicativos de transição sólido-sólido entre as fases cristalinas do fármaco, sob ação de calor. Aparentemente, a cinética de transição de fases mostrou-se acelerada ou retardada de acordo com propriedades químico-mecânicas particulares a cada amostra associadas ao tamanho, forma e grau de irregularidades presentes na superfície das partículas avaliadas.

Análises cristalográficas associadas ao incremento de temperatura para as amostras representativas T_1 e T_5 , indicaram a existência de formas metaestáveis de fármaco, formadas em elevadas temperaturas, as quais provavelmente sejam intermediárias à formação do polimorfo β a partir do α , durante o aquecimento. Os resultados obtidos apresentam caráter preliminar a estudos futuros relativos à estabilidade dos polimorfos.

As amostras apresentaram velocidade de dissolução intrínseca de acordo com a seguinte ordem decrescente de classificação: $T_4 > T_6 > T_5 > T_1$. As amostras compostas por materiais semicristalinos exibiram velocidade de dissolução superior àquelas com conteúdo cristalino. O polimorfo β mostrou-se mais solúvel que as demais amostras, constituídas majoritariamente ou unicamente pelo polimorfo α , porém todas as amostras apresentaram reduzida IDR. Os compactos de T_4 obtidos

para o ensaio indicaram pobre compactabilidade associada ao pó, embora em caráter preliminar.

O efeito da compactação das amostras, adicionado à trituração, resultou em aproximação dos planos de átomos para praticamente todos os materiais. Além disso, algumas amostras apresentaram pequena alteração estrutural, entretanto, pode-se afirmar que não houve transição polimórfica para nenhuma matéria-prima durante o processo. O polimorfo β aparentemente apresenta um comportamento diferenciado frente à compressão, considerando as diferentes faces cristalinas de seus cristais.

As propriedades cristalinas das amostras representativas T_1 e T_5 resultaram na formação de compactos de fármaco puro pouco estáveis e difíceis de serem produzidos. A amostra T_5 mostrou-se mais problemática, apresentando material pulveroso com elevada coesividade e forte aderência aos punções no momento da compactação, sendo provavelmente uma consequência do tipo de hábito cristalino, características de empacotamento e reduzido tamanho de partícula exibidos pela amostra. A tendência à laminação e capeamento foi observada para os compactos de ambas as amostras, embora estas características tenham sido menos evidentes para os produzidos com T_1 , provavelmente devido a propriedades particulares associadas a seus cristais. A amostra T_1 apresentou melhor compactabilidade em relação a T_5 , em caráter preliminar.

Os resultados indicaram, de modo global, amostras com diferentes tamanhos de partícula, áreas superficiais, características de empacotamento e densificação, constituição cristalina e morfológica, comportamentos térmicos, velocidades de dissolução intrínseca e comportamentos frente à compactação. Portanto, percebe-se uma heterogeneidade em relação a importantes características físico-químicas atribuídas a matérias-primas de talidomida disponibilizadas por fornecedores nacionais, tornando-se necessário o estabelecimento de parâmetros de especificação de matéria-prima que garantam a qualidade do produto final.

Os estudos de caracterização desenvolvidos neste trabalho indicam que as propriedades tecnológicas apresentadas por T_5 podem refletir em problemas relacionados à processabilidade do fármaco em medicamento, o que dificultaria a

inserção desta matéria-prima em processos produtivos industriais. Outro ponto negativo associado à amostra é o fato da mesma ser constituída por uma mistura de fases cristalinas. É possível que a amostra T₆ se comporte de maneira semelhante a T₅ por apresentar características similares, como tamanho de partícula e hábito cristalino, embora esta hipótese deva ser verificada com maior detalhamento no futuro.

Os resultados apresentados relativos à constituição e morfologia cristalina classificam as amostras como sendo distintas entre si, na maioria dos casos. Esta falta de homogeneidade entre os materiais testados pode ser um reflexo de possíveis processos sintéticos pouco controlados utilizados para obtenção dos produtos. Matérias-primas constituídas por mistura de fases, como T₄, T₅, T₆ e T₇, podem conduzir à obtenção de medicamentos contendo fármaco com distintas propriedades, tendo como consequência o desvio de qualidade do produto final.

Portanto, a característica positiva de velocidade de dissolução superior apresentada por algumas amostras não é suficiente para que se possa eleger, por este critério, matérias-primas semicristalinas ou contendo mistura de fases como sendo ideais a serem utilizadas em processos industriais.

O polimorfo β apresenta a desvantagem de ser constituído por uma mistura de fases e fornecer indicativos de pobre compactabilidade, apesar de exibir, relativamente, maior velocidade de dissolução intrínseca dentre as amostras analisadas.

A partir de uma avaliação global, propõe-se que a amostra T₁ (e possivelmente T₂ e T₃) seja a mais indicada para o desenvolvimento de uma formulação, devido às características tecnológicas e cristalográficas apresentadas. A velocidade de dissolução relatada para a amostra reflete o seu alto grau de cristalinidade, sendo possivelmente um indício de estabilidade associada à forma cristalina, hipótese que poderá ser verificada futuramente.

7 REFERÊNCIAS

ABRAHAM, M. H. Hydrogen Bond and Other Descriptors for Thalidomide and its N-Alkyl Analogs; Prediction of Physicochemical and Biological Properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 21, p. 465 – 469, 2004.

AGRAWAL, S.; ASHOKRAJ, Y.; BHARATAM, P. V.; PILLAI, O.; PANCHAGNULA, R. Solid-State Characterization of Rifampicin Samples and its Biopharmaceutical Relevance. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 22, p. 127 – 144, 2004.

AGUIAR, M. R. M. P. A.; GERMAL, L. A.; GIL, R. A. S. S. Caracterização de Polimorfismo em Fármacos por Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido. **Química Nova**, v. 22, n. 4, p. 553 – 563, 1999.

ALLEN, F. H.; TROTTER, J. Crystal and Molecular Structure of Thalidomide. **Chemical Communications**, v. 12, p. 778-779, 1970.

ALLEN F. H.; TROTTER, J. Crystal and Molecular Structure of Thalidomide, N-(α -Glutarimido)-Phthalimide. **Journal of Chemical Society (B)**, p. 1073 – 1079, 1971.

AMERICAN HOSPITAL FORMULARY SERVICE. **Drug Information 2000**. Bethesda: American Society of Hospital Pharmacists, 2000, p. 3446 – 3457.

AMOZA, J. L. G. Sólidos Pulverulentos. In: VILA JATO, J. L. (ed.). **Tecnología Farmacéutica: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacéuticos y Operaciones Básicas**, v. 1, 1. ed., Madrid: Síntesis, 2001, p. 69 – 142.

BEHME, R. J.; BROOKE, D. Heat of Fusion Measurement of a Low Melting Polymorph of Carbamazepine That Undergoes Multiple-Phase Changes During Differential Scanning Calorimetry Analysis. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 80, n. 10, p. 986 – 990, 1991.

BERKOVITCH-YELLIN, Z. Toward an ab Initio Derivation of Crystal Morphology. **Journal of American Chemical Society**, v. 107, p. 8239 – 8253, 1985.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria 344, 1998. Disponível em <<http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php>>. Acesso em 10.05.2007.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria 354, 1997. Disponível em <<http://elegis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=7173&word=Talidomida>>. Acesso em 10.05.2007.

BRASIL. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, Portaria conjunta 25, 2002. Disponível em <<http://e-legis.anvisa.gov.br/leisref/public/showAct.php?id=6205&word=mieloma%20talidomida>>. Acesso em 10.05.2007.

BROWN, C. K.; CHOKSHI, H. P.; NICKERSON, B.; REED, R. A.; ROHRS, B. R.; SHAH, P. A. Dissolution Testing of Poorly Soluble Compounds. **Pharmaceutical Technology**, p. 56 – 65, 2004.

BUCKTON, G. Propriedades do Estado Sólido. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 151 – 161.

BYRN, S.; PFEIFFER, R.; GANEY, M.; HOIBERG, C.; POOCHIKIAN, G. Pharmaceutical Solids: A Strategic Approach to Regulatory Considerations. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 7, p. 945 – 954, 1995.

CAIRA, M. R.; BOTHA, S. A.; FLANAGAN, D. R. Polymorphism of n-(2,6-dioxo-3-piperidyl)phthalimide (Thalidomide) – Structural Characterization of a Second Monoclinic Racemic Modification. **Journal of Chemical Crystallography**, v. 24, n. 1, p. 95-99, 1994.

CANTERA, R. G.; LEZA, M. G.; BACHILLER, C. M. Solid Phases of Tenoxicam. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 10, p. 2240 – 2251, 2002.

CAREY, F. A. **Organic Chemistry**. 2 ed. New York: Macgraw-Hill, 1992. 1274 p.

CARR, R. L. Evaluating Flow Properties of Solids. **Chemical Engineering**, v. 72, n. 2, p. 163 – 168, 1965.

CELGENE CORPORATION. **Thalomid® Formulary Information**. San Diego, 2007. Disponível em <<http://www.celgene.com/PDF/ThalomidP1.pdf>>. Acesso em 10.05.2007.

CHAN, H.; GRANT, D. J. W. Influence of Compaction on the Intrinsic Dissolution Rate of Modified Acetaminophen and Adipic Acid Crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 57, p. 117 – 124, 1989.

CHANG, L.; CAIRA, M. R.; GUILLORY, J. K. Solid State Characterization of Dehydroepiandrosterone. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 84, n. 10, p. 1169 – 1179, 1995.

CHANG, M.; CHEN, S.; CHANG, N. A Synthesis of Racemic Thalidomide. **Synthetic Communications**, v. 33, n. 8, p. 1375 – 1382, 2003.

CHOW, K. Y.; GO, J.; MEHDIZADEH, M.; GRANT, D. J. W. Modification of Adipic Acid Crystals: Influence of Growth in the Presence of Fatty Acid Additives on Crystal Properties. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 20, p. 3 – 24, 1984.

COX, M. C.; DAHUT, W. L.; FIGG, W. The Use of Thalidomide in Androgen-Independent Prostate Cancer. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, v. 24, p. 246-249, 2006.

CULLITY, B. D. **Elements of X-Ray Diffraction**. 3 ed., Massachusetts: Addison-Wesley, 1967, 514 p.

DA ROSA, T. C. C. **Dissolução Intrínseca de Hidroclorotiazida de Diferentes Granulometrias e sua Relação com a Dissolução do Ativo em Comprimidos**. Rio de Janeiro: Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, UFRJ. 2005. Dissertação de Mestrado.

DATTA, S.; GRANT, D. J. W. Crystal Structures of Drugs: Advances in Determination, Prediction and Engineering. **Nature Reviews**, v. 3, p. 42 – 57, 2004.

DIBBERN, H. **UV- und IR- Spektren Wichtiger Pharmazeutischer Wirkstoffe= UV- and IR- Spectra of Some Important Drugs**. Aulendorf: Cantor, 1978.

DIMOPOULOS, M. A.; ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU, V. Adverse Effects of Thalidomide Administration in Patients with Neoplastic Diseases. **The American Journal of Medicine**, v. 117, p. 508 – 515, 2004.

ELEUTHERAKIS-PAPAIKOVOU, V.; BAMIAS, A.; DIMOPOULOS, M. A. Thalidomide in Cancer Medicine. **Annals of Oncology**, v. 15, p. 1151-1160, 2004.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; FYGE, A.; HÖGLUND, P. Stereospecific Determination, Chiral Inversion In Vitro and Pharmacokinetics in Humans of the Enantiomers of Thalidomide. **Chirality**, v. 7, p. 44 – 52, 1995.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; ROTH, B.; FYGE, A.; HÖGLUND, P. Enantiomers of Thalidomide: Blood Distribution and Influence of Serum Albumin on Chiral Inversion and Hydrolysis. **Chirality**, v. 10, p. 223 – 228, 1998.

ERIKSSON, T.; BJÖRKMAN, S.; HÖGLUND, P. Clinical Pharmacology of Thalidomide. **European Journal of Clinical Pharmacology**, v. 57, p. 365-376, 2001.

FABBIANI, F. P. A.; ALLAN, D. R.; DAVID, W. I. F. DAVIDSON, A. J.; LENNIE, A. R.; PARSONS, S.; PULHAM, C. R.; WARREN, J. E. High-Pressure Studies of Pharmaceuticals: An Exploration of the Behavior of Piracetam. **Crystal Grow & Design**, v. 7, n. 6, p. 1115 – 1124, 2007.

FARMACOPÉIA Brasileira. 4. ed., São Paulo: Atheneu, 1988. 400 p.

FDA. U. S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, 1998. Disponível em <<http://www.fda.gov/cder/foi/label/1998/20785lbl.pdf>>. Acesso em 10.05.2007.

FDA. U. S. Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research, Rockville, 2006. Disponível em <<http://www.fda.gov/cder/Offices/OODP/whatsnew/thalidomide.htm>>. Acesso em 10.05.2007.

FORD, J. L.; TIMMINS, P. **Pharmaceutical Thermal Analysis**. Techniques and Applications. Chichester: Ellis Horwood, 1989. 313p.

FRANKS, M. E.; MACPHERSON, G. R.; FIGG, W. D. Thalidomide. **The Lancet**, v. 363, p. 1802-1811, 2004.

FUNDAÇÃO EZEQUIEL DIAS. **Bula Funed Talidomida**. Belo Horizonte, 2007. Disponível em <http://www.funed.mg.gov.br/produtos_serviços/medicamentos/bulas/pdf/Bula-Funed%20Talidomida-pdf.pdf>. Acesso em 10.05.2007.

GIORDANO, F.; GAZZANIGA, A.; MOYANO, J. R.; VENTURA, P.; ZANOL, M.; PEVERI, T.; CARIMA, L. Crystal Forms of Piroxicam Pivalate: Preparation and Characterization of Two Polymorphs. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 87, n. 3, 1998.

GIRON, D. Thermal Analysis and Calorimetric Methods in the Characterization of Polymorphs and Solvates. **Thermochimica Acta**, v. 248, p. 1 – 59, 1995.

GIRON, D. Investigations of Polymorphism and Pseudo-Polymorphism in Pharmaceutical by Combined Thermoanalytical Techniques. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 64, p. 37 – 60, 2001.

GOOSEN, C.; LAING, T. J.; PLESSIS, J.; GOOSEN, T.; FLYNN, G. Physicochemical Characterization and Solubility Analysis of Thalidomide and Its N-Alkyl Analogs. **Pharmaceutical Research**, v. 19, n. 1, p. 13 – 19, 2002.

GRANT, D. J. W.; BYRN, S. R. A Timely Re-examination of Drug Polymorphism in Pharmaceutical Development and Regulation. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 237 – 239, 2004.

GROOFF, D.; DE VILLIERS, M. M.; LIEBENBERG, W. Thermal Methods for Evaluating Polymorphic Transitions in Nifedipine. **Thermochimica Acta**, v. 454, p. 33 – 42, 2007.

GUYOT, J. C.; ARNAUD, P.; BECOURT, P.; CASSIERE, J. P.; CHULIA, D.; DUCHÊNE, D.; FERRAND, D.; GOUAIHARDOU, J.; LANGLOIS, C.; LEQUIEN, G.; MALFROID, F.; POURCELOT, Y.; RENOUX, R.; SEGOT, S.; TOURE, P. Commentaires Relatifs aux Methods Générales d'Analyse des Formes Orales Solides Récemment Introduites dans les Pharmacopées Française et Européenne Rapport d'une Commission SFSTP. **S.T.P. Pharma Pratiques**, v. 5, n. 6, p. 482 – 494, 1995.

HAGUE, D.; SMITH, R. Enigmatic Properties of (\pm) Thalidomide; an Example of a Stable Racemic Compound. **British Journal of Clinical Pharmacology**, v. 26, p. 623, 1988.

HALEBLIAN, J. K. Characterization of Habits and Crystalline Modification of Solids and Their Pharmaceutical Applications. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 64, n. 8, p. 1269 – 1288, 1975.

HAUSNER, H. H. Friction Conditions in a Mass of Metal Powder. **International Journal of Powder Metallurgy**, v. 3, n. 4, p. 7 – 13, 1967.

HENCK, J.; FINNER, E.; BURGER, A. Polymorphism of Tedisamil Dihydrochloride. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 89, n. 9, p. 1151 – 1159, 2000.

HORVAT, M.; MEŠTROVIC, E.; DANILOVSKI, A.; CRAIG, D. Q. M. An Investigation into the Thermal Behavior of a Model Drug Mixture with Amorphous Trehalose. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 294, p. 1 – 10, 2005.

IYENGAR, S. S.; PHADNIS, N. V.; SURYANARAYANAN, R. Quantitative Analysis of Complex Pharmaceutical Mixtures by the Rietveld Method. **Powder Diffraction**, v. 16, n. 1, p. 20 – 24, 2001.

KALINKOVA, G. N. Infrared Spectroscopy in Pharmacy. **Vibrational Spectroscopy**, v. 19, p. 307-320, 1999.

KARJALAINEN, M.; AIRAKSINEN, S.; RANTANEN, J.; AALTONEN, J.; YILIRUUSI, J. Characterization of Polymorphic Solid-States Changes using Variable Temperature X-Ray Powder Diffraction. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 39, p. 27 – 32, 2005.

KATRUSIAK, A. High-Pressure X-ray Diffraction Study on the Structure and Phase Transition of 1,3-Cyclohexanedione Crystals. **Acta Crystallographic**. v. 46, p. 246 – 256, 1990.

KESLEY, F. O. Thalidomide Update: Regulatory Aspects. **Teratology**, v. 38, p. 221 – 226, 1988.

KIMURA, K.; HIRAYAMA, F.; UEKAMA, K. Characterization of Tolbutamide Polymorphs (Burger's Forms II e IV) and Polymorphic Transition Behavior. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 88, n. 4, p. 385 – 391, 1999.

KINAST, E. J. **Refinamento Estrutural com o Método Rietveld: Implementação e Ensaios com o Programa FullProf®**. Porto Alegre: Curso de Pós-Graduação em Física, UFRGS, 2000. Dissertação de Mestrado.

KLUG, H. P. K.; ALEXANDER, L.E. **X-Ray Diffraction Procedures, for Polycrystalline and Amorphous Materials**, 2 ed., New York: Wiley-Interscience Publication, 1954, 966 p.

KNOCHE, K.; BLASCHKE, G. Investigation on the *in vitro* Racemization of Thalidomide by High-Performance Liquid Chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 666, p. 235-240, 1994.

KRENN, M.; GAMCSIK, M. P.; VOGELSANG, G. B.; COLVIN, O. M. Improvement in Solubility and Stability of Thalidomide upon Complexation with Hydroxypropyl- β -Cyclodextrin. **Journal of Pharmaceutical Sciences**. v. 81, p. 685-689, 1992.

KUSHIDA, I.; ASHIZAWA, K. Solid State Characterization of E2101, A Novel Antispastic Drug. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 91, n. 10, p. 2193 – 2202, 2002.

LACHMAN, L.; LIOBERMAN, H. A.; KANING, J. L. **Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica**, v. 1, Lisboa: Calouste Gulbenkian, 2001, 505p.

LANTZ, R. J.; SCHWARTZ, J. B. Mixing. In: LIEBERMAN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J. B. **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. v. 2, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 32 – 40.

LARA-OCHOA, F.; ESPINOSA PÉREZ, G.; MIJANGOS-SANTIAGO, F. Calorimetric Determinations and Theoretical Calculations of Polymorphs of Thalidomide. **Journal of Molecular Structure**, v. 840, p. 97 - 106, 2007.

LENZ, W. Malformations Caused by Drugs in Pregnancy. **American Journal of Disease Children**, v. 112, p. 99 – 106, 1966.

LI, J.; JAWORSKY, M. S.; STIRLING, D. I. The Determination of a Potential Impurity in Thalidomide Drug Substance and Product by HPLC with Indirect UV Detection. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 31, p. 19 – 27, 2003.

LIMA, L. M.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. O Renascimento de um Fármaco: Talidomida. **Química Nova**, v. 24, n. 5, p. 683-688, 2001.

MACHADO, G. **Difração de Raios-X: Princípios Físicos e Aplicações**. Apostila de acompanhamento de curso, Porto Alegre, 2005.

MANISH, M.; HARSHAL, J.; ANANT, P. Melt Sonocrystallization of Ibuprofen: Effect on Crystal Properties. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 25, p. 41 – 48, 2005.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de Medicamentos: Fundamentos, Aplicações, Aspectos Regulatórios e Perspectivas na Área Farmacêutica**. São Paulo: Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos, USP. 2003. Dissertação de Mestrado.

MARTIN, A.; BUSTAMANTE, P.; CHUN, A. H. C. **Physical Pharmacy: Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences**, 4. ed, Philadelphia: Lea & Febiger, 1993, p. 30-35.

MARTÍNEZ, P. B.; NAVARRO, M. G. Disoluciones. In: VILA JATO, J. L. (ed.). **Tecnología Farmacêutica: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacéuticos y Operaciones Básicas**, v. 1, 1. ed., Madrid: Síntesis, 2001, p. 69 – 142.

MARTÍNEZ-OHÁRRIZ, M. C.; MARTÍN, C.; GOÑI, M. M.; RODRÍGUEZ-ESPINOSA, C.; ILARDUYA-APAOLAZA, M. C.; SÁNCHEZ, M. Polymorphism of Diflunisal: Isolation and Solid-State Characteristics of a New Crystal Form. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 83, n. 2, p. 174 – 177, 1994.

MCBRIDE, W. G. Thalidomide and Congenital Abnormalities. **The Lancet**, v. 16, p. 1358, 1961.

MCCUSKER, L. B.; VON DREELE, R. B.; COX, D. E.; LOUËR, D.; SCARDI, P. Rietveld Refinement Guidelines. **Journal of Applied Crystallography**, v. 32, p. 36 – 50, 1999.

MELCHERT, M.; LIST, A. The Thalidomide Saga. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 39, p. 1489-1499, 2007.

MIYAMAE, A.; KEMA, H.; KAWABATA, T.; YASUDA, T.; OTSUKA, M.; MATSUDA, Y. X-Ray Powder Diffraction Study on the Grinding Effect of the Polymorphs of a Novel and Orally Effective Uricosuric Agent: FR76505. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 20, n. 18, p. 2881 – 2897, 1994.

MOFFAT, A. C.; OSSELTON, M. D.; WIDDOP, B. **Clarke's Analysis of Drugs and Poisons: in Pharmaceuticals, Body Fluids and Postmortem Material**. 3 ed., v. 2. London: Pharmaceutical, 2004, p. 1615 – 1616.

MUNÓZ-RUIZ, A.; VILLAR, T. P.; JUSTO, A.; VELASCO, V.; JIMÉNEZ-CASTELLANOS, R. X-Ray Tablet and Raw Diffraction as a Method to Study Compression Parameters in a Direct Compression Excipient, Compril®. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 144, p. 147 – 152, 1996.

NAKANISHI, K. **Infrared Absorption Spectroscopy**, 1 ed., Tokyo: Nankodo Company Limited, 1962, 233 p.

NIGHTINGALE, S. Thalidomide Approved for Erythema Nodosum Leprosum. **American Medical Association**, v. 280, n. 10, p. 872, 1998.

OCHOA, D. V.; ALEGRE, E. G.; DURÁN, J. T. Preformulación. In: VILA JATO, J. L. (ed.). **Tecnología Farmacêutica: Aspectos Fundamentales de los Sistemas Farmacéuticos y Operaciones Básicas**, v. 1, 1. ed., Madrid: Síntesis, 2001, p. 69 – 142.

PACHANGNULA, R.; SUNDARAMURTHY, P.; PILLAI, O.; AGRAWAL, S.; RAJ, Y. A. Solid-State Characterization of Mefenamic Acid. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 96, n. 4, p. 1019 – 1029, 2004.

PAVIA, D. L.; LAMPMAN, G. M.; KRUIZ, G. S. **Introduction to Spectroscopy**. 3 ed. Melbourne: Brooks/Cole, 2001.

PHADNIS, N. V.; SURYANARAYANAN, R. Polymorphism in Anhydrous Theophylline – Implications on the Dissolution Rate of Theophylline Tablets. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 86, n. 11, p. 1256 – 1263, 1997.

POWDER DIFFRACTION FILE (PDF) - Pattern: 19-1946. **Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS)**, 1967

RASENACK, N.; MÜLLER, B. W. Crystal Habit and Tableting Behavior. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 244, p. 45 – 57, 2002.

RASTOGI, S.; ZAKRZEWSKI, M.; SURYANARAYANAN, R. Investigation of Solid-State Reactions Using Variable Temperature X-Ray Powder Diffractometry. I. Aspartame Hemihydrate. **Pharmaceutical Research**, v. 18, n. 3, p. 267 – 273, 2001.

REEPMEYER, J. C.; RHODES, M. O.; COX, D. C.; SILVERTON, J. V. Characterization and Crystal-Structure of 2 Polymorphic Forms of Racemic Thalidomide. **Journal of the Chemical Society-Perkin Transactions**, v. 2, n. 9, p. 2063-2067, 1994.

REEPMEYER, J. C. Separation of R- and S-Thalidomide by Reversed-Phase HPLC with β -Cyclodextrin in the Mobile Phase. **Chirality**, v. 8, p. 11 – 17, 1996.

REIST, M.; CARRUPT, P.; FRANCOITTE, E.; TESTA, B. Chiral Inversion and Hydrolysis of Thalidomide: Mechanisms and Catalysis by Bases and Serum Albumin, and Chiral Stability of Teratogenic Metabolites. **Chemical Research Toxicology**, v. 11, p. 1521-1528, 1998.

REUTZEL-EDENS, S. M.; KLEEMANN, R. L.; LEWELLEN, P. L.; BORGHESE, A. L.; ANTOINE, L. J. Crystal Forms of LY334370 HCl: Isolation, Solid-State Characterization, and Physicochemical Properties. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 92, n. 6, p. 1196 – 1205, 2003.

RIETVELD, H. M. A Profile Refinement Method for Nuclear and Magnetic Structures. **Journal of Applied Crystallography**, v. 2, n. 65, p. 65 – 71, 1969.

RIPPI, M.; TANNINEN, V.; YLIRUUSI, J. Effect of Compression Force on the Crystal Properties of Erythromycin Acistrate Tablets. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 50, p. 365 – 371, 2000.

ROCHA, J. Thalidomide Given to Woman in Brazil. **British Medical Journal**, v. 308, p. 1061, 1994.

RODRIGUEZ-CARBAJAL, J. **Short Reference Guide of the Program FullProf®** Version 3.5. Disponível em <ftp://charybde.saclay.cea.fr> (1997). Acesso em 10.05.2007.

RUSTICHELLI, C.; GAMBERINI, G.; FERIOLI, V.; GAMBERINI, M. C.; FICARRA, R.; TOMMASINI, S. Solid-State Study of Polymorphic Drugs: Carbamazepine. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 23, p. 41 – 54, 2000.

SALEKI-GERHARDT, A.; AHLNECK, C.; ZOGRAFI, G. Assessment of Disorder in Crystalline Solids. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 101, p. 237 – 247, 1994.

SCHANNON, E. J.; MORALES, M. J.; SANDOVAL, F. Immunomodulatory Assays to Study Structure-Activity Relationships of Thalidomide. **Immunopharmacology**, v. 35, p. 203 – 212, 1997.

SCHUMACHER, H.; SMITH, R. L.; WILLIAMS, R. T. The Metabolism of Thalidomide: The Spontaneous Hydrolysis of Thalidomide in Solution. **British Journal of Pharmacology**, v. 25, p. 324-337, 1965.

SHAH, U. U.; DYAS, A. M.; FORD, J. L.; KIRK, G. G.; SHARMA-SINGH, G. Determination of the Intrinsic Dissolution Rate of a Poorly Soluble Drug Using Fluorescence Spectroscopy. **Biopharmaceutics**, Poster Session 3, p. S-103, 2006.

SHEALY, Y. F.; OPLIGER, C. E.; MONTGOMERY, J. A. Synthesis of D- and L-Thalidomide and Related Studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, n. 5, p. 757 – 764, 1968.

SHEKUNOV, B. Y.; YORK, P. Crystallization Process in Pharmaceutical Technology and Drug Delivery Design. **Journal of Crystal Growth**, v. 211, p. 122 – 136, 2000.

SHESKIN, J. Thalidomide in the Treatment of Lepra Reactions. **Clinical Pharmacology and Therapeutics**, v. 6, n. 3, p. 303 – 306, 1965.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug Polymorphism and Dosage Form Design: A Practical Perspective. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 56, p. 335-347, 2004.

SLEIJFER, S.; KRUIT, W. H. J.; STOTER, G. Thalidomide in Solid Tumours: The Resurrection of an Old Drug. **European Journal of Cancer**, v. 40, p. 2377-2382, 2004.

SMITHELLS, R.W. Defects and Disabilities of Thalidomide Children. **British Medical Journal**, v. 1, p. 269 – 272, 1973.

STANIFORTH, J. Análise do Tamanho de Partícula e Fluxo de Pós. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 162 – 176; 209 - 221.

STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. A. Characterization of the Solid State: Quantitative Issues. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 67 – 90, 2001.

TEO, S. K.; COLBURN, W. A.; TRACEWELL, W. G.; ; KOOK, K. A.; STIRLING, D. I.; JAWORSKY, M. S.; SCHEFFLER, M. A.; THOMAS, S. D.; LASKIN, O. L. Clinical Pharmacokinetics of Thalidomide. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 43, n. 5, p. 311 – 327, 2004a.

TEO, S. K.; DENNY, K. H., STIRLING, D. I., THOMAS, S. D., MORSETH, S.; HOBERMAN, A. M. Effects of Thalidomide on Developmental, Peri- and Postnatal Function in Female New Zealand White Rabbits and Offspring. **Toxicological Sciences**, v. 81, n. 2, p. 379 – 389, 2004b.

THOMPSON, C.; DAVIES, M. C.; ROBERTS, C. J.; TENDLER, S. J. B.; WILKINSON, M. J. The Effects of Additives on the Growth and Morphology of Paracetamol (acetaminophen) Crystals. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 280, p. 137 – 150, 2004.

TIWARY, A. K. Modification of Crystal Habit and Its Role in Dosage Form Performance. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 27, n. 7, p. 699 – 709, 2001.

TOSCANI, S. An Up-To-Date Approach to Drug Polymorphism. **Thermochemica Acta**, v. 321, P. 73 – 79, 1998.

USP 29. **The United States Pharmacopoeia**. 29 ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2006, 3013 p.

USP THALIDOMIDE REFERENCE STANDARDS. **United States Pharmacopoeia**. Disponível em <<http://www.usp.org/pdf/EN/referenceStandards/msds/1652500.pdf>>. Acesso em 10.05.2005.

VIPPAGUNTA, S. R.; BRITAIN, H. G.; GRANT, D. J. W. Crystalline solids. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 48, p. 3 – 26, 2001.

WADKE, D. A.; SERAJUDDIN, A. T. M.; JACOBSON, H. Preformulation Testing. In: LIEBERMAN, H. A.; LACHMAN, L.; SCHWARTZ, J. B. **Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets**. v. 1, 2 ed. New York: Marcel Dekker, 1990, p. 1 – 69.

WEBB, P. A.; ORR, C. **Analytical Methods in Fine Particle Technology**, Norcross: Micromeritics Instrument Corporation, 1997, p. 5 – 6; 53 – 153.

WELLS, J. Pré-formulação Farmacêutica. In: AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005, p. 125 – 148.

WEST, A. R. **Solid State Chemistry and its Applications**. Chichester: John Wiley & Sons, 1984, 357 p.

WOOD, J. H.; SYARTO, J. E.; LETTERMAN, H. Improved Holder for Intrinsic Dissolution Rate Studies. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 54, p. 1068, 1965.

YAMAMURA, S.; MOMOSE, Y.; Physicochemical Characterization of Naproxen and Griseofulvin Crystals by X-Ray Powder Diffraction. **Pharmaceutical Research**, v. 13, p. 347, 1996.

YOSHINARI, T.; FORBES, R. T.; YORK, P.; KAWASHIMA, Y. The Improved Compaction Properties of Mannitol Alter a Moisture-Induced Polymorphic Transition. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 258, p. 121 – 131, 2003.

YU, L. X.; CARLIN, A. S.; AMIDON, G. L. HUSSAIN, A. S. Feasibility Studies of Utilizing Disk Intrinsic Dissolution Rate to Classify Drugs. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 270, p. 221 – 227, 2004.

Tabela A1. Valores de 2θ ($^\circ$), intensidades relativas (%) e distâncias interplanares (d) (\AA) para o fármaco talidomida, calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas referidos pela literatura.

Referência	2θ ($^\circ$)	Intensidade (%)	d (\AA)
Talidomida polimorfo α (REEPMEYER <i>et al.</i> , 1994)	11,33	100	7,80
	14,32	10,71	6,18
	19,20	28,68	4,62
	22,77	12,17	3,90
	26,12	5,67	3,40
	30,36	5,53	2,94
Talidomida (PDF, 19-1946)	11,33	100	7,80
	14,34	85	6,17
	19,23	50	4,61
	22,90	40	3,88
	26,11	55	3,41
	30,37	35	2,94
Talidomida polimorfo β (REEPMEYER <i>et al.</i> , 1994)	11,78	44	7,50
	12,96	100	6,82
	13,75	56,68	6,43
	17,06	28,76	5,19
	19,26	26,62	4,60
	24,06	28,22	3,69
	25,73	52,21	3,46
	29,05	40,11	3,07
	29,29	27,40	3,04

Tabela A2. Valores de 2θ ($^\circ$), intensidades relativas (%) e distâncias interplanares (d) (\AA) para as amostras de talidomida, calculados a partir de picos característicos, gerados por difratogramas obtidos neste trabalho.

Matéria-prima	2θ ($^\circ$)	Intensidade (%)	d (\AA)
T ₁	11,37	100	7,78
	14,40	8,57	6,14
	19,28	23,62	4,60
	22,90	11,33	3,88
	26,20	7,43	3,39
	30,37	6,01	2,94
T ₂	11,33	100	7,80
	14,39	17,49	6,15
	19,20	24,70	4,62
	22,86	9,81	3,88
	26,16	9,92	3,40
	30,41	8,82	2,93
T ₃	11,37	100	7,78
	14,40	14,31	6,14
	19,20	30,18	4,62
	22,86	9,88	3,88
	26,16	10,55	3,40
	30,33	7,88	2,94
T ₄	11,89	100	7,44
	13,00	67,65	6,80
	13,80	15,89	6,41
	17,13	30,47	5,17
	19,32	17,92	4,59

Cont.

Anexos

T_4	24,17	49,84	3,68
	25,76	33,65	3,45
	29,42	22,28	3,03
T_{5a} (picos característicos para polimorfo α)	11,33	100	7,80
	14,36	47,05	6,16
	19,16	73,81	4,62
	22,86	27,26	3,88
	26,12	40,31	3,40
	30,33	38,60	2,94
T_{5b} (picos característicos para polimorfo β)	11,81	6,90	7,49
	12,92	7,14	6,84
	13,76	7,24	6,43
	17,09	7,73	5,18
	25,72	13,64	3,46
T_6	11,33	100	7,80
	14,35	41,61	6,16
	19,16	33,15	4,62
	22,86	21,17	3,88
	26,12	24,81	3,40
	30,34	16,80	2,94
T_7	11,30	100	7,82
	14,40	24,86	6,14
	19,24	55,52	4,60
	22,86	34,12	3,88
	26,16	15,34	3,40
	30,37	9,86	2,94

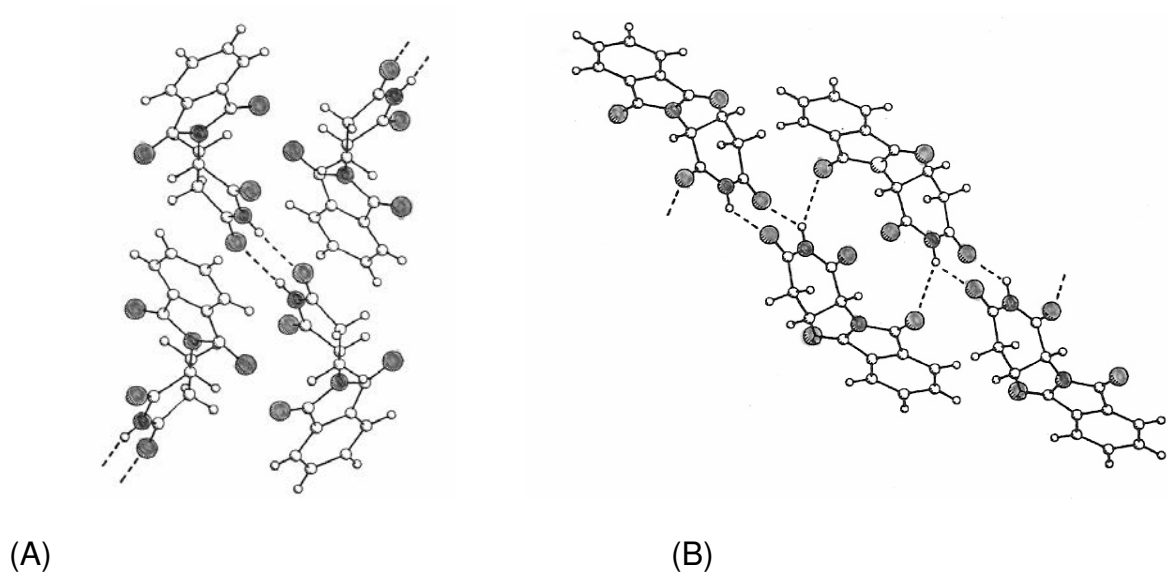


Figura A1. Projeções do empacotamento molecular dos polimorfos de talidomida: A = Polimorfo α e B = Polimorfo β (CAIRA *et al.*, 1994).

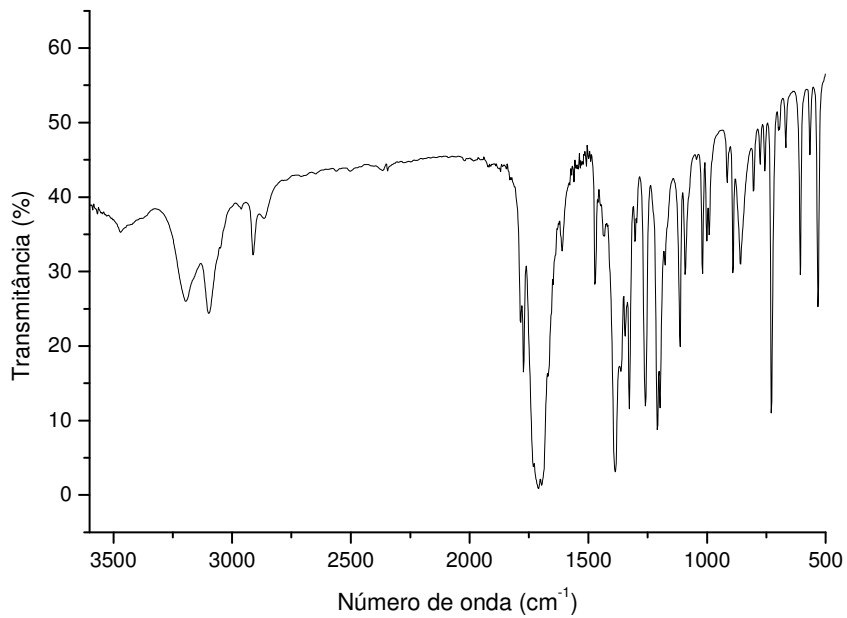


Figura A2. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₂.

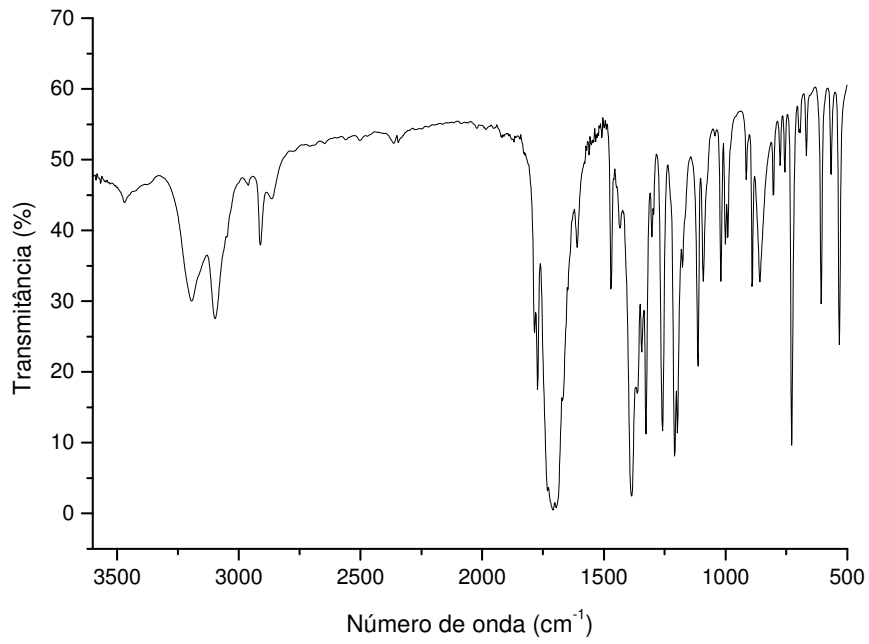


Figura A3. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₃.

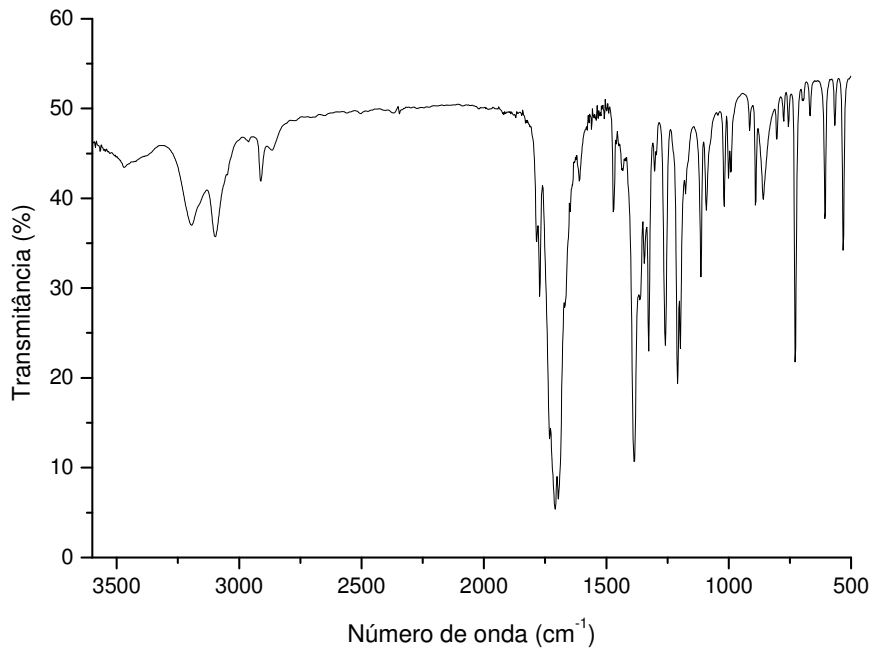


Figura A4. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₆.

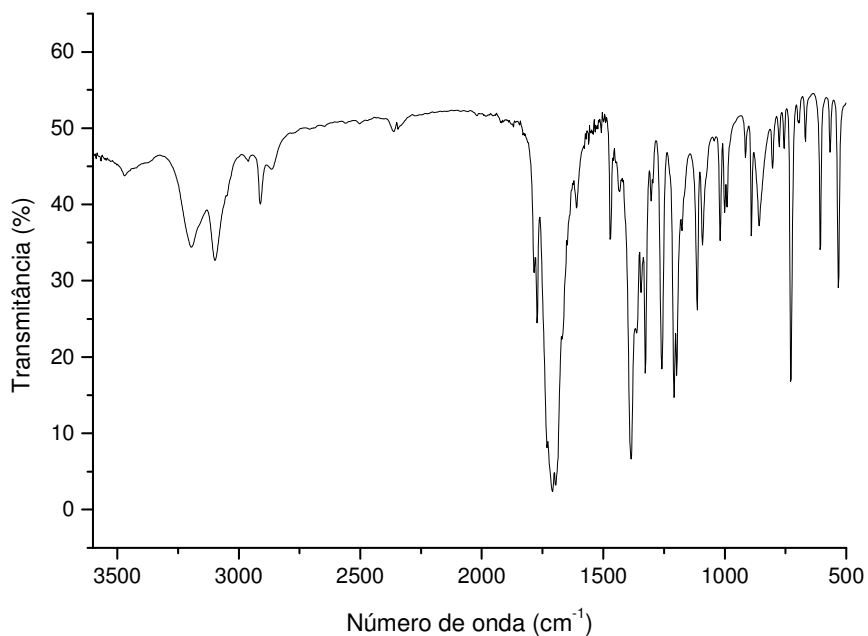


Figura A5. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₇.

Tabela A3. Bandas características diferenciadas observadas para os dois polimorfos de talidomida, obtidas de espectros na região do infravermelho referenciados pela literatura (REEPMEYER *et al.*, 1994).

Polimorfo	Análise espectral (KBr/cm ⁻¹) (NAKANISHI, 1962; PAVIA, 2001)	
	ν N-H	δ C-H
Polimorfo α	3196; 3098	859
Polimorfo β	3277	755

Tabela A4. Bandas características diferenciadas observadas para as amostras de talidomida, obtidas de espectros na região do infravermelho em análises desenvolvidas neste trabalho.

Matéria-prima	Análise espectral (KBr/cm ⁻¹) (NAKANISHI, 1962; PAVIA, 2001)	
	ν N-H	δ C-H
Padrão USP	3197; 3098	855
T ₁	3191; 3091	856
T ₂	3196; 3096	852
T ₃	3195; 3091	852
T ₄	3278	759
T ₅	3195; 3091	852
T ₆	3195; 3099	853
T ₇	3195; 3098	853

Tabela A5. Comparação entre parâmetros estruturais dos polimorfos α (ALLEN e TROTTER, 1971) e β (REEPMEYER *et al.*, 1994) de talidomida racêmica.

Parâmetro*	Polimorfo	
	α	β
a (Å)	8,233	20,741
b (Å)	10,070	8,072
c (Å)	14,865	14,216
β (°)	102,53	102,78
V (Å ³)	1203,0	2321,1
D (g/cm ³)	1,425	1,48
Grupo espacial	P2 ₁ /n	C2/c
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico

* Onde os vetores a, b e c e o ângulo β são parâmetros de rede da célula unitária, V é o volume e D a densidade da célula unitária.

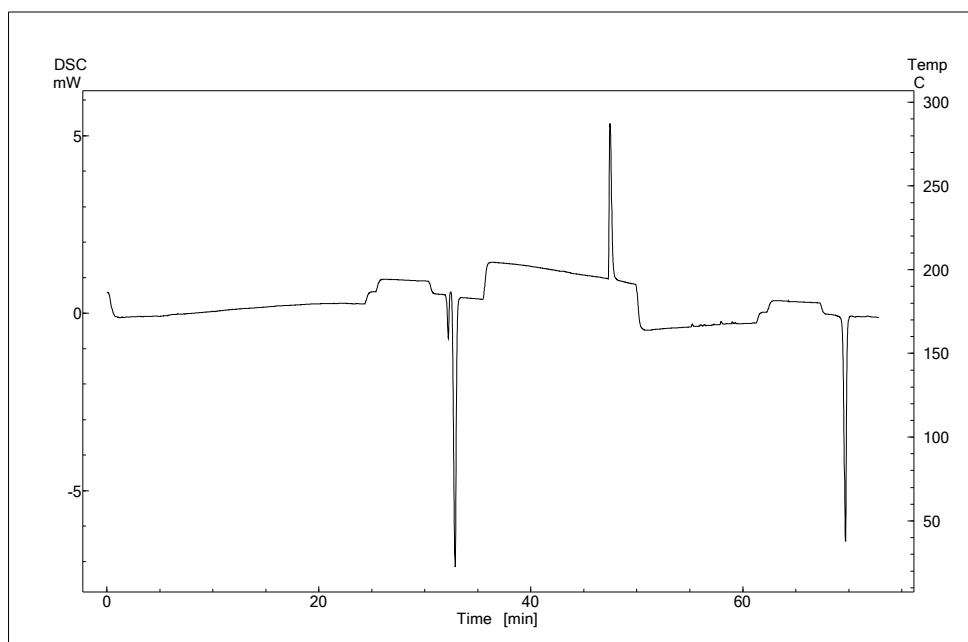


Figura A6. Termograma obtido por DSC para amostra T₁, onde primeiramente a amostra foi aquecida até a fusão (T_{onset} : 272,20 °C; ΔH : 11,03 J/g e T_{onset} : 275,01 °C; ΔH : 104,29 J/g), seguido de resfriamento do sistema e recristalização da amostra (T_{onset} : 174,89 °C; ΔH : 59,04 J/g), posteriormente submissão da amostra recristalizada ao aquecimento, até a fusão (T_{onset} : 274,97 °C; ΔH : 74,65 J/g)³⁴.

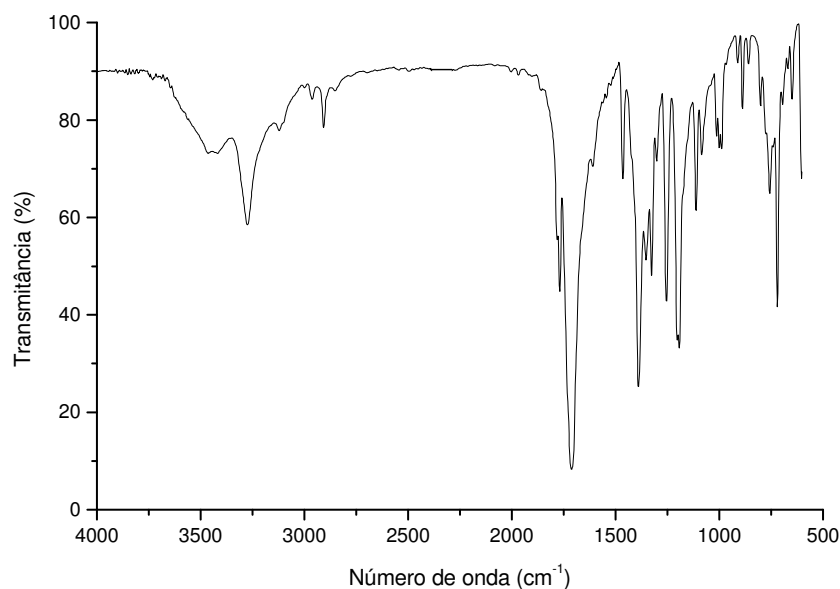


Figura A7. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₁ recrist.

³⁴ A entalpia envolvida durante a fusão do produto recristalizado é menor do que a relatada para a fusão do polimorfo β devido a perda de amostra durante os eventos envolvidos, provavelmente pela sublimação de parte do material analisado, como já citado por CAIRA e colaboradores (1994).

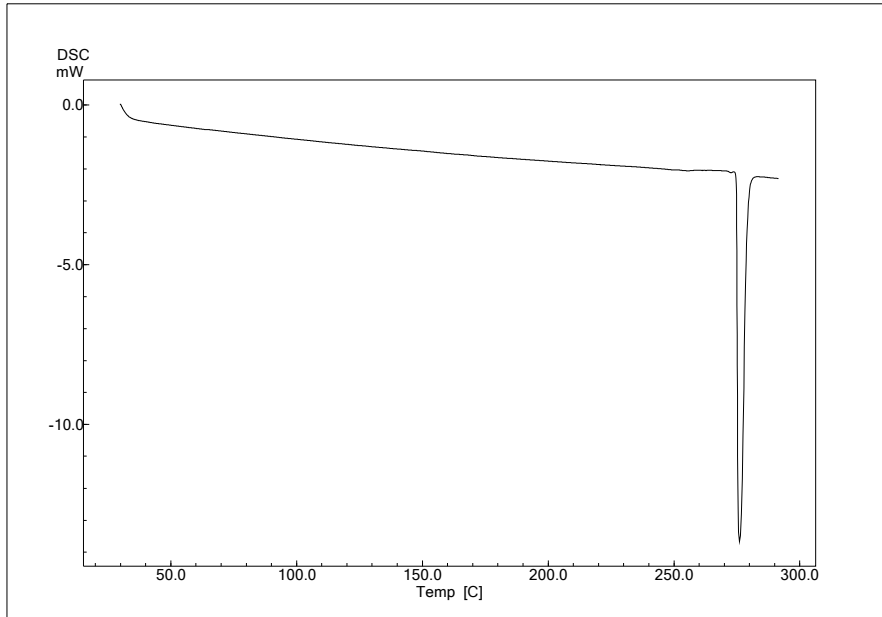


Figura A8. Termograma obtido por DSC para a amostra T₇, após passar por um processo de trituração (T_{onset} : 274,86 °C; ΔH : 149,37 J/g).

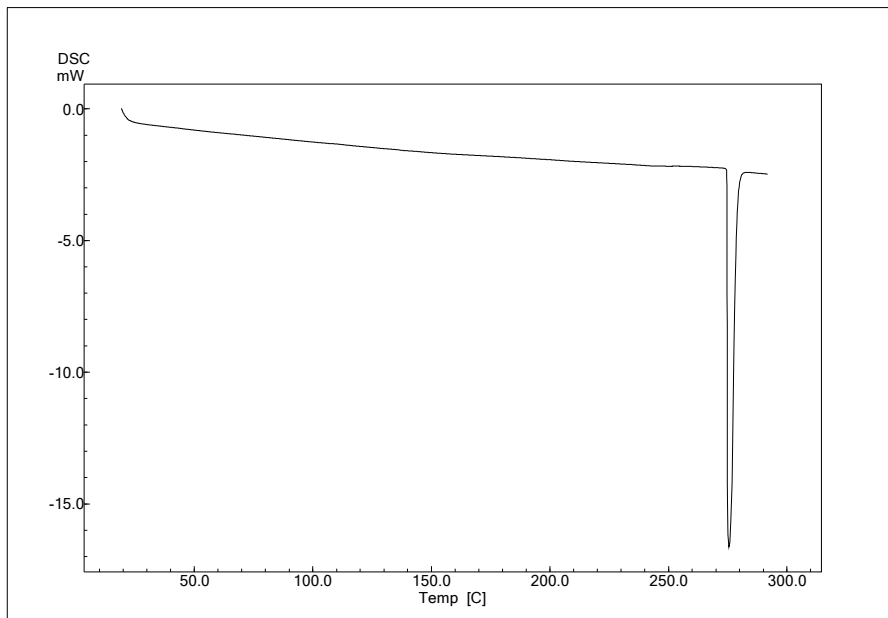


Figura A9. Termograma obtido por DSC para a amostra T₁, após passar por um processo de trituração (T_{onset} : 274,80 °C; ΔH : 141,70 J/g).

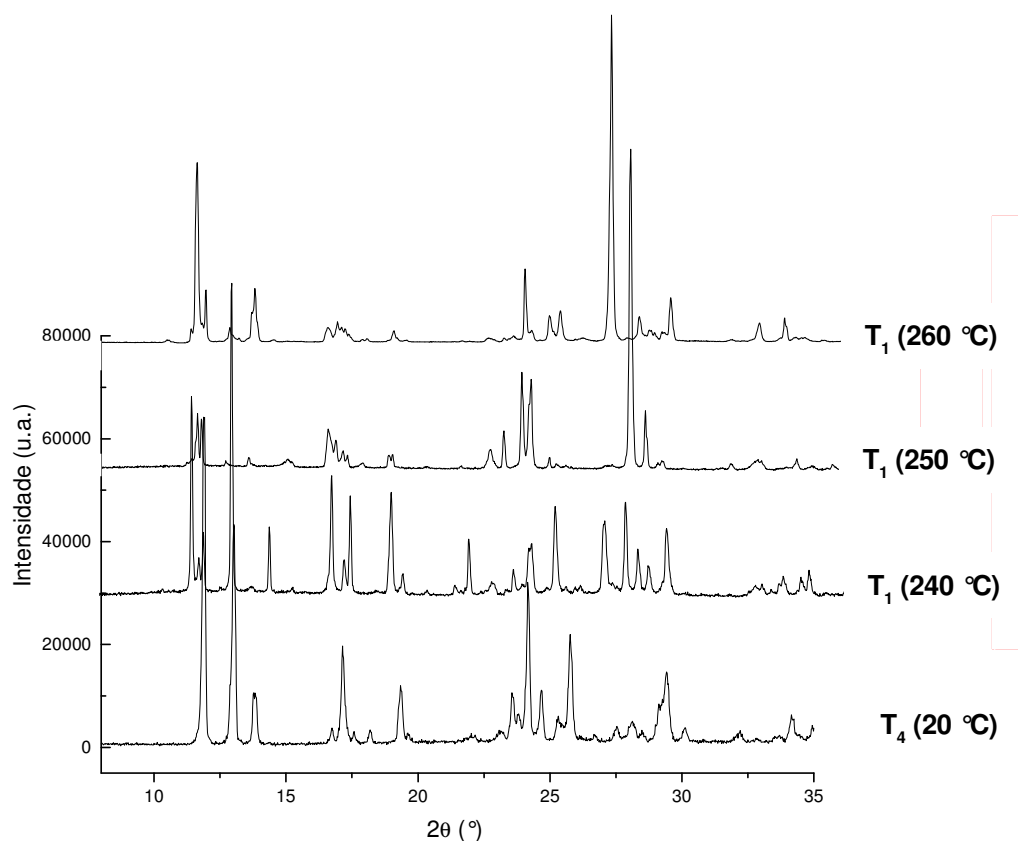


Figura A10. Difractogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T_1 comparados ao difratograma da amostra T_4 (temperatura ambiente).

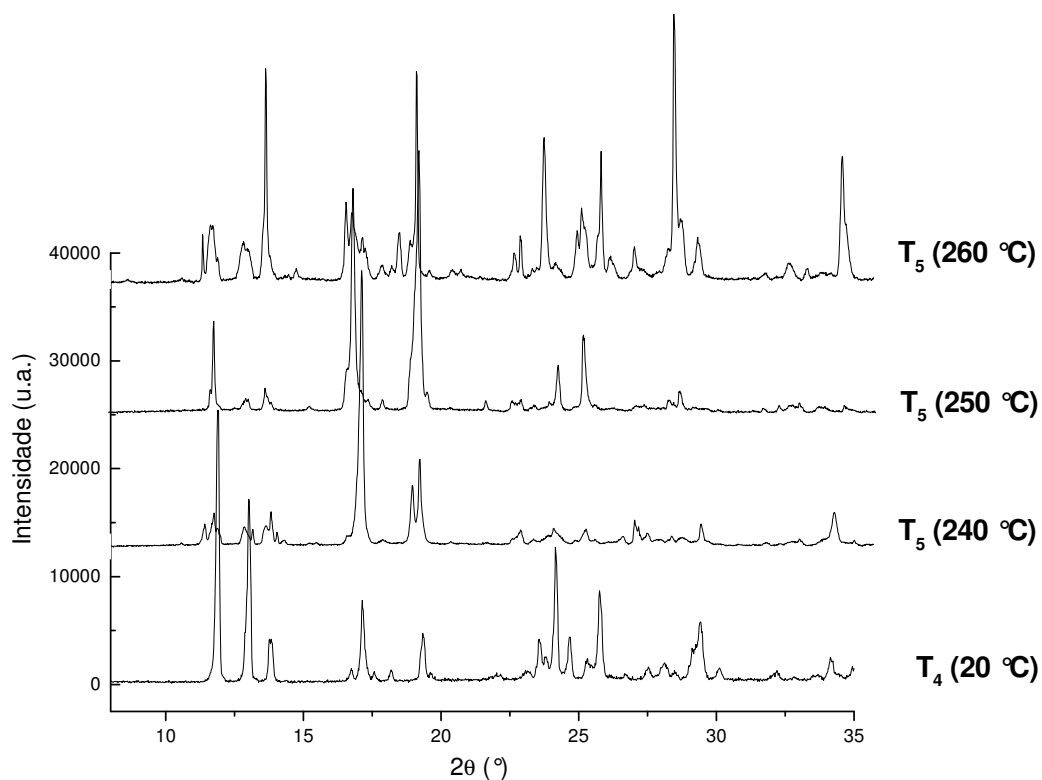


Figura A11. Difractogramas obtidos a partir de análises por DRX-VT para a amostra T_5 comparados ao difratograma da amostra T_4 (temperatura ambiente).

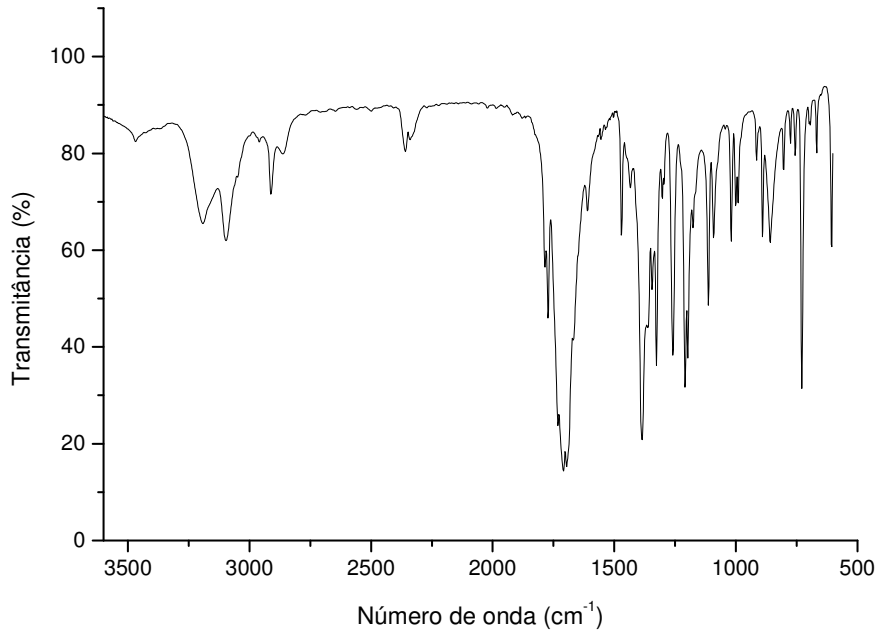


Figura A12. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₁ após ser submetida à compactação.

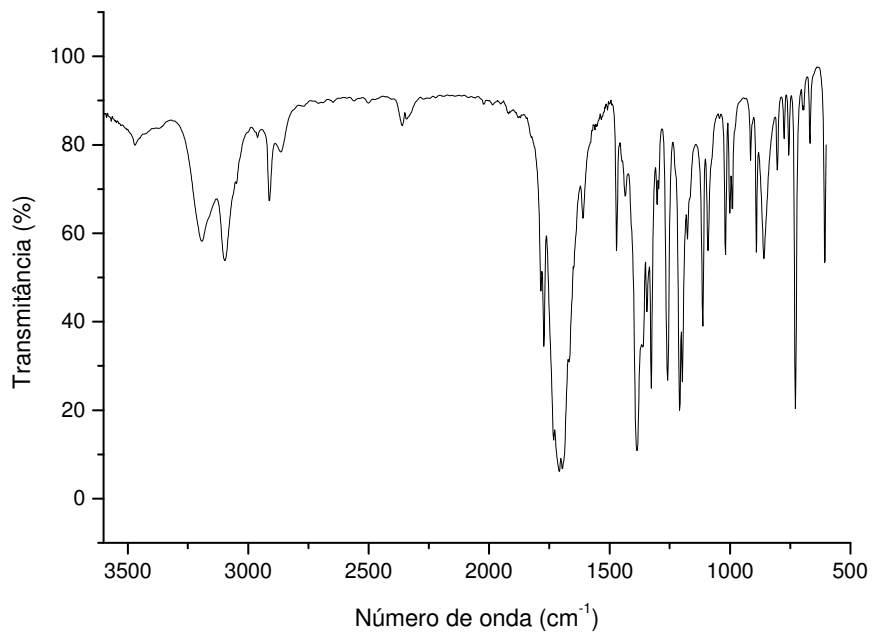


Figura A13. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₂ após ser submetida à compactação.

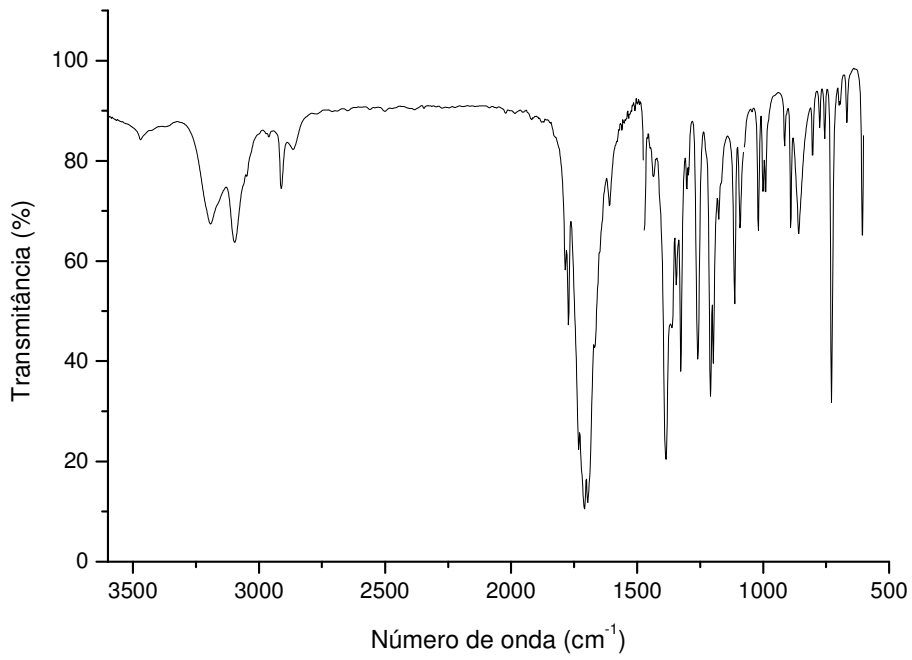


Figura A14. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₃ após ser submetida à compactação.

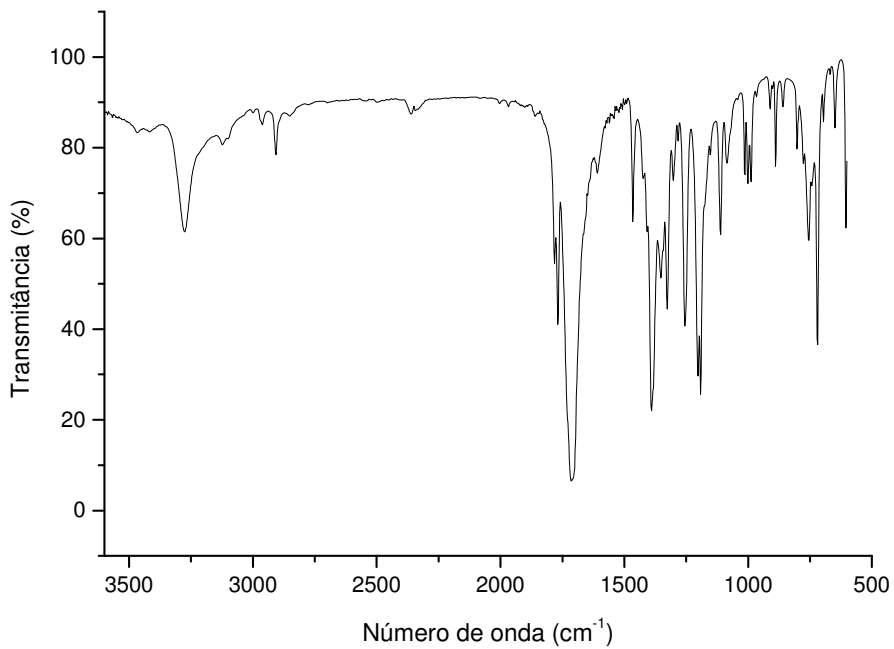


Figura A15. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₄ após ser submetida à compactação.

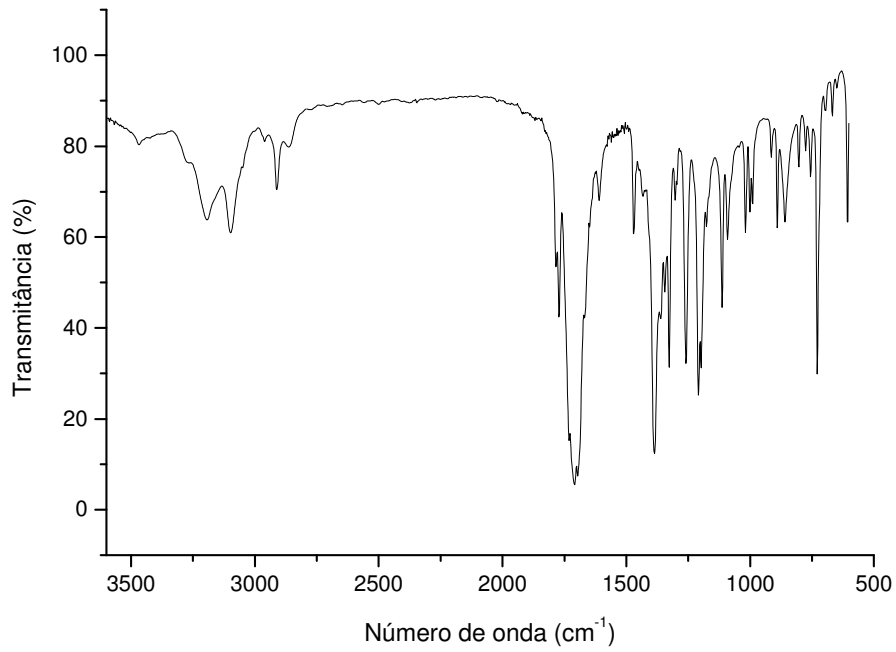


Figura A16. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₅ após ser submetida à compactação.

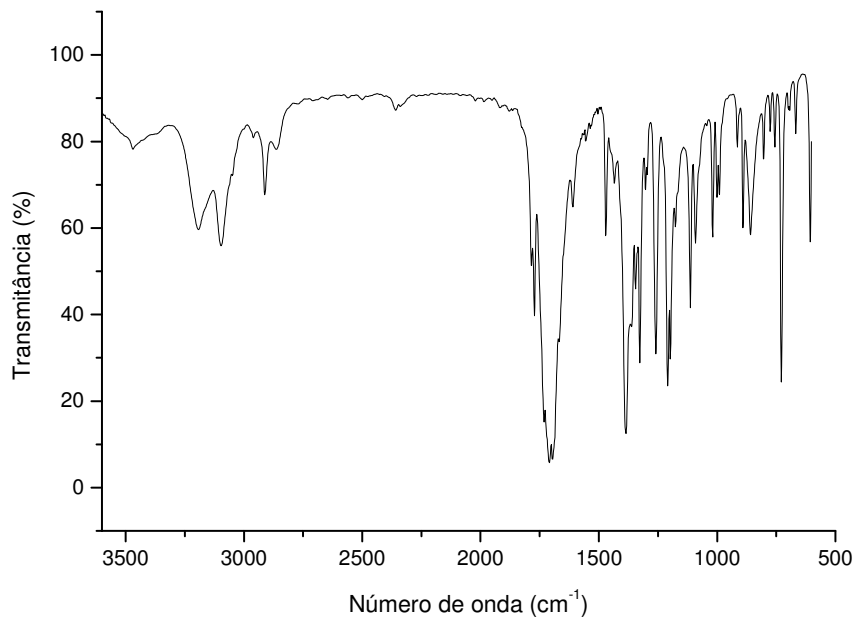


Figura A17. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₆ após ser submetida à compactação.

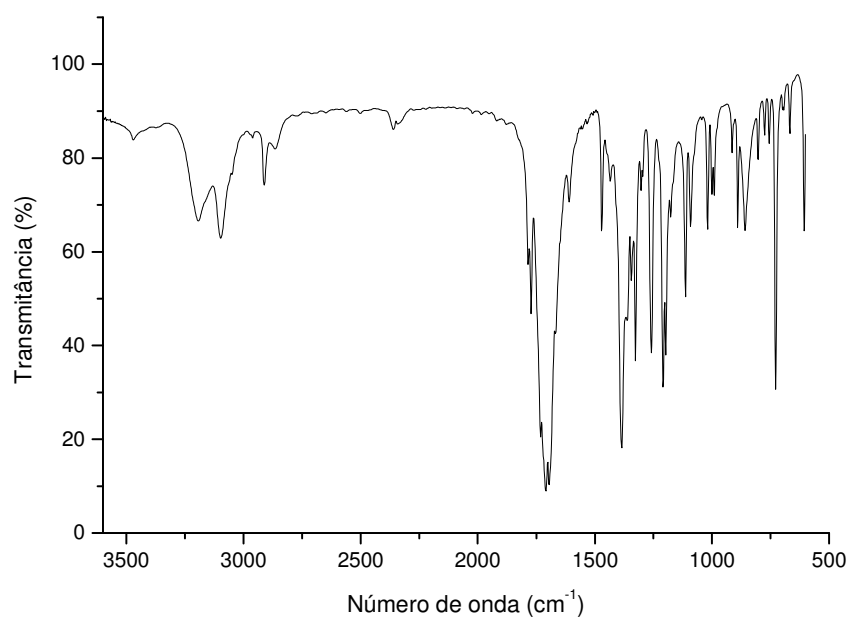


Figura A18. Espectro na região do infravermelho para a amostra T₇ após ser submetida à compactação.