

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO PROFISSIONALIZANTE EM DESENVOLVIMENTO
TECNOLÓGICO E CONTROLE DE QUALIDADE DE PRODUTOS
FARMACÊUTICOS**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DE FÁRMACOS UTILIZADOS PARA
PRODUÇÃO DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS NO BRASIL**

LEANDRO LOZANO COSTA

Porto Alegre, 2005

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
MESTRADO PROFISSIONALIZANTE EM DESENVOLVIMENTO
TECNOLÓGICO E CONTROLE DE QUALIDADE DE PRODUTOS
FARMACÊUTICOS**

**AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DE FÁRMACOS UTILIZADOS PARA
PRODUÇÃO DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS NO BRASIL**

Dissertação apresentada por
Leandro Lozano Costa para
obtenção do GRAU DE MESTRE
em Ciências Farmacêuticas

Orientador: Profa. Dr. Teresa Dalla Costa

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Profissionalizante em Produção e Controle de Qualidade de Produtos Farmacêuticos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 19.12.2005, pela Banca Examinadora constituída por:

Prof. Dr. Rui Oliveira Macedo

Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Pedro Eduardo Fröhlich

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dra. Sílvia Stanisçuaski Guterres

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

C837a Costa, Leandro Lozano
Avaliação do polimorfismo de fármacos utilizados para produção de medicamentos genéricos no Brasil / Leandro Lozano Costa – Porto Alegre : UFRGS, 2005. - xviii, 88 p.: il., gráf., tab.

Dissertação (mestrado profissionalizante). UFRGS. Faculdade de Farmácia. Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas.

1. Polimorfismo: Fármacos. 2. Medicamentos genéricos. 3. Carbamazepina. 4. Anvisa. I. Dalla Costa, Teresa Cristina Tavares. II. Título.

CDU: 615.2.07

Bibliotecária responsável:

Margarida Maria C. F. Ferreira, CRB10/480

*A minha mãe, Dra. Rosa Borrás e Berta Bliacheris, os
amores de minha vida.*

Agradecimentos à Anvisa, órgão que concedeu o afastamento do aluno, financiou os deslocamentos e a bolsa de estudos para o desenvolvimento deste trabalho, ao Centro Bioanalítico de Medicamentos e ao Laboratório de Produção de Padrões Secundários da Faculdade de Farmácia, ao Laboratório de Termoanálise do Instituto de Química e ao Laboratório de Difração do Raio-X do Instituto de Geociências, todos da UFRGS, que disponibilizaram os equipamentos necessários para a realização dos experimentos desta dissertação.

AGRADECIMENTOS

A Anvisa e seus dirigentes, pelo apoio financeiro, logístico e institucional prestado;

À Prof. Dra. Teresa Cristina T. Dalla Costa pela orientação deste trabalho;

À Acadêmica Deise Raquel Barpe, pela intensa colaboração na parte experimental deste trabalho, que sem sua atuação não seria possível;

Ao Dr. Sérgio de Andrade Nishioka pela compreensão na liberação do funcionário para a realização do curso e auxílio prestado durante o período;

A todos os colegas da Anvisa pela compreensão, apoio e amizade durante o curso;

Aos todos os colegas do curso de Mestrado Profissionalizante em Desenvolvimento Tecnológico e Controle da Qualidade de Produtos Farmacêuticos pelo apoio, ajuda, companheirismo, incentivo e amizade;

Ao Prof. Dr. César Liberato Petzhold pelo auxílio na realização e análise dos termogramas;

Ao Prof. Dr. Vitor Pereira pelo auxílio na realização e interpretação dos resultados dos difratogramas em Raio-X;

À Prof. Dra. Vera Lucia Eifler Lima, pelo auxílio prestado na análise dos resultados do teste de infravermelho;

Aos Laboratórios Abbott, Aventis Pharma, Ducto, Far-Manguinhos, FUNED, Janssen-Cilag, Medley, Novartis Biociências, Pfizer, SigmaPharma e Teuto, pelas matérias primas cedidas para a realização deste trabalho;

À Prof. Dra. Maria Rosa Lozano Borrás, por ser minha mãe e ter dado total apoio à realização do trabalho;

À Berta Raquel Weiss Bliacheris pelo amor, carinho, apoio e incentivo prestados, que sem eles não seria possível concluir este trabalho.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vii
SUMÁRIO	ix
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiii
RESUMO	xv
ABSTRACT	xvi
1 INTRODUÇÃO	1
1.1. Referências.....	4
2 OBJETIVOS	5
3 AVALIAÇÃO POLIMORFISMO DE FÁRMACOS	7
3.1 Polimorfismo.....	7
3.1.1 Definição.....	7
3.1.2 Propriedades dos polimorfos.....	7
3.2 Mecanismos que Envolvem o Aparecimento do Polimorfismo.....	8
3.2.1 Cristalização.....	8
3.3 Impacto do Polimorfismo na Indústria Farmacêutica.....	11
3.3.1 Desenvolvimento de medicamentos.....	11
3.3.2 Qualidade do medicamento e risco sanitário.....	14
3.4 Fármacos Registrados Junto à Anvisa Passíveis de Ocorrência de Polimorfismo.....	16
3.5 Técnicas Utilizadas Para Detecção do Polimorfismo.....	18
3.5.1 Difratomia de pós por raios-X.....	18
3.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC).....	24
3.5.3 Termogravimetria (TG).....	29
3.5.4 Ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN).....	32
3.5.5 Calorimetria em solução.....	37
3.5.6 Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier.....	39
3.5.7 Espectroscopia de Raman em infravermelho.....	43
3.5.8 Técnicas combinadas.....	46

3.6	Regulamentação Quanto ao Polimorfismo.....	52
3.6.1	Regulamentação internacional.....	52
3.6.2	Legislação brasileira	56
3.7	Referências.....	60
4	AVALIAÇÃO DA EXISTÊNCIA DE POLIMORFISMO DA CARBAMAZEPINA UTILIZADA NA PRODUÇÃO DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS NO BRASIL.....	65
4.1	Introdução.....	65
4.2	Materiais e Métodos.....	68
4.2.1.	Amostras de carbamazepina.....	68
4.2.2.	Faixa de fusão.....	69
4.2.3.	Infravermelho com transformada de Fourier.....	69
4.2.4.	Calorimetria exploratória diferencial.....	69
4.2.5.	Difratometria de pós por raio-X.....	70
4.2.6.	Perfil de dissolução.....	70
4.3	Resultados e Discussão.....	71
4.3.1.	Faixa de fusão.....	71
4.3.2.	Infravermelho com transformada de Fourier.....	72
4.3.3.	Calorimetria exploratório diferencial.....	75
4.3.4.	Difratometria de pós por raio-X.....	77
4.3.5.	Perfil de dissolução.....	78
4.4	Conclusão.....	81
4.5	Referências.....	81
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	85
5.1	Referências.....	87
	ANEXOS.....	8

LISTA DE TABELAS

Tabela 3.1	Conseqüências do polimorfismo e do pseudo-polimorfismo para a indústria farmacêutica.....	15
Tabela 3.2	Listagem dos fármacos registrados junto à Anvisa até dezembro de 2004 que apresenta polimorfismo.....	17
Tabela 3.3	Diferentes técnicas para difração de raios-X.....	19
Tabela 3.4	Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo.....	47
Tabela 4.1	Faixa de fusão das amostras de carbamazepina observados em Kofler .	72
Tabela 4.2	Valores calculados do fator de diferença (f_1) para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina em relação à amostra R	79
Tabela 4.3	Valores calculados do fator de semelhança (f_2^*) para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina em relação à amostra R	79
Tabela 4.4	Valores de ED% calculados para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina.....	80

LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1	Modelo esquemático de um difratômetro de pós por raios-X	20
Figura 3.2	Registro de Difractometria de pós por raio-X das fases diidrato e monohidrato de cefipima 2HCl permitindo a quantificação sobre intervalo o angular de 12 a 15° de 2θ	23
Figura 3.3	Registros de Difractometria de pós por raio-X de formas cristalinas puras (monohidrato, nova forma, forma anidra) e uma formulação de teofilina antes (Mistura seca) e depois (granulação via úmida) secagem em leito fluidizado	24
Figura 3.4	Diagrama esquemático de um DSC de potência compensada com duplo forno	26
Figura 3.5	Diagrama esquemático do DSC de fluxo de calor modelo Pyris 6	26
Figura 3.6	Registro de DSC de 15 mg de sulfapiridina aquecida à velocidade de 5 °C/min. O ponto de fusão da forma estável é de 191 °C (Primeira corrida). Segunda corrida: Observa-se uma transição monotrópica sólido-sólido.....	28
Figura 3.7	Registro de DSC de sulfa em pratos de alumínio. Primeiro aquecimento com velocidade de 5° C/min, resfriamento até 30° C a velocidade de 1° C/min, e segundo aquecimento a velocidade de 5° C/min.....	29
Figura 3.8	Registro de termogravimetria que distingue um solvato (traçado superior) de um hidrato (traçado inferior).....	31
Figura 3.9	Registro de termogravimetria do sal malonato (GIRON, 2003).....	31
Figura 3.10	Registro de termogravimetria de um acetato que perde o ácido acético por fusão - pKa da base 7,2.....	32
Figura 3.11	Diagrama esquemático de um espectrômetro de RMN de onda contínua.....	33
Figura 3.12	Espectro em 13C de mistura de carbamazepina anidra (i), diidrato (ii), e glicina (padrão de referência interno)	35
Figura 3.13	Espectro de RMN no estado sólido dos polimorfos A e B do fármacoORG 13011.....	36
Figura 3.14	Modelo em corte do calorímetro em solução Parr modelo 6755	38

Figura 3.15	Varredura microcalorimétrica utilizada para comparar a forma amorfa com (registro superior) e a forma cristalina (registro inferior) de uma substância	39
Figura 3.16	Representação esquemática de um espectrômetro simples.....	41
Figura 3.17.	Espectro FT-IR da região de identificação dos polimorfos I, II e III do cloridrato de propranolol armazenados à temperatura ambiente.....	42
Figura 3.18.	Diagrama ótico de espectrômetro de Raman com transformada de Fourier.....	44
Figura 3.19	Espectro de Raman (região espectral de 1400 a 80 cm^{-1}) dos polimorfos A, B, C e D	46
Figura 3.20	Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 1.....	53
Figura 3.21	Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 2	54
Figura 3.22	Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 3	55
Figura 4.1	Estrutura química da carbamazepina.....	68
Figura 4.2	Espectro de infravermelho obtido para amostra A de carbamazepina....	73
Figura 4.3	Espectro de infravermelho obtido para amostra B de carbamazepina....	73
Figura 4.4	Espectro de infravermelho obtido para amostra C de carbamazepina....	74
Figura 4.5	Espectro de infravermelho obtido para amostra R de carbamazepina....	74
Figura 4.6	Termogramas de DSC das amostras A, R, C e B de CZB.....	76
Figura 4.7	Difratograma das amostras A, B, C e R de carbamazepina.....	77
Figura 4.8	Perfis de dissolução médio das amostras de carbamazepina em meio LSS 1%, a 37 ± 5 °C, agitação por pás à 75 rpm.....	78

RESUMO

O polimorfismo é definido como a tendência de uma substância em se cristalizar em diferentes estados cristalinos. A presença de diversas formas cristalinas diferentes para um mesmo fármaco pode alterar algumas das propriedades físico-químicas da substância, dentre as quais a sua solubilidade, o que pode afetar diretamente o seu perfil de dissolução. O objetivo do trabalho foi revisar a literatura sobre os métodos de detecção de polimorfismo dos fármacos e avaliar diferentes amostras de carbamazepina disponíveis no Brasil visando identificar a presença de diferente polimorfos. A carbamazepina apresentou indícios de polimorfismo no DSC para algumas das cinco amostras, o que não foi confirmado pelos demais métodos empregados (IV e raio-X). Após os testes de dissolução, os perfis foram comparados com a amostra de referência e apenas uma das amostras apresentou perfil de dissolução semelhante quando comparado ao padrão através do cálculo de f_1 e f_2 . Os resultados observados na etapa prática sinalizam que se faz necessário o desenvolvimento e aprofundamento do assunto junto à Anvisa com vistas à preservação da segurança dos medicamentos dos medicamentos genéricos comercializados no País.

Palavras chave: Polimorfismo; fármacos; medicamentos genéricos, carbamazepina, Anvisa.

ABSTRACT

Polymorphism Evaluation in Some Drug Substance Used for Generic Medicine

Production in Brazil

The polymorphism is defined as the trend of a substance in if crystallizing in different crystalline states. The sprouting of diverse different crystalline forms for exactly the same drug substance can modify some of the properties physic-chemical of the substance, amongst which its solubility, what it can directly affect its profile of dissolution. Review methods of detention literature of polymorphism on drug substance and evaluate different available samples of carbamazepine in Brazil aiming to identify the presence of polymorphs. A revision of literature was made having aimed showing the methodologies used for detention of the polymorphism in drug substance: In a practical part of this work, carbamazepine drug substance showed indications of polymorphism in one of five samples, fact that was not confirmed by others detections methods used (FT-IR and X-ray diffractometry). After the dissolution tests, the dissolution profiles were compared with the standard sample, and only one sample showed a similar dissolution profile when compared with the standard by f1 and f2 calculations. The results observed in the practical work showed the need of polymorphism developing and deepening with Anvisa objectifying the safety use of generic medicines commercialized in Brazil.

Key words: Polymorphism; drug substance; generic medicine, cabamazepine, Anvisa.

1. INTRODUÇÃO

O medicamento é um produto farmacêutico, tecnicamente obtido ou elaborado, com finalidade profilática, curativa, paliativa ou para fins de diagnóstico. É um produto que tem um alto valor agregado, tanto do ponto de vista de desenvolvimento tecnológico como de conhecimento aplicado. Para que um medicamento chegue ao mercado é necessário que se apresentem às agências regulatórias estatais dados de segurança e eficácia (BRASIL, 1973).

A grande maioria dos medicamentos comercializados é formulado em formas farmacêuticas sólidas de uso oral. Tais formas farmacêuticas, apesar de serem de administração cômoda ao paciente, necessitam que o fármaco seja disponibilizado, em tempo razoável, em seu sítio de absorção no trato gastrintestinal. Para tanto, é necessário que se verifiquem e se controlem diversos fatores tecnológicos envolvidos na sua produção (SHEKUNOV & YORK, 2000).

No Brasil os medicamentos alopáticos de origem sintética são divididos em três categorias quanto ao registro junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa): medicamentos novos, medicamentos similares e medicamentos genéricos. Os medicamentos novos são os inovadores e que apresentam no momento do primeiro registro dados clínicos de segurança e eficácia, sendo utilizados como referência para os demais. Os medicamentos similares e genéricos são cópias dos novos e devem apresentar provas de equivalência farmacêutica e biodisponibilidade relativa no caso dos similares ou bioequivalência no caso dos genéricos em relação ao medicamento de referência. Tais comprovações permitem assumir que estes medicamentos apresentam segurança e eficácia semelhante ao medicamento de referência adotado (BRASIL, 1976).

Como a solubilidade pode ser o fator limitante para o processo de

absorção de fármacos e comprometer sua biodisponibilidade e, conseqüentemente, a bioequivalência do medicamento genérico em relação ao referêcia, o controle dos fatores que alteram a dissolução de fármacos é fundamental para garantir a manutenção da qualidade dos produtos disponibilizados à população. Entre os fatores que alteram a solubilidade de fármacos destaca-se a forma cristalina ou ocorrência de polimorfismo, que pode alterar as propriedades físicas dos mesmos, levando a alterações no processo de absorção que podem resultar em falha terapêutica ou toxicidade, representando um alto risco sanitário ao usuário (GIRON, 1995).

O polimorfismo é definido como a tendência de uma substância em se cristalizar em diferentes estados cristalinos. Este fenômeno é muito comum em algumas classes de medicamentos como barbitúricos, sulfonamidas e esteróides, entre outros (GIRON, 1995).

Formas polimórficas apresentam as mesmas propriedades físicas nos estados líquido e gasoso, mas no estado sólido podem apresentar diferenças em propriedades como solubilidade, ponto de fusão, calor de fusão, índice de refração, densidade, condutividade, difração de raio-X e espectro molecular, dureza, cristalinidade, cor, estabilidade, higroscopicidade, perfil de dissolução e reações do estado sólido (GIRON, 1995; BOTTOM, 1999).

No Brasil, a legislação sanitária referente ao registro de medicamentos genéricos impõe, entre outras exigências, que as empresas produtoras destes medicamentos qualifiquem, no momento do registro, três fornecedores distintos que poderão ser utilizados para obtenção das matérias-primas, inclusive fármacos, para a produção do genérico (BRASIL, 2003). No entanto, a legislação exige que o ensaio de bioequivalência para formas farmacêuticas sólidas de liberação imediata seja realizado apenas com um lote de produto, obtido com matérias-primas fornecidas por um dos três fornecedores qualificados.

No *Relatório de Produção* para registro de medicamento genérico junto à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa), o laboratório farmacêutico deve apresentar um relatório contendo informações sobre os prováveis polimorfos do

fármaco e, sempre que possível, a metodologia analítica para sua determinação (BRASIL, 2003a). Em nenhum momento, no entanto, a legislação define claramente os critérios de análise que devem ser seguidos perante a ocorrência do polimorfismo ou qual a conduta a ser tomada quando este ocorre. Além disso, a legislação não exige nenhum estudo comparativo de biodisponibilidade ou, sequer, de perfil de dissolução *in vitro*, para avaliar o impacto dos diferentes polimorfos na liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica específica em que o medicamento genérico será comercializado. Deste modo, o lote utilizado para a realização do estudo de bioequivalência (biolote) pode ser bioequivalente ao produto de referência, mas os lotes produzidos com outras formas polimórficas obtidas do mesmo fornecedor ou dos outros dois fornecedores qualificados, pode não cumprir esta exigência legal. Este fato compromete a intercambialidade dos medicamentos genéricos e, por conseguinte, sua pressuposta eficácia e segurança.

Apesar de inúmeros trabalhos na literatura descreverem a influência do polimorfismo na biodisponibilidade de alguns fármacos, não se conhece até o momento a incidência do polimorfismo em fármacos comercializados pelos diversos fornecedores de matérias-primas para a indústria farmacêutica no Brasil. A comprovação da ocorrência de polimorfismo nos fármacos comercializados para produção de genéricos e similares no País poderá ser utilizada para dar suporte à Anvisa no sentido de tornar mais rigorosa a legislação para registro destes produtos. Além disso, a definição de critérios claros para a análise de polimorfismo em matérias-primas poderá auxiliar tanto a indústria farmacêutica, na montagem do *Relatório de Produção*, como o corpo técnico da Anvisa, responsável pela avaliação dos pedidos de registro destes medicamentos.

Entre os fármacos que apresentam polimorfismo na literatura, a carbamazepina se caracteriza pelo impacto que os diferentes polimorfos causam no seu perfil de dissolução e biodisponibilidade (GIRON, 1995). Por esta razão, neste trabalho, a carbamazepina foi escolhida para ilustrar a avaliação do polimorfismo em fármaco empregado para a produção de medicamento no Brasil, estudando seu possível impacto sobre seus perfis de dissolução.

1.1. Referências

1. BOTTOM, R. The role of modulated temperature differential scanning calorimetry in the characterization drug molecule exhibiting polymorphic and glass forming tendencies. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 192, p. 47-53, 1999.
2. BRASIL. Lei 5.991 de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. In: *Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed. p. 1272-1279.
3. _____. Resolução RDC nº. 135, de 29 de maio de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 154, seção 1, p. 100-102, 12 ago. 2003.
4. _____. Lei 6.360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. In: *Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed. p. 1280-1292.
5. GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*, v. 248, p. 1-59, 1995.
6. SHEKUNOV, B. Y.; YORK, P. Crystallization process in pharmaceutical technology and drug delivery design. *Journal of Crystal Growth*, v. 211, p. 122-136, 2000.

2. OBJETIVOS

O presente trabalho tem dois objetivos:

2.1 Revisar a literatura sobre polimorfismo discutindo as metodologias empregadas para detecção das formas polimórficas de fármacos;

2.2 Avaliar o polimorfismo em amostras de carbamazepina utilizadas pela indústria farmacêutica nacional para produção de medicamentos similares e/ou genéricos obtidos de diferentes fornecedores e seu impacto no perfil de dissolução do fármaco.

Os dois objetivos deste trabalho, um de revisão de literatura e outro experimental, serão apresentados em dois capítulos distintos, visando facilitar o acompanhamento do mesmo. Cada capítulo foi escrito de modo independente, com referências, numeração de tabelas e figuras próprias.

3. AVALIAÇÃO DO POLIMORFISMO DE FÁRMACOS

3.1 Polimorfismo

3.1.1 Definição

Polimorfismo é definido como a existência de alterações no arranjo cristalino de uma substância sem, porém, observar-se modificação na estrutura das moléculas (conformação molecular e espacial). Vale ressaltar que diferenças morfológicas ou macroscópicas nos cristais não revelam, necessariamente, a ocorrência de polimorfismo. Estas alterações morfológicas podem ser geradas por diferentes direções no crescimento do cristal durante o processo de cristalização (GIRON, 1995; BOTTOM, 1999).

3.1.2 Propriedades dos polimorfos

As propriedades químicas das diferentes formas cristalinas de uma substância são idênticas, mas o mesmo não ocorre com suas propriedades físicas, que são essenciais para que um princípio ativo atinja níveis terapêuticos no organismo. Formas polimórficas podem apresentar diferenças em propriedades físicas e físico-químicas como pontos de fusão e sublimação, condutividade, volume, densidade, viscosidade, dureza do cristal, forma do cristal, cor, índice de refração, solubilidade, higroscopicidade, reações no estado sólido, estabilidade e perfil de dissolução (GIRON, 1995; BOTTOM, 1999).

3.2 Mecanismos que Envolvem o Aparecimento do Polimorfismo

3.2.1 Cristalização

No processo de síntese de fármacos, em geral, a seqüência de eventos segue a seguinte ordem: síntese, purificação, cristalização, secagem, cisalhamento e estocagem do fármaco (GIRON, 1998a). Durante estes processos as características físico-químicas do fármaco serão determinadas, bem como possíveis contaminantes e resíduos de solvente e de substâncias relacionadas à síntese do fármaco. Dentre as etapas citadas, há a possibilidade de ocorrência de transformações polimórficas durante a fase de cristalização, secagem e estocagem do fármaco (GIRON & GOLDBRONN, 1997; GIRON, 1998a; TOSCANI, 1998; GIRON *et al.*, 2002).

Muitos compostos orgânicos e inorgânicos de relevância farmacêutica podem ocorrer em uma ou mais formas cristalinas. Nos sólidos, este conceito implica na formação de cristais ideais em que as unidades estruturais são repetidas regularmente e indefinidamente em três dimensões no espaço. Estas unidades têm uma orientação e forma definida, apresentando um volume definido, que contém os átomos e moléculas necessários para a geração do cristal (WEST, 1984).

A cristalização é um processo extensamente utilizado pela indústria farmoquímica para a obtenção de fármacos e excipientes durante estágios iniciais ou finais da purificação e separação dos compostos, e é este processo que define o grau de pureza química e as propriedades físicas da substância que está sendo isolada, tais como tamanho e forma da partícula, estrutura cristalina e grau de imperfeições na mesma (SHEKUNOV & YORK, 2000; THREFALL, 2000; KITAMURA, 2002, YU *et al.*, 2004).

Diversas estratégias são aplicadas pela indústria farmoquímica para que, durante a cristalização, se obtenha uma determinada substância com o índice de pureza especificado, apresentando o máximo de rendimento. Tais estratégias envolvem o uso de fenômenos e características físicas, termodinâmicas e físico-químicas intrínsecas ao fármaco como a nucleação, estabilidade termodinâmica, solubilidade e dissolução (THREFALL, 2000; VIPPAGUNTA *et al.*, 2001; SCHROER, 2003; YU *et al.*, 2004).

A nucleação pode ocorrer por dois mecanismos: o homogêneo e o heterogêneo. Na nucleação homogênea, flutuações espontâneas na densidade do líquido permitem a formação da forma sólida mais estável, enquanto a nucleação heterogênea é impulsionada por impurezas ou pela superfície de contato com o líquido. A nucleação heterogênea é o mecanismo predominante em processos industriais. Tais processos de nucleação dependem basicamente de dois fatores: a supersaturação do meio e a tensão interfacial. A supersaturação é tida como a medida de forças termodinâmicas que levam a formação da fase sólida, enquanto a tensão interfacial é uma medida termodinâmica do trabalho reversível necessário para aumentar a interface entre o líquido e o soluto. Estes fatores são pontos a serem considerados na cristalização, uma vez que deles depende a taxa de crescimento de um determinado cristal e de seus diferentes polimorfos (YU *et al.*, 2004). Três tipos de comportamento podem ser reconhecidos como dependentes da nucleação e da taxa de crescimento cristalino: (a) a forma mais estável cristaliza preferencialmente em qualquer concentração; (b) a forma menos estável cristaliza preferencialmente somente em altas concentrações ou (c) a forma menos estável cristaliza em concentrações intermediárias (THREFALL, 2000).

Os principais pontos de controle do processo de cristalização são a taxa de nucleação e de crescimento do cristal. Ambas as razões contêm fatores dependentes das propriedades do material, tais como tamanho de partícula, forma do cristal, cristalinidade, fluxo, misturabilidade, transferência de calor e de massas e uniformidade do processo. Ressalta-se também a importância de um estudo detalhado do papel de cada solvente e impureza presente no processo de cristalização pois, como visto, estes tem influência direta na possível formação de polimorfos durante a purificação do material (YU *et al.*, 2004).

Dependendo do sistema de solventes a ser utilizado, a diferença de estabilidade termodinâmica de um composto em relação aos outros permite que estes sejam separados seguindo a Lei de Ostwald, onde a forma mais solúvel e menos estável se cristaliza antes (SHEKUNOV & YORK, 2000). Quando diferentes polimorfos podem ser obtidos em um mesmo sistema de solventes, normalmente o que for menos solúvel no(s) solvente(s) irá cristalizar-se seguindo esta Lei (TOSCANI, 1998; SCHROER, 2003; YU *et al.*, 2004). No entanto, o processo de cristalização não obedece

necessariamente a Lei de Ostwald, especialmente em sistemas onde se apresentam mais de duas formas polimórficas. O comportamento da cristalização destes sistemas pode ser justificado pelos princípios da termodinâmica irreversível, por semelhanças estruturais, ou em uma combinação da termodinâmica estatística e estrutural (THREFALL, 2000; THREFALL, 2003).

Devido às diferentes propriedades termodinâmicas entre os polimorfos, de um sistema dimórfico, por exemplo, pode-se controlar a obtenção de uma das formas pela ação da temperatura. O resfriamento do sistema pode levar à formação da forma I, sendo a II solúvel neste sistema. A separação pode ser realizada por filtração ou por um maior abaixamento da temperatura, o que aumentaria a nucleação do polimorfo I, lembrando que a transformação de I para II não se dá rapidamente nestas condições (THREFALL, 2000).

Tendo em vista que a razão da solubilidade de uma forma polimórfica em um dado solvente, ou sistema de solventes, é constante, e que a solubilidade entre diferentes formas polimórficas nos mesmos solventes pode variar, a seleção de solventes para a cristalização de polimorfos é freqüentemente explorada como meio de obtenção do polimorfo desejado ou para a otimização da velocidade do processo. Vale ressaltar que quando da retirada dos solventes do sistema pode-se obter a forma polimórfica indesejável, independente da temperatura aplicada, uma vez que há uma supersaturação do meio, possibilitando uma transformação polimórfica (THREFALL, 2000; SCHROER, 2003).

Outras medidas também podem ser adotadas para direcionar o processo de cristalização de uma determinada forma polimórfica, como a utilização de um anti-solvente, que é empregado em escala industrial para a cristalização de fármacos termolábeis e de alto valor agregado, ou a transformação mediada por dissolução, que é um processo utilizado para a conversão de uma forma polimórfica em outra. Neste caso, o meio de dissolução solubiliza a forma mais solúvel, enquanto a menos solúvel se recristaliza. Este processo está bem descrito na literatura para a obtenção do ácido glutâmico. Este processo pode gerar outros efeitos, como a dissolução de cristais, o crescimento dos cristais, a supersaturação relativa do polimorfo e a sedimentação

(SCHROER, 2003).

A previsão da obtenção de polimorfos não pode ser feita até que as curvas de solubilidade e meta-solubilidade sejam estabelecidas, uma vez que, até então, o comportamento polimórfico do sistema pode não ter surgido. Também não há meio de se prever se um determinado sistema tem comportamento bi-mórfico, tri-mórfico ou polimórfico, uma vez que este comportamento poderá ser revelado pela variação das concentrações utilizadas no sistema de solventes. Outro fator que dificulta a compreensão e a previsão da formação de polimorfos em um dado sistema de solventes é a existência da zona de cristalização espontânea, onde tal cristalização pode perdurar por horas ou semanas (THREFALL, 2000).

Alguns sistemas levam à obtenção de um sólido que se apresenta como a mistura de forma cristalina e forma amorfa. Nestes casos, a quantificação da fração cristalina da mistura, medição esta chamada de grau de cristalinidade (USP 25, 2002), é um fator importante a ser controlado, especialmente pela possibilidade da ocorrência de polimorfismo e pseudo-polimorfismo em um mesmo sistema. O grau de cristalinidade de um fármaco pode ser estabelecido por métodos como a difratometria de raio-X e a calorimetria diferencial exploratória. Estes dois métodos são capazes de detectar alterações nas formas cristalinas, apontando a presença de formas polimórficas, metaestáveis ou parcelas amorfas do fármaco (BAUER-BRANDL, 1996; SHEKUNOV & YORK, 2000).

3.3 Impacto do Polimorfismo na Indústria Farmacêutica

3.3.1 Desenvolvimento de medicamentos

Para que um medicamento seja racionalmente desenvolvido, o fármaco deve ser caracterizado quanto às suas propriedades físico-químicas, polimorfismo e estabilidade, especialmente no que concerne a compatibilidade com excipientes, o processamento durante a produção, as especificações de qualidade, as condições de armazenamento e a estabilidade do produto acabado (GIRON, 1998a).

Mais de 90% dos medicamentos são utilizados em formas sólidas, como comprimidos, aerossóis, cápsulas, suspensões e supositórios, contém o fármaco

particulado e, em geral, na forma cristalina (SHEKUNOV & YORK, 2000). Várias propriedades do fármaco estão diretamente ligadas à sua estrutura física e suas propriedades químicas, como sua capacidade de deformação, tamanho de partícula, densidades e fluxo dos pós, características coesivas, reologia, estabilidade, capacidade de transpor barreiras biológicas, entre outras. Estas propriedades também promoverão alterações das características das formas farmacêuticas como a estabilidade, o perfil de dissolução, a biodisponibilidade, a compressibilidade, a uniformidade de distribuição da dose, entre outras (BRYN *et al.*, 1995; GIRON, 1995; BAUER-BRANDL, 1996; GARCIA *et al.*, 1999; SHEKUNOV & YORK, 2000).

Vários estudos têm demonstrado que a modificação da forma cristalina do fármaco, pela inclusão de aditivos específicos, aumenta a energia livre do cristal e a entropia, reduzindo a entalpia de fusão e aumentando a taxa de dissolução da forma farmacêutica, o que pode interferir fortemente nas propriedades físico-químicas e na cinética de absorção do fármaco a partir do produto acabado (SHEKUNOV & YORK, 2000).

Sabe-se que uma substância na forma cristalina apresenta menor solubilidade, enquanto na forma amorfa a mesma apresenta maior solubilidade e menor estabilidade térmica (TOSCANI, 1998). Formulações onde se encontra o fármaco parcialmente cristalino e amorfo, ou formas metaestáveis, são muito mais solúveis que as que contêm o fármaco altamente cristalino. Esta propriedade pode ser utilizada para promover um efeito terapêutico mais rápido do medicamento, aumentando a velocidade de dissolução e a absorção do fármaco. Porém, formulações contendo formas amorfas e metaestáveis são menos estáveis que as elaboradas com as formas cristalinas do fármaco e, geralmente, apresentam risco de cristalização durante o processo produtivo e a vida do produto em prateleira. Tais produtos são em geral muito reativos e pouco estáveis quando expostos ao estresse mecânico e térmico, e muito susceptíveis à absorção de umidade (BRYN *et al.*, 1995; BAUER-BRANDL, 1996; SHEKUNOV & YORK, 2000).

A caracterização físico-química de todos componentes de um medicamento, desde o fármaco até os excipientes, é de suma importância para prevenir que, durante a

fase de avaliação clínica, sejam observados resultados inesperados que possam comprometer o desenvolvimento do medicamento, tanto em sua segurança quanto em sua eficácia. Neste contexto, a modificação no estado físico do fármaco pode requerer estudos de biodisponibilidade comparativa com a forma já estabelecida previamente (GIRON, 1998a).

As características tecnológicas dos fármacos que apresentam maior interesse para produção de medicamentos são o perfil de solubilidade (perfil de dissolução intrínseca e solubilidade no equilíbrio), estabilidade química e físico-química, morfologia do cristal, comportamento calorimétrico e perfil de higroscopicidade. Do ponto de vista produtivo, é imperativo que se desenvolvam métodos analíticos de controle de qualidade que levem à garantia da reprodutibilidade inter e intra-lote avaliando estas características (BRYN *et al.*, 1995).

A possibilidade de ocorrer transformações morfológicas do cristal do fármaco formando outras formas estáveis, metaestáveis, pseudo-polimórficas, amorfas, entre outras, deve ser levada em consideração e estudada pelo fabricante do medicamento. É importante notar que esta transformação pode ser de velocidade variável, ou seja, pode levar de horas a anos para se concretizar no medicamento acabado e, conseqüentemente, prejudicar a qualidade do medicamento a ser dispensado, mesmo dentro de seu prazo de validade comprovado (GIRON, 1995). Tal fato pôde ser observado no caso do ritonavir, que durante sua caracterização teve somente um cristal observado. Como o produto foi formulado em solução oral ou em cápsula gelatinosa mole contendo solução do fármaco, não houve preocupação com uma investigação mais profunda sobre o polimorfismo do mesmo. Porém, com o produto já no mercado, observou-se que diversos lotes apresentavam falha de qualidade nos testes de estabilidade. Investigando tal falha, técnicos da Abbott Laboratories, detentora do registro do medicamento, observaram a cristalização em solução de uma forma polimórfica desconhecida do ritonavir, menos solúvel no meio. Tal fato levou a empresa a retirar o produto do mercado e corrigir a sua formulação para evitar a formação deste polimorfo no meio (BAUER *et al.*, 2001).

Em resumo, a existência de formas polimórficas do fármaco pode afetar a

performance da forma farmacêutica através da alteração de sua biodisponibilidade ou estabilidade. Além disso, este fenômeno pode afetar a reprodutibilidade dos lotes industriais, tanto na produção do fármaco quanto do medicamento (BRYN *et al.*, 1995).

3.3.2 Qualidade do medicamento e risco sanitário

Como anteriormente mencionado, o polimorfismo pode ter um impacto direto sobre diversas características do fármaco e, conseqüentemente do medicamento. Vale ressaltar que o estado cristalino do fármaco irá determinar sua velocidade de dissolução, refletindo diretamente em sua absorção e biodisponibilidade, além da estabilidade da molécula. Estas alterações podem refletir-se na intensidade do efeito esperado do medicamento, devido à alteração da extensão e velocidade de absorção do fármaco, podendo resultar em falhas terapêuticas, aumento na toxicidade e no surgimento eventos adversos (PERRENOT & WIDMANN, 1994; BRYN *et al.*, 1995).

Na Tabela 3.1 encontra-se um resumo dos possíveis problemas advindos da ocorrência de polimorfismo no fármaco. Destacam-se, como mais importantes, as alterações que podem impactar na atividade e na toxicidade do fármaco (GIRON, 1999).

Tabela 3.1 Conseqüências do polimorfismo e do pseudo-polimorfismo para a indústria farmacêutica*.

	PROPRIEDADE	CONSEQÜÊNCIA
Fármaco	Estabilidade química	Alteração do perfil de degradação química
	Purificação	Rendimento do processo
	Processabilidade do medicamento	Modificações de características físicas
	Robustez do processo de produção	Alterações na variabilidade do processo
	Higroscopicidade	Homogeneidade do fármaco
	Alterações físicas durante armazenagem	Estabilidade de fármacos e excipientes
Medicamento	Solubilidade e perfil de dissolução	Atividade; toxicidade; solubilidade;
	Estabilidade química	Alteração do perfil de degradação química
	Robustez do processo de produção	Alterações na variabilidade do processo
	Higroscopicidade	Alterações na estabilidade do medicamento
	Alterações físicas durante armazenagem	Estabilidade do medicamento

* Adaptado de GIRON, 1999.

Do ponto de vista sanitário, a manutenção da qualidade do medicamento significa a garantia de que o mesmo apresentar-se-á sempre seguro e eficaz, em consonância com as evidências constantes da literatura e dos dados apresentados às autoridades quando de seu registro. Um desvio de qualidade pode significar uma perda de eficácia ou de segurança, expondo o paciente a um risco desnecessário. Tendo em vista as implicações que o polimorfismo apresenta, faz-se importante seu controle para garantir que o medicamento terá suas características repetidas de maneira uniforme a cada lote de produção.

3.4 *Fármacos Registrados Junto à Anvisa Passíveis de Ocorrência de Polimorfismo*

São vários os fármacos que podem apresentar polimorfismo. Acredita-se que principalmente os barbitúricos, os esteróides e as sulfonamidas apresentem este fenômeno. Há relatos na literatura que, dentre os fármacos destas classes, 63%, 65% e 40% respectivamente, apresentam polimorfismo (BOTTOM, 1999).

Na literatura há uma grande quantidade de artigos de revisão que reúnem uma extensa lista de fármacos que apresentam polimorfismo, sendo a mais atual a apresentada por GIRON em 1995.

A Tabela 3.2 apresenta, dentre os fármacos registrados no Brasil junto à Anvisa até dezembro de 2004, aqueles que apresentam polimorfismo cristalino.

Tabela 3.2 Listagem dos fármacos registrados junto à Anvisa até dezembro de 2004 que apresentam polimorfismo.

Classe Terapêutica	Fármaco	
Amebicida, Giardicida e Tricomonicida	Metronidazol	
Analgésicos não opióides e antitérmicos	ácido acetilsalicílico	paracetamol
Ansiolíticos	cloridrato de buspirona	diazepam lorazepam
Antiagregantes Plaquetários	cloridrato de ticlopidina	
Antialérgicos	dicloridrato de cetirizina	
Antianginoso e Vasodilatador	Nifedipino	pentoxifilina
	Nimodipino	
Antiasmáticos / Broncodilatadores	fumarato de cetotifeno	
Antibacterianos	amoxicilina	cefalexina
	Ampicilina	norfloxacino
	Cefazolina	sulfametoxazol + trimetoprima
Anticonvulsivante	Carbamazepina	
Antidepressivos	cloridrato de amitriptilina	cloridrato de paroxetina
	cloridrato de clomipramina	moclobemida
Antidiabéticos	cloridrato de metformina	glibenclamida
Antieméticos	bromoprida	
Antifúngicos	Cetoconazol	nistatina
Anti-Helmíntico	Mebendazol	
Anti-hipertensivos	captópril	lisinopril
	captópril + hidroclorotiazida	lisinopril+hidroclorotiazida
	cloridrato de propanolol	losartan
	Enalapril	maleato de enalapril + hidroclorotiazida
	Espironolactona	metildopa
	Felodipino	nitrendipino
Antiinflamatórios não esteroidais	Hidroclorotiazida	
	Diclofenaco	tenoxicam
	Piroxicam	
Antiulcerosos	Cimetidina	cloridrato de ranitidina
Diuréticos	cloridrato de amilorida (em associação)	furosemida
Glicocorticóide Sistêmico	Prednisona	

Fonte: Base de dados de medicamentos registrados - Anvisa

3.5 Técnicas Utilizadas Para Detecção do Polimorfismo

São diversas as metodologias que podem ser empregadas na detecção de polimorfos em material sólido cristalino como os fármacos.

Os métodos envolvem principalmente fenômenos ópticos (difratometria de pós por raio-X, infravermelho, microscopia de Raman), térmicos (calorimetria diferencial, termogravimetria, microcalorimetria) e, em alguns casos, a combinação de várias técnicas em um único método. Há outras técnicas que podem ser aplicadas, como a microscopia óptica e a determinação do ponto de fusão que, no entanto, não apresentam a resolução necessária para diferenciar polimorfos de diversos fármacos.

Os principais métodos utilizados para detecção e avaliação do polimorfismo estão descritos a seguir.

2.5.1 Difratometria de pós por raios-X

3.5.1.1 Princípio

A difratometria de pós por raios-X baseia-se na propriedade intrínseca de cada cristal em desviar, em um ângulo específico, a direção dos raios-X emitidos sobre ele. O ângulo de desvio da radiação é único para cada forma do cristal, permitindo assim caracterizá-lo (WEST, 1984). A denotação matemática deste desvio é descrita pela Lei de Bragg.

A denotação matemática que descreve a Lei de Bragg e o princípio da difratometria de pós por raios-X pode ser encontrada em detalhes em WEST (1984) e SCHIELDS (2002).

3.2.1.5 Instrumentação

A instrumentação para difratometria de pós por raios-X é variável de acordo com a radiação a ser utilizada, natureza da amostra e o detector disponível. A Tabela 3.3 trás um resumo destas variáveis.

Tabela 3.3 Diferentes técnicas para Difração de raios-X*.

Comprimento de Onda	Amostra	Detector	Método
Fixo	Pó	Contador	Difratometro
		Filme	Debey-Scherrer
			Guinier
	Cristal	Filme	Rotação (ocilação)
			Weissenberg
			Precisão (Buerger)
	Contador	Difratometro automático	
Variável	Peça sólida	Filme	Laue

* Adaptado de WEST, 1984

De acordo com as técnicas mostradas na Tabela 3.3 para avaliação de fármacos na forma de pós cristalinos, os métodos recomendáveis são os de Debey-Scherrer, de Guinier (filme) ou uso de um detector móvel conectado a um registrador (difratômetro) (WEST, 1984).

Por princípio, a amostra deve estar em forma de pó fino e cristalino. Um raio-X monocromático atinge a amostra, que está circundada pelo detector. Esta amostra irá refletir o raio-X incidentes. O raio refratado será registrado através da gravação em filme (métodos de Debey-Scherrer ou de Guinier) ou pelo detector móvel (difratômetro). O sinal é localizado no filme pelo ângulo de Bragg, representado graficamente como sendo 2θ (WEST, 1984).

A Figura 3.1 mostra um modelo esquemático de um difratômetro de pós por raio-X. Neste modelo o feixe é obtido através de uma fonte emissora de cobre, e sua convergencia é obtida pela colocação de um filtro de níquel entre a fonte de raio-X e a

amostra. A orientação deste filtro curvado é ajustada para que ocorra a transformação do um feixe incidente de divergente para convergente. O detector, um contador de radiação de Gieger móvel, gera um sinal que, lido por programa de computador específico, gera o difratograma (WEST, 1984; WILLARD *et al.*, 1981).

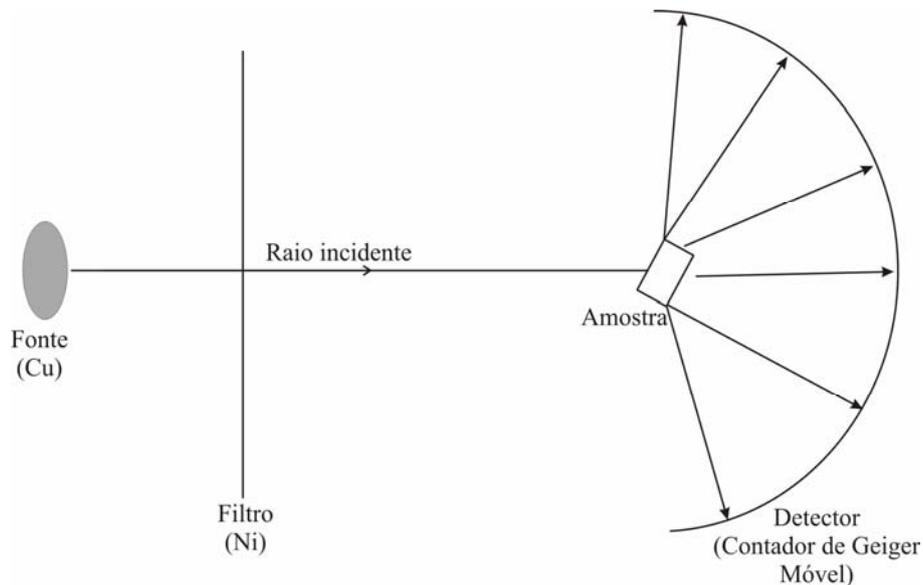


Figura 3.1 Modelo esquemático de um difratômetro de pós por raios-X (WILLARD *et al.*, 1981).

Dos métodos citados o mais utilizado é o de Guinier (método focalizado), que consiste na incidência de um feixe de radiação convergente e intenso, que propicia uma melhor resolução de linhas no filme e a redução do tempo de exposição (de 1 hora para 10 minutos) (WEST, 1984).

3.3.1.5 Aplicabilidade

A difratometria de pós por raio-X é utilizada, entre outras aplicações, para a detecção e quantificação de transformações polimórficas e determinação do estado cristalino de substâncias. Aparentemente, é a mais robusta técnica para diferenciação de duas formas polimórficas de uma mesma substância (BRYN *et al.*, 1995).

3.4.1.5 Vantagens e desvantagens

Uma das grandes vantagens da difratometria de pós por raio-X está na

possibilidade de uma relação linear entre a intensidade dos picos de identificação da forma cristalina e sua concentração, permitindo a quantificação de diferentes polimorfos em misturas com várias formas ou o acompanhamento das transformações polimórficas ou em formas amorfas (hidratadas ou não). Esta propriedade permite sua utilização na avaliação da estabilidade de fármacos, podendo estabelecer seu grau de cristalinidade no decorrer do tempo e em função do estresse aplicado ao mesmo (BRYN *et al.*, 1995; GIRON *et al.*, 1990; STEPHENSON *et al.*, 2001).

Por se tratar de um método de análise no estado sólido, há alguns interferentes que por vezes dificultam o desenvolvimento do método de difratometria de pós por raio-X, especialmente quanto ao limite de detecção. Para a utilização do método visando quantificação de polimorfos é necessário fazer uma validação criteriosa do mesmo a fim de garantir que este seja suficientemente sensível, específico, robusto e reprodutível para as amostras que se pretende analisar (STEPHENSON *et al.*, 2001; GIRON *et al.*, 1990).

A difratometria de pós por raio-X pode apresentar limite de detecção baixo para algumas formas polimórficas, como o caso da fenilbutazona, para a qual foi possível detectar 2 % do polimorfo B em mistura com A (GIRON *et al.*, 1990). No entanto, há relatos na literatura de limites de detecção mais elevados, em torno de 15%. A fim de se alcançar limites de quantificação mais baixos, pode-se modificar a forma de calibração do equipamento, de uma curva horizontal, comumente utilizada, para uma curva ajustada por computador, que pode atingir um limite de detecção de até 0,2%. No entanto, para se conseguir esta calibração de forma eficaz faz-se necessário uma uniformidade no tamanho de partícula do fármaco, o que implica em maior dificuldade na produção industrial do mesmo (BRYN *et al.*, 1995).

3.5.1.5 Registros típicos

Para a determinação da ocorrência de polimorfismo a partir da difratometria de pós por raio-X deve-se proceder a comparação dos difratogramas obtidos da substância padrão e da teste. Neste caso valor de 2θ onde ocorre o registro do sinal é mais importante que a intensidade do sinal, uma vez que este o valor mostra a inclinação do plano do cristal, enquanto a intensidade do sinal nos mostra a distância entre os planos do cristal, desta forma, qualquer sinal diferente em valores de 2θ entre as amostras analisadas pode evidenciar o polimorfismo. Ressalta-se que no estudo de polimorfismo a informação determinante para sua identificação é a forma do cristal, não seus espaços interplanares.

A Figura 3.2 mostra o registro de difratometria de pós por raio-X de dois estados de hidratação da cefipima. Neste caso apresentado por STEPHENSON e colaboradores (2001), pode-se observar a presença de um pseudopolimorfismo através dos picos que surgem em diferentes momentos angulares de 2θ , ou seja, uma amostra apresenta registro em determinados momentos angulares que na outra não se observa nada. Desta forma, pode-se afirmar se pseudopolimorfismo pela informação de partida sobre as amostras de cefipima, porém caso não houvesse nenhuma menção a seu estado de hidratação, poderíamos concluir por um provável polimorfismo.

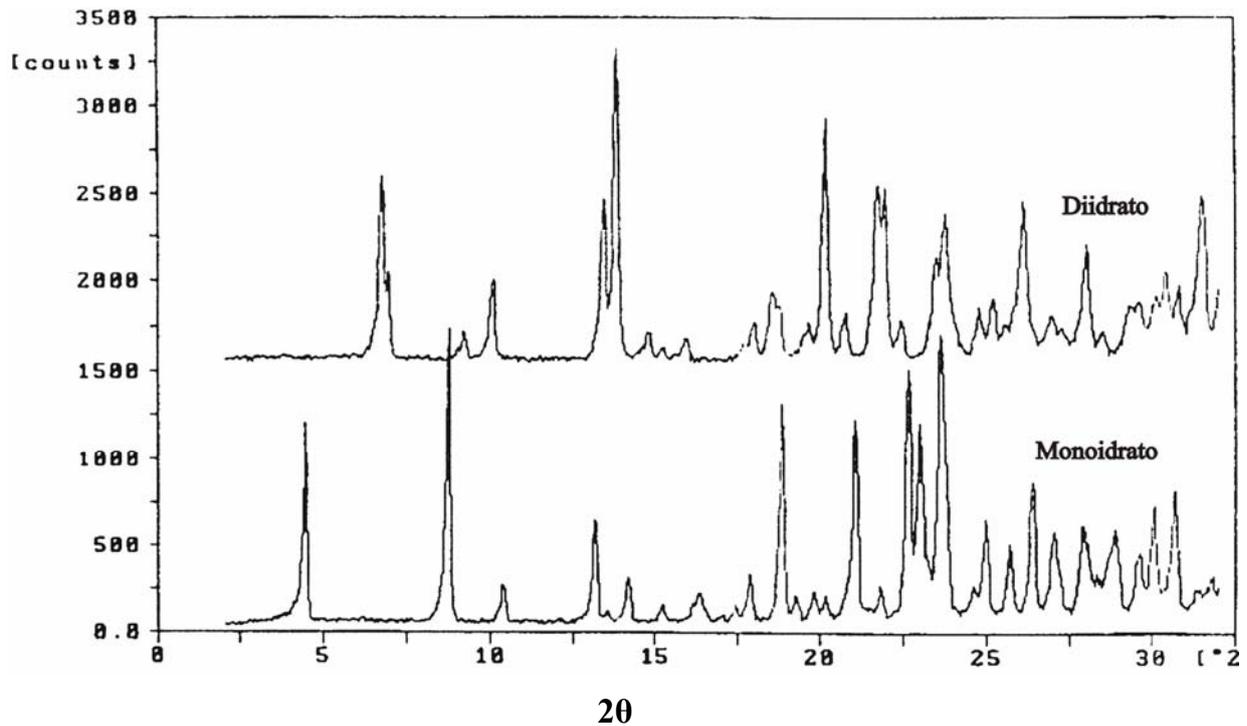


Figura 3.2 Registro de Difratomia de pós por raio-X das fases diidrato e monohidrato de cefipima 2HCl permitindo a quantificação sobre intervalo o angular de 12 a 15° de 2θ (STEPHENSON *et al*, 2001).

A Figura 3.3 mostra um exemplo de difratometria de pós em raio-X com a teofinila na forma pura (monohidratada, anidra e nova forma) e numa formulação com adjuvantes antes (mistura seca) e após a granulação por via úmida e secagem em leito fluidizado. Na comparação das três formas puras pode-se observar o surgimento de diferentes picos provocados pela hidratação (monohidratada e anidra) e pela forma cristalina (anidra e nova forma). Na comparação entre a forma anidra e a nova forma cristalina, os picos assinalados evidenciam a diferença polimórfica entre as duas formas puras do fármaco.

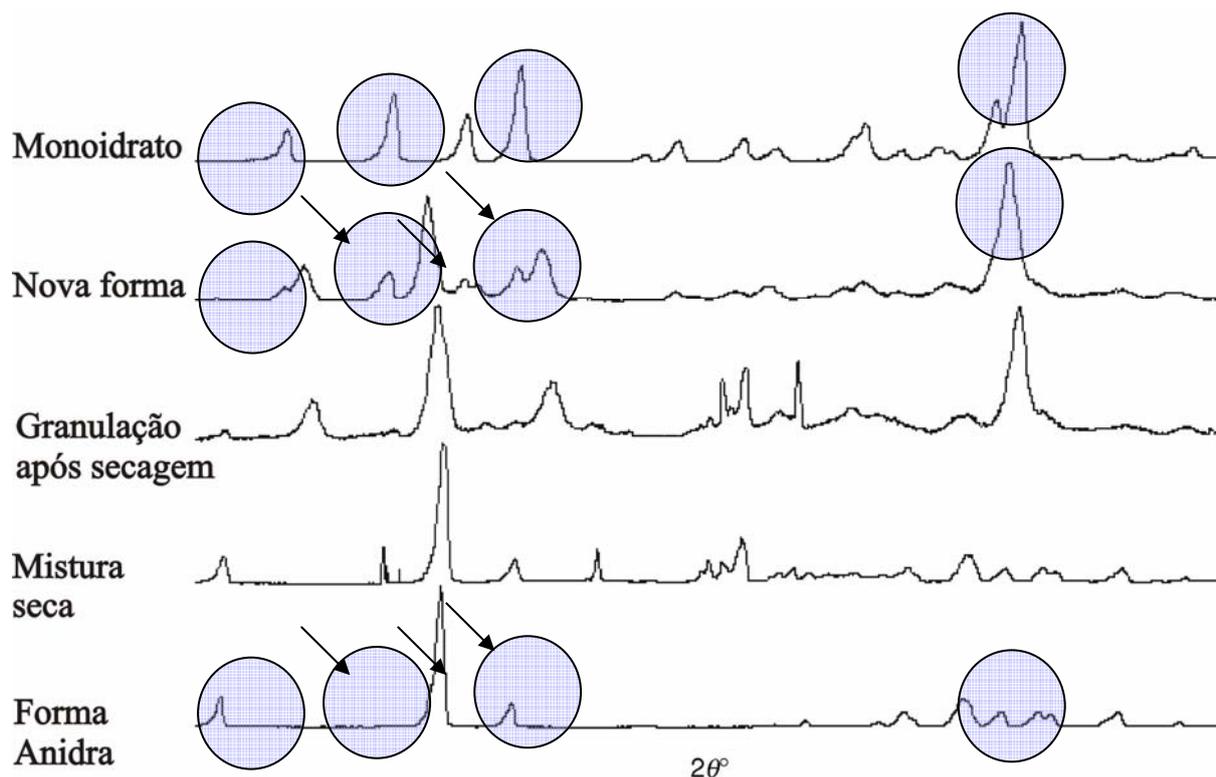


Figura 3.3 Registros de difratometria de pós por raio-X de formas cristalinas puras (monoidrato, nova forma, forma anidra) e uma formulação de teofilina antes (Mistura seca) e depois (granulação via úmida) secagem em leito fluidizado (MORRIS *et al.*, 2001).

A difratometria de pós por raios-X também pode ser útil para monitoração do processo de secagem visando verificar o aparecimento de formas hidratadas ou novas formas cristalinas no granulado. Tal observação pode ser feita a partir dos registros referentes à mistura seca e granulação após secagem em leito fluidizado.

2.5.2 Calorimetria exploratória diferencial (DSC)

3.5.2.1. Princípio

As alterações de estado físico, morfológico ou químico de uma substância em uma determinada faixa de temperatura ocorrem com consumo de energia disponível no sistema (alterações endotérmicas) ou com liberação de energia para o meio (alterações exotérmicas). Baseado nesta propriedade desenvolveu-se o método de calorimetria diferencial (WEST, 1984; FIFIELD & KEALY, 1995; CLAS *et al.*, 1999). Este método consiste no aquecimento, em paralelo, de uma amostra e de um padrão de referência inerte, ambos são submetidos a uma mesma taxa de aquecimento, registra-se a quantidade de calor necessária para manter o aquecimento. Quando ocorrer uma

variação na quantidade de calor fornecida ao sistema em teste (ΔE) é indicada uma transformação térmica na amostra testada (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.2.2. Instrumentação

Há dois tipos de instrumentos de DSC disponíveis no mercado, um que registra a diferença de potência fornecida ao sistema entre a amostra e a substância de referência e outro que mede o fluxo de calor a que as amostras são submetidas (CLAS *et al.*, 1999).

O equipamento de DSC consiste basicamente de um forno de aquecimento com atmosfera controlada para a amostra e para a substância de referência, um registrador que pode medir o fluxo de calor ou a diferença entre potência fornecida aos aquecedores da amostra e da referência e um computador para registro e análise dos resultados obtidos (FIFIELD & KEALY, 1995; CLAS *et al.*, 1999).

O DSC de potência compensada, como mostra a Figura 3.4, apresenta dois fornos individuais, um para amostra (S), outro para referência (R), onde há o fornecimento de energia suficiente para a manutenção da mesma temperatura entre a amostra e o padrão de referência. Este registro é plotado em função da temperatura da amostra (FIFIELD & KEALY, 1995; CLAS *et al.*, 1999).

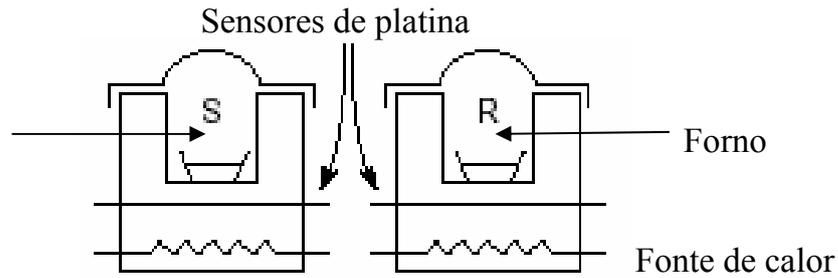


Figura 3.4 Diagrama esquemático de um DSC de potência compensada com duplo forno (CLAS *et al.*, 1999).

O DSC de fluxo de calor, apresentado na Figura 3.5, é constituído por um forno único, e o fluxo de calor na amostra e no material de referência é fornecido através de um disco termoelétrico aquecido de forma constante. O fluxo de calor é proporcional à diferença em uma saída de duas junções do termopar (CLAS *et al.*, 1999).

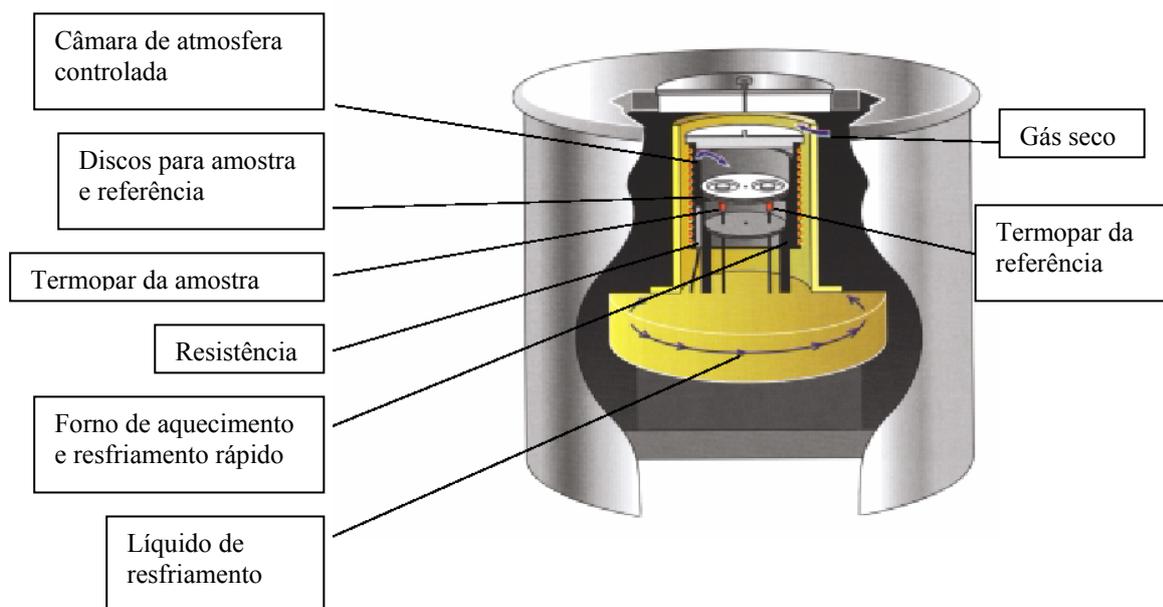


Figura 3.5 Diagrama esquemático do DSC de fluxo de calor modelo Pyris 6 (PerkinElmer, 2003).

3.5.2.3. Aplicabilidade

O DSC pode ser utilizado para análises qualitativas (exo ou endotermas) e quantitativas das amostras por integração da área sob a curva no registro. O DSC pode ser utilizado para substâncias inorgânicas, orgânicas, polímeros, fármacos, aditivos alimentares e espécimes biológicos. Utilizam-se amostras acima de 1 mg, porém podendo-se realizar a determinação com amostras menores. Pode ser utilizado também para caracterização ou estimação de pureza da amostra pelo estudo da fusão da mesma. Aplica-se também ao estudo de cinética de reações pela medição das modificações de entalpia das mesmas (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.2.4. Vantagens e desvantagens

Consiste em um método consagrado, versátil e que lança mão de pequenas quantidades de analito para ser desenvolvido. Sua principal desvantagem está no fato de, em alguns momentos, resultar em registros de difícil interpretação ou o surgimento de falsos resultados (positivos ou negativos para polimorfismo) (BRYN *et al.*, 1995).

3.5.2.5. Registros típicos

O registro do DSC, denominado termograma, é um registro que mostra fenômenos endo e exotérmicos. Deve-se atentar a orientação dos registros, que sempre é disposta no termograma através de sinalização de direcionamento de fenômenos endo e exotérmicos.

A Figura 3.6 mostra um termograma obtido de uma amostra de 15 mg de sulfapiridina aquecida a velocidade de 5° C/min. Este registro foi obtido em duas corridas. O traçado superior, referente à primeira corrida, mostra uma modificação estável da sulfapiridina em seu ponto de fusão, que é de 191° C. Na segunda corrida podem ser observados vários fenômeno térmicos, conforme indicado no próprio termograma. Em torno de 60 °C pode-se verificar a transição vítrea da amostra, aproximadamente aos 100 °C há uma cristalização, seguida de uma transição monotrópica sólido-sólido (sem degradação). Tais fenômenos são caracterizados por

serem exotérmicos, enquanto a fusão ou a degradação são caracterizadas por serem fenômenos endotérmicos.

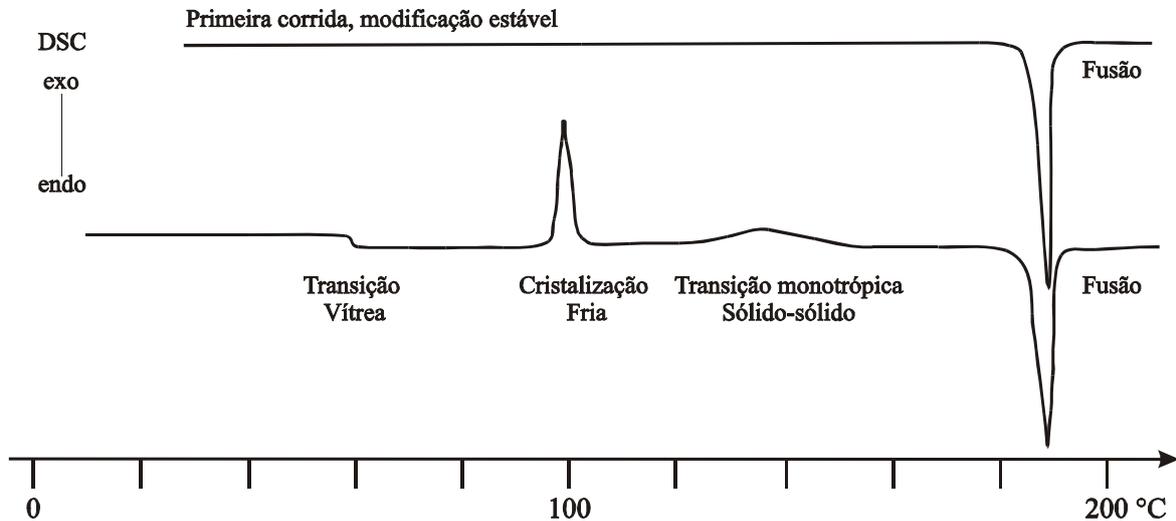


Figura 3.6 Registro de DSC de 15 mg de sulfapiridina aquecida à velocidade de 5 °C/min. O ponto de fusão da forma estável é de 191 °C (Primeira corrida). Segunda corrida: Observa-se uma transição monotrópica sólido-sólido (PERRENOT & WIDMAN, 1994).

As transições sólido-sólido também podem se apresentar como transições endotérmicas, conforme pode se observar no termograma da sulfa apresentado na Figura 3.7. Neste termograma podem-se observar outros fenômenos, como uma polimerização no primeiro aquecimento, uma despolimerização e posterior recristalização a frio durante o resfriamento (traçado inferior).

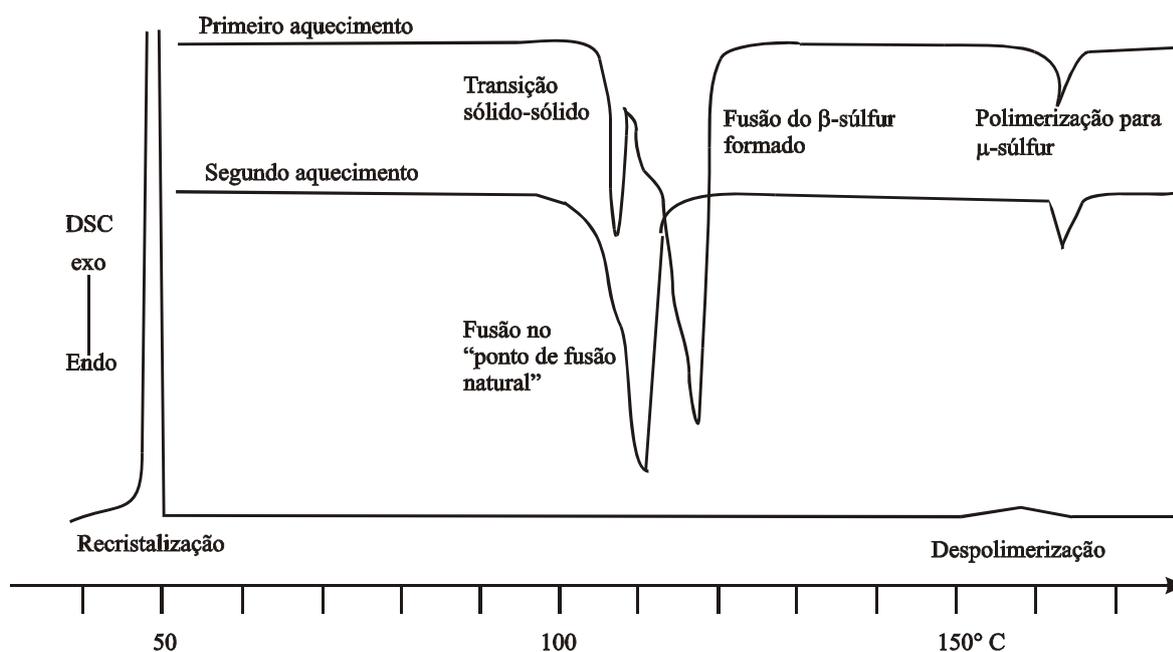


Figura 3.7 Registro de DSC de sulfua em pratos de alumínio. Primeiro aquecimento com velocidade de 5° C/min, resfriamento até 30° C a velocidade de 1° C/min, e segundo aquecimento a velocidade de 5° C/min (PERRENOT & WIDMAN, 1994).

No caso de análise de fármacos onde está estabelecida uma forma estável a ser utilizada a comparação a ser feita é sempre do traçado do termograma teste frente a um registro padrão. A ocorrência de transições monotrópicas, cristalizações, polimerizações, e fusões diferentes ou em temperaturas diferentes são fortes indícios da ocorrência de duas diferentes formas polimórficas.

3.5.3. Termogravimetria (TG)

3.5.3.1. Princípio

Consiste no estudo da modificação da massa diante de uma variação de temperatura em ambiente de atmosfera controlada (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.3.2. Instrumentação

O aparelho consiste de uma balança sensível que contém a amostra dentro de um forno onde a temperatura pode ser precisamente controlada e programada. O forno deve apresentar a possibilidade de controle da atmosfera onde a amostra será colocada. O registro é feito por meio de um registrador eletrônico de variação de massa, onde será possível proceder a integração e derivação das curvas obtidas graficamente (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.3.3. Aplicabilidade

A termogravimetria pode ser aplicada na análise qualitativa e quantitativa de uma grande gama de amostras, especialmente materiais inorgânicos e polímeros, estudos de cinética quando a variação de massa pode ser atribuída a uma reação específica e estudos de reações químicas, volatilização, adsorção e dessorção (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.3.4. Vantagens e desvantagens

Esta técnica permite apenas ensaios de amostras onde há variação de massa, não sendo possível estudar fenômenos que envolvam fusão e modificação de fase cristalina. Registros complexos dificultam a interpretação dos dados obtidos (FIFIELD & KEALY, 1995). Este método é bastante útil quando se trata da análise de uma mistura entre polimorfos e hidratos (BRYN *et al.*, 1995).

3.5.3.5. Registros típicos

Como já mencionado anteriormente, o registro da termogravimetria mostra alterações de massa em função da variação da temperatura. A Figura 3.8 registra a distinção entre duas formas diferentes de hidratação da molécula. Seus comportamentos de perda de massa em função da temperatura permitem a aplicação desta técnica. Na Figura 3.9 observa-se um fenômeno semelhante, que é da perda de massa do sal malonato quando submetido a aquecimento, enquanto a Figura 3.10 mostra o comportamento de um acetato quando aquecido. Nota-se que a

termogravimetria não se mostra uma técnica útil para a detecção do polimorfismo cristalino, porém é bastante útil quando combinada a outras técnicas termoanalíticas para uma melhor elucidação de seus registros. Nas Figura 3.9 e Figura 3.10 o autor procedeu em paralelo à termogravimetria outros ensaios para concluir que a perda de massa apresentada pode ser atribuída a degradação da molécula e não a perda de água em seus estados de hidratação. Enfatiza-se que este método é útil para a diferenciação de pseudo-polimorfos, cujo diferencial é o estado de hidratação ou solvatação. Portanto, torna-se um método útil para distinguir o polimorfismo do pseudo-polimorfismo (BRYN *et al.*, 1995; GIRON, 2003).

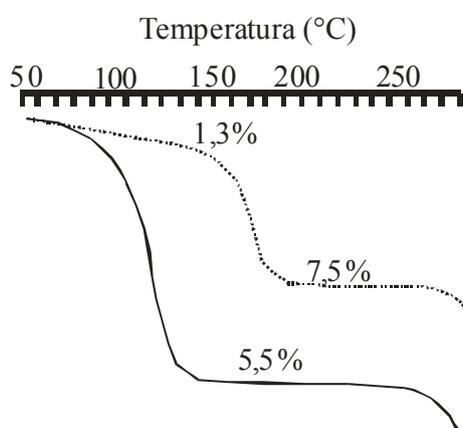


Figura 3.8 Registro de termogravimetria que distingue um solvato (traçado superior) de um hidrato (traçado inferior) (GIRON, 1998a).

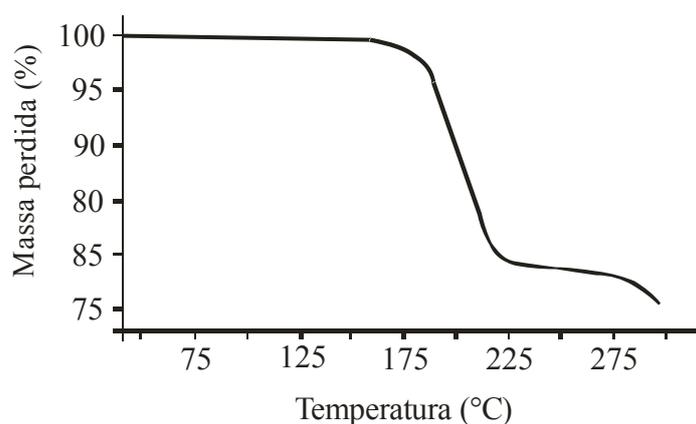


Figura 3.9 Registro de termogravimetria do sal malonato (GIRON, 2003).

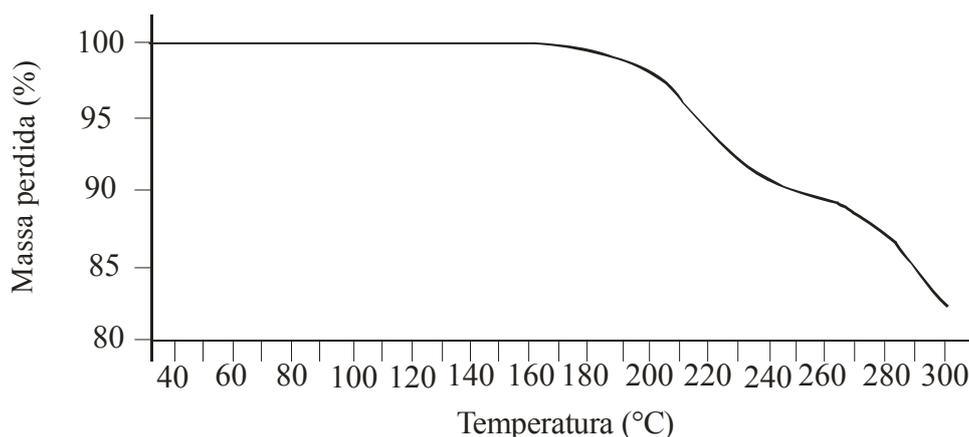


Figura 3.10 Registro de termogravimetria de um acetato que perde o ácido acético por fusão - pKa da base 7,2 (GIRON, 2003).

3.5.4. Ressonância Magnética Nuclear no Estado Sólido (RMN)

3.5.4.1. Princípio

A ressonância magnética nuclear baseia-se na absorção de radiação na região da radio frequência do espectro eletromagnético que resulta em modificação na orientação do *spin* do núcleo quando submetido a um campo magnético (FIFIELD & KEALY, 1995).

A ressonância magnética nuclear consiste em submeter um núcleo, cujo *spin* seja diferente de zero, a um campo magnético e detectar o seu momento magnético, ou sua ressonância magnética. Como cada núcleo tem um momento diferente, pode-se definir que tipo de ligação química aquele núcleo está realizando. As duas técnicas mais importantes e mais utilizadas na química orgânica são a ressonância magnética nuclear de prótons e de carbono 13.

3.5.4.2. Instrumentação

A Figura 3.11 apresenta um diagrama típico de um espectrômetro de RMN de onda contínua ou de varredura. O campo magnético é estabelecido por um magneto permanente ou um eletroímã cujo campo varia de 1 a 14,1 T. A amostra é colocada em tubos de vidro longos e delgados (em geral de 5 mm de diâmetro) que são colocados em uma câmara entre os pólos do magneto. A aparente homogeneidade do campo é dada pela rápida rotação do tubo com a amostra obtida por meio de ar soprado por uma

turbina. Em torno dos pólos do magneto há bobinas de varredura que são acionadas por corrente variável, o que as permite executar uma varredura no espectro pela variação do campo magnético em um pequeno intervalo. Neste caso, o transmissor de radiofrequência trabalha em frequência fixa, geralmente em valores entre 60 e 200 MHz. O receptor de radiofrequência lê as variações e a transmite para um registrador. O registro pode ser feito por um osciloscópio ou por meio de programa de computador apropriado (FIFIELD & KEALY, 1995).

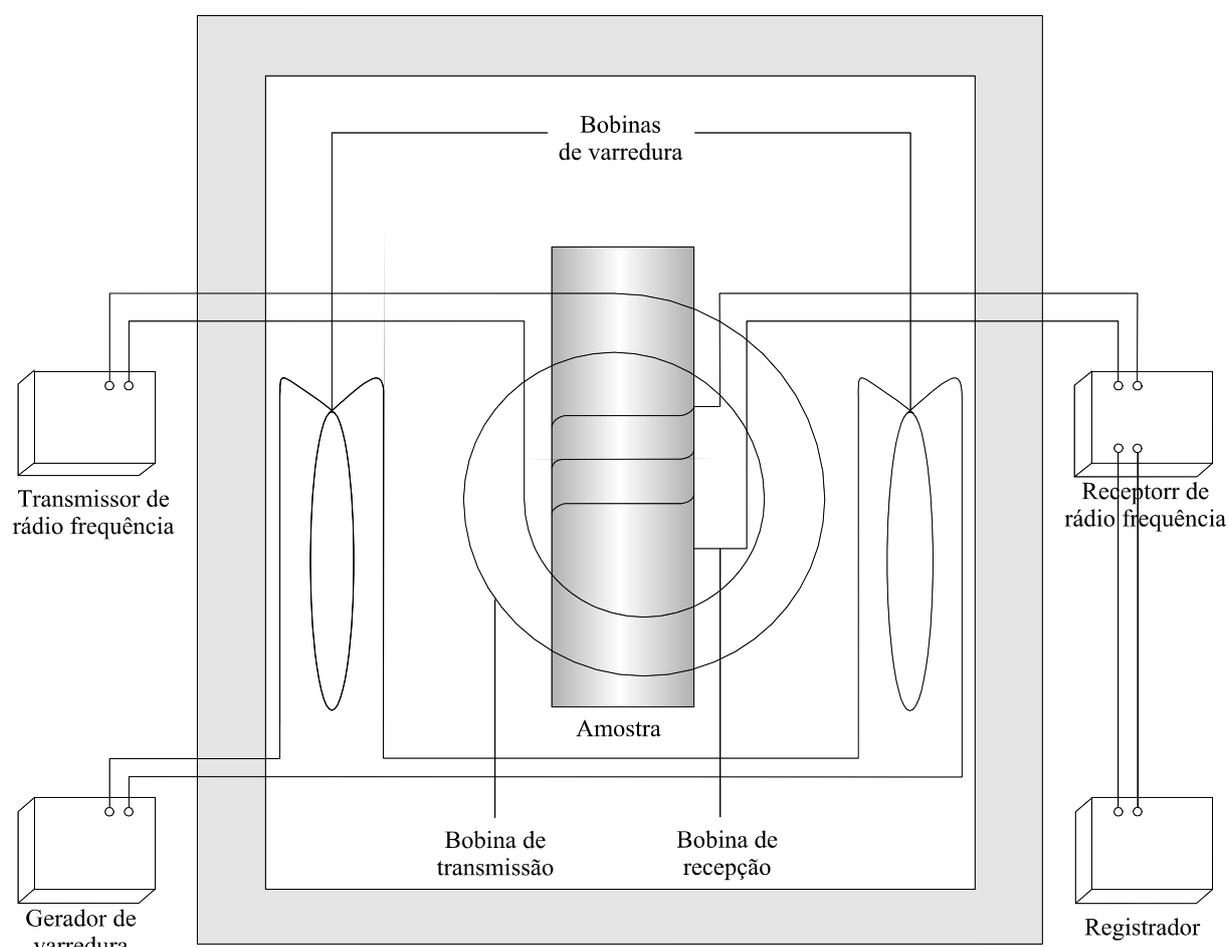


Figura 3.11 Diagrama esquemático de um espectrômetro de RMN de onda contínua (FIFIELD & KEALY, 1995).

3.5.4.3. Aplicabilidade

Para a pesquisa de polimorfos, a melhor técnica é a RMN, pois tem capacidade de diferenciar estruturas sólidas, especialmente quando se utilizam espectros de ^{13}C . A resolução do espectro, que é em geral duas vezes menor que da RMN em solução, é suficiente para diferenciação de polimorfos (YU *et al.*, 1998).

3.5.4.4. Vantagens e desvantagens

A RMN é uma técnica absoluta onde a intensidade do sinal é proporcional ao número de núcleos, o que provê condições apropriadas para uma boa sensibilidade do método. A RMN não é muito sensível a alterações de superfície, o que a torna uma boa metodologia para análise de produtos estocados. No entanto, há ocorrência de uma gama de erros em estudos quantitativos em amostras no estado sólido (BRYN *et al.*, 1995).

3.5.4.5. Registros típicos

Como em outros métodos analíticos, para utilizar o RMN na determinação de uma estrutura cristalina deve-se ter o registro de referência para a forma polimórfica que se deseja para então comparar os espectros das amostras teste em busca de diferenças que mostrem a possibilidade de polimorfismo.

A Figura 3.12 nos mostra espectros em ^{13}C da carbamazepina na forma anidra (i) e diidrato (ii). Pode-se observar a diferença entre os registros. Em (ii) não ocorre um sinal em torno de 120 ppm que aparece em (i) (STHEPENSON *et al.*, 2001).

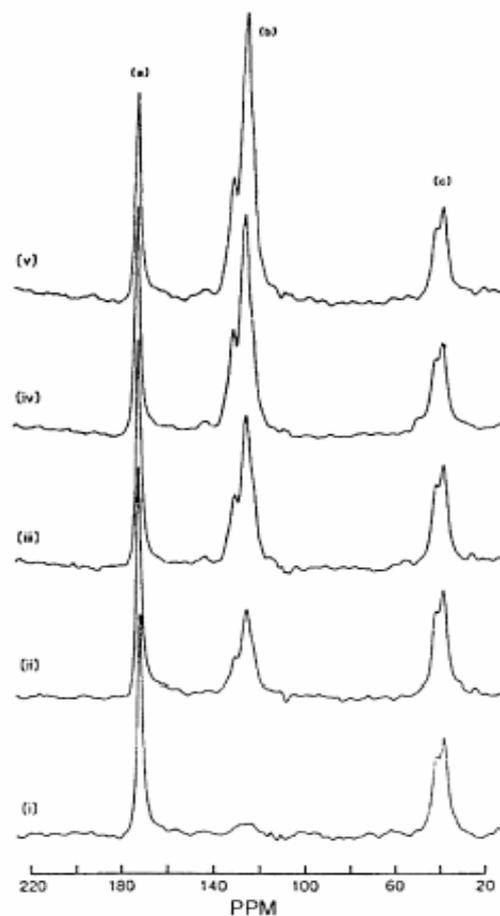


Figura 3.12 Espectro em ¹³C de mistura de carbamazepina anidra (i), diidrato (ii), e glicina (padrão de referência interno) (STHEPENSON *et al.*, 2001).

A Figura 3.13 mostra o espectro de RMN dos polimorfos A e B do fármaco ORG 13011. Pode-se observar nas faixas destacadas as diferenças de sinais, tanto quanto a amplitude quanto a intensidade dos sinais. Tais diferenças são evidências de polimorfismo.

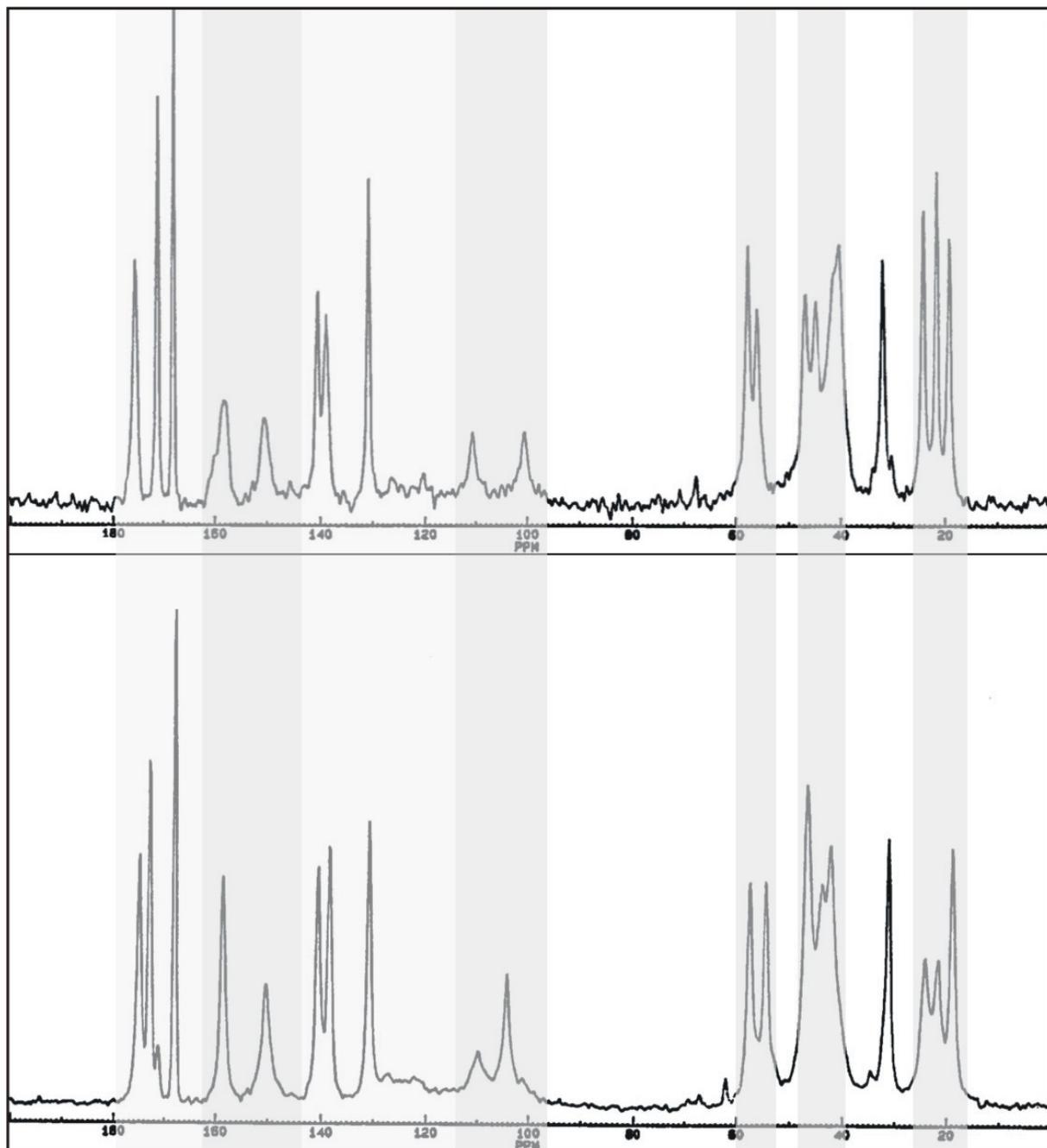


Figura 3.13 Espectro de RMN no estado sólido dos polimorfos A e B do fármaco ORG 13011 (van HOOF *et al.*, 2002).

3.5.5. Calorimetria em Solução

3.5.5.1. Princípio

A calorimetria em solução permite investigar processos que envolvem modificações de entalpia através de microcalorímetros, que permitem uma determinação precisa do calor da solução (GIRON, 1995).

Duas formas cristalinas da mesma substância apresentam energias latentes diferentes. Tal diferença de energia pode ser mensurada se tais formas forem aquecidas na presença de um sistema de solventes qualquer, o que será refletido em diferentes perfis de aquecimento para cada forma cristalina. A diferença no aquecimento da solução será igual à diferença da energia latente entre os sólidos, desde que estes sejam comprovadamente a mesma substância (GIRON, 1995).

3.5.5.2. Instrumentação

O calorímetro consiste basicamente de uma cuba onde a solução será aquecida, de um eixo rotor onde será colocada a amostra, e uma polia que conecta o eixo ao motor, além de termopares e detectores para controle do aquecimento e registro do fluxo de calor para a solução. A Figura 3.14 nos mostra o corte do calorímetro de solução modelo 6755 da marca Parr (PARR, 2004) onde se podem visualizar algumas das principais partes estruturais do equipamento. A análise de dois diferentes polimorfos dá-se em duas etapas. Cada forma será aquecida separadamente. Uma vez determinada a entalpia de cada solução, os valores são comparados. Se diferentes pode-se concluir que há diferença entre as energias latentes dos sólidos, portanto há diferentes formas cristalinas.

O dado de saída do equipamento é a taxa de aquecimento, dada pelo diferencial do calor pelo tempo de análise (dq/dt). Calorímetros em solução podem ser usados nos modos adiabático ou isoperibólico em microcalorímetros com temperatura constante (GIRON, 2003).

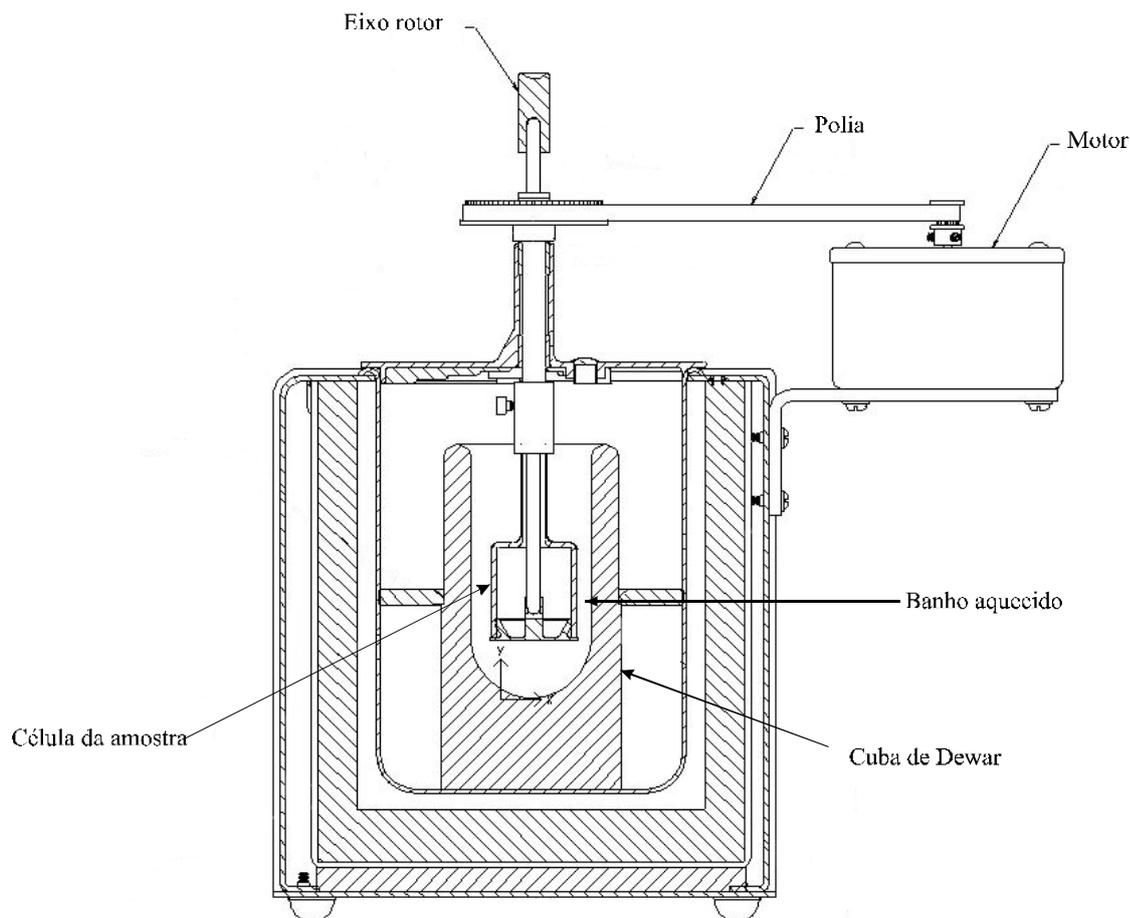


Figura 3.14 Modelo em corte do calorímetro em solução TA11 modelo 0755 (TAI, 2007).

3.5.5.3. Aplicabilidade

Esta metodologia aplica-se a investigação de polimorfismo, pseudo-polimorfismo e determinação do grau de cristalinidade da substância (GIRON, 2002).

3.5.5.4. Vantagens e desvantagens

Trata-se de uma técnica complementar ao DSC, podendo detectar fenômenos de energia muito baixa, imensuráveis no DSC (GIRON, 2002).

3.5.5.5. Registros típicos

Da mesma forma que o DSC, a microcalorimetria registra diferenças de entalpia que a substância sofre com o calor submetido. Na Figura 3.15 a diferença de entalpia que pode se observar entre duas formas distintas. Neste caso observa-se que o perfil de uma substância cristalina é diferente de uma forma amorfa. O mesmo pode ser observado quando diante de um registro de microcalorimetria em um caso de polimorfismo clássico.

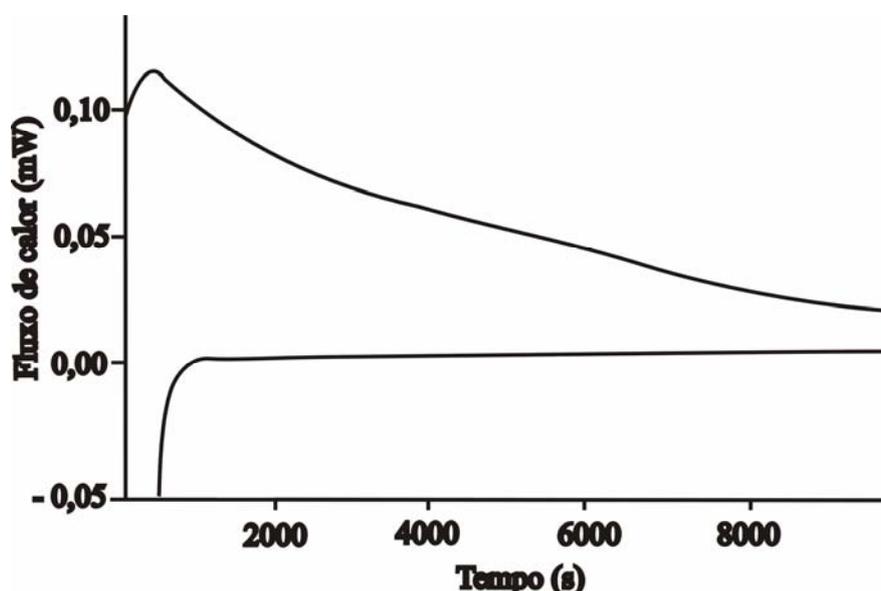


Figura 3.15 Varredura Microcalorimétrica utilizada para comparar a forma amorfa com (registro superior) e a forma cristalina (registro inferior) de uma substância (GIRON, 1998b).

3.5.6. Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier

3.5.6.1. Princípio

A espectroscopia em infravermelho baseia-se na exposição do analito a uma radiação eletromagnética de comprimento de onda na região do infravermelho, mensurando a absorção desta radiação pela molécula em análise. Esta absorção resulta de modificações na energia vibracional da molécula em um determinado momento dipolar, o que permite identificar o tipo de ligação presente (FIFIELD & KEALY, 1995). A transformada de Fourier (FT-IR) utiliza-se do mesmo princípio da espectroscopia em infravermelho, ou seja, diferindo apenas no domínio onde o

espectro é mensurado. A transformada de Fourier é uma função matemática que converte o domínio do tempo para o domínio da frequência (EVANS, 2004).

A transformada de Fourier é dada pela seguinte equação:

$$w(x) = \frac{2I(x) - I(o)}{\sqrt{2\pi}} = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\infty} G(k)e^{ikx} dk \quad (3.1)$$

A intensidade detectada, $w(x)$, como uma função da movimentação do espelho, $I(x)$, pode ser convertida em $G(k)$, ou seja, intensidade do espectro em função da frequência, pela aplicação da transformada de Fourier. Tal operação matemática permite a conversão de um interferograma simples para um espectro onde se podem visualizar as alterações de absorção da radiação em um espectro variável de luz no infravermelho (MARTIN, 2001).

3.5.6.2. Instrumentação

A Figura 3.16 apresenta uma representação esquemática de um espectrômetro de infravermelho simples. O aparelho consiste em um emissor de laser e uma fonte de luz no infravermelho que produzem a energia eletromagnética na zona do infravermelho, o interferômetro que separa os raios por faixa de comprimento de onda, um jogo de espelhos que conduz a luz para a amostra, e por fim um detector e um mecanismo computadorizado de registro e tratamento dos sinais. Instrumentalmente o que difere o espectrômetro de infravermelho para um FT-IR é o detector e como ele trata o sinal recebido.

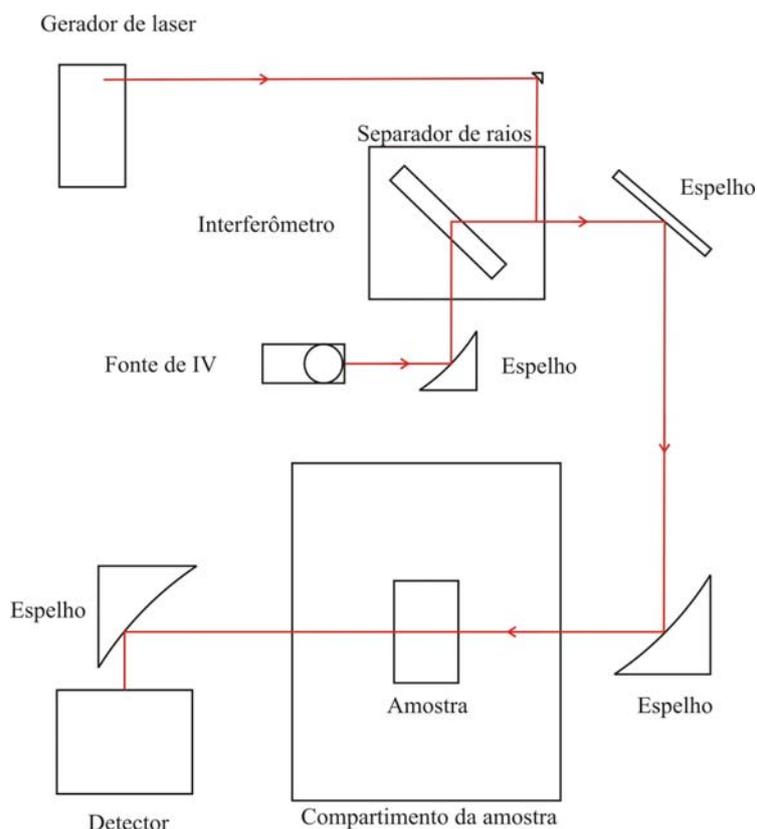


Figura 3.16 Representação esquemática de um espectrômetro simples (MARTIN, 2001).

3.5.6.3. Aplicabilidade

Esta técnica tem uma vasta aplicabilidade, podendo ser utilizada nas mais diversas áreas da química analítica. Dentro do campo das ciências farmacêuticas, o ponto de maior aplicação desta é ligado ao controle de qualidade de fármacos, já que esta metodologia permite identificar moléculas com uma boa margem de segurança, uma vez que o resultado é único para cada substância existente, a exceção dos isômeros ópticos, que apresentam os mesmos espectros (USP 25, 2002).

3.5.6.4. Vantagens e desvantagens

Ao contrário da análise por infravermelho convencional, que não apresenta uma boa capacidade de detecção de algumas transformações, mostrando registros bem semelhantes, a espectroscopia em infravermelho com transformada de Fourier pode diferenciar claramente polimorfos e hidratos em uma mistura ternária ou com maior número de componentes. No entanto, em alguns casos deve-se considerar outros métodos, uma vez que os registros podem ser bem parecidos, gerando confusão

(BRYN *et al.*, 1995).

3.5.6.5. Registros típicos

O FT-IR é extensamente utilizado na área do controle de qualidade, especialmente em ensaios de identificação de matérias primas, pois, para cada molécula, há um espectro diferente que a identifica. Tal identidade única também ocorre com relação ao polimorfismo e ao estado de hidratação da molécula. A Figura 3.17 apresenta três diferentes espectros para as formas I, II e III do cloridrato de propranolol. As formas I e II são distinguíveis em todas as frequências do espectro, enquanto as formas I e III podem ser diferenciadas nas regiões de *fingerprint* da molécula (BARTOLOMEI, 1998).

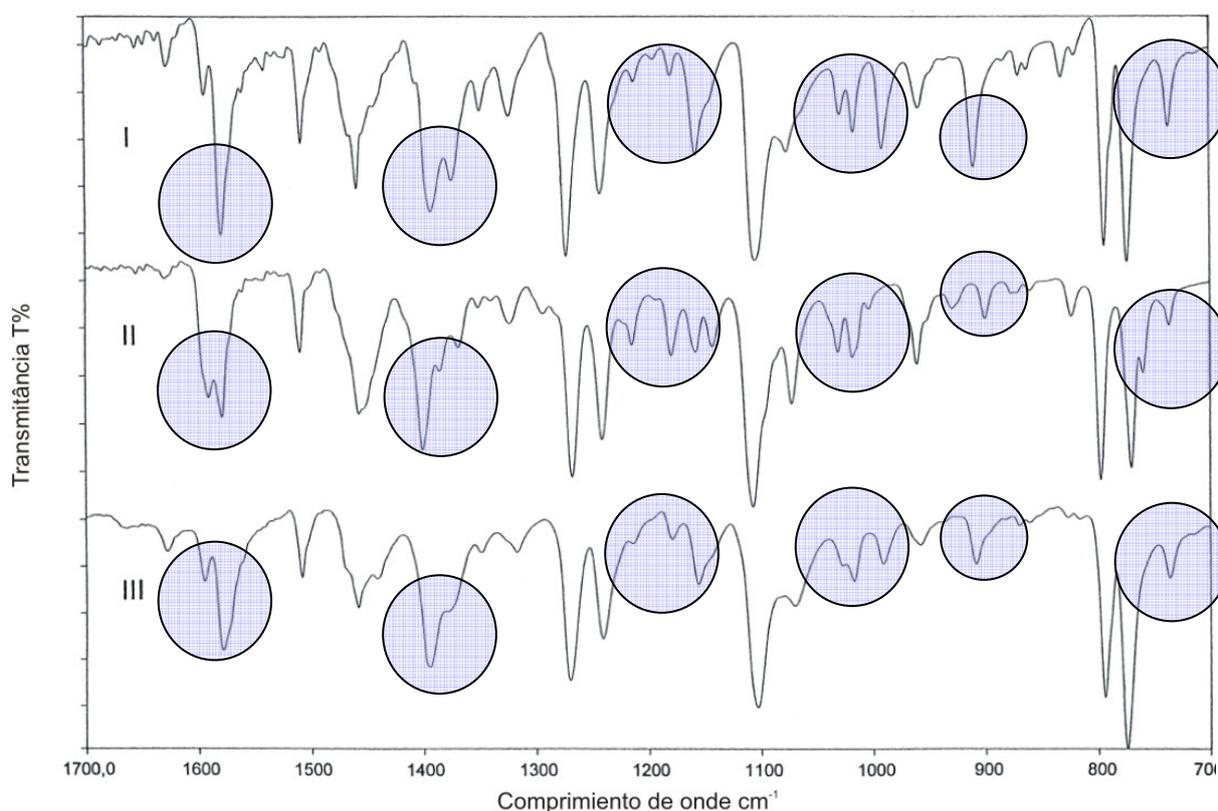


Figura 3.17. Espectro FT-IR da região de identificação dos polimorfos I, II e III do cloridrato de propranolol armazenados à temperatura ambiente (BARTOLOMEI, 1998).

3.5.7. Espectroscopia de Raman em infravermelho

3.5.7.1. Princípio

A espectroscopia de Raman está baseada na deflexão inelástica de radiação monocromática em meio molecular (LASERNA, 2001). O princípio básico desta deflexão é do efeito de Raman, descoberto pelo cientista Sir C. V. Raman, em 1928, que consiste em: “Se um ou mais dos modos de vibração de uma molécula envolver modificações na sua polarizabilidade, então a radiação defletida contém a frequência vibracional superposta à frequência de incidência da radiação” (WILLAR *et al.*, 1981).

Este fenômeno descrito por Raman pode ser considerado um fenômeno quântico, uma vez que para que ocorra a deflexão da radiação em frequência diferente da incidente, é necessário que ocorra deformação maior na nuvem eletrônica da molécula em uma extremidade da vibração que na outra (WILLAR *et al.*, 1981).

Boa parte das colisões dos fótons com a molécula polarizada são colisões elásticas, provocando a deflexão de Rayleigh, que ocorre na mesma frequência de vibração do feixe incidente. No entanto uma pequena parte das moléculas da amostra (aproximadamente 10^{-6} ou menos) quando excitadas e polarizadas defletem a radiação em frequência diferente e em nível de energia menor que o emitido. A diferença na frequência é igual à frequência de vibração natural da molécula no estado de repouso. Muitos destes registros (linhas de Stokes) são observados no espectro de Raman, correspondendo a diferentes vibrações na molécula. Este efeito provê um detalhado espectro vibracional da molécula (WILLAR *et al.*, 1981).

Algumas moléculas inicialmente absorvem a radiação quando estão no estado de excitação vibracional e decaem para um nível energético menor, então a frequência de Raman é maior que da radiação incidente. Estas são as linhas anti-Stokes. Portanto, o espectro de Raman é composto pelas linhas Stokes e anti-Stokes. Normalmente só as linhas Stokes são consideradas para análise química (WILLAR *et al.*, 1981).

3.5.7.2 Instrumentação

O espectrofotômetro a laser de Raman, mostrado na Figura 3.18, consiste em duas unidades básicas: a fonte de laser e o espectrômetro. O feixe de laser entra pela parte posterior no espectrômetro na unidade autogravadora de despolarização, em seguida atinge a amostra. A deflexão de Raman é detectada a 90° do feixe de laser, focalizada em uma lente focal de 0,5 mm, então levada ao detector onde o sinal é recolhido e levado ao computador para registro (WILLAR *et al.*, 1981; LASERNA, 1996).

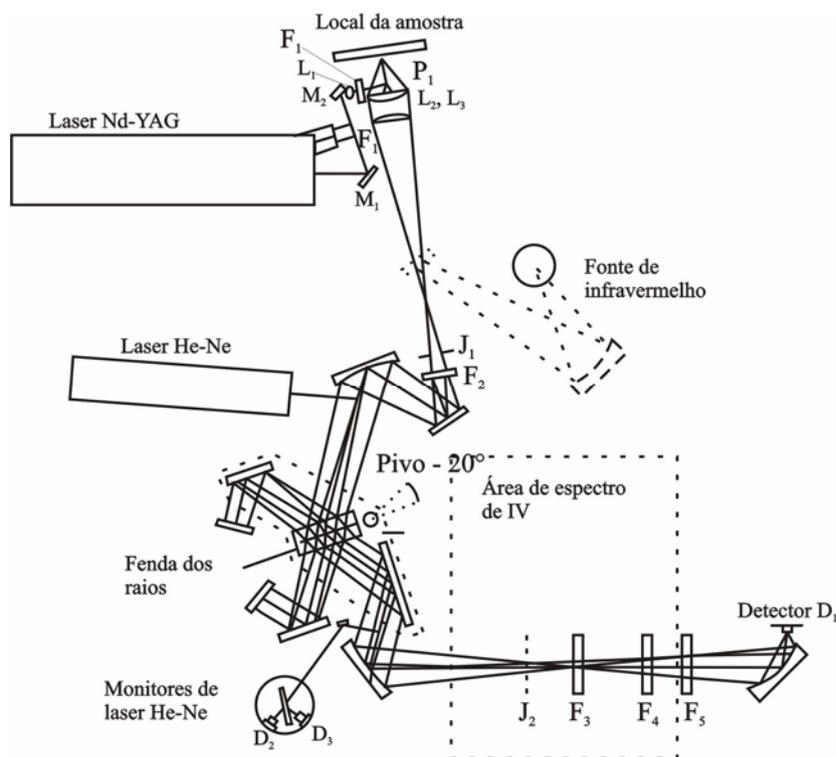


Figura 3.18. Diagrama óptico de espectrômetro de Raman com transformada de Fourier. M = espelhos, F = filtros de laser, L = lentes, P = prisma. (LASERNA, 1996).

3.5.7.3. Aplicabilidade

A literatura quanto à aplicabilidade desta técnica é bem vasta, e constitui-se em uma técnica difundida para a avaliação do polimorfismo de fármacos.

3.5.7.4. Vantagens e desvantagens

Em comparação com o FT-IR, a espectroscopia de Raman apresenta maior poder para detecção de polimorfos e para análises quantitativas, devido a menor largura das bandas de leitura. Porém deve haver um rígido controle da homogeneidade da amostra, devido ao pequeno intervalo de excitação utilizado na espectroscopia de Raman (STEPHENSON *et al.*, 2001).

3.5.7.5. Registros típicos

A Figura 3.19 mostra o registro do espectro de Raman das quatro formas polimórficas encontradas do fármaco Org 13011. As diferenças no registro entre cada polimorfo pode ser percebida nas regiões do espectro em torno de 3000 cm^{-1} e abaixo de 1500 cm^{-1} , conforme assinalado na Figura 3.19. A caracterização de uma forma polimórfica a partir deste registro dá-se pelo aparecimento de sinais diferentes no mesmo comprimento de onda.

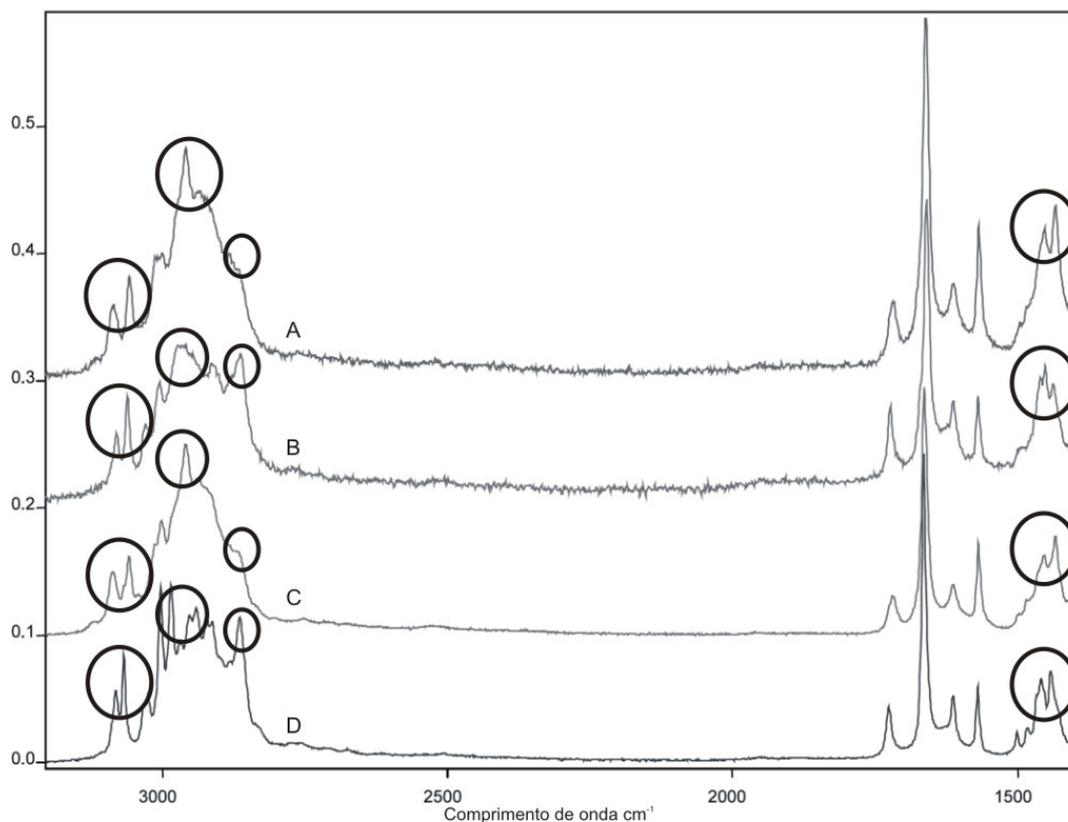


Figura 3.19 Espectro de Raman (região espectral de 1400 a 80 cm^{-1}) dos polimorfos A, B, C e D (van HOOF *et al.*,2002).

3.5.8. Técnicas combinadas

As técnicas combinadas consistem basicamente da associação entre os diversos métodos já abordados anteriormente.

A associação mais comum é da termogravimetria com o DSC, onde há disponibilidade de equipamentos que executam as duas medições simultaneamente. Outros casos de associação entre métodos espectrométricos com métodos de termoanálise também existem, porém com análise seqüencial.

A vantagem do uso de técnicas combinadas está na eliminação de fatores que podem confundir o analista e da melhoria na exatidão da análise. As principais desvantagens para utilização de técnicas combinadas são o alto custo dos equipamentos, bem como de manutenção dos mesmos, além da escassez de variedade de técnicas combinadas disponíveis comercialmente.

Tabela 3.4 Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo

Técnica	Aplicabilidade	Vantagem	Desvantagem	Referência
Difratometria de pós por raio-X	Detecção e quantificação de transformações polimórficas e determinação do estado cristalino de substâncias.	A possibilidade da quantificação de diferentes polimorfos em misturas com várias formas ou o acompanhamento das transformações polimórficas ou em formas amorfas (hidratadas ou não).	Limite de detecção variável	BRYN <i>et al.</i> , 1995; GIRON <i>et al.</i> , 1990; STEPHENSON <i>et al.</i> , 2001

Tabela 3.4 Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo (Continuação)

Técnica	Aplicabilidade	Vantagem	Desvantagem	Referência
Calorimetria exploratória diferencial (DSC)	<ul style="list-style-type: none"> • Análises qualitativas (exo ou endotermas) e quantitativas • Substâncias inorgânicas, orgânicas, polímeros, fármacos, aditivos alimentares e espécimes biológicos. • Amostras pequenas • Perfil de pureza • Estudo de cinética de reações 	Método consagrado, versátil e que lança mão de pequenas quantidades de analito para ser desenvolvido.	Resultar em registros de difícil interpretação ou o surgimento de falsos resultados (positivos ou negativos para polimorfismo)	BRYN <i>et al.</i> , 1995; FIFIELD & KEALY, 1995

Tabela 3.4 Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo (Continuação)

Técnica	Aplicabilidade	Vantagem	Desvantagem	Referência
Termogravimetria (TG)	Análise qualitativa e quantitativa principalmente de materiais inorgânicos e polímeros, estudos de cinética quando a variação de massa pode ser atribuída a uma reação específica e estudos de reações químicas, volatilização, adsorção e dessorção.	Este método é bastante útil quando se trata da análise de uma mistura entre polimorfos e hidratos	Esta técnica permite apenas ensaios de amostras onde há variação de massa, não sendo possível estudar fenômenos que envolvam fusão e modificação de fase cristalina. Registros complexos dificultam a interpretação dos dados obtidos.	BRYN <i>et al.</i> , 1995 FIFIELD & KEALY, 1995

Tabela 3.4 Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo (Continuação)

Técnica	Aplicabilidade	Vantagem	Desvantagem	Referência
Ressonância magnética nuclear no estado sólido (RMN)	Para a pesquisa de polimorfos e caracterização da substância	A RMN é uma técnica absoluta. A RMN não é muito sensível a alterações de superfície, o que a torna uma boa metodologia para análise de produtos estocados.	Erros em estudos quantitativos em amostras no estado sólido	BRYN <i>et al.</i> , 1995 YU <i>et al.</i> , 1998
Calorimetria em solução	Investigação de polimorfismo, pseudo-plimorfismo e determinação do grau de cristalinidade da substância	Trata-se de uma técnica complementar ao DSC, podendo detectar fenômenos de energia muito baixa, imensuráveis no DSC.		GIRON, 2002

Tabela 3.4 Comparação dos métodos empregados na detecção de polimorfismo (Continuação)

Técnica	Aplicabilidade	Vantagem	Desvantagem	Referência
Espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier	Permite identificar moléculas com uma boa margem de segurança	Pode diferenciar claramente polimorfos e hidratos em uma mistura ternária ou com maior número de componentes.	Registros podem ser bem parecidos, gerando confusão	BRYN <i>et al.</i> , 1995 USP 25, 2002
Espectroscopia de Raman em infravermelho	constitui-se em uma técnica difundida para a avaliação do polimorfismo de fármacos.	Em comparação com o FT-IR, a espectroscopia de Raman apresenta maior poder para detecção de polimorfos e para análises quantitativas	Deve haver rígido controle da homogeneidade da amostra	STEPHENSON <i>et al.</i> , 2001

3.6. Regulamentação Quanto ao Polimorfismo

3.6.1. Regulamentação internacional

As autoridades regulatórias Norte Americanas, Japonesas e da União Européia, desde os anos 60, exigem de forma criteriosa, no momento do registro do medicamento, a elucidação de diversas características físicas, químicas, farmacológicas e toxicológicas do fármaco. Quanto às características físico-químicas, exigem a determinação da pureza, solubilidade, propriedades cristalinas, morfologia, tamanho de partícula e área superficial (SHEKUNOV & YORK, 2000).

A partir de 1990 as autoridades regulatórias dos Estados Unidos, Canadá, Japão e União Européia, além de representantes das indústrias farmacêuticas destes países e bloco econômico sob observação da Organização Mundial da Saúde (OMS) passaram a harmonizar os regulamentos e exigências para o registro de medicamentos.

O guia da *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* – ICH que trata de polimorfismo é o Q6, que define as especificações de novos fármacos e medicamentos – substâncias químicas. O guia Q6A, denominado “*Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances*” define polimorfismo como sendo a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco. Nesta definição está incluída a solvatação ou hidratação de fármacos (pseudo-polimorfismo) e as formas amorfas.

O guia Q6A é acompanhado de um algoritmo de decisões, onde são indicados três procedimentos a serem tomados quando do surgimento de formas polimórficas em um fármaco. O algoritmo está apresentado nas Figura 3.20, Figura 3.21 e Figura 3.22.

1

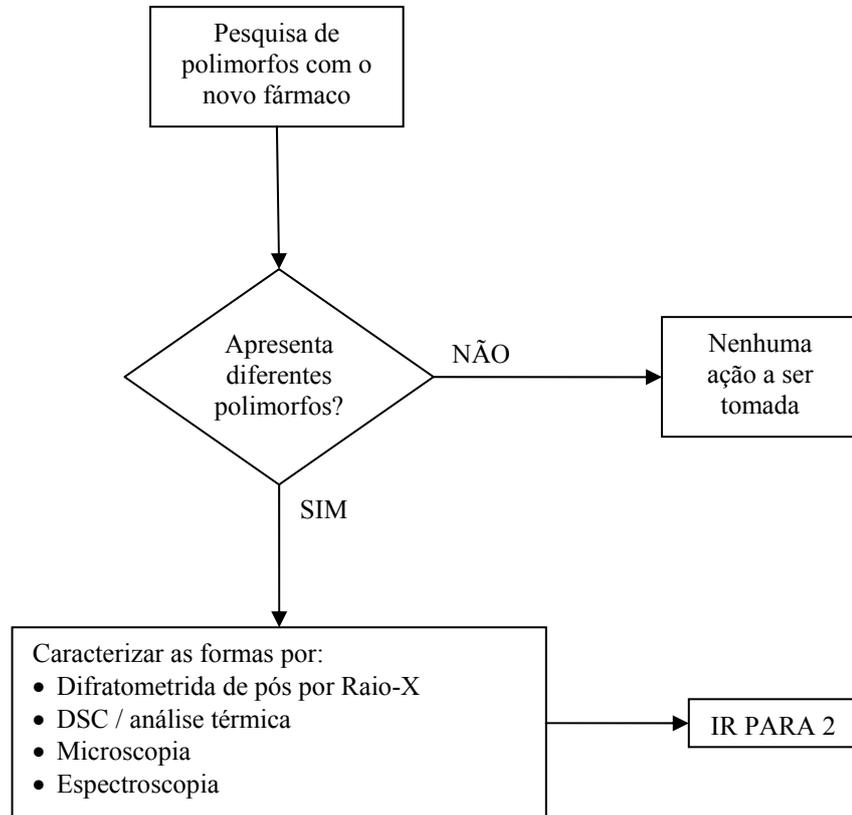


Figura 3.20

Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 1 (ICH, 1999).

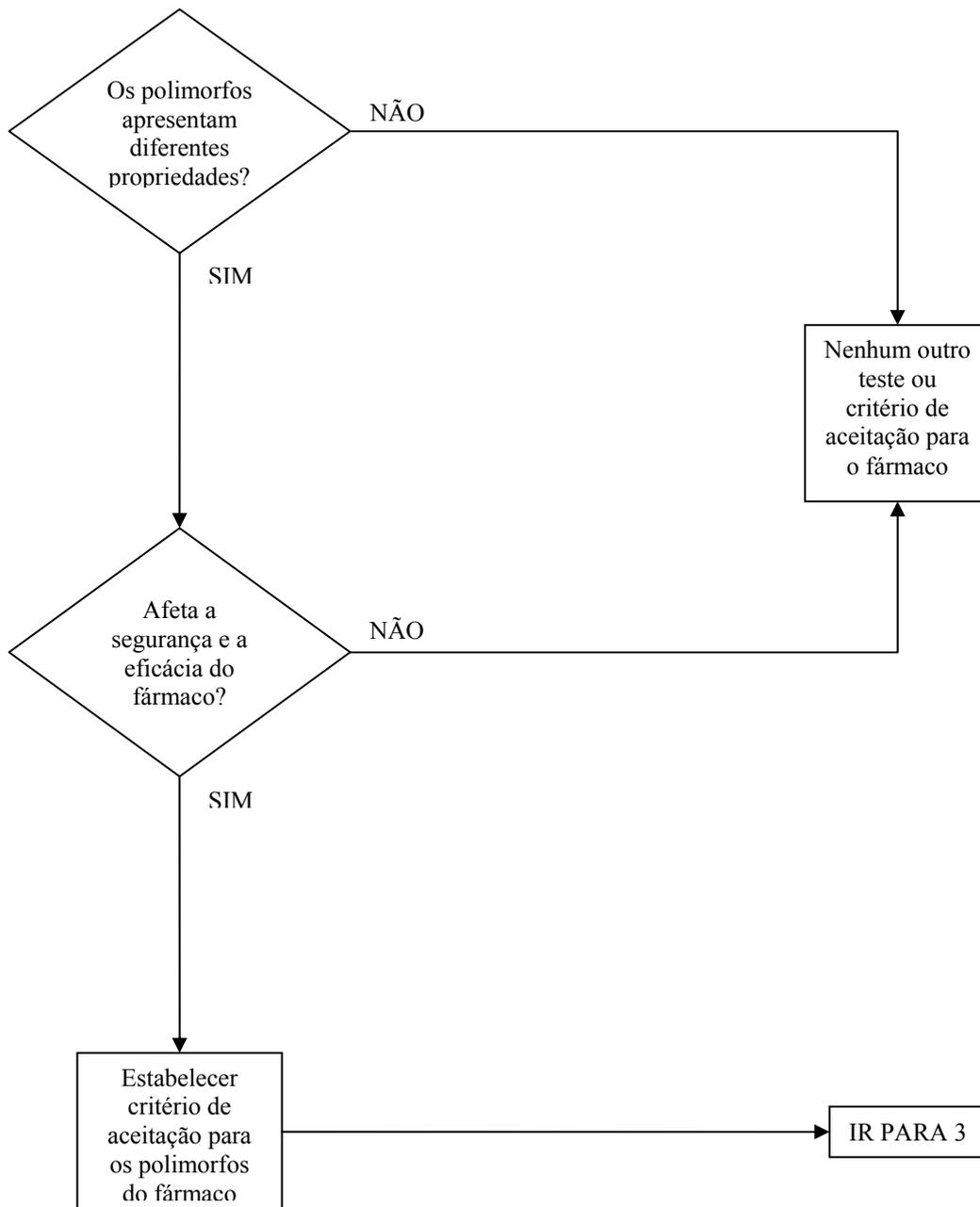


Figura 3.21 Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 2 (ICH, 1999).

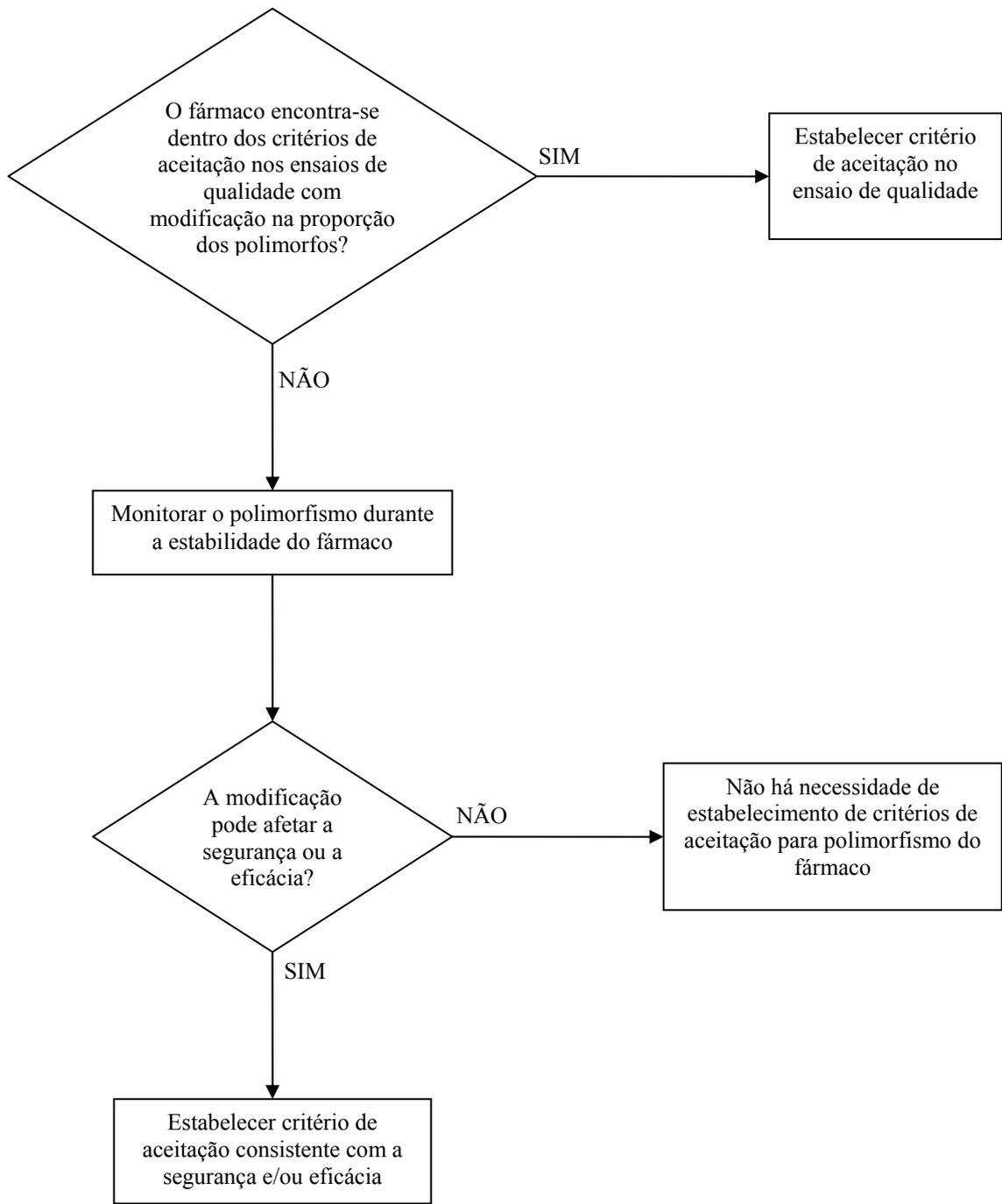


Figura 3.22 Algoritmo de decisões relativas a polimorfismo constante do Guia Q6, parte 3 (ICH, 1999).

Observa-se na ação 1 (Figura 3.20) do algoritmo de decisões que é preconizado que, primeiramente, estabeleçam-se as características das possíveis formas cristalinas do fármaco e suas propriedades físico-químicas, conforme o caso, bem como sua forma de detecção pelas metodologias indicadas.

Posteriormente a ação 2 do algoritmo, mostrada na Figura 3.21, visa estabelecer o impacto destas formas polimórficas na segurança e eficácia do fármaco, auxiliando na determinação de critérios de aceitação do fármaco e na avaliação do risco sanitário que representa tal fenômeno em um caso específico.

Havendo este risco, o ICH estabeleceu, na ação 3 do algoritmo, vias de monitoramento das alterações, conforme é mostrado na Figura 3.22.

O conjunto destes procedimentos, na ótica dos países e bloco econômico membros do ICH, são hoje suficientes para a minimização dos riscos sanitários envolvidos com o polimorfismo.

3.6.2. Legislação brasileira

A Lei 6.360, de 23 de setembro de 1976, representa um marco no cenário regulatório de medicamentos no Brasil. Ela dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências (BRASIL, 1976). Esta Lei prevê a necessidade da comprovação de eficácia e segurança para medicamentos a serem comercializados no Brasil, garantindo também a necessidade de capacidade técnica para a sua produção.

Apesar desta Lei ser de 1976, ao longo do tempo a autoridade sanitária adotou uma postura burocrática e cartorial, que se modificou após a criação da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - Anvisa, quando critérios técnicos de qualidade foram melhor especificados em forma de guias, o que em 2003 culminou com a

reformulação de toda a legislação de registro de medicamentos novos através da Resolução da Diretoria Colegiada – RDC nº. 136, de 29 de maio de 2003, exigindo que, além de outras comprovações e informações técnicas, o relatório de registro especifique, além da rota de síntese simplificada, as seguintes características do fármaco:

*“(...) fórmula estrutural; fórmula molecular; peso molecular; sinonímia e referência completa; forma física do sal; ponto de fusão; solubilidade; rotação óptica específica; propriedades organolépticas (cor, odor, textura,...); possíveis isômeros (estruturais, geométricos, ópticos,...); **polimorfismo, discriminando as características do polimorfo utilizado e de outros relacionados ao princípio ativo**; descrever a relação sal/base e os excessos utilizados; espectro de infravermelho da molécula; outras análises necessárias à correta identificação e quantificação da(s) molécula(s), apresentadas pelo produtor ou a critério da Anvisa” (grifo do autor).*

Desta forma, é necessário que, durante o desenvolvimento do fármaco, que se inicia no processo de síntese e pode atingir a fase clínica de estudos, tais informações sejam produzidas pelo pretendente ao registro para apresentação às autoridades regulatórias.

Em 1999 foi publicada a Lei 9.787, de 10 de fevereiro de 1999, que altera a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, e dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. Este instrumento legal definiu medicamento genérico como um *“medicamento similar a um produto de referência ou inovador, que se pretende ser com este intercambiável, geralmente produzido após a expiração ou renúncia da proteção patentária ou de outros direitos de exclusividade, comprovada a sua eficácia, segurança e qualidade, e designado pela DCB ou, na sua ausência, pela DCP”* (BRASIL, 1999b), enquanto medicamentos similares foram definidos como

“Aquele que contém o mesmo ou os mesmos princípios ativos, apresenta a mesma concentração, forma farmacêutica, via de administração, posologia e indicação terapêutica, preventiva ou diagnóstica, do medicamento de referência registrado no órgão federal responsável pela vigilância sanitária, podendo diferir somente em características relativas ao tamanho e forma do produto, prazo de validade, embalagem, rotulagem, excipientes e veículos, devendo sempre ser identificado por nome comercial ou marca” (BRASIL, 1999b).

Percebe-se que, comparando as definições de medicamentos genéricos e similares, todo o medicamento genérico é um medicamento similar que apresenta algumas peculiaridades, como exemplo, são comercializados pela Denominação Comum Brasileira (DCB), são intercambiáveis a um produto de referência e tem sua segurança, eficácia e qualidade comprovada. Para tanto, diversos regulamentos técnicos foram editados pela Anvisa, e o ato legal vigente é a Resolução RDC 135, de 29 de maio de 2003, que instrui todo o processo de registro de medicamentos genéricos junto à Anvisa, desde as medidas antecedentes ao pedido de registro até as medidas pós-registro (BRASIL, 2003a).

Especialmente quanto à comprovação de eficácia, segurança e qualidade, bem como da intercambiabilidade com o medicamento de referência comercializado no País, há uma série de medidas que a Anvisa toma antes e durante o processo de registro do medicamento. Para garantir a intercambiabilidade, o medicamento genérico deve ser aprovado em ensaios de equivalência farmacêutica e de bioequivalência. Sendo este medicamento um similar ao medicamento de referência já aprovado e que se apresenta bioequivalente a este, pode-se, portanto, assumir que ambos têm os mesmos parâmetros de segurança e eficácia e qualidade (BRASIL, 2003a).

No momento do registro de medicamentos genéricos o petitionário pode apresentar até três fabricantes do fármaco com o qual pretende produzir o medicamento. Quando tal fato ocorre, o produtor do medicamento deverá apresentar à

Anvisa a seguinte documentação (BRASIL, 2003a):

- 1. dossiê de produção e controle de qualidade de um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado;*
- 2. resultados e avaliação do estudo de estabilidade acelerada de um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado, conforme os critérios do GUIA PARA A REALIZAÇÃO DE ESTUDOS DE ESTABILIDADE;*
- 3. perfil de dissolução comparativo com o medicamento que foi submetido aos estudos de bioequivalência e de equivalência farmacêutica para formas farmacêuticas sólidas;*
- 4. resultado de teste, no caso de suspensões, de verificação do tamanho das partículas entre um lote do medicamento submetido aos estudos de bioequivalência e de equivalência farmacêutica e um lote do medicamento produzido com o fármaco correspondente a cada fabricante apresentado, para a maior e menor concentração do produto, quando aplicável.*

Vale aqui ressaltar que os estudos de equivalência farmacêutica e bioequivalência são realizados com o medicamento produzido a partir de apenas um dos três lotes-piloto, de um dos fornecedores do fármaco, anteriormente notificados à Anvisa (BRASIL, 2003a). A necessidade de apresentar perfil de dissolução comparativo das formas farmacêuticas sólidas orais com o fármaco dos outros dois fabricantes, que não foram submetidos ao estudo de bioequivalência com o referência, visa mostrar que os perfis de dissolução *in vitro* são semelhantes ao perfil do biolote, não havendo problemas de dissolução decorrentes do modo como o fármaco foi produzido que possam alterar sua dissolução *in vivo*. Este pressuposto, no entanto, parte da premissa que os testes de dissolução apresentados nas monografias oficiais permitem uma correlação dos resultados *in vitro* com a dissolução observada *in vivo*, nos paciente, o que na maioria das vezes não está adequadamente estabelecido. Deste

modo, a ausência de diferenças importantes entre os perfis de dissolução atesta, necessariamente, que os medicamentos produzidos com fármacos dos três fornecedores diferentes são bioequivalentes entre si, podendo o biolote ser genérico medicamento referência e os outros dois lotes, produzidos com fármacos de fornecedores diferentes não.

Especificamente quanto ao polimorfismo, a Resolução RDC 135 de 29 de maio de 2003 requer que o fabricante apresente “informações e determinação dos prováveis polimorfos e a metodologia analítica para fármacos que apresentem polimorfismo”. Tal documentação é individual para cada fabricante, ou seja, caso a submissão tenha sido feita para três fabricantes diferentes do fármaco, esta documentação deverá ser apresentada para cada fabricante individualmente (BRASIL, 2003a). Neste ponto, tanto na legislação de registro de medicamentos novos quanto na de medicamentos genéricos, a informação completa sobre a ocorrência do polimorfismo é de total responsabilidade da empresa produtora do medicamento, bem como as medidas de controle do mesmo. O ônus da validação da metodologia analítica para identificar e controlar o polimorfismo é todo da empresa produtora do medicamento. Deste modo, no plano ideal da legislação brasileira, a empresa detentora do registro de um medicamento genérico deverá garantir que todos os fornecedores do fármaco autorizados forneçam rigorosamente o mesmo fármaco, controlando inclusive a ocorrência do polimorfismo.

As diferenças observadas na legislação brasileira em relação à legislação de outros países e mesmo o ICH fragilizam a segurança dos medicamentos registrados no País. Enquanto internacionalmente os cuidados com polimorfismo dos fármacos têm regras mais claramente estabelecidas e os registros de medicamentos genéricos permitem apenas um fornecedor do fármaco, no Brasil a possibilidade de alterações na qualidade dos medicamentos genéricos, e mesmo similares, devido à falta de um controle mais rígido da Anvisa em relação ao polimorfismo pode colocar em risco os

usuários de medicamentos.

3.7. Referências

1. BARTOLOMEI, M.; BERTOCCHI, P.; RAMUSINO, M. C.; SIGNORETTI, E. C. Thermal studies on the polymorphic medications of (R,S) propranolol hydrochloride. *Thermochimica Acta*, v. 321, p. 43-52, 1998.
2. BAUER-BRANDL, A. Polymorphic transition of cimetidine during manufacture of solid dosage forms. *International Journal of Pharmaceutics*, v.140, p. 195-206, 1996.
3. BAUER, J, *et al.* Ritonavir: An extraordinary example of conformational polymorphism. *Pharmaceutical Research*, v. 18, n. 6, p. 859-866, 2001.
4. BOTTOM, R. The role of modulated temperature differential scanning calorimetry in the characterization drug molecule exhibiting polymorphic and glass forming tendencies. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 192, p. 47-53, 1999.
5. BRASIL. Lei 5.991 de 17 de dezembro de 1973. Dispõe sobre o controle sanitário do comércio de drogas, medicamentos, insumos farmacêuticos e correlatos, e dá outras providências. *In: Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed, p. 1272-1279
6. _____. Lei 6.360 de 23 de setembro de 1976. Dispõe sobre a vigilância sanitária a que ficam sujeitos os medicamentos, as drogas, os insumos farmacêuticos e correlatos, cosméticos, saneantes e outros produtos, e dá outras providências. *In: Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed. p. 1280-1292.
7. _____. Lei 9.872 de 26 de janeiro de 1999. Define o Sistema Nacional de Vigilância Sanitária, cria a Agência Nacional de Vigilância Sanitária, e dá outras providências. *In: Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed. p. 1463-1474.
8. _____. Lei 9.787, de 10 de fevereiro de 1999. Altera a Lei no 6.360, de 23 de setembro de 1976, que dispõe sobre a vigilância sanitária, estabelece o medicamento genérico, dispõe sobre a utilização de nomes genéricos em produtos farmacêuticos e dá outras providências. *In: Organização Jurídica da Profissão Farmacêutica*. Brasília: Conselho Federal de Farmácia – CFF. 2003, 4 ed. p. 1475-1476.

9. _____. Resolução RDC nº. 135, de 29 de maio de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 154, seção 1, p. 100-102, 12 ago. 2003a.
10. _____. Resolução RDC nº. 136, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Registro de medicamento novo. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 104, seção 1, p. 30-31, 02 jun. 2003b.
11. BRYN, S. *et al.* Pharmaceutical solids: A strategic approach to regulatory considerations. *Pharmaceutical Review*, v. 12, n. 7, p. 945-954, 1995
12. CLAS, S.; DALTON, C. R.; HANCOCK, B. C. Differential scanning calorimetry: applications in drug development. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 2, n. 8, p. 311-320, 1999.
13. EVANS, J. J. *Fourier Transform*. 2004. Disponível em: <http://www.chem.umb.edu/chemistry/CH361/FTIR.pdf>. Acesso em: 11/jun/2004.
14. FIFIELD, F. W.; KEALEY, D. *Principles and Practice of Analytical Chemistry*. Glasgow: Chapman & Hall, 1995, 4ed. cap 11, p. 475-503.
15. GARCIA, E, *et al.* Crystallization and dissolution of pharmaceutical compounds: An experimental approach. *Journal of Crystal Growth*. v. 198/199, p. 1360-134, 1999.
16. GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*, v. 248, p. 1-59, 1995.
17. _____. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals Part 1. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 1, n. 5, p. 191-199, 1998a.
18. _____. Contribution of thermal methods and related techniques to the rational development of pharmaceuticals Part 2. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 1, n. 6, p. 262-268, 1998b.
19. _____. Thermal analysis, microcalorimetry and combined techniques for study of pharmaceuticals. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 56, p. 1285 – 1304. 1999.
20. _____. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 68, p. 55-357. 2002.

21. _____. Characterization of salts of drug substances. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 73, p. 441-457. 2003.
22. GIRON, D.; EDEL, B.; PIECHON, P. X-ray quantitative determination of polymorphism in pharmaceuticals. *Molecular Crystals and Liquid Crystals*, v. 187, p. 297-307, 1990.
23. GIRON, D.; GOLDBRONN, C. Use of sub-ambient DSC to complement conventional DSC and TG. *Journal of Thermal Analysis*, v. 49, p. 907-912, 1997.
24. GIRON, D.; PIECHON, P.; GOLDBRONN, C.; PFEFFER, S. Thermal analysis, microcalorimetry and combine techniques for study of the polymorphic behavior of a purine derivative. *Journal of Thermal Analysis*, v. 57, p. 61-73, 1999.
25. GIRON, D. *et al.* Solid-state characterizations of pharmaceutical hydrates. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 68, p. 453-465. 2002.
26. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE - ICH. Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances – Q6A, 1999. 35p. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 30/dez/2003.
27. KITAMURA, M. *Controlling factor of polymorphism in crystallization process*. *Journal of Crystal Growth*, v. 237–239, p. 2205–2214, 2002.
28. LASERNA, J. J. *Modern Techniques in Raman Spectroscopy*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1996. 446p.
29. LASERNA, J. J. *An Introduction to Raman Spectroscopy*. 2001. Disponível em: http://www.spectroscopynow.com/Spy/basehtml/SpyH/1,1181,6-14-9-0-0-education_dets-5520948728-2902,00.html. Acesso em: 11/jun/2004.
30. KALINKOVA, G. N.; STOEVA, S. V. Polymorphism of azlocillin sodium. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 135, p. 111-114, 1996.
31. LLÁCER, J. M. *et al.* Formation of ondasteron polymorphs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 177, p. 221-229, 1999.
32. MARTIN, M. C. *Fourier transform infrared spectroscopy*. 2001. Disponível em: <http://spectroscopy.lbl.gov/FTIR-Martin/FTIR-Martin.PDF>. Acesso em: 11/jun/2004.
33. MORRIS, K. R.; GRIESSER, U. J.; ECKHARDT, C. J.; STOWELL, J. G.

- Theoretical approaches to physical transformations of active pharmaceutical ingredients during manufacturing processes. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 48, p. 91–114, 2001.
34. PAR - 6755 Solution Calorimeter, 2004. Disponível em: <http://www.parrinst.com>. Acesso em: 10/jan/2005.
35. PERIĆ, J. *et al.* Phase transformation of calcium carbonate polymorphs. *Thermochimica Acta*, v. 277, p. 175-186, 1996.
36. PERKINELMER – Pyris 6 Differential Scanning Calorimeter Brochure, 2003, 8p. Disponível em: <http://las.perkinelmer.com/content/RelatedMaterials>. Acesso em: 7/jan/2004.
37. PERRENOT, B.; WIDMANN, G. Polymorphism by differential scanning Calorimetry. *Thermochimica Acta*, v. 234, p. 31-39, 1994.
38. SCHIELDS, P. J. *Bragg's Law and Diffraction: How waves reveal the atomic structure of crystals*. Última modificação: 14 de maio de 2002. Disponível em: <http://www.eserc.stonybrook.edu/ProjectJava/Bragg/>. Acesso em: 11/abr/2004.
39. SCHROER, J. W.; NG, K. M. Process paths of kinetically controlled crystallization: Enantiomers and polymorphs. *Industrial Engineer Chemical Research*, v. 42, n. 10, p. 2230-2244, 2003.
40. SHEKUNOV, B. Y.; YORK, P. Crystallization process in pharmaceutical technology and drug delivery design. *Journal of Crystal Growth*, v. 211, p. 122-136, 2000.
41. STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. M. Characterization of solid state: quantitative issues. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 48, p. 67-90, 2001.
42. THREFALL, T. Crystallization of polymorphs: Thermodynamic insight into the role of solvent. *Organic Process Research & Development*, v. 4, n. 5, p. 384-390, 2000.
43. _____. The structural and thermodynamic basis of Ostwald's Rule – 7th International Conference/Workshop on Pharmacy and Applied Physical Chemistry – University of Innsbruck, Austria, September 07 to 11, 2003 – Disponível em: <http://www.eurostar-science.org/conferences/abstrsph7/threfall.pdf>. Acesso em: 09/dez/2003.
44. TOSCANI, S. An up-to-date approach to drug polymorphism. *Thermochimica*

Acta, v. 321, p. 73-79, 1998.

45. UNITED PHARMACOPEIAL CONVENTION. *The United States Pharmacopeia*. 25 ed., 2675 p., 2002.
46. van HOOFF, P. *et al.* Polymorphism of the CNS active drug Org 13011: the application of high temperature analysis to detect new polymorphs. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 238, p. 215-228, 2002
47. VIPPAGUNTA, S. R.; BRITTAI, H. G.; GRANT, D.J.W. Crystalline solids *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 48, p. 3-26, 2001.
48. WEST, A. R. *Solid State Chemistry and its Applications*. Chichester: John Wiley & Sons Ltd., 1984. 734 p.
49. WILLARD, H. H.; MERRITT Jr., L. L.; DEAN, J. A.; SETTLE Jr., F. A. *Intrumental Methods of Analysis*. Belmont: Wadsworth, 1981, p. 108-781.
50. YU, L. X., *et al.* Applications of process analytical technology to crystallization processes. *Advanced Drug Delivery Review*,. v. 56, p. 349-369, 2004.
51. YU, L.; REUTZEL, S. M.; STEPHENSON, G. A. Physical characterization of polymorphic drugs: an integrated characterization strategy. *Pharmaceutical Science & Technology Today*, v. 1, n. 3, p. 118-127, 1998.

4. AVALIAÇÃO DA EXISTÊNCIA DE POLIMORFISMO DA CARBAMAZEPINA EM MATÉRIAS-PRIMAS UTILIZADAS NA PRODUÇÃO DE MEDICAMENTOS GENÉRICOS NO BRASIL

4.1. Introdução

Polimorfismo é definido como a existência de alterações no arranjo cristalino de uma substância sem, porém modificação das estruturas da molécula. As formas polimórficas podem apresentar diferenças em propriedades físicas e físico-químicas como pontos de fusão e sublimação, condutividade, volume, densidade, dureza do cristal, forma do cristal, cor, índice de refração, solubilidade, higroscopicidade, reações no estado sólido, estabilidade e perfil de dissolução (GIRON, 1995; BOTTOM, 1999). Desta forma, a existência de formas polimórficas de fármacos pode afetar o desempenho de formas farmacêuticas sólidas alterando seu perfil de dissolução, biodisponibilidade e/ou estabilidade. Além disso, este fenômeno pode afetar a reprodutibilidade dos lotes industriais, tanto da produção do fármaco quanto do medicamento (BRYN *et al.*, 1995).

Em outubro de 1999, o International Conference of Harmonization (ICH) publicou um guia que trata de polimorfismo (Q6), denominado “*Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substances and New Drug Products: Chemical Substances*” definindo polimorfismo como sendo a ocorrência de diferentes formas cristalinas de um mesmo fármaco. Nesta definição estão incluídas a solvatação ou hidratação de fármacos (pseudo-polimorfismo) e as formas amorfas. O guia é acompanhado de um algoritmo de decisões, onde são indicados três procedimentos a serem tomados quando do surgimento de formas polimórficas em um fármaco. Tais procedimentos têm por finalidade a avaliação de sua relevância e impacto na qualidade do medicamento (ICH, 1999).

Na legislação brasileira de registro de medicamentos novos e de genéricos está especificado que, em caso de ocorrência de polimorfismo, a empresa deverá informar à Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) sobre a ocorrência do fenômeno, indicando a metodologia utilizada para sua detecção. Esta documentação acompanha o relatório sobre o fármaco que inclui, além de outros itens, sua rota de síntese simplificada. Para medicamentos novos, informações sobre solventes residuais e possíveis impurezas são também exigidas (BRASIL, 2003a; BRASIL, 2003b).

Para o registro de um medicamento como genérico é necessário que, entre outros parâmetros, o fabricante comprove que este é bioequivalente a um medicamento de referência apontado pela Anvisa. Para tanto é realizado um ensaio de bioequivalência onde os parâmetros farmacocinéticos de extensão de absorção (área sob a curva de concentração plasmática x tempo – ASC), tempo da máxima concentração plasmática (Tmax) e concentração máxima (Cmax) do fármaco em humanos. São comparados após administração do medicamento teste e referência ao mesmo grupo de voluntários em condições padronizadas. Os valores de ASC, Tmax e Cmax devem estar em uma faixa de 80-125% em relação ao verificado com o medicamento de referência, em um intervalo de confiança (IC) de 90% (BRASIL, 2003a).

O registro de medicamentos genéricos no Brasil apresenta uma peculiaridade com relação ao mesmo tipo de medicamentos em outros países. A empresa produtora do genérico tem a possibilidade, na apresentação do pedido de registro, de indicar até três fornecedores do fármaco, só havendo necessidade da utilização de um destes na produção do lote piloto do medicamento a ser utilizado para realização do ensaio de bioequivalência. A legislação exige a apresentação de documentação completa sobre o fármaco, para os três fornecedores, incluindo dados sobre a rota de síntese. Em caso de polimorfismo, solicita a indicação do polimorfo utilizado e metodologia analítica para o controle desta especificação do fármaco (BRASIL, 2003a).

Para o controle do polimorfismo em fármacos são diversas as metodologias aplicadas, sendo que as técnicas mais empregadas são as de termoanálise (calorimetria

diferencial de varredura) espectrométricas (espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier, espectroscopia de Raman em infravermelho, ressonância magnética nuclear) e ópticas (difratometria de pós por raio-X). Dentre os equipamentos citados, o mais comumente encontrado em laboratórios de controle de qualidade na indústria farmacêutica é a espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier. Os demais aparelhos têm um alto custo de aquisição e manutenção, sendo menos empregados pelas empresas de pequeno e médio porte. Vale ressaltar que a falta de controle do polimorfismo na matéria prima pode acarretar em desvios de qualidade no produto, especialmente ligados à solubilidade do fármaco, impactando principalmente na dissolução de formas farmacêuticas sólidas de administração oral (BRYN *et al.*, 1995; STEPHENSON *et al.*, 2001; GIRON, 2002).

São vários os fármacos que podem apresentar polimorfismo. Acredita-se que principalmente os barbitúricos, os esteróides e as sulfonamidas apresentem este fenômeno. Há relatos na literatura que dentre os fármacos destas classes, 63%, 65% e 40% respectivamente, apresentam polimorfismo (GIRON, 1995; BOTTOM, 1999). Várias revisões publicadas trazem extensas listas de medicamentos que apresentam tal fenômeno já descrito, dentre os quais se pode destacar a carbamazepina (carbamazepina) (KOBAYASHI *et al.*, 2000; RUSTICHELLI *et al.*, 2000; NAIR *et al.*, 2002; GRZESIAK *et al.*, 2003; GOSSELIN *et al.*, 2003).

A carbamazepina é um anticonvulsivante comumente utilizado na terapêutica, sendo classificada biofarmaceuticamente como classe II, apresentando alta permeabilidade intestinal e baixa solubilidade em água, desta forma sua biodisponibilidade é limitada pela sua solubilidade. Sua estrutura química é mostrada na Figura 4.1 (NAIR *et al.*, 2002).

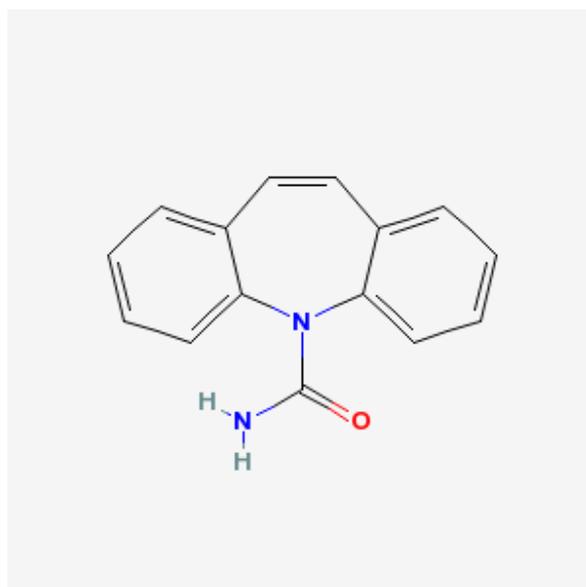


Figura 4.1 Estrutura química da carbamazepina.

A carbamazepina apresenta quatro tipos diferentes de formas cristalinas: triclinica (forma I), trigonal (forma II), célula monoclinica (forma III) e monoclinica de carbono central (forma IV). Sua descrição na literatura é vasta e sua caracterização vem sendo desenvolvida desde 1968 (GRZESIAK *et al.*, 2003). O polimorfo padronizado pela Farmacopéia Americana é o correspondente à forma III, que é o mais estável em temperatura ambiente (USP 25, 2002)

Considerando o exposto e sabendo-se que as matérias-primas para a produção de medicamentos no Brasil são de origens diversas, este trabalho objetivou investigar a existência dos diferentes polimorfos da carbamazepina em lotes de fármacos provenientes de diferentes fornecedores em comparação com o fármaco utilizado na produção do medicamento de referência estabelecido pela Anvisa.

4.2. Materiais e Métodos

4.2.1. Amostras de carbamazepina

As amostras de carbamazepina utilizadas neste trabalho foram gentilmente doadas por laboratórios farmacêuticos localizados no País e correspondem a diferentes

fornecedores de matéria-prima. Todas as amostras foram recebidas com o laudo dos fornecedores, que certificava a identidade e doseamento das mesmas. As amostras foram identificadas como A, B, C e R. A amostra de carbamazepina fornecida pelo laboratório produtor do medicamento referência estabelecido pela Anvisa foi identificada como amostra R, sendo considerada como padrão para todas as análises.

Para a determinação e identificação de possíveis polimorfos foram realizadas, com todas as amostras provenientes dos citados laboratórios, fixa de fusão, espectrometria no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IV), calorimetria exploratória diferencial (DSC), difratometria de pós por raio-X e perfil de dissolução.

4.2.2. Faixa de fusão

A medição das faixas de fusão foi realizada em um aparelho Kofler anotando-se as temperaturas de início e fim da fusão do material.

4.2.3. Infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros foram obtidos em espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR-8101, Shimadzu®), utilizando-se pastilha contendo 150 mg de KBr e 1,5 mg do fármaco, a faixa de detecção foi de 400 cm^{-1} a 4600 cm^{-1} , com velocidade de detecção de 2,8 mm/s e resolução de $4,1\text{ cm}^{-1}$.

4.2.4. Calorimetria exploratória diferencial

Os termogramas foram obtidos a partir de amostras condicionadas em placas de alumínio seladas, em um equipamento de fluxo de calor (DSC-60, Shimadzu®) calibrado com lítio, em intervalo de aquecimento de 30 a 250 °C e de resfriamento de 250 a 40 °C, sob atmosfera de nitrogênio a 50 mL/min. A velocidade de aquecimento e resfriamento foi de 20 °C/min.

4.2.5. *Difratometria de pós por raio-X*

Os difratogramas foram obtidos em Difratômetro de Raio-X, (D5000, Siemens-BRUKER-AXS). A varredura foi realizada no intervalo de 2,000° a 72,000° de 2 θ , à velocidade de 0,020 °/s, temperatura de 25 °C, com uma fonte de raios-X de cobre e filtro de níquel.

4.2.6. *Perfil de dissolução*

Para avaliar a dissolução da carbamazepina, foram preparadas, individualmente, cápsulas de gelatina dura contendo apenas 200 mg do fármaco de cada amostra. O perfil de dissolução foi obtido em aparelho de dissolução (VK 7000, Vankel®) acoplado a um espectrofotômetro UV/VIS (VANKEL 50 UV/VIS, Varian®). O meio de dissolução utilizado foi laurilsulfato de sódio a 1% (LSS 1%) a 37,5 \pm 0.5 °C, aparato de agitação de pás a 75 rpm, seguindo as especificações da Farmacopéia Brasileira (FARM. BRAS. IV, 2000). Foram coletadas nos tempos 5, 10, 15, 30, 45, 60, 120, 240, 360 e 480 min após o início do teste (n = 6 cápsulas/amostra).

A concentração de carbamazepina no meio foi determinada por espectrofotometria no ultravioleta em comprimento de onda de 285 nm utilizando-se LSS 1% como branco. Para quantificação das amostras utilizou-se curva padrão na faixa de concentração de 1 a 22 μ g/mL. A metodologia analítica foi previamente validada apresentando precisão e exatidão dentro dos limites estabelecidos pela Farmacopéia Brasileira (FARM. BRAS. IV, 2000). Os resultados da validação encontra-se no Anexo 1.

A partir dos resultados obtidos estabeleceram-se os perfis de dissolução, a eficiência de dissolução (ED%) (KHAN & RHODES, 1975), fator de diferença (f1) e fator de semelhança (f2) (BRASIL, 2004) de acordo com as equações abaixo, respectivamente:

$$ED = \frac{\int_0^t y dt}{y 100^t} \times 100\% \quad (4.1)$$

$$f1 = \left\{ \frac{\sum_{t=1}^n |Rt - Tt|}{\sum_{t=1}^n |Rt|} \right\} \times 100 \quad (4.2)$$

$$f2 = 50 \times \log \left\{ \left[1 + \left(\frac{1}{n} \right) \times \sum_{t=1}^n (Rt - Tt)^2 \right]^{\frac{1}{2}} \right\} \times 100 \quad (4.3)$$

onde ED é a eficiência de dissolução, y é a area sob a curva, Rt é a porcentagem dissolvida no tempo t obtido com a amostra de referência, Tt é a porcentagem dissolvida da amostra teste, no tempo t e n é o número de tempos de coleta.

Os dados de ED% das amostras foram comparados aos do referência aplicando-se teste “t” de Student ($\alpha = 0,05$).

4.3. Resultados e Discussão

4.3.1. Faixa de fusão

A Tabela 4.1 mostra os resultados da faixa fusão obtidos para as amostras de carbamazepina testadas. Pode-se observar que as faixas de fusão foram muito semelhantes não permitindo diferenciação entre as quatro amostras.

Tabela 4.1 Faixa de fusão das amostras de carbamazepina determinadas em Köfler

Amostra	Faixa de ponto de fusão (°C)
A	188 – 191
B	189 – 193
C	189 – 192
R	187 – 190

4.3.2. Infravermelho com transformada de Fourier

Os espectros de infravermelho obtidos foram consistentes em identificar as quatro amostras utilizadas como carbamazepina, porém não apresentaram diferenças substanciais que pudessem sugerir alguma alteração de forma polimórfica. Nas Figura 4.5 a 4.5 pode-se observar os espectros de infravermelho das amostra A a R, onde se identificam as bandas características que diferenciam os polimorfos da carbamazepina, que estão localizados em 3500-3392, 1731-1629 e 1427-1313 cm^{-1} . Conforme relatado previamente para o fármaco, a identificação dos diferentes polimorfos por infravermelho é difícil e somente poderá ser feita com análise muito cuidadosa de amostras puras (GRZESIAR *et al.*, 2003).

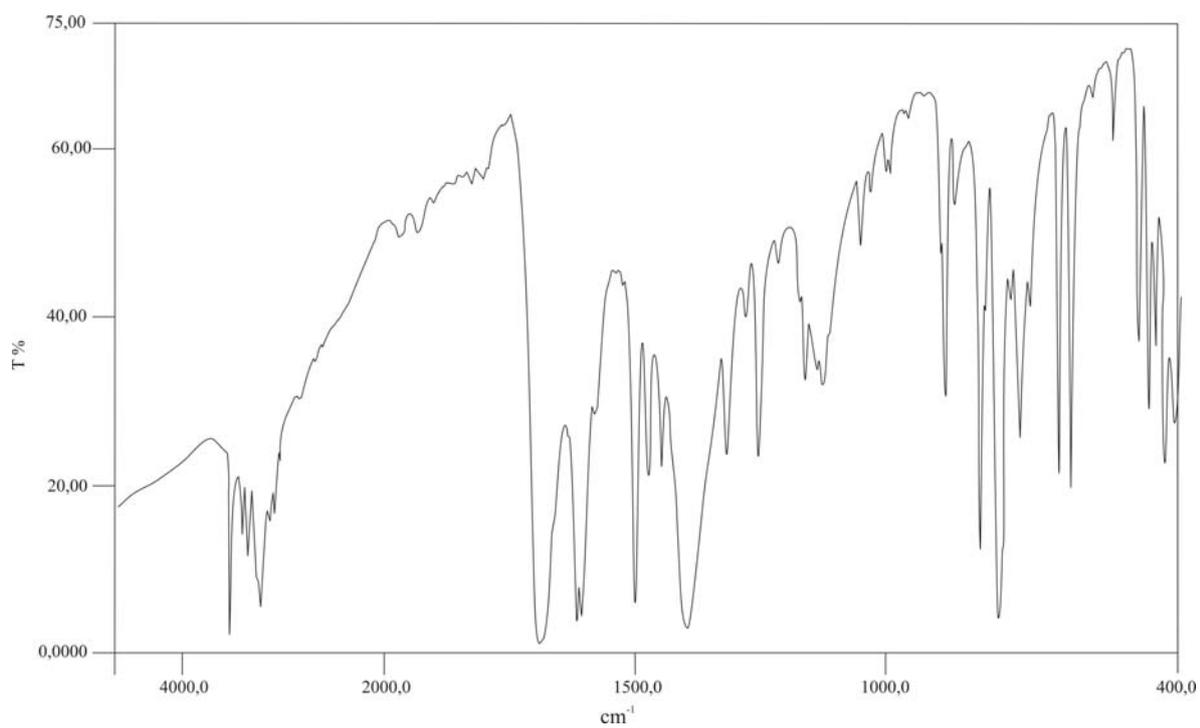


Figura 4.2 Espectro de infravermelho obtido para amostra A de carbamazepina.

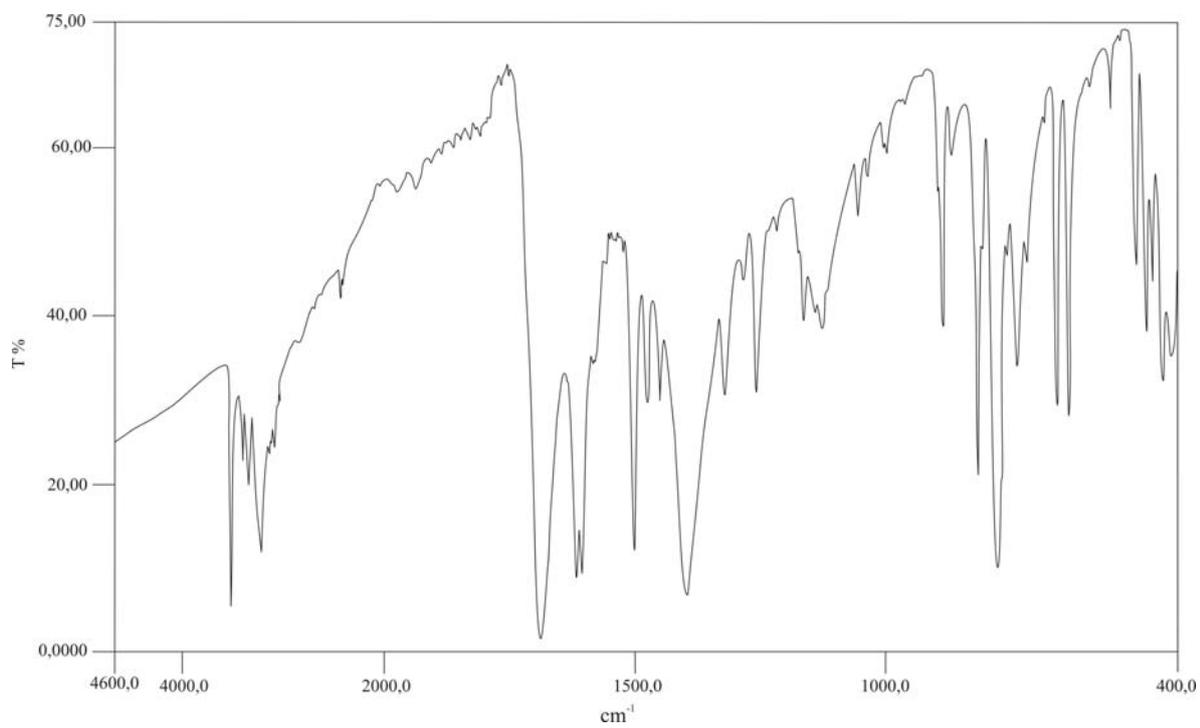


Figura 4.3 Espectro de infravermelho obtido para amostra B de carbamazepina.

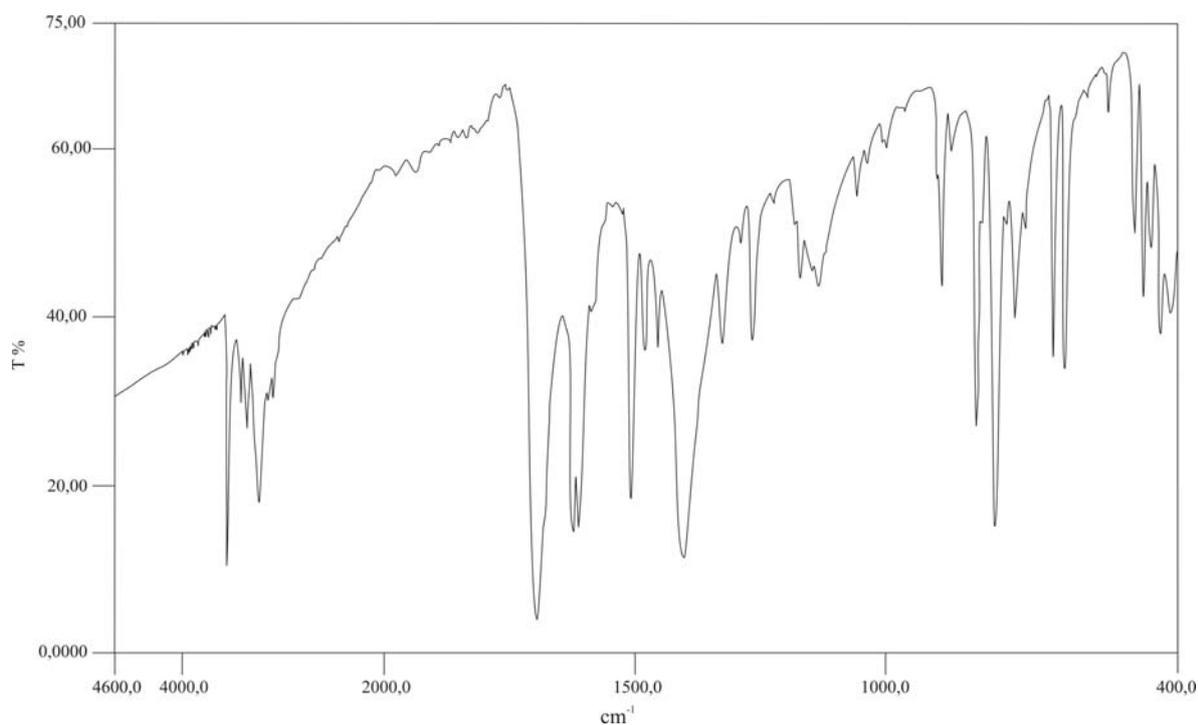


Figura 4.4 Espectro de infravermelho obtido para amostra C de carbamazepina.

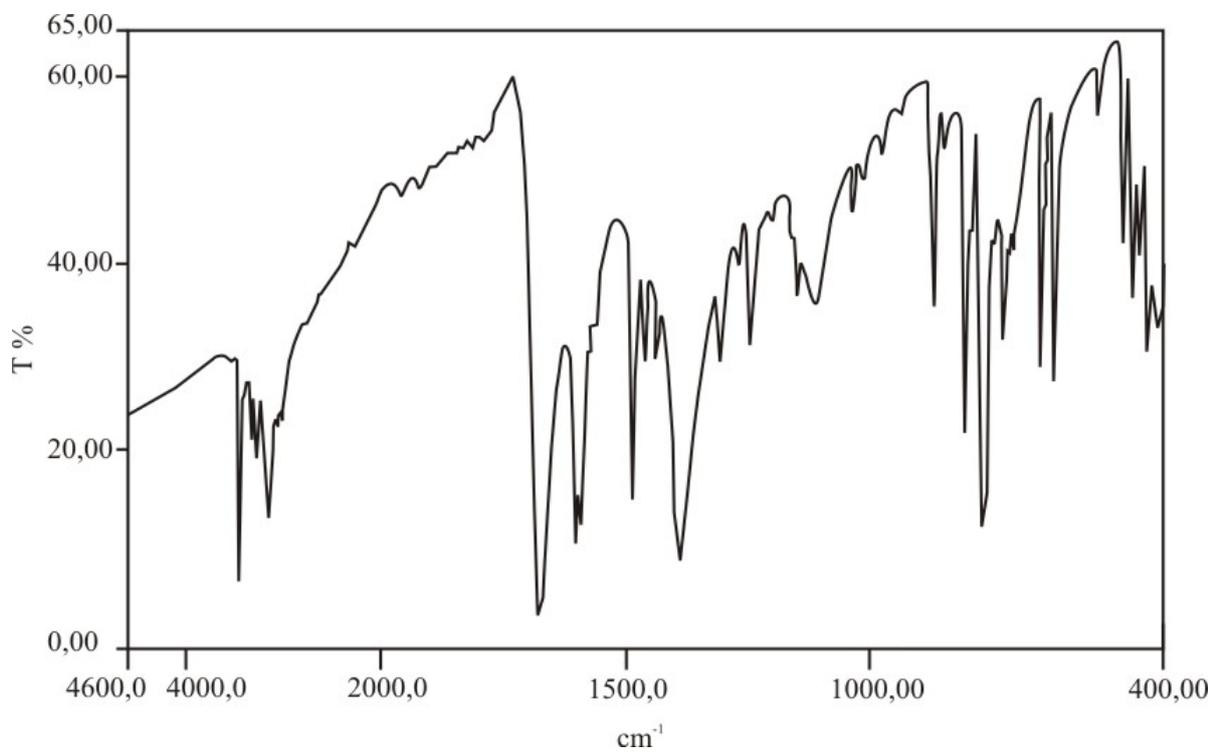


Figura 4.5 Espectro de infravermelho obtido para amostra R de carbamazepina.

4.3.3. Calorimetria exploratória diferencial

Os termogramas da análise por DSC das amostras de carbamazepina estão apresentados na Figura 4.6. Pode-se observar que a análise por calorimetria diferencial exploratória mostrou que todas as amostras apresentam termogramas semelhantes, com dois picos endotérmicos. De acordo com a literatura, os termogramas poderiam corresponder à forma polimórfica III (P-monoclínica), que exibe duas endotermas e uma exoterma. Para as amostras avaliadas, a primeira endoterma apresentou pico entre 176,7 e 179,6 °C, seguida de uma exoterma e um segundo pico endotérmico entre 194,6 e 196,7 °C. Estes valores coincidem com os dados de GRZESIAR e colaboradores (2003) que mostraram primeiro pico endotérmico entre 168 e 174 °C e segundo pico entre 191,2 e 195,2 °C. De acordo com esses autores, o primeiro pico endotérmico relaciona-se com a fusão do polimorfo III, o pico exotérmico seguinte mostra a cristalização à forma I (triclínica) e a segunda endotérmica coincide com a fusão da forma I.

A amostra A apresentou um pico exotérmico em torno de 150 °C, que não foi observado nas outras amostras, podendo-se supor a presença de certa quantidade de material amorfo.

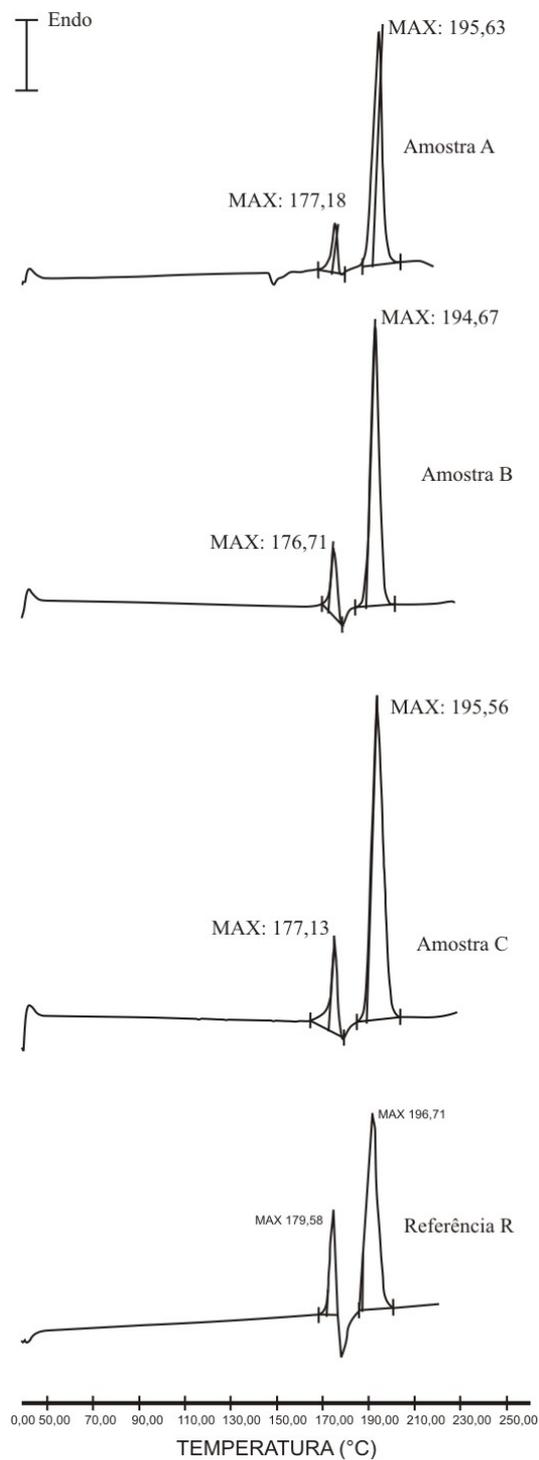


Figura 4.6 Termogramas de DSC das amostras de carbamazepina A, B, C e R, aquecimento a 20 °C/min, intervalo de 10 a 250 °C, atmosfera gasosa de nitrogênio a 50 mL/min.

4.3.4. Difractometria de pós em raio-X

Os difratogramas obtidos para as diferentes amostras estão apresentados na

Figura 4.7, onde pode-se observar a semelhança entre as amostras A, C e B a presença de dois picos diferentes na amostra R (marcados com setas), que não foram observados nas outras amostras.

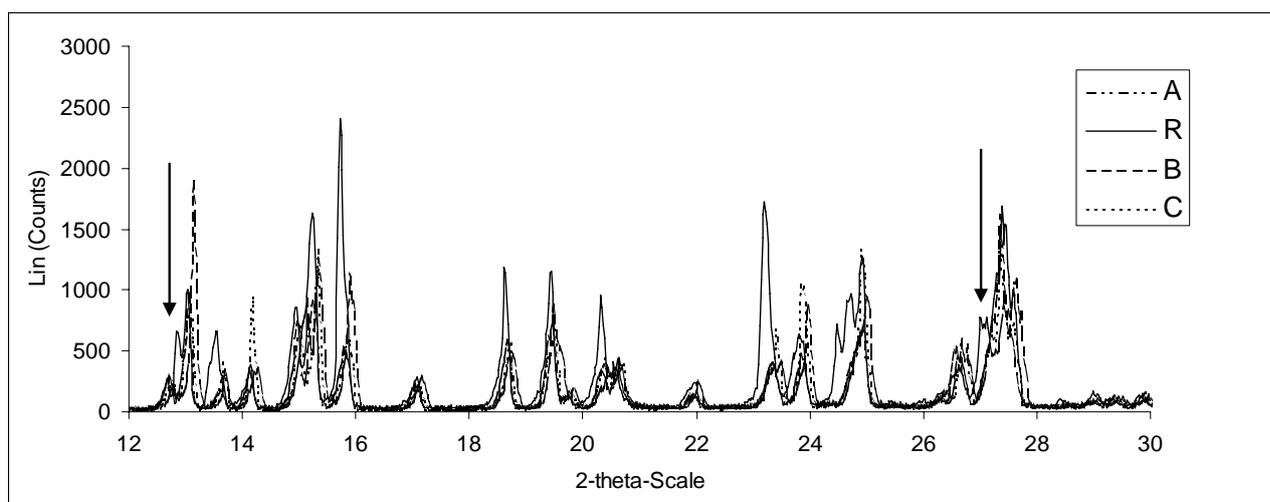


Figura 4.7 Difractograma das amostras A, B, C e R de carbamazepina, início: 2,000°, final: 72,000°, passo: 0,020°, tempo de passo: 1,0 s, temperatura: 25 °C, Tempo de início: 2 s, 2 θ : 2,000°, 1 θ : 1,000, π : 0. As setas indicam picos observados na amostra R e não observados nas demais amostras.

Quando os difratogramas foram avaliados comparativamente com os dados relatados por GRZESLAK e colaboradores (2003), pode-se identificar a amostra R como sendo o polimorfo III. As demais amostras também são consistentes com esta forma polimórfica, apesar da ausência dos picos marcados no gráfico. As diferenças de intensidade dos picos observados para a amostra R poderiam indicar uma maior pureza desta em relação às demais amostras.

4.3.5. Perfil de dissolução

Os perfis de dissolução médios obtidos para as cápsulas contendo somente carbamazepina, das diferentes amostras avaliadas, são mostrados na Figura 4.8. Os dados utilizados para construir os perfis médios encontram-se no Anexo 2. Observa-se que as amostras R e C apresentam dissolução mais lenta que as outras duas (A e B), principalmente no início do teste, apesar de todas chegarem à dissolução completa no final do tempo investigado (480 min).

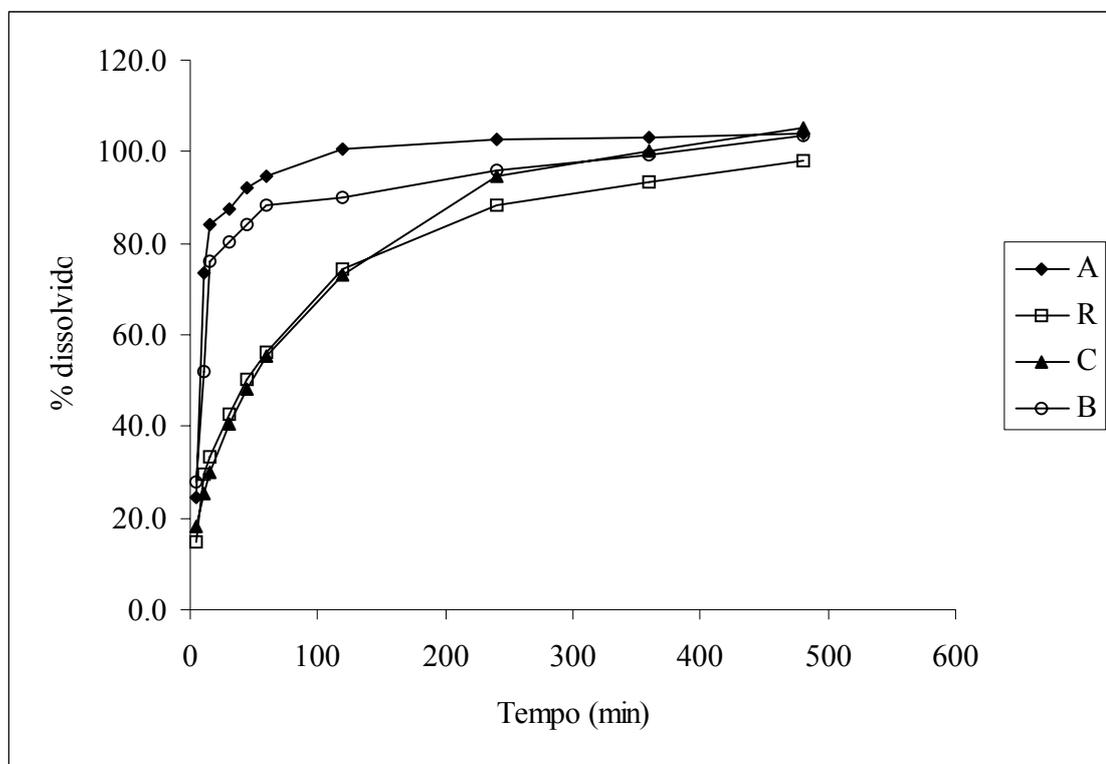


Figura 4.8 Perfis de dissolução médio das amostras de carbamazepina em meio LSS 1%, a 37 ± 5 °C, agitação por pás à 75 rpm ($n = 6$ /amostra).

Observou-se na Figura 4.88 que, no tempo 120 minutos, a amostra A atingiu percentual dissolução próximo a 100%, enquanto no mesmo tempo as amostras B, C e R apresentaram, respectivamente, 90,0%, 73,0% e 74,4% de dissolução. Pode-se observar, também, que a amostra A atingiu valores acima de 80% da dose dissolvida em 15 min,

enquanto a amostra B teve tal montante dissolvido em 30 min e as amostras C e R necessitaram de tempos superiores a 120 min para uma dissolução maior ou igual a 80% da dose.

Para possibilitar a comparação numérica dos perfis de dissolução obtidos, os fatores de diferença (f1) e de semelhança (f2), bem como a eficiência de dissolução (ED%), foram determinados e estão apresentadas nas Tabela , Tabela e Tabela , respectivamente.

Tabela 4.2 Valores calculados do fator de diferença (f1*) para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina em relação à amostra R.

Amostra	f1
A	49
C	6*
B	37

*semelhante: valor de f1 entre 0 e 15.

Tabela 4.3 Valores calculados do fator de semelhança (f2*) para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina em relação à amostra R.

Amostra	f2
A	17,0
B	24,1
C	65,8*

* semelhante: valor de f2 entre 50 e 100.

Pode-se observar nas Tabela e Tabela que a amostra C é a única cujo perfil de dissolução atende aos critérios de diferença e semelhança em relação a amostra referência (R). As amostras A e B se apresentam, por esses critérios, diferentes da amostra referência.

A Tabela apresenta os valores calculados para eficiência da dissolução (ED %) de todas as amostras. Os valores de ED% determinados para a amostra A e B, quando comparados estatisticamente com o valor obtido para a amostra referência (R), foram

considerados estatisticamente diferentes, o que significa dizer essas amostras possuem maior eficiência de dissolução que a referência. A amostra C, por outro lado, possui eficiência de dissolução semelhante à referência.

Tabela 4.4 Valores de ED% calculados para os perfis de dissolução das amostras de carbamazepina.

Amostra	ED%
Padrão (R)	80,2 ± 11,5
A	99,2 ± 3,3*
B	93,2 ± 7,0*
C	83,8 ± 2,9

* Diferença significativa em relação à amostra R ($\alpha = 0,05$)

Os resultados de dissolução obtidos não eram esperados, uma vez que as avaliações de DSC e raio-X indicaram que as quatro amostras tratavam-se do mesmo polimorfo. Estes perfis de dissolução, no entanto, podem indicar que as amostras R e C apresentam maior índice de cristalinidade que as outras duas que poderiam possuir maior quantidade de material amorfo, levando a uma dissolução mais rápida.

Avaliando os perfis de dissolução *in vitro* de formulações contendo carbamazepina e a biodisponibilidade das mesmas quando administradas *in vivo*, LAKE e colaboradores (1999) mostram que diferenças no perfil de dissolução entre 15 e 40 min utilizando LSS 1% como meio de dissolução e equipamento de pás a 75 rpm causam impacto direto na biodisponibilidade dos produtos. Extrapolando esses dados para as amostras de carbamazepina avaliadas neste trabalho, pode-se esperar que as amostras A e B resultem em produtos bio-inequivalentes aos produtos preparados com as amostras C e R (referência). Neste contexto, os resultados obtidos reforçam a importância da qualificação das matérias-primas empregadas na produção de medicamentos genéricos de carbamazepina visando garantir a bioequivalência de todos os lotes produzidos, mesmo quando são utilizadas matérias-primas de diferentes fornecedores.

A caracterização das amostras quanto à granulometria, não realizada neste estudo, também pode ser apontada como uma fonte das diferenças observadas nos perfis de

dissolução. A granulometria diferente não mostraria resultados distintos no infravermelho, raio-X e DSC, podendo explicar os resultados obtidos.

4.4. Conclusão

Pela comparação com os dados de literatura, pode-se concluir que as quatro amostras avaliadas provavelmente correspondem ao poliformo III da carbamazepina. Os perfis de dissolução em LSS 1%, no entanto, mostraram que duas amostras (R e C) dissolvem mais lentamente que as demais, levando à concluir que outros fatores, e não o polimorfismo, estão causando um impacto significativo na dissolução. A presença de grandes quantidades de material amorfo nas amostras A e B poderia explicar a dissolução mais rápida observada para as mesmas em comparação com as amostras C e R (LAKE *et al*, 1999).

4.5. Referências

1. BOTTOM, R. The role of modulated temperature differential scanning calorimetry in the characterization drug molecule exhibiting polymorphic and glass forming tendencies. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 192, p. 47-53, 1999.
2. BRASIL. Resolução RDC nº. 135, de 29 de maio de 2003. Aprova Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 154, seção 1, p. 100-102, 12 ago. 2003.
3. _____. Resolução RDC nº. 136, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Registro de medicamento novo. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 104, seção 1, p. 30-31, 02 jun. 2003.
4. _____. Resolução RE nº. 310, de 01 de setembro de 2004. Determina a publicação do “Guia para realização do estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução” *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 171, seção 1, p. 93-94, 03 set. 2004.

5. BRYN, S.; *et al.* Pharmaceutical solids: A strategic approach to regulatory considerations. *Pharmaceutical Review*. v. 12, n. 7, p. 945-954, 1995.
6. FARMACOPÉIA BRASILEIRA, 4^a ed., fascículo 4, monografia 87. 2000.
7. GIRON, D. Thermal analysis and calorimetric methods in the characterization of polymorphs and solvates. *Thermochimica Acta*. v. 248, p. 1-59, 1995.
8. GIRON, D., *et al.* Solid-state characterizations of pharmaceutical hydrates. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. v. 68, p. 453-465. 2002.
9. GOSSELIN, P. M., *et al.* Polymorphic properties of micronized carbamazepine produced by RESS. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 252, p. 225-233, 2003
10. GRZESIAK, A. L.; LANG, M; KIM, K.; MATZGER, A. J. Comparison of the four anhydrous polymorphs of carbamazepine and the crystal structure of form I. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 92, n. 11, p. 2260-2271.
11. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE - ICH. Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances – Q6A, 1999. 35p. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 30/dez/2003.
12. KHAN, K. A. RHODES, C. T. The Concept of Dissolution Efficacy. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 27, n. 1, p. 48-49. 1975.
13. KOBAYASHI, Y., *et al.* Physicochemical properties and bioavailability of carbamazepine polymorphs and dihydrate. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 193, p. 137-146. 2000.
14. LAKE, O.A.; OLLING, M.; BARENDT, D.M. In vitro/in vivo correlations of dissolution data of carbamazepine immediate release tablets with pharmacokinetic data

- obtained in healthy volunteers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, v. 48, p. 13-19, 1999.
15. NAIR, R., *et al.* Influence of polyethylene glycol and povidone on the polymorphic transformation and solubility of carbamazepine. *International Journal of Pharmaceutics*. v. 240, p. 11–22, 2002.
16. RUSTICHELLI, C., *et al.* Solid-state study of polymorphic drugs: carbamazepine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. v. 23, p. 41–54, 2000.
17. STEPHENSON, G. A.; FORBES, R. A.; REUTZEL-EDENS, S. M. Characterization of solid state: quantitative issues. *Advanced Drug Delivery Reviews*. v. 48, p. 67-90, 2001.
18. UNITED PHARMACOPEIAL CONVENTION. *The United States Pharmacopeia*. 25 ed., 2675 p., 2002.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O polimorfismo é um fenômeno que tem diversos impactos na qualidade do produto farmacêutico, tanto do ponto de vista físico-químico quanto clínico. Percebe-se, pelo exposto neste trabalho, que um rigoroso controle do processo de síntese, origem do fármaco, estado cristalino e conformação cristalina do mesmo podem minimizar tais problemas.

O polimorfismo cristalino com possível impacto em medicamentos vem sendo estudado desde meados dos anos 60. No entanto seu estudo foi aprofundado nos anos 90, culminando com a adoção deste parâmetro pelas autoridades regulatórias e algumas farmacopéias, como a americana. O ICH estabeleceu em 1999 uma árvore de decisão para a pesquisa do polimorfismo que leva em consideração suas possíveis repercussões em casos bem específicos (ICH, 1999).

No Brasil a primeira menção da legislação sobre este parâmetro veio na Resolução 391 de 09 de agosto de 1999, que aprovou o primeiro regulamento técnico para medicamentos genéricos (BRASIL, 1999). Até maio de 2003 somente o regulamento técnico para medicamentos genéricos continha alguma determinação sobre o polimorfismo. Em maio de 2003 foi publicada a Resolução RDC 136/2003 onde dados sobre o polimorfismo passa a ser informação obrigatória para o registro de medicamentos novos (BRASIL, 2003).

A literatura traz inúmeros exemplos de polimorfos que apresentam alterações significativas nas propriedades biofarmacêuticas do medicamento, podendo resultar em falha terapêutica (caso ritonavir) ou em promoção da absorção (MORISSETTE, 2003). Há também casos onde há a utilização de uma determinada forma polimórfica para melhorias na produção do medicamento, como no caso do paracetamol, onde o polimorfo utilizado possibilita a obtenção do comprimido por compressão direta (Di MARTINO, 1996).

Com o conhecimento ora estabelecido pode-se considerar que uma alteração na rota de síntese, especialmente na purificação do fármaco, ou a adoção de um novo fabricante para o fármaco poderá resultar na utilização de diferentes polimorfos. Tal fato pode repercutir nas propriedades biofarmacêuticas, físicas, físico-químicas,

tecnológicas e de conservação do medicamento. Tantas possibilidades de alteração podem significar um alto risco sanitário a que a população está exposta.

O fato de a legislação brasileira de registro de medicamentos genéricos e similares permitirem o uso de até três fabricantes para o fármaco, e que os ensaios de bioequivalência/biodisponibilidade relativa serem realizados somente com um dos fabricantes aponta para a relevante possibilidade de perda de qualidade, segurança e eficácia dos medicamentos genéricos e similares em situações onde tanto a Agência regulatória quanto o setor regulado não apresentariam o devido controle de fator de risco (BRASIL, 2003).

Por outro lado, há no país 18 laboratórios públicos, cujas compras são regidas pela Lei 8.666/93 (Lei de Licitação), pela qual, entre outros parâmetros, deverá o comprador permitir a livre concorrência entre fornecedores, não se restringindo a um único fornecedor e não direcionar o processo de compra a um único fornecedor. Tal fato, por si só, justifica a permissão para a utilização de mais de um fornecedor do fármaco. Porém, a mesma Lei permite que padrões de qualidade sejam estabelecidos, o que dá margem a que os fornecedores sejam qualificados e tenham que atender a critérios específicos de qualidade impostos pelo comprador (BRASIL, 1993). Neste contexto apresenta-se um impasse entre a técnica, que orienta a evitar alterações de fornecedores de fármacos e a Lei, que não permite a restrição a apenas um fornecedor, no caso dos laboratórios estatais. Diante dos fatos expostos e dados recolhidos, percebe-se que há de se aperfeiçoar os mecanismos de regulação por parte da Anvisa, a fim de que o risco de utilização de diferentes polimorfos de um fármaco em um único medicamento genérico ou similar sem que se firmem os princípios das Licitações, fundamentados em dispositivo constitucional.

No marco regulatório, faz-se necessário que a Anvisa apresente maior rigor com relação à matérias-primas utilizadas na fabricação de medicamentos. A qualificação dos fornecedores por parte do fabricante é uma medida de Boas Práticas de Fabricação (BPF) que pode em muito contribuir para que este problema seja minimizado, mas não totalmente. Um regulamento de BPF para fornecedores de matéria-prima, aliado a inspeções de BPF por parte da Agência podem contribuir para uma redução maior no risco de ocorrência de polimorfismo.

No que concerne o registro, percebeu-se que há diferenças físico-químicas relevantes num mesmo fármaco que apresenta mais de uma origem (fabricante), o que se faz pensar que não somente a qualificação dos fornecedores assegura que um mesmo produto, cuja formulação não é ajustada pelo fornecedor, mantém suas características biofarmacêuticas inalteradas. Desta forma o polimorfismo pode contribuir para que medicamentos genéricos percam seu aspecto de bioequivalência pela simples alteração do fornecedor do fármaco. Apesar de todos os rigores do registro de medicamentos genéricos e similares, a possibilidade de se utilizar no lote industrial um fármaco de fabricante diferente daquele utilizado no biolote pode vir a constituir um risco sanitário quando da possibilidade de ocorrência de polimorfismo.

5.1 Referências

1. BRASIL. Lei nº. 8.666, de 21 de junho de 1993, Regulamenta o art. 37, inciso XXI, da Constituição Federal, institui normas para licitações e contratos da Administração Pública e dá outras providências. Disponível em: https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l8666cons.htm. Acesso em: 02/fev/2005.
2. _____, Resolução nº. 391, de 09 de agosto de 1999, Aprova o Regulamento Técnico para Medicamentos Genéricos. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br>. Acesso em: 02/fev/2005.
3. _____. Resolução RDC nº. 136, de 29 de maio de 2003. Dispõe sobre o Registro de medicamento novo. *Diário Oficial da União - República Federativa do Brasil*, Brasília, n. 104, seção 1, p. 30-31, 02 jun. 2003.
4. Di MARTINO P., *et al.* A new pure paracetamol for direct compression: the orthorhombic form. *International Journal of Pharmaceutics*, v. 128, p. 1-8. 1996.
5. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE - ICH. Specifications: test procedures and acceptance criteria for new drug substances and new drug products: chemical substances – Q6A, 1999. 35p. Disponível em: <http://www.ich.org>. Acesso em: 30/dez/2003.

6. MORISSETTE, S. L., *et al.* Elucidation of crystal form diversity of HIV protease inhibitor ritonavir by high-throughput crystallization. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, v. 100, n. 5, p. 2180-2184, 2003.

ANEXO 1

Tabela 1. Curva de calibração por ultravioleta a 285 nm da carbamazepina em solução aquosa de lauril sulfato de sódio a 1%

Concentração teórica (µg/mL)	Concentração média calculada (µg/mL)	Faixa de concentração	Precisão (%)
5	5,2	4,5 – 5,7	103,7
10	9,9	9,5 - 10,5	99,0
15	14,8	14,2 – 14,5	99,0
17,5	17,3	17,0 – 17,6	98,9
22	22,3	20,8 – 23,1	101,2

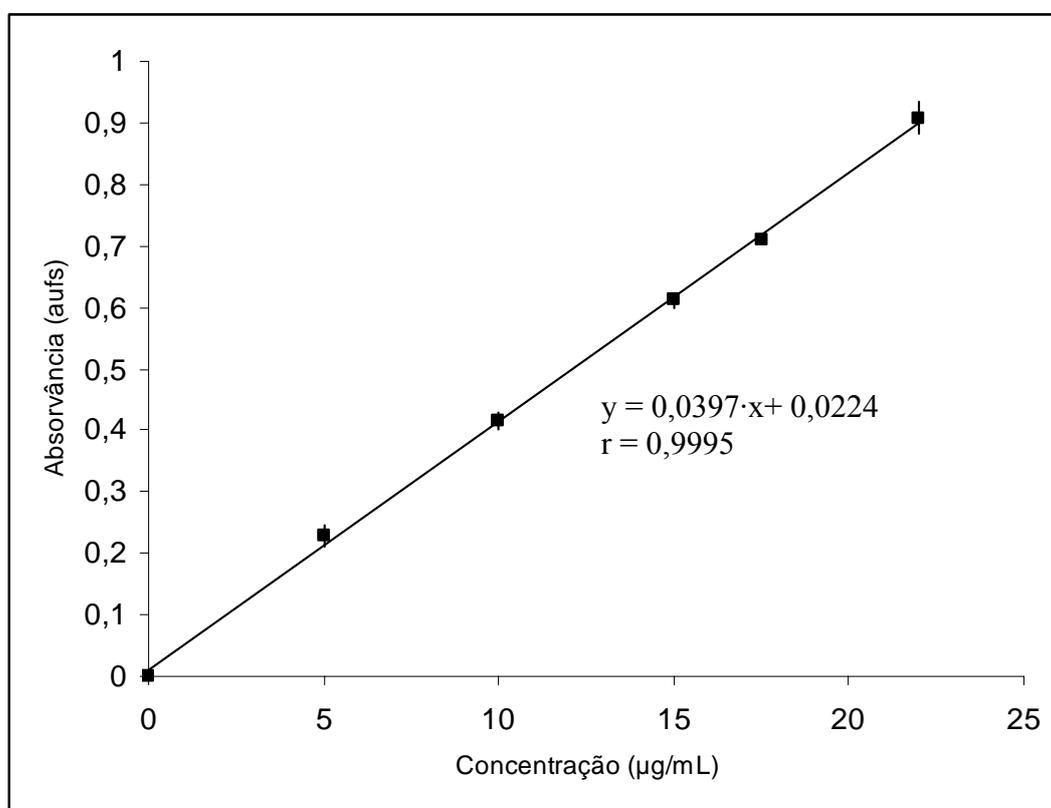


Figura 1. Curva de calibração média da carbamazepina por ultravioleta a 285 nm em solução aquosa de laurilsulfato de sólido a 1% (n = 9/ponto)

ANEXO 2

Tabela 1. Perfis de dissolução em laurilsulfato de sódio 1% da amostra carbamazepina de referência (R) (n = 6)

Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Média	DP
30	46,62	35,88	43,72	35,28	44,81	37,69	40,67	4,95
60	56,27	43,12	53,74	50,00	55,55	47,46	51,02	5,13
90	66,29	50,60	58,81	62,43	59,65	53,62	58,56	5,72
120	69,79	56,39	65,56	67,37	65,68	60,01	64,14	4,98
150	78,11	64,24	71,35	74,01	74,13	63,75	70,93	5,79
180	79,92	71,48	77,03	81,13	82,70	70,27	77,09	5,17
240	94,63	81,47	84,10	91,12	94,85	76,43	87,10	7,59
360	104,95	101,00	84,76	108,24	110,43	88,71	99,68	10,59
480	127,76	115,70	105,38	110,21	115,26	99,46	112,29	9,76
600	129,08	117,45	114,16	116,13	132,59	101,00	118,40	11,33

Tabela 2. Perfis de dissolução em laurilsulfato de sódio 1% da amostra carbamazepina A (n = 6)

Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Média	DP
30	83,01	90,91	92,66	82,79	80,81	91,12	86,88	5,22
60	95,51	93,32	100,78	91,78	93,10	101,87	96,06	4,26
90	96,39	98,36	108,68	93,98	96,39	107,36	100,19	6,23
120	97,05	102,97	109,99	105,82	98,14	111,31	104,21	5,93
150	105,38	105,60	112,19	104,07	111,31	110,65	108,20	3,56
180	107,80	106,70	113,94	108,02	115,48	113,06	110,83	3,75
240	104,29	108,68	114,38	108,46	115,26	115,91	111,16	4,70
360	109,55	110,87	114,60	110,21	118,33	117,67	113,54	3,88
480	110,43	110,21	114,16	109,77	117,89	119,64	113,68	4,28
600	110,65	119,21	110,87	110,65	115,70	121,18	114,71	4,71

Tabela 3. Perfis de dissolução em laurilsulfato de sódio 1% da amostra carbamazepina B (n = 6)

Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Média	DP
5	66,99	4,12	39,77	3,74	40,74	10,88	27,71	25,58
10	43,76	66,03	38,99	52,92	60,41	50,61	52,12	10,07
15	84,79	82,18	83,15	68,82	68,88	69,04	76,14	7,97
30	86,69	91,48	83,68	73,03	71,18	76,30	80,39	8,12
45	92,40	97,46	87,90	75,79	74,13	77,72	84,23	9,70
60	97,90	100,92	90,94	78,46	78,76	82,47	88,24	9,80
120	98,34	101,70	92,26	82,52	82,52	82,91	90,04	8,65
240	105,21	104,02	96,56	89,69	90,25	88,86	95,77	7,39
360	106,27	104,58	100,96	94,07	96,53	92,40	99,13	5,69
480	110,51	105,81	107,06	99,25	104,00	95,39	103,67	5,50

Tabela 4. Perfis de dissolução em laurilsulfato de sódio 1% da amostra carbamazepina C (n = 6)

Tempo (min)	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6	Média	DP
5	15,26	17,32	18,85	17,56	15,63	25,05	18,28	3,57
10	24,74	25,51	27,88	24,32	25,24	25,55	25,54	1,24
15	29,01	31,99	34,08	29,14	28,63	28,40	30,21	2,30
30	37,51	45,66	46,50	38,92	37,65	38,24	40,75	4,17
45	42,30	54,36	54,38	44,06	46,33	47,71	48,19	5,13
60	48,80	62,11	61,76	51,31	53,97	54,82	55,46	5,44
120	64,57	82,48	79,90	67,00	69,02	75,03	73,00	7,28
240	94,44	98,99	100,41	90,48	85,93	96,46	94,45	5,45
360	101,15	99,57	99,22	101,73	102,37	97,36	100,23	1,86
480	102,81	100,92	108,84	111,10	104,58	102,31	105,09	4,02