

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

Estudo da cristalização, caracterização polimórfica e influência sobre a dissolução *in vitro* do tenoxicam em insumos e produtos farmacêuticos disponíveis no mercado nacional

ALINE TAIS FRIES

Porto Alegre, 2015.

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

Estudo da cristalização, caracterização polimórfica e influência sobre a dissolução *in vitro* do tenoxicam em insumos e produtos farmacêuticos disponíveis no mercado nacional

Dissertação apresentada por **Aline Tais Fries** para a obtenção do GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Martin Steppe
Coorientador: Prof. Dr. Vitor Paulo Pereira

Porto Alegre, 2015.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 26 de Março de 2015, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Andreas Sebastian Loureiro Mendez
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Clésio Soldateli Paim
Universidade Federal do Pampa

Profa. Dra. Elfrides Eva Scherman Schapoval
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

CIP - Catalogação na Publicação

Fries, Aline Tais

Estudo da cristalização, caracterização polimórfica e influência sobre a dissolução in vitro do tenoxicam em insumos e produtos farmacêuticos disponíveis no mercado nacional / Aline Tais Fries. -- 2015.
118 f.

Orientador: Martin Steppe.

Coorientador: Vitor Paulo Pereira.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre, BR-RS, 2015.

1. Polimorfismo. 2. Tenoxicam. 3. Insumos Farmacêuticos Ativos. 4. Especialidades Farmacêuticas. I. Steppe, Martin, orient. II. Pereira, Vitor Paulo, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

*Meine Welt ist einfach und rund.
Manchmal wie ein Zirkus so bunt.
Tausend Farben, tausend Gefühle.
Tausend Träume fliegen im Wind.*

*Meine Welt hat Schatten und Licht.
Mein Zuhause ist alles für mich.
Eine heile Welt voll Vertrauen.
Das ist Glück und mehr brauch ich nicht.*

Helene Fischer

AGRADECIMENTOS

A Deus e a Nossa Senhora, pela família que me ama e pela proteção divina que tenho todos os dias.

A todos os meus familiares, em especial aos meus pais Eldon e Liane, que me transmitiram o amor pelo campo e pela vida, e por serem meu exemplo de luta e coragem. E também ao meu querido irmão e amigo, Júlio.

Ao José Luciano, pelo carinho, amor e compreensão durante essa etapa.

Ao Dr. Martin Steppe e ao Dr. Vitor Paulo Pereira, sinceros agradecimentos pela orientação, amizade e pelo exemplo de competência e dedicação à vida acadêmica.

Aos colegas e professores do Laboratório de Ensino e Pesquisa em Controle de Qualidade da Faculdade de Farmácia, pelo companheirismo e ensinamentos.

Ao colega Rodolfo Ortigara pela cedência de amostras, necessárias para a realização desse trabalho.

Às meninas da iniciação científica, Sarah Campanharo Chagas e Natália Olegário, pelo auxílio nos experimentos.

Aos colegas de mestrado, em especial à Silvana Azambuja Baréa, Rafael Gomes von Borowski, Daiane Flores Dalla Lana, Ticiane Krapf Boschetti, Natalia Mucci Mendonça, Fernando Olinto Carreño, Lua Ferreira Panatieri, Lucélia Albarello Balestrin, Thaís Franciele Maito, Juliana Emanuelli, Jéssica Gil Knobloch, Maurício Barancelli Schwedersky e Rosana Fernanda Fogaça, pela gratificante amizade ao longo deste trabalho.

Aos funcionários da Faculdade de Farmácia, Mariana, Lorena, Letícia, Geni e Marquinhos pela amizade e auxílio.

À Capes e CNPq pelo apoio financeiro.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	XI
LISTA DE FIGURAS	XIII
LISTA DE QUADROS	XV
LISTA DE TABELAS	XVII
RESUMO	XIX
ABSTRACT	XXI
1. INTRODUÇÃO	23
2. OBJETIVOS	27
2.1 <i>Objetivos Gerais</i>	29
2.1 <i>Objetivos Específicos</i>	29
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
3.1 Propriedades do Estado Sólido e Definições	33
3.2 Implicações do Polimorfismo.....	35
3.3 Tenoxicam	36
3.3.1 Preparo dos Polimorfos do Tenoxicam	39
3.4 Caracterização das Formas Polimórficas.....	41
3.4.1 Análises por Difração de Raios X	41
3.4.2 Análises Espectrofotométricas	44
3.4.3 Análises Térmicas.....	45
3.4.4 Perfil de Dissolução <i>in vitro</i>	46
4. MATERIAL E MÉTODOS	51
4.1 Substância Química de Trabalho (SQT).....	53
4.2 Insumos Farmacêuticos Ativos	53
4.3 Especialidades Farmacêuticas	53
4.4 Polimorfos do Tenoxicam	54
4.5 Análises por Difração de Raios X (DRX)	55
4.6 Análises Espectrofotométricas por Infravermelho (IV)	56
4.7 Análises Térmicas.....	56

4.8 Determinação do peso médio	56
4.9 Análises Espectrofotométricas por Ultravioleta/Visível (UV/Vis)	57
4.9.1 Identificação da SQT	57
4.9.2 Doseamento	57
4.9.2.1 Preparo da solução padrão	57
4.9.2.2 Preparo das amostras	58
4.10 Testes de Perfil de Dissolução.....	58
4.10.1 Preparo da solução padrão	59
4.10.2 Meio de Dissolução	59
4.10.3 Co-validação do Método de Dissolução	59
4.10.3.1 Especificidade.....	59
4.10.3.2 Linearidade	61
4.10.3.3 Exatidão e Precisão.....	61
4.10.4 Avaliação do Perfil de Dissolução <i>in vitro</i>	62
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	63
5.1 Análises por Difração de Raios X	65
5.1.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (STQ)	65
5.1.2 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam	66
5.1.3 Análise dos insumos farmacêuticos ativos	73
5.1.4 Análise das especialidades farmacêuticas	74
5.2 Análises Espectrofotométricas por IV	77
5.2.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (STQ)	77
5.2.2 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam	79
5.2.3 Análise dos insumos farmacêuticos ativos do Tenoxicam	80
5.3 Análise Térmica por DSC	81
5.3.1 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam	81
5.4 Determinação do peso médio	82
5.5 Análises Espectrofotométricas por ultravioleta/visível (UV/Vis)	83
5.5.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (STQ)	83
5.5.2 Doseamento	84
5.6 Testes de Perfil de Dissolução.....	85
5.6.1 Co-validação do Método de Dissolução.....	85

5.6.1.1 Especificidade.....	85
5.6.1.2 Linearidade	86
5.6.1.3 Exatidão e Precisão	87
5.6.2 Avaliação do Perfil de Dissolução <i>in vitro</i>	87
6. CONCLUSÕES.....	95
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	99
8. ANEXOS	113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido araquidônico
AINE	Anti-inflamatórios não-esteróides e não-narcóticos
ANOVA	Análise de Variância
API	<i>Active pharmaceutical ingredient</i>
COX	Ciclo-oxigenase
CV	Coefficiente de Variação
DP	Desvio-padrão
DPR	Desvio-Padrão Relativo
DRX	Difração de raios X
DRXM	Difração de raios X em monocristal
DRXP	Difração de raios X em pó
DSC	Calorimetria exploratória diferencial
ED%	Eficiência de dissolução
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
ICH	<i>International Conference on Harmonisation</i>
ICDD	<i>International Centre for Diffraction Data</i>
IV	Espectrofotometria na região do infravermelho
JCPDS	<i>Joint Committee on Powder Diffraction Standards</i>
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
LX	Lipoxigenase
PIT	Transformações Induzidas por Processamento
Qt	Quantidade dissolvida em determinado tempo
SCB	Sistema de Classificação Biofarmacêutico
SQR	Substância química de referência
SQT	Substância química de trabalho
TXA ₂	Tromboxano A ₂

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação de estruturas cristalina e amorfa	33
Figura 2 – Representação estrutural do Tenoxicam	38
Figura 3 - Estruturas possíveis do tenoxicam: (A) cetônica; (B) enólica; (C) zwitteriônica....	38
Figura 4 - Comparação do difratograma do tenoxicam SQT com as formas I, II, III e IV de Cantera, Leza e Bachiller (2002).....	65
Figura 5 - Comparação do difratograma do tenoxicam SQT com a forma I e III de Patel <i>et al.</i> (2012)	66
Figura 6 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e II de tenoxicam	67
Figura 7 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e III de tenoxicam	68
Figura 8 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e IV de tenoxicam	69
Figura 9 - Comparação dos difratogramas dos compostos cristalino das formas II e III de tenoxicam	70
Figura 10 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas II e IV de tenoxicam	70
Figura 11 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas III e IV de tenoxicam	71
Figura 12 - Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas formas I, II, III e IV como o tenoxicam SQT	72
Figura 13 - Comparação entre os difratogramas de insumos farmacêuticos ativos de tenoxicam e SQT	74
Figura 14 - Comparação entre os difratogramas dos placebos das especialidades farmacêuticas	75
Figura 15 - Comparação entre os difratogramas das especialidades farmacêuticas e SQT	76
Figura 16 - Espectro do tenoxicam (SQT) na região do IV (600 a 4000 cm^{-1}).....	78
Figura 17 - Espectro do tenoxicam (SQR) na região do IV (650 a 4000 cm^{-1}) (EUROPEAN PHARMCOPÉIA, 2013)	78
Figura 18 - Espectro no IV (600 a 4000 cm^{-1}) das formas cristalinas do tenoxicam.....	80
Figura 19 - Espectro de IV (600 a 4000 cm^{-1}) para os insumos farmacêuticos do tenoxicam .	81

Figura 20 - Perfil térmico das amostras recristalizadas de tenoxicam em atmosfera de nitrogênio 50 ml/min com taxa de aquecimento de 10 °C/min	82
Figura 21 - Espectro UV/Vis (200 - 400 nm) do tenoxicam SQT em acetonitrila.....	83
Figura 22 - Avaliação da especificidade de tenoxicam SQT confrontada com amostras de placebos dos laboratórios farmacêuticos VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3.	85
Figura 23 - Representação gráfica da curva padrão de tenoxicam obtida por UV (368 nm) em meio tampão fosfato de potássio monobásico pH 6,8	86
Figura 24 - Representação gráfica do perfil de dissolução do medicamento tenoxicam em diferentes laboratórios farmacêuticos VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3	88
Figura 25 - Representação gráfica da dissolução particulada de quatro fornecedores do insumo tenoxicam representados pelas siglas CT0, GTE1, STE2 e NTE3.....	93

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Apresentação dos procedimentos empregados para o preparo de polimorfos do fármaco tenoxicam	40
Quadro 2 - Representação das equações dos modelos independente e dependente	48
Quadro 3 - Relação de insumos farmacêuticos avaliados e sua origem	53
Quadro 4 - Descrição dos lotes de quatro especialidades farmacêuticas de tenoxicam	54
Quadro 5 - Formulações comerciais acompanhados de proporções simuladas de placebo	60
Quadro 6 - Frequências de absorção das principais bandas no infravermelho e suas respectivas atribuições para o fármaco tenoxicam	79

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Especificações do Difratômetro Siemens D-5000.....	55
Tabela 2 - Valores de T_{Peak} (°C) e ΔH (J.g ⁻¹) obtidas de amostras recristalizadas de tenoxicam	82
Tabela 3 - Variação de peso dos lotes de tenoxicam testados.....	83
Tabela 4 - Resultados dos doseamentos dos lotes contendo tenoxicam 20 mg.....	84
Tabela 5 - Análise de variância dos valores obtidos para a curva padrão do tenoxicam SQR obtido por método espectrofotométrico por UV	86
Tabela 6 - Resultados referentes a exatidão do método de dissolução por UV, realizado através do método de adição da SQT	87
Tabela 7 - Resultados referentes a precisão do método de dissolução por UV.....	87
Tabela 8 - Resultados médios obtidos no estudo do perfil de dissolução do medicamento tenoxicam em diferentes laboratórios nos tempos 2, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos.....	88
Tabela 9 - Valores de f_1 e f_2 resultantes das comparações entre as especialidades farmacêuticas.....	89
Tabela 10 - Coeficientes de determinação (R^2) e valores de MSC obtidos dos perfis de dissolução de comprimidos contendo tenoxicam	90
Tabela 11 - Constante de liberação (k), tempo de meia-vida ($t_{50\%}$) e quantidade liberada em 45 minutos (Q_{45}), segundo a equação da reta ajustada pelo modelo de ordem zero, dos comprimidos de tenoxicam.....	90
Tabela 12 - Resultados médios obtidos no estudo do perfil de dissolução particulada dos insumos farmacêuticos do tenoxicam.....	92

RESUMO

O polimorfismo é um fenômeno relativamente comum entre os compostos farmacêuticos, e um dos principais problemas na produção e desenvolvimento de medicamentos. Sua presença pode acarretar prejuízos para a saúde da população e forte impacto econômico para as indústrias farmacêuticas ao influenciar diretamente nas propriedades mecânicas e biofarmacêuticas de insumos e produtos acabados. A investigação de polimorfismo associado aos oxicams, grupo pertencente à classe dos fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs), sofreu um incremento nos últimos anos, e para o fármaco tenoxicam relata-se a existência de quatro formas polimórficas na literatura. O objetivo deste trabalho foi caracterizar a presença de diferentes formas polimórficas de tenoxicam em insumos farmacêuticos ativos e formulações farmacêuticas orais e avaliar a influência sobre a dissolução *in vitro*. Com base na literatura, a análise inicial com a substância química de trabalho (SQT) demonstrou padrão difratométrico forma III. Diferentes condições para formação de formas polimórficas de tenoxicam foram aplicadas conforme Cantera *et al.* (2002), contudo, os diferentes processos de preparação de polimorfos do tenoxicam não conduziram a modificações na estrutura cristalina original da SQT. Dados complementares foram obtidos através da espectrofotometria no IV e DSC, que indicaram a inexistência de modificações no espectro original e ausência de eventos térmicos atípicos. A caracterização dos insumos farmacêuticos do tenoxicam, provenientes de diferentes fornecedores, por IV, DRX e perfil de dissolução indicou presença da estrutura cristalina (forma III), sem apresentar diferenças significativas entre os perfis de dissolução *in vitro*. As especialidades farmacêuticas do tenoxicam disponíveis no mercado nacional, ao serem submetidas à análise por DRX, também apresentaram estruturas cristalinas forma III. Apesar de ocorrer perfis de dissolução diferentes entre as formulações, estas não apresentaram comprometimento em sua qualidade. Contudo, muitas vezes as transformações pós-processamento podem induzir a alterações na estrutura cristalina e por consequência, problemas biofarmacêuticos. Tal fato demonstra a importância do estudo do polimorfismo, ao avaliar e correlacionar a presença de estruturas cristalinas com alterações na qualidade e desempenho de insumos e produtos farmacêuticos.

Palavras-chave: polimorfismo, tenoxicam, insumos farmacêuticos ativos, especialidades farmacêuticas.

ABSTRACT

Polymorphism is a relatively common phenomenon among pharmaceutical compounds, and one of the main problems in producing and developing drugs. Its presence may harm people's health and have a strong economic impact on the pharmaceutical industries by directly influencing the mechanical and biopharmaceutical properties of inputs and finished products. The investigation of polymorphism associated with oxycans, a group belonging to the class of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), has grown in recent years, and it is reported that there are four polymorphic forms for tenoxicam the literature. The purpose of this study was to characterize the presence of different polymorphic forms in active pharmaceutical inputs and oral pharmaceutical formulations and evaluate their influence on *in vitro* dissolution. Based on the literature, the initial analysis with the reference standard showed a form III diffractometric pattern. Polymorphic forms of tenoxicam were prepared according to Cantera *et al.* (2002), but the different preparation processes of tenoxicam polymorphs did not lead to modifications of the original crystalline structure of the reference standard. Complementary data were obtained by spectrophotometry in IV and DSC, indicating that there were no modifications in the original spectrum and no atypical thermal events. The characterization of the pharmaceutical inputs of tenoxicam, from different suppliers, as IV, DRX and dissolution profile indicated the presence of a crystalline structure (Form III), without presenting significant differences between the *in vitro* dissolution profiles. The pharmaceutical specialties of tenoxicam available on the national market, on being analyzed by DRX also presented crystalline structures Form III. Although there was different dissolution profiles between the formulations, they showed no impairment in their quality. However, often the post-processing transformations can induce alterations in the crystalline structure and, consequently, biopharmaceutical problems. This shows the importance of the study of polymorphism with the evaluation and correlation of the presence of crystalline structures with alterations in the quality and performance of pharmaceutical inputs and products.

Key-words: polymorphism, tenoxicam, active pharmaceutical inputs, pharmaceutical specialties.

1. INTRODUÇÃO

A maioria dos fármacos ou insumos farmacêuticos ativos (API, do inglês *active pharmaceutical ingredient*) em uso atualmente são materiais sólidos quimicamente puros, ocorrendo como substâncias cristalinas com forma organizada ou como partículas amorfas sem estrutura definida. As características amorfa ou cristalina de um fármaco são de considerável importância para a sua formulação, estabilidade química e atividade biológica (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013).

Atualmente, o polimorfismo é um dos principais problemas na produção e desenvolvimento de medicamentos. O polimorfismo é definido, segundo Lu e Rohani (2009), como a habilidade de uma substância sólida (com composição química definida) existir em duas ou mais estruturas cristalinas. Destas estruturas, algumas podem apresentar-se termodinamicamente estáveis a uma determinada temperatura e pressão, e as demais podem se converter na forma estável com o transcorrer do tempo (formas metaestáveis), proporcionando, portanto, uma instabilidade tanto à substância farmacêutica como ao produto acabado, além de influenciar em suas propriedades de solução e absorção *in vivo* (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; FLORENCE; ATTWOOD, 2006).

Analogamente, o polimorfismo afeta as propriedades mecânicas das partículas dos APIs e, assim, influencia a capacidade de produção e os atributos físicos dos medicamentos, sendo possível que produtos comerciais de diferentes fabricantes difiram quanto à estabilidade e ao efeito terapêutico, dependendo da forma cristalina do fármaco usado na formulação (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; SINGHAL; CURATOLO, 2004). Portanto, a pesquisa de polimorfos em fármacos e em produtos acabados é essencial, de modo que o desconhecimento das diferentes formas cristalinas e da existência de polimorfismo, bem como a influência destes no preparo de uma formulação, repercute fortemente na qualidade final, podendo acarretar prejuízos para a saúde da população e forte impacto econômico para as indústrias farmacêuticas.

A caracterização no estado sólido é um procedimento utilizado para a pesquisa de polimorfos, mediante a aplicação de técnicas analíticas (STEPHENSON *et al.*, 2001). Diversas técnicas físico-químicas são utilizadas, como cristalografia, espectrofotometria, análise térmica e microscopia. O teste de dissolução é utilizado para avaliar a extensão da liberação do fármaco das formulações farmacêuticas (AZARMI; ROA; LÖBENBERG, 2007), fornecendo dados sobre o desempenho das formulações e como estas são afetadas pela presença de polimorfos (BUENO; RECH, 2011).

Ao longo dos últimos anos houve um incremento na investigação de polimorfismo associado ao grupo dos oxicans (ZHANG *et al.*, 2013). Os oxicans têm emergido como grupo dentro da classe dos fármacos anti-inflamatórios não esteróides (AINE), apresentando eficácia contra várias doenças artríticas e inflamações pós-operatórias. Estes fármacos além de apresentarem grande potencial farmacológico e terapêutico, possuem propriedades químicas diferenciadas em função de suas características estruturais (BANERJEE *et al.*, 2003).

O fármaco tenoxicam, pertence ao grupo dos oxicans, é amplamente usado em vários distúrbios músculo-esqueléticos, artrite, dor de dente, alívio da dismenorréia e sintomas da dor e inflamação (NESSEEM; EL-HOUSENY, 2011). Para este fármaco relata-se a existência de quatro formas polimórficas na literatura, além da existência de solvatos e uma fase amorfa (CANTERA; LEZA; BACHILLER, 2002).

A realização de ensaios que contemplem a caracterização de estado sólido desse fármaco visando à análise de parâmetros de qualidade em APIs e produtos acabados torna-se, portanto, relevante, pois há evidências que o tenoxicam pode ocorrer em diferentes formas cristalinas, fator crítico para a indústria farmacêutica, além da inexistência de dados que caracterizem a presença de diferentes polimorfos do tenoxicam em especialidades farmacêuticas presentes no mercado nacional.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL:

Caracterizar a presença de diferentes formas polimórficas de tenoxicam em insumos farmacêuticos ativos e formulações farmacêuticas orais e avaliar a influência sobre a dissolução *in vitro*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Preparar com base na literatura, diferentes formas polimórficas de tenoxicam;
- Caracterizar a estrutura cristalina das amostras, utilizando a difração de raios X (DRX), e determinar as características termoanalíticas e espectrofotométricas, através de técnicas como calorimetria exploratória diferencial (DSC) e espectrofotometria na região do infravermelho (IV), respectivamente;
- Verificar a presença das formas polimórficas em insumos farmacêuticos ativos provenientes de diferentes fornecedores, bem como em especialidades farmacêuticas disponíveis no mercado nacional;
- Avaliar o perfil de dissolução *in vitro* dos insumos farmacêuticos ativos na forma pulverulenta e das formas farmacêuticas orais de tenoxicam, observando uma possível correlação com as formas polimórficas presentes.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Propriedades do Estado Sólido e Definições

A maior parte dos excipientes farmacêuticos ocorre como sólidos e, de modo geral, praticamente todos os fármacos, em alguma etapa da formulação, são manipulados na forma de pós (AULTON, 2005). As propriedades físicas de fármacos e excipientes farmacêuticos no estado sólido são de grande interesse, pois afetam diretamente o comportamento biológico e a formulação (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Os fármacos em estado sólido podem ocorrer como substâncias cristalinas, apresentando forma definida identificável, ou como partículas amorfas sem estrutura definida (Figura 1) (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013). As substâncias sólidas cristalinas são formadas por arranjos ordenados de moléculas e átomos dispostos segundo uma ordem definida, que se repete ao longo de toda partícula cristalina. Quando as substâncias sólidas são formadas por arranjos desordenados de moléculas e átomos são denominadas partículas amorfas (AULTON, 2005).



Figura 1 – Representação de estruturas cristalina e amorfa (Adaptado de Cuffini; Pitaluga; Tombari, 2011).

Os sólidos cristalinos possuem estruturas ordenadas que se repetem regularmente no espaço e são denominadas células unitárias, cuja geometria é determinada pelos parâmetros de rede (comprimentos das arestas e ângulos entre as faces). As diferentes combinações possíveis dos parâmetros de rede geram sete diferentes tipos de sólidos, que constituem os sistemas cristalinos (cúbico, triclinico, monoclinico, hexagonal, ortorrômbico, tetragonal e romboédrico). A distribuição dos átomos nestes sólidos pode ser diferente, ou seja, pode haver sólidos com átomos apenas nos vértices, mas também podem ocorrer sólidos com átomos nos vértices e no centro das faces ou mesmo com átomos nos vértices e em porções internas destes sólidos. Com isto são formadas quatorze tipos de redes (quatorze tipos diferentes de células unitárias), que são denominadas Rede de Bravais. Os cristais além de pertencerem a um determinado sistema cristalino podem variar quanto ao hábito cristalino, ou

seja, a distribuição das células unitárias pode não ser igual ao longo das diferentes direções cristalográficas. Com isto, podem se formar cristais com diferentes números de faces ou faces com tamanhos diferentes, porém os ângulos entre as faces análogas serão sempre os mesmos. Estes diferentes crescimentos geram cristais com diferentes hábitos, cujos nomes estão relacionados com a forma que possuem, como, por exemplo, aciculares (agulha), prismáticos, piramidais, tabulares, colunares e lamelares (FLORENCE; ATTWOOD, 2003).

Portanto, quando uma substância sólida cristalina apresenta mais de uma estrutura cristalina ocorre o fenômeno do polimorfismo (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; AULTON, 2005; BRITAIN, 2009; GIRON, 1999). Este fenômeno ocorre a um grande número de substâncias, sendo relativamente comum em compostos farmacêuticos (FLORENCE; ATTWOOD, 2003). Além disso, o polimorfismo ocorre como decorrência dos processos de síntese utilizados para a obtenção de matérias-primas farmacêuticas, como cristalização, solidificação de substância fundida, sublimação de um sólido, evaporação de solventes, difusão de vapor e tratamento térmico, bem como aos processos de produção utilizados nas formulações farmacêuticas, como secagem, granulação e compressão (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011).

Embora o termo polimorfismo faça alusão apenas às diferentes formas cristalinas (polimorfos) de um mesmo fármaco, instituições como a *Food and Drug Administration* (FDA) e a *International Conference on Harmonisation* (ICH), optaram por agregar ao termo outras definições como solvato e substâncias amorfas. Os solvatos pertencem à definição de pseudopolimorfismo, expressão aplicada para as formas cristalinas que apresentam em sua estrutura outro tipo de molécula, como água (hidratos) ou outros solventes que não a água (solvatos). Tanto os solvatos, como as substâncias amorfas, quando presentes influenciam o processo produtivo e o produto farmacêutico da mesma forma que os polimorfos, levando a inclusão dos termos na definição de polimorfismo (FDA, 2007; SINGHAL; CURATOLO, 2004; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011).

Quando um fármaco apresenta diversas formas cristalinas no estado sólido é importante conhecer sua estabilidade termodinâmica, ou seja, saber em que condições a transformação de uma forma para outra irá ocorrer. A importância da determinação da temperatura e da pressão de transição no polimorfismo ocorre pela possibilidade de determinar a forma mais estável. Quando a mudança de uma forma polimórfica para outra é reversível, o polimorfo é chamado enantiotrópico, porém, quando a transição ocorre em uma única direção (de forma irreversível), por exemplo, de um polimorfo metaestável para um

polimorfo estável, a mudança é dita monotrópica. O enantiotropismo e o monotropismo são propriedades fundamentais dos polimorfos (FERREIRA, 2010).

3.2 Implicações do Polimorfismo

O problema ocasionado pelo polimorfismo reside nas alterações de ordem farmacêutica e biofarmacêutica ocasionadas por diferentes polimorfos de um mesmo fármaco. Portanto, diferenças na ação do fármaco podem ser esperadas quando este apresenta o fenômeno de polimorfismo, pois seus diferentes polimorfos apresentam diferenças nas propriedades físicas e químicas como densidade, cor, dureza, tensão superficial, fluidez, morfologia, ponto de fusão, higroscopicidade, propriedades ópticas e elétricas, estabilidade química e física, solubilidade, velocidade de dissolução, biodisponibilidade e bioequivalência (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; BUGAY, 2001; FDA, 2007; STORPIRTIS *et al.*, 2011).

O polimorfismo pode afetar as propriedades mecânicas das partículas do fármaco e, assim, influenciar na capacidade de produção e nas propriedades físicas dos comprimidos. Um efeito comum do polimorfismo é a alteração do fluxo dos pós, que é ocasionado pela diferença na morfologia das partículas dos polimorfos, além de alterações na dureza, elasticidade, compressibilidade e força de ligação (FERREIRA, 2010; SINGHAL; CURATOLO, 2004).

O polimorfo mais estável, devido a sua maior densidade de empacotamento, forma ligações interpartículas mais fortes, sendo mais difícil de sofrer transformações. Uma vez que um aumento da área de superfície de adesão resultante da deformação das partículas pode ter um maior impacto na resistência do comprimido, a forma mais estável de dois polimorfos pode proporcionar comprimidos menos friáveis (FERREIRA, 2010).

As propriedades mecânicas de uma especialidade farmacêutica podem diferir quando este apresentar um fármaco na forma cristalina ou amorfa. Essas propriedades são menos compreendidas nas substâncias amorfas do que nas formas cristalinas, isso ocorre devido à instabilidade das propriedades físico-químicas destas substâncias, levando a maior dificuldade em desenvolver matéria-primas ou produtos acabados que não contenham material cristalizado (FERREIRA, 2010; SINGHAL; CURATOLO, 2004).

As diferenças nas propriedades mecânicas de polimorfos ou materiais amorfos podem ou não afetar a capacidade de fabricação e atributos físicos de comprimidos. Em alguns casos,

as propriedades mecânicas favoráveis de um polimorfo, mesmo na forma metaestável, podem ser utilizadas para a produção de comprimidos. No entanto, o desenvolvimento de uma forma metaestável deve somente ser realizado para fármacos no qual há uma compreensão da estabilidade química e física e da biodisponibilidade, principalmente no caso de fármacos já muito estudados (SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Se um polimorfo estável apresenta problemas em suas propriedades mecânicas não é necessário interromper sua produção, basta utilizar excipientes e processos capazes de superar o inconveniente, pois é mais vantajoso produzir um produto acabado que contenha um polimorfo estável com melhores propriedades mecânicas do que desenvolver uma formulação com polimorfo instável (SINGHAL; CURATOLO, 2004).

Alterações na estabilidade química, devido ao polimorfismo também podem ocorrer, principalmente para compostos com predisposição à degradação no estado sólido. As diferenças nas estruturas eletrônicas e nas propriedades das moléculas resultam em diferenças no empacotamento, o que repercute nas diferentes reatividades e, portanto, diferentes velocidades de degradação (ARAÚJO, 2009). As técnicas de análise térmica apresentam grandes vantagens para esse tipo de avaliação, podendo ser usadas nos estudos da cinética de degradação e da estabilidade das formas farmacêuticas (RODANT *et al.*, 2002).

Dentre as consequências do polimorfismo a mais crítica é representada pela diferença na biodisponibilidade dos diferentes polimorfos de um fármaco, uma vez que a velocidade de absorção de um fármaco depende da sua velocidade de dissolução. A influência do polimorfismo na biodisponibilidade ocorre quando existe dependência entre a velocidade de dissolução *in vivo* e a velocidade de absorção (SINGHAL; CURATOLO, 2004). Quando ocorre uma relação direta entre velocidade de dissolução e atividade farmacológica um produto farmacêutico pode tornar-se menos ativo, inativo ou tóxico de acordo com o tipo de polimorfo empregado (FERREIRA, 2010; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011). Portanto, segundo as considerações anteriores, uma compreensão da relação entre material cristalino e suas propriedades é crucial para a seleção do polimorfo mais adequado para o desenvolvimento de um produto farmacêutico (LU; ROHANI, 2009).

3.3 Tenoxicam

Os anti-inflamatórios não-esteróides e não-narcóticos (AINE) são um grupo de compostos quimicamente heterogêneos, que frequentemente não têm relação química entre si

(embora a maioria deles seja composta de ácidos orgânicos), mas compartilham certas ações terapêuticas e determinados efeitos adversos (GOODMAN; GILMAN, 2006).

Os principais efeitos terapêuticos dos AINE derivam da sua capacidade de inibir a produção de prostaglandinas. A primeira enzima na via sintética das prostaglandinas é a prostaglandina G/H, também conhecida como ciclo-oxigenase ou COX, que converte o ácido araquidônico (AA) nos intermediários instáveis PGG₂ e PGH₂, além de promover a produção de tromboxano A₂ (TXA₂) e de uma variedade de prostaglandinas. Doses terapêuticas dos AINE reduzem a biossíntese de prostaglandinas em seres humanos e há uma correlação razoavelmente boa entre a potência desses fármacos como inibidores da ciclo-oxigenase e suas atividades anti-inflamatórias (GOODMAN; GILMAN, 2006).

Segundo Korolkovas (2006), o grupo dos oxicans pertencente à classe dos AINE, são carboxamidas heterocíclicas derivadas do dióxido de 4-hidroxitiazina, embora suas estruturas não contenham ácido carboxílico, eles são compostos derivados dos ácidos enólicos devido ao substituinte 4-hidroxienólico. Este grupo químico inibe o processo inflamatório pela inibição das duas isoformas da ciclo-oxigenases (COX-1 e COX-2), impedindo a síntese das prostaglandinas e, assim, apresentando atividade anti-inflamatória, analgésica e antipirética (BRUNTON; LAZO; PARKER, 2006). A principal vantagem sugerida para esses compostos é sua longa meia-vida, que permite seu uso em dose única diária (GOODMAN; GILMAN, 2006).

O tenoxicam, pertencente ao grupo químico dos oxicans, apresenta os efeitos anti-inflamatórios, analgésicos e antipiréticos com base na inibição combinada da lipoxigenase (LX) e de ciclo-oxigenase (COX), (KOCZIAN *et al.*, 2005). Este fármaco apresenta propriedades anti-inflamatórias, analgésicas, antitérmicas e inibitória da agregação plaquetária, sendo prescrito para o tratamento de doenças com componentes inflamatórios, degenerativos e dolorosos em geral, principalmente do sistema músculo-esquelético, como artrite reumatóide, osteoartrite, osteoartrose, espondilite anquilosante, tendinite, bursite e gota. Além disso, promove somente alívio sintomático da dor e inflamação associadas a essas condições, não interferindo na progressão das lesões patológicas ao tecido (INSTEEL, 1999).

O tenoxicam (Figura 2) é um fármaco que corresponde quimicamente a 1,1-dióxido de 4-hidroxi-2-metil-N-(2-piridinil)-2H-tieno[2,3]-1,2-tiazino-3-carboxamida (FARMACOPEIA BRASILEIRA, 4 ed., 2003)¹, apresentando massa molecular de 337,4 daltons (Da) (KIM *et al.*, 2008).

¹ A monografia do fármaco tenoxicam encontra-se indisponível na atual edição da Farmacopeia Brasileira, 5 ed., 2010.

A molécula do tenoxicam exibe tautomerismo ceto-enólico, que pode resultar em estado zwitteriônico (eletricamente neutro com cargas opostas) através de transferência protônica intramolecular em meios hidrofílicos (Figura 3). As estruturas zwitteriônicas apresentam natureza hidrofílica, o que repercute numa maior solubilidade (CAIRA; NASSIMBENI; TIMME, 1995; BOLLA; SANPHUI; NANGIA, 2013).

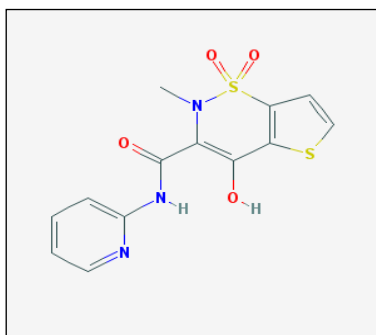


Figura 2 - Representação estrutural do Tenoxicam (Adaptado do site pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

Entretanto, o fármaco tenoxicam é pouco solúvel em água e a dissolução desempenha um papel importante na sua absorção. Embora tenha excelente biodisponibilidade oral (quase 100 %), a sua solubilidade em água limita a sua taxa de dissolução e assim retarda a absorção e seu início de ação (DARWISH; FOAD, 2009; EL-GAZAYERLY, 2000), enquadrando-se na classe II (baixa solubilidade e alta permeabilidade) do Sistema de Classificação Biofarmacêutico (SCB), (BOLLA; SANPHUI; NANGIA, 2013).

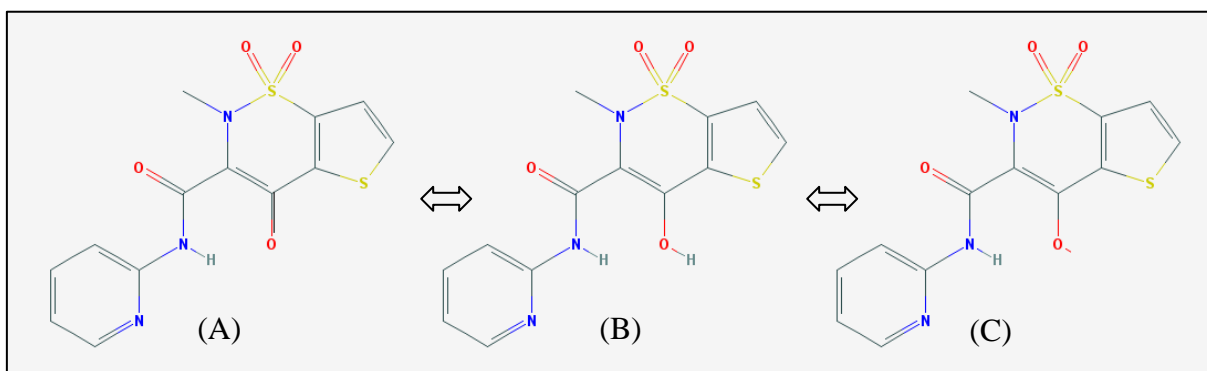


Figura 3 - Estruturas possíveis do tenoxicam: (A) cetônica; (B) enólica; (C) zwitteriônica (Adaptado do site pubchem.ncbi.nlm.nih.gov).

Assim como outros derivados de oxicans, o tenoxicam apresenta efeitos colaterais que inclui distúrbios gástricos, náuseas, vômitos, dispepsia, indigestão, risco de insuficiência renal

e sangramentos. Contudo, em consequência da sua menor penetração nos tecidos, o fármaco apresenta menor incidência de reações adversas. O tenoxicam é completamente ionizado em pH fisiológico, tem propriedades lipofílicas mínimas, não se acumula no tecido adiposo e, assim, tem um volume pequeno de distribuição, sendo totalmente metabolizado por oxidação e conjugação antes da eliminação. Além disso, possui tempo médio de eliminação de 67 horas, devendo ser administrado em dose única diária de 20 mg em função de sua baixa taxa de eliminação (DARWISH; FOAD, 2009; GUENTER; HEINTZ; JOLY, 1987; NESSEEM; EL-HOUSENY, 2011; NILSON, 1994).

Dados da literatura revelam que polimorfos do tenoxicam foram preparados e caracterizados (CAIRA; NASSIMBENI; TIMME, 1995; CANTERA; LEZA; BACHILLER, 2002), o que demanda a necessidade de investigação. Quando ocorrem polimorfos de compostos insolúveis certamente existem implicações biofarmacêuticas, razão pela qual o fármaco em questão precisa ser criteriosamente avaliado. A existência de polimorfismo é mais crítica para fármacos pouco solúveis (classe II do SCB), podendo comprometer a biodisponibilidade e a estabilidade da formulação (FDA, 2007; FERREIRA, 2010). Ainda, segundo Capucho, Mastroianni e Cuffini (2008), tão importante quanto os estudos sobre a matéria-prima são os estudos do comportamento polimórfico e morfológico dos fármacos no produto acabado, pois mudanças de estrutura cristalina durante a produção e armazenamento podem ocorrer em face da necessidade dos fármacos em buscar a sua forma estável, que pode não representar a estrutura mais ativa e segura.

3.3.1 Preparo dos polimorfos do Tenoxicam

No Quadro 1 encontram-se descritos os procedimentos empregados por diferentes autores para o preparo das formas polimórficas do fármaco tenoxicam. As denominações atribuídas para as formas polimórficas deste fármaco foram designadas pelos próprios autores e mantidas no decorrer da dissertação.

O estudo de polimorfos do tenoxicam inicia com Nabulsi e colaboradores, em 1992, ao relatarem o preparo de três formas polimórficas, um solvato e uma substância amorfa desse fármaco no *Sixth International Conference on Pharmaceutical Technology* em Paris (França), (SALEM *et al.*, 1994).

Salem e colaboradores (1994), baseados no trabalho desenvolvido por Nabulsi e colaboradores, publicaram um estudo visando a avaliação da bioequivalência de duas formas

farmacêuticas orais preparadas a partir de diferentes polimorfos de tenoxicam em 12 indivíduos saudáveis. Entretanto, a farmacocinética entre os polimorfos avaliados não apresentou diferença significativa.

Caira, Nassimbeni e Timme (1995) fornecendo maiores detalhes sobre o processo de obtenção de polimorfos do tenoxicam, descreveram o preparo de produtos de recristalização a partir de etanol e acetonitrila. A recristalização a partir de etanol produziu o polimorfo 1, enquanto que a recristalização a partir de acetonitrila deu origem a um solvato denominado solvato 2.

Quadro 1 - Apresentação dos procedimentos empregados para o preparo de polimorfos do fármaco tenoxicam.

METODOLOGIAS		
Caira; Nassimbeni; Timme (1995)	Polimorfo 1	a. Dissolução de 0,03 g de tenoxicam em 12 ml de etanol aquecido seguido de filtração (0,5 µm). Obtenção de cristais sob resfriamento lento.
Cantera; Leza; Bachiller (2002)	Forma I	a. Dissolução de tenoxicam em clorofórmio aquecido a 60°C (30 mg/ml) seguido de resfriamento a 4°C. Cristais são isolados e filtrados seis dias depois.
		b. Dessolvatação de solvatos de acetonitrila e dioxano (120°C/2hs).
	Forma II	a. Dissolução de tenoxicam em n-butanol (3 mg/ml) e manutenção em temperatura ambiente por dois dias.
		b. Estocagem de tenoxicam em solução etanólica (2 mg/ml) a -20°C.
	Forma III	a. Dissolução de tenoxicam em álcool isopropílico (2 mg/ml) e conservação a 4°C.
		b. Dissolução de tenoxicam em tetrahidrofurano (200 mg/ml) e conservação a 4°C por dois dias.
c. Dessolvatação do solvato de N,N-dimetilformamida (120°C/2hs).		
Forma IV	a. Dissolução de tenoxicam em N,N-dimetilacetamida (100 mg/ml) e manutenção em temperatura ambiente por dois dias.	
	b. Dissolução de tenoxicam em metanol (2 mg/ml) e manutenção em temperatura ambiente por dois dias.	
Patel <i>et al.</i> (2012)	Forma I	a. Dissolução de 12 g tenoxicam forma III (obtida segundo Cantera; Leza; Bachiller (2002)) em clorofórmio a 62°C. Seguido por destilação a vácuo, resfriamento a 4°C, filtração, secagem sob vácuo, e conversão em forma I.
	Forma III	a. Procedimento baseado em Cantera; Leza; Bachiller (2002), porém, não especifica o solvente e as condições empregadas.
Bolla; Sanphui; Nangia (2013)	Forma III	a. Procedimento baseado em Cantera; Leza; Bachiller (2002), porém, não especifica o solvente e as condições empregadas.

Cantera, Leza e Bachiller (2002) descreveram a preparação e caracterização de quatro formas polimórficas de tenoxicam (forma I, II, III e IV), de uma fase amorfa obtida por recristalização em benzeno, e de seis solvatos obtidos com acetonitrila, dioxano, dimetilformamida, acetato de etila, acetona e álcool isopropílico.

Patel e colaboradores (2012) ao estudarem o preparo de cocristais de tenoxicam, produziram a forma III segundo Cantera, Leza e Bachiller (2002).

Bolla, Sanphui e Nangia (2013) ao avaliarem a solubilidade de cocristais fenólicos de tenoxicam, prepararam a forma III, também fundamentados nos procedimentos de Cantera, Leza e Bachiller (2002).

Contudo, ao confrontar os dados cristalográficos (grupamento espaciais e parâmetros de rede) do polimorfo 1 produzido por Caira, Nassimbeni e Timme (1995) com a forma III preparada por Bolla, Sanphui e Nangia (2013), verifica-se a mesma estrutura cristalina em ambas as substâncias, tratando-se portanto, do mesmo polimorfo com diferentes denominações. O fato de existir diferentes denominações para um mesmo polimorfo decorre da falta de uma padronização oficial para a nomenclatura de polimorfos (ARAÚJO, 2009).

3.4 Caracterização das formas polimórficas

A identificação e caracterização do polimorfismo e suas diferentes formas cristalinas e amorfas, tanto em API como em produtos acabados, pode ser realizada por inúmeras técnicas (FDA, 2007; YU *et al.*, 2004). Estes recursos visam à determinação da estrutura cristalina, determinação da estabilidade térmica, determinação das propriedades espectroscópicas, caracterização morfológica e avaliação de desempenho (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; BRITAIN, 2009; LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011). Observa-se que estas técnicas são muitas vezes complementares uma das outras, sendo imprescindível o uso de várias delas para uma caracterização completa do fármaco (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2013).

3.4.1 Análises por Difração de Raios X (DRX)

A difração de raios X, descoberta em 1912, por Max von Laue, tem fornecido informações muito importantes sobre o arranjo e distribuição dos átomos em materiais cristalinos ao longo dos anos (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009), sendo considerada a

técnica mais adequada para diferenciar e caracterizar polimorfos (TIWARI; CHAWLA; BANSAL, 2007; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011; STEPHENSON, 2005). Diversas aplicações dessa técnica na pesquisa de polimorfos podem ser citadas, como na identificação de polimorfos do sulfatiazol e clorpropamida (YEO; KIM; LEE, 2003), nas transformações polimórficas do mebendazol em alta temperatura (DE VILLIERS *et al.*, 2005), na caracterização do estado sólido do baclofeno e suas transformações de fase cristalina induzidas por granulação úmida (MIRZA *et al.*, 2007) e na determinação da estrutura cristalina da didanosina (MARTINS *et al.*, 2010).

Na DRX ao incidir um feixe de raios X sobre uma superfície de um cristal em um determinado ângulo (denominado θ), parte desta energia é absorvida pelos átomos do material que está sendo analisado. A interação eletrostática entre o feixe incidente e as camadas eletrônicas dos átomos da amostra faz com que haja emissão de raios X por parte da amostra, caracterizando o fenômeno denominado difração. Em materiais cristalinos existem planos de átomos paralelos. A diferença de percurso entre o feixe de raios X difratado em dois planos de átomos paralelos e adjacentes segue a Lei de Bragg ($n\lambda = 2d\sin\theta$). Esta equação possibilita calcular a distância entre estes planos de átomos, que é denominada distância interplanar e simbolizada pela letra “d”. Como nas substâncias cristalinas existe uma significativa quantidade de planos de átomos com orientações diferentes (indexadas pelos Índices de Miller), e que possuem distâncias interplanares diferentes, o conjunto de valores de “d” possibilitam diferenciar todas as substâncias cristalinas, incluindo os polimorfos. Portanto, a difração de raios X possibilita diferenciar estruturas cristalinas diferentes, mesmo nas substâncias com a mesma composição química, como no caso dos polimorfos (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Observa-se que as condições para a difração ocorrer são (1) o espalhamento entre camadas de átomos deve ser aproximadamente o mesmo que o comprimento de onda da radiação e (2) os centros de espalhamento devem estar distribuídos em um arranjo regular (características de estruturas cristalinas), (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Destaca-se que a DRX é o único método analítico capaz de fornecer informações qualitativas e quantitativas sobre os compostos presentes em uma amostra sólida. Como cada substância cristalina possui um padrão único de DRX, esses métodos são recomendados para a identificação qualitativa, assim, quando um padrão coincide entre uma amostra desconhecida e uma amostra conhecida, a identificação está confirmada (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). A difração de raios X é uma técnica não destrutiva, apresentando

simplicidade para a coleta de dados que são realizados à temperatura ambiente (TIWARI; CHAWLA; BANSAL, 2007).

Essa técnica possibilita conhecer a estrutura dos cristais através da determinação dos parâmetros da célula unitária, posições atômicas das moléculas e grupo espacial (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011). A DRX pode avaliar amostras policristalinas (pó) sendo designada de difração de raios X em policristais (DRXP) ou avaliar amostras de monocristais, sendo denominada de difração de raios X em monocristal (DRXM), (FERREIRA *et al.*, 2010). No entanto, os cristais individuais de alta qualidade exigidos pela DRXM são muitas vezes difíceis de obter, tornando a técnica de DRXP mais popular para a identificação de diferentes polimorfos (LU; ROHANI, 2009).

No difratograma de DRXP ocorre uma série de picos ou linhas, o que facilita a identificação da substância (SANTOS, 1975). A identificação de uma substância cristalina a partir da DRXP é baseada na posição dos picos (em termos de graus θ e 2θ) e em suas intensidades relativas. O ângulo de difração 2θ é determinado pelo espaçamento entre um conjunto particular de planos; com o auxílio da equação de Bragg, a distância interplanar (d) é calculada a partir do comprimento de onda conhecido da fonte e do ângulo medido, conforme apresentado anteriormente. As linhas de intensidades dependem do número e do tipo dos centros atômicos de reflexão em cada conjunto de planos (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). Segundo Cuffini, Pitaluga e Tombari (2011), as linhas são produzidas em função da composição química e ao ordenamento cristalino das moléculas no cristal (espaçamentos periódicos dos átomos), por esse motivo, as diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco podem ser diferenciadas inequivocamente pelo seu difratograma, sendo que a posição dos picos não se altera no caso de mistura com outras substâncias (SANTOS, 1975).

A comprovação da existência de diferentes formas polimórficas em uma substância é verificada pela presença de diferentes padrões de difração de raios X (ALVES, 2007) nesta substância. A comparação entre as posições dos picos (valores de 2θ) ou dos valores das distâncias interplanares (d) com o de padrões existentes em um banco de dados de difração do ICCD (*International Centre for Diffraction Data*), (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009) permite identificar os polimorfos ou as substâncias cristalinas presentes na amostra.

3.4.2 Análises Espectrofotométricas

Os métodos espectrofotométricos vibracionais, na região do infravermelho, baseiam-se na exposição da amostra a uma radiação eletromagnética com energia suficiente para ocasionar alterações nos níveis de energia vibracional acompanhado por mudanças nos níveis de energia rotacional das moléculas da amostra (VOGEL, 2011; WATSON, 2005). Esses métodos fornecem informações sobre grupos funcionais no sólido, sendo de grande valor para confirmar a existência do polimorfismo (ou da formação do solvato), pois as diferenças estruturais que caracterizam o polimorfismo afetam as vibrações moleculares, possibilitando, em alguns casos, a identificação de polimorfos (MARKOVICH; PIDGEON, 1991). Além disso, as alterações espectrofotométricas sutis decorrentes das ligações intermoleculares (especialmente ligações de hidrogênio) também podem ser observadas (LU; ROHANI, 2009).

Uma vez que a espectrofotometria no IV em estado sólido pode ser utilizada para examinar a natureza do polimorfismo em escala molecular (inspeção de diferenças espectrais nas estruturas cristalinas), o método é particularmente útil em casos em que a caracterização cristalográfica não é possível. Essa técnica possibilita a obtenção de espectros de qualidade em pequeno espaço de tempo, além de necessitar pequena quantidade de amostra (cerca de 1 mg) (BUGAY, 2001).

As análises espectrofotométricas são amplamente empregadas na pesquisa de polimorfos e, alguns exemplos da aplicação de IV são os estudos de identificação dos polimorfos do sulfatiazol (AALTONEN *et al.*, 2003), a caracterização de polimorfos da venlafaxina (ROY; AITIPAMULA; NANGIA, 2005), os estudos sobre as transformações polimórficas da famotadina (LIN; CHENG; WANG, 2006) e as investigações realizadas sobre os polimorfos do lornoxicam (ZHANG *et al.*, 2013).

A análise por infravermelho utilizada para estimar modificações polimórficas pode ocorrer por diferentes técnicas, como espectrofotometria de refletância difusa no infravermelho com transformada de Fourier (DRIFT-IR), espectrofotometria de reflexão total atenuada com transformada de Fourier (FTIR-ATR) e infravermelho próximo (NIR). Apesar de espectrofotometria de infravermelho ser bastante simples e conveniente, em alguns casos, os espectros de diferentes polimorfos de determinados APIs são idênticos, gerando a necessidade de técnicas complementares (LU; ROHANI, 2009).

3.4.3 Análises Térmicas

A análise térmica fornece informações sobre a mudança de estrutura cristalina e auxilia na previsão e análise de hidratos e solvatos (GIRON, 1995), sendo adequada para o estudo de polimorfismo e pseudopolimorfismo em fármacos e excipientes (MATOS; MERCURI; BARROS, 2011).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC, do inglês *differential scanning calorimetry*) é uma técnica rápida e muito sensível, utiliza pouca quantidade de amostra, além de permitir automação (MATOS; MERCURI; BARROS, 2011). Dentre os inúmeros exemplos em que a técnica foi empregada para o estudo do polimorfismo, pode-se citar a aplicação na pesquisa das formas cristalinas da clorpropamida e suas conversões durante processamento industrial (WILDFONG *et al.* 2007), nas transformações polimórficas sofridas pelo alprazolam (De ARMAS *et al.*, 2007) e no estudo das conversões polimórficas e comportamento térmico do sulfatiazol (BAKAR; NAGY; RIELLY, 2010).

A análise por DSC mede a diferença de energia fornecida à substância e a de um material de referência, termicamente inerte, em função da temperatura, enquanto que a substância e o material de referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura (IONASHIRO, 2004). Podem ser distinguidos dois procedimentos de DSC: com compensação de energia (patenteada pela Perkin-Elmer Corporation) e com fluxo de calor (desenvolvido por outras empresas, como, Metler, Toledo, Shimadzu, Netzch, TA Instrument, Seiko e outras) (MATOS; MERCURI; BARROS, 2011; VOGEL, 2011). Ambos os procedimentos fornecem um gráfico de compensação de energia ou fluxo de calor versus temperatura (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Na DSC por compensação de energia, a amostra e referência são aquecidas em compartimentos separados. Os suportes da amostra e da referência possuem termômetros de resistência de platina para monitorar continuamente a temperatura dos materiais. Tanto a amostra como a referência são mantidas na temperatura programada, aplicando-se potência aos aquecedores da amostra e da referência. As temperaturas da amostra e da referência são mantidas iguais (em condições isotérmicas), enquanto ambas as temperaturas são aumentadas ou diminuídas linearmente, medindo-se então, a potência necessária para manter a temperatura da amostra igual à temperatura da referência. Esta técnica possui menor sensibilidade do que a de fluxo de calor (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

Na DSC de fluxo de calor, a amostra e a referência são colocadas em plataformas idênticas, localizadas sobre um disco termoelétrico de constantan (liga metálica com 60% de cobre e 40% de níquel), que é aquecido eletricamente. O fluxo diferencial de calor para a amostra e para a referência é monitorado por termopares de constantan-chromel formados pela junção entre a plataforma de constantan e os discos de chromel fixados na parte inferior das plataformas. A diferença entre os fluxos de calor para a amostra e para a referência é medida enquanto a temperatura da amostra é variada a uma taxa constante (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009).

A DSC encontra muitas aplicações na caracterização de substâncias, incluindo a determinação de calores de fusão e o grau de cristalização de materiais cristalinos. Além disso, é uma técnica importante para avaliar a estabilidade e estabelecer diagramas de fase devido a sua habilidade para medir temperaturas de transição nos APIs, mas não revela a composição química das mesmas, por isso existe a necessidade de complementação com outras técnicas para uma maior eficiência na análise (GIRON, 1999; HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). As curvas de DSC podem ser correlacionadas com os resultados obtidos por outras técnicas na análise do tenoxicam, e podem ser úteis para estabelecimento de relações estruturais e energéticas e modificação cristalina deste fármaco (JANKOVIC; MENTUS, 2010).

3.4.4 Perfil de Dissolução *in vitro*

As diferentes formas polimórficas de um mesmo fármaco comumente diferem nas propriedades físico-químicas como na solubilidade e cinética de liberação da forma farmacêutica, que são parâmetros que influenciam na velocidade de dissolução e extensão da absorção. Portanto, diferenças na biodisponibilidade e ação terapêutica do fármaco podem ocorrer da presença de polimorfos nas preparações farmacêuticas sólidas (ALLEN; POPOVICH; ANSEL, 2013; COSTA; LOBO, 2001; MODI *et al.*, 2013).

Considerando que variações na dissolução podem influenciar a eficácia terapêutica de um medicamento, torna-se mais adequado estudar a velocidade de dissolução ao invés da solubilidade (propriedade referente ao equilíbrio termodinâmico) durante a avaliação da influência do estado sólido no controle de qualidade dos medicamentos (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2011).

A dissolução de medicamentos é uma propriedade importante que influencia a velocidade e extensão da disponibilidade do fármaco *in vivo*. A determinação da dissolução de fármacos, a partir de formas farmacêuticas em condições especificadas, fornece dados que são utilizados para assegurar, entre outros fatores, a qualidade do produto e a biodisponibilidade do fármaco (MARQUES, 2011).

Segundo Zhou *et al.* (2014), também o teste de dissolução aplicado a formas farmacêuticas em pó, denominado dissolução intrínseca, é adequado para avaliação da bioequivalência *in vivo* em matérias-primas, preenchendo uma lacuna entre perfil de dissolução *in vitro* e o desempenho *in vivo* de fármacos polimórficos. Na dissolução intrínseca a pressão exercida para a compactação da amostra deve ser suficiente para a formação de uma pastilha não desintegrante, em que apenas uma das faces, de área definida, será exposta (ROSA, 2005).

Contudo, para realizar o teste de dissolução intrínseca torna-se necessário comprimir o pó, podendo ocorrer mudanças de fases cristalinas (SHAH *et al.*, 2006). Uma alternativa seria o emprego de dissolução de material pulverulento sem necessidade de controle da área superficial envolvida. A dissolução particulada é uma técnica voltada para a dissolução de fármacos pulverulentos, que são adicionados a um determinado meio de dissolução sob condições de agitação, sem necessidade de controle da área superficial. Esta técnica permite avaliar a influência do tamanho de partícula e do seu diâmetro em matérias-primas que possuem potencial para produzir medicamentos com biodisponibilidade inadequada (SWANEPOEL; LIEBENBERG; VILLIERS, 2003; ROSA, 2005). Entretanto, não há uma regulamentação que aborde esse procedimento, a Farmacopeia Americana (USP) não indica um método oficial para o teste de dissolução em pós sem a necessidade de compactação (AZARMI; ROA; LÖBENBERG, 2007).

Testes como perfil de dissolução permitem estudar o comportamento dos diferentes polimorfos envolvidos numa formulação (FROEHLICH; GASPAROTTO, 2005) e exemplos em que a técnica foi empregada para o estudo do polimorfismo são encontrados na literatura, como na aplicação da dissolução desenvolvida sem adição de lauril sulfato para distinguir polimorfos ativos e inativos de mebendazol (SWANEPOEL; LIEBENBERG; VILLIERS, 2003), no teste de dissolução do fármaco valsartan na forma pulverulenta sem compactação (TRAN *et al.* 2012), na dissolução de cristais de nifedipina (LEITE *et al.*, 2013) e na avaliação da dissolução do fármaco furosemida como substância amorfa, juntamente com

investigações de alterações do seu estado sólido durante a dissolução *in vitro* (NIELSEN *et al.*, 2013).

O perfil de dissolução é um teste que, além de contemplar o estudo da velocidade de dissolução (relacionando a porcentagem de fármaco dissolvido em função do tempo), fornece dados cinéticos de liberação do fármaco, permitindo determinar a eficiência do processo e o tempo necessário para que determinadas porcentagens do fármaco se dissolvam. Os perfis de dissolução podem ser comparados de três formas distintas, através de métodos baseados em análises de variância (ANOVA), métodos modelo independente e modelo dependente (SERRA; STORPIRTIS, 2007). No Quadro 2 são apresentadas algumas equações referentes aos modelos matemáticos.

Os métodos baseados em análises de variância avaliam as fontes de variações (tempo, produto e relação entre eles) em repetidos ensaios. Os fatores *f1* (fator de diferença) e *f2* (fator de semelhança) são os principais exemplos de métodos independentes e, comparam, respectivamente, a diferença (medida de erro relativo) e a semelhança entre a porcentagem de fármaco dissolvido por unidade de tempo para os produtos teste e referência (BRASIL, 2010; KASPEREK *et al.*, 2014; SERRA; STORPIRTIS, 2007).

Quadro 2 – Representação das equações dos modelos independente e dependente.

Classificação		Equação
Modelo Independente	Fator <i>f1</i>	$F1 = \{[\sum_{i=1}^n Rf - Tt] / [\sum_{i=1}^n Rf]\} * 100$
	Fator <i>f2</i>	$F2 = 50 \times \log\{[1 + (\frac{1}{n}) \times \sum_{i=0}^n (Rf - Tt)^2]^{-0.5} \times 100\}$
Modelo Dependente	Ordem zero	$Q_t = Q_0 + K_0 t$
	Primeira ordem	$\ln Q_t = \ln Q_0 + K_1 t$

n = número de tempos de coleta; Rf = valor de porcentagem dissolvida no tempo t (antes da alteração); Tt = valor de porcentagem no tempo t (formulação alterada); Q_t = quantidade de fármaco liberado no tempo t; Q_0 = quantidade inicial de fármaco em solução; K_0 = constante de liberação de ordem zero; K_1 = constante de liberação de primeira ordem; t = tempo.

Segundo a resolução RDC nº 31 (ANVISA, 2010), os perfis de dissolução comparativos são avaliados apenas utilizando o cálculo de *f2*. Para atender a legislação deve-se: empregar doze unidades do medicamento teste e referência; utilizar medicamento teste e referência que possuam dissoluções correspondentes; observar os valores de *f2* (entre 50 a 100); utilizar os três primeiros pontos, excluindo o tempo zero; empregar número de pontos

de coleta representativo do processo de dissolução (no mínimo cinco); utilizar apenas um ponto da curva após ambos os medicamentos atingirem a média de 85% de dissolução; e considerar coeficientes de variação para os primeiros pontos de coleta não superiores a 20%, e para os demais pontos, o máximo de 10%.

Os métodos modelo dependentes aplicam funções matemáticas para determinar a cinética de liberação do fármaco de sua forma farmacêutica (SERRA; STORPIRTIS, 2007). A cinética de ordem zero é um modelo matemático em que as formas farmacêuticas liberam a mesma quantidade de fármaco por unidade de tempo, enquanto que na cinética de primeira ordem a liberação do fármaco diminui por unidade de tempo (COSTA; LOBO, 2001; MANADAS; PINA; VEIGA, 2002).

Os modelos dependentes possibilitam avaliar a cinética de dissolução e fornecem informações referentes à velocidade do processo, quantidade máxima dissolvida e pontos nos quais podem ocorrer mudanças expressivas. Esses modelos não são utilizados isoladamente para avaliação da cinética de liberação do fármaco, sendo empregados diferentes parâmetros, como constante de velocidade de dissolução (k), meia-vida de dissolução ($t_{50\%}$), quantidade dissolvida em determinado tempo (Q_t) e eficiência de dissolução (ED%) (SERRA; STORPIRTIS, 2007). A ED% é um parâmetro, determinado a partir da área sob a curva de dissolução em um determinado intervalo de tempo, e representa a quantidade real de fármaco dissolvido no meio de dissolução (OFOEFULE; UDEOGARANYA; OKONTA, 2001).

De modo geral, a eficácia e qualidade dos produtos farmacêuticos estão vinculadas ao conhecimento da presença de polimorfos, que são determinados como já comentado, por diversas técnicas físico-químicas e de desempenho como a dissolução *in vitro*. Para garantir sucesso, a pesquisa de polimorfos deve ser determinada no início do desenvolvimento do fármaco ou no início do preparo da formulação farmacêutica, no caso de medicamentos genéricos e similares (BUENO; RECH, 2011).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4. MATERIAL

4.1 Substância Química de Trabalho (SQT)

O insumo farmacêutico tenoxicam (teor declarado 99,59%) sintetizado pela empresa Changzhou Hubin Medicine Raw Materials Co. Ltd (Changzhou, China) foi utilizado como SQT, após ser submetida a ensaios de identificação.

4.2 Insumos Farmacêuticos Ativos

Foram avaliados insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam provenientes de três indústrias farmacológicas de diferentes nacionalidades. O Quadro 3 apresenta detalhes sobre as empresas fornecedoras e os insumos ativos.

Quadro 3 – Relação de insumos farmacêuticos avaliados e sua origem.

Empresa	Teor declarado	Lote	Sigla
Glenmark Generics Ltd. (Daund, Índia)	100,00 % conforme especificado pelo certificado de análise.	081000175	GTE1
Sifovitor Infa Group S.p.A. (Casaletto Lodigiano, Itália)	100,54 % conforme especificado pelo certificado de análise.	8900/01/11	STE2
Nantong Jinhua Pharmaceutical Co. Ltd (Nantong, China)	100,04 % conforme especificado pelo certificado de análise.	TNX2012008	NTE3

4.3 Especialidades Farmacêuticas

Avaliou-se as especialidades farmacêuticas contendo tenoxicam disponibilizadas no mercado nacional na forma farmacêutica comprimidos revestidos na concentração de 20 mg.

No Quadro 4 estão registradas as informações sobre as especialidades farmacêuticas e a denominação utilizada (VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3) de acordo com os laboratórios farmacêuticos.

Quadro 4 - Descrição dos lotes de quatro especialidades farmacêuticas de tenoxicam.

LABORATÓRIO	CATEGORIA	LOTE	VALIDADE	EXCIPIENTES
VTE0	Similar	24239	09/14	Lactose, amido, talco, estearato de magnésio, croscarmelose sódica, celulose microcristalina, hidroxipropilmetilcelulose, polietilenoglicol, dióxido de titânio, dióxido de silício, amarelo tartrazina.
RTE1	Referência	RJ0361	01/16	Lactose, amido, talco, estearato de magnésio, hipromelose, dióxido de titânio, óxido de ferro amarelo.
ETE2	Genérico	577564	09/15	Lactose, amido, talco, estearato de magnésio, celulose microcristalina, croscarmelose sódica, etilcelulose, hipromelose, macrogol, dióxido de titânio, óxido de ferro amarelo.
MTE3	Similar	089539	09/15	Lactose, amidoglicolato de sódio, talco, estearato de magnésio, celulose microcristalina, macrogol, dióxido de titânio, dióxido de silício, óxido de ferro amarelo.

4.4 Polimorfos do Tenoxicam

Os polimorfos do tenoxicam utilizados foram preparados de acordo com os procedimentos descritos por Cantera, Leza e Bachiller (2002) e as condições selecionadas foram as seguintes:

Condições para o preparo da forma I: Dissolveu-se tenoxicam em clorofórmio (Nuclear[®], Lote 09111520) a 60 °C (30 mg/ml) e, em seguida, arrefeceu-se a temperatura de 4 °C (banho de gelo). Depois de seis dias armazenado em temperatura ambiente realizou-se a filtração.

Condições para o preparo da forma II: Tenoxicam foi dissolvido em butanol (Labsynth[®], Lote 114005) em temperatura ambiente (3 mg/ml) e mantido nesta condição durante dois dias. Passado o tempo estipulado, realizou-se a filtração.

Condições para o preparo da forma III: Dissolveu-se tenoxicam em álcool isopropílico (Tedia[®], Lote 903139) em temperatura ambiente (2 mg/ml), arrefeceu-se a 4 °C (banho de gelo) e isolou-se o conteúdo por filtração.

Condições para o preparo da forma IV: Tenoxicam foi dissolvido em metanol (Merck[®], Lote 1672807) em temperatura ambiente (2 mg/ml) e deixado em repouso nesta condição durante dois dias. Passado o tempo estipulado, realizou-se a filtração.

4. MÉTODOS

4.5 Análises por Difração de Raios X (DRX)

Realizou-se a análise cristalográfica em policristais (DRXP) em amostras na forma pulverulenta (cerca de 1 grama) em temperatura ambiente, com auxílio do difratômetro Siemens[®] modelo D-5000 (Munich, Alemanha) munido com *software* Difrac[®] Plus EVA versão 11.0 para identificação e indexação dos picos. As especificações utilizadas para as análises encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1 - Especificações do Difratômetro Siemens D-5000.

Parâmetro	Descrição
Ânodo	Cobre
Radiação	$\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å)
Filtro	Níquel
Potência	40 kV, 25 mA
Taxa de Varredura	2 a 72° 2 θ
Passo (<i>Step</i>)	0,02° 2 θ
Tempo (<i>Time</i>)	1s

A identificação de fase (estrutura cristalina) ocorre através do uso de algoritmos de comparação (*Software* Difrac[®] Plus EVA) baseados no banco de dados do JCPDS (*Joint Committee on Powder Diffraction Standards*) pertencente ao ICDD.

A técnica foi realizada para verificar a estrutura cristalina presente na SQT, nas formas cristalinas (formas I, II, III e IV) preparadas conforme Cantera, Leza e Bachiller (2002), nos insumos farmacêuticos ativos e nas especialidades farmacêuticas do tenoxicam. Os comprimidos submetidos ao teste foram triturados em gral de porcelana após o revestimento ser removido cuidadosamente, e análises por DRXP também foram realizadas em seus placebos simulados de acordo com o Quadro 4.

4.6 Análises Espectrofotométricas por Infravermelho (IV)

O espectro de absorção na região do IV foi obtido utilizando Espectrofotômetro Perkin Elmer[®] modelo FT-IR Spectrum BX (Massachusetts, EUA) na faixa de 600 a 4000 cm^{-1} , com um número de varredura de 100 *scans*. Aproximadamente 1 mg de amostras foram utilizadas para análise. O equipamento citado não necessita de preparação de pastilha com halogênio alcalino (geralmente KBr ou KCl), pois detém acessório de refletância total atenuada (ATR) para análise direta.

A técnica foi empregada para identificação da SQT, avaliação das formas I, II, III e IV preparadas conforme Cantera, Leza e Bachiller (2002) e para caracterização dos insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam.

4.7 Análises Térmicas

Empregou-se calorímetro exploratório diferencial Shimadzu[®] (Kyoto, Japão), modelo DSC-60 com fluxo de calor e calibrado com índio (156,6 °C, energia de transição -28,45 J/g^{-1}) e zinco (419,58 °C, energia de transição -100,50 J/g^{-1}). Equipado com controlador de fluxo FC-60A, integrador TA 60WS e *software* de controle e análise TA 60 versão 2.0.

As curvas de DSC foram obtidas em atmosfera inerte de nitrogênio com vazão de 50 ml/min e taxa de aquecimento de 10 °C/min iniciando em 25 °C até 250 °C. Amostras recristalizadas de tenoxicam (formas I, II, III e IV) que variaram entre 1,5 a 1,95 mg preencheram cadinhos (porta-amostra) de alumínio que posteriormente foram selados hermeticamente.

A caracterização térmica visou avaliar as modificações relacionadas à fusão do fármaco e ao surgimento de alguma alteração térmica anormal para esta substância submetida a diferentes recristalizações.

4.8 Determinação do peso médio

Seguindo o método preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010), pesou-se individualmente 20 comprimidos de tenoxicam 20 mg de cada lote em balança analítica Denver Instrument[®] (New York, EUA) modelo APX 200 e efetuou-se o referido cálculo para determinação do peso médio. A Farmacopeia Brasileira (2010) determina, como critério de

aceitação, que a variação para comprimidos revestidos com peso médio compreendido entre 80 a 250 mg seja de $\pm 7,5\%$, não sendo permitida mais do que duas unidades fora dos limites especificados e nenhuma unidade acima ou abaixo do dobro das porcentagens indicadas nos limites de variação.

4.9 Análises Espectrofotométricas por Ultravioleta/Visível (UV/Vis)

O espectro de absorção na região do UV foi obtido utilizando espectrofotômetro Shimadzu[®] (Kyoto, Japão) modelo UV-1800 munido de cubetas de quartzo com 1,0 cm de caminho óptico e *software* UV Probe versão 2.33 para o tratamento dos dados. A análise por UV/Vis foi aplicada para a identificação da SQT, doseamento e avaliação dos perfis de dissolução dos insumos ativos e especialidades farmacêuticas do tenoxicam.

4.9.1 Identificação da SQT

Foi utilizada uma solução contendo 20 $\mu\text{g/ml}$ de tenoxicam preparada com hidróxido de sódio 0,1 M, escolhida em detrimento a sua solubilidade e região de transparência no UV (ou seja, ausência de absorção de radiação na faixa de comprimento de onda usado) (LEITE, 2008). Como branco utilizou-se o respectivo solvente. A análise ocorreu numa faixa espectral de 200 a 400 nm. Os resultados obtidos foram confrontados com dados da literatura.

4.9.2 Doseamento

Para a determinação quantitativa de tenoxicam em comprimidos por espectrofotometria na região do ultravioleta foi utilizada a metodologia validada por Cardoso *et al.* (2006).

4.9.2.1 Preparo da solução padrão

Foram pesados 20 mg da SQT e transferidos para balão volumétrico de 200 ml e o volume completado com solução de hidróxido de sódio 0,1 M (100 $\mu\text{g/ml}$). A partir da solução preparada transferiu-se 6 ml para balão volumétrico de 50 ml e o volume foi

completado com o mesmo diluente (12 µg/ml). A leitura da absorvância foi realizada em 368 nm. Como branco para as análises foi utilizado hidróxido de sódio 0,1 M.

4.9.2.2 Preparo das amostras

Após a determinação do peso médio para os diferentes lotes de comprimidos de tenoxicam triturou-se os mesmos em gral e, a partir do pó obtido, pesou-se o equivalente a 10 mg de tenoxicam, que foram transferidos para balão volumétrico de 50 ml, com auxílio de aproximadamente 25 ml de hidróxido de sódio 0,1 M. A solução foi sonicada por 5 minutos e o volume completado à concentração de 200 µg/ml e filtrada. Três mililitros desta solução foram transferidos para balão volumétrico de 50 ml e o volume completado com hidróxido de sódio 0,1 M obtendo-se concentração de 12 µg/ml. O procedimento foi realizado em triplicata para cada lote e as leituras das absorvâncias foram realizadas em 368 nm, utilizando hidróxido de sódio 0,1 M como branco. Utilizou-se como critério de aceitação a faixa entre 92,0% e 105,0% da quantidade de tenoxicam declarada (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2013).

4.10 Testes de Perfil de Dissolução

O teste de dissolução sem a presença de surfactante pode discriminar e identificar o polimorfo presente numa especialidade farmacêutica sólida (SWANEPOEL; LIEBENBERG; VILLIERS, 2003). As etapas do procedimento, realizado sem o uso de surfactante, encontram-se descritas abaixo.

O procedimento envolveu o uso de dissolutor Varian[®] (Califórnia, EUA) modelo VK 7010 equipado com 8 cubas, amostrador automático múltiplo controlado por uma estação automática modelo VK 8000, bomba peristáltica bidirecional modelo VK e aquecedor/circulador digital modelo VK 750D, espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu[®] (Kyoto, Japão) e peagâmetro Hanna Instrument[®] (Woonsocket, EUA) modelo pH 21.

As condições experimentais atenderam ao preconizado pela British Pharmacopoeia (2013), empregando-se para a realização do teste aparato 2 (pás) com velocidade de agitação de 50 rpm, fosfato de potássio monobásico pH 6,8 como meio de dissolução a temperatura de 37 °C ± 0,5 °C. Para a condição citada foram utilizadas seis cubas com 900 ml de meio de dissolução. A avaliação das soluções ocorreu por espectrofotometria na região do ultravioleta em 368 nm.

4.10.1 Preparo da solução padrão

Para o preparo do padrão pesou-se 0,0222 g de tenoxicam SQT e transferiu-se para balão volumétrico de 100 ml completando o volume com meio de dissolução fosfato monobásico pH 6,8 (222,2 µg/ml) previamente aquecido a $\pm 30^{\circ}\text{C}$. A solução resultante foi sonicada por 35 minutos e, posteriormente, uma alíquota de 1,0 ml foi transferida para balão volumétrico de 10 ml, cujo volume foi completando com meio de dissolução fosfato monobásico (22,22 µg/ml).

4.10.2 Meio de Dissolução

O meio de dissolução foi preparado de acordo com o preconizado pela British Pharmacopoeia (2013). Pesou-se em balança analítica 6,8 g de fosfato de potássio monobásico e transferiu-se para balão volumétrico de 1000 ml, onde se adicionou 23 ml de hidróxido de sódio 1 M; quantidade suficiente para atingir pH ideal de 6,8. Posteriormente completou-se o volume com água ultrapura.

4.10.3 Co-validação do Método de Dissolução

Apesar do teste de dissolução *in vitro* do fármaco tenoxicam na forma farmacêutica comprimidos encontrar-se descrita na British Pharmacopoeia (2013), optou-se pela realização de uma co-validação do método, a fim de comprovar que o método farmacopeico é adequado para o produto. A validação do método abrangeu parâmetros analíticos como especificidade, linearidade, precisão e exatidão, seguindo o determinado pela resolução nº 899 (BRASIL, 2003) e guia internacional (ICH, 2005).

4.10.3.1 Especificidade

Para determinação da especificidade foram utilizadas amostras de placebos equivalentes ao conteúdo de um comprimido conforme a formulação das especialidades farmacêuticas testadas.

Os adjuvantes tecnológicos contidos em comprimidos de diferentes laboratórios farmacêuticos de tenoxicam 20 mg e suas respectivas proporções, com base no descrito no

Handbook of Pharmaceutical Excipients (2009) e *Fielder Encyclopedia of Excipientes for Pharmaceuticals, Cosmetics and Related Areas* (2002), estão apresentados no Quadro 5.

Quadro 5 - Formulações comerciais acompanhados de proporções simuladas de placebo.

	EXCIPIENTE	FUNÇÃO	PORCENTAGEM PROPOSTA (%)
VTE0	Lactose	Diluyente	49,0
	Amido	Diluyente, Desintegrante	15,0
	Talco	Antiaderente	10,0
	Estearato de magnésio	Lubrificante	2,0
	Croscarmelose sódica	Agente de suspensão	3,0
	Celulose microcristalina	Desintegrante	6,0
	Hidroxipropilmetilcelulose	Aglutinante, formador de filme	5,0
	Polietilenoglicol	Plastificante	9,0
	Dióxido de titânio	Pigmento	0,3
	Dióxido de silício	Deslizante	0,6
	Amarelo tartrazina	Pigmento	0,1
	RTE1	Lactose	Diluyente
Amido		Diluyente, Desintegrante	20,0
Talco		Antiaderente	10,0
Estearato de magnésio		Lubrificante	6,0
Hipromelose		Aglutinante	5,0
Dióxido de titânio		Pigmento	0,5
Óxido de ferro amarelo		Pigmento	0,5
ETE2	Lactose	Diluyente	38,0
	Amido	Diluyente, Desintegrante	15,0
	Talco	Antiaderente	10,0
	Estearato de magnésio	Lubrificante	2,0
	Celulose microcristalina	Desintegrante	6,0
	Croscarmelose sódica	Agente de suspensão	3,0
	Etilcelulose	Aglutinante, formador de filme	3,0
	Hipromelose	Aglutinante	2,0
	Macrogol	Agente solubilizante	20,0
	Dióxido de titânio	Pigmento	0,5
	Óxido de ferro amarelo	Pigmento	0,5
MTE3	Lactose monoidratada	Diluyente	58,0
	Amidoglicolato de sódio	Desintegrante	3,0
	Talco	Antiaderente	10,0
	Estearato de magnésio	Lubrificante	2,0
	Celulose microcristalina	Desintegrante	6,0
	Macrogol	Agente solubilizante	20,0
	Dióxido de titânio	Pigmento	0,3
	Dióxido de silício	Deslizante	0,5
	Óxido de ferro amarelo	Pigmento	0,2

As quantidades dos adjuvantes foram determinadas de acordo com o peso médio dos comprimidos, homogeneizadas em gral e, posteriormente transferidas, para as cubas do dissolutor Varian[®] contendo 900 ml de meio de dissolução fosfato de potássio monobásico pH 6,8 em 37 °C ± 0,5 °C e equipadas com aparato 2 (pás) numa velocidade de 50 rotações

por minuto (rpm). Transcorridos 45 minutos, alíquotas de 10 ml foram coletadas, filtradas com filtros de 0,45 µm e avaliadas na faixa espectral de 200 a 400 nm.

Paralelamente foi preparada uma solução de tenoxicam SQT (22,22 µg/ml) para a comparação dos espectros entre a solução padrão e as amostras, utilizando como branco o solvente empregado no preparo das soluções.

4.10.3.2 Linearidade

A linearidade foi estabelecida através do preparo inicial de 100 µg/ml de solução de tenoxicam SQT. Primeiramente pesou-se 0,02g de tenoxicam e transferiu-se para um balão volumétrico de 200 ml, que foi avolumado com metanol. Em seguida, com auxílio de bureta alíquotas de 3 ml, 5 ml, 7 ml, 9 ml, 11 ml e 13 ml a partir da solução estoque (100 µg/ml) foram transferidas para balões volumétricos de 50 ml e os volumes completados com meio de dissolução fosfato de potássio monobásico pH 6,8, obtendo-se concentrações de 6,0; 10,0; 14,0; 18,0; 22,0 e 26,0 µg/ml. A avaliação das soluções ocorreu por espectrofotometria na região do ultravioleta em 368 nm. Para cada concentração foram realizadas três determinações, sendo o mesmo ensaio realizado por três dias consecutivos.

Para a construção da curva padrão, foram realizadas as médias das absorvâncias em cada concentração para a obtenção de um gráfico de absorvância *versus* concentração. A linearidade do método foi verificada através análise da regressão linear (método dos mínimos quadrados) e análise de variância (ANOVA), com auxílio do *software* Excel® (Microsoft, 2010).

4.10.3.3 Exatidão e Precisão

A exatidão do método foi avaliada através do teste de recuperação, onde quantidades de tenoxicam SQT foram adicionadas ao placebo. Foram estabelecidos três níveis de avaliação para o método analítico, adicionando-se 9,0; 16,2 e 23,4 mg de tenoxicam SQT às amostras simuladas do placebo em cubas contendo 900 ml de meio de dissolução (37° C ± 0,5), mantendo-se as pás a 50 rpm por 45 minutos. Após este período foram coletadas alíquotas de 10 ml para análise por UV em 368 nm. As concentrações finais foram de 10,0; 18,0 e 26 µg/ml, utilizando-se três cubas para cada nível de concentração. As análises foram desenvolvidas em duplicatas por três dias consecutivos.

A precisão do método foi determinada pela repetibilidade (precisão intradia) e precisão intermediária (precisão interdia), tendo como base os valores de DPR dos dados da recuperação.

4.10.4 Avaliação do Perfil de Dissolução *in vitro*

Para a avaliação nas especialidades farmacêuticas do perfil de dissolução *in vitro*, alíquotas de 10 ml de cada uma das seis cubas foram retiradas, adequadamente, filtradas com filtros de 0,45 µm nos tempos de 2, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos. A reposição do meio de dissolução não ocorreu e os cálculos foram realizados considerando esse fato. A quantidade de fármaco liberado no meio de dissolução foi determinada na região do ultravioleta em 368 nm.

Os resultados dos perfis de dissolução foram avaliados pelo método modelo independente, calculando-se o fator f_2 , e pelo método modelo dependente empregando equações matemáticas referentes à ordem zero e primeira ordem. Modelos dependentes foram aplicados utilizando o *software* Micromath Scientist for Windows Versão 2.01. Outros parâmetros utilizados na caracterização do perfil de dissolução foram o tempo de meia-vida ($t_{50\%}$), quantidade liberado do fármaco em 25 minutos (Q_{20}) e eficiência de dissolução (ED%).

A dissolução particulada foi empregada para avaliar o desempenho da dissolução *in vitro* dos insumos farmacêuticos ativos na forma pulverulenta. As amostras foram avaliadas separadamente, pesando 20,0 mg de cada insumo e as adicionando diretamente na cuba de dissolução contendo 900 ml de meio de dissolução de fosfato de potássio monobásico pH 6,8 em $37\text{ °C} \pm 0,5\text{ °C}$ equipadas com aparato 2 (pás) numa velocidade de 50 rotações por minuto (rpm), conforme as condições preconizadas pela British Pharmacopoeia (2013). Alíquotas de 10 ml de cada uma das seis cubas foram retiradas, adequadamente, filtradas com filtros de 0,45 µm nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 e 50 minutos e avaliadas na região do ultravioleta em 368 nm.

Paralelamente, foi preparada uma solução de tenoxicam SQT (22,22 µg/ml) para a comparação entre os espectros da solução padrão e das amostras, utilizando como branco o solvente empregado no preparo das soluções.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Análises por Difração de Raios X

A caracterização estrutural das amostras de tenoxicam ocorreu por difração de raios X em policristais (DRXP), pois um fator limitante para a análise em monocristais (DRXM) é a obtenção de cristais de boa qualidade e tamanho durante a recristalização, além da necessidade de difratômetros especiais para essa técnica, o que limita a sua aplicação (FERREIRA *et al.*, 2010; STEPHENSON, 2005).

5.1.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (SQT)

Conforme consultado no banco de dados disponibilizados pela ICDD, a molécula do tenoxicam não apresenta estrutura cristalina indexada. Nos bancos de dados constam padrões cristalográficos de tenoxicam associados a moléculas inorgânicas. Isto inviabiliza a utilização dos mesmos como referência, porém os difratogramas apresentados na literatura consultada auxiliaram nas interpretações aqui realizadas.

A Figura 4 possibilita comparar os difratogramas das formas I, II, III e IV obtidos por Cantera, Leza e Bachiller (2002) com o apresentado pelo tenoxicam SQT, sintetizado pela empresa Changzhou Hubin Medicine Raw Materials Co. Ltd (Changzhou, China). As setas indicam os picos de maior intensidade nos difratogramas. No tenoxicam SQT, estes picos possuem valores em graus 2θ de $11,72^\circ$; $16,16^\circ$; $24,43^\circ$; $25,54^\circ$ e $28,52^\circ$, em posições similares a forma III obtida por Cantera, Leza e Bachiller (2002).

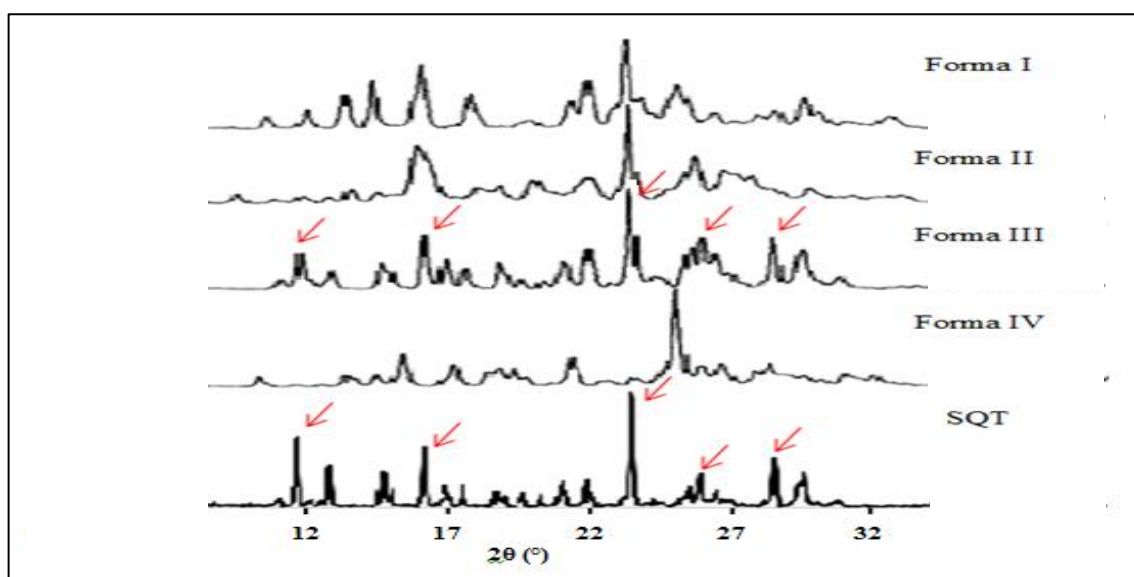


Figura 4 – Comparação do difratograma do tenoxicam SQT com as formas I, II, III e IV obtidas por Cantera, Leza e Bachiller (2002).

A comparação entre os difratogramas das formas I e III obtidas por Patel *et al.* (2012) com o do tenoxicam SQT (Figura 5) possibilitou verificar que este é similar ao da forma III. Utilizando-se de um maior número de picos com valores 2θ em $11,04^\circ$; $11,72^\circ$; $12,86^\circ$; $14,64^\circ$; $16,16^\circ$; $23,46^\circ$; $25,54^\circ$ e $29,58^\circ$ no difratograma da SQT foi possível verificar a similaridade das posições dos picos nos difratogramas da SQT e forma III obtida por Patel *et al.* (2012).

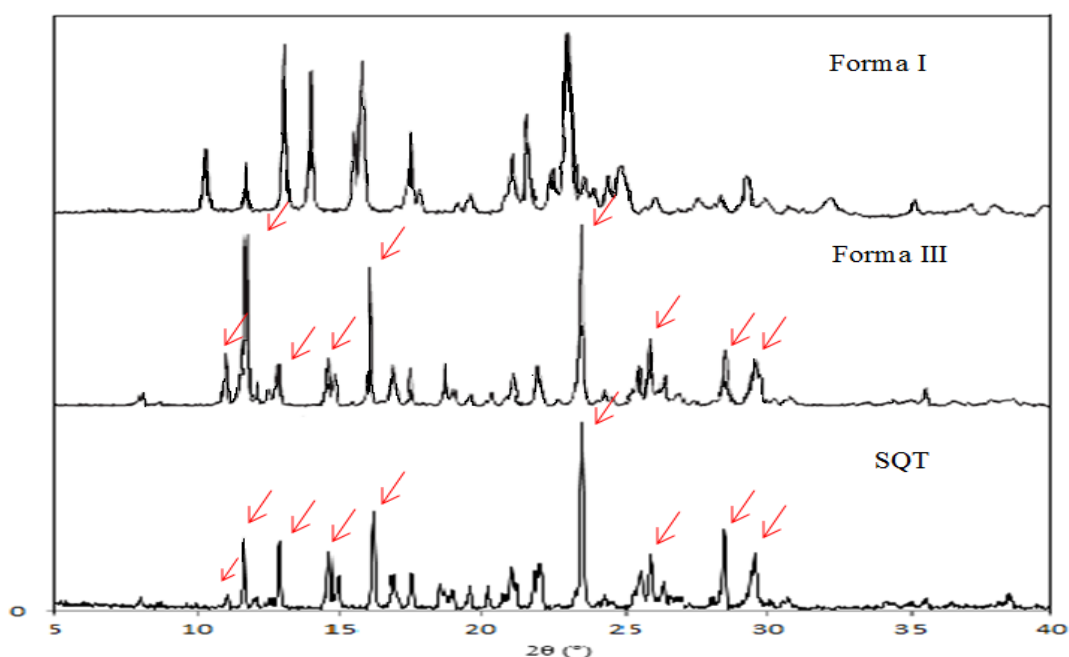


Figura 5 – Comparação do difratograma do tenoxicam SQT com a forma I e III obtidas por Patel *et al.* (2012).

Considerando que a difração por raios X é uma técnica que possibilita comparar e diferenciar as estruturas cristalinas (BORGES, 1982) é possível afirmar que a estrutura cristalina do tenoxicam SQT analisada é idêntica à da forma III.

5.1.2 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam

A interpretação dos difratogramas teve início com a comparação entre o composto cristalino obtido pela dissolução de tenoxicam SQT em clorofórmio (forma I) com o composto cristalino preparado com butanol (forma II). Os difratogramas apresentaram picos definidos, característicos de substâncias cristalizadas (MAXIMIANO *et al.*, 2010).

Na Figura 6 verifica-se que ambos os difratogramas apresentam picos com posições 2θ muito próximos. Ao ampliar a região de sobreposição (ANEXO I, Figura A1.1) constata-se que a forma I apresenta picos posicionados em $10,92^\circ$; **$11,64^\circ$** ; $12,06^\circ$; $12,76^\circ$; $14,54^\circ$; $14,86^\circ$;

16,1°; 16,78°; 17,48°; 18,62°; 18,94°; 20,24°; 21,2°; 21,86°; **23,42°**; 24,26°; 25,4°; 25,84°; 26,03°; 26,78°; 28,08°; 28,38°; 29,38°; 30,08° 2 θ , sendo destacados em negrito as distâncias interplanares dos três picos mais intensos. A forma II possui picos em 7,96°; 10,94°; **11,56°**; 11,96°; 12,74°; 14,48°; 14,6°; **16,06°**; 16,76°; 17,48°; 18,54°; 19,44°; 20,94°; 21,76°; **23,36°**; 24,26°; 25,38°; 25,78°; 26,28°; 26,78°; 28,4°; 29,4°; 30,06°; 30,62° e 30,66° 2 θ .

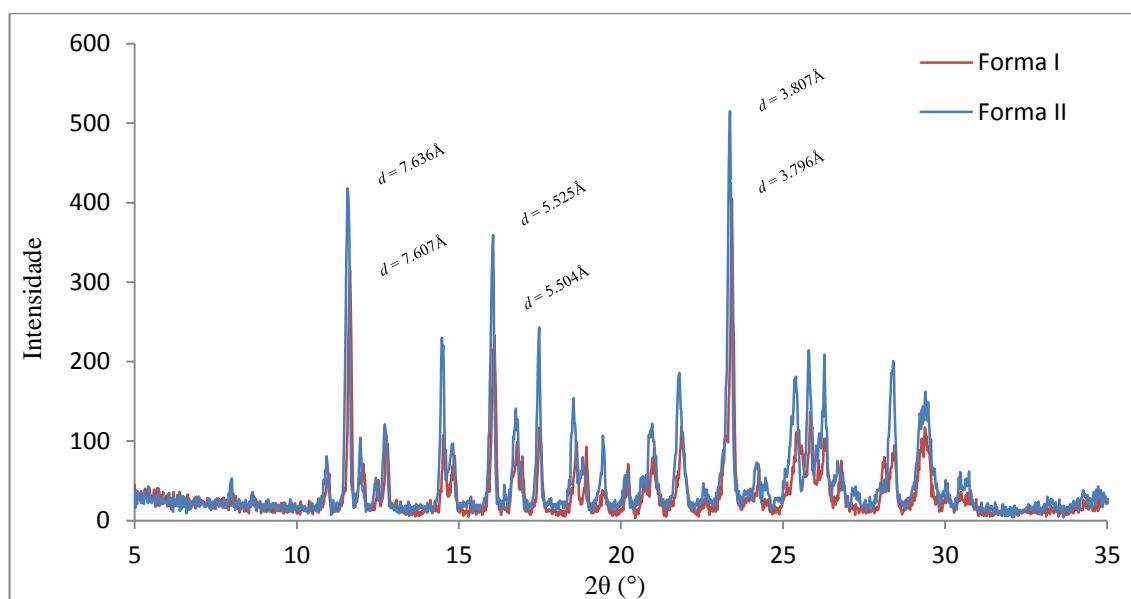


Figura 6 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e II de tenoxicam, obtidos utilizando Difratorômetro Siemens[®] modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

A estrutura cristalina que constitui a forma II, apresenta picos com maiores intensidades. A intensidade dos picos pode ser decorrente de diferentes fatores, entre eles o grau de cristalinidade ou apenas dos tempos de evaporação dos diferentes solventes (BLOSS, 1994). Na Figura 6, e mais nitidamente, na Figura A1.1 (ANEXO I) observa-se pequenas alterações na região compreendida entre 25° e 30°, que possivelmente são decorrentes de pequenas modificações nas orientações das faces cristalinas (BORGES, 1982). De um modo geral, os difratogramas apresentam pequenas variações de intensidades e deslocamentos, além de demonstrar mínima alteração nas distâncias interplanares (d) dos três picos de maior intensidade, não representando estruturas cristalinas distintas (BORGES, 1982; MAXIMIANO *et al.*, 2010), sendo, portanto, a mesma estrutura cristalina presente nas formas I e II.

Em seguida, foi comparado o composto cristalino que constitui a forma I, preparada com clorofórmio, com a substância cristalina obtida da dissolução de tenoxicam SQT em álcool isopropílico (forma III).

Verifica-se na Figura 7 e na Figura A1.2 (ANEXO I) que os picos presentes na forma I com posições em 10,92°; **11,64**°; 12,06°; 12,76°; 14,52°; 14,86°; **16,1**°; 16,78°; 17,48°; 18,62°; 18,94°; 20,24°; 21,2°; 21,86°; **23,42**°; 24,26°; 25,4°; 25,84°; 26,03°; 26,78°; 28,08°; 28,38°; 29,38°; 30,08° 2 θ , estão muito próximos das posições presentes na forma III: 8,72°; 9,18°; 11,04°; **11,66**°; 12,84°; 14,6°; 14,58°; **16,12**°; 16,84°; 17,48°; 18,64°; 19,48°; 21,02°; 21,86°; **23,44**°; 24,28°; 25,46°; 25,44°; 25,8°; 26,92°; 28,5°; e 29,56° 2 θ . Da mesma forma, os difratogramas apresentaram picos principais bem definidos e similares, com pequenas variações de intensidades e deslocamentos, além de ocorrer mínima alteração nas distâncias interplanares (*d*) dos três picos de maior intensidade. Em ambas os difratogramas também se observa uma alteração na região compreendida entre 25° e 30° 2 θ e picos com maiores intensidades na forma III. Apesar dessas pequenas variações trata-se da mesma estrutura cristalina presente nas formas I e III.

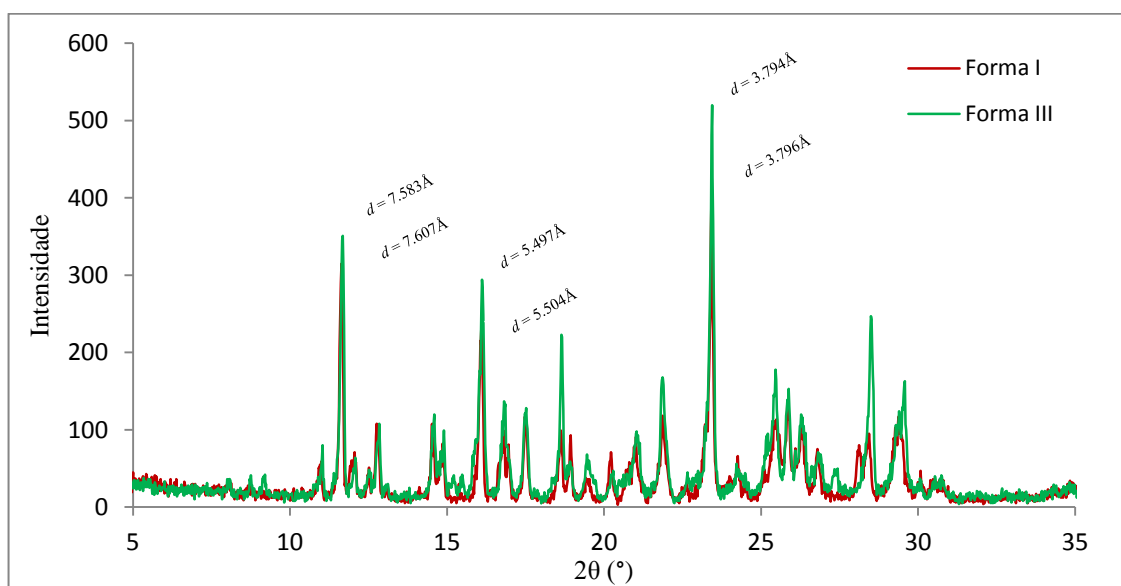


Figura 7 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e III de tenoxicam, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Posteriormente, foram avaliados os difratogramas das formas I e IV (Figura 8), obtidas pela dissolução de tenoxicam SQT em clorofórmio e metanol, respectivamente.

Na Figura 8 ao confrontar os difratogramas das formas I e IV observa-se que a forma I possui picos em 10,92°; **11,64**°; 12,06°; 12,76°; 14,52°; 14,86°; **16,1**°; 16,78°; 17,48°; 18,62°; 18,94°; 20,24°; 21,2°; 21,86°; **23,42**°; 24,26°; 25,4°; 25,84°; 26,03°; 26,78°; 28,08°; 28,38°; 29,38°; 30,08° 2 θ e a forma IV tem picos em 11°; **11,62**°; 12,02°; 12,78°; 14,54°; 14,8°; 16,08°; 16,76°; 17,5°; 18,58°; 18,64°; 18,86°; 19,54°; 20,24°; 21,02°; 21,86°; **23,44**°; 25,42°; 25,82°; 26,28°; 26,8°; **28,4**°; 29,32° e 30,72° 2 θ . Verifica-se que ocorrem deslocamentos

relativos e intensidades diferentes, inclusive nos três picos mais intensos, o que também pode ser visto ao aproximar a imagem (Figura A1.3 – ANEXO I).

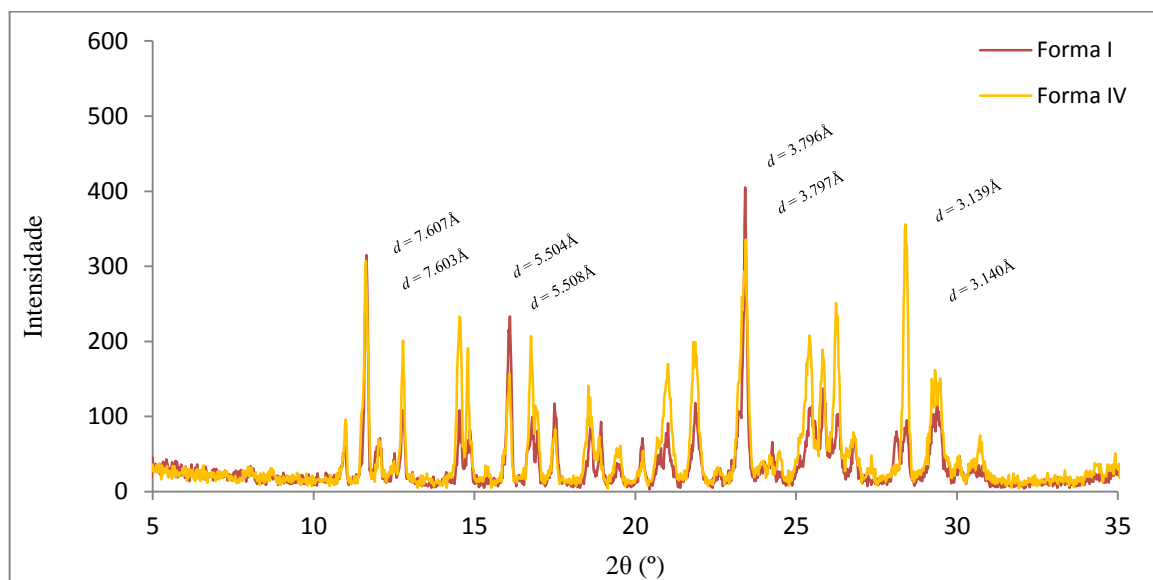


Figura 8 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas I e IV de tenoxicam, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Considerando que estes deslocamentos têm pequenas diferenças nos valores de 2θ e, conseqüentemente, nas distâncias interplanares, pode-se concluir que não se trata de outro polimorfo (BLOSS, 1994; BORGES, 1982; KLEIN; HURLBUT, 1993). Também foi possível constatar pequenas diferenças nas posições e intensidades dos picos na região compreendida entre 25° a 30° 2θ , porém não indicam se tratar de uma substância cristalina diferente.

Na Figura 9 são apresentados os difratogramas pertencentes aos compostos cristalinos, formas II e III de tenoxicam, preparadas com butanol e álcool isopropílico, respectivamente.

Constatou-se, ao avaliar a Figura 9, que picos no difratograma da forma II, com picos em $7,96^\circ$; $10,94^\circ$; **$11,56^\circ$** ; $11,96^\circ$; $12,74^\circ$; $14,48^\circ$; $14,6^\circ$; **$16,06^\circ$** ; $16,76^\circ$; $17,48^\circ$; $18,54^\circ$; $19,44^\circ$; $20,94^\circ$; $21,76^\circ$; **$23,36^\circ$** ; $24,26^\circ$; $25,38^\circ$; $25,78^\circ$; $26,28^\circ$; $26,78^\circ$; $28,4^\circ$; $29,4^\circ$; $30,06^\circ$; $30,62^\circ$ e $30,66^\circ$ 2θ , estão deslocados e com intensidades próximas aos do difratograma da forma III, e que possuem picos em $8,72^\circ$; $9,18^\circ$; $11,04^\circ$; **$11,66^\circ$** ; $12,84^\circ$; $14,6^\circ$; $14,58^\circ$; **$16,12^\circ$** ; $16,84^\circ$; $17,48^\circ$; $18,64^\circ$; $19,48^\circ$; $21,02^\circ$; $21,86^\circ$; **$23,44^\circ$** ; $24,28^\circ$; $25,46^\circ$; $25,44^\circ$; $25,8^\circ$; $26,92^\circ$; $28,5^\circ$; e $29,56^\circ$ 2θ . Neste caso, também foram verificadas alterações na região compreendida entre 25° a 30° 2θ (Figura A1.4 – ANEXO I). Estes dois difratogramas são similares com picos bem definidos e com mínima alteração nas distâncias interplanares (d) dos três picos de maior intensidade, representando uma mesma estrutura cristalina.

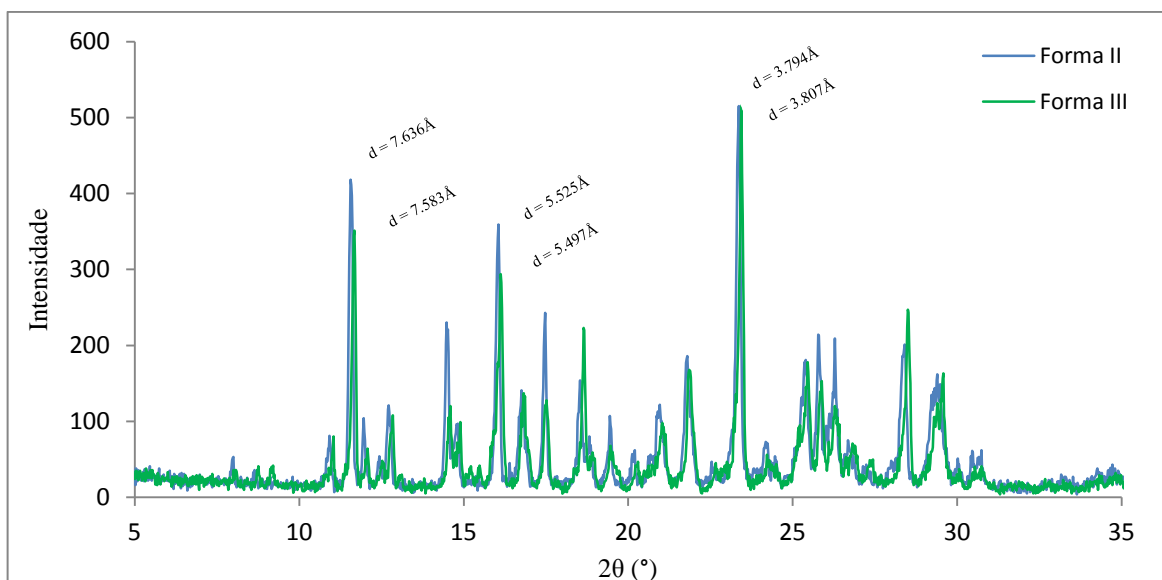


Figura 9 – Comparação dos difratogramas dos compostos cristalino das formas II e III de tenoxicam, obtidos utilizando Difratorômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

A análise dos difratogramas das estruturas cristalinas forma II e IV, preparadas com butanol e metanol, respectivamente, pode ser verificada na Figura 10.

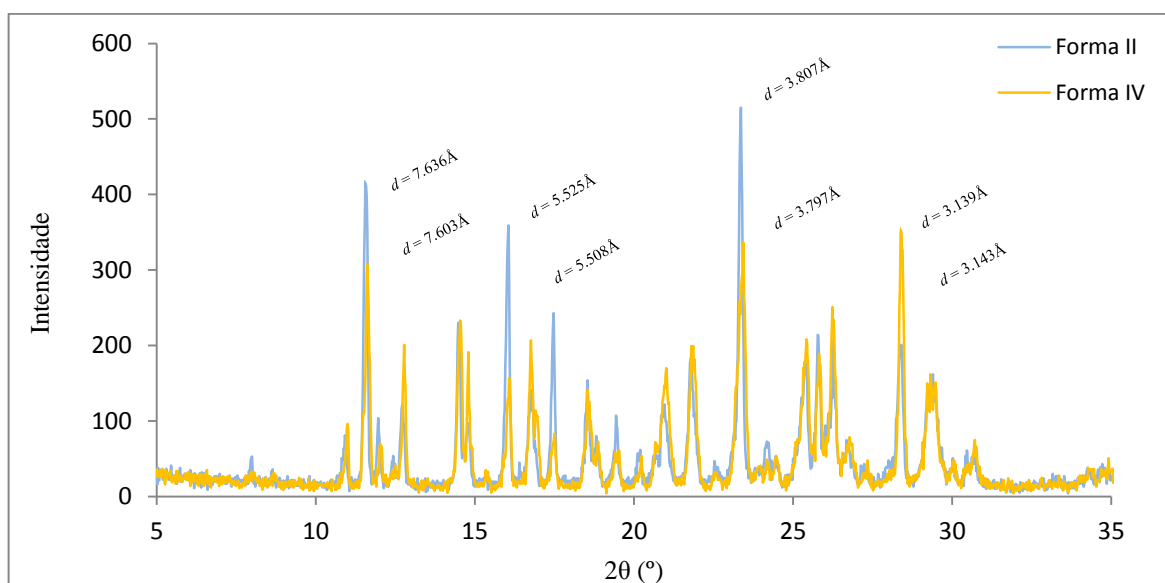


Figura 10 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas II e IV de tenoxicam, obtidos utilizando Difratorômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Ao comparar os picos do difratograma da forma II, com picos em 7,96°; 10,94°; **11,56°**; 11,96°; 12,74°; 14,48°; 14,6°; **16,06°**; 16,76°; 17,48°; 18,54°; 19,44°; 20,94°; 21,76°; **23,36°**; 24,26°; 25,38°; 25,78°; 26,28°; 26,78°; 28,4°; 29,4°; 30,06°; 30,62° e 30,66° 2θ com o composto cristalino da forma IV, com picos em 11°; **11,62°**; 12,02°; 12,78°; 14,54°; 14,8°; 16,08°; 16,76°; 17,5°; 18,58°; 18,64°; 18,86°; 19,54°; 20,24°; 21,02°; 21,86°; **23,44°**; 25,42°;

25,82°; 26,28°; 26,8°; **28,4°**; 29,32° e 30,72° 2θ, percebe-se diferenças nas intensidades de alguns destes picos, inclusive nos três picos mais intensos. Não foram verificadas diferenças nas posições ou intensidades dos picos localizados no intervalo entre 25° e 30° 2θ (Figura A1.5 - ANEXO I). Portanto, pode-se verificar na Figura 10, que os difratogramas das formas II e IV representam uma mesma estrutura cristalina, pois as alterações nas distâncias interplanares (*d*) são mínimas (BLOSS, 1994; BORGES, 1982; KLEIN; HURLBUT, 1993).

Os difratogramas das formas III e IV, preparadas com álcool isopropílico e metanol, respectivamente, podem ser verificados na Figura 11.

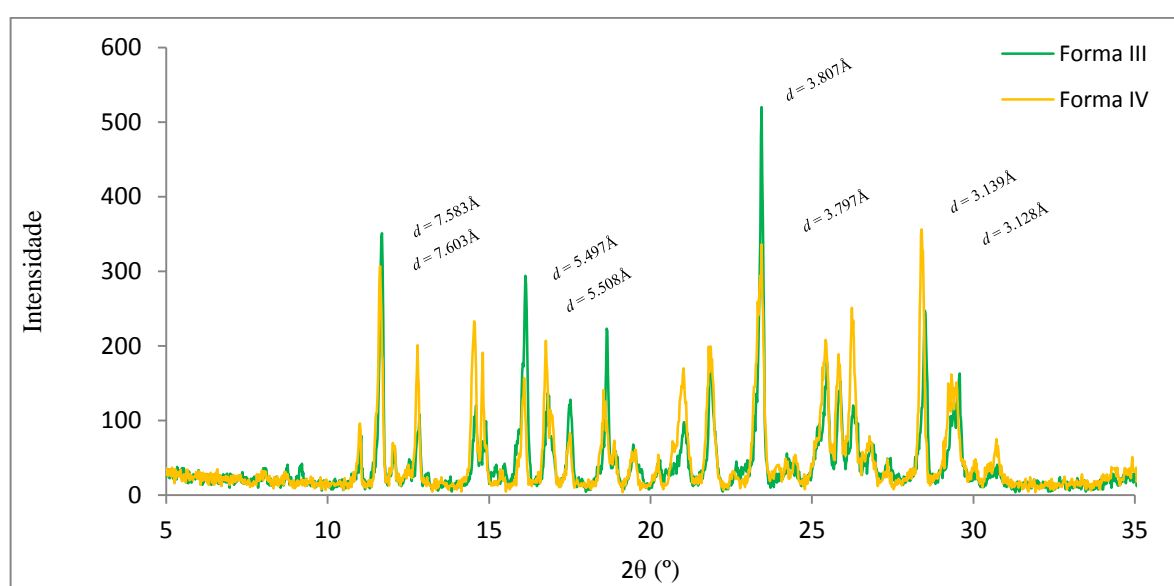


Figura 11 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas das formas III e IV de tenoxicam, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Observando na Figura 11 e A1.6 (ANEXO I) os picos referentes a forma III, com posições em 8,72°; 9,18°; 11,04°; **11,66°**; 12,84°; 14,6°; 14,58°; **16,12°**; 16,84°; 17,48°; 18,64°; 19,48°; 21,02°; 21,86°; **23,44°**; 24,28°; 25,46°; 25,44°; 25,8°; 26,92°; 28,5°; e 29,56° 2θ e as posições dos picos da forma IV, localizados em 11°; **11,62°**; 12,02°; 12,78°; 14,54°; 14,8°; 16,08°; 16,76°; 17,5°; 18,58°; 18,64°; 18,86°; 19,54°; 20,24°; 21,02°; 21,86°; **23,44°**; 25,42°; 25,82°; 26,28°; 26,8°; **28,4°**; 29,32° e 30,72° 2θ, constata-se apenas variações nas intensidades destes picos (incluindo os três mais intensos) e similaridade nas distâncias interplanares (*d*), tratando-se de uma mesma estrutura cristalina, porém com possíveis diferenças nas propriedades físico-químicas (BLOSS, 1994; BORGES, 1982; KLEIN; HURLBUT, 1993). A região compreendida entre 25° e 30° 2θ apresenta similaridade entre os compostos.

Após a análise entre as diferentes formas I, II, III e IV, realizou-se a avaliação dos seus difratogramas com o tenoxicam SQT (Figura 12), o qual não passou por nenhum processo de adição ou diluição em solvente. As comparações individualizadas entre a SQT e as formas citadas, encontram-se disponíveis no ANEXO I, Figuras A1.7, A1.8, A1.9 e A1.10.

O difratograma do tenoxicam SQT apresentou picos agudos e com flexões intensas, o que é indicativo de elevado grau de cristalinidade (CHONO *et al.*, 2008). Os picos no difratograma do tenoxicam SQT, em 8,12°; 10,98°; **11,04°**; 12,86°; 14,64°; 14,96°; **16,16°**; 16,84°; 16,88°; 17,56°; 18,7°; 19,62°; 21,94°; **23,46°**; 24,3°; 25,54°; 28,52°; 28,52°; 29,58° e 30,74 2 θ apresentaram posições similares aos encontrados nas formas I, II, III e IV.

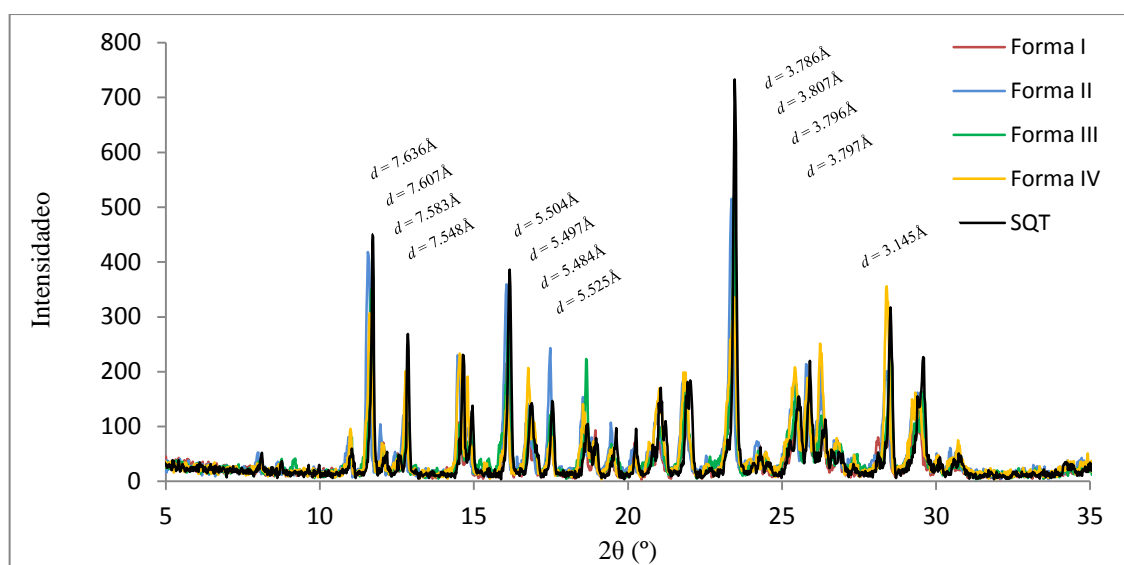


Figura 12 – Comparação dos difratogramas das estruturas cristalinas formas I, II, III e IV com tenoxicam SQT, obtidos utilizando Difratorômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de λ CuK α (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Apesar do difratograma do tenoxicam SQT apresentar picos mais intensos em comparação às formas I, II, III e IV, não indica se tratar de outro polimorfo, pois apresenta distâncias interplanares (d) similares.

A estrutura cristalina é caracterizada pelas distâncias interplanares (d) e não pelas intensidades dos picos. Observa-se que para identificar uma substância cristalina é necessário haver coincidência nas posições (eixo x) dos três picos principais, ou seja, aqueles que têm maior intensidade (BLOSS, 1994; BORGES, 1982; KLEIN; HURLBU, 1993). Com base no apresentado, pode-se concluir que a metodologia descrita por Cantera, Leza e Bachiller (2002), quanto ao preparo das diferentes formas polimórficas, não se mostrou reprodutível, pois os difratogramas das substâncias cristalinas das formas I, II, III e IV apresentaram picos com pequenas variações de intensidades e deslocamentos com insignificantes alterações nas

distâncias interplanares (valores de d). Portanto, a adição de diferentes solventes em amostras de tenoxicam SQT, sob condições propostas por Cantera, Leza e Bachiller (2002), não promoveram modificações significativas na estrutura cristalina da forma III do tenoxicam SQT.

A produção de formas cristalinas a partir da metodologia exposta por Cantera, Leza e Bachiller (2002) foram reproduzidas por Patel *et al.* (2012) e Bolla, Sanphui e Nangia (2013), que relataram a obtenção da forma III do tenoxicam, das quatro formas cristalinas propostas. Em ambos os trabalhos, tanto de Patel *et al.* (2012) como de Bolla, Sanphui e Nangia (2013), não ocorreram citações sobre análises cristalográficas na matéria-prima de partida.

A não obtenção das formas polimórficas do tenoxicam pode estar relacionada a sua estrutura molecular, especificamente a sua rigidez estrutural e aos tipos de forças intermoleculares presentes (forças de Van der Waals, dipolo-dipolo e ligações de hidrogênio), que influenciam diretamente no processo de recristalização (YU; REUTZEL-EDENS; MITCHELL, 2000).

A flexibilidade conformacional não influencia somente no modo de empacotamento das moléculas no interior dos cristais, mas também, na orientação espacial da molécula. As forças intermoleculares influenciam na força e orientação molecular, e desta forma, as forças de Van der Waals ocasionam empacotamento molecular mais próximo, as ligações de hidrogênio são altamente direcionais e podem conduzir a estruturas moleculares com alta energia, e as interações dipolo-dipolo favorecem o alinhamento paralelo ou antiparalelo de dipolos nas moléculas (SCHMIDT; SCHWARZ; MEREITER, 2006; YU; REUTZEL-EDENS; MITCHELL, 2000).

5.1.3 Análise dos insumos farmacêuticos ativos

Para manter a qualidade das matérias-primas e garantir a reprodutividade do desempenho das especialidades farmacêuticas produzidas é conveniente identificar e caracterizar as estruturas cristalinas presentes (TIWARY, 2001).

Embora fatores como tipo de solvente, concentração do solvente, velocidade de arrefecimento, tempo e temperatura envolvidos na síntese de um API influenciam na formação de distintas estruturas cristalinas (LIN, 2014), pode-se afirmar que os insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam (GTE1, STE2 e NTE3) e a SQT (forma III) provenientes de diferentes indústrias farmacológicas avaliadas possuem a mesma forma cristalina. Na Figura 13, os picos presentes nos insumos ativos GTE1, STE2 e NTE3 apresentam posições

similares aos apresentados pela SQT, em 8,12°; 10,98°; **11,04°**; 12,86°; 14,64°; 14,96°; **16,16°**; 16,84°; 16,88°; 17,56°; 18,7°; 19,62°; 21,94°; **23,46°**; 24,3°; 25,54°; 28,52°; 28,52°; 29,58° e 30,74 2 θ , com pequenas variações de intensidades e deslocamentos, além de demonstrar mínima alteração nas distâncias interplanares (*d*).

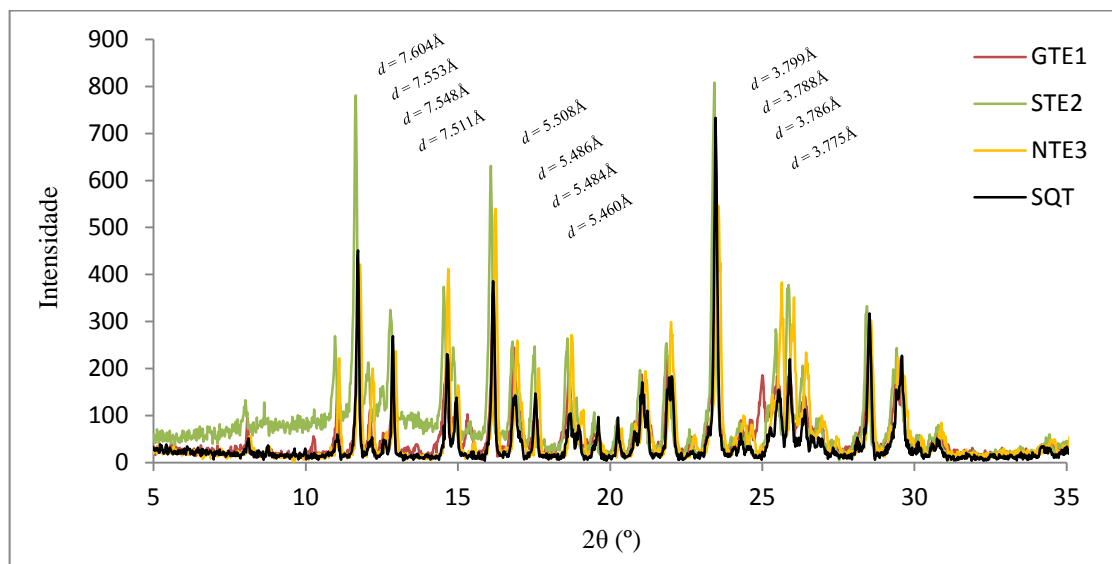


Figura 13 – Comparação entre os difratogramas de insumos farmacêuticos ativos de tenoxicam e SQT, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Com os resultados obtidos infere-se que possivelmente ocorra um direcionamento por parte das indústrias farmacológicas para a síntese da estrutura cristalina, forma III, do tenoxicam, pois esse insumo farmacêutico ativo encontra-se mais amplamente nessa forma cristalina para comercialização. Limitado a uma única estrutura cristalina, o polimorfismo não será uma preocupação no momento da aquisição desse fármaco.

5.1.4 Análise das especialidades farmacêuticas

A possibilidade de transformação do API de uma fase cristalina para outra com o passar do tempo nas formulações farmacêuticas (KARABAS; ORKOULA; KONTOYANNIS, 2007), e as possíveis alterações polimórficas decorrentes do processo produtivo dos medicamentos (OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011), remete a necessidade de investigação. Assim, especialidades farmacêuticas do tenoxicam (VTE0, RT1, ETE2 e MTE3) e seus placebos, foram submetidos à avaliação de suas estruturas cristalinas.

Segundo Karabas, Orkoula e Kontoyannis (2007), embora a diferenciação de polimorfos em uma mistura seja possível, a discriminação da análise por DRX deve ser

verificada quando outras substâncias estão presentes na formulação. Os comprimidos para administração oral contêm normalmente algumas classes de componentes além, dos insumos ativos, incluindo (1) diluentes, (2) aglutinante ou agregante, (3) desintegrante e (4) lubrificante (LACHMAN; LIEBERMAN; KANING, 2001). Essas substâncias, denominadas excipientes, assim como os fármacos, também podem apresentar cristalinidade e produzir picos de difração. Dessa forma, picos cristalinos não atribuídos aos insumos farmacêuticos ativos podem indicar a presença de excipientes cristalinos (SALVI, 2011).

Na Figura 14, ocorre a avaliação por DRX dos placebos das especialidades farmacêuticas. Verifica-se que os difratogramas dos placebos dos produtos farmacêuticos VTE0, RT1, ETE2 e MTE3 apresentam os três picos mais intensos com posições 2θ muito próximos (as setas indicam os picos de maior intensidade).

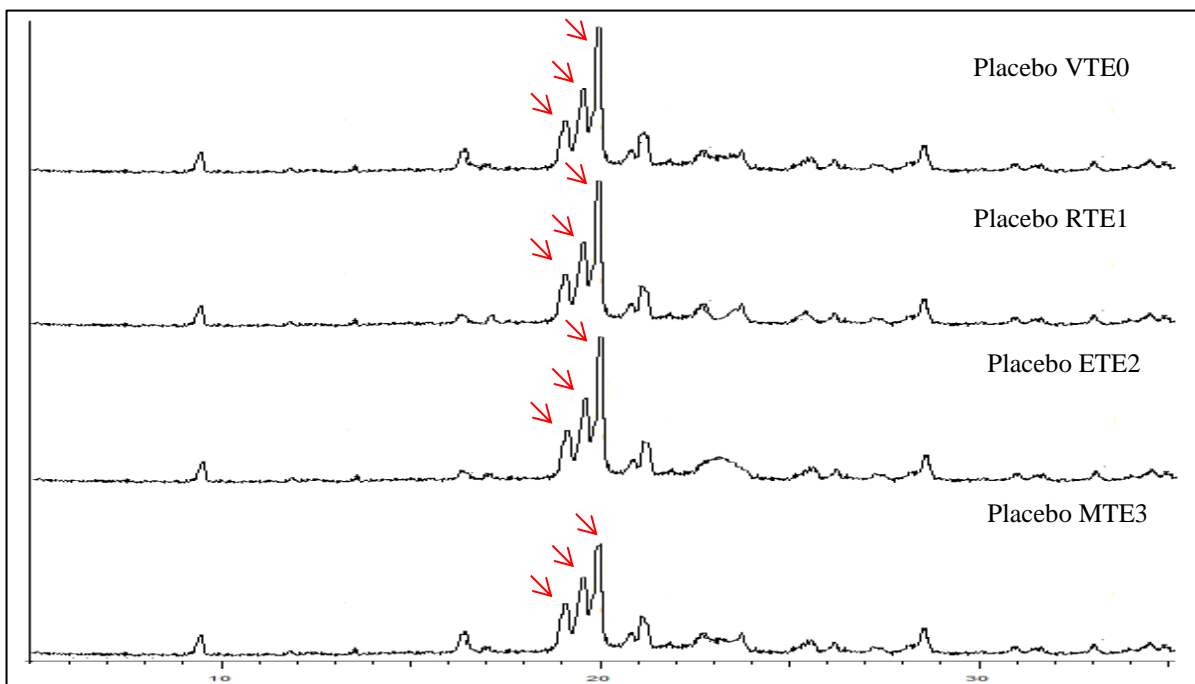


Figura 14 – Comparação entre os difratogramas dos placebos das especialidades farmacêuticas, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

Observando a Figura 15, constata-se que os três picos mais intensos apresentados pelas especialidades farmacêuticas VTE0, RT1, ETE2 e MTE3 correspondem aos picos dos placebos dos respectivos produtos farmacêuticos, conforme Figura 14. Ao avaliar somente os picos correspondentes ao fármaco tenoxicam, observa-se a existência de modificações nas intensidades e pequenas alterações nas posições dos picos das estruturas cristalinas pertencentes aos compostos VTE0, RT1, ETE2 e MTE3 em relação aos picos do tenoxicam

SQT posicionados em 8,12°; 10,98°; **11,04°**; 12,86°; 14,64°; 14,96°; **16,16°**; 16,84°; 16,88°; 17,56°; 18,7°; 19,62°; 21,94°; **23,46°**; 24,3°; 25,54°; 28,52°; 28,52°; 29,58° e 30,74 2 θ .

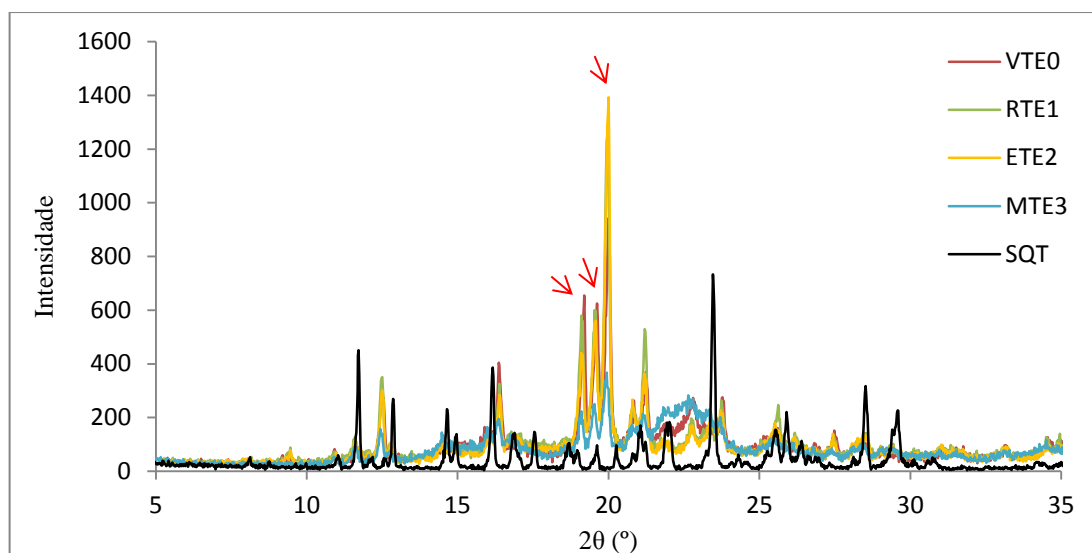


Figura 15 – Comparação entre os difratogramas das especialidades farmacêuticas e SQT, obtidos utilizando Difratômetro Siemens® modelo D-5000, com radiação de $\lambda\text{CuK}\alpha$ (1,5409 Å) e potência de 40 kV e 25 mA.

As modificações nas posições dos picos (2θ), nas especialidades farmacêuticas do tenoxicam, possivelmente são decorrentes de transformações induzidas por processamento (PIT). Essas transformações durante a produção de produtos farmacêuticos são conhecidas, mas difíceis de prever e controlar. Sujeitar um insumo farmacêutico com determinada estrutura cristalina a um processamento industrial induz a algum estresse (térmico, mecânico, solubilização ou umidade) no sistema, com alteração de equilíbrio interno (MORRIS *et al.*, 2001). As modificações na fase cristalina podem ocorrer durante o processamento (molhabilidade, secagem e tamisação), e o API pode se recrystalizar ou permanecer amorfo, ou se transformar num hidrato ou polimorfo diferente (STEPHENSON, 2005).

Após a secagem, o API é normalmente triturado por diferentes técnicas como moagem por pinos, moagem por bola ou operações de cisalhamento laminar dependendo das propriedades dos materiais e do tamanho desejado de partícula. O processo de moagem pode gerar quantidades significativas de calor e estresse, como consequência, transformações de fase e componentes amorfos podem ser gerados. Como o tamanho da partícula é reduzido, muitas vezes a intensidade das reflexões sistematicamente diminuiu como orientação preferida e além disso, alargamento dos picos é observado como resultado de redução de tamanho de partícula. A granulação a úmido também proporciona um meio ideal para a cristalização de novas fases cristalinas, ao envolver a mistura do ingrediente ativo e excipientes em um misturador com um líquido de granulação, bem como requer que o produto

seja secado e triturado, a fim de obter um granulado dentro de uma faixa de tamanho aceitável (STEPHENSON, 2005).

Entretanto, como as modificações na estrutura cristalina do tenoxicam não ocasionaram a formação de novos picos e não ocorre a subtração daqueles característicos do fármaco tenoxicam, a estrutura cristalina das especialidades farmacêuticas é a mesma presente na SQT (forma III), apesar de ocorrer deslocamentos nas posições dos picos (2 θ). Embora os processos industriais possam ocasionar mudanças na estrutura cristalina de compostos farmacêuticos, tais procedimentos não foram capazes de ocasionar a formação de nova fase cristalina no tenoxicam, presente nas especialidades farmacêuticas avaliadas.

5.2 Análises Espectrofotométricas por IV

As análises foram realizadas por espectrofotômetro de IV por ATR, o qual dispensa o preparo de pastilhas formadas pela mistura de amostras no estado sólido e halogênio alcalino, o que evita a transição de fase cristalina dos compostos a serem analisados, em função da pressão exercida (cerca de 10 000 psi) ou com a possível migração do halogênio para a amostra (BUGAY, 2001). Segundo Vippagunta, Brittain e Grant (2001), a espectrofotometria na região do IV por ATR é uma técnica de grande viabilidade para a caracterização de polimorfos com muitas vantagens de análise, como rapidez de análise, possibilidade de recuperação das substâncias, relativa facilidade de utilização e ausência de pré tratamento da amostra, assegurando às análises confiabilidade nos resultados.

5.2.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (SQT)

Os métodos de identificação são procedimentos analíticos de natureza qualitativa, destinados à confirmação da identidade do insumo farmacêutico ativo ou de determinado componente de uma forma farmacêutica (GIL, 2010). A técnica foi empregada para identificação da SQT, pois a Farmacopeia Brasileira 4 ed. (2003)² cita como método de identificação do tenoxicam o IV, recomendando que o espectro de absorção da amostra apresente os máximos de absorção somente nos mesmos comprimentos de onda e com as mesmas intensidades relativas daqueles observados no espectro de tenoxicam padrão.

² A monografia do fármaco tenoxicam encontra-se indisponível na atual edição da Farmacopeia Brasileira, 5 ed., 2010.

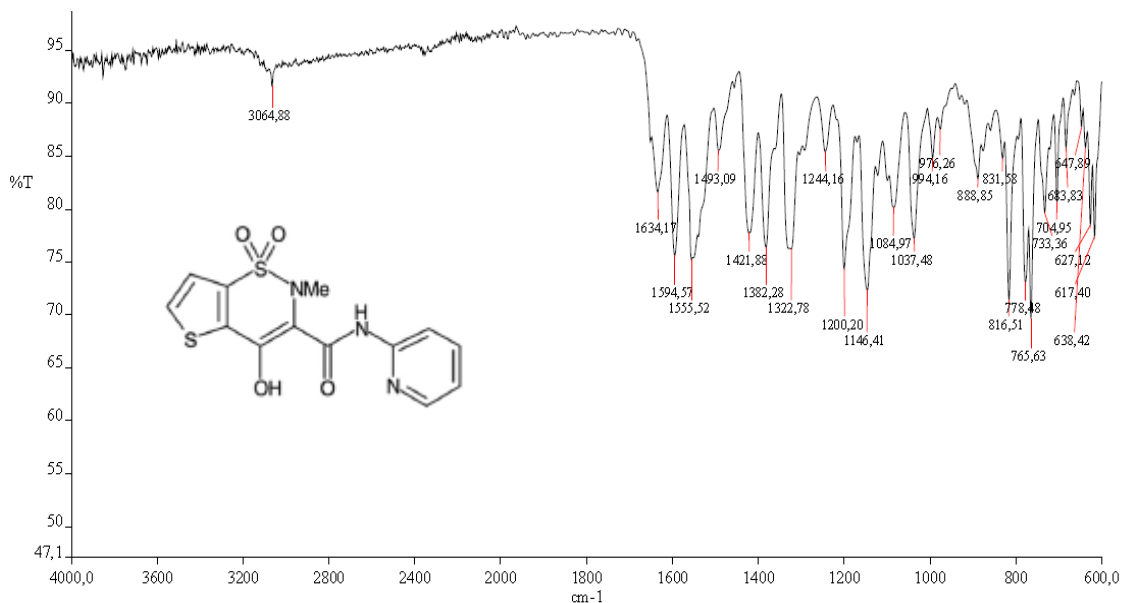


Figura 16 – Espectro do tenoxicam (SQT) na região do IV (600 a 4000 cm^{-1}) obtido utilizando Espectrofotômetro Perkin Elmer® modelo FT-IR Spectrum BX, detendo acessório de refletância total atenuada (ATR).

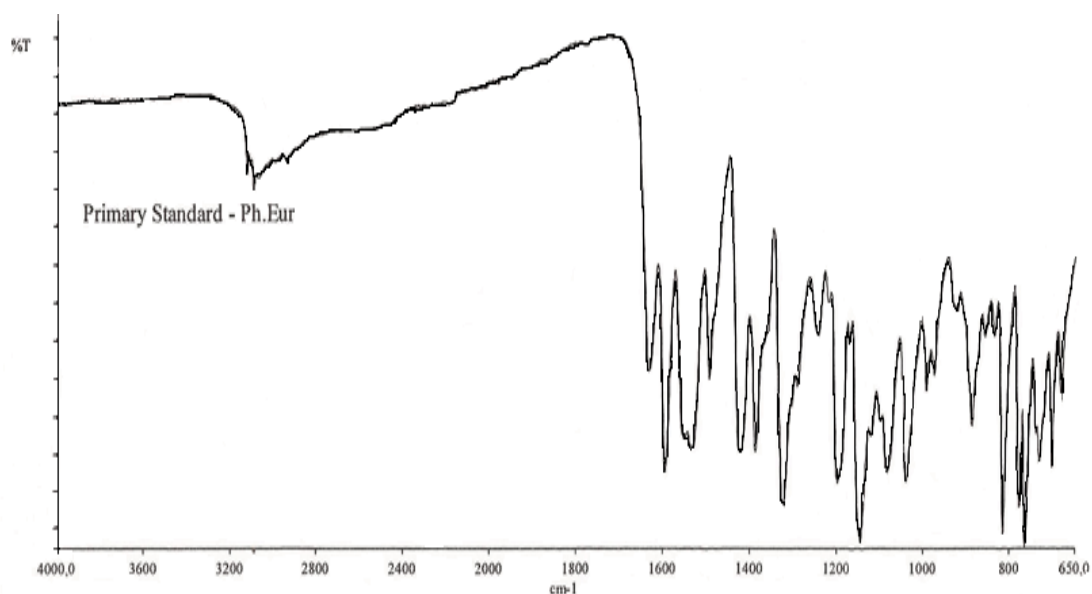


Figura 17 - Espectro do tenoxicam (SQR) na região do IV (650 a 4000 cm^{-1}) (EUROPEAN PHARMCPEIA, 2013).

Os espectros de IV das Figuras 16 e 17 representam, respectivamente, o tenoxicam SQT avaliado (proveniente da empresa Changzhou Hubin Medicine Raw Materials Co. Ltd) e o tenoxicam SQR disponibilizado na literatura (EUROPEAN PHARMCPEIA, 2013). Ao compará-los, verificam-se bandas de absorção características para identificação da substância tenoxicam.

As principais bandas de absorção na região do IV e suas atribuições estão indicadas no Quadro 6.

Quadro 6 – Frequências de absorção das principais bandas no infravermelho e suas respectivas atribuições para o fármaco tenoxicam.

ATRIBUIÇÃO*	FAIXA DE ABSORÇÃO (cm ⁻¹)	OBSERVADO (cm ⁻¹)
Deformação axial C-H aromáticos	3100 – 3000	3064
Vibração de deformação axial de C=O em amidas secundárias	1640	1634
Bandas fracas de combinação e de harmônicos entre C-H	2000 – 1600	1594
Vibração de deformação angular de N-H em amidas secundárias	1570 – 1515	1555
Vibração de deformação angular no plano O-H	1420 – 1330	1382 1322
Vibração de deformação axial de C-O em álcoois	1200 – 1000 (uma banda forte)	1146
Deformação axial de C-O de álcoois secundários, com anel alicíclico de cinco ou seis átomos	1085 – 1050	1084 1037

* PAVIA *et al.*, 2001; SILVERSTEIN *et al.*, 2007.

O resultado encontrado está de acordo com as atribuições esperadas para a molécula de tenoxicam, com bandas de absorção características dos grupamentos funcionais presentes na estrutura química da amostra. Portanto, com base nos dados encontrados, a SQT apresenta sua identificação comprovada.

5.2.2 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam

A Figura 18 ilustra os espectros de IV das formas cristalinas do tenoxicam preparadas conforme Cantera, Leza e Bachiller (2002). Observa-se a similaridade entre os espectros das estruturas cristalinas (forma I, II, III e IV) e o tenoxicam SQT, com ausência de alterações nas bandas de IV.

Segundo Oliveira, Yoshida e Gomes (2011), o polimorfismo ocasiona deslocamentos nas bandas características das substâncias provenientes das diferentes interações intermoleculares de cada estrutura cristalina, fato que não ocorre com as amostras preparadas conforme metodologia de Cantera, Leza e Bachiller (2002).

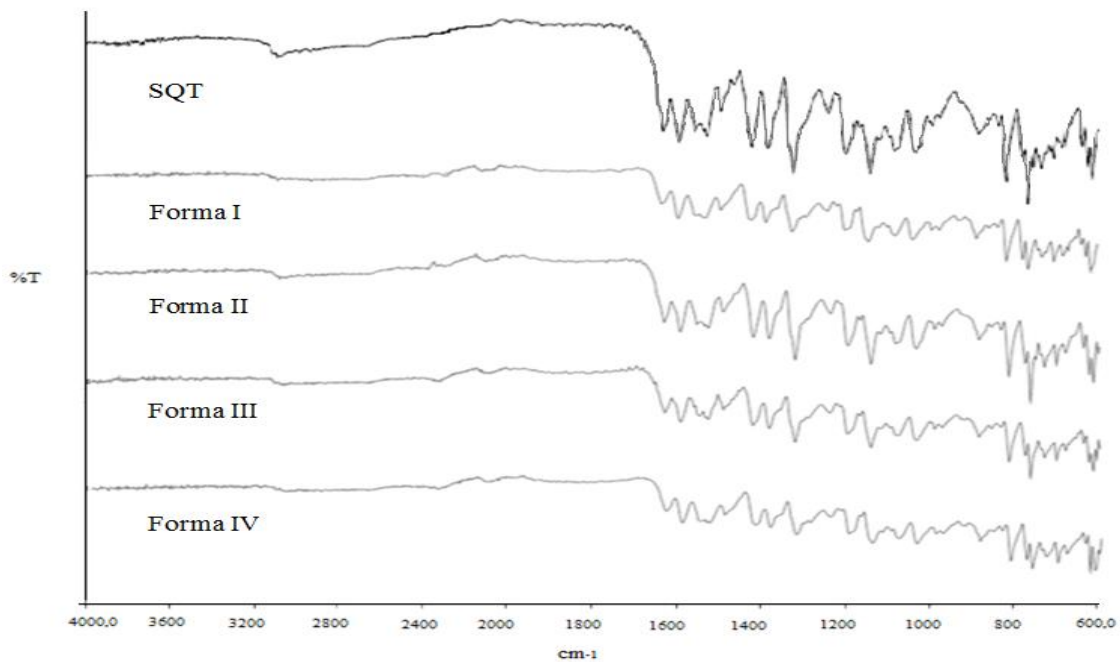


Figura 18 – Espectro no IV (600 a 4000 cm^{-1}) das formas cristalinas do tenoxicam obtido utilizando Espectrofotômetro Perkin Elmer® modelo FT-IR Spectrum BX, detendo acessório de refletância total atenuada (ATR).

5.2.3 Análise dos insumos farmacêuticos ativos do Tenoxicam

A Figura 19 registra o espectro de IV dos insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam, onde se observa um perfil espectral similar entre os insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam denominados GTE1, STE2 e NTE3 com a SQT.

O IV ao abranger uma faixa de análise de 400 – 4000 cm^{-1} permite verificar bandas características de funções orgânicas, sendo o espectro de absorção obtido exclusivo para cada molécula (WATSON, 2005; SILVERSTEIN *et al.*, 2007). Com base nas principais bandas de absorção na região do IV (Quadro 6), observa-se que não ocorrem modificações aparentes nestas, em função de alterações na estrutura cristalina dos APIs e tenoxicam SQT.

Segundo Lu e Rohani (2009), apesar de espectroscopia por IV ser uma técnica aplicável a pesquisa de polimorfos, os espectros de diferentes polimorfos de alguns APIs podem ser quase idênticos o que gera a necessidade de averiguar a diferenciação de estruturas cristalinas também por outros procedimentos, tornando relevante a aplicação de difratometria de raios X e técnicas térmicas para auxiliar nas análises.

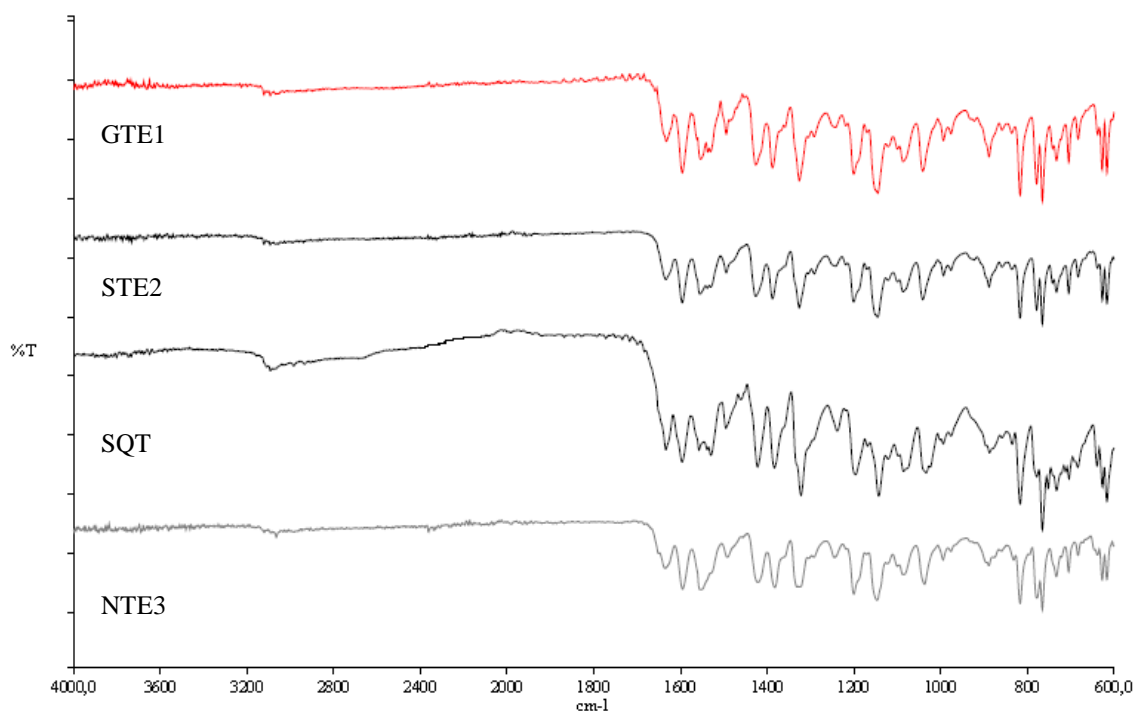


Figura 19 - Espectro de IV (600 a 4000 cm^{-1}) para os insumos farmacêuticos do tenoxicam obtido utilizando Espectrofotômetro Perkin Elmer[®] modelo FT-IR Spectrum BX, detendo acessório de refletância total atenuada (ATR).

5.3 Análise Térmica por DSC

5.3.1 Análise dos polimorfos preparados do Tenoxicam

As curvas de DSC obtidas para diferentes condições de recristalizações do tenoxicam não apresentaram alterações significativas em comparação aos dados de DSC esperados para o fármaco, que apresenta pico endotérmico (fusão) próximo a 215,41 °C, seguido de um pico exotérmico (degradação) (ALLADI; SHASTRI, 2014). Portanto, nenhum evento atípico foi observado nas amostras (Figura 20), pois todas apresentam um evento endotérmico (absorção de calor), próximo à faixa de fusão original do tenoxicam que, segundo a Farmacopeia Brasileira 4 ed. (2003), ocorre entre 208 °C e 210 °C, com decomposição, ou conforme Kim *et al.* (2008), uma faixa de fusão localizada entre 209 °C e 213 °C.

As curvas observadas não indicam o surgimento de uma nova fase cristalina que difira da SQT, dado corroborado com os valores muito próximos dos picos de fusão e decomposição das amostras avaliadas (Tabela 2).

Segundo Oliveira, Yoshida e Gomes (2011), quando o polimorfismo está presente, as curvas de DSC possuem uma série de picos de fusão característicos das formas cristalinas presentes, e ainda, eventos térmicos como decomposição e recristalização frequentemente

ocorrem quando o DSC é empregado para a caracterização de polimorfos (LU; ROHANI, 2009).

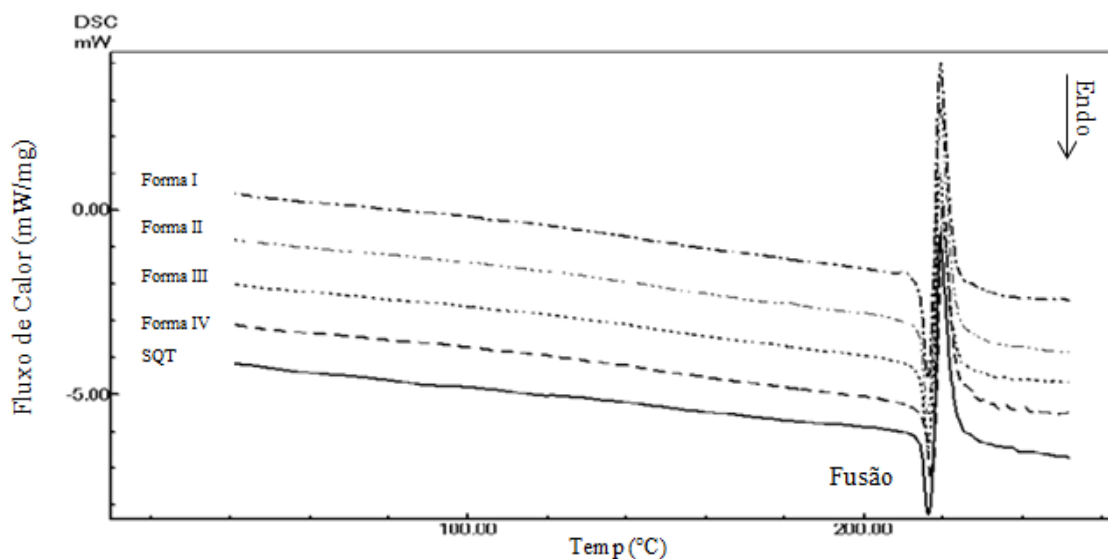


Figura 20 – Perfil térmico das amostras recristalizadas de tenoxicam em atmosfera de nitrogênio 50 ml/min com taxa de aquecimento de 10 °C/min, utilizando Calorímetro Exploratório Diferencial Shimadzu® modelo DSC-60.

Tabela 2 - Valores de T_{Peak} (°C) obtidas de amostras recristalizadas de tenoxicam.

	Fusão	Decomposição
	T_{Onset} (°C)	T_{Onset} (°C)
Forma I	215,3	218,4
Forma II	214,4	217,6
Forma III	213,9	217,3
Forma IV	214,4	217,4
SQT	214,6	217,1

5.4 Determinação do Peso Médio

O teste envolvendo o peso médio demonstrou que as amostras dos diferentes lotes (Tabela 3) apresentaram-se dentro dos limites de variação permitidos pela Farmacopéia Brasileira (2010). Os dados apresentam-se com pouca variabilidade em virtude dos baixos valores de desvio-padrão relativo (DPR).

Tabela 3 - Variação de peso dos lotes de tenoxicam testados.

Lotes	Peso Médio (mg) (Limite de Variação Permitido – 7,5%)	Maior peso encontrado (mg)	Menor peso encontrado (mg)	DPR ¹ (%)
VTE0	174,01 (187,06 a 160,95)	178,7	165,4	2,19
RTE1	209,73 (225,45 a 194,0)	214,6	201,5	1,51
ETE2	187,52 (201,58 a 173,45)	194,2	182,5	1,76
MER3	179,2 (192,64 a 165,76)	185,1	174,1	1,91

¹ Desvio Padrão Relativo (DPR).

5.5 Análises Espectrofotométricas por Ultravioleta/Visível (UV/Vis)

5.5.1 Identificação da Substância Química de Trabalho (SQT)

A avaliação, quanto à identidade de substâncias de referência a serem utilizadas nos procedimentos laboratoriais, visa garantir o atendimento a requisitos de qualidade. Segundo Gil (2010), os métodos de identificação baseados em espectros são em geral confirmatórios, ao fornecerem uma medida simultânea da interação física matéria-energia.

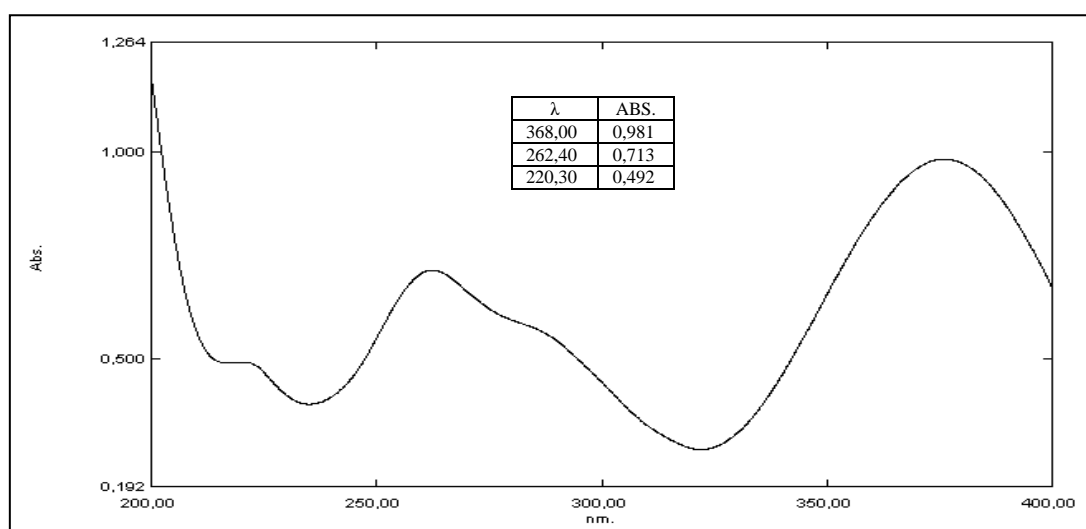


Figura 21 - Espectro UV/Vis (200 - 400 nm) do tenoxicam SQT em hidróxido de sódio 0,1 M, utilizando espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu® modelo UV-1800.

A Figura 21 ilustra o espectro obtido com a solução de tenoxicam SQT na região do ultravioleta, com máximos de absorção em 368 nm, 262 nm e 220 nm. Verifica-se, pela comparação dos resultados obtidos com a literatura, que os máximos de absorção são muito semelhantes aos resultados obtidos por Cardoso *et al.* (2006) com hidróxido de sódio 0,1 M, na determinação quantitativa de tenoxicam em comprimidos por espectrofotometria no ultravioleta, em uma condição que empregou soluções contendo tenoxicam SQR (substância química de referência), num intervalo de 200 a 450 nm.

Os espectros de absorção nas regiões ultravioleta e visível são utilizados para identificação e determinação de diversas substâncias (HOLLER; SKOOG; CROUCH, 2009). Diante da similaridade dos espectros UV, pode-se afirmar que a substância avaliada trata-se do tenoxicam.

5.5.2 Doseamento

A espectrofotometria no UV-Visível oferece precisão adequada para medidas quantitativas do fármaco em formulações (WATSON, 2005), razão pela qual foi escolhida para a determinação quantitativa de tenoxicam em comprimidos.

Os resultados obtidos (Tabela 4) mediante aplicação da metodologia de Cardoso *et al.* (2006) para as diferentes amostras encontram-se de acordo com a especificação determinada para o fármaco tenoxicam na forma farmacêutica comprimidos, ou seja, dentro da faixa entre 92,0% e 105,0% da quantidade de tenoxicam declarada (BRITISH PHARMACOPOEIA, 2013).

Tabela 4 - Resultados do doseamento dos lotes contendo tenoxicam 20 mg.

	VTE0	RTE1	ETE2	VER3
N	Teor (%)	Teor (%)	Teor (%)	Teor (%)
1	98,06	96,30	105,44	97,70
2	98,41	96,48	104,86	96,13
3	96,66	96,83	103,69	98,75
MÉDIA	97,71	96,53	104,66	97,53
DP ¹	0,93	0,27	0,89	1,32
DPR	0,95	0,28	0,85	1,35

¹Desvio-padrão. n = 3.

5.6 Testes de Perfil de Dissolução

5.6.1 Co-validação do Método de Dissolução

A co-validação serve para verificar a pertinência de metodologias oficiais (LEITE, 2008) e deve ser realizada segundo os critérios da resolução RE nº 899 (ANVISA, 2003).

5.6.1.1 Especificidade

Conforme os resultados apresentados na Figura 22, verifica-se que não há interferência dos excipientes das diferentes amostras analisadas no comprimento de onda de 368nm, que foi utilizado para as análises no UV.

Assim, o ensaio é específico para as amostras VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3, viabilizando a aplicação desse procedimento para quantificação do fármaco tenoxicam durante as avaliações dos perfis de dissolução *in vitro*.

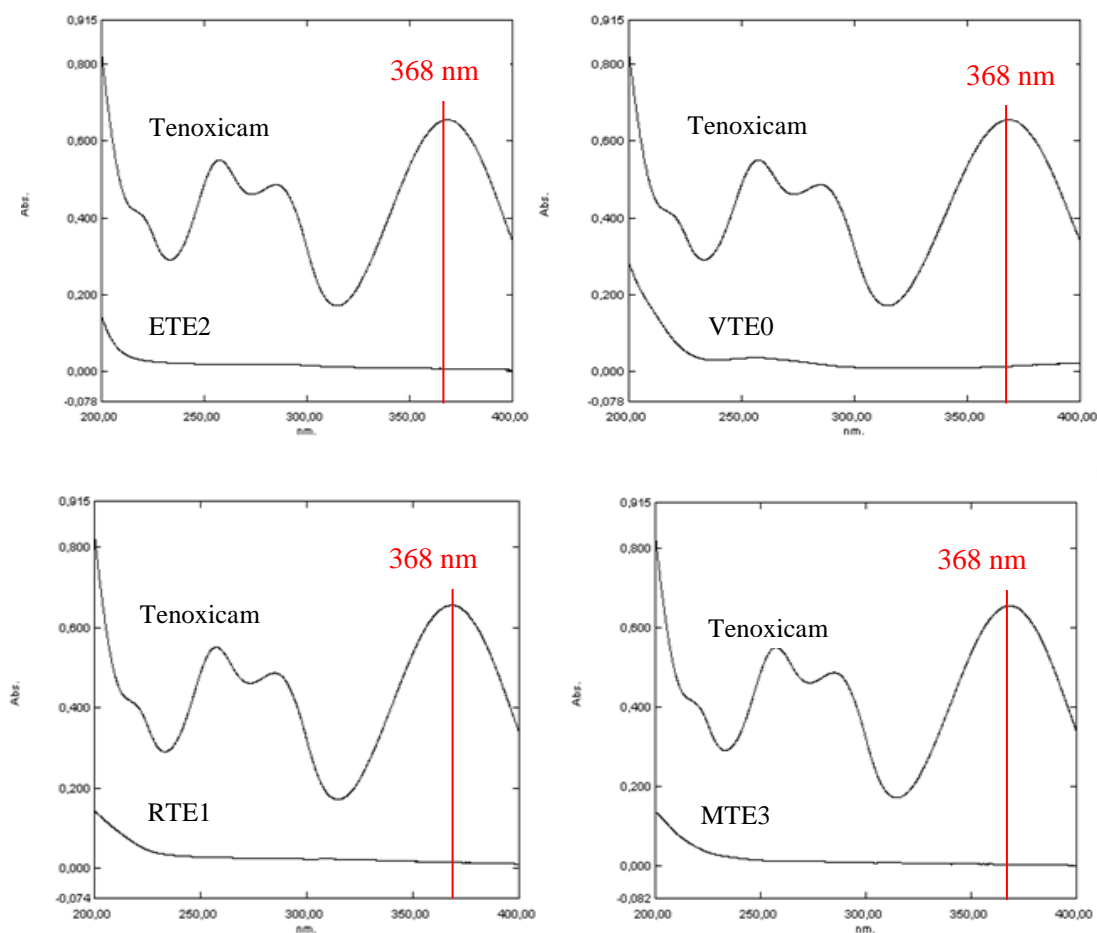


Figura 22 - Avaliação da especificidade de tenoxicam SQT (22,22 µg/ml) confrontada com amostras de placebos dos laboratórios farmacêuticos VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3, utilizando espectrofotômetro UV-Visível Shimadzu® modelo UV-1800.

5.6.1.2 Linearidade

A curva analítica construída a partir da correlação entre os valores de absorvância e concentração, gerou a equação da reta $Y = 0,0434x + 0,0055$ (Figura 23). A análise da regressão linear demonstrou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,9993 indicando que a variação dos valores das absorvâncias são explicadas em 99% pela relação com a concentração, o que sugere a linearidade do método dentro dos limites das concentrações estudadas (6,0 – 26,0 $\mu\text{g/ml}$).

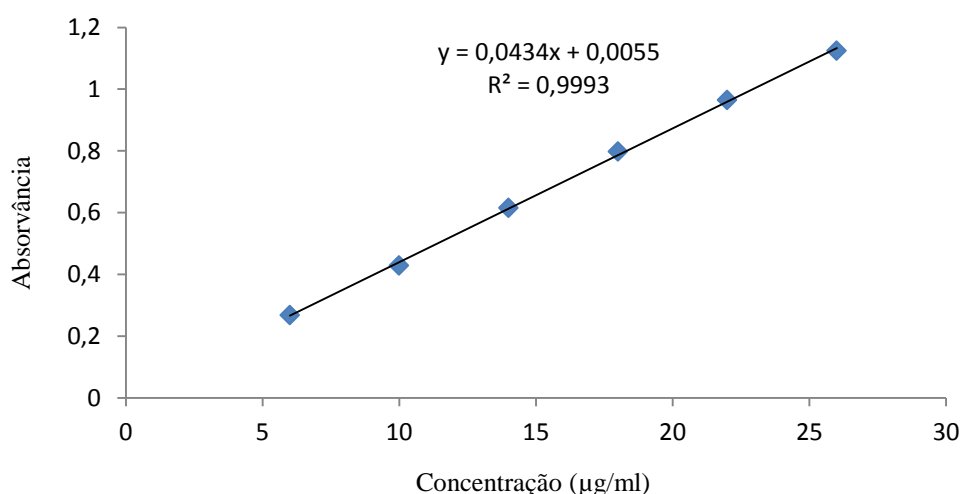


Figura 23 - Representação gráfica da curva padrão de tenoxicam obtida por UV (368 nm) em meio tampão fosfato de potássio monobásico pH 6,8.

A avaliação dos dados pela análise de variância (ANOVA) (Tabela 5) possibilitou verificar que o método analítico é linear, apresentando um valor de F calculado abaixo do valor crítico tabelado.

Tabela 5 - Análise de variância dos valores obtidos para a curva padrão do tenoxicam SQR obtido por método espectrofotométrico por UV.

Fontes de Variação	Graus de Liberdade	Soma Quadrática	Variância	F (calculado)	F (tabelado)
ENTRE	5	4,744	0,9488	4125,21*	3,42
a) Regressão linear	1	4,744	4,744	20626,08*	7,19
b) Desvio da linearidade	4	$3,51 \times 10^{-3}$	$8,8 \times 10^{-4}$	3,82	4,22
DENTRO	48	$1,1 \times 10^{-2}$	$2,3 \times 10^{-4}$		
Total	53				

* significativo $p < 5\%$.

5.6.1.3 Exatidão e Precisão

A exatidão do método foi considerada adequada no intervalo de 95,8% a 97,2% para o fármaco tenoxicam, considerando que para, testes de dissolução, a recuperação deva ocorrer entre 95% a 105% da quantidade adicionada (USP 36, 2013) (Tabela 6).

Tabela 6 - Resultados referentes à exatidão do método de dissolução por UV, realizado através do método de adição da SQT.

Concentração teórica (µg/ml)	Quantidade recuperada (µg/ml) (n=12)	Recuperado (%) (n=12)	Média (%)	DPR (%)
10,0	9,7	97,0		
18,0	17,5	97,2	96,7	0,78
26,0	24,9	95,8		

A repetibilidade e a precisão intermediária foram determinadas em três níveis de concentração (10,0; 18,0 e 26,0 µg/ml). Os baixos valores de DPR ($\leq 5\%$) demonstram que o método apresentou precisão adequada (Tabela 7).

Tabela 7 - Resultados referentes à precisão do método de dissolução por UV.

Precisão	Concentração	Teor médio observado (%)	DPR (%)
Intradia (n=6)	10 µg/ml	96,0	2,18
	18 µg/ml	96,7	1,99
	26 µg/ml	96,2	1,57
Interdia (n=3)	10 µg/ml	97,0	1,96
	18 µg/ml	97,2	1,98
	26 µg/ml	95,8	2,29

5.6.2 Avaliação do Perfil de Dissolução *in vitro*

Os resultados médios referentes ao perfil de dissolução das quatro especialidades farmacêuticas encontram-se descritos na Tabela 8 e representados graficamente na Figura 24. Conforme os dados apresentados, as especialidades farmacêuticas avaliadas apresentam perfis

de dissolução semelhantes entre si, liberando mais de 85% do fármaco em 15 minutos. Os perfis de dissolução apresentaram valores de DPR inferiores a 20% nos primeiros pontos de coleta, e inferiores a 10% após as coletas iniciais, cumprindo com as determinações da resolução RDC nº 31 (ANVISA, 2010), que considera como primeiros pontos de coleta o correspondente a 40% do total de pontos coletados.

Tabela 8 - Resultados médios obtidos no estudo do perfil de dissolução do medicamento tenoxicam em diferentes laboratórios nos tempos 2, 5, 10, 15, 20 e 25 minutos.^a

TEMPO (min)	VTE0		RTE1		ETE2		MTE3	
	% dissolvida ± desvio- padrão	DPR (%)	% dissolvida ± desvio-padrão	DPR (%)	% dissolvida ±desvio-padrão	DPR (%)	% dissolvida ± desvio-padrão	DPR (%)
2	37,47±0,97	7,52	42,59±0,95	7,13	43,83±1,41	12,49	62,46±0,94	6,95
5	64,02±0,69	3,88	72,98±0,73	4,48	62,79±0,68	3,61	91,61±0,65	3,06
10	79,15±0,73	4,34	90,42±0,48	2,22	77,08±0,26	1,28	97,98±0,62	2,94
15	87,85±0,62	2,91	97,10±0,48	2,19	90,21±0,25	1,25	99,43±0,56	2,51
20	92,56±0,61	2,83	99,21±0,28	1,38	100,46±0,31	1,51	100,29±0,59	2,65
25	94,52±0,67	3,55	101,12±0,25	1,13	102,12±0,53	2,31	101,82±0,57	2,52

^aValores representam a média de 12 determinações.

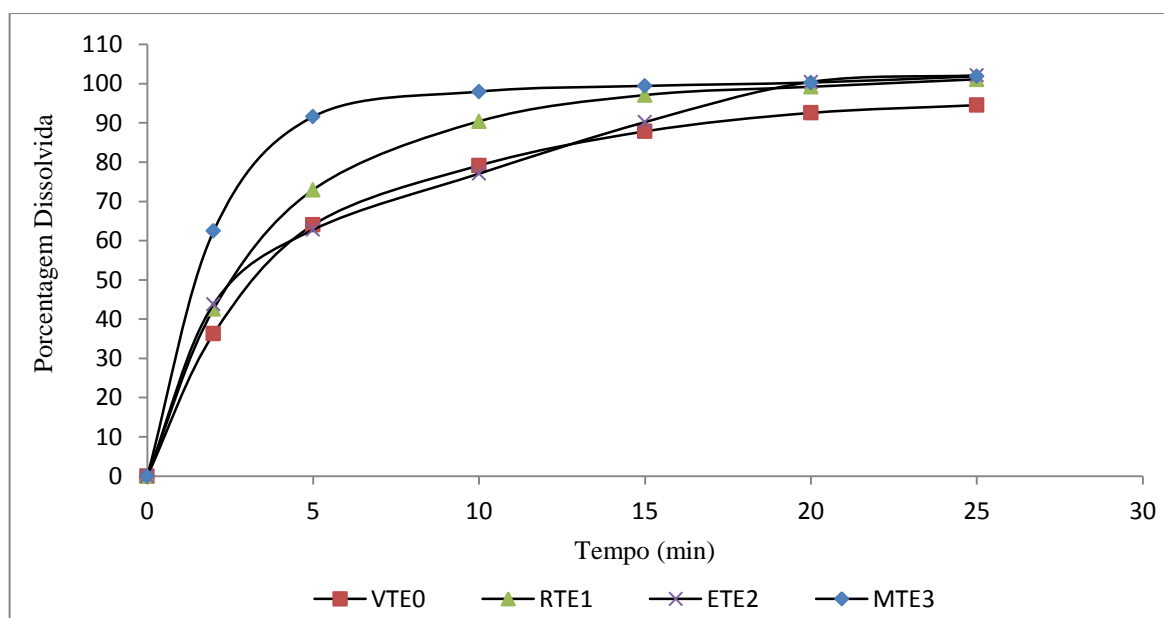


Figura 24- Representação gráfica do perfil de dissolução do medicamento tenoxicam em diferentes laboratórios farmacêuticos VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3.

A resolução RE nº 310 (ANVISA, 2004) estabelece que para fármacos que possuem mais de 85% de liberação no meio de dissolução em 15 minutos, a dissolução não é considerada um fator limitante para a absorção, e, portanto, os cálculos referentes aos fatores

f_1 e f_2 perdem seu poder discriminativo. Conforme o observado na Tabela 9, as especialidades farmacêuticas apresentaram mais de 85% do fármaco dissolvido em 15 minutos, o que justifica a dispensa dos referidos cálculos.

Todavia, com a atualização da legislação, através da resolução RDC nº 31 (ANVISA, 2010), a dissolução muito rápida (dissolução média de, no mínimo, 85% da substância ativa em até 15 minutos), apenas será aceita para fármacos de alta solubilidade em formulações de liberação imediata, caso em que o fármaco tenoxicam não se enquadra, por pertencer à Classe II do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BOLLA; SANPHUI; NANGIA, 2013). A baixa solubilidade do tenoxicam justifica a necessidade do emprego dos cálculos dos fatores f_1 e f_2 .

A Tabela 9 apresenta os valores de f_1 e f_2 das especialidades farmacêuticas VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3. Considerando que os valores de f_1 devam estar entre 0 e 15 e os de f_2 entre 50 e 100 (BRASIL, 2010; MOORE; FLANNER, 1996), os resultados indicam diferenças entre as especialidades farmacêuticas. Os perfis de dissolução dos produtos acabados VTE0, RTE1 e ETE2 apresentam semelhança, enquanto que o produto MTE3 diverge destes, com valores de f_1 acima do especificado (23,95; 22,07) e valores f_2 abaixo (32,86; 42,36; 34,27).

Tabela 9 - Valores de f_1 e f_2 resultantes das comparações entre as especialidades farmacêuticas.

	VTE0		RTE1		ETE2		MTE3	
	f_1	f_2	f_1	f_2	f_1	f_2	f_1	f_2
VTE0			11,81	51,88	4,82	68,59	23,95	32,86
RTE1	11,81	51,88			10,45	51,93	13,77	42,36
ETE2	4,82	68,59	10,45	51,93			22,07	34,27
MTE3	23,95	32,86	13,77	42,36	22,07	34,27		

Ao aplicar os modelos matemáticos dependentes constatou-se que a cinética de liberação do tenoxicam das formulações seguiu a cinética de ordem zero. Os gráficos gerados pela equação da cinética de ordem zero para as amostras denominadas VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3 produziram coeficientes de determinação (R^2) superiores aos calculados pelo modelo de primeira ordem. Além disso, os valores atribuídos pelo MSC (*Model Selection Criteria*), modelagem matemática que avalia os modelos cinéticos testados, selecionando o de melhor desempenho, apresentou valores maiores no modelo de ordem zero. Portanto, o modelo de

ordem zero descreveu mais adequadamente o perfil de liberação do tenoxicam, pois o modelo mais apropriado é aquele que, além do valor de R^2 e da análise visual do gráfico, apresentar o maior valor de MSC (Tabela 10).

Tabela 10 – Coeficientes de determinação (R^2) e valores de MSC obtidos dos perfis de dissolução de comprimidos contendo tenoxicam ao aplicar equações cinéticas de ordem zero e primeira ordem.

Amostras	Modelos Cinéticos			
	Ordem Zero	MSC	Primeira Ordem	MSC
VTE0	0,9044	1,0100	0,8516	0,5700
RTE1	0,9150	1,1323	0,8653	0,6718
ETE2	0,9461	1,5800	0,9129	1,1081
MTE3	0,9920	0,1200	0,8513	0,0454

A partir do modelo cinético ordem zero, do qual o mecanismo de liberação do fármaco tenoxicam mais se aproximou, calculou-se a constante de liberação (k), o tempo de meia-vida ($t_{50\%}$) e quantidade liberada em 25 minutos (Q_{25}). Na Tabela 11 observa-se que as especialidades VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3 apresentaram uma quantidade de fármaco liberado em 25 minutos, muito semelhantes, com a especialidade MTE3 exibindo tempo de meia-vida (tempo necessário para que 50% do fármaco esteja dissolvido) menor entre as formulações, assinalando para um melhor desempenho do produto.

Tabela 11 – Constante de liberação (k), tempo de meia-vida ($t_{50\%}$) e quantidade liberada em 25 minutos (Q_{25}), segundo a equação da reta ajustada pelo modelo de ordem zero, dos comprimidos de tenoxicam.

Amostras	$k \text{ min}^{-1}$	$T_{50\%}$ (min)	Q_{25} (%)	ED (%)
VTE0	0,00053	8,93	19,26	75,23
RTE1	0,00054	8,08	20,52	83,69
ETE2	0,00053	9,05	20,39	78,19
MTE3	0,00057	7,71	20,91	90,63

A eficiência da dissolução ED (%) para as diferentes especialidades farmacêuticas também foi determinada (Tabela 11). Este parâmetro foi obtido a partir das áreas sob as curvas (ASC) entre 0 e 25 minutos e a área total do retângulo (ASC_{TR}), e descrita pela

ordenada (quantidade máxima dissolvida em 25 minutos) e pela abcissa (tempo igual a 25 minutos). Dentre as especialidades farmacêuticas avaliadas do tenoxicam, a apresentação MTE3 exibiu valor de ED% próximo a 100%. A análise de variância (ANOVA) demonstrou que existe diferença estatisticamente significativa entre as especialidades farmacêuticas quanto aos valores de ED% ($F_{\text{cal}} = 66,55$; $p < 0,01$). De acordo com os valores obtidos para o teste de Tukey, comparação múltipla de médias e $p < 0,01$, verificou-se que as especialidades farmacêuticas RTE1 e MTE3 apresentaram diferença estatisticamente significativa entre as formulações avaliadas, refletindo, portanto, diferenças nos perfis de dissolução dos mesmos em relação às demais especialidades farmacêuticas.

As especialidades farmacêuticas avaliadas VTE0, RTE1, ETE2 e MTE3 apresentaram perfis de dissolução qualitativamente semelhantes, pois o modelo matemático de melhor ajuste dos dados foi o mesmo para todas as formulações. Entretanto, a aplicação do modelo cinético identificou diferenças quanto ao tempo de meia vida e velocidade de dissolução, especialmente para o produto comercial MTE3, enquadrado como medicamento similar. Esse resultado corroborou com os dados obtidos pelo modelo independente f_1 e f_2 , que apontou diferença no perfil de dissolução para esta mesma especialidade farmacêutica.

Os resultados obtidos pelas comparações dos modelos independentes f_1 e f_2 , parâmetros cinéticos e dos valores da eficiência de dissolução mostraram concordância apenas com o medicamento similar MTE3. Com relação ao medicamento de referência RTE1, apenas a ED% apontou diferença significativa dessa formulação em relação às demais especialidades farmacêuticas. Diferentes métodos de comparação podem originar diferentes resultados, isso se deve ao fato da ED% ser um parâmetro mais discriminatório, apresentando-se mais sensível para a diferenciação de especialidades farmacêuticas (YUKSEL; KANIK; BAYKARA, 2000).

Apesar das especialidades farmacêuticas possuírem mesma estrutura cristalina, apresentaram ED% diferentes. As especialidades farmacêuticas VTE0 e ETE2, medicamentos similar e genérico, respectivamente, apresentaram uma dissolução mais lenta e uma ED% menor, possivelmente devido ao maior índice de cristalinidade presente em suas estruturas químicas. A dissolução mais rápida e ED% maior dos produtos farmacêuticos RTE1 e MTE3, medicamentos referência e similar, respectivamente, pode ser decorrente possivelmente em detrimento ao menor índice de cristalinidade. Segundo Marcolongo (2003), as substâncias com menor índice de cristalinidade em sua maioria, são mais solúveis em comparação com materiais com maior índice de cristalinidade, fato que possivelmente influenciou nos resultados expostos acima. Os excipientes incorporados nas formas farmacêuticas avaliadas,

provavelmente, também exerceram influência sobre a liberação do fármaco (AULTON, 2005).

Considerando que substâncias sólidas são passíveis de sofrer alterações em seus estados cristalinos mediante compactação a que são submetidas, optou-se em realizar a dissolução particulada ao invés da dissolução intrínseca, que requer justamente a compressão do material sólido a ser analisado, e pode provocar a inversão de fase cristalina. Segundo Cuffini, Pitaluga e Tombari (2011), a modificação da forma sólida da amostra em virtude da compressão utilizada invalidaria o ensaio de dissolução intrínseca.

A dissolução particulada foi utilizada para avaliar a possível relação entre presença de polimorfos e desempenho dos insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam. Na Tabela 12 podem ser verificados os resultados obtidos na dissolução particulada para as diferentes matérias-primas, e na Figura 25, a comparação dos gráficos dos perfis de dissolução obtido dos insumos farmacêuticos GTE1, STE2 e NTE3 na forma pulverulenta.

Observa-se nos perfis de dissolução que em 30 minutos todos os insumos farmacêuticos ativos GTE1, STE2 e NTE3 encontram-se dissolvidos, com percentagem de dissolução acima de 70%, não ocorrendo uma diferença significativa entre os perfis de dissolução avaliados.

Tabela 12 - Resultados médios obtidos no estudo do perfil de dissolução particulada dos insumos farmacêuticos do tenoxicam.

TEMPO (min)	GTE1		STE2		NTE3	
	% dissolvida	DPR	% dissolvida	DPR	% dissolvida	DPR
	± desvio-padrão	(%)	±desvio-padrão	(%)	± desvio-padrão	(%)
5	19,22±0,78	8,91	21,74±0,83	9,30	37,29±0,70	8,10
10	39,07±0,44	3,65	39,93±0,56	5,10	56,24±0,35	2,83
15	53,88±0,55	4,60	54,44±0,34	2,30	70,67±0,31	2,10
20	64,77±0,42	3,21	64,15±0,43	3,38	80,41±0,40	3,00
25	71,65±0,37	2,92	70,65±0,48	4,22	84,97±0,53	4,40
30	75,48±0,38	3,00	75,27±0,32	2,15	86,27±0,24	1,20
35	78,33±0,54	4,42	78,28±0,45	3,70	87,12±0,22	1,18
40	79,50±0,56	5,30	79,89±0,30	1,70	87,80±0,44	3,52
45	80,35±0,48	4,20	81,56±0,46	3,75	88,22±0,58	5,79
50	81,64±0,36	2,87	82,11±0,47	4,00	88,79±0,55	4,75

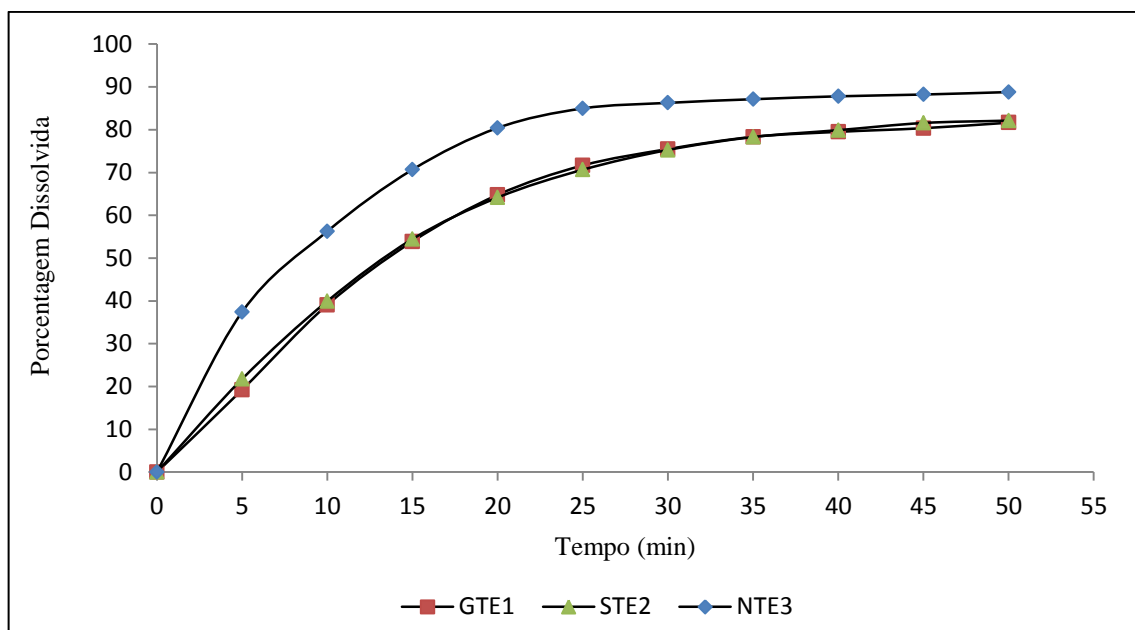


Figura 25 - Representação gráfica da dissolução particulada de quatro fornecedores do insumo tenoxicam representados pelas siglas GTE1, STE2 e NTE3.

A ED% obtida a partir das áreas sob as curvas (ASC) entre 0 e 50 minutos e a área total do retângulo (ASC_{TR}), descrita pela ordenada (quantidade máxima dissolvida em 50 minutos) e pela abscissa (tempo igual a 50 minutos) para os insumos farmacêuticos ativos do tenoxicam, apresentou valores de 60,30% para GTE1, 60,70% para STE2 e 72,34% para NTE3. A análise de variância (ANOVA) demonstrou que não existe diferença estatisticamente significativa entre os insumos farmacêuticos ativos quanto à eficiência de dissolução ($F_{cal} = 5,40$; $p < 0,01$).

Os perfis de dissolução dos insumos ativos avaliados GTE1, STE2 e NTE3 apresentam perfis de dissolução semelhantes, possivelmente por possuírem a mesma estrutura cristalina, forma III com índice de cristalinidade semelhante.

As indústrias farmoquímicas ao direcionarem a produção de uma única estrutura cristalina, forma III, não torna o polimorfismo do tenoxicam uma preocupação no momento da aquisição desse fármaco. Embora os processos industriais possam ocasionar mudanças na estrutura cristalina de compostos farmacêuticos, o fármaco tenoxicam foi afetado apenas em suas posições dos picos (2 θ), pelos procedimentos aos quais foi submetido.

Apesar de ocorrer velocidades de dissolução distintas entre as formulações, estas não apresentaram comprometimento em sua qualidade. Contudo, muitas vezes as transformações pós-processamento podem induzir a alterações na estrutura cristalina e por consequência, problemas biofarmacêuticos. Tal fato demonstra a importância do estudo do polimorfismo, ao

avaliar e correlacionar a presença de estruturas cristalinas com alterações na qualidade e desempenho de insumos e produtos farmacêuticos.

7. CONCLUSÕES

- Os cristais de tenoxicam obtidos da recristalização em diferentes solventes foram caracterizados por DRX, IV e DSC. O difratograma do tenoxicam SQT apresentou picos agudos e com reflexões intensas, o que é indicativo de elevado grau de cristalinidade, mas os pequenos deslocamentos, em comparação às formas I, II, III e IV, indicam que as modificações introduzidas pelas adições de clorofórmio, butanol, álcool isopropílico e metanol não propiciaram a gênese de outros polimorfos e que a maior similaridade da SQT sem tratamento pode ser atribuída à forma III.

- Os resultados indicam que, ao contrário do relatado por Cantera *et al.* (2002), os diferentes processos de preparação de polimorfos do tenoxicam não conduzem à obtenção de quatro diferentes formas polimórficas. Este dado também foi corroborado com os resultados anteriormente obtidos por Patel *et al.* (2012) e Bolla, Sanphui e Nangia (2013). A dificuldade de obtenção das formas polimórficas está possivelmente relacionada à rígida conformação molecular do tenoxicam e às forças de ligações presentes em sua estrutura molecular.

- A ausência de polimorfos também foi confirmada pela análise térmica (DSC) e espectral (IV). A análise por espectroscopia no infravermelho não revelou diferenças entre o espectro das amostras cristalinas preparadas com o do tenoxicam (SQT). A curva de DSC do tenoxicam (SQT) mostrou evento endotérmico, característico do processo de fusão, comportamento semelhante foi observado para os cristais obtidos em diferentes solventes.

- A caracterização dos insumos farmacêuticos do tenoxicam por IV e DRX indicou que todas possuem a mesma forma cristalina (forma III) e, que os processos de síntese aos quais dão origem aos APIs do fármaco são conduzidos, possivelmente, de forma a produzir essa estrutura cristalina específica, possivelmente a mais estável.

- Não ocorreu diferença significativa entre os perfis de dissolução e valores de ED% dos insumos ativos GTE1, STE2 e NTE3 do tenoxicam na forma pulverulenta, provavelmente pela presença da mesma estrutura cristalina (forma III) com índice de cristalinidade semelhante.

- As especialidades farmacêuticas do tenoxicam disponíveis no mercado nacional, ao serem submetidas à análise por DRX, apresentaram estruturas cristalinas semelhantes aos insumos farmacêuticos ativos (forma III), com pequenas alterações nas posições dos picos (2θ), possivelmente ocasionadas pelo processamento industrial ao qual foram submetidas.

- Os resultados obtidos pela comparação do modelo independente f_1 e f_2 , mostraram que os perfis de dissolução dos produtos acabados VTE0, RTE1 e ETE2 apresentaram semelhança, enquanto que o produto MTE3 divergiu destes, com valores fora do especificado.

- As especialidades farmacêuticas RTE1 e MTE3 apresentaram diferenças em relação ao perfil de dissolução *in vitro*, com valores de ED% maiores, possivelmente em detrimento ao menor índice de cristalinidade, fator que possivelmente influenciou na velocidade de dissolução.

- O índice de cristalinidade foi um fator que possivelmente influenciou a velocidade de dissolução do fármaco nos produtos acabados, o que remete a importância do controle de qualidade dos insumos farmacêuticos, nos processos de fabricação do medicamento e no produto acabado, além da qualificação dos fornecedores e a necessidade de especificações detalhadas dos insumos farmacêuticos ativos.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AALTONEN, J.; RANTANEN, J.; SIIRIÄ, S.; KARJALAINEN, M.; JORGENSEN, A.; LAITINEN, N.; SAVOLAINEN, M.; SEITAVUOPIO, P.; LOUHI-KULTANEN, M.; YLIRUUSI, J. Polimorph screening using near-infrared spectroscopy. *Analytical Chemistry*, v. 75, n. 19, p. 5267-5273, 2003.

ALLADI, S.; SHASTRI, N. R. Semi solid matrix formulations of meloxicam and tenoxicam: an *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Archives of Pharmacal Research*. Published online: <http://link.springer.com/article/10.1007/s12272-014-0396-3/fulltext.html>. April, 2014.

ALLEN, L. V. Jr.; POPOVICH, N. G.; ANSEL, H. C. Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármacos. 9 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.

ALVES, R. Estudo termoanalítico e de compatibilidade fármaco-excipiente de rifampicina e alguns medicamentos utilizados na terapêutica da tuberculose. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2007.

ARAÚJO, G. L. B. Caracterização no estado sólido dos polimorfos da tibolona. [Tese]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2009.

AULTON, M. E. Delineamento de Formas Farmacêuticas. 2 ed. Porto Alegre: Artmed, 2005.

AZARMI, S.; ROA, W.; LÖBENBERG, R. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 3328, n. 1, p. 12-21, 2007.

BAKAR, M. R. A.; NAGY, Z. K.; RIELLY, C. D. A combined approach of differential scanning calorimetry and hot-stage microscopy with image analysis in the investigation of sulfathiozine polymorphism. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 99, n. 2, p. 609-619, 2010.

BANERJEE, R.; CHAKRABORTY, H.; SARKAR, M. Photophysical studies of oxicam group of NSAIDs: piroxicam, meloxicam and tenoxicam, *Spectrochimica, Acta Part A*, v. 59, n. 6, p. 1213-1222, 2003.

BLOSS, F. D. Crystallograpy and Crystal Chemistry. Washington D.C.: Mineralogical Society of America, 1994, 545 p.

BOLLA, G.; SANPHUI, P.; NANGIA, A. Solubility advantage of tenoxicam phenolic cocrystals compared to salts. Crystal Growth Design, v. 13, p. 1988-2003, 2013.

BORGES, F. S. Elementos de Cristalografia. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1982, 625 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Diário Oficial da União, Brasília, Poder Executivo, de 02 de junho de 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 310, de 1º de setembro de 2004. Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução. Diário Oficial da União, Brasília, Poder Executivo, de 03 de setembro de 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 31, de 11 de agosto de 2010. Dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo. Diário Oficial da União, Brasília, Poder Executivo, de 12 de agosto de 2010.

BRITAIN, H. G. (Ed.). Polymorphism in Pharmaceutical Solids. 2th ed. New York: Informa Healthcare USA, Inc., 2009.

BRITISH PHARMACOPOEIA. The Stationery Office: Pharmacopoeia Comission British, 2013.

BRUNTON, L. L.; LAZO, J. S.; PARKER, K. L. As Bases Farmacológicas da Terapêutica. 11 ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2006.

BUENO, M. M.; RECH, N. Insumos Farmacêuticos – Aspectos Técnicos, Científicos e Regulatórios. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 2, p. 12-20.

BUGAY, D. Characterization of the solid-state: spectroscopic techniques. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 8, p. 43-65, 2001.

CAIRA, M. R.; NASSIMBENI L. R.; TIMME, M. Zwitterionic nature of tenoxicam: Crystal structures and thermal analyses of a polymorph of tenoxicam and a 1:1 tenoxicam:acetonitrile solvate. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 84, p.884–888, 1995.

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.

CAPUCHO, H. C.; MASTROIANNI, P. C.; CUFFINI, S. Farmacovigilância no Brasil: a relação entre polimorfismo de fármacos, efetividade e segurança dos medicamentos. *Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada*, v. 29, n.3, p. 277-283, 2008.

CARDOSO, S. G.; ROLIM, C. M. B.; ESCARRONE, A. L.; IEGGLI, C. V. S.; CAVALETT, C.; OLIVEIRA, D. C. de; LORETO, E. S. de; SCHMITT, G. C.; CARLOSSO, I. P.; CÂMERA, K.; BAJERSKI, L.; MALESUIK, M. D.; BÖER, T. M. Determinação quantitativa de tenoxicam em comprimidos por espectrofotometria no ultravioleta. *Acta Farmacéutica Bonaerense*, v. 25, n. 2, p.262-266, 2006.

CHONO, S.; TAKEDA, E. SEKI, T. MORIMOTO, K. Enhancement of the dissolution rate and gastrointestinal absorption of pranlukast as a model poorly water-soluble drug by grinding with gelatina. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 347, p. 71-78, 2008.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmacology*, Amsterdam, v. 13, n. 2, p.123-133, 2001.

CUFFINI, S. L.; PITALUGA, A. Jr.; TOMBARI, D. Polimorfismo em fármacos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 3, p.21-31.

DARWISH, M.K.; FOAD, M. M. Enhancement of the dissolution profile of Tenoxicam by a solid dispersion technique and its analytical evaluation using HPLC, *Drug Discoveries & Therapeutics*, v. 3, n. 1, p. 27-36, 2009.

DE ARMAS, H. N.; PEETERS, O. M.; VAN DEN MOOTER, G.; BLATON, N. Polymorphism of alprazolam (Xanax[®]): a review of its crystalline phases and identification, crystallographic characterization, and Crystal structure of a new polymorph (form III), *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 96, n. 5, p. 1114-1130, 2007.

DE VILLIERS, M. M.; TERBLANCHE, R. J.; LIEBENBERG, W.; SWANEPOEL, E.; DEKKER, T. G.; SONG, M. Variable-temperature X-ray powder diffraction analysis of the Crystal transformation of the pharmaceutically preferred polymorph C of mebendazole. *Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis*, v. 38, n.3, p. 435-441, 2005.

EL-GAZAYERLY, O. Characterization and Evaluation of Tenoxicam Coprecipitates. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 26, n. 9, p.925-930, 2000.

EUROPEAN PHARMACOPÉIA (EP) Convention; E Pharmacopeia versão 8.0 (2013).

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4 ed. Parte II. São Paulo: Atheneu, 2003.

FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 5 ed. Brasília: Anvisa, 2010.

FDA. Food and Drug Administration. Guidance for Industry. ANDAs: Pharmaceutical Solid Polymorphism. Chemistry, Manufacturing, and Controls Information. DRAFT GUIDANCE. Center for Drug Evaluation and Research (CDER), 2007.

FERREIRA, A. de O. Guia Prático da Farmácia Magistral. 4 ed. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

FIELDER, H. Fielder encyclopedia of excipients for pharmaceuticals, cosmetics and related areas. 5 ed. Ed. By HOEPFNER, E. M. *et al.* Aulendorf: Editio Cantor Verl, 2002.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Princípios físico- químicos em farmácia. 3 ed. São Paulo: Editora da Universidade de São Paulo, 2003.

FLORENCE, A. T.; ATTWOOD, D. Physicochemical Principles of Pharmacy. 4th ed. London: Pharmaceutical Press, 2006.

FROEHLICH, P. E.; GASPAROTTO, F. S. Mebendazol: identificação das formas polimórficas em diferentes matérias-primas e medicamentos (referência e genéricos) disponíveis no mercado nacional. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, v. 26, n.3, p. 205-210, 2005.

GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. Thermochemica Acta, v. 248, p.1-59, 1995.

GIRON, D. Thermal analysis, microcalorimetry and combined techniques for study of pharmaceuticals. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 56, p. 1285-1304, 1999.

GIL, E. S. Controle Físico-Químico de Qualidade de Medicamentos. São Paulo: Pharmabooks, 2010.

GOODMAN, L. S.; GILMAN, A. GOODMAN & GILMAN: As bases farmacológicas da terapêutica. Revisor Almir Lourenço da Fonseca. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil, 2006.

GUENTER, T. W.; HEINTZ, R. C.; JOLY, R. Overview on the pharmacokinetics of tenoxicam. European Journal of Rheumatology and Inflammation, v. 9. N. 2, p. 15-25, 1987.

HOLLER, F. J.; SKOOG, D. A.; CROUCH, S. R. Princípios de Análise Instrumental. 6 ed. Porto Alegre: Bookman, 2009.

INTEL, P. Chemical mediators of inflammation. In Cotran: Robbins pathologic basis of disease. 6 ed. Pennsylvania: W. B. Saunders Company, 1999.

ICH – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use: Guideline on Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2 (R1). Brussels: Commission of the European Communities, 2005.

IONASHIRO, M. G. Fundamentos da termogravimetria, análise térmica diferencial, calorimetria exploratória diferencial. Araraquara: Giz editorial, 2004.

JANKOVIC, B.; MENTUS, S. Thermal stability and nonisothermal kinetics of Folvax (R) degradation process. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, v. 36, n. 8, p. 980-992, 2010.

KARABAS, I.; ORKOULA, M. G.; KONTOYANNIS, C. G. Analysis and stability of polymorphs in tablets: the case of Risperidone. *Talanta*, v. 71, p.1382–1386, 2007.

KASPEREK, R.; POLSKI, A.; ZIMMER, L.; POLESZAK, E. Release kinetics of papaverine hydrochloride from tablets with different excipients. *Scientia Pharmaceutica*, v. 82, p. 683-696, 2014.

KIM, T.; KANG, E.; CHUN, I.; GWAK, H. Pharmacokinetics of formulated tenoxicam transdermal delivery systems. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 60, n. 1, p. 135-138, 2008.

KLEIN C.; HURLBUT, C. S. J. *Manual of Mineralogy*. 21st. New York: John Wiley Sons, INC., 1993, 681 p.

KOCZIAN, K.; KÖKÖSI, J.; MAZÁK, K.; NOSZÁL, B. Novel Chemical Transformations of Tenoxicam. *Helvetica Chimica Acta*, v. 88, p.2355-2363, 2005.

KOROLKOVAS, A. *Dicionário terapêutico Guanabara*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 21.7-21.8. 2006.

LACHMAN, L.; LIEBERMAN, H. A.; KANING, J. L. *Teoria e Prática na Indústria Farmacêutica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 2001.

LEITE, R. da S.; MACEDO, R. de O.; TORRES, S. M.; BATISTA, C. C. N.; BALTAZAR, L. de O.; NETO, S. A. L.; DE SOUZA, F. S. Evaluation of thermal stability and parameters of dissolution of nifedipine crystals. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 111, n. 3, p. 2117-2123, 2013.

LEITE, F. *Validação em Análise Química*. 5 ed. Campinas: Átomo, 2008.

LIN, S. Y.; CHENG, W. T.; WANG, S. L. Thermodynamic and kinetic characterization of polymorphic transformation of famotidine during grinding. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 318, n. 1-2, p. 86-91, 2006.

LIN, S. Y. An overview of famotidine polymorphs: solid-state characteristics, thermodynamics, polymorphic transformation and quality control. *Pharmaceutical Research*, v. 31, p. 1619-1631, 2014.

LU, J.; ROHANI, S. Polymorphism and crystallization of active pharmaceutical ingredients (APIs). *Current Medicinal Chemistry*, v. 16, n. 7, p. 884-905, 2009.

MANADAS, R.; PINA, M. E.; VEIGA, F. A dissolução *in vitro* na previsão da absorção oral de fármacos em formas farmacêuticas de liberação modificada. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 38, n. 4, p.375-399, 2002.

MARCOLONGO, R. *Dissolução de Medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica*. [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, 2003.

MARQUES, M. R. C. Dissolução de medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. *Biofarmacotécnica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 7, p.96-108.

MARKOVICH R. J.; PIDGEON C. Introduction to Fourier-Transform Infrared-Spectroscopy and Applications in the Pharmaceutical Sciences. *Pharmaceutical Research*, v. 8, n. 6, p. 663-675, 1991.

MARTINS, F. T.; LEGENDRE, A. O.; HONORATO, S. B.; AYALA, A. P.; DORIGUETO, A. N. C.; ELLENA, J. Solvothermal preparation of drug crystals: didanosine. *Crystal Growth and Design*, v. 10, n. 4, p. 1885-1891, 2010.

MATOS, J. do R; MERCURI, L.; BARROS, G. Análise Térmica Aplicada a Fármacos e Medicamentos. In: STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. *Biofarmacotécnica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. Cap. 4, p.32-65.

MAXIMIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y. SOUSA, J. de. Caracterização físico-química do fármaco antichacásico benznidazol. *Quim. Nova*, v. 33, n. 8, 2010.

MIRZA, S.; MIROSHNYK, I.; RANTANEN, J.; AALTONEN, J.; HARJULA, P.; KILJUNEN, E.; HEINAMAKI, J.; YLIRUUSI, J. Solid-state properties and relationship between anhydrate and monohydrate of baclofen. *Jornal of Pharmaceutical Sciences*, v. 96, n. 9, p. 2399-2408, 2007.

MODI, S. R.; DANTULURI, A. K. R.; PURI, V.; PAWAR, Y. B.; NANDEKAR, P.; SANGAMWAR, A. T.; PERUMALLA, S. R.; SUN, C. C.; BANSAL, A. K. Impact of Crystal habit on biopharmaceutical performance of celecoxib. *Crystal and Growth Design*, v. 13, p. 2824-2832, 2013.

MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of dissolution profiles. *Pharmaceutical Technology*, v. 20, n. 6, p.64-74, 1996.

MORRIS, K. R.; GRIESSER, U. J.; ECKHARDT, C. J.; STOWEL, J. G. Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 48, p. 91-114, 2001.

NESSEEM, D. I.; EID, S. F.; EL-HOUSENY, S. S. Development of novel transdermal self-adhesive films for tenoxicam, an anti-inflammatory drug. *Life Sciences*, v. 26, n. 89, p. 430-438, 2011.

NIELSEN, L. H.; GORDON, S.; PAJANDER, J. P.; OSTERGAARD, J.; RADES, T.; MÜLLERTZ, A. Biorelevant characterisation of amorphous furosemide salt exhibits

conversion to a furosemide hydrate during dissolution. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 457, n. 1. p. 14-24, 2013.

NILSON, O. G. Clinical pharmacokinetics of tenoxicam. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 26, n. 1, p.16-43, 1994.

OFOEFULE, S. I.; UDEOGARANYA, P. O.; OKONTA, J. M. Prediction of in vivo bioavailability of six brands of ciprofloxacin film coated tablets using the concept dissolution efficiency (DE). *Bollettino Chimico Farmaceutico, Milano*, v. 140, n. 3, p.187-191, 2001.

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

PATEL, J. R.; CARLTON, R. A.; NEEDHAM, T. E.; CHICHESTER, C. O.; VOGT, F. G. Preparation, structural analysis, and properties of tenoxicam cocrystals. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 436, p.685-706, 2012.

PAVIA, D., KRIZ, G.; LAMPMAN, G.; *Introduction to spectroscopy: A guide for students of organic chemistry*, 3rd., Washington: Brooks/ Cole Thomson Learning, 2001.

RODANT, E. F., VECCHIO, S., CATALANI, G., TOMASSETTI, M.; Compatibility between active components of a commercial drug. *Farmaco*, v. 57, p. 833-843, 2002.

ROSA, T. C. C. da. Dissolução intrínseca de hidroclorotiazida de diferentes granulometrias e sua relação com a dissolução do ativo em comprimidos. [Dissertação]. Rio de Janeiro: Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2005.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, EM. E. *Handbook of pharmaceutical excipients*. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

ROY, S.; AITIPAMULA, S.; NANGIA, A. Thermochemical analysis of venlafaxine hydrochloride polymorphs. *Crystal Growth and Design*, v. 5, n. 6, p. 2268-2276, 2005.

SALEM, M. S.; ALKAYSI, H. N.; GHARAIBEH, A. M.; GHARAIBEH, N. M.; BADWAN A. A. Bioequivalence of two oral dosage forms prepared from diferente polymorphic modifications of tenoxicam. *Journal of Clinical Pharmacy Therapeutics*, v. 19, n. 3, p. 203–207, 1994.

SALVI, S. T. B. Polimorfismo em medicamentos genéricos e similares. [Dissertação]. Araraquara: Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista, 2011.

SANTOS, P. S. Ciência e tecnologia das argilas. 2 ed. São Paulo: EDUSP, 1975.

SCHMIDT, A. C.; SCHWARZ, I.; MEREITER, K. Polymorphism and Pseudopolymorphism of salicaine and salicaine hydrochloride crystal polymorphism of local anaesthetic drugs, Part V. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 95, n. 5, p. 1097-1113, 2006.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, v. 43, n. 1, p. 80-88, 2007.

SHAH, B.; KAKUMANU, V. K.; BANSAL, A. K. Analytical techniques for quantification of amorphous/crystalline phases in pharmaceutical solids. *Journal of Pharmaceutical Science*, v. 95, n. 8. p. 1641- 1665, 2006.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 7 ed., Rio de Janeiro: LTC - Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2007.

SINGHAL, D.; CURATOLO, W. Drug polymorphism and dosage form design: a practical perspective. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p. 335-347, 2004.

STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. M. Characterization of the solid state: quantitative issues. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 48, p. 67-90, 2001.

STEPHENSON, G. A. Applications of X-Ray Powder Diffraction in the Pharmaceutical Industry. *The Rigaku Journal*, v. 22, n. 1, 2-15, 2005.

STORPIRTIS, S.; GONÇALVES, J. E.; CHIANN, C.; GAI, M. N. Biofarmacotécnica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

SWANEPOEL, E.; LIEBENBERG, W.; VILLIERS, M. M. Quality evaluation of generic drugs by dissolution test: changing the USP dissolution medium to distinguish between active and non-active mebendazol polymorphs. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 55, p.345-349, 2003.

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.

TIWARI, M.; CHAWLA, G.; BANSAL, A. K. Quantification of olanzapine polymorphs using powder X-ray diffraction technique. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, v. 43, n. 3, p. 865-872, 2007.

TRAN, T. T. D.; TRAN, P. H. L.; PARK, J. B.; LEE, B. J. Effects of solvents and crystallization conditions on the polymorphic behaviors and dissolution rates of valsartan. *Archives of Pharmacal Research*, v. 35, n. 7, p. 1223-1230, 2012.

USP 36. The United States Pharmacopoeia. 36th ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention, 2013.

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

VOGEL, A. I. Análise química quantitativa. 6 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2011.

WATSON, D. G. *Pharmaceutical Analysis: A textbook for Pharmacy Students and Pharmaceutical Chemist*. London: Churchill Livingstone, 2005.

WILDFONG, P. L. D.; MORRIS, K. R.; ANDERSON, C. A.; SHORT, S. M. Demonstration of a shear-based solid-state phase transformation in a small molecular organic system: chlorpropamide. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 96, n. 5, p. 1100-1113, 2007.

YEO, S. D.; KIM, M. S.; LEE, J. C. Recrystallization of sulfathiazole and chlorpropamide using the supercritical fluid antisolvent process. *Journal of Supercritical Fluids*, v. 25, n. 2, p. 143-154, 2003.

YU, L.; REUTZEL-EDENS, S. M.; MITCHELL, C. A. Crystallization and polymorphism of conformationally flexible molecules: Problems, patterns, and strategies. *Organic Process Research & Development*, n. 4, p. 396-402, 2000.

YU, L. X.; LIONBERGER, R. A.; RAW, A. S.; D’COSTA, R.; WU, H. HUSSAIN, A. S. Applications of process analytical technology to crystallization processes. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 56, p.349-369, 2004.

YUKSEL, N.; KANIK, A. E.; BAYKARA, T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA based, model dependente and independente methods. *International Journal Pharmaceutics*, v. 209, p. 57-67, 2000.

ZHANG, J.; TAN, X.; GAO, J.; FAN, W.; GAO, Y.; QIAN, S. Characterization of two polymorphs of lornoxicam. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, v. 65, n. 1, p. 44–52, 2013.

ZHOU, Y.; CHU, W.; LEI, M.; LI, J.; DU, W. ZHAO, C. Application of a continuous intrinsic dissolution-permeation system for relative bioavailability estimation of polymorphic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 473, p. 250-258, 2014.

ANEXO I

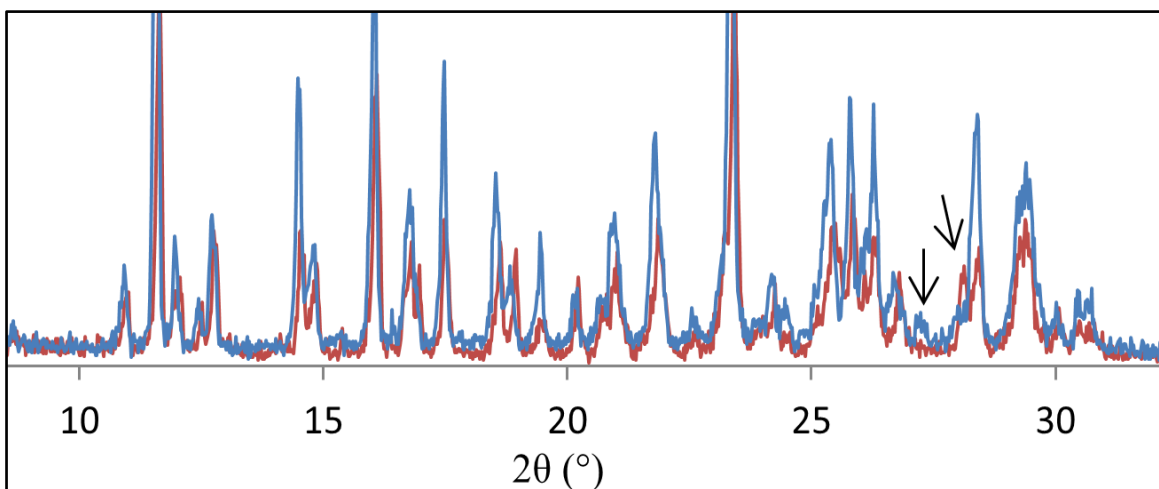


Figura A1.1 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas I (vermelho) e II (azul).

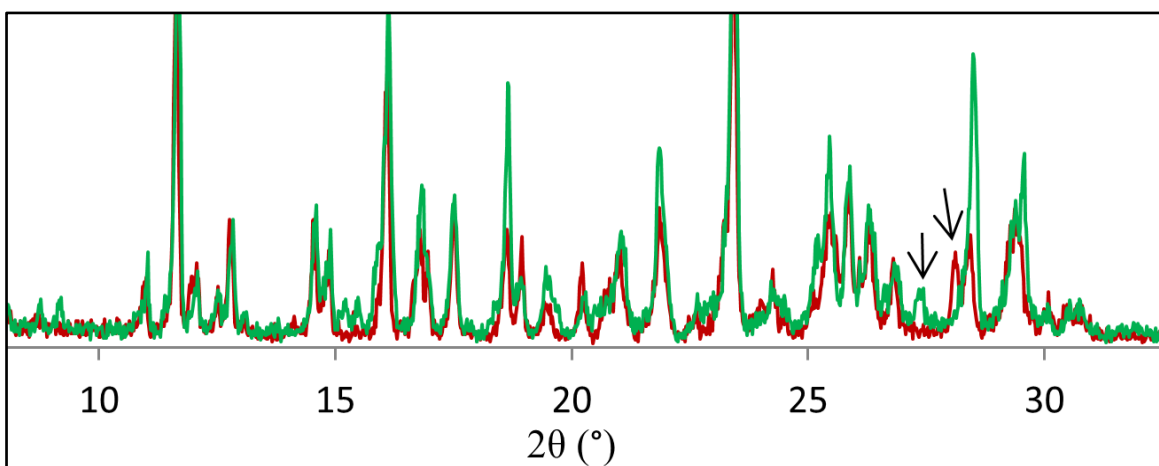


Figura A1.2 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas I (vermelho) e III (verde).

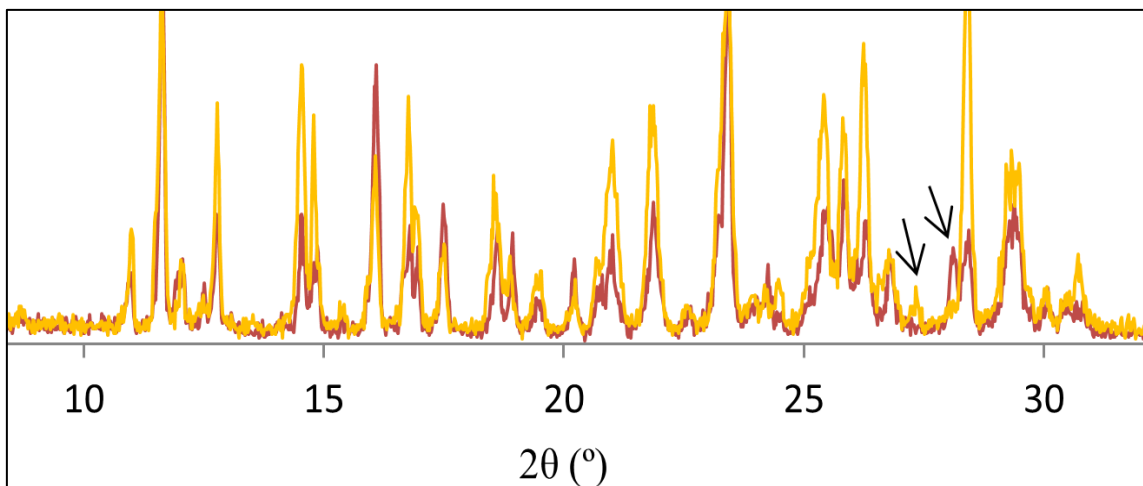


Figura A1.3 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas I (vermelho) e IV (amarelo).

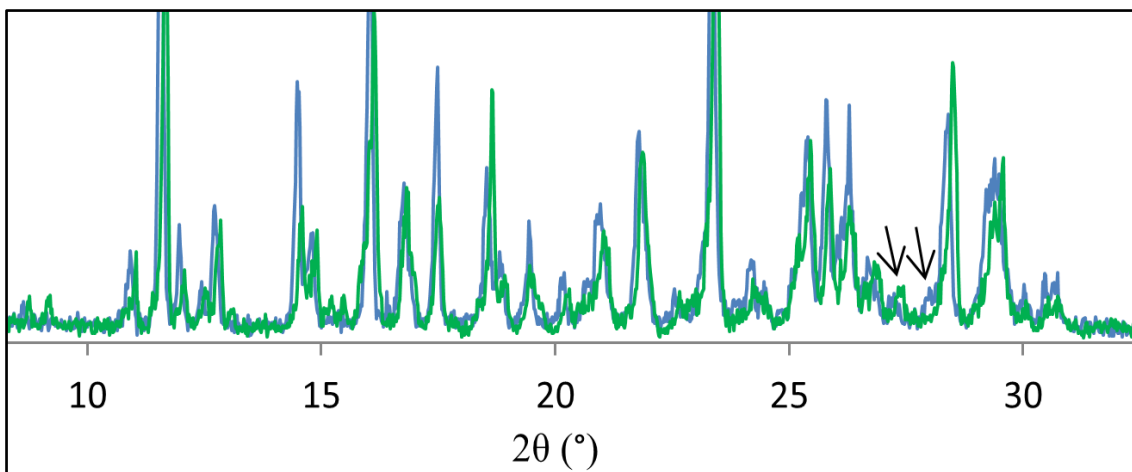


Figura A1.4 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas II (azul) e III (verde).

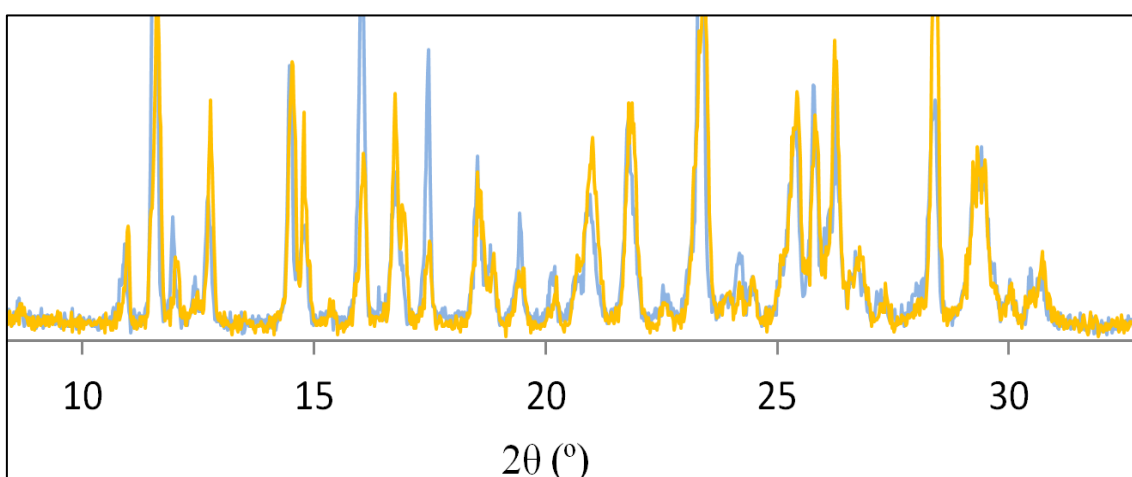


Figura A1.5 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas II (azul) e IV (amarelo).

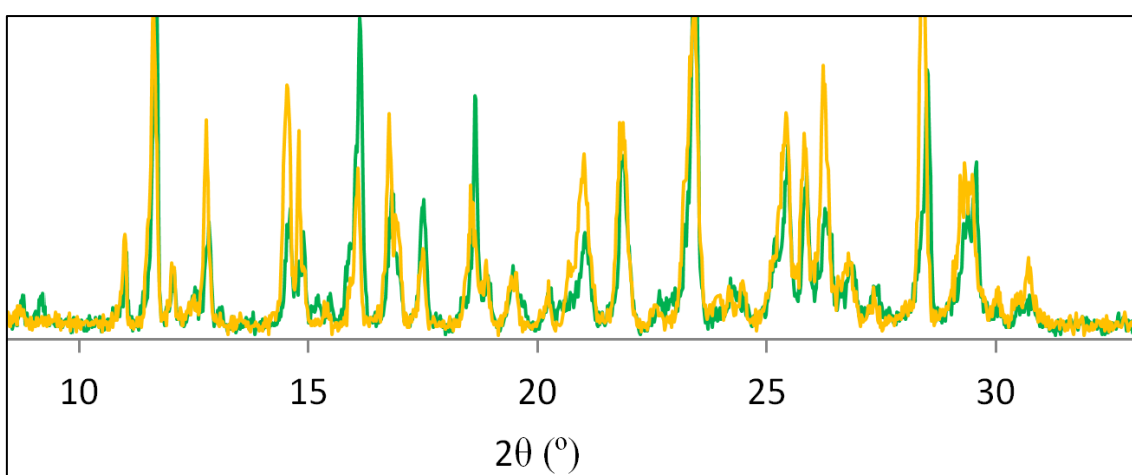


Figura A1.6 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das formas III (verde) e IV (amarelo).

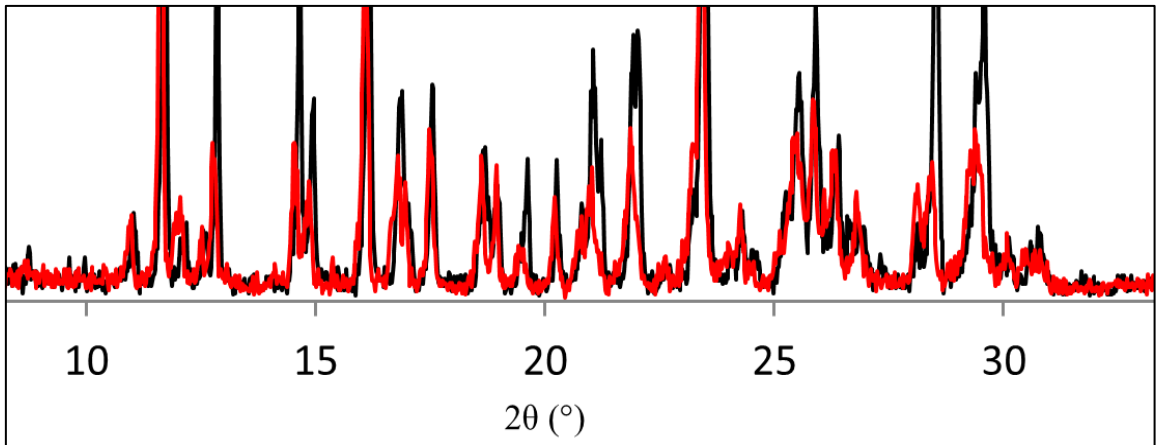


Figura A1.7 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das SQT (preto) e forma I (vermelho).

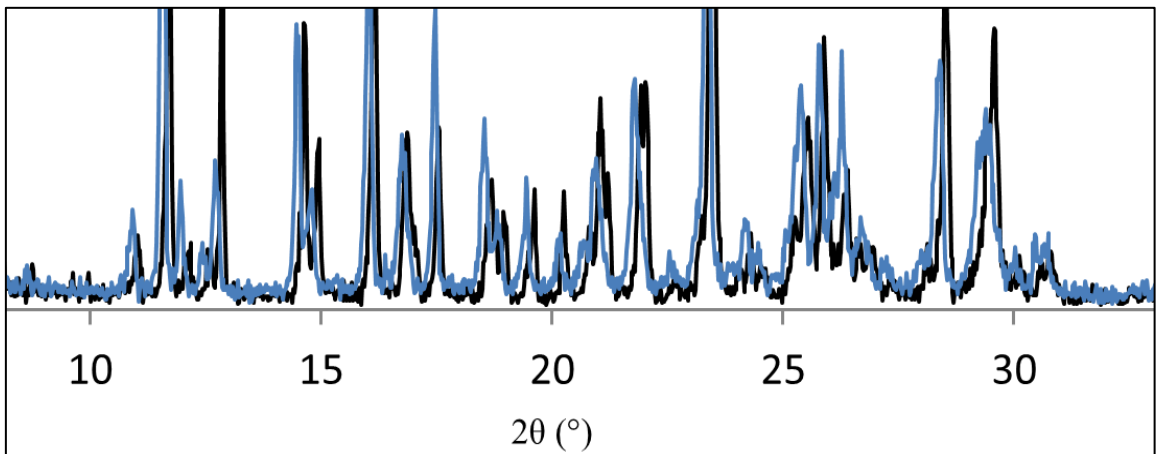


Figura A1.8 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das SQT (preto) e forma II (azul).

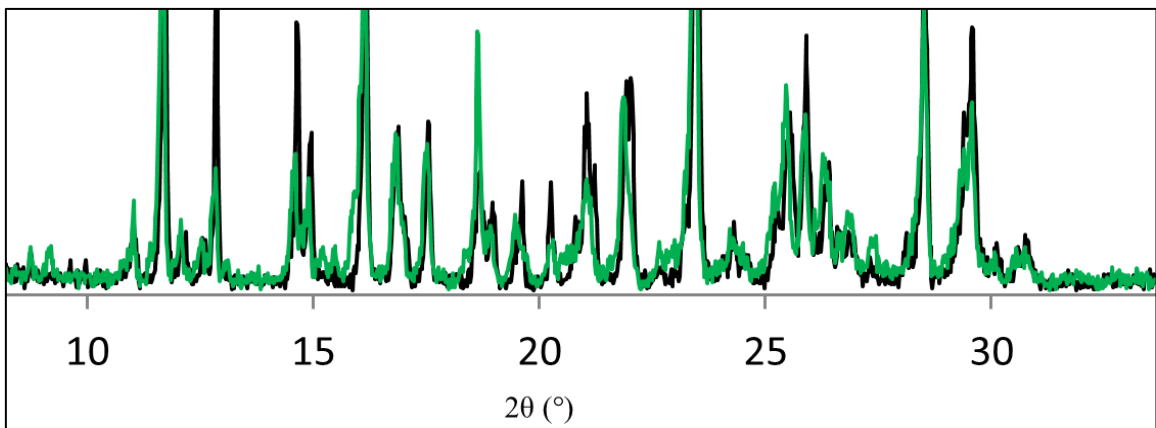


Figura A1.9 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das SQT (preto) e forma III (verde).

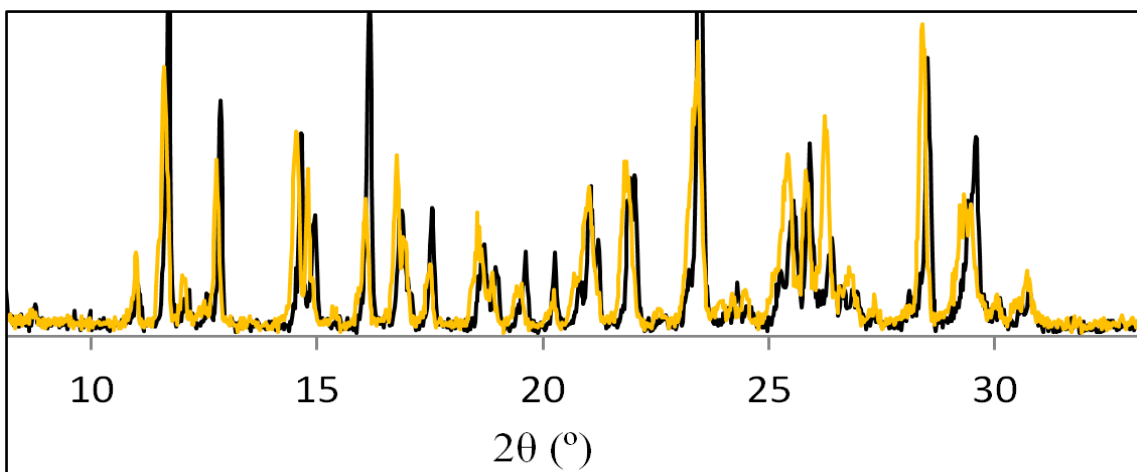


Figura A1.10 – Região ampliada da sobreposição dos difratogramas das SQT (preto) e forma IV (amarelo).